



УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ  
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ

**КВАЛИТЕТ СЕМЕНА ЗП САМООПЛОДНИХ  
ЛИНИЈА КУКУРУЗА РАЗЛИЧИТИХ ГРУПА  
ЗРЕЊА И ГЕНЕТИЧКЕ ОСНОВЕ**

ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА

Ментори: Проф. др Јан Боћански  
др Јелена Срдић

Кандидат: мр Марија Миливојевић

Нови Сад, 2016. године

**УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ  
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ**

**KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA**

Redni broj: RBR	
Identifikacioni broj: IBR	
Tip dokumentacije: TD	Monografska dokumentacija
Tip zapisa: TZ	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada (dipl., mag., dokt.): VR	Doktorska disertacija
Ime i prezime autora: AU	mr Marija Milivojević
Mentor (titula, ime, prezime, zvanje): MN	dr Jan Boćanski, Redovni Profesor dr Jelena Srdić, Viši naučni saradnik
Naslov rada: NR	Kvalitet semena ZP samooplodnih linija kukuruza različitih grupa zrenja i genetičke osnove
Jezik publikacije: JP	Srpski
Jezik izvoda: JI	Srpski / engleski
Zemlja publikovanja: ZP	Republika Srbija
Uže geografsko područje: UGP	
Godina: GO	2016.
Izdavač: IZ	Autorski reprint
Mesto i adresa: MA	Poljoprivredni fakultet, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad

Fizički opis rada: FO	(broj poglavlja 9/ stranica 112/ slika 2/ tabela 29/ grafikona 13/ referenci 239/ biografija)
Naučna oblast: NO	Biotehničke nauke
Naučna disciplina: ND	Semenarstvo
Predmetna odrednica, ključne reči: PO	Kukuruz, klijavost, vigor, hladni test, test ubrzanog starenja, nicanje u polju, proteinski markeri
UDK	633.15:581.48:575(043.3)
Čuva se: ČU	Biblioteka Poljoprivrednog fakulteta, Novi Sad
Važna napomena: VN	Nema
Izvod: IZ	
<p>U radu su sprovedena ispitivanja kvaliteta semena samooplodnih linija kukuruza stvorenih u Institutu za kukuruz „Zemun Polje“ različitih grupa zrenja i genetičke osnove. U laboratorijskim i poljskim uslovima utvrđena je klijavost i vigor semena iz 2011. nakon četiri godine čuvanja u kontrolisanim uslovima (18 °C i 60% RH) i semena iz 2014. nakon godinu dana čuvanja na 5 °C i 60% RH.</p> <p>Cilj je bio utvrditi tolerantnost odabranih linija na niske temperature prilikom klijanja i nicanja, dugovečnost semena u kontrolisanim uslovima čuvanja, genetičku divergentnost linija primenom proteinskih markera i proceniti uticaj genetičke osnove na kvalitet semena.</p> <p>U laboratoriji za ispitivanje semena praćeni su sledeći parametri kvaliteta: vitalnost, klijavost, energija klijanja, dužina klijanaca, vigor ispitan tetrazolium testom, hladnim testom, testom ubrzanog starenja, testom pojave primarnog korena i testom provodljivosti.</p> <p>Primenom vigor testova na semenu dva nivoa starosti omogućena je bolja klasifikacija linija u pogledu kvaliteta, nego standardnim testom klijavosti. Rezultati rada ukazuju da su hladni test i test ubrzanog starenja najpogodniji za procenu vigora semena u laboratoriji, s tim da je hladni test bolji pokazatelj nicanja u polju.</p> <p>Ispitivane samooplodne linije pokazale su dobru sposobnost očuvanja kvaliteta semena kao i visok nivo toleratnosti na niske temperature u toku klijanja i ranog porasta biljaka. Kontrolisani uslovi čuvanja na 18 °C omogućili su da se klijavost i vigor semena u ispitivanom periodu, održi na visokom nivou.</p> <p>Dužina vegetacije samooplodnih linija nije imala značajan uticaj na klijavost i vigor semena. Kvalitet semena ispitivanih samooplodnih linija je prvenstveno bio pod uticajem genetičke osnove. Linije poreklom od Lancaster populacije imale su slabiji vigor u odnosu na linije BSSS i Iowa Dent porekla.</p> <p>U radu je potvrđeno da vigor testovi imaju važnu ulogu u ispitivanju kvaliteta semena samooplodnih linija kukuruza. Dobijeni rezultati direktno se mogu iskoristiti u oplemenjivačkim programima u cilju poboljšanja klijavosti i vigora semena. Ostvareni rezultati ukazuju da su informacije o genetičkom poreklu samooplodnih linija važan indikator vigora semena. Pored podataka o genetičkom poreklu linija veliki značaj ima karakterizacija putem biohemijskih markera.</p>	

Datum prihvatanja teme od strane Senata: DP	03.03.2016.
Datum odbrane: DO	
Članovi komisije: (ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status) KO	<hr/> dr Jan Boćanski, redovni profesor za užu n.o. Genetika i oplemenjivanje biljaka, Poljoprivredni fakultet Novi Sad, mentor  <hr/> dr Jelena Srdić, viši naučni saradnik za užu n.o. Genetika i oplemenjivanje biljaka Institut za kukuruz „Zemun Polje“, Beograd, mentor  <hr/> dr Ivana Maksimović, redovni profesor za užu n.o. Fiziologija i ishrana biljaka, Poljoprivredni Fakultet Novi Sad, član

University of Novi Sad  
Faculty of Agriculture  
Key word documentation

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Document type: DT	Monograph documentation
Type of record: TR	Textual printed material
Contents code: CC	PhD thesis
Author: AU	Marija Milivojević, M.Sc.
Mentor: MN	dr Jan Boćanski, Full Time Professor dr Jelena Srdić, Senior Researcher Associate
Title: TI	Seed quality of ZP maize inbred lines of different maturity groups and genetic background
Language of text: LT	Serbian
Language of abstract: LA	English / serbian
Country of publication: CP	Republic of Serbia
Locality of publication: LP	
Publication year: PY	2016.
Publisher: PU	Author's reprint
Publication place: PP	Faculty of Agriculture, Trg D. Obradovića 8, 21000 Novi Sad

Physical description: PD	(9 chapters/ 112 pages/ 2 photos/ 29 tables/ 13 figures/ 239 references/ biography)
Scientific field SF	Biotechnical sciences
Scientific discipline SD	Seed science
Subject, Key words SKW	maize, germination, vigour, cold test, accelerated ageing test, field emergence, biochemical markers
UC	633.15:581.48:575(043.3)
Holding data: HD	The Faculty of Agriculture's Library, Novi Sad
Note: N	None
Abstract: AB	<p>The extensive seed quality evaluations of maize inbred lines developed at the Maize Research Institute Zemun Polje of different maturity groups and genetic background were conducted. In laboratory and field conditions germination and vigour of seed produced in 2011 and 2014 was determined, after four years of storage at 18 °C, 60% RH and one year of storage at 5 °C, 60% RH, respectively.</p> <p>The objective of this research was to determine the chilling tolerance of selected inbred lines during germination and emergence, seed longevity under controlled storage conditions, genetic divergence determined by biochemical markers and to assess the impact of the genetic background on seed quality.</p> <p>Following seed quality parameters were tested: viability, germination, seedling length and vigour examined by cold test, accelerated ageing test, tetrazolium test, radicle emergence test and conductivity test.</p> <p>Vigour tests provided a better classification of inbred lines of different seed age in terms of quality than standard germination test. Obtained results show that cold test and accelerated aging test are the most suitable for assessing seed vigour in the laboratory, but cold test is a better indicator of field emergence.</p> <p>Tested maize inbred lines showed good seed storability and high level of chilling tolerance during germination and early growth of plants. Controlled storage conditions at 18 °C, have enabled that germination and seed vigor remains at the high level in the examined period.</p> <p>Seed germination and vigour of maize inbred lines were not affected by length of vegetation. Seed quality was primarily influenced by genetic background of tested inbred lines. Inbred lines originating from Lancaster populations had lower vigour compared to lines with BSSS and Iowa Dent origin.</p> <p>This research confirmed that vigor tests play an important role in seed quality testing of maize inbred lines. Results of this work can be directly used in breeding programs to improve germination and seed vigour. Achieved results indicate that information about the genetic origin of inbred lines is an important indicator of seed vigour. Finally, data emphasized the importance of inbred line characterization by biochemical markers in addition to genetic origin information.</p>

Accepted on Senate on: AS	03.03.2016.
Defended: DE	
Thesis Defend Board: DB	<hr/> <p>Jan Boćanski, PhD, full professor, SF Genetics and plant breeding, Faculty of Agriculture, Novi Sad, mentor</p> <hr/> <p>Jelena Srdić, PhD, senior researcher associate, SF Genetics and plant breeding, Maize Research Institute Zemun Polje, Belgrade, mentor</p> <hr/> <p>Ivana Maksimović, PhD, full professor, SF Physiology and plant nutrition, Faculty of Agriculture, Novi Sad, member</p>

## Захвалница

Желим на првом месту да се захвалим свом ментору проф. др Јану Боћанском на сарадњи, свесрдној помоћи и веома надахнутим саветима које ми је упућивао у току израде докторске дисертације.

Веома велику захвалност дугујем др Јелени Срдић која ме увек храбрила и подстицала да наставим своје истраживање и стручно усавршавање, у сваком тренутку била на располагању пружајући стручну и пријатељску подршку.

Такође желим да се захвалим др Ивани Максимовић на сугестијама везаним за докторску дисертацију, а нарочито на постављеним критеријумима који су допринели да искажем све своје способности и дам свој максимум.

Захваљујем се Институту за кукуруз „Земун Поље“ који ми је омогућио израду докторске дисертације, свим колегама које су подржале извођење овог рада и дале свој допринос у току експерименталног рада, статистичке обраде података, тумачења резултата и писања рада.

Посебну захвалност упућујем својим сарадницима у Лабораторији за испитивање семена за несебичну помоћ, руководиоцу др Тањи Петровић за подршку у мом напредовању и координатору Лабораторије Радмили Вукадиновић за усклађивање послова редовних испитивања семена са експерименталним истраживањем. Захваљујем се др Драгици Ивановић руководиоцу Лабораторије у периоду када је осмишљена и започета докторска дисертација.

Исказујем захвалност др Јелени Ванчетовић за избор материјала за истраживање и обезбеђено семе самооплодних линија. Хвала др Миломиру Филиповићу за информације о генетичком пореклу материјала и помоћ у тумачењу добијених резултата.

Нарочито се захваљујем др Ксенији Марковић, руководиоцу дела експеримента који се односио на карактеризацију материјала путем протеинских маркера и др Ани Николић на обезбеђеној литератури и статистичкој обради података генетичке дивергентности.

Коначно, највећу захвалност дугујем својој породици, за свесрдну помоћ, подршку, стрпљење и разумевање.



## СКРАЋЕНИЦЕ

<b>AA</b>	-	Accelerated ageing test Тест убрзаног старења
<b>ANOVA</b>	-	Analysis of variance Анализа варијансе
<b>AOSA</b>	-	Association of Official Seed Analysts Америчка асоцијација за испитивање семена
<b>CIMMYT</b>	-	Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo Међународни центар за унапређење кукуруза и пшенице
<b>CT</b>	-	Cold test Хладни тест
<b>df</b>	-	Degree of freedom Степени слободе
<b>FAO</b>	-	Food and Agricultural Organization Организација за храну и пољопривреду
<b>ISTA</b>	-	International Seed Testing Association Међународна организација за испитивање семена
<b>LSD</b>	-	Least Significant Difference Најмање значајна разлика
<b>PCA</b>	-	Principal Component Analysis Анализа главних компоненти
<b>RH</b>	-	Relative humidity Релативна влажност ваздуха
<b>SM</b>	-	Simple matching Simple matching коефицијент сличности
<b>TT3</b>	-	Tetrazolium test Тетразолиум тест
<b>UTLIEF</b>	-	Ultrathin Isoelectric Focusing Ултратанкослојно изоелектрично фокусирање

## САДРЖАЈ

<b>1.</b>	<b>УВОД</b>	<b>1</b>
<b>2.</b>	<b>ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА</b>	<b>3</b>
<b>3.</b>	<b>ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ</b>	<b>4</b>
	3.1 Вигор семена	4
	3.2 Дуговечност семена кукуруза	10
	3.3 Толерантност на ниске температуре при клијању	14
	3.4 Генетичка дивергентност кукуруза и вигор	21
<b>4.</b>	<b>РАДНА ХИПОТЕЗА</b>	<b>26</b>
<b>5.</b>	<b>МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ РАДА</b>	<b>27</b>
<b>6.</b>	<b>РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА</b>	<b>35</b>
	6.1 Садржај влаге, здравствено стање и маса 1000 семена	35
	6.2 Стандардни тест клијавости	37
	6.3 Тест појаве примарног корена	39
	6.4 Тест проводљивости	41
	6.5 Тетразолиум тест	43
	6.6 Хладни тест	46
	6.7 Тест убрзаног старења	49
	6.8 Дужина клијанаца	51
	6.9 Ницање у пољу	58
	6.10 Корелација ранга	61
	6.11 Генетичка дивергентност	67
	6.12 Квалитет семена самооплодних линија у зависности од FAO групе зрења и генетичког порекла	71
<b>7.</b>	<b>ДИСКУСИЈА</b>	<b>72</b>
	7.1 Енергија клијања и клијавост	71
	7.2 Тест појаве примарног корена	74
	7.3 Тест проводљивости	75
	7.4 Тетразолиум тест	76
	7.5 Хладни тест	77
	7.6 Тест убрзаног старења	79
	7.7 Дужина примарног корена и стабаоцета	81
	7.8 Ницање у пољу	82
	7.9 Генетичка дивергентност самооплодних линија на основу протеинских маркера	85
	7.10 Квалитет семена самооплодних линија у зависности од FAO групе зрења и генетичког порекла	86
<b>8.</b>	<b>ЗАКЉУЧАК</b>	<b>89</b>
<b>9.</b>	<b>ЛИТЕРАТУРА</b>	<b>91</b>
	<b>БИОГРАФИЈА</b>	<b>112</b>

## 1. УВОД

Кукуруз (*Zea mays* L.) је ратарска култура из породице трава, пореклом из тропских области Мексика. Има најшири ареал гајења и највећи потенцијал родности од свих житарица. Користи се у исхрани стоке, људи и у прерађивачкој индустрији.

Иако тропског порекла, кукуруз је временом адаптиран на шире климатске услове повећањем толерантности на субоптималне услове гајења, а међу њима и на ниске температуре. Велики допринос у стицању отпорности на ниске температуре дали су селекционери кукуруза.

Развој селекције и откриће хибрида имао је велики утицај на начин гајења кукуруза и снажан развој семенске индустрије. То је праћено оснивањем лабораторија за испитивање семена у којима су се развијали тестови за испитивање различитих параметара квалитета семена.

Поред стандардних тестова квалитета (клијавост, садржај воде у семену, здравствено стање семена, чистоћа семена) развијали су се вигор тестови као бољи показатељи ницања у пољу и дуговечности семена (хладни тест и тест убрзаног старења).

Значај испитивања вигора семена је вишеструк, како за произвођаче семена, тако и за крајње кориснике. Предност је на првом месту та што се могу идентификовати високо квалитетне партије семена које боље подносе стресне услове у пољу и могу се сејати раније у пролеће, док би слабо вигорозне партије семена требало сејати у оптималнијим условима. Осим отпорности на ниске температуре вигор указује и на могућност постизања жељеног склопа усева што је од изузетне важности за постизање високих приноса. Још једна важна карактеристика вигорозних партија семена јесте постизање уједначеног усева. То је од великог значаја за произвођаче како би агротехничке мере могле бити спроведене без оштећења биљака и што је најважније извршена истовремена берба. Код производње семенског усева уједначен пораст има још већи значај због дириговане оплодње.

Познато је да самоопходне линије клијају спорије и имају мању клијавост у односу на хибриде. Информације о понашању самоопходних линија у стресним

---

условима за ницање су од изузетног значаја како би производња семена била рентабилна.

Рана сетва кукуруза омогућава дужи вегетациони период чиме су обезбеђени услови за веће и стабилније приносе и већа је могућност избегавања летње суше (**Kucharik, 2006**). Ово је нарочито важно за регионе где су пролећа хладна и влажна, а лета изузетно топла и сушна. Међутим, ранија сетва са собом повлачи и одређени ризик, па је неопходно користити генотипове толерантне на ниске температуре и високо вигорозне партије семена.

Квалитет семена је један од најважнијих фактора који утиче на рани пораст и продуктивност пољопривредних усева. Састав семена, генетичка основа и услови спољашње средине утичу на квалитет семена (**Goggi et al., 2007**). Приликом стварања нових хибрида селекционери треба да воде рачуна о квалитету семена новоствореног материјала. На тај начин би се избегли проблеми приликом умножавања семена, одржавања самооплодних линија и производњи хибридног семена због лошег ницања и недовољног склопа усева.

Примена вигор тестова у испитивању селекционог материјала кукуруза је вишеструка. Хладни тест има примену у селекцији материјала отпорног на ниске температуре при ницању, док се тест убрзаног старења може користити као техника у селекцији кукуруза са продуженом дуговечношћу семена.

У циљу добијања самооплодних линија побољшаног квалитета семена неопходно је извршити категоризацију селекционог материјала. Познавање утицаја генетичке дивергентности самооплодних линија кукуруза на квалитет семена је од великог значаја.

## 2. ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА

Квалитет семена је комплексно својство и подразумева низ особина. Стандардна клијавост даје информацију о максималном потенцијалу семена у оптималним условима, а вигор указује на понашање семена у стресним условима за клијање и ницање. Одабирање самооплодних линија добре клијавости веома рано у процесу оплемењивања корисно је и важно за побољшање клијавости и ницања у пољу.

Циљ овог рада био је испитивање различитих параметара квалитета семена самооплодних линија кукуруза различитих група зрења применом стандардних и вигор тестова.

Истраживање је постављено с циљем да се применом хладног теста издвоји материјал који поседује толерантност на ниске температуре при ницању у пољу.

Упоредо с тим, циљ рада био је испитивање утицаја дужине чувања на клијавост семена самооплодних линија кукуруза као и утврђивање ефикасности лабораторијског теста убрзаног старења у процени дуговечности семена.

Испитивање генетичке дивергентности применом протеинских маркера постављено је као циљ истраживања у сврху груписања испитиваних линија у хетеротичне групе и утврђивања корелација између података генетичке дистанце и података о пореклу.

Циљ рада био је такође да се утврди сагласност у класификацији линија кукуруза у погледу вигора семена (отпорност на ниске температуре и дуговечност) са подацима о генетичкој дивергентности добијеним протеинским маркерима.

### 3. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

#### 3.1 Вигор семена

Квалитет семена је један од најважнијих фактора који утиче на рани пораст и продуктивност код већине пољопривредних усева (**Munamava et al., 2004**).

Квалитет семена је комплексно својство и подразумева низ особина. Клијавост семена је најважнији показатељ квалитета. Испитивањем клијавости семена стандардним тестом у лабораторији добија се информација о максималном потенцијалу клијавости у оптималним условима.

Клијање семена у пољу ретко се одвија у оптималним условима средине. Температура, влажност и структура земљишта делују као стресни фактори на клијанце, тако да број никлих биљака у пољу не достиже ону вредност добијену у лабораторијским условима. Поред тога, утврђено је да партије семена са високом клијавошћу могу сасвим различито да реагују на услове у пољу.

Ови недостаци стандардног теста клијавости су били разлог да се покрену истраживања у циљу развоја и примене нових тестова који би били бољи показатељи ницања у пољу и разлика између партија семена високог квалитета. Многобројна истраживања у свету резултирала су увођењем вигор тестова.

Појам вигора се први пут помиње почетком 20. века. **Hiltner и Ihssen (1911)** користе термин „*triebkraft*“ који означава покретачку силу или силу почетног пораста. Интересовање за вигор је обновљено 1950. године на Конгресу Међународне организације за испитивање семена - ISTA у Вашингтону када је основан Вигор Комитет са два основна циља: 1) дефинисати вигор и 2) развити и стандардизовати вигор тестове.

Почетна дефиниција вигора се појавила 1957. године (**McDonald, 1993**) која је претрпела знатне измене 1960, 1965, 1973, 1977, 1980. године да би се коначно искристалисало суштинско значење вигора које проналазимо у тренутно важећим ISTA и AOSA (Америчка асоцијација за испитивање семена) правилницима.

Вигор представља свеукупну способност семена да брзо, уједначено никне, да се развије у нормалан клијанац и биљку, под различитим условима у пољу. Поред овог, вигор одређује дуговечност семена без штетних последица (**ISTA, 2015; AOSA, 2002**).

Развој вигор тестова је био интензиван и одвијао се упоредо у великом броју лабораторија у свету. То је довело до појаве мноштва вигор тестова и различитих процедура једног истог теста, што је отежало и успорило стандардизацију вигор тестова.

Без обзира на проблеме у развоју и стандардизацији вигор тестова, они су у пракси веома брзо нашли своју примену. Истраживања 1988. године су показала да 83% ISTA лабораторија сматра вигор тестове потребним и 65% од ових лабораторија их практично и изводи (**Hampton, 1993**).

У **ISTA Правилима (2015)** налазе се четири вигор теста која су стандардизована за ограничен број биљних врста: 1. тест убрзаног старења (*Glycine max*), 2. тест проводљивости (*Cicer arietinum, Glycine max, Phaseolus vulgaris, Pisum sativum*), 3. тест контролисаног пропадања семена (*Brassica spp.*), 4. тест појаве примарног корена (*Zea mays, Brassica napus*).

Вигор тестови сврстани су у три категорије (**AOSA, 2002**):

1. стресни тестови (тест убрзаног старења, хладни тест);
2. тестови оцене и пораста клијанаца (класификација клијанаца по вигору, тест степена пораста клијанаца);
3. биохемијски тестови (тетразолиум тест, тест проводљивости).

Према истраживањима **Woltz и TeKrony (2001)** резултати клијавости после теста убрзаног старења и хладног теста представљају најпрецизније показатеље клијавости семена кукуруза у пољу.

Хладни тест представља излагање семена ниским температурама одређени временски период (10 °C/7 дана) након чега се семену обезбеђују оптимални услови за клијање.

Иако је хладни тест први развијен за оцену вигора семена и примењује се у лабораторијама за испитивање семена широм света, велики недостатак јесте то што није било могуће стандардизовати овај тест. Такође, **Martin и O'Neil (1987)** су запазили да вредности хладног теста нису тако добро корелирале са ницањем у пољу

као што је то био случај 30 година раније (**Gutormson, 1995**). У извештају о раду ISTA комитета за испитивање вигора, **Fiala (1987)** наводи да упоредна испитивања квалитета семена у хладном тесту немају значаја за услове ницања без стреса.

**Nijënstein и Kruse (2000)** износе да се најмање варирање резултата добија када се користи песак као субстрат у хладном тесту. Дужину излагања семена ниским температурама, према истим ауторима, треба прилагодити климатским зонама где се тестови изводе. Тако се краће излагање ниским температурама (7 дана) препоручује за области са топлим и сувим климатским условима (Јужна Европа, Африка), а дуже (10 дана) за области са хладним и влажним климатским условима (Западна Европа, Северна Америка).

Насупрот хладном тесту, тест убрзаног старења представља излагање семена високим температурама (41-45 °C) и високој релативној влажности (изнад 95%) у одређеном временском периоду, након чега се тако остарело семе наклијава по стандардној методи. Резултати овог теста такође добро корелирају са вредностима ницања у пољу, али је првенствено развијен са циљем да се процени период безбедног чувања семена у складишту (**Delouche и Baskin, 1973**).

У биохемијске тестове за оцену вигора семена спада тетразолиум тест (ТТЗ) и тест проводљивости.

**Lakon (1942)** је развио топографски тетразолиум тест и дефинисао га као потенцијалну клијавост (виталност). ТТЗ тестом добија се брза општа процена виталности узорка семена, нарочито оних који испољавају дормантност (**ISTA, 2015**). ТТЗ тест је заснован на редукцији безбојног раствора 2,3,5-трифенилтетразолиум хлорида у нерастворљив 2,3,5-трифенилформаза црвене боје. Ова реакција се одвија у присуству групе ензима дехидрогеназа у виталним деловима семена.

ТТЗ тест за оцену виталности је од 1966. године укључен у ISTA правила. Процедуре за примену ТТЗ теста ради оцене вигора дате су у ISTA приручнику за вигор (**Hampton и TeKrony, 1995**) и AOSA приручнику за испитивање вигора (**2002**). Оба приручника потенцијално клијаво семе даље сврставају у три категорије (високо, средње и слабо вигорозно семе) на основу присутних некроза у ембриону и скутелуму код монокотиледоних биљака.



**DeVries и Goggi (2006)** су применили тетразолиум тест за идентификацију физиолошких оштећења различитих врста укључујући и оштећења семена кукуруза изазвана мразом. У овом раду, оцена обојености семена је обухватила процену виталности али такође и класификацију виталног семена у вигор категорије.

Тест проводљивости је такође биохемијски вигор тест и подразумева потапање семена у дестилованој води 24 сата, након чега се приступа мерењу проводљивости раствора. Високо вигорозно семе испушта мало електролита па има ниску проводљивост, док слабо вигорозно семе са оштећењима на мембранама испушта више електролита и има веће вредности проводљивости раствора. Мртво семе испушта највише електролита, затим семе које ће дати ненормалне клијанце и најмање електролита испушта семе из којег ће се развити нормални клијанци (**Matthews et al., 2012**).

**Vieira et al. (2004)** сматрају да је тест проводљивости веома применљив у лабораторијама за испитивање семена јер је брз, практичан, објективан и не захтева употребу скупе опреме нити дуготрајну обуку аналитичара.

**Ocvirk et al. (2014)** су у истраживањима дошли до података који указују да је тест проводљивости добар показатељ вигора семена кукуруза и препоручују његову стандардизацију. Вредности проводљивости испод  $10 \mu\text{S cm}^{-1}\text{g}^{-1}$  добијене су код високо вигорозног семена, а изнад  $12 \mu\text{S cm}^{-1}\text{g}^{-1}$  код семена слабе клијавости и ниских вредности у хладном тесту (испод 50%).

Развој вигор тестова је константан а њихова примена многострука.

У последње време степен физиолошке клијавости (стварање 2 mm примарног корена) повезан је са ницањем у пољу комерцијалних партија кукуруза (**Khajeh-Hosseini et al., 2009**).

**Matthews et al. (2010)** дошли су до закључка у својим истраживањима да средње време клијања и једнократна оцена појаве примарног корена (6 дана на 13 °C) је упоредива са вредностима добијеним у хладном тесту (4 дана на 10 °C, а затим 3 дана на 25 °C у мраку). Партије које су имале мањи проценат клијавости у хладном тесту су константно имале спорије пробијање примарног корена у четири лабораторије.

Једнократна оцена како на 13 °C тако и на 20 °C била је у значајној корелацији са ницањем у пољу (**Matthews et al., 2011**). У компаративним испитивањима 6 партија, тест појаве примарног корена на 20 °C дао је уједначено рангирање како унутар тако и између лабораторија.

Увођење теста појаве примарног корена као саставног дела стандардног теста клијавости може бити изузетно практично јер би се на тај начин уштедело и време и семе, а користила би се процедура која је у сагласности са ISTA правилима.

Многи вигор тестови узимају у обзир величину клијанаца после одређеног времена од постављања семена на клијање. Уочено је да семе које прво клија раније почиње да ствара клијанце и има већу дужину клијанаца. Ово је довело до предлога да се узрок разликама у дужини клијанаца заправо приписује времену потребном да семе клија, како унутар партије тако и између партија семена (**Ellis, 1992**).

Значај утврђивања развијености клијанаца јасно је наглашен од многих истраживача, али и поред тога због изражене потешкоће у практичном раду тест пораста клијанаца није нашао примену у свакодневном лабораторијском испитивању. Развој компјутерске технологије пружа могућност да се мерење дужине клијанаца изведе веома ефикасно коришћењем скенера и наменски конструисаних програма.

Софтверски програм SVIS (Seed Vigour Imaging System) развијен од стране Универзитета у Охају (OSU - Ohio State University) за оцену вигора семена салате (**Sako et al., 2001**), успешно се користи и код других биљних врста, као нпр. кукуруза (**Alvarenga et al., 2012; Otoni и McDonald, 2005**), соје (**Hoffmaster et al., 2003; Marcos Filho et al., 2009**), кикирикија (**Marchi et al., 2011**) и пшенице (**Silva et al., 2012**).

**Pinto et al. (2015)** имали су за циљ да примене методологију скенирања клијанаца кукуруза помоћу SAS (Seed Analysis System) програма и процене могућност коришћења ове опреме у оцени вигора (физиолошког потенцијала) семена кукуруза. Резултати су потврдили да је средња дужина корена ефикасан параметар за оцену вигора семена кукуруза. Слични резултати су добијени од стране **Coimbra et al. (2009)**, који су оцењивали ефикасност различитих вигор тестова на семену кукуруза шећерца.

Постоји велики број процедура за испитивање вигора семена укључујући оне које директно или индиректно оцењују стање метаболизма или идентификују толерантност семена на специфичне стресове. У последње време, нова сазнања су

добијена из области молекуларне биологије, биотехнологије, биофизике и анализе семена и клијанаца путем скенирања. Ови приступи испитивања семена су важна допуна традиционалним истраживањима (**Marcos Filho, 2015**).

Савремена истраживања (**Basra et al., 2011.; Afzal et al., 2012; Rehman et al., 2015**) усмерена су ка стимулацији вигора семена и раног пораста клијанаца применом технике бубрења и накнадног сушења семена (seed priming) или фолијарне апликације регулатора раста, антиоксиданата и осмопротектаната.

Значајно побољшање ницања у пољу и јачине никлих биљака као и синхронизација свилања и метличења постигнута је путем потапања семена кукуруза у осмотикум (**Nagar et al., 1998**).

Интересовање за истраживања вигора семена кукуруза се мењало током времена. Повећање светске популације изазвало је потребу за повећаном производњом хране па су оплемењивачи као главни циљ имали стварање сорти и хибрида са високим приносима где квалитет семена није спадао у селекционе критеријуме. **Burris (2000)** наводи да су семенари забринути због те ситуације да оплемењивачи не узимају у обзир квалитет семена у оплемењивачким програмима.

Ипак са покретањем оплемењивачких програма у циљу побољшања хранљивих вредности семена (са повећаним садржајем протеина и уља) обновљено је интересовање и за квалитет зрна. У циљу повећања нутриционих вредности коришћена је егзотична гермплазма јер у комерцијалним хибридима не постоји довољна варијабилност (**Dunlap et al., 1995; Pollak, 2002; Salhuana et al., 1998**). Истраживања **Munamava et al. (2004)**, била су усмерена ка испитивању утицаја садржаја уља и протеина на квалитет семена и карактеризацију интродукованих самооплодних линија са становишта квалитета семена. Дошли су до закључка да је веома важно оценити квалитет семена самооплодних линија у раним фазама процеса селекције, поготову када се уводи егзотична гермплазма.

Истраживања **Goggi et al. (2007)** потврђују да је одабирање самооплодних линија добре клијавости веома рано у процесу оплемењивања корисно и важно за побољшање клијавости и ницања у пољу.

Прецизна процена ницања у пољу је тешка, али је кључна ако семенске компаније желе да произведу и продају високо квалитетно семе кукуруза. Способност

оплемењивача да изврше селекцију вигорозних самооплодних линија отпорних на ниске температуре је одлучујућа у овом процесу јер је клијање хибридног семена под стресним хладним условима под великим утицајем мајчинске компоненте (**Burris, 1977**).

**Nerling et al. (2013)** су проучавали утицај (допринос) родитељске гермплазме на физиолошки квалитет семена кукуруза добијеног међусортним укрштањима популација, слободно опрашујућих сорти и комерцијалних хибрида. Квалитет семена из реципрочних укрштања и родитељских компоненти испитиван је помоћу теста клијавости, теста убрзаног старења, теста проводљивости, утврђена је брзина клијања, садржај влаге и ницање у пољу. Хетерозис у односу на просек родитеља за клијавост се кретао од -8,16% до 5,32%. Ови резултати као и резултати других аутора (**Gomes et al., 2000; Reis et al., 2011**), потврђују да постоји хетерозис за клијавост и да је могуће створити хибрид изузетног квалитета семена.

### 3.2. Дуговечност семена кукуруза

Кукуруз је биљна врста за коју је познато да јако добро одржава почетни квалитет семена. У контролисаним условима кукуруз одржава клијавост до 10 година (**Priestley, 1986**). Према подацима **Jevtić (1986)** при чувању у добрим складишним условима семе кукуруза чува високу клијавост у току две до четири године, а при врло повољним условима (температура 5 °C и влажност семена од 12%) семе не губи клијавост до 10 година.

Генетичка дивергентност кукуруза је веома велика, а она се одражава и у погледу дуговечности тј. способности семена да очува клијавост. Семе кукуруза шећерца је пример слабе способности очувања клијавости. Генотипови са повећаним садржајем уља такође брже подлежу оксидативним променама приликом чувања што доводи до опадања клијавости.

Семе хибрида има већу моћ очувања клијавости него семе самооплодних линија. После три године чувања испитиване самооплодне линије су драстично смањиле своју клијавост, док су хибриди одржали почетну клијавост (**Đukanović, 1999**).

Испитивањем клијавости старог семена неких од родитељских компоненти кукуруза, запажена је карактеристична ненормалност клијанаца, која се манифестује закржљалим примарним кореном и slabим развојем секундарних коренова. Примарно стабаоце ових клијанаца је нормално, јако и несразмерно развијено у односу на коренов систем (**Vesković et al., 1994**).

Стављањем семена кукуруза са 18% влаге на 45 °C у трајању од 30 сати дошло је до смањења вигора у смислу смањене брзине клијања, док је проценат клијавости био незнатно смањен (**Bingham и Merrit, 1999**). Дужина примарног корена је евидентирана свака 24 часа и установљено је смањење код семена изложеног третману старења за 31%. Време ћелијске деобе је продужено код семена подвргнутог вештачком старењу, међутим, главни узрок смањене дужине корена јесте редукован раст ћелија.

Сматра се да су процеси липидне пероксидације примарни узрок оштећења семена током чувања (**Gidrol et al., 1989; Ferguson et al., 1990**). До липидне пероксидације долази под утицајем слободних радикала, који настају или аутооксидацијом (садржај влаге у семену испод 6%) или под дејством оксидативних ензима као што је липоксигеназа (садржај влаге у семену изнад 14%) (**McDonald, 1999**).

Слободни кисеонични радикал је молекула кисеоника који садржи један неспарени електрон и убраја се у хемијски најреактивније молекуле. Активни облици кисеоника су: супероксидни радикал ( $O_2 \cdot^-$ ), водоник пероксид ( $H_2O_2$ ) и хидроксилни радикал ( $OH \cdot^-$ ), а настају у сукцесивним реакцијама редукције (**Gille и Joenje, 1991**). Хидроксилни радикал представља највећу опасност јер тренутно реагује са протеинима, липидима и ДНК изазивајући значајна оштећења ћелија.

Биљке садрже одбрамбене системе који их штите од оштећења изазваних редукционим процесима (**Larson, 1997**). Ови механизми могу бити ензимске природе (супероксид-дизмутаза, каталаза, пероксидаза и други) и неензимске природе (витамин Е, витамин Ц, каротеноиди и други).

Биљне врсте се у великој мери разликују по антиоксидативној активности. **Štajner et al. (2000)** утврдили су да семе кукуруза, пшенице и шећерне репе има високу отпорност на оксидативни стрес због ниске липидне пероксидације, а високе

активности антиоксидативних ензима. Кукуруз је показао знатно већу активност супероксид-дизмутазе и каталазе у односу на друге врсте.

Истраживања дуговечности семена кукуруза 232 узорка из активне колекције банке гена CIMMYT (Међународни центар за унапређење кукуруза и пшенице), чувана од 3 до 46 година имала су за циљ оптимизацију протокола за праћење клијавости (Costich et al., 2015). На основу добијених резултата закључено је да се клијавост од 85% може са сигурношћу одржавати уколико се интервал између провера клијавости са првобитних 5 година продужи на 10-15 година.

Семе самооплодних линија има велику вредност у семенској производњи. Дугорочно чување основног семена је уобичајено. Семенским компанијама су потребне информације на основу којих би се доносиле одлуке које би партије семена требало употребити, а које би се безбедно могле сачувати за наредну сезону.

Процент клијавости је недовољна информација за доношење таквих одлука јер се већина партија складишти са приближно једнаком клијавошћу (преко 90%), али семе не чува подједнако добро клијавост под истим условима у складишту.

Три партије семена три хибрида кукуруза Syngenta Seeds чувана су 15 месеци у хладним условима (10 °C и 30% релативне влажности), собним условима, и контролисаним суб-оптималним условима (20 °C и 70% релативне влажности). Свака три месеца испитивана је клијавост и вигор семена помоћу хладног теста и теста убрзаног старења. Активност каталазе, алкохол дехидрогеназе и  $\alpha$ -амилазе одређена је помоћу електрофорезе (Timóteo и Marcos-Filho, 2013). Варирање у вигору и активности ензима семена кукуруза првенствено је било под утицајем генотипа.

Revilla et al. (2009) су у својим истраживањима покушали да идентификују гене одговорне за клијање старог семена. Испитивали су семе након 20 година чувања применом SSR маркера (simple sequence repeats), а као материјал коришћена је самооплодна линија шећерца P39 и самооплодна линија стандардог квалитета зрна EP44. Аутори су посебно испитивали семе које је задржало способност клијања, а посебно мртво семе јер су сматрали да тако могу доћи до важних информација о ефектима старења. Вршено је поређење у фреквенцији алела код живих и мртвих семена како би се одредио утицај генетичке варијабилности на клијавост и утврдили потенцијални кандидат гени. Идентификовано је пет нових кандидат гена, од којих су

три одговорна за отпорност према болестима, један за детоксикацију електрофилних једињења и један за регулацију транскрипције.

Старењем семена самооплодних линија кукуруза смањује се клијавост и вигор. Током чувања, нека семена умиру, док преостала приликом умножавања стварају нова семена побољшане клијавости и вигора у односу на просек те линије (**Revilla et al., 2006**). Резултати ових аутора показали су да постоји наследна генетичка варијабилност за дуговечност семена унутар самооплодних линија, што омогућава деловање природне селекције током чувања семена на параметре квалитета семена.

Велики број истраживања покренут је у циљу прављења модела који би прецизно предвидео старење семена. Формирани су модели који у обзир узимају температуру чувања и влагу семена (**Gill и Delouche, 1973; Burris, 1980**), затим су допуњени са факторима почетног квалитета семена (**Ellis и Roberts, 1980a, 1980b**) са претпоставком да старење семена има нормалну дистрибуцију у свим складишним условима и да је степен старења семена свих партија једне врсте идентичан при истим условима чувања. Последња претпоставка је оповргнута истраживањима **Tang et al. (1999a, 1999b)** који су развили нови алтернативни модел за предвиђање промена у квалитету хибридног семена кукуруза (**Tang et al., 2000**). Модел је накнадно тестиран за предвиђање старења семена самооплодних линија (**TeKrony et al., 2001**). Насупрот очекивањима, добијени резултати су показали да самооплодне линије са ниским или високим вигором пре чувања губе клијавост истом брзином као и хибридно семе сличног почетног квалитета - вигора.

У свим наведеним истраживањима коришћен је тест убрзаног старења. Ово је стандардизован тест за испитивање вигора семена соје (**ISTA, 2015**), али је велику примену нашао у испитивањима дуговечности многобројних врста семена у банкама гена.

**Skott (1981)** је у својим истраживањима тест убрзаног старења користио као технику у рекурентној селекцији кукуруза са продуженом дужином живота семена. Као почетни материјал коришћене су популације кукуруза, а свака наредна генерација је добијена тако што је семе подвргавано убрзаном старењу на температури од 42 °C и релативној влажности од 100%. Код једне популације клијавост у трећој генерацији је била двоструко већа у односу на почетну.

Применом генетичких маркера дошло је до бољег разумевања генетичке контроле старења семена. Генетички локуси одговорни за вигор семена су утврђени код пиринча, јечма, пшенице, уљане репице и *Arabidopsis thaliana*. Протеомска анализа вигора семена код *A. thaliana* и кукуруза открила је заједничке карактеристике семена које је подвргнуто вештачком старењу (**Wu et al., 2011**).

**Han et al. (2014)** су користили SNP (single nucleotide polymorphism) маркере за мапирање QTL-ова (quantitative trait loci) за четири параметра вигора семена код две рекомбинантне самооплодне линије после убрзаног старења.

### 3.3. Толерантност на ниске температуре при клијању

Ниска температура земљишта приликом ницања је главни ограничавајући фактор у гајењу бильних врста тропског порекла у регионима са умереном климом. Из тих разлога, предвиђање ницања у пољу и рани пораст биљака, као и побољшање истих, је од изузетне важности за семенску индустрију и била су предмет бројних оплемењивачких програма кукуруза (**Martin et al., 1988**) и сирка (**Salas Fernandez et al., 2014**).

Кукуруз је интродукован у Јужну Европу из тропских крајева Америке, а касније је адаптиран за гајење у севернијим крајевима (**Revilla et al. 2003b**). У току ових кретања кукуруз се прилагодио хладним условима под утицајем природне и вештачке селекције.

Оплемењивање кукуруза на толерантност према ниским температурама је започето 1914. у Wisconsin-у користећи сорту Holden Glow. После много година селекције ова сорта је доведена до одличне отпорности на ниске температуре (**Pešev, 1970**).

Циљ оплемењивача је био повећање отпорности на ниске температуре самооплодних линија слабог вигора како би се омогућила рентабилна производња хибридног семена (**Bennett, 2015**).

Почетком 20-ог века проблем производње мале количине хибридног семена је превазиђен предлозима **Jones-a (1918)** да једноструки хибриди постану родитељске компоненте, односно да се у производњу уведу четворолинијски хибриди. Међутим,



интензивном селекцијом дошло је до поправки линија *per se* што је омогућило да у производњу буду уведени приноснији и униформнији једноструки хибриди (**Lee и Tracy, 2009**).

Ниске температуре у току клијања и почетним фазама развића кукуруза могу бити штетне за накнадни развој биљака и продуктивност (**Stewart et al., 1990; Farooq et al., 2008b, 2008c, 2008d, 2008e**). Минимална температура за клијање семена износи 8 °C, при којој је клијање веома споро, па је уобичајена пракса да сетва почне када се земљиште загреје у сетвеном слоју на температуру од 10 °C. Раст кореновог система кукуруза одвија се у температурном опсегу од 9 до 40 °C, али коренови могу да преживе кратак период температура близу 0 °C (**Blum, 1988**). **Eagles (1982)** наводи да на температурама испод 10 °C долази до анаеробног дисања семена кукуруза и испуштања етанола у спољну средину. Под благим стресом хладних услова успорен је развој корена и капацитет усвајања воде и минералних материја од стране биљака (**Stamp et al., 1997**).

Ниске температуре изазивају смањену елонгацију и деобу ћелија. Тако да у тренутку када се температура повећа, лисна површина је премала да подржи неопходан раст клијанаца. Раст листова је редукован због недовољно развијеног кореновог система што је под јаким утицајем температуре земљишта (**Richner et al., 1996**). Дакле рани пораст листова је под утицајем температуре земљишта више него температуре ваздуха (**Stone et al. 1999**).

Листови младих биљака кукуруза у пољу су под утицајем температурних промена. Листови развијени под оптималним температурама могу да се аклиматизују за субоптималне температуре. Способност адаптације након ниских температура је одлучујућа у одређивању разлика између генотипова (**Stamp, 1986**).

Почетком вегетационог периода, у априлу и мају месецу, кукуруз се налази у фази 6-9 листа, односно у периоду формирања генеративних органа (вегетационе купе, клипа и метлице). Ако у том периоду дође до појаве ниских температура или касних мразева, то може довести до смањења генетичког потенцијала, односно редукције броја редова зрна, броја зрна у реду и дужине клипа без обзира на временске услове у остатку вегетационог периода.

Производња хибридног семена кукуруза зависи од правовремене жетве која обезбеђује максимални квалитет семена. У испитивањима утицаја фазе зрелости на квалитет семена, утврђено је да се максимална клијавост постиже веома рано када је садржај воде у семену висок. Жетва за већину зубана се обавља када семе постигне максималну масу (физиолошка зрелост). У тој фази вода семена се креће у опсегу од 30 до 38% (Wych, 1988).

**TeKrony и Hunter (1995)** су испитивали утицај зрелости на вигор семена код великог броја генотипова кукуруза зубана на различитим локацијама у току четири године. Као материјал коришћене су самоопходне линије (B73 и Мо17), једноструки, двоструки и троструки хибриди и популације кукуруза. Вигор семена је испитиван хладним тестом и тестом проводљивости. Вигор семена је био на највишем нивоу у физиолошкој зрелости што је одговарало 4. фази црног слоја код једноструких и двоструких хибрида. Максимални вигор семена код самоопходних линија је достигнут нешто касније између 4. и 5. фазе црног слоја.

Хладни стрес код кукуруза је комплексан феномен са физиолошким и биохемијским реакцијама на ћелијском и нивоу читавог организма (Farooq, 2009). Асимилација  $CO_2$  у листовима је смањена првенствено због оштећења на мембранама, фотоинхибиције и поремећене активности различитих ензима. Појачан метаболички флуks у систему фотореспирације доводи до оксидације у ткивима и стварања слободних радикала (ROS – reactive oxygen species). Оштећења макромолекула настала дејством слободних радикала у условима хладног стреса су главна препрека за раст. Осмолити ниске молекуларне масе укључујући глицинбетаин, пролин и органске киселине су пресудни за одржавање ћелијских функција под условима хладног стреса. Хормони раста (салицилна, гиберелинска и абсцисинска киселина) регулишу одговор кукуруза на стрес ниских температура. Полиамини и неколико ензима делују као антиоксиданти и ублажавају штетне ефекте хладног стреса.

**Esim и Atici (2016)** истраживали су везу између унутрашњих нивоа сигналних молекула (азот оксида – NO, салицилне киселине – SA, абсцисинске киселине – ABA) и антиоксидативних система у одговору кукуруза на хладни стрес. Резултати су показали да је под стресним хладним условима дошло до оксидативних оштећења и промена код сигналних молекула (NO, SA, и ABA) и активности нитрат редуктазе.

Неповољни услови средине као што су ниске температуре изазивају транскрипцију бројних гена како би биљка прилагодила раст у таквим условима (Nguyen et al., 2009). Истраживачи су идентификовали 18 гена индукованих хладноћом, од којих већина раније није била повезана са реакцијом кукуруза на ниске температуре. Слично хладном стресу, испитиван ген ZmCOI био је индукован у условима суше, сланог стреса, високих температура, високог интензитета светлости и повреда. То указује да је група гена (ZmCOI6.1, ZmACA1, ZmDREB2A и ZmERF3) генерално одговорна за реакцију кукуруза на абиотичке стресове.

Велики напори били су посвећени разумевању генетике и физиологије клијања на ниским температурама (Burris, 2000; Hoegemeyer и Gutormsen, 2000).

Велики број истраживача је дошао до закључка да генетичка основа утиче на толерантност на ниске температуре и да је та особина наследна (Pinell, 1949; Mortimore, 1949; Helgason, 1953; Grogan, 1970; Mock и Eberhart, 1972).

Szundy и Kovacs (1981a, 1981b) су установили да је проценат хетерозиготности најважнији фактор у клијању семена. Инбред линије клијају спорије и имају мању клијавост у односу на хибриде.

Интересовање оплемењивача за толерантност према ниским позитивним температурама се увећава због потреба за раном сетвом кукуруза (Darkó et al., 2011; Frascaroli и Landi, 2013; Revilla et al., 2005; Strigens et al., 2012, 2013).

У гајењу кукуруза рана сетва омогућава дужи вегетациони период чиме су обезбеђени услови за веће и стабилније приносе и већа је могућност да се избегне летња суша (Kucharik, 2006). Ово је нарочито важно за регионе где су пролећа хладна и влажна, а лета изузетно топла и сушна. Рана сетва кукуруза подразумева гајење генотипова са особинама добре клијавости и вигора под стресним условима.

Revilla et al. (1999) почетни вигор дефинишу као способност да се створе асимилативи након што се искористе резерве из семена. Упоредо са тим обухваћени су и следећи аспекти: боја изданка, генерално добар вигорозан изглед младих биљака и клијање кукуруза под хладним условима.

Оплемењивање кукуруза за рану сетву захтева формирање почетне гермплазме са особинама добре клијавости и вигора под стресним условима (Mock и Pearce, 1975; Gupta, 1985; Shawn, 1988; Lauer et al. 1999). Неколико аутора је идентификовало

генотипове кукуруза адаптиране на хладне услове гајења и рану сетву (**Semuguruka et al. 1981; Mosely et al. 1984; Verheul et al. 1996; Revilla et al. 2000, 2003a; Lee et al. 2002; Adetimirin et al. 2006**). Ипак толерантност на хладни стрес у елитној гермплазми је само делимична и пожељне гене је тешко идентификовати (**Adetimirin et al., 2006; Rodríguez et al., 2008**).

Истраживања у Институту за кукуруз „Земун Поље“ указала су да различите самоопходне линије и хибриди различито реагују на ниске температуре. Примењено је неколико тестова: хладни тест, оцена отпорности биљака на мраз у фази три листа и продужено деловање ниских температура на младе биљке кукуруза. Према испитиваним параметрима генотипови су подељени на толерантне и неотпорне на ниске температуре.

Средње рани хибриди у Северној и Централној Европи су најчешће добијени из укрштања хетеротичних група зубана и тврдунаца (**Shaw, 1988**). Ове групе су формиране педесетих година 20. века укрштањем Европске популације зубана и линија тврдунаца из кукурузног појаса Америке (Corn Belt). Линије тврдунаца су допринеле толерантности на ниске температуре, а линије зубана су допринеле високом потенцијалу родности (**Hallauer, 1990**).

Опште прихваћено схватање јесте да су генотипови раних група зрења највише прилагођени клијању при ниским температурама. Ипак, истраживања показују да сорте кратке вегетације које се гаје у хладним регионима најчешће не поседују толерантност на ниске температуре, док се код сорти дуге вегетације које подразумевају рану сетву и ницање у хладним условима чешће јавља наведена особина (**Revilla et al., 1998**).

**Mock и Skrdla (1987)** су утврдили да постоји изузетно велика генетичка варијабилност у погледу толерантности на ниске температуре у испитивању 144 генотипа који су представљали репрезентативан узорак гермплазме из свих региона где се кукуруз гаји.

Самоопходне линије кукуруза и њихови хибриди добијени диалелним укрштањем, испитивани су ради утврђивања клијавости семена, ницања у пољу и толерантности на хладноћу (**Mock и McNeill, 1979; Chen и Lin, 1982**). Линије са „Lancaster Supercrop“ и „Iowa Stiff Stalk Synthetic“ гермплазмом имале су пожељне гене за толерантност на ниске температуре (**Mock и McNeill, 1979**).

Две линије из CIMMYT Pool 5 клијале су значајно брже на ниским температурама него две елитне линије зубана адаптиране за гајење у кукурузном појасу. Оне су у већем степену трансформисале семе у нови корен и изданак, указујући да имају бржи пораст клијанаца. То је пре свега због бржег искоришћавања резервне хране у семену, него због ефикаснијег процеса трансформације (**Eagles, 1982**).

Генетичка регулација толерантности кукуруза према ниским температурама се базира на адитивно-доминантном моделу, при чему је за клијање и вигор семена адитивни ефекат много важнији од доминантног (**Revilla et al., 1999, 2000**).

**Kollipara et al. (2002)** користили су рекомбинантне самоопходне линије (**RILs**) добијене из укрштања B73xMo17 и тестирали их на толерантност према ниским температурама. Ови резултати су допринели бољем разумевању деловања гена укључених у одговор на стресне услове приликом сазревања и клијања семена.

**Rodríguez et al. (2007)** су истраживали нову стратегију за побољшање толерантности на ниске температуре, укрштањем толерантних самоопходних линија и популација кукуруза. Већина укрштања дала је боље резултате у лабораторијским и пољским испитивањима у поређењу са популацијама *per se* и хибридика коришћеним као контроле. Резултати указују да би укрштања уске и широке генетичке основе могла дати одличну почетну основу за даље оплемењивање на толерантност према ниским температурама у току ницања.

**Rodríguez et al. (2010)** су покушали да идентификују нове популације које би биле корисне за оплемењивање кукуруза толерантног на хладноћу. У испитивањима је коришћена Европска гермплазма (EUMLCC - European Union Maize Landraces Core Collection) односно репрезентативни узорак сорти кукуруза из 6 Европских земаља. Популација Aranga1 из Шпаније се показала као најбољи кандидат за почетну популацију оплемењивања кукуруза за рану сетву.

**De la Torre и Biasutti (2015)** су имали за циљ да утврде комбинационе способности и реципрочан ефекат за брзи рани пораст (вигор) у лабораторији и пољским условима као и процену приноса семена. Испитивано је двадесет хибрида добијено диалелним укрштањем 5 самоопходних линија. Адитиван ефекат се показао важан код варијабли оцењених у пољу, док је у лабораторијским условима адитиван

ефекат био доминантан. Реципрочни ефекат је важан за све варијабле указујући на потребу високо вигорозне мајчинске компоненте.

**Revilla et al. (2014)** су тестирали толерантност два панела самооплодних линија (тврдуници и зубани) на стресне хладне услове у пољу и контролисаним условима у клијалишту. Диалелна анализа је показала да су укрштања самооплодних линија из групе No Iodent и групе Northern Flint имала високе комбинационе способности, као и укрштања из обе групе са самооплодним линијама из групе Northern Flint D171.

Применом генетичких маркера дошло је до бољег разумевања генетичке контроле толерантности кукуруза на хладне услове.

**Sobkowiak et al. (2014)** су у испитивањима две самооплодне линије кукуруза различите толерантности на ниске температуре утврдили да важну улогу у понашању при стресним условима ницања има 20 гена који кодирају протеине ћелијског зида и мембрана.

**Silva-Neta et al. (2015)** су имали за циљ да окарактеришу самооплодне линије у погледу толерантности на хладне услове приликом клијања. Гени *AOX* и *Zm-ANI3* су се показали као одговарајући за идентификацију толерантног материјала за клијање при ниским температурама.

Анализом QTL-ова (**Rodríguez et al., 2014**) на популацији добијеној укрштањем толерантне (EP42) и осетљиве (A661) самооплодне линије, идентификовано је 10 QTL-ова, од којих три геномске регије на хромозомима 2, 4 и 8 регулишу развој клијанаца у хладним условима. Ове регије могу се користити у оплемењивачким програмима (marker assisted selection) и за фино мапирање, тј. утврђивање присуства гена одговорних за толерантност на ниске температуре.

Неки аутори сматрају да је класично оплемењивање у погледу толерантности на хладни стрес дало свој максимум (**Revilla et al., 2005b**). Увођење нових техника, као на пример молекуларних маркера, до сада није дало задовољавајуће резултате (**Leipner et al., 2008**). Иако је идентификовано неколико локуса (QTLs) одговорних за толерантност на ниске температуре, већина од њих није била довољно поуздана за МАС селекцију (marker-assisted selection). Ипак, неки QTL-ови су били константни када су у истраживањима коришћени јасно различити родитељи из популације раздвајања (**Presterl et al., 2007**). Селекција генома је скоро предложена од стране

**Strigens et al. (2013)** који су урадили мапирање читавог генома у колекцији самооплодних линија кукуруза за толерантност на ниске температуре.

### 3.4 Генетичка дивергентност кукуруза и вигор

У циљу добијања самооплодних линија побољшаног квалитета семена неопходно је извршити категоризацију селекционог материјала. Упознавање генетичке дивергентности самооплодних линија кукуруза са становишта квалитета семена је од великог значаја.

За изучавање генетичке варијабилности селекционог материјала, његове дивергентности и припадности хетеротичним групама, селекционери могу користити податке о пореклу линија, методе тестирања или генетичке маркере.

Подаци о пореклу могу имати низ ограничења, јер претпостављају подједнак пренос гена од оба родитеља на потомство, а занемарују промене у фреквенцији гена које могу настати услед селекције, мутација, миграција или генетичког дрефт-а. Ови подаци занемарују сличност између линија која се може приписати различитој пропорцији локуса који су слични по алелима, али не и по пореклу (**Messmer et al., 1991**).

Методe тестирања подразумевају стварање хибридниx комбинација, постављање пољских огледа и њихову статистичку обраду (диалел). Осим што је велики утицај еколошке варијансе на такве резултате, овај метод је непрактичан јер захтева више времена и средстава него употреба генетичких маркера.

Примена генетичких маркера је значајно допринела ефикаснијем одређивању генетичке основе и селекцији линија и хибрида кукуруза, утврђивању везе појединих локуса са агрономски значајним особинама, итд. Применом генетичких маркера процена дивергентности самооплодних линија постаје једноставнија и ефикаснија, јер је овим техникама могуће за веома кратко време обрадити велики број линија. Генетички маркери могу се сврстати у три групе: морфолошке и биохемијске, које можемо означити као индиректне генетичке маркере, док би директни генетички маркери били молекуларни маркери.

Морфолошки маркери представљају податке који се односе на морфолошке и агрономске особине генотипа. Многи аутори доводе у питање поузданост фенотипских маркера у дескрипцији, диференцијацији и идентификацији генотипова, и процени диверзитета међу њима. Као аргументе истичу: ограничен број морфолошких маркера, низак степен полиморфизма, полигену природу наслеђивања и експресију под утицајем фактора спољашње средине и фазе развоја (**Roldan-Ruiz et al., 2001; Giancola et al., 2002; Smykal et al., 2008**). Смањеној поузданости морфолошких маркера доприносе и субјективност посматрача, ограничења успостављеног система оцена и несавршеност мерења (**Roldan-Ruiz et al., 2001**).

Биохемијски маркери се заснивају на полиморфизму протеина. Протеински комплекси у различитим ткивима као специфични производи гена могу да укажу на генетичку специфичност испитиваног материјала и да се користе као маркери (**Wang et al., 1994**). Протеински маркери представљају копије информација сачуваних у ДНК што их чини добрим извором за ефикасну процену генетичке дивергентности гермплазме кукуруза (**Iqubal et al., 2014**). Изоензими као различите форме једног ензима омогућили су идентификацију преко 90% линија које су коришћене за производњу комерцијалних хибрида у САД у периоду од 1960-1989 (**Smith, 1989**). Ова метода успешно је коришћена за одређивање генетичке дивергентности гермплазме кукуруза, карактеризацију линија и хибрида и испитивање генетичке чистоће семена. Њене предности се огледају кроз могућност праћења генетичке варијабилности на специфичним локусима, кодоминантно наслеђивање, сама техника није компликована и тумачење резултата је лако. Недостаци се огледају у томе што се користе производи специфичних гена који не морају нужно представљати диверзитет генома, користи се ограничени број локуса и прате се само оне промене на ДНК које доводе до промене електрофоретске мобилности протеина.

Молекуларни маркери се сматрају најбољим средством у генетичким истраживањима, пре свега због могућности разликовања генотипова на нивоу ДНК чак и када се ради о уској генетичкој основи. Додатна предност молекуларних маркера је та што су они под малим утицајем спољашње средине. Могућност употребе молекуларних маркера у циљу стварања супериорних хибридних комбинација утврдио је **Brummer (1999)**. Молекуларни маркери су уведени са развојем RFLP-а (Restriction



Fragment Length Polymorphism – полиморфизам дужине рестрикционих фрагмената). Велики напредак у употреби молекуларних маркера је настао открићем полимеразне ланчане реакције (Polymerase Chain Reaction – PCR), технике која омогућава једноставну, брзу и јефтину анализу генома. Методе које се заснивају на PCR-у могу се поделити на оне које користе насумичне прајмере (RAPD – Random Amplified Polymorphic DNA, AFLP – Amplified Fragment Length Polymorphism) и методе којима се умножавају познате секвенце (SSR – Simple Sequence Repeats).

Велики број истраживача се бавио питањем који тип маркера обезбеђује најбољу процену генетичких односа и који број прајмера треба укључити у истраживања. **Nagy et al. (2003)** су поредили RAPD и SSR маркере са морфолошким маркерима и закључили да оба маркер система само делимично рефлектују генетичке односе између посматраних самооплодних линија кукуруза. Само комбинована анализа подржана морфолошким подацима обезбеђује прецизно груписање блиских генотипова у групе формиране на основу педигре података и кластер анализе (**Yadav и Singh, 2010**). **Bauer et al. (2005)** наводе резултате истраживања на 11 раних хибрида кукуруза FAO групе зрења 100-200, помоћу протеинских и RAPD маркера. RAPD су дали значајно виши ниво полиморфизма у односу на протеинске маркере, али је већа сагласност педигре података са генетичком дистанцом утврђена при употреби протеинских маркера. Значајно вишу сагласност педигре података са генетичком дистанцом на бази RAPD анализе у односу на протеинске маркере утврдили су **Srdić et al. (2007)**.

Неки истраживачи предлажу протеине као маркере, пошто су они резултат експресије гена, те могу да укажу на генетичку специфичност испитиваног материјала. На основу наведеног закључено је да могу бити коришћени као маркери за генетичку карактеризацију хибрида и самооплодних линија кукуруза, као и за испитивање генетичке чистоће семена (**Koranyi, 1989; Wang et al., 1994; Mladenović Drinić и Konstantinov, 2002**).

Укупни протеини семена показују висок ниво полиморфизма, и на њихову експресију, спољашња средина има веома мали утицај (**Gepts et al., 1986**).

PAGE (полиакриламид гел електрофореза) је одиграла главну улогу и омогућила да се сазна о варијабилности у физичким и хемијским карактеристикама протеина (**Akbar et al., 2012**).

Електрофоретско раздвајање протеина на различитим врстама гела је најчешће коришћена биохемијска метода у испитивању чистоће и униформности генотипова како кукуруза тако и других гајених биљних врста. Скробна електрофореза изозима (SDS-PAGE), различитих изо-форми ензима (протеина) које су код кукуруза најактивније у колеоптилу клијанаца, је веома коришћена за одређивање генетичке чистоће семена (**Cardy et al., 1980; Goodman и Stuber, 1980; Cardy и Kannenberg, 1982**), као и за карактеризацију самооплодних линија (**Stuber и Goodman, 1983**) и хибрида (**Smith, 1984**) кукуруза.

Резервни протеини семена коришћени су као биохемијски маркери у идентификацији многих биљних врста (**Wang et al., 2000; Zhao et al., 2003, Noli, 2004**).

Класификација резервних протеина семена је извршена на основу њихове растворљивости: албумини су растворљиви у води, зеини у растворима алкохола док се глобулини растварају у благим растворима соли (**Shewry и Casey, 1999**). У протеинском комплексу ткива клице зрелог семена кукуруза преовлађују, албумини и глобулини (**Konstantinov и Mladenović Drinić, 2000**).

Постоје опсежне студије резервних протеина семена кукуруза широм света у којима је коришћена техника SDS-PAGE (**Koranyi, 1989; Popereya et al., 1989; Wang et al., 1994; Gorinstein et al., 1999; Shah et al., 2003; Abdel-Tawab, 2004; Anjali и Sanjay, 2012**). Мада је ова метода прецизна и поуздана у идентификацији непожељних генотипова у хибридима и линијама кукуруза (**Tanksley, 1983**), има одређене недостатке као што су дужина трајања и цена анализе.

Ултра Танкослојно Изоелектрично Фокусирање (UTLIEF) представља електрофоретско раздвајање резервних протеина семена кукуруза на ултра танком полиакриламидном гелу у присуству рН градијента. Различити протеини имају различито нето наелектрисање у одговарајућим рН условима. Пуштањем електрофорезе позитивно наелектрисани протеини се крећу ка катоди, а негативно наелектрисани ка аноди, све док не достигну своју изоелектричну тачку (електрични набoj једнак „0<sup>с</sup>“), где се заустављају тј. „фокусирају“ на гелу (**Westermeyer, 2001; Leist,**

**2005).** UTLIEF представља брзу, јефтину и поуздану технику за раздвајање протеина директно из семена. Ова метода је призната за верификацију генотипова и идентификацију генетичке чистоће хибридног семена кукуруза и сунцокрета од стране ISTA и приказана у **ISTA Правилима (2015)**.

**Liu et al. (2010)** су у својим истраживањима полиморфизма унутар и између сорти сирка користили технику ултра танкослојног изоелектричног фокусирања. Добијени резултати су указали да UTLIEF у односу на SDS-PAGE има бољу резолуцију, може се користити за раздвајање протеина са веома малим разликама у саставу аминокиселина и могуће је испитати већи број узорака по гелу. UTLIEF метода је поуздан инструмент за дескрипцију сорти у лабораторијама за испитивање семена, банкама гена, као и оплемењивачким програмима за детекцију хибрида и степена само и странооплодње.

#### 4. РАДНА ХИПОТЕЗА

У раду се полази од хипотезе да резултати вигор тестова боље одређују квалитет семена од стандардног теста за клијавост.

Очекује се да вредности добијене применом вигор тестова (стресних и биохемијских) боље корелирају са ницањем у пољу.

Претпоставка је да се применом хладног теста могу идентификовати самоопходне линије кукуруза које имају бољу толерантност на ниске температуре при ницању.

Такође се претпоставља да се применом теста убрзаног старења може стећи бољи увид и категоризација самоопходних линија у погледу дуговечности семена.

Претпоставља се да се применом протеинских маркера успешно може извршити груписање самоопходних линија у хетеротичне групе, и добити добра корелација са подацима о њиховом пореклу.

Такође, постављена је хипотеза да ће резултати испитивања вигор тестова и класификације самоопходних линија на основу њих бити у сагласности са подацима о генетичкој дивергентности добијених протеинским маркерима.

## 5. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ РАДА

У испитивањима је коришћено семе 15 самооплодних линија створених у Институту за кукуруз „Земун Поље“ (табела 1) које су компоненте актуелних ЗП хибрида (ZP341, ZP362, ZP427, ZP434, ZP444, ZP548, ZP555, ZP560, ZP600, ZP606, ZP648, ZP666, ZP749, ZP789, ZP877). Семе је добијено ручном самооплодњом у 2011. и 2014. години. Температура ваздуха, количина и распоред падавина у току вегетационог периода две производне године приказани су на графицима 1 и 2.

Берба и круњење обављено је ручно, добијено семе (0,5 до 1 kg) просејано је кроз сито од 5 mm и осушено до оптималних вредности за влагу (између 11-13 %).

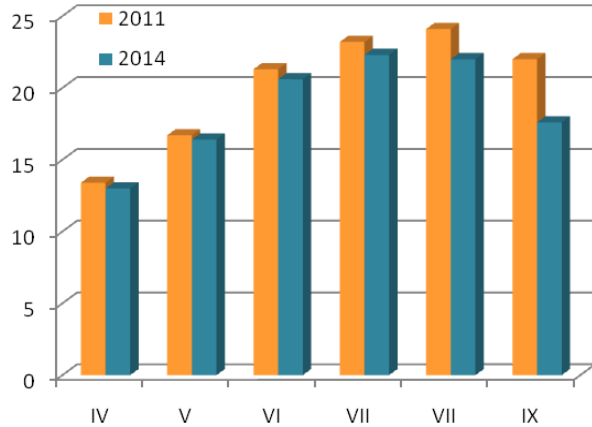
Табела 1. Преглед генетичког материјала за истраживање

Ознака	Линија	Порекло	FAO група	Тип зрна
Л1	L-39	Iowa Dent	350	Зубан
Л2	ZPL-217	Iowa Dent	400	Зубан
Л3	ZPL-255/75-5	Lancaster	350-400	Зубан
Л4	ZPL-217/415D-3	Iowa Dent x несродна гермплазма	400	Зубан
Л5	ZPL-173/3	Lancaster	450	Зубан
Л6	ZPL-255/75-3	Lancaster	450	Зубан
Л7	L-375/25-6	Lancaster	550	Полузубан
Л8	DK-471/3-1-2	BSSS x Iowa Dent	350	Полузубан
Л9	Lx-1117-3-1	BSSS x несродна гермплазма	700	Зубан
Л10	LK-335/99	BSSS x егзотична гермплазма	600	Полузубан
Л11	ZPLC-704	BSSS x Iowa Dent	400	Зубан
Л12	L-38/200h/16-1	BSSS	600	Зубан
Л13	HS-84-16	BSSS	700	Зубан
Л14	V-273-1-10/3	BSSS	700	Зубан
Л15	PB73-102	BSSS	700	Зубан

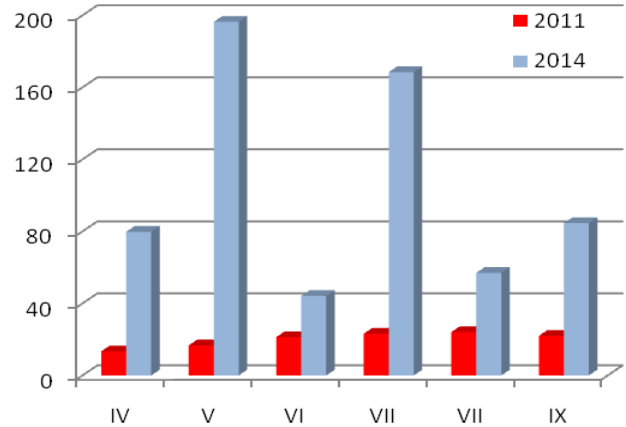
Лабораторијска испитивања квалитета семена обављена су у другој половини 2015. године, а двогодишњи оглед ницања у пољу 2015. и 2016. године на локалитетима Земун Поље и Умка.

Семе из 2011. године до тренутка испитивања чувано је у контролисаним условима, у комори за чување узорака Лабораторије за испитивање семена (18 °C, 60%

просечне релативне влажности ваздуха), а семе из 2014. године у хладној комори банке биљних гена на температури од 5 °C и 60% релативне влажности ваздуха.



Графикон 1. Средње дневне температуре ваздуха (°C) по месецима и годинама



Графикон 2. Укупна количина падавина (mm) по месецима и годинама

У истраживањима су примењени стандардни и вигор тестови. Праћени су, такође, и додатни показатељи квалитета, као што су садржај воде семена, маса 1000 семена и здравствено стање семена (присуство *Fusarium* spp.) како би се стекла целовита слика и лакше могли протумачити резултати. Сва испитивања су обављена у два понављања. За лабораторијска испитивања коришћено је нетретирано семе, а за пољски оглед семе је третирано препаратом MAXIM XL 035FS (Fludioksonil + Metalaksil-m) у дози од 100 ml / 100 kg семена.

Тест стандардне клијавости коришћен је као показатељ понашања семена у оптималним условима за раст и развиће. Клијавост је испитивана према **ISTA** правилима (2015), методом између филтер папира (2 x 100 семена), на температури 20/30 °C и светлосни режим 16h мрак / 8h светлост. Енергија клијања је оцењена након четири дана, а укупна клијавост после седам дана испитивања. Добијене вредности су изражене процентуалним учешћем нормалних клијанаца.

Хладни тест је модификован у односу на документовану методу Лабораторије за испитивање семена. Семе је излагано ниској температури од 8 °C у трајању од 10 дана, након чега је семе пребачено у оптималне услове за клијање (20/30 °C) у трајању

од 7 дана. Коришћен је такозвани метод у ролнама (2 x 100 семена), а као супстрат коришћен је стерилисан песак између филтер папира због нетретираног семена.

Тест убрзаног старења је изведен по упутствима из Приручника за вигор тестове (**Hampton и TeKrony, 1995**): 72 h излагање семена температури од 43 °C и релативној влажности ваздуха преко 95%. За рад су коришћене кутије за убрзано старење Hoffman Manufacturing Inc., OR,USA (11x11x3,5 cm). Семе је постављено у једном слоју на постоља са мрежицом, која су затим стављена у пластичне кутије са 40 ml дестиловане воде тако да је семе било 2 cm изнад воденог слоја. Након излагања стресним условима, семе је у року од сат времена постављено на клијање по стандардној методи између филтер папира (2 x 100 семена). Након третмана испитан је, такође, и садржај влаге у семену мерењем повећања масе ради контроле исправности теста. Граничне вредности влаге семена након АА теста износе 26-29%, а одговарајуће масе се израчунавају према формули:

$$\begin{array}{l} \text{маса подузорка са} \\ 26\% \text{ или } 29\% \text{ влаге} \end{array} = (\text{почетна маса}) \times \frac{100 - \text{почетна влага}}{100 - \text{жељена влага}^*}$$

\* жељена влага износи 26% тј. 29%

Тетразолиум тест је примењен ради утврђивања потенцијалне клијавости (виталности) и упоредо оцене вигора семена. Примењен је поступак описан у **ISTA** правилима **2015**. у поглављу за виталност који обухвата бубрење 2 x 100 семена у води 18h на температури 20 °C, уздужно сечење ембриона на пола, а након тога бојење 2h у 0,5% раствору 2,3,5-трифенил тетразолиум хлорида на 30 °C у мраку. За оцену виталности дефинисане су само две категорије (витално и невитално). Максимално дозвољена необојена површина клице кукуруза је примарни корен и трећина маргиналних делова скутелума. За оцену вигора, витално семе је даље груписано у категорије јако и слабо вигорозно семе, према упутствима датим у **AOSA** приручнику за вигор **2002**.

Као додатни показатељ вигора семена мерена је дужина клијанаца и то посебно дужина примарног корена и дужина примарног стабаоцета (плумуле). Мерење је

извршено након четири дана клијања у стандардном тесту, тј. након четири дана клијања у оптималним условима након стресних услова хладног теста и теста убрзаног старења.

Испитивање појаве примарног корена обављено је према упутствима датим у **ISTA** правилима **2015**. Примењена је метода између филтер папира (2 x 100 семена), температура 20 °C у трајању од 66 h±15 минута, а критеријум за оцену је била дужина примарног корена 2 mm и више.

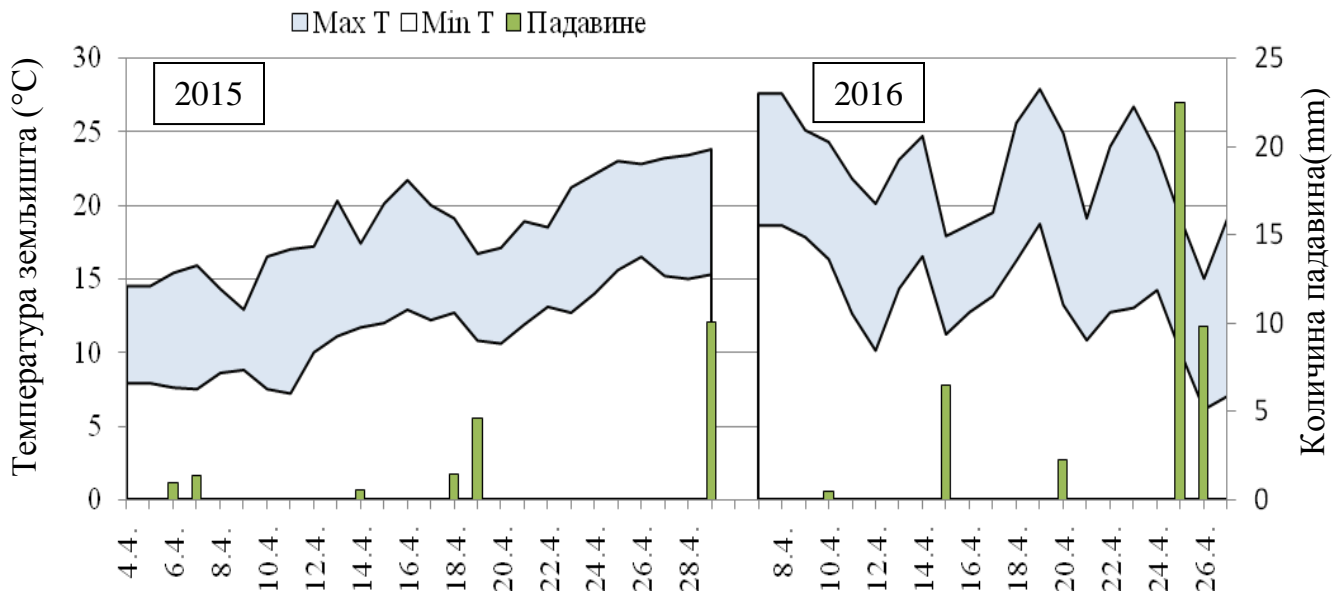
Проводљивост семена кукуруза је испитивана потапањем 2 x 50 семена у 250 ml воде на 20 °C у току 24 h, након чега се приступало мерењу проводљивости раствора. Примењен је метод дат у **ISTA** правилима (**2015**) који је стандардизован за испитивање проводљивости семена соје.

Испитивање ницања у пољу је обављено раном сетвом 2 x 100 семена на два локалитета Земун Поље и Умка, у току две експерименталне године (2015. и 2016.). Тип земљишта у Земун Пољу је безкарбонатни чернозем, а на Умци лесивирана гајњача. Припрема земљишта је спроведена конвенционалним методама. Ницање је бележено свака 3-4 дана до потпуног ницања. Евидентирана је минимална и максимална температура земљишта на дубини од 5 cm. Датуми сетве, распоред падавина и температуре земљишта у току испитивања могу се видети на графиконима 3 и 4.

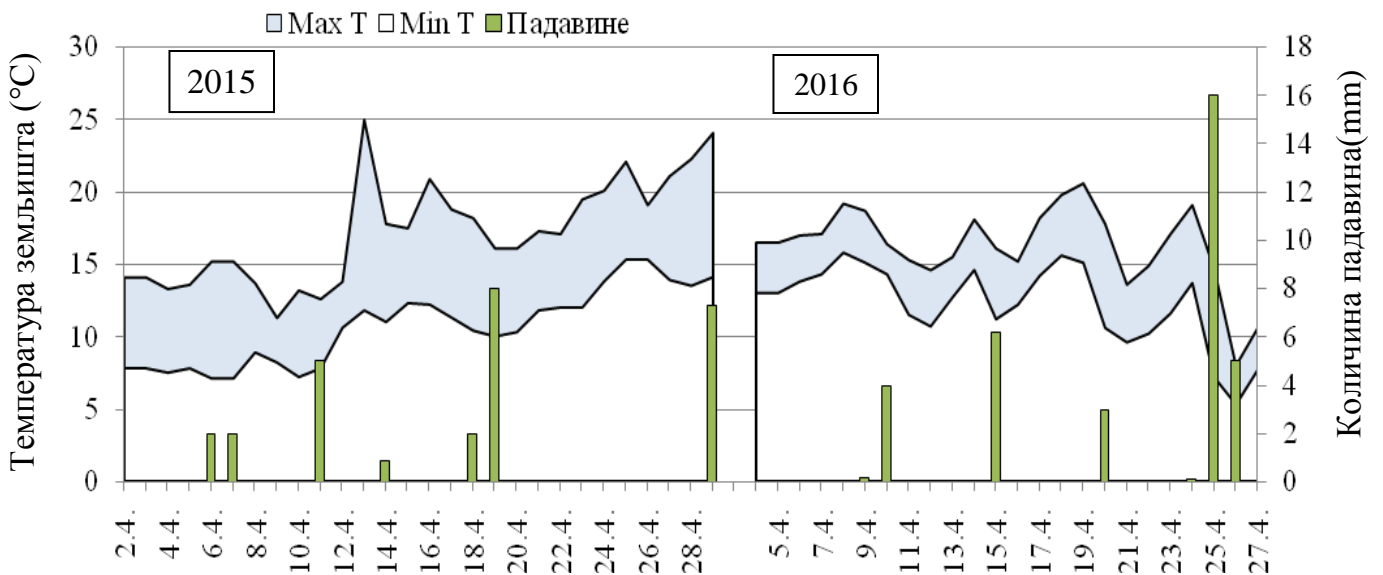
За статистичку обраду података примењена је двофакторијална анализа варијансе и тест најмање значајне разлике (LSD тест) (**Hadživuković, 1991**). За анализу је коришћен компјутерски програм MSTAT. Сви подаци изражени у процентима су трансформисани путем  $\arcsin \sqrt{(\%)}$  трансформације ради добијања константних варијанси.

Утврђени су коефицијенти корелације између испитиваних параметара квалитета. Такође, утврђен је степен усаглашености показатеља квалитета семена испитаних у лабораторијским условима са вредностима оствареним приликом ницања у пољу. Израчуната је и корелација ранга између примењених метода и ницања у пољу по Spearman-у (**Hadživuković, 1991**).





Графикон 3. Минималне и максималне температуре земљишта (°C) и распоред падавина (mm) у току испитивања ницања у пољу 2015. и 2016. (локалитет Земун Поље)



Графикон 4. Минималне и максималне температуре земљишта (°C) и распоред падавина (mm) у току испитивања ницања у пољу 2015. и 2016. (локалитет Умка)

За испитивање генетичке дивергентности самооплодних линија примењено је ултра танкослојно изоелектрично фокусирање (UTLIEF) према **ISTA** правилима **2015**. Водно растворљиви (албумини) екстраховани су из појединачних семена кукуруза и раздвајани на ултра танкослојном полиакриламидном гелу помоћу изоелектричног фокусирања.

Појединачно семе је самлевено машински (Kataskapt-Lederer, Lufa Augustenberg). Након млевења, по ~ 50 µg сваког појединачног семена испитиваног узорка је смештано у појединачне бунарчиће микротитар плоче (Greiner bio-one, no. 650101, 96 well microtitar plate). У сваки бунарчић микротитар плоче који садржи самлевена семена кукуруза, помоћу вишеканалне микропипете аликвотирано је по 200 µl редестиловане H<sub>2</sub>O, односно 200 µl 30% 2-хлоретанола. Узорци су у екстракционом раствору држани 60 минута на ~ 20 °C, након чега су микротитар плоче са узорцима смештане на 30 секунди у ултрасонично купатило. Да би се омогућило таложење брашна и добијање бистрог супернатанта у коме се налазе протеини за електрофорезу, микротитар плоче са узорцима су центрифугиране на 2000 rpm у трајању од најкраће пет минута.

Ултратанки полиакриламидни гелови за изоелектрично фокусирање дебљине 0,12 mm припремљени су између филма-носача гела (Gel-Fix for PAG, Serva) и стаклене плоче.

Раствор за полимеризацију 10 полиакриламидних гелова, димензија 240mm x 180 mm x 0,12 mm састојао се од 16 g урее, 50 ml AA (ampholyte Amersham) раствора, 4,4 ml Servalyt раствора pH 2-9, 50 µl TEMED (tetramethylethyenediamine) и 350 µl 20% APS (ammonium peroxydisulfate) раствора. Полимеризација гелова трајала је 45-60 минута на собној температури.

Две електродне траке натопљене анодним раствором (0,33% L-аспарагинска киселина и 0,37% L-глутаминска киселина), постављене су на супротне крајеве гела. Једна катодна трака натопљена са катодним пуфером који садржи 0,47% L-аргинина, 0,36% L-лизина и 12% етилен-диамина, постављена је у средини гела.

Апликатор (IEF/SDS sample applicator strip, 52S, GE Healthcare) за узорке је постављен на гел 5 mm испод анодне траке. У бунарчиће апликатора унешено је по 19

µl супернатанта (изоловани протеини појединачних семена узорка) испитиваних самооплодних линија кукуруза.

Изоелектрично фокусирање изведено је према програму приказаном у табели 2 у комори за електрофорезу „Multiphor II“ GE Healthcare“ уз константно хлађење керамичке плоче хоризонталне апаратуре на 5 °C.

Након завршетка електрофорезе гел је инкубиран 15 минута у фиксативу (12% TCA - trichloroacetic acid), а затим бојен 50 минута у раствору Coomassie brilliant blue (CBB) који садржи 0,015% Coomassie R 250, 0,045% Coomassie G 250, 11% сирћетне киселине, 18% етанола и 72% ddH<sub>2</sub>O. Након одбојавања 15 минута у раствору који садржи 6,6% сирћетне киселине и 40% етанола, гел је испиран дестилованом водом и сушен на собној температури.

Табела 2. Програм за душло ултратанкослојно изоелектрично фокусирање резервних протеина семена кукуруза

Фаза	Volt	Miliamper	Wat	Трајање (min)
1	1000	50	3	10
2	1000	70	5	10
3	1000	80	15	10
4	1500	100	30	10
5	2000	120	45	10
6	2500	140	60	10
7	3000	150	70	10
8	1000	50	10	

Распоред трака добијених овом методом сваке појединачне линије утврђен је визуелно и преведен у бинарне податке (1 и 0 – присуство/одсуство трака). Ови подаци употребљени су као основна матрица за статистичку обраду података.

Генетичка сличност између парова испитиваних самооплодних линија израчуната је применом Simple matching коефицијената (SM), (Sokal и Michener, 1958):

$$GS_{ij} = a+d/a+b+c+d,$$

где је:

**a** – присуство траке у оба генотипа *i* и *j* (1.1)

**b** – присуство траке код генотипа *i* а одсуство код генотипа *j* (1.0)

**c** – присуство траке код генотипа *j* а одсуство код генотипа *i* (0.1)

**d** – одсуство траке и код генотипа *i* и код генотипа *j* (0.0).

На основу GS, односно матрица сличности урађена је кластер анализа UPGMA методом у SAHN програму уз помоћ NTSYS-rc софтвера, у форми дендограма где су самооплодне линије груписане у одговарајуће хетеротичне групе (**Rohlf, 2000**). Груписање генотипова урађено је и уз помоћ PCA (Principal Component Analysis), мултиваријантне ординатне анализе, којом се приказује груписање узорака у две или три димензије, које представљају главне компоненте варијабилности основних променљивих. PCA је урађена помоћу EIGEN програма, а резултати су приказани у форми 2D дијаграма.

## 6. РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

### 6.1 Садржај влаге, здравствено стање и маса 1000 семена

Садржај влаге има веома битну улогу у формирању и очувању квалитета семена. Низак садржај влаге гарантује безбедно чување семена. Због хигроскопних својстава, између семена и околне средине долази до постизања равнотежне влаге (еквилибријум) у зависности од температуре и релативне влажности ваздуха.

Влага семена самооплодних линија из 2011. године након четири године чувања на 18 °С и 60% релативне влажности била је у опсегу од 11,6% до 12,7%. Равнотежна влага семена из 2014. године после годину дана чувања на 5 °С и 60% релативне влажности износила је од 11,7% до 13,0%.

Добијене вредности за влагу семена биле су веома блиске и није било значајних разлика између посматраних чиниоца, па су у табели 3 приказани резултати анализе варијансе само за здравствено стање и масу 1000 семена.

Анализом варијансе утврђено је да су испитивани чиниоци имали значајан утицај на присуство фитопатогене гљиве *Fusarium* spp. на семену самооплодних линија кукуруза. Генотип и година умножавања такође су значајно утицали на резултате масе 1000 семена. Интеракције између испитиваних чиниоца биле су значајне за обе посматране особине.

Табела 3. Статистичка значајност деловања испитиваних чиниоца на присуство *Fusarium* spp. и масу 1000 семена самооплодних линија кукуруза

Извори варирања	df	<i>Fusarium</i> spp.		Маса 1000 семена		
		Средине квадрата	F вредност	Средине квадрата	F вредност	
Понављања	1	0,63	2,82 <sup>ns</sup>	0,21	3,61 <sup>ns</sup>	
Генотип	A	14	0,62	2,77**	17,86	306,99**
Година умножавања	B	1	7,81	34,88**	3787,22	65091,50**
Генотип x година	AB	14	1,08	4,84**	3,72	63,89**
Грешка		29	0,22		0,06	
Коефицијент варијације				26,65%		1,07%

ns – није значајно; \*\* - значајност на нивоу 0,01%; df – степени слободе

За постизање високих приноса мора се користити здраво семе. Међу многобројним патогенима који могу заразити биљку, највећа пажња посвећује се присуству гљиве *Fusarium* spp. због економског значаја. Просечан проценат заразе семена из 2011. године са *Fusarium* spp. био је знатно већи (4,33%) у односу на семе из 2014. године (1,00%). Код самоопходне линије ZPL-255/75-3 регистровано је присуство *Fusarium* spp. на 15% семена из 2011. године, док је семе из 2014. године наведене линије било потпуно здраво.

Маса 1000 семена је карактеристика сваког генотипа, и важан показатељ квалитета семена. Просечне вредности за обе године производње (табела 4) показале су да линија HS-84-16 има најситније семе (243,7 g), а најкрупније LK-335/99 (340,6 g).

Мера крупноће, односно маса 1000 семена кукуруза зависи од стопе раста и трајања периода наливања. Уочава се да је у 2011. години остварена већа маса 1000 семена (табела 4) него у 2014. години. Код линије ZPL-173/3 маса 1000 семена је знатно варирао, па је у 2011. години постигнута маса била за 90 g већа у односу на вредност из 2014. године. Сличан распон (72 g) уочава се и код линије HS-84-16.

Табела 4. Средње вредности присуства *Fusarium* spp. (%), маса 1000 семена самоопходних линија кукуруза из 2011. и 2014. године

Линија	Присуство <i>Fusarium</i> spp. (%)			Маса 1000 семена (g)		
	2011	2014	Просек	2011	2014	Просек
L-39	7	0	3,5 <sup>abcd</sup>	283,6	268,9	276,3 <sup>g</sup>
ZPL-217	0	2	1,0 <sup>cd</sup>	311,6	336,4	324,0 <sup>bc</sup>
ZPL-255/75-5	8	3	5,5 <sup>ab</sup>	322,5	304,7	313,6 <sup>cd</sup>
ZPL-217/415D-3	1	0	0,5 <sup>d</sup>	315,2	331,9	323,5 <sup>bc</sup>
ZPL-173/3	2	3	2,5 <sup>bcd</sup>	301,8	210,7	256,2 <sup>h</sup>
ZPL-255/75-3	15	0	7,5 <sup>a</sup>	349,8	322,5	336,2 <sup>a</sup>
L-375/25-6	2	0	1,0 <sup>cd</sup>	303,5	306,8	305,2 <sup>e</sup>
DK-471/3-1-2	6	1	3,5 <sup>abc</sup>	287,2	307,8	297,5 <sup>f</sup>
Lx-1117-3-1	2	1	1,5 <sup>bcd</sup>	284,2	261,6	272,9 <sup>g</sup>
LK-335/99	0	1	0,5 <sup>cd</sup>	335,1	346,1	340,6 <sup>a</sup>
ZPLC-704	6	0	3,0 <sup>abcd</sup>	256,4	262,2	259,3 <sup>i</sup>
L-38/200h/16-1	3	1	2,0 <sup>cd</sup>	320,0	301,4	310,7 <sup>d</sup>
HS-84-16	3	0	1,5 <sup>cd</sup>	279,9	207,6	243,7 <sup>i</sup>
V-273-1-10/3	5	0	2,5 <sup>bcd</sup>	289,3	257,0	273,2 <sup>g</sup>
PВ73-102	5	3	4,0 <sup>ab</sup>	321,6	327,4	324,5 <sup>b</sup>
Просек	4,33	1,00	2,67	304,1	290,2	297,2

## 6.2 Стандардни тест клијавости

Анализом варијансе утврђене су значајне разлике између испитиваних самооплодних линија у стандардном тесту клијавости. Дужина чувања семена кукуруза значајно је утицала на енергију клијања и укупну клијавост (таб. 5). Интеракције између чиниоца су се показале као веома значајне.

Посматрано просечно за све самооплодне линије енергија клијања семена након 4 године природног старења на 18 °С је била мања за 9%, у односу на семе чувано годину дана на 5 °С. Укупна клијавост у оптималним условима је износила 96,53% за семе из 2014. године, а 90,80% за семе из 2011. године (таб. 6). То указује на веома добру способност очувања клијавости испитиваног материјала.

Стандардни тест клијавости за семе из 2014. није указивао на значајне разлике између одабраних линија, јер су се вредности кретале од 90% (ZPL-173/3) до 100% (5 испитиваних линија). Ипак оне су се различито понашале после чувања, па се клијавост у оптималним условима кретала у опсегу од 60 до 99% (граф. 5, таб. 6). Енергија клијања тј. прва оцена нормалних клијанаца у стандардном тесту клијавости је била бољи индикатор разлика између генотипова.

Табела 5. Статистичка значајност деловања испитиваних чиниоца на енергију клијања и клијавост семена кукуруза

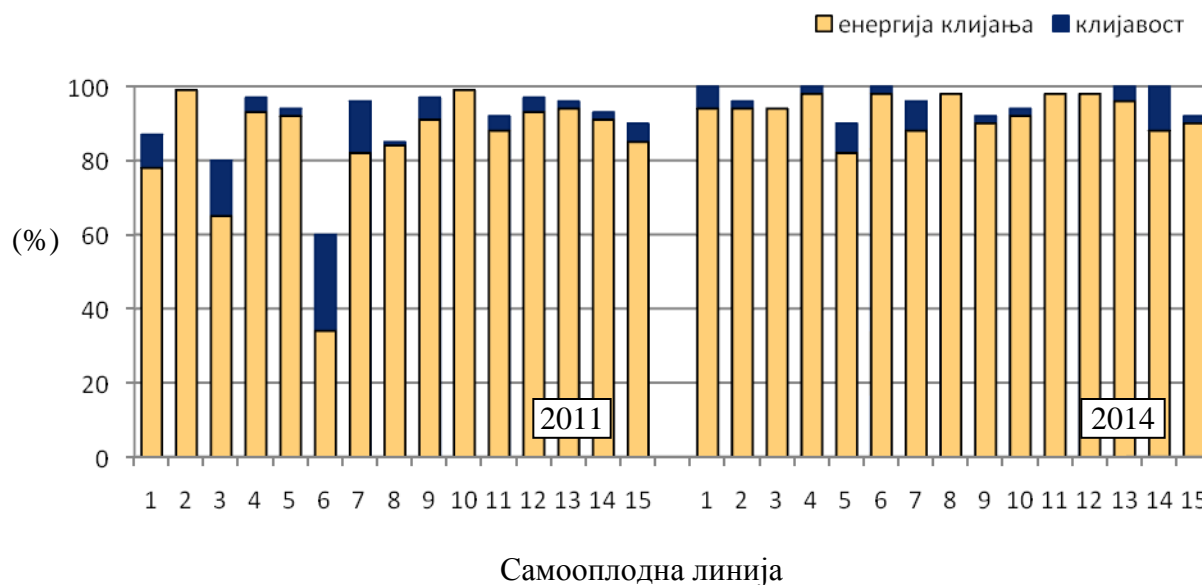
Извори варирања	df	Енергија клијања		Клијавост	
		Средине квадрата	F вредност	Средине квадрата	F вредност
Понављања	1	72,62	1,76 <sup>ns</sup>	13,18	0,42 <sup>ns</sup>
Генотип	A	149,24	3,63**	90,83	2,89**
Година умножавања	B	1035,09	25,15**	950,74	30,26**
Генотип x година	AB	244,13	5,93**	169,05	5,38**
Грешка	29	41,15		31,42	
Коефицијент варијације			8,76%		7,13%

ns – није значајно; \*\* - значајност на нивоу 0,01%; df – степени слободe

Табела 6. Средње вредности енергије клијања и клијавости семена самооплодних линија кукуруза (%) из 2011. и 2014. године

Линија	Енергија клијања			Клијавост		
	2011	2014	Просек	2011	2014	Просек
L-39	78	94	86,00 <sup>bcd</sup>	87	100	93,50 <sup>abcde</sup>
ZPL-217	99	94	96,50 <sup>a</sup>	99	96	97,50 <sup>ab</sup>
ZPL-255/75-5	65	94	79,50 <sup>de</sup>	80	94	87,00 <sup>ef</sup>
ZPL-217/415D-3	93	98	95,50 <sup>ab</sup>	97	100	98,50 <sup>a</sup>
ZPL-173/3	92	82	87,00 <sup>cd</sup>	94	90	92,00 <sup>cdef</sup>
ZPL-255/75-3	34	98	66,00 <sup>e</sup>	60	100	80,00 <sup>f</sup>
L-375/25-6	82	88	85,00 <sup>d</sup>	96	96	96,00 <sup>abcd</sup>
DK-471/3-1-2	84	98	91,00 <sup>abcd</sup>	85	98	91,50 <sup>bcdef</sup>
Lx-1117-3-1	91	90	90,50 <sup>abcd</sup>	97	92	94,50 <sup>abcdef</sup>
LK-335/99	99	92	95,50 <sup>ab</sup>	99	94	96,50 <sup>abc</sup>
ZPLC-704	88	98	93,00 <sup>abc</sup>	92	98	95,00 <sup>abcde</sup>
L-38/200h/16-1	93	98	95,50 <sup>ab</sup>	97	98	97,50 <sup>ab</sup>
HS-84-16	94	96	95,00 <sup>ab</sup>	96	100	98,00 <sup>a</sup>
V-273-1-10/3	91	88	89,50 <sup>bcd</sup>	93	100	96,50 <sup>ab</sup>
PB73-102	85	90	87,50 <sup>cd</sup>	90	92	91,00 <sup>def</sup>
Просек	84,53	93,20	88,87	90,80	96,53	93,67

Вредности означене истим словима не разликују се значајно на основу LSD теста на нивоу 0,05%



Графикон 5. Енергија клијања и клијавост (%) семена самооплодних линија из 2011. и 2014. године



### 6.3 Тест појаве примарног корена

Генотип и старост семена значајно су утицали на појаву примарног корена кукуруза (таб. 7). Интеракције између чиниоца су се показале као веома значајне.

Тест појаве примарног корена семена из 2014. имао је дупло већу просечну вредност (40,80%) у односу на семе из 2011. године (17,93%) (таб. 8).

Испитиване самоопходне линије кукуруза су се значајно разликовале по физиолошкој клијавости. Проенти су се кретали од 1 до 66% за семе из 2011. године, док су вредности за семе из 2014. биле у опсегу од 14 до 82% (таб. 8).

Рангирање самоопходних линија на основу просечних вредности је показало да су DK-471/3-1-2 и ZPLC-704 имале најбржи пораст, тј. највећи број клијанаца са примарним кореном дужим од 2 mm након 66 h клијања.

Код линија ZPL-255/75-3 и L-375/25-6 чување семена је довело до драстичних промена у брзини појаве примарног корена, док је код неких линија (ZPL-217, ZPL-217/415D-3) брзина физиолошког клијања остала непромењена.

Табела 7. Статистичка значајност деловања испитиваних чиниоца на резултате појаве примарног корена кукуруза

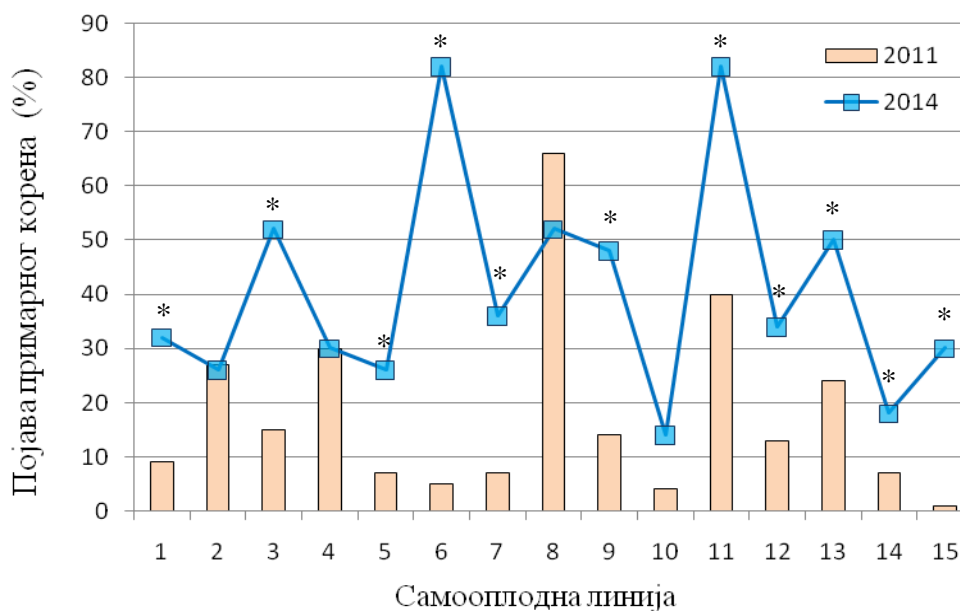
Извори варирања		df	Средине квадрата	F вредност
Понављања		1	35,497	1,62 <sup>ns</sup>
Генотип	A	14	440,62	20,16**
Година умножавања	B	1	4070,07	186,18**
Генотип x година	AB	14	208,20	9,52**
Грешка		29	21,86	
Коефицијент варијације				15,00%

ns – није значајно; \*\* - значајност на нивоу 0,01%; df – степени слободе

Табела 8. Средње вредности појаве примарног корена (%) семена самооплодних линија кукуруза из 2011. и 2014. године

Линија	2011	2014	Просек
L-39	9	32	20,50 <sup>efg</sup>
ZPL-217	27	26	26,50 <sup>cde</sup>
ZPL-255/75-5	15	52	33,50 <sup>bcd</sup>
ZPL-217/415D-3	30	30	30,00 <sup>bcd</sup>
ZPL-173/3	7	26	16,50 <sup>fgh</sup>
ZPL-255/75-3	5	82	43,50 <sup>b</sup>
L-375/25-6	7	36	21,50 <sup>efg</sup>
DK-471/3-1-2	66	52	59,00 <sup>a</sup>
Lx-1117-3-1	14	48	31,00 <sup>bcd</sup>
LK-335/99	4	14	9,00 <sup>h</sup>
ZPLC-704	40	82	61,00 <sup>a</sup>
L-38/200h/16-1	13	34	23,50 <sup>def</sup>
HS-84-16	24	50	37,00 <sup>bc</sup>
V-273-1-10/3	7	18	12,50 <sup>gh</sup>
PB73-102	1	30	15,50 <sup>h</sup>
Просек	17,93	40,80	29,37

Вредности означене истим словима не разликују се значајно на основу LSD теста на нивоу 0,05%



Графикон 6. Појава примарног корена (%) семена самооплодних линија из 2011. и 2014. године. Звездицом су обележене статистички значајне разлике.

## 6.4 Тест проводљивости

Генотип је значајно утицао на проводљивост семена кукуруза (таб. 9), за разлику од старења семена. Између вредности проводљивости семена из 2011. и 2014. године није било значајне разлике. Интеракције између чиниоца су се показале као веома значајне.

Старење семена доводи до оштећења ћелијских мембрана, па приликом потапања семена у воду долази до већег излучивања електролита и веће проводљивости раствора. Код шест самооплодних линија добијени резултати су показали очекивану правилност која је била значајна (граф. 7). Код четири испитиване линије старије семе је имало значајно мање вредности, а код осталих пет линија разлике нису биле значајне.

Линија ZPL-255/75-5 је имала највишу просечну вредност проводљивости (6,42  $\mu\text{s}$ ), тј. најслабији вигор од испитиваних самооплодних линија, а затим линија ZPL-255/75-3 (5,39  $\mu\text{s}$ ). Најмању просечну вредност проводљивости имале су линије ZPLC-704 и L-38/200H/16-1 са вредностима 2,09  $\mu\text{s}$  и 2,19  $\mu\text{s}$ , што указује на то да су оне биле највигорозније (таб. 10).

Табела 9. Статистичка значајност деловања испитиваних чиниоца на проводљивост семена кукуруза

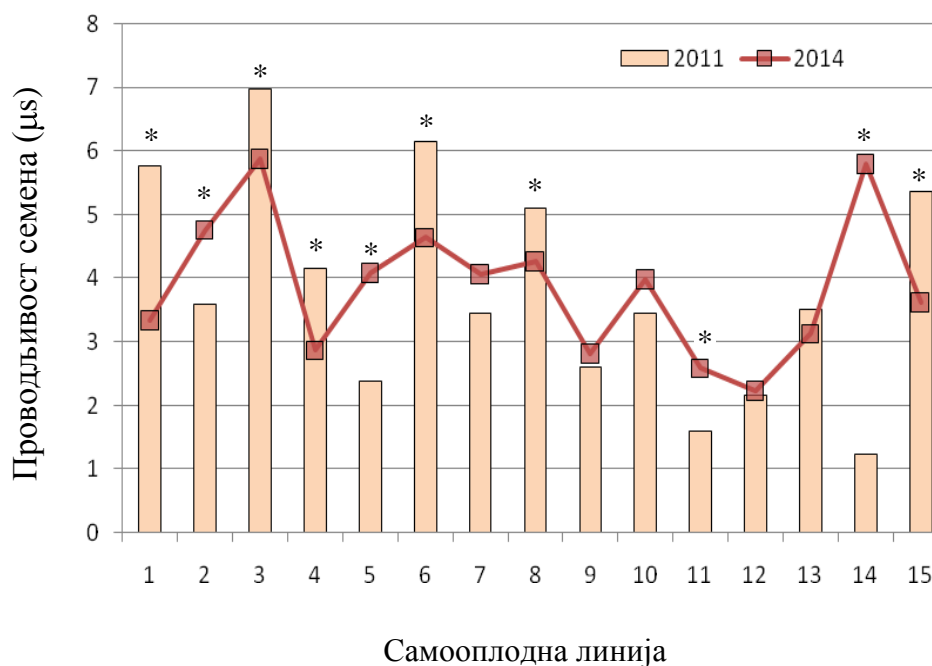
Извори варирања		df	Средине квадрата	F вредност
Понављања		1	0,07	0,48 <sup>ns</sup>
Генотип	A	14	5,37	37,03**
Година умножавања	B	1	0,02	0,11 <sup>ns</sup>
Генотип x година	AB	14	2,97	20,47**
Грешка		29	0,15	
Коефицијент варијације				15,00%

ns – није значајно; \*\* - значајност на нивоу 0,01%; df – степени слободе

Табела 10. Средње вредности проводљивости (%) семена самооплодних линија кукуруза из 2011. и 2014. године

Линија	2011	2014	Просек
L-39	5,76	3,33	4,55 <sup>c</sup>
ZPL-217	3,58	4,75	4,17 <sup>cd</sup>
ZPL-255/75-5	6,97	5,87	6,42 <sup>a</sup>
ZPL-217/415D-3	4,16	2,86	3,51 <sup>e</sup>
ZPL-173/3	2,38	4,07	3,23 <sup>ef</sup>
ZPL-255/75-3	6,14	4,63	5,39 <sup>b</sup>
L-375/25-6	3,44	4,05	3,75 <sup>de</sup>
DK-471/3-1-2	5,10	4,26	4,68 <sup>c</sup>
Lx-1117-3-1	2,59	2,81	2,70 <sup>fg</sup>
LK-335/99	3,45	3,98	3,72 <sup>de</sup>
ZPLC-704	1,59	2,58	2,09 <sup>h</sup>
L-38/200h/16-1	2,15	2,22	2,19 <sup>gh</sup>
HS-84-16	3,51	3,12	3,32 <sup>e</sup>
V-273-1-10/3	1,23	5,78	3,51 <sup>e</sup>
PB73-102	5,37	3,61	4,49 <sup>c</sup>
Просек	3,83	3,86	3,84

Вредности означене истим словима не разликују се значајно на основу LSD теста на нивоу 0,05%



Графикон 7. Проводљивост (%) семена самооплодних линија из 2011. и 2014. године. Звездичом су обележене статистички значајне разлике.

## 6.5 Тетразолиум тест

Анализа варијансе (таб. 11) је показала да се виталност утврђена ТТЗ тестом семена из 2011. и 2014. године, значајно разликује. Између генотипова није било значајних разлика за ову особину. Интеракција генотип x година умножавања (дужина чувања) такође није показала значајан утицај на виталност тј. потенцијалну клијавост семена кукуруза. За разлику од наведеног, сви испитивани чиниоци су имали значајан ефекат на вигор семена утврђен ТТЗ тестом (таб. 11).

Ради лакшег разумевања, на слици 1. приказани су критеријуми за оцену виталности и вигора. Прво семе је витално и вигорозно са интензивно обојеним свим деловима клице. Друго семе је витално, али није вигорозно, због оштећења примарног корена која се јављају у почетним фазама старења семена. Треће семе је невитално због оштећења целе клице као последица развијеног процеса старења.

Просечна вредност потенцијалне клијавости семена испитиваних самооплодних линија из 2014. износила је 96,27%, а за семе из 2011. године 93,87% (таб. 12). Значајно опадање виталности је констатовано само код три линије L-39, ZPL-255/75-3 и L-38/200H/16-1 (граф. 8).

Код линија ZPL-173/3 и LK-335/99 семе из 2014. је имало мању вредност виталности него семе након четири године чувања. ТТЗ тестом утврђено је постојање семена без клице, што указује на значај услова производње у току формирања и сазревања семена.

Просечна вредност вигора семена (таб. 12) чуваног четири године на 18 °C је била за 10% нижа у односу на семе чувано годину дана на 5 °C (71,40% и 82,13%). Вигор семена из 2011. године се кретао од 45% (ZPL-255/75-5) до 92% (L-375/25-6), а код семена из 2014. од 60% (PB73-102) до 98% (V-273-1-10/3).

Самооплодне линије које су се показале као најбоље у погледу вигора семена у ТТЗ тесту су L-375/25-6 и V-273-1-10/3.

Вредности виталности биле су веће од стандардне клијавости, док је проценат вигора у ТТЗ тесту био мањи од процента нормалних клијанаца у оптималним условима клијања. Разлике између просечне потенцијалне (таб. 12) и стандардне

клијавости (таб. 6) 15 самооплодних линија из 2014. су занемарљиве (0,2%), а у случају семена из 2011. године разлике су нешто веће (3,0%).

Таб. 11. Статистичка значајност деловања испитиваних чиниоца на потенцијалну клијавост (виталност) и вигор семена кукуруза у тетразолиум тесту

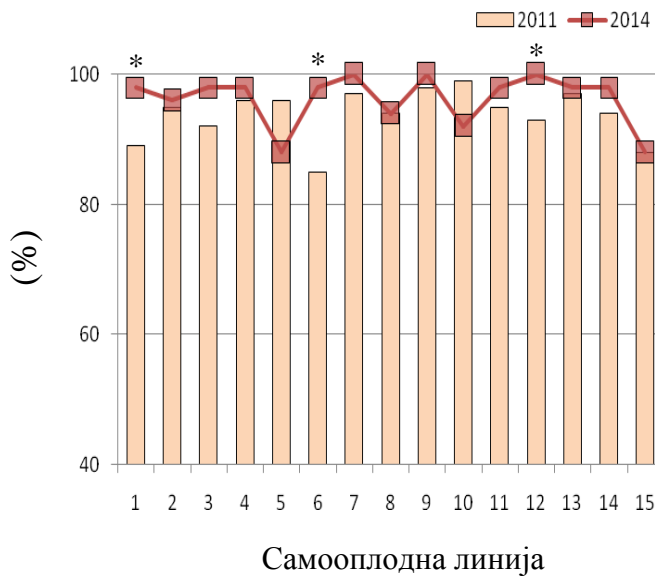
Извори варирања	df	Виталност		Вигор	
		Средине квадрата	F вредност	Средине квадрата	F вредност
Понављања	1	5,74	0,15 <sup>ns</sup>	13,18	0,42 <sup>ns</sup>
Генотип	A	14	66,66	1,73 <sup>ns</sup>	2,89**
Година умножавања	B	1	481,67	12,50**	30,26**
Генотип x година	AB	14	64,18	1,67 <sup>ns</sup>	5,38**
Грешка	29	38,55		31,42	
Коефицијент варијације			7,81%		5,32%

ns – није значајно; \*\* - значајност на нивоу 0,01%; df – степени слободe

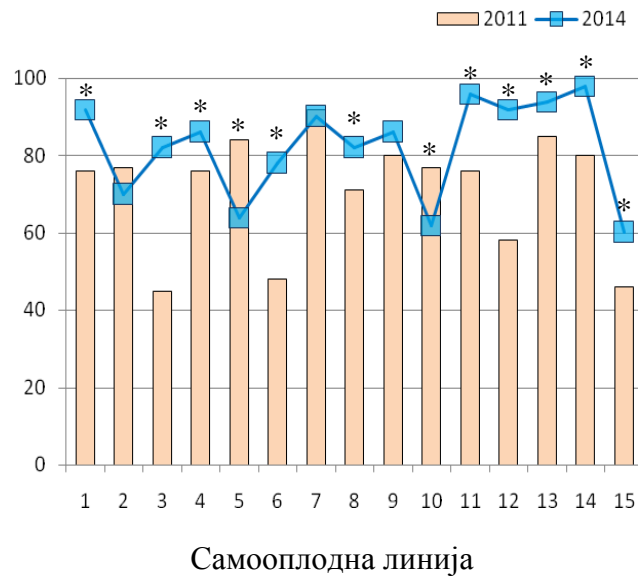
Таб. 12. Средње вредности потенцијалне клијавости (виталности) и вигора семена кукуруза (%) испитаног у тетразолиум тесту

Линија	Виталност			Вигор		
	2011	2014	Просек	2011	2014	Просек
L-39	89	98	93,50 <sup>abc</sup>	76	92	84,00 <sup>bcd</sup>
ZPL-217	95	96	95,50 <sup>ab</sup>	77	70	73,50 <sup>gh</sup>
ZPL-255/75-5	92	98	95,00 <sup>ab</sup>	45	82	63,50 <sup>i</sup>
ZPL-217/415D-3	96	98	97,00 <sup>ab</sup>	76	86	81,00 <sup>def</sup>
ZPL-173/3	96	88	92,00 <sup>bc</sup>	84	64	74,00 <sup>fgh</sup>
ZPL-255/75-3	85	98	91,50 <sup>bc</sup>	48	78	63,00 <sup>i</sup>
L-375/25-6	97	100	98,50 <sup>a</sup>	92	90	91,00 <sup>a</sup>
DK-471/3-1-2	94	94	94,00 <sup>abc</sup>	71	82	76,50 <sup>efgh</sup>
Lx-1117-3-1	98	100	99,00 <sup>a</sup>	80	86	83,00 <sup>cde</sup>
LK-335/99	99	92	95,50 <sup>ab</sup>	77	62	69,50 <sup>hi</sup>
ZPLC-704	95	98	96,50 <sup>ab</sup>	76	96	86,00 <sup>abc</sup>
L-38/200h/16-1	93	100	96,50 <sup>ab</sup>	58	92	75,00 <sup>efg</sup>
HS-84-16	97	98	97,50 <sup>ab</sup>	85	94	89,50 <sup>ab</sup>
V-273-1-10/3	94	98	96,00 <sup>ab</sup>	80	98	89,00 <sup>a</sup>
PB73-102	88	88	88,00 <sup>c</sup>	46	60	53,00 <sup>j</sup>
Просек	93,87	96,27	95,07	71,40	82,13	76,77

Вредности означене истим словима не разликују се значајно на основу НЗР теста на нивоу 0,05%



Графикон 8. Виталност (%) семена из 2011. и 2014. испитана тетразолиум тестом (ТТЗ)



Графикон 9. Вигор (%) семена из 2011. и 2014. испитан тетразолиум тестом (ТТЗ)



Слика 1. Витално и вигорозно семе (лево), витално али невиворозно семе са оштећеним примарним кореном (средина) и невитално семе кукуруза са оштећеном целом клицом (десно)

## 6.6 Хладни тест

Испитивани чиниоци (генотип и старост семена) имали су значајан утицај на проценат нормалних клијанаца и у првој и у завршној оцени клијања семена у хладном тесту. Анализа варијансе је показала значајан утицај интеракције старост семена x генотип на толерантност семена према ниским температурама при клијању (таб. 13).

Табела 13. Статистичка значајност деловања испитиваних чиниоца на клијање семена кукуруза у хладном тесту (СТ)

Извори варирања	df	Прва оцена у СТ		Клијавост у СТ	
		Средине квадрата	F вредност	Средине квадрата	F вредност
Понављања	1	8,72	0,23 <sup>ns</sup>	0,01	0,0002 <sup>ns</sup>
Генотип	A 14	484,31	13,12**	353,38	9,12**
Година умножавања	B 1	981,96	26,60**	657,76	16,98**
Генотип x година	AB 14	513,50	13,91**	396,91	10,25**
Грешка	29	36,92		38,73	
Коефицијент варијације			8,97%	8,71%	

ns – није значајно; \*\* - значајност на нивоу 0,01%; df – степени слободе

Чување семена четири године на 18 °C је допринело значајном опадању вигора семена самооплодних линија кукуруза у поређењу са вигором семена чуваним на 5 °C годину дана (таб. 14). Просечне вредности у хладном тесту су износиле 90,67% за семе из 2014. тј. 82,07% за семе из 2011. године. Остварени резултати указују на веома добру реакцију ЗП самооплодних линија на изразито стресне услове испитивања (7,5 °C, 10 дана).

Након четири дана клијања у оптималним условима хладног теста проценат нормалних клијанаца је износио 88,53% за семе из 2014. године што је само за 2% мање у односу на укупну клијавост у хладном тесту (таб. 14). За семе из 2011. године у првој оцени хладног теста остварена је за 5% нижа вредност (77,20%) него при завршној оцени седмог дана.



Табела 14. Средње вредности клијавости (%) семена самооплодних линија кукуруза у хладном тесту (СТ)

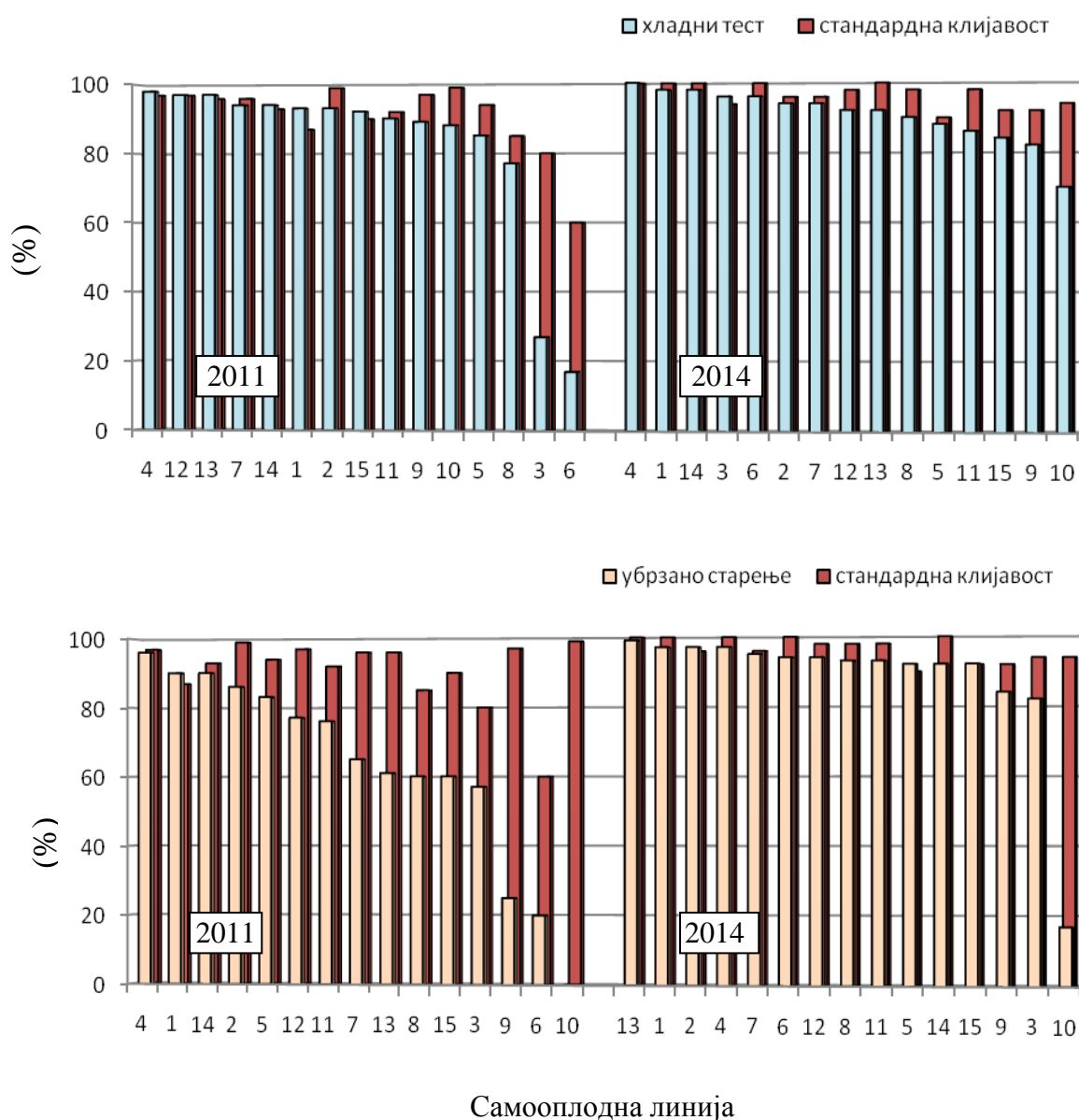
Линија	Прва оцена у СТ			Клијавост у СТ		
	2011	2014	Просек	2011	2014	Просек
L-39	93	92	92,50 <sup>ab</sup>	93	98	95,50 <sup>abc</sup>
ZPL-217	93	92	92,50 <sup>ab</sup>	93	94	93,50 <sup>bcd</sup>
ZPL-255/75-5	7	94	50,50 <sup>d</sup>	27	96	61,50 <sup>gh</sup>
ZPL-217/415D-3	98	96	97,00 <sup>a</sup>	98	100	99,00 <sup>a</sup>
ZPL-173/3	83	88	85,50 <sup>bc</sup>	85	88	86,50 <sup>ef</sup>
ZPL-255/75-3	5	94	49,50 <sup>d</sup>	17	96	56,50 <sup>h</sup>
L-375/25-6	87	92	89,50 <sup>ab</sup>	94	94	94,00 <sup>bcd</sup>
DK-471/3-1-2	73	86	79,50 <sup>c</sup>	77	90	83,50 <sup>f</sup>
Lx-1117-3-1	78	82	80,00 <sup>c</sup>	89	82	85,50 <sup>ef</sup>
LK-335/99	83	66	74,50 <sup>c</sup>	88	70	79,00 <sup>fg</sup>
ZPLC-704	87	82	84,50 <sup>bc</sup>	90	86	88,00 <sup>def</sup>
L-38/200h/16-1	92	94	93,00 <sup>ab</sup>	97	92	94,50 <sup>bcd</sup>
HS-84-16	96	92	94,00 <sup>ab</sup>	97	92	94,50 <sup>bcd</sup>
V-273-1-10/3	94	96	95,00 <sup>a</sup>	94	98	96,00 <sup>ab</sup>
PB73-102	89	82	85,50 <sup>bc</sup>	92	84	88,00 <sup>def</sup>
Просек	77,20	88,53	82,87	82,07	90,67	86,37

Вредности означене истим словима не разликују се значајно на основу LSD теста на нивоу 0,05%

Самооплодне линије су се значајно разликовале у погледу толерантности на ниске температуре при клијању и почетном порасту. Линија ZPL-217/415D-3 је имала најбоље резултате (98% и 100%) у хладном тесту за семе из обе године производње (таб. 14). Линије ZPL-255/75-5 и ZPL-255/75-3 су показале осетљивост на хладни стрес у почетним фазама раста, која се испољила тек после чувања семена (граф. 10). Линија ZPL-255/75-5 (семе из 2011. године) је имала 7% нормалних клијанаца у првој оцини тј. 27% у завршној оцини хладног теста. Семе линије ZPL-255/75-3 након четири године чувања је имало најмању вредност клијавости у хладном тесту (17%).

Применом хладног теста омогућено је боље раздвајање самооплодних линија и тестирање њихове толерантности на ниске температуре при клијању и ницању. На графикону 10 може се лако поредити тренд опадања вигора и стандардне клијавости. Старење семена је више утицало на вигор семена, па су се и разлике између вредности у стресним и оптималним условима клијања повећавале.

Резултати хладног теста семена из 2014. године били су нижи у односу на семе из 2011. године код шест самооплодних линија, али те разлике на основу LSD теста за интеракције нису биле значајне. Добијени резултати указују да су услови спољашње средине веома значајни за формирање и одржавање вигора семена.



Графикон 10. Вредности вигор тестова (хладни тест и тест убрзаног старења) у односу на стандардну клијавост (%) семена самооплодних линија кукуруза из 2011. и 2014. године. Самооплодне линије су поређане на основу вредности у вигор тестовима.

## 6.7 Тест убрзаног старења

Двофакторијална анализа варијансе је показала значајан утицај генотипа и дужине чувања семена на проценат нормалних клијанаца у првој и завршној оцени теста убрзаног старења (таб. 15). Интеракције између испитиваних чиниоца такође су биле значајне.

Семе самооплодних линија чувано годину дана на 5 °С је имало значајно боље резултате и у првој и у завршној оцени АА теста него семе чувано четири године на 18 °С (таб. 16). Просечне вредности укупне клијавости у тесту убрзаног старења су износиле 87,87% за семе из 2014. тј. 63,07% за семе из 2011. године. Ова разлика је била још израженија у првој оцени (након четири дана клијања у оптималним условима АА теста) где је проценат нормалних клијанаца износио 79,67% за семе из 2014., а 31,87% за семе из 2011. године. Висока температура и релативна влажност у АА тесту највише су утицали на успорен развој примарног корена, који је био скраћен или га уопште није ни било.

Тест убрзаног старења семена је довео до израженијег раздвајања испитиваних линија него хладни тест. Вредности су се кретале од 17% (LК-335/99) до 99% (HS-84-16) код семена из 2014. године. Код семена из 2011. године самооплодна линија LК-335/99 потпуно је изгубила способност клијања након примењених високих температура и високе релативне влажности, док је линија ZPL-217/415D-3 и даље одржала висок ниво вигора семена (96%). На графику 10 уочава се да семе из обе производне године поменути линије LК-335/99, има високу клијавост.

Просечне вредности АА теста за семе оба нивоа старости, указују да је линија ZPL-217/415D-3 била највигорознија у погледу овог параметра квалитета семена. На основу LSD теста L-39, ZPL-217 и V-273-1-10/3 су рангирање у групу самооплодних линија чије семе добро подноси стрес високе температуре и високе релативне влажности (таб. 16).

Поређењем добијених резултата хладног теста и теста убрзаног старења (графикон 10) уочава се да испитиване самооплодне линије које лоше реагују на стрес

ниским температура спадају у групу линија које слабије реагују и на стрес високих температура (ZPL-255/75-5, ZPL-255/75-3, LX-1117-3-1, LK-335/99).

Табела 15. Статистичка значајност деловања испитиваних чиниоца на енергију клијања и клијавост семена кукуруза после убрзаног старења

Извори варирања	df	Прва оцена у АА тесту		Клијавост у АА тесту	
		Средине квадрата	F вредност	Средине квадрата	F вредност
Понављања	1	1,60	0,04 <sup>ns</sup>	5,81	0,18 <sup>ns</sup>
Генотип	A 14	1141,39	31,31**	1101,96	34,80**
Година умножавања	B 1	17693,00	485,33**	6078,46	191,96**
Генотип x година	AB 14	344,35	9,45**	179,25	5,66**
Грешка	29	36,46		31,67	
Коефицијент варијације			12,66%		8,97%

ns – није значајно; \*\* - значајност на нивоу 0,01%; df – степени слободне

Табела 16. Средње вредности клијавости (%) семена самооплодних линија кукуруза у тесту убрзаног старења

Линија	Прва оцена у АА тесту			Клијавост у АА тесту		
	2011	2014	Просек	2011	2014	Просек
L-39	78	93	85,50 <sup>a</sup>	90	97	93,50 <sup>ab</sup>
ZPL-217	59	80	69,50 <sup>cd</sup>	86	97	91,50 <sup>ab</sup>
ZPL-255/75-5	5	78	41,50 <sup>ef</sup>	57	82	69,50 <sup>fg</sup>
ZPL-217/415D-3	77	94	85,50 <sup>ab</sup>	96	97	96,50 <sup>a</sup>
ZPL-173/3	34	81	57,50 <sup>d</sup>	83	92	87,50 <sup>bcde</sup>
ZPL-255/75-3	1	83	42,00 <sup>ef</sup>	20	94	57,00 <sup>gh</sup>
L-375/25-6	13	90	51,50 <sup>d</sup>	65	95	80,00 <sup>cde</sup>
DK-471/3-1-2	49	93	71,00 <sup>bc</sup>	60	93	76,50 <sup>def</sup>
Lx-1117-3-1	5	53	29,00 <sup>f</sup>	25	84	54,50 <sup>h</sup>
LK-335/99	0	2	1,00 <sup>g</sup>	0	17	8,50 <sup>i</sup>
ZPLC-704	59	93	76,00 <sup>abc</sup>	76	93	84,50 <sup>bcde</sup>
L-38/200h/16-1	17	91	54,00 <sup>d</sup>	77	94	85,50 <sup>bcd</sup>
HS-84-16	25	95	60,00 <sup>cd</sup>	61	99	80,00 <sup>bcde</sup>
V-273-1-10/3	53	83	68,00 <sup>cd</sup>	90	92	91,00 <sup>abc</sup>
PB73-102	3	86	44,50 <sup>e</sup>	60	92	76,00 <sup>ef</sup>
Просек	31,87	79,67	55,77	63,07	87,87	75,47

Вредности означене истим словима не разликују се значајно на основу LSD теста на нивоу 0,05%

## 6.8 Дужина клијанаца

Дужина примарног корена клијанаца кукуруза у стандардном тесту клијавости била је значајно мања код семена из 2011. године него код семена из 2014. године (таб. 17), док се дужина примарног стабаоцета није значајно променила са старењем семена. Анализом варијансе утврђене су значајне разлике између испитиваних самооплодних линија у погледу дужине корена и стабаоцета у оптималним условима клијања. Интеракције између испитиваних чиниоца биле су у оба случаја (дужина корена и стабаоцета) значајне.

Табела 17. Статистичка значајност деловања испитиваних чиниоца на дужину примарног корена и стабаоцета кукуруза у стандардном тесту клијавости

Извори варирања	df	Дужина примарног корена		Дужина примарног стабаоцета		
		Средине квадрата	F вредност	Средине квадрата	F вредност	
Понављања	1	0,58	7,56*	0,05	2,19 <sup>ns</sup>	
Генотип	A	14	1,51	19,64**	0,39	17,92**
Година умножавања	B	1	5,34	69,61**	0,00	0,01 <sup>ns</sup>
Генотип x година	AB	14	1,07	13,94**	0,11	4,79**
Грешка	29	0,08		0,02		
Коефицијент варијације			5,26%		10,52%	

ns – није значајно; \* - значајност на нивоу 0,05%; \*\* - значајност на нивоу 0,01%; df – степени слободе

Генотип и старење семена имали су веома значајан утицај на дужину клијанаца у тесту убрзаног старења. Интеракција између посматраних чиниоца такође је била значајна (таб.18). Коефицијенти варијације за дужину примарног корена и стабаоцета били су већи у овом тесту него у хладном тесту и тесту стандардне клијавости, што указује на веће варирање у порасту клијанаца након третмана високе температуре и високе релативне влажности ваздуха.

Табела 18. Статистичка значајност деловања испитиваних чиниоца на дужину примарног корена и стабаоцета кукуруза у тесту убрзаног старења

Извори варирања	df	Дужина примарног корена (АА)		Дужина примарног стабаоцета (АА)		
		Средине квадрата	F вредност	Средине квадрата	F вредност	
Понављања	1	0,29	0,63 <sup>ns</sup>	0,00	0,04 <sup>ns</sup>	
Генотип	A	14	9,12	19,59**	0,92	23,75**
Година умножавања	B	1	132,02	283,68**	27,61	712,63**
Генотип x година	AB	14	2,09	4,49**	0,45	11,61**
Грешка	29	0,47		0,04		
Коефицијент варијације			15,40%		12,66%	

ns – није значајно; \*\* - значајност на нивоу 0,01%; df – степени слободe

Чување семена четири године на 18 °C веома значајно је утицало на смањење дужине примарног стабаоцета у хладном тесту у односу на семе чувано годину дана на 5 °C. Разлике у дужини примарног корена самооплодних линија између семена из 2011. и 2014. године биле су статистички значајне на нивоу 0,05% вероватноће (таб. 19).

Утицај генотипа био је изражен и код дужине примарног корена и код дужине примарног стабаоцета у хладном тесту. Интеракције између испитиваних фактора биле су значајне код дужине примарног стабаоцета, али не и код дужине примарног корена.

Табела 19. Статистичка значајност деловања испитиваних чиниоца на дужину примарног корена и стабаоцета кукуруза у хладном тесту

Извори варирања	df	Дужина примарног корена (СТ)		Дужина примарног стабаоцета (СТ)		
		Средине квадрата	F вредност	Средине квадрата	F вредност	
Понављања	1	1,26	1,16 <sup>ns</sup>	0,00	0,00 <sup>ns</sup>	
Генотип	A	14	5,21	4,81**	1,16	12,18**
Година умножавања	B	1	7,56	6,98*	91,02	954,70**
Генотип x година	AB	14	1,08	1,00 <sup>ns</sup>	1,12	11,70**
Грешка	29	1,08		0,10		
Коефицијент варијације			10,80%		5,14%	

ns – није значајно; \* - значајност на нивоу 0,05%; \*\* - значајност на нивоу 0,01%; df – степени слободe

Семе самооплодних линија чувано годину дана на 5 °C имало је већу дужину примарног корена (5,56 cm) након четири дана клијања у стандардном тесту клијавости

него семе чувано четири године на 18 °C (4,95 cm) (таб. 20). Просечна дужина примарног стабаоцета самооплодних линија није се разликовала код семена из 2011. и 2014. године.

Код линије HS-84-16 измерена је највећа дужина примарног корена (6,05 cm) и стабаоцета (1,80 cm). Ово је линија која је имала најмању масу 1000 семена од 243,7 g (таб. 4). Последња у рангу била је линија L-375/25-6 са најмањом просечном дужином корена (3,90 cm), а две линије L-39 и V-273-1-10/3 имале су најмању дужину примарног стабаоцета (1,00 cm).

Табела 20. Средње вредности дужине примарног корена и стабаоцета (cm) кукуруза након четири дана клијања у стандардном тесту клијавости

Линија	Дужина примарног корена			Дужина примарног стабаоцета		
	2011	2014	Просек	2011	2014	Просек
L-39	5,8	4,8	5,30 <sup>bcd</sup>	1,0	1,0	1,00 <sup>f</sup>
ZPL-217	6,2	5,2	5,70 <sup>ab</sup>	1,2	1,0	1,10 <sup>ef</sup>
ZPL-255/75-5	4,9	6,1	5,50 <sup>b</sup>	1,5	1,9	1,70 <sup>ab</sup>
ZPL-217/415D-3	6,1	5,9	6,00 <sup>a</sup>	1,3	1,0	1,15 <sup>ef</sup>
ZPL-173/3	5,0	5,1	5,05 <sup>de</sup>	1,5	1,1	1,30 <sup>de</sup>
ZPL-255/75-3	4,4	6,7	5,55 <sup>b</sup>	1,7	1,8	1,75 <sup>a</sup>
L-375/25-6	3,5	4,3	3,90 <sup>f</sup>	1,2	1,0	1,10 <sup>ef</sup>
DK-471/3-1-2	5,6	5,4	5,50 <sup>b</sup>	2,0	1,3	1,65 <sup>abc</sup>
Lx-1117-3-1	4,3	5,8	5,05 <sup>de</sup>	1,4	1,7	1,55 <sup>bc</sup>
LK-335/99	5,3	4,9	5,10 <sup>cde</sup>	1,1	1,1	1,10 <sup>ef</sup>
ZPLC-704	4,8	6,2	5,50 <sup>bc</sup>	1,6	1,9	1,75 <sup>a</sup>
L-38/200h/16-1	5,2	6,2	5,70 <sup>ab</sup>	1,4	1,6	1,50 <sup>cd</sup>
HS-84-16	5,2	6,9	6,05 <sup>a</sup>	1,6	2,0	1,80 <sup>a</sup>
V-273-1-10/3	4,6	4,9	4,75 <sup>e</sup>	1,2	0,8	1,00 <sup>f</sup>
PB73-102	3,4	5,0	4,20 <sup>f</sup>	1,4	1,8	1,60 <sup>bc</sup>
Просек	4,95	5,56	5,26	1,41	1,40	1,40

Вредности означене истим словима не разликују се значајно на основу LSD теста на нивоу 0,05%

Природно старење семена је у већој мери утицало на смањење дужине примарног стабаоцета у хладном тесту него на дужину примарног корена. Просечна вредност дужине корена била је мања за 0,82 cm код семена из 2011. године у односу на семе из 2014., а просечна дужина стабаоцета била је мања за 2,46 cm (таб. 21).

Највећу дужину корена у хладном тесту имале су линије L-39 и ZPL-217, а највећу дужину примарног стабаоцета линије L-38/200H/16-1 и PB73-102. Самооплодна линија L-375/25-6 имала је најмању просечну дужину клијанаца у

условима ниских температура за клијање (7,15 cm примарни корен, и 4,90 cm примарно стабаоце).

Табела 21. Средње вредности дужине примарног корена и стабаоцета (cm) кукуруза у хладном тесту након четири дана клијања у фази са оптималним условима

Линија	Дужина примарног корена (СТ)			Дужина примарног стабаоцета (СТ)		
	2011	2014	Просек	2011	2014	Просек
L-39	10,8	11,2	11,00 <sup>a</sup>	5,0	7,5	6,25 <sup>bc</sup>
ZPL-217	11,0	11,2	11,10 <sup>a</sup>	4,0	7,4	5,70 <sup>def</sup>
ZPL-255/75-5	9,1	9,6	9,35 <sup>abcdef</sup>	4,3	7,6	5,95 <sup>cd</sup>
ZPL-217/415D-3	9,9	11,3	10,60 <sup>abc</sup>	5,1	8,1	6,60 <sup>ab</sup>
ZPL-173/3	7,7	9,3	8,50 <sup>efg</sup>	5,1	7,4	6,25 <sup>bc</sup>
ZPL-255/75-3	7,4	9,8	8,60 <sup>cdef</sup>	4,2	7,7	5,95 <sup>cde</sup>
L-375/25-6	6,8	7,5	7,15 <sup>g</sup>	2,9	6,9	4,90 <sup>g</sup>
DK-471/3-1-2	9,1	9,2	9,15 <sup>cdef</sup>	4,7	6,1	5,40 <sup>f</sup>
Lx-1117-3-1	9,0	11,0	10,00 <sup>abcde</sup>	4,9	6,1	5,50 <sup>ef</sup>
LK-335/99	9,6	8,4	9,00 <sup>def</sup>	5,7	5,7	5,70 <sup>def</sup>
ZPLC-704	7,0	9,3	8,15 <sup>fg</sup>	5,0	6,9	5,95 <sup>cde</sup>
L-38/200h/16-1	10,0	11,5	10,75 <sup>ab</sup>	5,3	8,5	6,90 <sup>a</sup>
HS-84-16	9,7	10,9	10,30 <sup>abcd</sup>	5,2	6,8	6,00 <sup>cd</sup>
V-273-1-10/3	11,1	10,3	10,70 <sup>ab</sup>	4,7	7,6	6,15 <sup>cd</sup>
PB73-102	9,5	9,5	9,50 <sup>bcdef</sup>	5,5	8,2	6,85 <sup>a</sup>
Просек	9,18	10,00	9,59	4,77	7,23	6,00

Вредности означене истим словима не разликују се значајно на основу LSD теста на нивоу 0,05%

Продужено чување семена самооплодних линија кукуруза највише је утицало на пораст клијанаца након стресних услова у тесту убрзаног старења. Дужина примарног корена и примарног стабаоцета била је приближно дупло мања код семена из 2011. године него код семена из 2014. године (таб. 22).

Самооплодне линије су различито реаговале на услове у току природног и вештачког старења. Највећу дужину корена код семена из 2014. године имала је линија ZPL-217/415D-3 (8,5 cm), али након четири године чувања на 18 °C највећи пораст корена у тесту убрзаног старења имале су линије ZPL-255/75-5 и HS-84-16. Потпуно одсуство примарног корена у AA тесту код семена из 2011. године регистровано је код линија ZPL-255/75-3, LX-1117-3-1 и LK-335/99.

Највећа дужина примарног стабаоцета у тесту убрзаног старења семена измерена је код линије HS-84-16 из 2014. године (таб. 22). Након природног старења на 18 °C пораст примарног стабаоцета у AA тесту био је највећи код линије ZPL-255/75-5.



Четири дана клијања у оптималним условима након третмана високих температура и високе релативне влажности није било довољно да се развије примарно стабаоце код линија ZPL-255/75-3 и LK-335/99 из 2011. године.

Табела 22. Средње вредности дужине примарног корена и стабаоцета (cm) кукуруза у тесту убрзаног старења након четири дана клијања у фази са оптималним условима

Линија	Дужина примарног корена (AA)			Дужина примарног стабаоцета (AA)		
	2011	2014	Просек	2011	2014	Просек
L-39	4,5	7,2	5,85 <sup>abc</sup>	1,0	1,9	1,45 <sup>cd</sup>
ZPL-217	4,4	5,9	5,15 <sup>cd</sup>	0,9	1,7	1,30 <sup>de</sup>
ZPL-255/75-5	4,8	6,6	5,70 <sup>abcd</sup>	1,8	3,0	2,40 <sup>a</sup>
ZPL-217/415D-3	3,8	8,5	6,15 <sup>ab</sup>	1,0	2,5	1,75 <sup>b</sup>
ZPL-173/3	2,7	3,9	3,30 <sup>ef</sup>	1,0	1,8	1,40 <sup>cd</sup>
ZPL-255/75-3	0,0	6,3	3,15 <sup>ef</sup>	0,0	2,9	1,45 <sup>cd</sup>
L-375/25-6	2,7	4,9	3,80 <sup>e</sup>	0,6	1,6	1,10 <sup>e</sup>
DK-471/3-1-2	3,8	6,0	4,90 <sup>cd</sup>	1,3	2,0	1,65 <sup>bc</sup>
Lx-1117-3-1	0,0	4,9	2,45 <sup>f</sup>	1,1	2,5	1,80 <sup>b</sup>
LK-335/99	0,0	2,0	1,00 <sup>g</sup>	0,0	0,8	0,40 <sup>f</sup>
ZPLC-704	3,7	6,4	5,05 <sup>cd</sup>	1,0	2,6	1,80 <sup>b</sup>
L-38/200h/16-1	4,0	6,7	5,35 <sup>bcd</sup>	0,8	2,5	1,65 <sup>bc</sup>
HS-84-16	4,9	7,8	6,35 <sup>a</sup>	1,0	3,5	2,25 <sup>a</sup>
V-273-1-10/3	3,7	5,8	4,75 <sup>d</sup>	0,8	1,6	1,20 <sup>de</sup>
PB73-102	1,5	5,8	3,65 <sup>e</sup>	1,0	2,9	1,95 <sup>b</sup>
Просек	2,97	5,91	4,44	0,89	2,25	1,57

Вредности означене истим словима не разликују се значајно на основу LSD теста на нивоу 0,05%

На графикону 11. представљене су вредности дужине примарног корена у оптималним (стандардни тест клијавости) и стресним условима за клијање (хладни тест и AA тест). Уочава се знатно већа дужина корена клијанаца кукуруза у хладном тесту код оба нивоа старости семена у поређењу са вредностима у стандардном тесту клијавости и тесту убрзаног старења. Просечна дужина примарног корена и стабаоцета за све самоопходне линије из 2014. године била је већа у AA тесту (5,91 cm/2,25 cm) него у стандардном тесту клијавости (5,56 cm/1,40 cm). За семе из 2011. године тај однос се променио у корист дужине примарног корена и стабаоцета клијанаца кукуруза у стандардном тесту клијавости.

Већа дужина корена клијанаца у вигор тестовима код семена старог годину дана се објашњава бубрењем семена у току стресног периода, које пребацивањем у

оптималне услове за раст има предност у односу на тек постављено суво семе у тесту стандардне клијавости.

Код самооплодних линија чуваних четири године на 18 °C предност набубрелог семена у АА тесту није била изражена у погледу дужине корена јер није могао да се надомести негативан утицај стресних температура и релативне влажности ваздуха.

Анализа варијансе показала је да су самооплодне линије из 2011. године имале значајно мању дужину примарног корена у хладном тесту од линија из 2014. године (таб. 19). Детаљном анализом резултата путем LSD теста за интеракције између генотипа и старости семена утврђено је да је та разлика била значајна само код линије ZPLC-704 (графикон 11., маркер у облику квадрата без боје).

Насупрот хладном тесту, тест убрзаног старења код семена из 2011. године у поређењу са семеном из 2014. допринео је значајном смањењу дужине корена код свих самооплодних линија осим код линије ZPL-173/3 (једини црвени троугао у левом делу графикана 11).

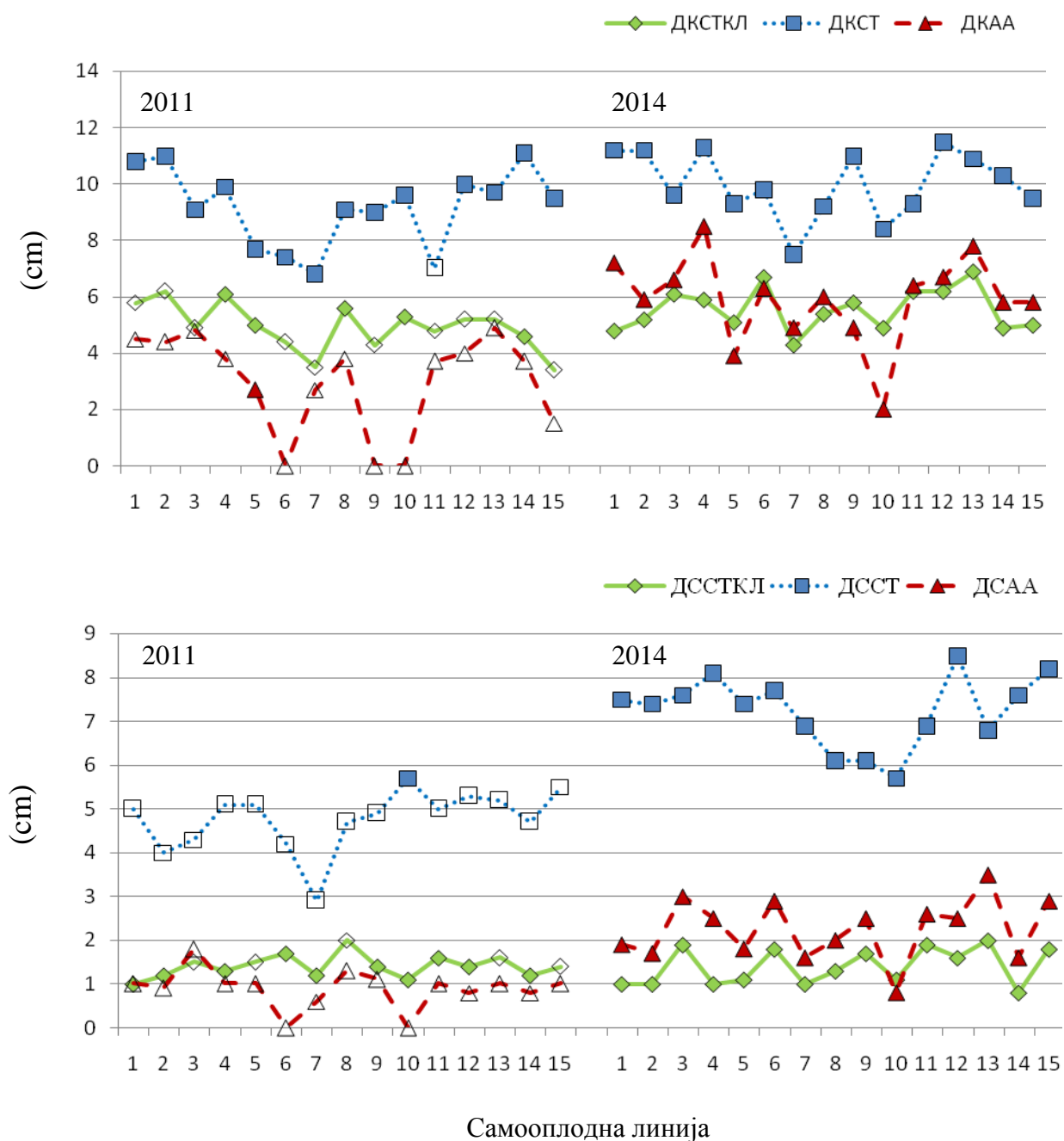
Дужина корена у стандардном тесту клијавости код пет линија није значајно промењена након продуженог чувања (зелени ромбови у левом делу графикана 11). Код линија L-39 и ZPL-217 из 2011. године забележена је значајно већа дужина корена, а код преосталих осам линија старије семе је имало мању дужину корена у стандардном тесту клијавости (ромбови без боје).

На доњем делу графикана 11 представљене су вредности дужине примарног стабаоцета у стандардном тесту клијавости, хладном тесту и тесту убрзаног старења након четири дана клијања у оптималним условима. Уочавају се исти односи између примењених тестова као код дужине примарног корена.

Код семена из 2011. године просечна дужина примарног стабаоцета у стандардном тесту клијавости није била значајно нижа у односу на просечну вредност самооплодних линија из 2014. године. Значајне разлике у LSD тесту за интеракцију између чиниоца регистроване су код линија ZPL-255/75-5, ZPL-173/3, ДК-471/3-1-2, НS-84-16 и РВ73-102.

Чување семена четири године на 18 °C допринело је појави значајно мањег примарног стабаоцета код свих самооплодних линија у АА тесту (маркер троуглови

без боје) и код 14 од 15 линија у хладном тесту (маркер квадратићи без боје) у односу на семе чувано годину дана на 5 °С.



Графикон 11. Дужина примарног корена (ДК) и примарног стабаоцета (ДС) (cm) клијанаца самооплодних линија кукуруза из 2011. и 2014. године у стандардном тесту клијавости (СТКЛ), хладном тесту (СТ) и тесту убрзаног старења (АА) након четири дана клијања у оптималним условима. Маркери без боје означавају статистички значајне разлике између истих параметара квалитета семена самооплодних линија из 2011. и 2014. године

## 6.9 Ницање у пољу

Анализом варијансе утврђено је да локација није имала значајан утицај на резултате ницања у пољу. Две експерименталне године (2015. и 2016.) разликовале су се у погледу температуре и влажности земљишта (граф. 3 и 4) у периоду од сетве до ницања, што је допринело значајним разликама у брзини клијања и оствареном проценту изниклих биљака самооплодних линија кукуруза. Година умножавања односно старост семена и генотип значајно су утицале на резултате ницања у пољу (таб. 23). Поред наведених чинилаца значајне су биле и интеракције локација x година сетве, као и година умножавања x генотип.

Табела 23. Статистичка значајност деловања испитиваних чиниоца на ницање самооплодних линија кукуруза

Извори варирања		df	Средине квадрата	F вредност
Понављања		1	28,11	0,58 <sup>ns</sup>
Локација	A	1	67,40	1,40 <sup>ns</sup>
Година сетве	B	1	523,69	10,85**
Локација x година сетве	AB	1	202,99	4,21*
Година умножавања	C	1	4154,75	86,10**
Локација x год. умножавања	AC	1	12,85	0,27 <sup>ns</sup>
Год.сетве x год.умножавања	BC	1	38,32	0,79 <sup>ns</sup>
Локација x год.сетве x год.умнож.	ABC	1	130,83	2,71 <sup>ns</sup>
Генотип	D	14	418,31	8,67**
Локација x генотип	AD	14	22,78	0,47 <sup>ns</sup>
Година сетве x генотип	BD	14	40,70	0,84 <sup>ns</sup>
Локација x год.сетве x генотип	ABD	14	30,74	0,64 <sup>ns</sup>
Год.умножавања x генотип	CD	14	452,89	9,39**
Локација x год. умнож. x генотип	ACD	14	84,69	1,76 <sup>ns</sup>
Год.сетве x год.умнож. x генотип	BCD	14	36,14	0,75 <sup>ns</sup>
Локација x год.сетве x год.умнож. x генотип	ABCD	14	33,32	0,69 <sup>ns</sup>
Грешка		119	48,26	
Коефицијент варијације				9,78%

ns – није значајно; \* - значајност на нивоу 0,05%; \*\* - значајност на нивоу 0,01%; df – степени слободe

Вредности ницања у пољу (таб. 24) биле су ниже од вредности остварених приликом клијања семена кукуруза у оптималним лабораторијским условима (таб. 6), а нешто више у односу на вредности стресних вигор тестова (таб. 14 и 16).

На локацији Земун Поље година испитивања није значајно утицала на резултате пољског огледа. Дужина чувања семена значајно је утицала на резултате ницања у пољу. Семе самооплодних линија из 2014. године ницало је брже и постигло боље резултате у односу на семе из 2011. године. Процент ницања самооплодних линија из 2011. године износио је 83,07% (сетва 2015.) и 81,80% (сетва 2016.) што је за 7% тј. 9% мање у односу на самооплодне линије из 2014. године (таб. 24).

Табела 24. Средње вредности ницања у пољу (%) самооплодних линија кукуруза из 2011. и 2014. године у огледима 2015. и 2016. године на локалитетима Земун Поље и Умка

Линија	Земун Поље				Умка				Просек
	Сетва 2015.		Сетва 2016.		Сетва 2015.		Сетва 2016.		
	2011	2014	2011	2014	2011	2014	2011	2014	
L-39	80	96	73	94	84	94	81	97	87,38 <sup>bc</sup>
ZPL-217	77	85	74	76	75	85	80	86	79,75 <sup>de</sup>
ZPL-255/75-5	64	98	47	100	64	97	81	97	81,00 <sup>c</sup>
ZPL-217/415D-3	84	96	79	92	89	95	84	96	89,38 <sup>bc</sup>
ZPL-173/3	83	88	84	88	75	85	89	89	85,13 <sup>cd</sup>
ZPL-255/75-3	69	85	86	74	52	86	69	87	76,00 <sup>e</sup>
L-375/25-6	89	96	84	98	91	93	91	97	92,38 <sup>ab</sup>
DK-471/3-1-2	83	92	88	94	76	96	84	96	88,63 <sup>bc</sup>
Lx-1117-3-1	94	73	97	64	87	77	97	78	83,38 <sup>cd</sup>
LK-335/99	93	84	97	98	86	95	95	96	93,00 <sup>ab</sup>
ZPLC-704	87	89	92	92	79	95	89	95	89,75 <sup>bc</sup>
L-38/200h/16-1	96	95	92	98	96	98	99	98	96,50 <sup>a</sup>
HS-84-16	91	95	98	98	86	97	92	99	94,50 <sup>a</sup>
V-273-1-10/3	75	98	61	98	70	93	93	99	85,88 <sup>bc</sup>
PВ73-102	81	87	75	90	78	90	89	91	85,13 <sup>cd</sup>
Просек	83,07 <sup>d</sup>	90,47 <sup>ab</sup>	81,80 <sup>d</sup>	90,27 <sup>bc</sup>	79,20 <sup>d</sup>	91,73 <sup>ab</sup>	87,53 <sup>c</sup>	93,40 <sup>a</sup>	87,18

Вредности означене истим словима не разликују се значајно на основу LSD теста на нивоу 0,05%

Највеће просечне резултате ницања на обе локације и обе испитиване године постигла је самооплодна линија L-38/200H/16-1 (96,50%). Константно високе вредности ницања семена оба нивоа старости допринеле су да наведена линија буде најбоље рангирана.

На локацији Земун Поље у испитивањима ницања 2015. од свих самооплодних линија из 2011. године споменута линија L-38/200H/16-1 постигла је најбоље резултате

(96%). Линије ZPL-255/75-5 и V-273-1-10/3 из 2014. године имале су највише вредности ницања у пољу (98%). У огледу 2016. године истакла се линија LK-335/99 се најбољим просечним вредностима за семе из 2011. и 2014. године (97,50%). У пољском огледу 2015. године најслабије ницање имала је линија ZPL-255/75-3 са 69% ницања код семена из 2011. године и 85% код семена из 2014. године. У испитивањима 2016. године самоопходна линија ZPL-255/75-5 је имала највише вредности ницања код семена из 2014. године (100%), али због веома слабог ницања семена из 2011. године (47%) била је слабије рангирана. Код наведене линије забележене су велике разлике између понављања у огледу у Земун Пољу 2016. године, које су уследиле због варирања у структури земљишта. Недовољно уситњено земљиште својим механичким дејством довело је до значајне редукције броја никлих биљака у једном понављању самоопходне линије ZPL-255/75-5.

Остварени резултати у пољским огледима у сагласности су са лабораторијским тестовима, а нарочито хладним тестом где су линије ZPL-255/75-5 и ZPL-255/75-3 такође издвојене као линије са најслабијим вигором.

Пољски оглед на локалитету Умка одликовао се разликама између година испитивања (таб. 24). У првој години (2015) остварен је мањи склоп биљака у односу на 2016. годину за 2% код семена из 2014. године, а за 8% код семена из 2011. године. Слабије ницање је резултат мање повољних агроеколошких услова. У априлу 2015. године преовладавали су веома хладни услови за клијање и почетни пораст биљака (граф. 3 и 4). Период ницања у 2015. години био је веома дуг (три недеље), док је ницање у 2016. години регистровано 12. дана након сетве.

Семе из 2014. године постигло је виши проценат ницања (91,73% и 93,40%) у односу на семе из 2011. године (79,20% и 87,53%). Та разлика била је израженија у огледу 2015. године због стреснијих услова испитивања.

На локалитету Умка најбоље резултате ницања постигла је линија L-38/200H/16-1 у обе испитиване године. Самоопходна линија ZPL-255/75-3 била је најлошије рангирана и у 2015. и у 2016. години. Линија ZPL-255/75-5 је у пољском огледу имала исти тренд опадања вигора са старењем као и у лабораторијским испитивањима. Семе из 2014. године је остварило високе вредности у пољском огледу док је семе након чувања драстично слабије клијало и ницало у стресним условима.

## 6.10 Корелација ранга

Коефицијенти корелације ранга по Spearman-у између свих посматраних параметара квалитета семена међусобно, израчунати су за сваку годину посебно (табела 25 и 26).

Резултати теста појаве примарног корена нису били у сагласности са резултатима стресних вигор тестова (хладног теста и теста убрзаног старења). На пример линија ZPL-255/75-3 заузела је 3. место у тесту појаве примарног корена, а била је најлошије рангирана у стандардном тесту клијавости и стресним вигор тестовима. Обрнуто, линија ZPL-217/415D-3 најбоље рангирана на основу свих лабораторијских испитивања квалитета семена, а 2. по рангу када су урачунати и резултати ницања у пољу (таб. 28) била је 6. по реду у тесту појаве примарног корена.

Боља сагласност у рангирању самооплодних линија постигнута је између теста појаве примарног корена и дужина примарног корена и стабаоцета у стандардном тесту клијавости и тесту убрзаног старења. За семе из 2011. године статистички значајан коефицијент корелације добијен је између теста појаве примарног корена и прве оцене у АА тесту, а за семе из 2014. године између теста појаве примарног корена и енергије клијања.

Статистички значајна корелација ранга остварена је између енергије клијања и укупне клијавости (0,88\*\* за семе из 2011. године, и 0,58\* за семе из 2014. године).

Између стандардног теста клијавости самооплодних линија из 2014. године добијена је значајна корелација ранга са првом и завршном оценом у АА тесту и хладном тесту, а такође и са ТТЗ тестом за оцену вигора. За семе из 2011. године сагласност стандардне клијавости и вигор тестова била је мања, па су значајни били само коефицијенти корелације са хладним тестом (завршна оцена) и ТТЗ вигор тестом.

Тетразолиум тест за оцену виталности био је у сагласности са ТТЗ тестом за оцену вигора у случају семена из 2014. године, док је код семена из 2011. године био у сагласности са поменутиим тестом и додатно са енергијом клијања и завршном клијавости.

Коефицијенти корелације ранга између хладног теста и теста убрзаног старења били су статистички значајни (0,66\*\* за семе из 2011. године и 0,53\* за семе из 2014. године). Највише вредности од значајних коефицијената добијене су између прве и завршне оцене у хладном тесту (0,90\*\* и 0,92\*\*), а затим између прве и завршне оцене у АА тесту (0,88\*\* и 0,73\*\*).

Тест проводљивости семена није показао добру сагласност са осталим лабораторијским тестовима. Значајна корелација ранга остварена је само са ТТЗ тестом за оцену вигора код семена из 2011. године.

Ефикасност процене вигора семена самооплодних линија мерењем дужине клијанаца била је делимична. Већи број значајних коефицијената корелације са другим тестовима квалитета добијен је мерењем примарног корена (19 од 42) него мерењем примарног стабаоцета (9 од 42). Дужина примарног корена након убрзаног старења била је у сагласности са највећим бројем других тестова. Дужина корена у стандардном тесту клијавости није била у корелацији са процентом нормалних клијанаца у хладном тесту и тесту убрзаног старења, али је била у корелацији са дужином корена у овим тестовима.

Коефицијенти корелације ранга по Spearman-у између лабораторијских тестова и ницања у пољу приказани су у табели 27. Тест појаве примарног корена није био добар показатељ ницања у пољу, јер су остварени ниски коефицијенти корелације ранга. Резултати енергије клијања самооплодних линија из 2011. године били су у значајној корелацији са вредностима ницања 2015. године у Земун Пољу, а код семена из 2014. године значајна корелација је постигнута са резултатима огледа Умка 2015. године.

Стандардна клијавост и тетразолиум тест за оцену виталности били су у доброј сагласности са ницањем у пољу са по четири значајна коефицијента корелације ранга од укупно осам и то првенствено код семена из 2011. године. Вигор оцењен тетразолиум тестом је имао два значајна коефицијента код семена из 2014. године.

Тест убрзаног старења је стресни вигор тест који је омогућио најјасније раздвајање самооплодних линија у лабораторијским условима, али се класификација није подударала са понашањем линија у пољу. Коефицијенти корелације ранга између АА теста (прва и завршна оцена) и ницања у пољу нису били значајни.



Хладни тест је био у значајној корелацији са ницањем у пољу 2015. године на локацији Земун Поље и то код семена из 2014. године. У огледу 2015. године на локацији Умка, ницање самооплодних линија из 2011. године је било у значајној корелацији са вредностима завршне оцене хладног теста.

У спроведеним истраживањима утврђена је променљива сагласност теста проводљивости са ницањем у пољу. Вредности коефицијената корелације ранга су се кретале од ниских негативних до високо позитивних и статистички значајних.

Рангирање самооплодних линија кукуруза на основу дужине примарног корена и стабаоцета клијанаца није било у сагласности са оствареним поретком приликом ницања у пољу. Израчунати коефицијенти корелације били су ниски и у великом броју негативни. Ипак, дужина примарног корена клијанаца у тесту убрзаног старења је била у значајној корелацији са ницањем семена из 2014. године у огледима 2015. године на обе локације.

Табела 25. Коефицијенти корелације ранга по Spearman-у између примењених лабораторијских тестова на семену из 2011. године

	Енергија	Клијавост	ТТЗ витал.	ТТЗ вигор	АА 1. оцена	АА	СТ 1. оцена	СТ	Проводљив.	ДК СТКЛ	ДК АА	ДК СТ	ДС СТКЛ	ДС АА	ДС СТ
Прим.кор.	0,15	0,06	0,16	0,02	0,62*	0,30	0,17	0,17	0,03	0,52*	0,59*	0,07	0,36	0,59*	-0,21
Енергија		0,88**	0,62*	0,44	0,14	0,23	0,53*	0,48	0,49	0,47	0,10	0,47	-0,27	-0,17	0,49
Клијавост			0,73**	0,52*	0,06	0,19	0,45	0,54*	0,50	0,33	-0,06	0,33	-0,49	-0,27	0,30
ТТЗ витал.				0,78**	-0,03	-0,07	0,15	0,24	0,50	0,12	-0,18	-0,14	-0,20	-0,02	0,16
ТТЗ вигор					0,20	0,24	0,33	0,37	0,58*	0,02	-0,06	-0,03	-0,24	-0,15	-0,07
АА 1. оцена						0,88**	0,62*	0,47	0,18	0,58*	0,58*	0,42	-0,16	0,28	-0,13
АА							0,77**	0,66**	0,29	0,43	0,48	0,53*	-0,36	0,04	-0,03
СТ 1. оцена								0,92**	0,28	0,38	0,47	0,69**	-0,45	-0,10	0,29
СТ									0,37	0,23	0,39	0,53*	-0,43	-0,16	0,25
Проводљив										-0,17	-0,21	0,01	-0,12	-0,22	0,18
ДК СТКЛ											0,57	0,58*	-0,20	0,12	0,13
ДК АА												0,50	0,04	0,41	-0,06
ДК СТ													-0,50	-0,05	0,24
ДС СТКЛ														0,42	-0,06
ДС АА															0,04

\* - значајност на нивоу 0,05%; \*\* - значајност на нивоу 0,01%

ТТЗ - тетразолиум тест, АА - тест убрзаног старења, СТ - хладни тест, ДК СТКЛ - дужина корена у стандардном тесту клијавости, ДК АА - дужина корена у тесту убрзаног старења, ДК СТ - дужина корена у хладном тесту, ДС СТКЛ - дужина стабоцета у стандардном тесту клијавости, ДС АА - дужина стабоцета у тесту убрзаног старења, ДС СТ - дужина стабоцета у хладном тесту

Табела 26. Коефицијенти корелације ранга по Spearman-у између примењених лабораторијских тестова на семену из 2014. године

	Енер гија	Клија вост	ТТЗ витал.	ТТЗ вигор	АА 1. оцена	АА	СТ 1. оцена	СТ	Прово дљив.	ДК СТКЛ	ДК АА	ДК СТ	ДС СТКЛ	ДС АА	ДС СТ
Прим.кор.	0,58*	0,24	0,43	0,28	0,34	0,15	0,03	0,02	0,14	0,64**	0,42	-0,09	0,69**	0,69**	-0,06
Енергија		0,58*	0,24	0,23	0,55*	0,43	0,25	0,22	0,34	0,71**	0,74**	0,36	0,39	0,50	0,20
Клијавост			0,38	0,64**	0,67**	0,66**	0,63*	0,70**	0,09	0,29	0,71**	0,43	-0,11	0,16	0,25
ТТЗ витал.				0,70**	0,22	0,30	0,45	0,35	0,40	0,27	0,36	0,41	0,08	0,18	0,15
ТТЗ вигор					0,54*	0,38	0,40	0,39	0,33	0,19	0,48	0,31	-0,03	0,08	0,01
АА 1.оцена						0,73**	0,27	0,34	0,45	0,28	0,72**	0,22	0,10	0,33	0,18
АА							0,42	0,53*	0,24	0,20	0,64**	0,47	-0,14	0,14	0,19
СТ 1.оцена								0,90**	-0,26	0,22	0,55*	0,55*	-0,26	0,13	0,65**
СТ									-0,33	0,00	0,58*	0,47	-0,40	0,02	0,53*
Проводљив										0,27	0,30	0,31	0,25	0,23	-0,01
ДК СТКЛ											0,57*	0,34	0,74**	0,79**	0,16
ДК АА												0,62*	0,25	0,60*	0,43
ДК СТ													-0,11	0,25	0,51
ДС СТКЛ														0,85**	-0,04
ДС АА															0,32

\* - значајност на нивоу 0,05%; \*\* - значајност на нивоу 0,01%

ТТЗ - тетразолиум тест, АА - тест убрзаног старења, СТ - хладни тест, ДК СТКЛ - дужина корена у стандардном тесту клијавости, ДК АА - дужина корена у тесту убрзаног старења, ДК СТ - дужина корена у хладном тесту, ДС СТКЛ - дужина стабаоцета у стандардном тесту клијавости, ДС АА - дужина стабаоцета у тесту убрзаног старења, ДС СТ - дужина стабаоцета у хладном тесту

Табела 27. Коефицијенти корелације ранга по Spearman-у између примењених лабораторијских тестова и ницања у пољу

	Земун Поље 2015		Земун Поље 2016		Умка 2015		Умка 2016	
	2011	2014	2011	2014	2011	2014	2011	2014
Прим.корен	0,10	0,06	0,12	-0,03	0,11	0,29	-0,19	-0,03
Енергија	0,52*	0,05	0,39	0,03	0,38	0,57*	0,46	0,08
Клијавост	0,64*	0,48	0,37	0,24	0,61*	0,39	0,53*	0,51*
ТТЗ витал.	0,67**	0,36	0,56*	0,26	0,52*	0,23	0,55*	0,35
ТТЗ вигор	0,41	0,59*	0,32	0,39	0,33	0,38	0,43	0,63*
АА 1.оцена	-0,14	0,46	-0,32	0,18	0,06	0,49	-0,26	0,45
АА	-0,13	0,26	-0,46	-0,04	0,13	0,14	-0,11	0,23
СТ 1.оцена	0,15	0,69**	-0,14	0,30	0,39	0,24	0,18	0,47
СТ	0,39	0,72**	0,02	0,23	0,65**	0,14	0,38	0,41
Проводљив	0,54*	-0,17	0,35	-0,10	0,34	0,23	0,74**	0,03
ДК СТКЛ	0,00	-0,10	-0,05	-0,09	0,09	0,37	-0,28	-0,04
ДК АА	-0,17	0,51*	-0,28	0,22	0,01	0,60*	-0,24	0,41
ДК СТ	-0,13	0,15	-0,33	-0,14	0,03	0,07	0,06	0,09
ДС СТКЛ	-0,06	-0,22	0,36	0,02	-0,31	0,33	-0,17	-0,07
ДС АА	-0,06	0,05	-0,08	-0,05	-0,07	0,32	-0,13	0,00
ДС СТ	0,52*	0,37	0,41	0,01	0,41	0,08	0,50	0,15

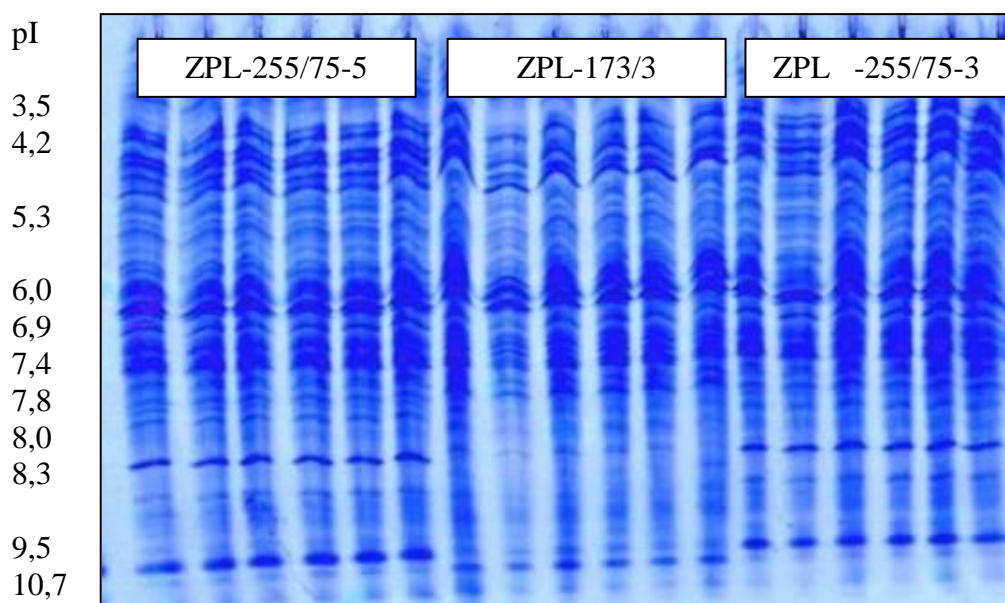
\* - значајност на нивоу 0,05%; \*\* - значајност на нивоу 0,01%;

ТТЗ - тетразолиум тест, АА - тест убрзаног старења, СТ - хладни тест, ДК СТКЛ - дужина корена у стандардном тесту клијавости, ДК АА - дужина корена у тесту убрзаног старења, ДК СТ - дужина корена у хладном тесту, ДС СТКЛ - дужина стабаоцета у стандардном тесту клијавости, ДС АА - дужина стабаоцета у тесту убрзаног старења, ДС СТ - дужина стабаоцета у хладном тесту

## 6.11 Генетичка дивергентност

Анализа протеина семена UTLIEF методом показала је да самоопходне линије ZPL-255/75-5 и ZPL-255/75-3 имају униформну протеинску слику, док остале самоопходне линије имају специфичну протеинску слику која се одликује јединственим распоредом трака.

Укупан број оцењених протеинских фракција – трака на гелу био је 16, од којих је 14 било полиморфно (87,5%). Највећи број трака по којима су се самоопходне линије разликовале налазио се у рН опсегу од 5,8 – 10. На гелу су поред квантитативних разлика уочене и разлике у квантитету тј. интензитету појединих трака, али оне нису разматране у даљој анализи.



Слика 2. Електрофореграм протеинских маркера добијен UTLIEF методом испитиваних шест појединачних семена самоопходних линија

Стрелицама су означене протеинске траке по којима се самоопходна линија ZPL-173/3 разликује од линија ZPL-255/75-5 и ZPL-255/75-3 које имају идентичну протеинску слику

На основу присуства, односно одсуства трака за парове 15 испитиваних линија израчунати су коефицијенти сличности *Simple matching* (SM) (таб. 29). Вредности генетичке сличности кретале су се од 0,44 до 1,00. Најмања сличност била је између линије ZPL-217 и четири самоопходне линије (LX-1117-3-1, L-38/200H/16-1, V-273-1-

10/3 и PB73-102), а највећа између сестринских линија ZPL-255/75-5 и ZPL-255/75-3 (таб. 29).

Таб. 29. *Simple matching* коефицијенти сличности самооплодних линија кукуруза добијених на основу протеинских маркера

	Л1	Л2	Л3	Л4	Л5	Л6	Л7	Л8	Л9	Л10	Л11	Л12	Л13	Л14
Л2	0,94													
Л3	0,88	0,81												
Л4	0,88	0,81	0,75											
Л5	0,56	0,50	0,69	0,69										
Л6	0,88	0,81	1,00	0,75	0,69									
Л7	0,69	0,63	0,81	0,69	0,75	0,81								
Л8	0,63	0,56	0,63	0,63	0,56	0,63	0,69							
Л9	0,50	0,44	0,50	0,50	0,69	0,50	0,69	0,50						
Л10	0,69	0,63	0,69	0,81	0,75	0,69	0,75	0,69	0,69					
Л11	0,69	0,63	0,69	0,69	0,63	0,69	0,75	0,94	0,56	0,75				
Л12	0,50	0,44	0,50	0,63	0,69	0,50	0,69	0,75	0,75	0,81	0,69			
Л13	0,56	0,50	0,56	0,69	0,75	0,56	0,75	0,69	0,81	0,88	0,75	0,81		
Л14	0,50	0,44	0,50	0,63	0,56	0,50	0,56	0,63	0,63	0,81	0,56	0,75	0,81	
Л15	0,50	0,44	0,50	0,63	0,69	0,50	0,69	0,88	0,63	0,81	0,81	0,88	0,81	0,75

Л1-L-39

Л2-ZPL-217

Л3-ZPL-255/75-5

Л4-ZPL-217/415D-3

Л5-ZPL-173/3

Л6-ZPL-255/75-3

Л7-L-375/25-6

Л8-DK-471/3-1-2

Л9-Lx-1117-3-1

Л10-LK-335/99

Л11-ZPLC-704

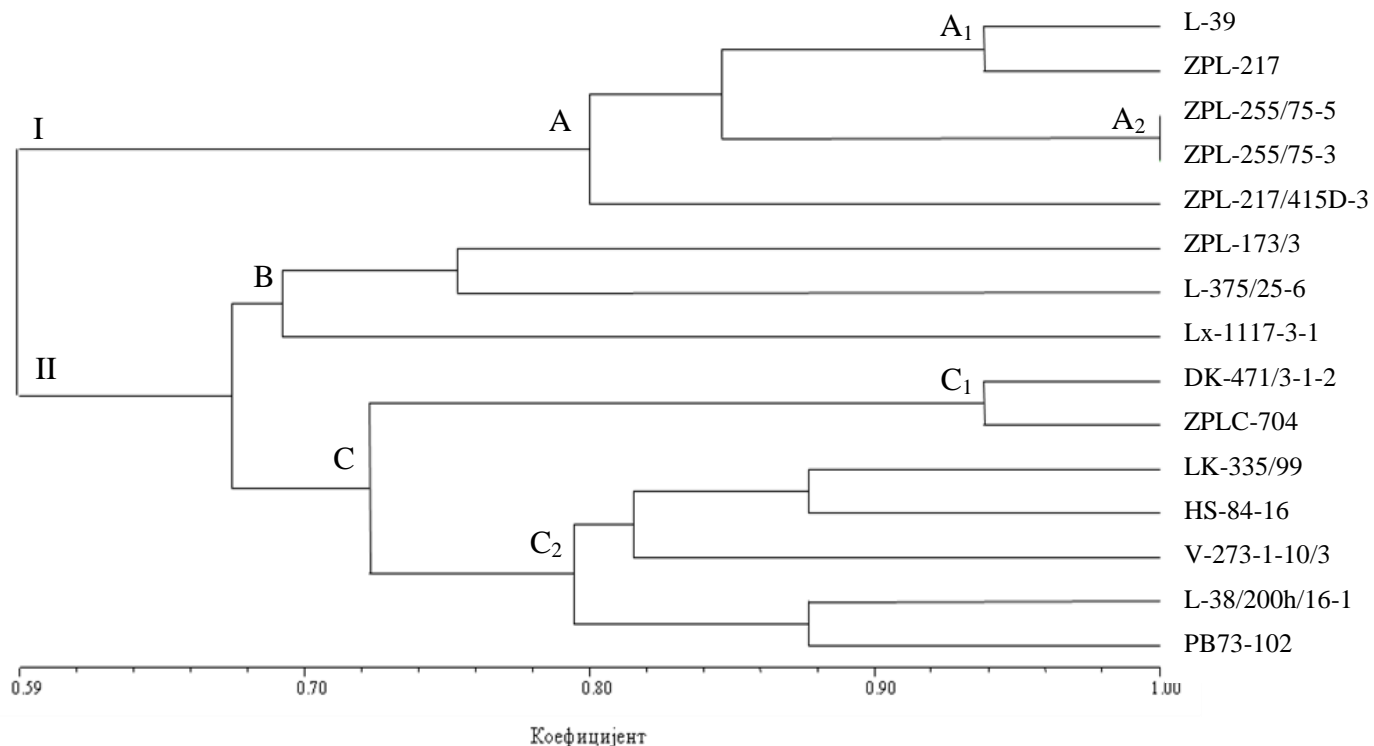
Л12-L-38/200h/16-1

Л13-HS-84-16

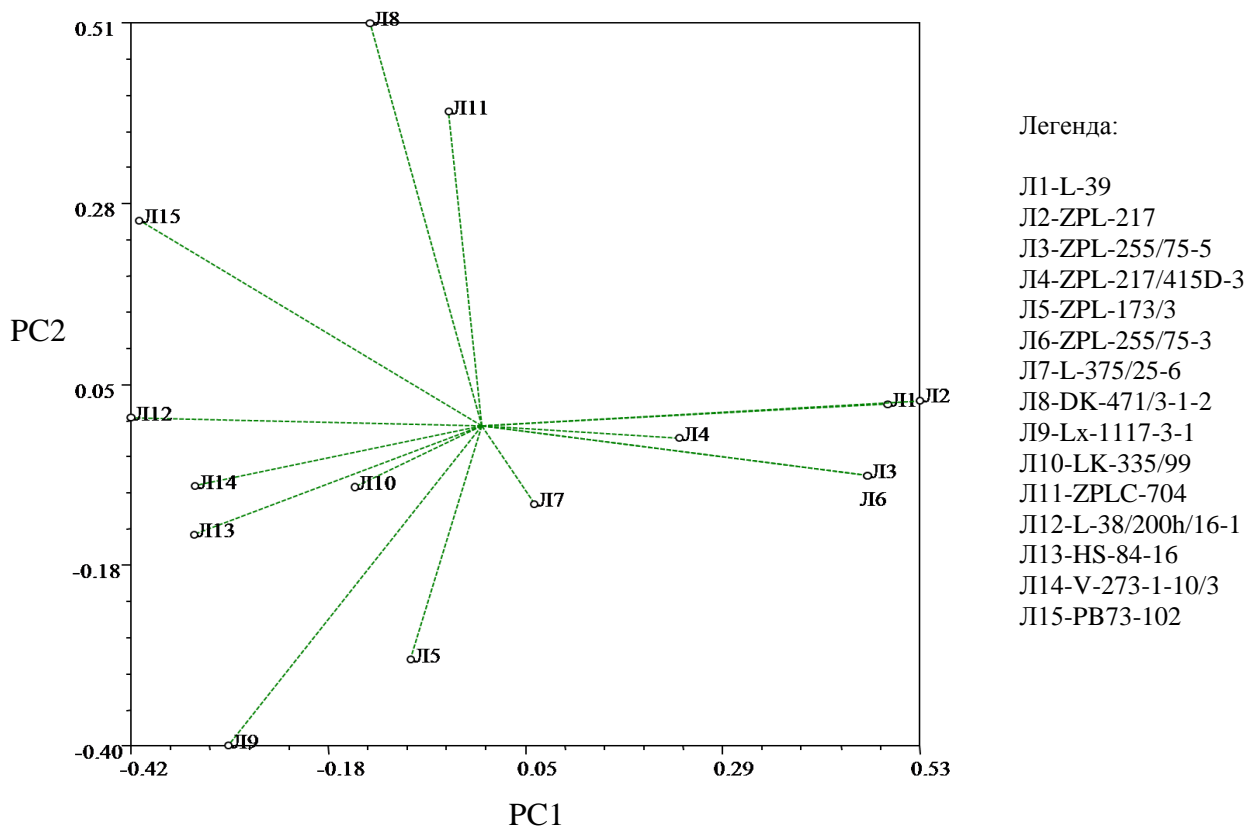
Л14-V-273-1-10/3

Л15-PB73-102

На основу SM коефицијената применом UPGMA кластер методе добијен је дендограм приказан на графику 12. Дендограм је подељен у два јасно одвојена кластера (означени са I и II). Кластер I састоји се од пет генотипова и подељен је у два мања субкластера A1 (Iowa Dent) и A2 (Lancaster) којима је придружена линија ZPL-217/415D-3 добијена укрштањем Iowa Dent и несродне гермплазме. Субкластер A1 чине линије L-39 и ZPL-217, а субкластер A2 чине линије ZPL-255/75-5 и ZPL-255/75-3 чији је коефицијент генетичке сличности једнак јединици и на основу протеинских маркера коришћених у овом раду нису се могле диференцирати.



Граф. 12. Кластер анализа на основу протеинских маркера према SM коефицијенту



Граф. 13. РС анализа на основу протеинских маркера према SM коефицијенту

Кластер II састоји се од два кластера означена са В и С. Кластер В чине три самоопходне линије, од којих су две линије (ZPL-173/3 и L-375/25-6) са Lancaster пореклом груписане у субкластер, а трећа је одвојена линија LX-1117-3-1 добијена укрштањем BSSS и несродне гермплазме. Кластер С има два субкластера С1 (BSSS x Iowa Dent) и С2 (BSSS). Субкластер С1 чине две линије (DK-471/3-1-2 и ZPLC-704), а субкластер С2 пет линија од којих једну групу чине три линије (две груписане LK-335/99 и HS-84-16, са којима је блиско повезана линија V-273-1-10/3), а другу групу чине две линије (L-38/200H/16-1 и PB73-102).

Резултати који су добијени на основу PC анализе (граф. 13) генетичких дистанци према SM коефицијенту били су у сагласности са кластер анализом (граф. 12). Од укупне варијабилности на PC1 осу одпада 37,76%, а на PC2 осу 17,05%, тако да прве две осе имају укупно 54,81% варијабилности.

Четири линије L-39, ZPL-217, ZPL-255/75-5 и ZPL-255/75-3 које су по кластер анализи биле најближе везане и према графику PC анализе биле су најближе груписане. Према оси PC 1, овим линијама била је најближа ZPL-217/415D-3, што је одговарало и кластер анализи.

Линије DK-471/3-1-2 и ZPLC-704 су и на основу кластер анализе и на основу PC анализе биле најближе груписане. Сродност линија ZPL-173/3 и L-375/25-6 потврђују и кластер и биplot анализа.

Као што је утврђено и кластер анализом и овде су блиско биле груписане линије LK-335/99, L-38/200H/16-1, HS-84-16 и V-273-1-10/3. У субкластеру С2 овим линијама била је придружена и линија PB73-102, која је и на основу PC анализе била близу ових линија, али најудаљенија од њих по PC2 оси, али не и по PC1. (граф. 13).

Највеће вредности негативних интеракција присутне су код линије LX-1117-3-1, с обзиром да се ова линија налази најдаље од пресека ордината.

PC1 оса је јасно раздвојила самоопходне линије на основу њиховог генетичког порекла на BSSS линије (лева негативна страна осе) у односу на линије Iowa Dent и Lancaster порекла (десна половина графикана са позитивним вредностима на PC1 оси).



## 6.12 Квалитет семена самоплодних линија у зависности од FAO групе зрења и генетичког порекла

На основу резултата свих лабораторијских тестова и ницања у пољу самоплодне линије су рангиране по квалитету семена од најбоље до најслабије (табела 28). Рангирање је извршено на основу просечних вредности семена из 2011. и 2014. године за све испитиване параметре (таб. 6, 8, 10, 12, 14, 16, 20, 21, 22 и 24).

Табела 28. Ранг самоплодних линија на основу резултата лабораторијског испитивања квалитета семена и ницања у пољу

Ознака	Линија	Порекло	FAO група	Тип зрна
Л13	HS-84-16	BSSS	700	Зубан
Л4	ZPL-217/415D-3	Iowa Dent x несродна	400	Зубан
Л12	L-38/200h/16-1	BSSS	600	Зубан
Л11	ZPLC-704	BSSS x Iowa Dent	400	Зубан
Л1	L-39	Iowa Dent	350	Зубан
Л14	V-273-1-10/3	BSSS	700	Зубан
Л2	ZPL-217	Iowa Dent	400	Зубан
Л7	L-375/25-6	Lancaster	550	Полузубан
Л8	DK-471/3-1-2	BSSS x Iowa Dent	350	Полузубан
Л9	Lx-1117-3-1	BSSS x несродна	700	Зубан
Л10	LK-335/99	BSSS x егзотична	600	Полузубан
Л5	ZPL-173/3	Lancaster	450	Зубан
Л15	PB73-102	BSSS	700	Зубан
Л3	ZPL-255/75-5	Lancaster	350-400	Зубан
Л6	ZPL-255/75-3	Lancaster	450	Зубан

Самоплодна линија HS-84-16 са BSSS пореклом била је најбоље рангирана у спроведеним истраживањима. На другом месту налази се линија ZPL-217/415D-3 добијена из укрштања Iowa Dent и несродне гермплазме. Ова линија постигла је најбоље резултате у лабораторијским испитивањима квалитета семена. Уочава се да линије пореклом од Lancaster популације имају слабији вигор (налазе се у дну табеле) у односу на линије са BSSS и Iowa Dent пореклом.

Зависност квалитета семена од FAO групе зрења није била изражена. На пример линије из групе 700 налазе се подједнако распоређене и у горњем и у доњем делу табеле 28. Исту тенденцију показале су и линије осталих FAO група.

## 7. ДИСКУСИЈА

### 7.1 Енергија клијања и клијавост

Старење семена довело је до споријег и слабијег клијања самооплодних линија, што се манифестовало мањим бројем нормалних клијанаца у првој и завршној оцени стандардног теста клијавости. Чување семена у контролисаним условима на 18 °C и 60% релативне влажности ваздуха није довело до драстичног опадања енергије клијања и укупне клијавости. Просечна вредност за 15 самооплодних линија из 2011. године била је за 9% (енергија) тј. 6% (укупна клијавост) мања у односу на семе произведено 2014. године. То указује да су наведени услови чувања изузетно повољни и могу се препоручити за дугорочно чување семена самооплодних линија јер не захтевају велике трошкове.

Високе вредности стандардне клијавости семена чуваног у контролисаним условима у сагласности су са испитивањима **Muminović (1998)** која је установила да синтетичке популације у хладној комори банке гена достижу критичну клијавост од 85% након 20 година.

Семе произведено 2014. године и чувано годину дана у контролисаним условима на 5 °C, није показало веће варирање између генотипова у погледу стандардне клијавости. Енергија клијања тј. прва оцена нормалних клијанаца у стандардном тесту клијавости била је бољи индикатор разлика између генотипова.

Након четири године чувања на 18 °C дошло је до опадања клијавости у зависности од генотипа. Одређени генотипови су задржали високу клијавост па је изражена већа варијабилност у погледу овог параметра квалитета семена. Добијени резултати су у сагласности са истраживањима **TeKrony et al. (2001)** и потврђују да семе самооплодних линија кукуруза подједнако добро чува клијавост као и хибридно семе истог почетног квалитета.

Између енергије клијања и укупне клијавости остварена је статистички значајна корелација ранга (0,88\*\* за семе из 2011. године, и 0,58\* за семе из 2014. године). Стандардни тест клијавости био је у високој корелацији са вигор тестовима (хладним

тестом и АА тестом) код семена из 2014. године, јер је испитиван материјал различитог квалитета и веома широке генетичке основе. Код старијег семена та корелација је била нешто нижа, што је очекивано, јер чување семена значајније утиче на смањење вигора него клијавости.

Са практичног становишта енергија клијања као показатељ вигора семена би била најједноставнија за примену. Не захтева додатну опрему нити ангажовање особља. Ипак, да би се добијене вредности енергије сматрале поуздане, осцилације у температури испитивања и влажности супстрата морају се свести на минимум. Поред тога, оцена енергије клијања је доста субјективна и тешко је уједначити критеријуме између аналитичара. **TeKrony (2003)** наглашава да оцену енергије клијања треба извршити увек након истог временског периода (четири дана  $\pm$  60 минута). Такође, аутор наводи да је влажност супстрата кључна за постизање униформности и поновљивости у оцени енергије клијања.

У току рада са изабраним материјалом који се разликовао у погледу величине семена извршена су одређена запажања о утицају наведене особине на клијање. Велики број аутора (**Shieh и McDonald, 1982; Varga et al., 2012; El-Abadi, 2015; Dolapo и Modi, 2015**) испитивао је утицај величине тј. масе и облика семена на почетни пораст биљака. Бројна истраживања указују да је округло и ситно семе лошијег квалитета у поређењу са крупним семеном и семеном пљоснате фракције. Резултати **Milošević et al. (1996)** показују да крупније семе обезбеђује већу резерву хранљивих материја за период клијања семена. Испитивањем семена са различитих делова клипа кукуруза **Rosić (1959)** констатује високу животну способност, енергију клијања и пробојност клице ситнијег, вршног семена и семена са основе клипа.

Испитивањем семена самооплодних линија кукуруза утврђено је да величина семена није од пресудног значаја за клијање. Самооплодна линија HS-84-16 имала је најмању масу 1000 семена (243,7 g), али је имала високе вредности енергије клијања и клијавости и била најбоље рангирана линија на основу свих параметара квалитета. Такође је имала највећу дужину клијанаца у хладном тесту.

**TeKrony et al. (2005)** су испитивали зависност процеса старења од фракције семена у контролисаним и складишним условима. Аутори сматрају да је главни узрок

смањене клијавости округле фракције након чувања искључиво нижа вредност почетног вигора, а не облик семена, механичка оштећења нити бржи степен старења.

## 7.2 Тест појаве примарног корена

Старење семена је имало значајан утицај на проценат физиолошке клијавости. Тест појаве примарног корена семена из 2014. имао је дупло већу просечну вредност (40,8%) у односу на семе из 2011. године (17,9%).

То је у сагласности са резултатима **Matthews и Khajeh-Hosseini, (2007)** који су разлике у степену појаве примарног корена између партија семена кукуруза објаснили временом потребним да се поправе оштећења код старог семена.

**Vasques-Ramos и Sanchez (2003)** су утврдили да у фази клијања семена кукуруза од бубрења до избијања примарног корена (LAG период) долази до метаболичких поправки ДНК, док су **Berjak и Villiers (1972)** доказали да се убрзо после почетка бубрења семена кукуруза врши поправка органела и мембрана.

Испитиване самоопходне линије кукуруза су се значајно разликовале по физиолошкој клијавости. Процент су се кретали од 1 до 66% за семе из 2011. године, док су вредности за семе из 2014. биле у опсегу од 14 до 82%. Ипак рангирање партија није било у сагласности са осталим вигор тестовима (хладни тест, тест убрзаног старења). Тако је нпр. линија ZPL-255/75-3 заузела 3. место у тесту појаве примарног корена, а била најлошије рангирана у стандардном тесту клијавости и стресним вигор тестовима. Обрнуто, линија са најбољим квалитетом семена у свим лабораторијским тестовима (ZPL-217/415D-3) била је 6. по реду у тесту појаве примарног корена.

Добијени резултати су у супротности са резултатима **Khajeh-Hosseini et al., (2009)** и **Matthews et al. (2010, 2011)**, који су остварили прецизну класификацију партија семена кукуруза по вигору проценом средњег времена ницања и једнократном оценом појаве примарног корена (на 20 °C и на 13 °C). Њихове експерименталне вредности биле су упоредиве са резултатима хладног теста и ницања у пољу.

Увођење теста појаве примарног корена као саставног дела стандардног теста клијавости може бити изузетно практично јер би се на тај начин уштедело и време и

семе, али у овом раду није постигнута сагласност са осталим вигор тестовима, па је неопходно даље истраживање ефикасности овог теста на семену самооплодних линија.

### 7.3 Тест проводљивости семена

Проводљивост семена код испитиваних самооплодних линија кукуруза није била под утицајем старости семена што није било очекивано. Иако је корелација ранга теста проводљивости и других вигор тестова била ниска ипак је тест проводљивости био успешан у детекцији самооплодних линија са најлошијим вигором семена.

Добијени резултати су у сагласности са истраживањима **Ocvirk et al. (2014)**. Аутори су у испитивањима семена нове производње и семена старог годину дана добили исте вредности проводљивости. Вредности проводљивости испод  $10 \mu\text{S cm}^{-1}\text{g}^{-1}$  добијене су код високо вигорозног семена, а изнад  $12 \mu\text{S cm}^{-1}\text{g}^{-1}$  код семена слабе клијавости и ниских вредности у хладном тесту (испод 50%).

Тест проводљивости је стандардизован тест за испитивање вигора семена грашка и соје (**ISTA, 2015**). Даља истраживања су неопходна како би се процедура испитивања прилагодила за испитивање семена других биљних врста (**Marcos-Filho, 1998, Sivritepe et al, 2015**).

Иако је тест проводљивости поновљив између лабораторија, постоји неколико фактора који утичу на резултате испитивања као што су: величина семена, температура и дужина периода бубрења, количина воде за потапање семена и присуство физички оштећених семена. Сви ови фактори могу се контролисати, али постоје и други чиниоци који се не могу контролисати, а то су: утицај генотипа (**Panobianco и Vieira, 1996**), фаза развоја семена у моменту жетве (**Powell, 1986**) и услови чувања (**Vieira et al., 2001**). Проводљивост семена као вигор тест није у могућности да детектује старење семена кукуруза чуваног на температурама испод  $10 \text{ }^\circ\text{C}$  (**Fessel et al., 2006**). Треба нагласити да различите биљне врсте емитују различиту количину електролита (**Sivritepe et al, 2015**). Семе дикотиледоних биљака емитује много више електролита (са површине котиледона) у поређењу са семеном монокотиледоних биљака где је ембрион окружен ендоспермом.

Вредности добијене у овом раду су се кретале од 1,23 до 6,97  $\mu$ s што је веома мали опсег у поређењу са изузетно великим распоном вредности остварених у осталим вигор тестовима (хладни тест, тест убрзаног старења). Ниске вредности могу се објаснити тиме што је испитивано семе добијено ручним круњењем тј. са врло мало механичких оштећења.

Предност теста проводљивости је веома брзо добијање резултата, не захтева употребу скупе опреме нити дуготрајну обуку аналитичара, али недостатак за примену у свакодневном лабораторијском испитивању јесте немогућност испитивања третираног семена.

**Aveling et al. (2013)** су испитивали утицај пестицида на клијавост и вигор семена кукуруза и ницање у стакленику у присуству *Fusarium graminearum* Schw. Различити третмани пестицидима: Apron® XL (metalaxyl), Thiram (thiram), Celest® XL (fludioxonil, metalaxyl) и Apron® Star 42 WS (thiamethoxam, metalaxyl, difenoconazole), показали су да није било утицаја на клијавост и вигор, садржај влаге семена, нити је било утицаја на резултате теста проводљивости.

## 7.4 Тетразолиум тест

Просечна виталност и вигор семена у ТТЗ тесту значајно су се разликовале код самооплодних линија из 2011. и 2014. године. Између генотипова није било значајних разлика за особину виталност семена. Насупрот томе самооплодне линије су се значајно разликовале по вигору семена који је утврђен ТТЗ тестом.

**Das и Sen-Mandy (1988)** су бојењем семена пшенице у ТТЗ тесту утврдили да одумирање у процесу старења започиње кореном и наставља се према осталим деловима клице. При старењу семена кукуруза вршне ћелије корена се прве оштећују (**Berjak et al., 1986**).

Очекивања да вредности виталности буду веће од вредности у стандардном тесту клијавости су само делимично испуњена. Разлике између просечне потенцијалне и стандардне клијавости 15 самооплодних линија из 2014. су занемарљиве (0,2%), а у случају семена из 2011. године разлике су нешто веће (3,0%). То је у сагласности са резултатима **Stainer et al. (1999)** који указују да у случају старог семена разлике

између ТТЗ теста за оцену виталности и стандардног теста клијавости постају веће, јер семе слабог квалитета при клијању може дати ненормалне клијанце, док се у ТТЗ тесту и даље сврстава у категорију виталног семена.

Корелација ранга између ТТЗ теста (виталност и вигор) и стандардне клијавости била је статистички значајна, што се подудара са резултатима **Kruse (1996)** који је испитивањем потенцијалне и стандардне клијавости семена жита установио низак ( $r = 0,32^*$ ), али значајан коефицијент корелације.

Приликом оцењивања потенцијалне клијавости стечен је бољи увид у квалитет семена на морфолошком нивоу. Неочекивано већа виталност старијег семена из 2011. године код линија ZPL-173/3 и LK-335/99 у односу на семе из 2014. објашњена је присуством семена без клице. Добијене вредности указују на значај услова производње у току формирања и сазревања семена.

**DeVries и Goggi (2006)** су утврдили јаку корелацију између виталности семена у ТТЗ тесту, стандардне клијавости и вигора у сатурисаном хладном тесту. Ипак класификација семена у вигор категорије у ТТЗ тесту није побољшала корелацију са сатурисаним хладним тестом.

Упоредно испитивање потенцијалне и стандардне клијавости омогућило је да се појава ненормалних клијанаца и промене услед старења семена објасне оштећењима на нивоу клице.

## 7.5 Хладни тест

Применом хладног теста омогућено је раздвајање самооплодних линија у погледу вигора семена и тестирање толерантности на ниске температуре при ницању. Добијени резултати показали су веома добру толерантност ЗП самооплодних линија на примењене услове испитивања у хладном тесту (7,5 °C, 10 дана), осим линија ZPL-255/75-5 и ZPL-255/75-3, чија осетљивост се испољила тек после чувања семена.

У претходним истраживањима **Milivojević (2005)** уочена је висока толерантност ЗП хибрида кукуруза на услове у хладном тесту, где је температура износила 10 °C, а дужина стресног периода трајала 7 дана. Сличне реакције хибрида кукуруза на стресне

услове у хладном тесту примећене су и од стране других аутора (**Ђукановић, 1999; Опра, 2002; Радић, 2003**).

Све боља толерантност генотипова кукуруза на ниске температуре при ницању услед оплемењивања и деловања природне селекције, захтева примену стреснијих услова испитивања у хладном тесту како би се омогућила правилна класификација. Неповољнији услови се могу постићи снижавањем температуре, повећањем влажности супстрата или истовременом применом оба стреснија чиниоца. **Nijenstein и Kruse (2000)** препоручују прилагођавање дужине трајања ниских температура у хладном тесту климатским зонама где се тестови изводе.

Опште је прихваћено да се хладни тест изводи на температури од 10 °C због највеће активности патогена. **Woltz et al. (1998)** су добили најниже вредности када је примењена температура од 9 °C у хладном тесту код нетретираног семена, али утицај патогена и влажности супстрата је био елиминисан у случају запрашеног семена. Поређењем различитих метода хладног теста **TeKrony и Woltz (1998)** су утврдили да не постоје значајне разлике између њих када се испитује запрашено семе (Coptan 400).

У овим истраживањима примењен је метод хладног теста у ролнама филтер папира са песком, јер је коришћено незапрашено семе и испитиван је првенствено утицај изразито ниских температура (7,5 °C) у трајању од 10 дана. У новије време из практичних разлога песак се све више користи у лабораторијама за испитивање семена као супстрат у хладном тесту.

Бројни научници су вршили експерименте на температури нижој од 10 °C. **Pollmer (1969)** је испитивао клијавост 415 генотипова кукуруза на 9 и 6 °C. На 9 °C 89% генотипова клијало је после 12 дана, а само 2,3% је клијало после 12 дана на 6 °C.

**Lovato et al. (2001a, 2001b, 2005)** су испитивали утицај три различите температуре (5; 7,5 и 10 °C) у хладном тесту на клијање кукуруза и добијени подаци показују да се хладни тест на 10 °C може успешно применити за раздвајање партија по вигору, али ниже температуре (5 и 7,5 °C) су боље за раздвајање партија високо толерантних на хладне услове.

Примена стреснијих услова у хладном тесту показала се адекватна за испитивање самооплодних линија кукуруза. Добијени резултати су показали веома



добру толерантност ЗП самооплодних линија на ниске температуре приликом клијања, осим линија ZPL-255/75-5 и ZPL-255/75-3. Ове линије воде порекло од Lancaster популације коју карактерише слаба толерантност на ниске температуре при ницању, а изразита толерантност на високе температуре у фази оплодње и наливања зрна. Друге две линије ZPL-173/3 и L-375/25-6, које такође имају Lancaster порекло нису показале осетљивост на хладни стрес, што се објашњава доприносом гермплазме другог родитеља који је учествовао у процесу селекције наведених самооплодних линија.

Високе вредности у хладном тесту могу се објаснити генетичком отпорношћу испитиваних самооплодних линија као и повољним условима у току формирања и сазревања испитиваног семена. То потврђују резултати хладног теста семена из 2014. године који су били нижи у односу на семе из 2011. године код шест самооплодних линија.

## 7.6 Тест убрзаног старења

Вигор семена утврђен тестом убрзаног старења био је значајно нижи код семена чуваног четири године на 18 °C у односу на семе чувано годину дана на 5 °C.

Просечна вредност теста убрзаног старења свих 15 испитиваних самооплодних линија из 2011. године била је за 25% мања у односу на семе из 2014. Четрнаест линија из 2014. имало је вредности у АА тесту изнад 80% што се сматра као гранична вредност између високо вигорозних и средње вигорозних партија семена. Након чувања семена четири године на 18 °C само пет самооплодних линија је задржало високи вигор семена. Линија LK-335/99 је већ код семена из 2014. показала своју осетљивост, док су линије ZPL-255/75-5, ZPL-255/75-3, L-375/25-6, DK-471/3-1-2, LX-1117-3-1, HS-84-16 и PB73-102 имале драстичан пад вредности у АА тесту, приликом тестирања семена из 2011. године

Добијени резултати указују на потребу сукцесивног испитивања вигора семена на залихама како би се уочио прави тренутак за продају семена. **TeKrony (2001b)** наводи да су вигор тестови велика помоћ у одржању система квалитета семенских компанија и у доношењу одлука о залихама семена и структури сетве.

Тест убрзаног старења семена довео је до израженијег раздвајања испитиваних самооплодних линија него хладни тест. То је у сагласности са резултатима **Abba и Lovato (1999)** који су у своме експерименту изазвали убрзано старење хибридног семена кукуруза на 42 °C и 100% RH у трајању од 96 сати. Утврдили су да је AA тест доста стреснији у односу на хладни тест, али помоћу њега је лакше утврдити разлике у вигору.

Семенске лабораторије и истраживачи (**Lekić, 2001; Dragičević et al., 2004; Noli et al., 2008**) примењују различите температуре и дужину трајања теста убрзаног старења. **TeKrony (1996)** наводи резултате упоредних испитивања вигора хибридног семена кукуруза убрзаним старењем на 41 °C 96 сати и на 45 °C 72 сата. Клијавост након третмана на 45 °C 72 сата је била значајно нижа код 23 партије од укупно 34 испитаних. Разлике између третмана нису биле значајне код 10 највигорознијих партија (вредности изнад 90%). Аутор подстиче семенске лабораторије да испробају обе комбинације стресних услова AA теста како на хибридима тако и на самооплодним линијама кукуруза.

**McDonald (2004)** је мишљења да треба примењивати ниже температуре за AA тест, а продужити период дејства третмана, јер на 45 °C долази знатно брже до денатурације протеина, па услови старења све мање одговарају условима природног старења.

У овим истраживањима температура у AA тесту је износила 43 °C у трајању 72 сата, а релативна влажност ваздуха је била преко 95%. Након третмана влага семена код свих испитиваних самооплодних линија је била у распону од 26-29% што је показатељ исправности AA теста. На основу остварених резултата може се закључити да су наведени услови AA теста адекватни за испитивање вигора семена самооплодних линија кукуруза.

Поређењем добијених резултата хладног теста и теста убрзаног старења уочава се да испитиване самооплодне линије које лоше реагују на стрес ниских температура спадају у групу линија које слабије реагују и на стрес високих температура. То је у сагласности са истраживањима **Timperio et al. (2008)** који наводе да је физиолошка адаптација кукуруза која подразумева активацију антиоксидативних система подједнака при дејству оба температурна стреса.

**Nguyen et al. (2009)** су идентификовали 18 гена изазваних хладноћом. Слично хладном стресу, испитиван ген *ZmCOI* био је активираан у условима суше, сланог стреса, високих температура, високог интензитета светлости и повреда.

## 7.7 Дужина примарног корена и стабаоцета

Дужина примарног корена у сва три теста (стандардна клијавост, хладни тест, тест убрзаног старења) смањена је након чувања семена. Тај ефекат је најмање био изражен код дужине корена у хладном тесту.

Дужина примарног стабаоцета значајно је била мања код клијанаца у вигор тестовима (СТ, АА) код семена из 2011. године у односу на семе из 2014. године. У оптималним условима клијања пораст стабаоцета није био под утицајем старости семена.

Добијени резултати су у сагласности са подацима из литературе (**Đukanović, 1999, Vesković et al., 1994, Santipracha et al., 1997**). **Bingham et al. (1994)** су применили третман контролисаног погоршања квалитета семена кукуруза (**Matthews и Powell, 1981**) и пратили појаву примарног корена и стабаоцета. Садржај воде у семену је прво повећан на 20%, па је семе подвргнуто убрзаном старењу на 45 °C у току 48 сати. Уочили су да појава колеоптила након третмана није у већој мери смањена као што је био случај са кореном.

У току испитивања примећено је да семе из 2014. године након убрзаног старења и ниских температура у хладном тесту клија дајући клијанце са дужим кореном и стабаоцетом него у стандардном тесту клијавости. Ова појава се објашњава бубрењем семена у току стресног периода, које пребацивањем у оптималне услове за раст има предност у односу на тек постављено суво семе у тесту стандардне клијавости.

Насупрот овим резултатима **Abba и Lovato (1999)** наводе да је највећа дужина примарног стабаоцета остварена у стандардном тесту клијавости, затим у хладном тесту и на крају у тесту убрзаног старења. Дужина корена није праћена.

Дужина примарног корена у стандардном тесту клијавости није била у корелацији са вигор тестовима осим са тестом појаве примарног корена. Мерењем

дужине примарног корена након убрзаног старења и хладног теста постигнута је боља сагласност у рангирању генотипова са осталим тестовима. Иако велики број аутора (**Mondo et al., 2013; Alvarenga et al., 2012; Otoni и McDonald, 2005**) наглашава значај мерења дужине клијанаца у процени вигора, добијени резултати указују да овај показатељ квалитета семена има ограничену примену у испитивању семена самооплодних линија различитог порекла. Брзина којом семе клија и брзина пораста клијанаца може да зависи од генетичких разлика у величини семена, особинама семењаче и хемијском саставу (**Ferguson, 1995**).

У истраживањима **Pinto et al. (2015)** применом SAS компјутерског програма успешно су класификоване партије семена кукуруза у оквиру једног хибрида, али израчунати параметри (вигор индекс, индекс униформности) нису имали подједнако задовољавајући ефекат у оцени вигора код оба испитивана хибрида. Боља ефикасност класификације партија једног хибрида постигнута је мерењем дужине корена, а код другог мерењем стабаоцета.

## 7.8 Ницање у пољу

Испитивање ницања у пољу изведено је на два локалитета Земун Поље и Умка која су се разликовала у погледу типа земљишта. Максималне и минималне температуре земљишта биле су ниже на локалитету Умка, док је количина падавина у току клијања и ницања била скоро идентична на оба испитивана локалитета. Наведени услови допринели су веома блиским просечним вредностима оствареног склопа биљака. Анализом варијансе потврђено је да локалитет испитивања није значајно утицао на ницање самооплодних линија кукуруза.

Година испитивања значајно је утицала на клијање и рани пораст одабраних линија кукуруза. Најизраженије разлике између експерименталних година у проценту изниклих биљака остварене су на локалитету Умка због неповољних агроколошких услова у априлу 2015. године. Хладни услови довели су до изузетно успореног клијања и продуженог периода ницања који је трајао три недеље. Просечна вредност ницања у пољу за 15 самооплодних линија износила је 79,20% код семена из 2011. године, а 91,73% код семена из 2014. године. Испитиване ЗП самооплодне линије кукуруза

показале су добру толерантност на ниске температуре, али добијени резултати указују на потребу побољшања селекционог материјала у погледу брзине клијања семена у стресним условима у пољу.

Дужина чувања семена значајно је утицала на брзину и способност клијања у неповољним условима. Семе из 2011. године је у обе испитиване године и на оба локалитета остварило мање вредности ницања у пољу у односу на семе из 2014.

Резултати огледа ницања у пољу били су под значајним утицајем генотипа. Самооплодна линија L-38/200H/16-1 постигла је најбоље резултате на обе локације у обе испитиване године, са високим вредностима ницања семена оба нивоа старости. Насупрот њој, најслабије просечне резултате ницања остварила је линија ZPL-255/75-3.

За статистичко поређење лабораторијских тестова међусобно као и одређивање сагласности лабораторијских тестова са ницањем у пољу коришћени су коефицијенти корелације ранга по препоруци **McDonald (1994)** који сматра да вигор тестови не могу да предвиде и прогнозирају ницање у пољу, већ могу само да процене понашање једне партије у односу на другу која је испитивана у сличним условима.

Корелациони односи између лабораторијских тестова и ницања у пољу били су генерално ниски. Од свих примењених вигор тестова хладни тест је показао значајну корелацију са ницањем у пољу у изразито стресним условима. Коефицијенти корелације ранга између ницања у пољу и теста убрзаног старења нису били значајни. Стандардна клијавост и тетразолиум тест за оцену виталности били су у доброј сагласности са ницањем у пољу код семена из 2011. године

Резултати овог рада у сагласности су са истраживањима **Barla-Szabo и Dolinka (1988)**. Вредности хладног теста код наведених аутора биле су у корелацији са ницањем у пољу само у најранијем термину сетве (1. април), док тест убрзаног старења није био у корелацији са ницањем у пољу ни за један термин сетве.

**Woltz и TeKrony (2001)** су поредили вредности добијене у АА тесту (комбинације 41 °C, 96 h и 45 °C, 72 h) и хладном тесту. Коефицијенти корелације између АА теста и хладног теста су били ниски (0,35 до 0,76), али и поред тога оба теста су прецизно предвидела ницање у пољу како су се повећавали неповољни услови. АА тест је у неким случајевима идентификовао партије семена са високом вредношћу

у хладном тесту које су слабо никле у пољу. Аутори зато сматрају да је за прецизнију оцену понашања генотипова у пољу потребно користити оба теста.

Велики број истраживања показао је да хладни тест и тест убрзаног старења боље одговарају вредностима ницања у пољу него стандардни тест клијавости (**Perry, 1984; Milošević et al., 1994; Waes, 1995; Woltz и TeKrony, 2001; Lovato et al., 2005**). Подаци неких аутора (**Anfinrud и Schneider, 1984; Bekendam et al., 1987; Freitas et al., 2000**) показују да стандардна клијавост корелира добро са вредностима ницања у пољу када преовладавају повољни услови за клијање и почетни пораст, док резултати вигор тестова корелирају боље када су присутни стресни услови у пољу.

Вредности клијавости испод стандарда за промет (за кукуруз испод 90%) указују на процесе пропадања тј. старења семена. Такво семе показује смањено клијање и ницање, смањену толеранцију на субоптималне услове и мањи раст клијанаца (**Powell et al., 1984**). У оваквим случајевима клијавост је сама по себи показатељ слабог квалитета семена и обично се добијају добре корелације између клијавости и ницања у пољу (**Thompson, 1979**). **Roberts (1984)** закључује да је стандардни тест клијавости погодан показатељ квалитета партије семена осим када је клијавост јако висока. У тим ситуацијама неопходно је извођење вигор тестова.

**Schultz (1992)** је добио ниске корелационе односе између хладног теста и ницања у пољу ( $r = 0,27$ ), који су ипак били значајни. Аутор сматра да је узрок испитивање великог броја партија (1911) веома сличног квалитета.

Претходна истраживања примене вигор тестова показала су успешно рангирање испитиваних партија хибридног семена кукуруза према квалитету (**Milivojević, 2005**). Утврђена је висока корелација ранга између ницања у пољу и лабораторијских тестова у оптималним и стресним условима.

Испитивањем семена кукуруза различитог типа ендосперма (**Pajić et al., 1998**), установљене су високе корелације ранга између ницања у пољу и стандардне клијавости (0,70), као и ницања у пољу и хладног теста (0,90). Добијени коефицијенти ипак нису били статистички значајни јер је испитиван мали број узорака. Тест убрзаног старења показао је веома ниску корелацију ранга са ницањем у пољу (0,30).

Испитивањем петнаест ЗП самооплодних линија кукуруза остварена је ниска корелација лабораторијских тестова са ницањем у пољу. Примена изузетно стресног

хладног теста је допринела бољем раздвајању генотипова, али не и до боље сагласности са резултатима огледа у пољу. **Burris и Navratil (1979)** су утврдили да што је већи стрес у хладном тесту то је већи коефицијент варијације и слабија корелација са ницањем у пољу.

Применом вигор тестова у лабораторији и спроведеним огледима ницања у пољу добијени су резултати на основу којих су успешно идентификоване самоопходне линије са најбољим и најслабијим вигором семена. Ови подаци су од изузетног значаја за селекционере и могу се применити у оплемењивачким програмима са циљем побољшања квалитета семена. Информације о понашању самоопходних линија у стресним условима за ницање могу се применити у току планирања сетве како би производња семена била рентабилна.

## 7.9 Генетичка дивергентност самоопходних линија на основу протеинских маркера

У испитивањима генетичке дивергентности (GD) самоопходних линија кукуруза применом UTLIEF методе, протеински маркери семена показали су висок ниво полиморфизма. За израчунавање GD испитиваног материјала коришћен је *Simple matching coefficient* који има предност у односу на друге коефицијенте јер разматра одсуство протеинске траке код генотипова који се пореде.

Вредности генетичке сличности кретале су се од 0,44 до 1,00. Најмања сличност била је између линије ZPL-217 и четири самоопходне линије (LX-1117-3-1, L-38/200H/16-1, V-273-1-10/3 и PB73-102), а највећа између ZPL-255/75-5 и ZPL-255/75-3 које су сестринске линије. Протеинским маркерима није било могуће постићи диференцијацију овако блиског генетичког материјала, па се препоручује примена молекуларних маркера који имају већи полиморфизам (**Senior и Heun, 1993; Mladenović Drinić et al., 2002**). У поређењу са ефикасношћу процене генетичке сличности међу самоопходним линијама кукуруза, помоћу SSR и других маркера (RFLP, RAPD и AFLP), утврђено је да се SSR маркерима може открити највећи број алела у односу на све остале примењене методе (**Pejić et al., 1988**).

Класификација самооплодних линија на основу протеинских маркера путем кластер анализе је показала добру сагласност са педигре подацима што указује да се UTLIEF метода може успешно користити за карактеризацију материјала широке генетичке основе тј. дивергентности. У истраживањима полиморфизма унутар и између сорти сирка примена технике ултра танкослојног изоелектричног фокусирања била је изузетно ефикасна (**Liu et al., 2010**).

Неслагање између педигре података и кластер анализе регистровано је само код линија ZPL-173/3 и L-375/25-6 које имају Lancaster порекло, али су се у кластер анализи сврстале у кластер II у коме су линије са BSSS пореклом. Различито груписање линија ZPL-173/3 и L-375/25-6 у кластер анализи у односу на педигре податке се објашњава доприносом гермплазме другог родитеља (материјала) који је учествовао у процесу селекције наведених самооплодних линија.

Резултати који су добијени на основу РС анализе генетичких дистанци према SM коефицијенту били су у сагласности са кластер анализом. Подударност две методе утврђена је и од стране **Srdić (2011)** и **Bauer (2005)**.

### **7.10 Квалитет семена самооплодних линија у зависности од FAO групе зрења и генетичког порекла**

Дужина вегетације самооплодних линија на квалитет семена није имала значајан утицај. Предност линија краће вегетације је у томе што раније пролазе кроз фазу опрашивања и оплодње, пре наступања високих летњих температура и сушних периода. То доводи до боље озрњености клипа, али не и до бољег квалитета семена. Пресудан утицај на квалитет семена имају температура и количина падавина у току сазревања.

**TeKrony и Hunter (1995)** испитивали су утицај зрелости на вигор семена код великог броја генотипова кукуруза зубана на различитим локацијама у току четири године. Аутори су дошли до закључка да је максимални вигор семена у физиолошкој зрелости, односно веома рано када је садржај влаге семена од 30-38%. Дакле, генотипови касне вегетације имају подједнаку могућност да дају семе доброг квалитета, као и раностасни генотипови, што резултати у овом раду потврђују.



Толерантност линија на хладне услове клијања и ницања такође није била у зависности од FAO групе зрења. Опште прихваћено схватање да су генотипови раних група зрења највише прилагођени клијању при ниским температурама није потврђено у овом раду, јер линије краће вегетације нису показале боље резултате у хладном тесту и пољском огледу. То је у сагласности са истраживањима **Revilla et al. (1998)** чији резултати показују да сорте кратке вегетације, које се гаје у хладним регионима најчешће не поседују толерантност на ниске температуре, док се код сорти дуге вегетације које подразумевају рану сетву и ницање у хладним условима чешће јавља наведена особина. Код испитиваних ЗП самооплодних линија FAO групе 600 и 700 ипак није уочена боља реакција на хладни стрес у односу на линије краће вегетације. Квалитет семена је првенствено био под утицајем генетичке основе.

На основу спроведених истраживања квалитета семена самооплодних линија применом стандардног теста клијавости и вигор тестова у лабораторији као и испитивања ницања у пољу закључено је да линије пореклом од Lancaster популације имају слабији вигор у односу на линије са BSSS и Iowa Dent пореклом. То указује да су информације о генетичком пореклу самооплодних линија важне и могу се користити као индикатор вигора семена. Самооплодна линија HS-84-16 са BSSS пореклом остварила је најбоље резултате у спроведеним испитивањима. На другом месту по квалитету семена била је линија ZPL-217/415D-3. Ова самооплодна линија добијена из укрштања Iowa Dent и несродне гермплазме дала је најбоље резултате у лабораторијским испитивањима квалитета семена.

Самооплодне линије створене у Институту за кукуруз “Земун Поље” показале су веома добру толерантност на хладне услове клијања и ницања осим линија ZPL-255/75-5 и ZPL-255/75-3 пореклом од Lancaster популације коју карактерише слаба толерантност на ниске температуре при ницању, а изразита толерантност на високе температуре у фази оплодње и наливања зрна. Друге две линије (ZPL-173/3 и L-375/25-6) које такође имају Lancaster порекло нису показале осетљивост на хладни стрес, што се објашњава доприносом гермплазме другог родитеља који је учествовао у процесу селекције наведених самооплодних линија. То указује на значај испитивања квалитета семена у раним фазама селекције и могућност побољшања почетног материјала у погледу квалитета семена. Добијени резултати су у сагласности са истраживањима

**Goggi et al. (2007)** који закључују да је одабирање самооплодних линија добре клијавости веома рано у процесу оплемењивања корисно и важно за побољшање клијавости и ницања у пољу.

Бољи резултати у хладном тесту линија ZPL-173/3 и L-375/25-6 су у складу са испитивањима протеинским маркерима, кластер и РС анализом. Ове линије су се јасно разликовале у погледу протеинске слике и одвојено су груписане од линија ZPL-255/75-5 и ZPL-255/75-3 у кластер и РС анализи. То указује да поред података о генетичком пореклу линија велики значај има карактеризација путем биохемијских маркера.

## 8. ЗАКЉУЧАК

У овом раду испитивани су различити параметри квалитета семена ЗП самооплодних линија кукуруза различитих група зрења и генетичке основе. За истраживање коришћено је семе из 2011. чувано четири године на 18 °С и 60% RH и семе из 2014. чувано годину дана на 5 °С и 60% RH. На основу добијених резултата могу се извести следећи закључци:

❖ Просечна енергија клијања за 15 линија из 2011. године износила је 84,53%, а укупна клијавост 93,20%, што је за 9% тј. 6% мање у односу на семе произведено 2014. године. То указује да су наведени услови чувања (18 °С и 60% RH) изузетно повољни за дугорочно чување семена, јер не захтевају велике трошкове.

❖ Процес физиолошке клијавости био је значајно спорији код старијег семена. Семе из 2014. године постигло је дупло већу просечну вредност у тесту појаве примарног корена (40,8%) у односу на семе из 2011. године (17,9%).

❖ Проводљивост семена код испитиваних самооплодних линија кукуруза није била под утицајем старости семена. Тест проводљивости био је успешан у детекцији самооплодних линија са најлошијим вигором семена и остварио делимичну сагласност са резултатима ницања у пољу.

❖ Просечна виталност и вигор семена у ТТЗ тесту значајно се разликовала код самооплодних линија из 2011. и 2014. године. Испитиване линије значајно су се разликовале по вигору, али не и по виталности семена.

❖ Применом вигор тестова на семену оба нивоа старости омогућена је боља класификација линија у погледу квалитета, него стандардним тестом клијавости.

❖ Резултати хладног теста указали су на веома добру толерантност ЗП самооплодних линија на ниске температуре при ницању, осим линија ZPL-255/75-5 и ZPL-255/75-3, чија осетљивост се испољила тек после чувања семена.

- ❖ Тест убрзаног старења семена довео је до израженијег раздвајања испитиваних линија него хладни тест. Линије (ZPL-255/75-5, ZPL-255/75-3, LX-1117-3-1, LK-335/99) показале су осетљивост и на стрес ниских и на стрес високих температура.
- ❖ Добијени резултати дужине клијанаца указују да овај параметар квалитета има ограничену примену у испитивању вигора семена самооплодних линија кукуруза.
- ❖ На резултате огледа ницања у пољу значајан утицај имали су старост семена, година испитивања и генотип. У раду је остварена ниска корелација лабораторијских тестова са ницањем у пољу, али су успешно идентификоване линије са најбољим и најслабијим вигором семена.
- ❖ Квалитет семена испитиваних линија био је под значајним утицајем генетичке основе, док дужина вегетације није имала утицај на клијавост и вигор семена.
- ❖ Самооплодна линија HS-84-16 са BSSS пореклом остварила је најбоље резултате у испитивањима квалитета семена. Линије пореклом од Lancaster популације имале су слабији вигор у односу на линије са BSSS и Iowa Dent пореклом.
- ❖ Класификација самооплодних линија на основу протеинских маркера путем кластер анализе показала је добру сагласност са педигре подацима. Применом UTLIEF методе извршена је идентификација две линије Lancaster порекла (ZPL-173/3 и L-375/25-6) које поседују бољу толерантност на ниске температуре и тако је постигнута изузетна сагласност са резултатима вигор тестова.
- ❖ На основу добијених резултата може се закључити да је испитивање вигора семена самооплодних линија од изузетног значаја у оплемењивачким програмима са циљем побољшања квалитета семена. Понашање самооплодних линија у стресним условима за ницање такође је важно за планирање сетве како би производња семена била рентабилна. Остварени резултати указују да су информације о генетичком пореклу самооплодних линија важан индикатор вигора семена и да се UTLIEF метода може успешно користити за карактеризацију материјала широке генетичке основе.

## 9. ЛИТЕРАТУРА

- Abba, E.J. and Lovato, A. (1999): Effect of storage temperature and relative humidity on maize (*Zea mays* L.) seed viability and vigor. *Seed Science and Technology*, 27, 101-114.
- Abdel-Tawab, Y.M. (2004): Molecular markers of some maize genotypes. Ph.D. Thesis, Faculty of Agriculture, Ain Shams University, Egypt.
- Adetimirin, V.O., Kim, S.K. and Szczech, M. (2006): Factors associated with emergence of Shrunken-2 maize in Korea. *J Agric Sci*, 144, 63–68.
- Afzal, I., Hussain, B., Basra, S.M.A. and Rehman, H. (2012): Priming with MLE reduces imbibitional chilling injury in spring maize. *Seed Sci. and Techn.*, 40, 271–276.
- Akbar, F., Yousaf N., Rabbani, M.A., Shinwari, Z.K. and Masood, M.S. (2012): Study of total seed proteins pattern of sesame (*Sesamum indicum* L.) landraces via sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). *Pak. J. Bot.*, 44, 2009-2014.
- Alvarenga, R.O.; Marcos Filho, J.; Gomes Junior, F. G. (2012): Evaluation of supersweet corn seed vigor using an automated computer imaging system. (Avaliação do vigor de sementes de milho super doce por meio da análise computadorizada de imagens de plântulas). *Revista Brasileira de Sementes*, 34 (3), 488-494.
- Anfinrud, M.N. and Schneiter, A.A. (1984): Relationship of sunflower germination and vigor tests to field performance. *Crop Science*, 24, 341-344.
- Anjali, C. and Sanjay, C. (2012): Genetic diversity estimation of maize cultivars based on protein profiles in different conditions. *Indian J. Agric. Biochem.*, 25: 52-56.
- AOSA, (2002): Seed Vigor Testing Handbook, Contribution No. 32 to the Handbook of Seed Testing, Association of Official Seed Analysts, NE, USA, pp.105.
- Aveling, T.A.S., Govender, V., Kandolo, D.S. and Kritzinger, Q. (2013): The effects of treatments with selected pesticides on viability and vigour of maize (*Zea mays*) seeds and seedling emergence in the presence of *Fusarium graminearum*. *Journal of Agricultural Science*, 151, 474–481. doi:10.1017/S0021859612000457

- Barla-Szabo, G. and Dolinka, B. (1988): Complex stressing vigour test: a new method for wheat and maize seeds. *Seed Science and Technology*, 16, 63-73.
- Basra, S.M.A, Iftikhar, M.N. and Afzal, I. (2011): Potential of moringa (*Moringa oleifera*) leaf extract as priming agent for hybrid maize seeds. *International Journal of Agriculture and Biology*, 13, 1006–1010.
- Bauer, I., Mladenović Drinić, S., Filipović, M. and Konstantinov, K. (2005): Genetic characterization of early maturing maize hybrids (*Zea mays* L.) obtained by protein and RAPD markers. *Genetika*, 37 (3), 235-243.
- Bekendam, J., Kraak, H.L. and Vos, J. (1987): Studies on field emergence and vigour of onion, sugar beet, flax and maize seed. *Acta Hort.* 215, 83-94.
- Benett, M. (2015): Hybrid seed production in Corn (*Zea mays* L.). Preuzeto 19. oktobra 2015., sa <http://www/seedbiology.osu.edu>
- Berjak, P. and Villiers, T.A. (1972): Ageing in plant embryos. II. Age-induced damage and repair during early germination. *New Phytologist*, 71, 135-144.
- Berjak, P., Dini, M. and Gevers, H.O. (1986): Deteriorative changes in embryos of long-stored, uninfected maize caryopses. *South African Journal of Botany*, 52, 109-116.
- Bingham, I.J. and Merrit, G.J. (1999): Effects of seed ageing on early post-germination root extension in maize: a spatial and histological analysis of the growth-zone. *Seed Science and Technology*, 27, 151-162.
- Bingham, I.J., Harris, A. and MacDonald, L. (1994): A comparative study of radicle and coleoptile extension in maize seedlings from aged and unaged seed. *Seed Science and Technology*, 22, 127-139.
- Blum, A. (1988): *Plant breeding for stress environments*. CRC Press Inc.: Boca Raton, FL.
- Brummer, C.E. (1999): Capturing heterosis in forage crop cultivar development. *Crop Sci.*, 39, 943-54.
- Burriss J.S. and Navratil, R.J. (1979): Relationship between laboratory cold-test methods and field emergence in maize inbreds. *Agronomy Journal*, 71, 985-988.
- Burriss, J.S. (1977): Effect of location of production and maternal parentage on seedling vigor in hybrid maize (*Zea mays*). *Seed Sci. & Technol.*, 5, 703-708.
- Burriss, J.S. (1980): Maintenance of soybean seed quality in storage as influenced by moisture, temperature and genotype. *Iowa State Journal of Research*, 54, 377-389.

- Burris, J.S. (2000): Physiology of seed development and deterioration. *In* Genetic improvement of seed quality. CSSA Spec. Publ. 31. CSSA, Madison, WI.
- Cardy, B.J. and Kannenberg, L.W. (1982): Allozyme variability among maize inbred lines and hybrids. Application for cultivar identification. *Crop Sci.*, 22, 1016-1020.
- Cardy, B.J., Stuber, C.W. and Goodman, M.M. (1980): Techniques for starch gel electrophoresis of enzymes from maize. Institute of Statistics Mimeo Series No.1317. North Carolina State University, Raleigh.
- Chen, C. and Lin, K. (1982): The effect of different genetic bases, temperatures and development stages on the seedling vigour of maize. *Natural Sciences*, 10, 855-862.
- Coimbra, R.A., Martins, C.C., Tomaz, C.A. and Nekagawa, P. (2009): Vigor tests for selection of sweet corn (*sh2*) seeds lot. (Testes de vigor utilizados na avaliação da qualidade fisiológica de lotes de sementes de milho-doce (*sh2*)). *Ciência Rural*, 39 (9), 2402-2408.
- Costich, D.E., Rivas, M., Gonzales, P., Segundo, A. and Burgueño, J. (2015): Exploring seed longevity in different kernel types in the CIMMYT maize germplasm collection. Seed Longevity Workshop of the International Society for Seed Science (ISSS), Wernigerode, Germany, July 5-8, 2015. Book of abstracts, pp. 55.
- Darkó, É., Fodor, J., Dulai, S., Ambrus, H., Szenzenstein, A., Kira, Z., and Barnaba, B. (2011): Improved cold and drought tolerance of doubled haploid maize plants selected for resistance to prooxidant tert-butyl hydroperoxide. *J. Agron. Crop Sci.*, 197, 454-465. doi:10.1111/j.1439-037X.2011.00479.x
- Das, G. and Sen-Mandy, S. (1988): Root formation in deteriorated (aged) wheat embryos. *Plant Physiology*, 88, 983-986.
- De la Torre, M.V. and Biasutti, C.A. (2015): Reciprocal effects and combining ability in characters related to early vigor and grain yield in maize. *AgriScientia*, 32 (1), 41-53.
- Delouche, J.C. and Baskin, C.C. (1973): Accelerating aging techniques for predicting the relative storability of seed lots, *Seed Sci. & Technology*, 1, 427-452.
- DeVries, M., and Goggi, A. S. (2006): Determining the extent of frost damage in maize seed using the tetrazolium test. Online. *Crop Management* doi:10.1094/CM-2006-0414-01-RS.

- Dolapo B.A. and Modi, A.T. (2015): Germination characteristics of SC701 maize hybrid according to size and shape at different temperature regimes. *Plant Prod. Sci.* 18, 514-521.
- Dragičević, V., Sredojević, S., Vrvić, M., Đukanović, L. i Todorović, M. (2004): The mass and water partitioning as growth factors of maize seedlings influenced by ageing and 2,4-D. *Fresenius Environmental Bulletin*, 13, 336-340.
- Mladenović Drinić, S. and Konstantinov, K. (2002): Korišćenje proteinskih markera za karakterizaciju i utvrđivanje genetičke čistoće semena kukuruza. *Selekcija i semenarstvo*, 8, 1-8.
- Dunlap, F.G., White, P.J. and Pollak, L.M. (1995): Fatty acid composition of oil from exotic corn breeding materials. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 72, 989-993.
- Đukanović, L. (1999): Promene osobina hibridnog semena kukuruza pri različitim načinima čuvanja. Magistarski rad. Poljoprivredni fakultet, Zemun, Beograd.
- Eagles, H.A. (1982): Inheritance of emergence time and seedling growth at low temperatures in four lines of maize. *Theor. Appl. Genet.*, 62, 81-87.
- El-Abady, M.I. (2015): Influence of maize seed size/shape, planted at different depths and temperatures on seed emergence and seedling vigor. *Research Journal of Seed Science*, 8, 1-11.
- Ellis, R.H. (1992): Seed and seedling vigour in relation to crop growth and yield. *Plant Growth Regulation*, 11, 249-255.
- Ellis, R.H. and Roberts E.H. (1980a): Improved equations for the prediction of seed longevity. *Annals of Botany*, 45, 13-30.
- Ellis, R.H. and Roberts, E.H. (1980b): The influence of temperature and moisture on seed viability period in barley (*Hordeum distichum* L.). *Annals of Botany*, 45, 31-37.
- Esim, N. and Atici, Ö. (2016): Relationships between some endogenous signal compounds and the antioxidant system in response to chilling stress in maize (*Zea mays* L.) seedlings. *Turkish Journal of Botany*, 40, 37-44. doi:10.3906/bot-1408-59
- Farooq, M., Aziz, T., Hussain, M., Rehman, H., Jabran, K. and Khan, M.B. (2008b): Glycinebetaine improves chilling tolerance in hybrid maize. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 194, 152–160. doi: 10.1111/j.1439-037X.2008.00295.x



- Farooq, M., Aziz, T., Basra, S.M.A., Cheema, M.A. and Rehman, H. (2008c): Chilling tolerance in hybrid maize induced by seed priming with salicylic acid. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 194, 161–168. doi: 10.1111/j.1439-037X.2008.00300.x
- Farooq, M., Aziz, T., Basra, S.M.A., Wahid, A., Khaliq, A. and Cheema, M.A. (2008d): Exploring the role of calcium to improve chilling tolerance in hybrid maize. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 194, 350–359. doi: 10.1111/j.1439-037X.2008.00322.x
- Farooq, M., Aziz, T., Cheema, Z.A., Khaliq, A. and Hussain, M. (2008e): Activation of antioxidant system by KCl treatments improves the chilling tolerance in hybrid maize. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 194, 438–448.
- Farooq, M., Aziz, T., Wahid, A., Lee, D.J. and Siddique, K.H.M. (2009): Chilling tolerance in maize: agronomic and physiological approaches. *Crop & Pasture Science*, 60, 501-516.
- Ferguson, J.M., TeKrony, D.M and Egli, D.B. (1990): Changes during early soybean seed and axes deterioration: II. Lipids. *Crop Science*, 30, 179-182.
- Ferguson-Spears, J. (1995): An introduction to seed vigour testing. In: *ISTA Seed Vigour Testing Seminar*, pp. 1-10. (ed. H.A. van de Venter), ISTA, Zurich, Switzerland.
- Fessel, S.A, Vieira, R.D., Pessoa da Cruz, M.C., Cesar de Paula, R. and Panobianco, M. (2006): Teste de condutividade elétrica em sementes de milho armazenadas sob diferentes temperaturas e períodos. [Electrical conductivity testing of corn seeds as influenced by temperature and period of storage] *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 41, 1551-1559.
- Fiala, F. (1987): Report of the vigour test committee 1983-1986. *Seed Sci. & Technology*, 15, 507-522.
- Frascaroli, E., and Landi, P. (2013): Divergent selection in a maize population for germination at low temperature in controlled environment: Study of the direct response, of the trait inheritance and of correlated responses in the field. *Theor. Appl. Genet.*, 126, 733–746. doi:10.1007/s00122-012-2014-4
- Freitas, R.A., Dias, D.C.F., Dos, S., Reis, M.S., Cecon, P.R. (2000): Correlation between cotton seed quality evaluation tests and seedling emergence in field. *Revista Brasileira De Sementes*. 22(1), 97-103.

- Gepts, P., Osborn, T.C., Rshka, K. and Bliss, F.A. (1986): Phaseolin-protein variability in wild forms and landraces of the common bean (*Phaseolus vulgaris*): evidence for multiple centers of domestication. *Econ. Bot.*, 40: 451-468.
- Giancola, S.S., Poltri, M., Lacaze, P. and Hopp, H.E. (2002): Feasibility of integration of molecular markers and morphological descriptors in a real case study of a plant variety protection system for soybean. *Euphytica*, 127, 95-113.
- Gidrol, X., Serghini, H., Noubhani, A., Mocoquot, B. and Mazliak, P. (1989): Biochemical changes induced by accelerated aging in sunflower seeds. I. Lipid peroxidation and membrane damage. *Physiology Plantarum*, 76, 591-597.
- Gill, N.S. and Delouche, J.C. (1973): Deterioration of seed corn during storage. *Proceedings of Association of Official Seed Analysts*, 63, 33-50.
- Gille, J.J.P. and Joenje, H. (1991): Biological significance of oxygen toxicity: An introduction. In: *Membrane Lipid Oxidation* (ed. C. Vigo-Pelfrey), pp. 1-32, CRC Press, Boca Raton.
- Goggi, A.S., Pollak, L., Golden, J., DeVries M., McAndrews, G. and Montgomery, K. (2007): Impact of early seed quality selection on maize inbreds and hybrids. *Maydica* 52, 223-233.
- Gomes, M.S.; Von Pinho, E.V.R.; Von Pinho, R.G.; and Vieira, M.G.G.C. (2000): Heterosis effect on the physiological quality of corn seeds (Efeito da heterosis na qualidade fisiológica de sementes de milho). *Revista Brasileira de Sementes*, 22(1), 7-17. <http://www.abrates.org.br/revista/artigos/2000/v22n1/artigo02.pdf>
- Goodman M.M. and Stuber, C.W. (1980): Genetic identification of lines and crosses using isoenzyme electrophoresis. *Proceedings of the Annual Corn and Sorghum Research Conference*, 35, 10-31.
- Gorinstein, S., Jaramillo, N.O., Madina, O.J., Rogrigues, W.A., Tosello, G.A. and Paredes. L.O. (1999): Evaluation of some cereal, plants and tubers through protein composition. *J. Protein Chem.*, 18: 687-693.
- Grogan, C.O. (1970): Genetic variability in maize for germination and seedling growth at low temperatures. *Proc. Annu. Corn Sorghum Res. Conf.*, 25, 90-98.
- Gupta, S.C. (1985): Predicting corn planting dates for moldboard and no-tillage system in Corn Belt. *Agron J*, 77, 446-455.

- Gutormson, T.J. (1995): Soil cold test – USA perspective. In: Seed Vigour Testing Seminar, pp. 29-33. (ed. H.A. van de Venter), ISTA, Zurich, Switzerland.
- Hadživuković, S. (1991): Statistički metodi. Drugo prošireno izdanje, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- Hallauer, A.R. (1990): Methods used in developing maize inbreds. *Maydica*, 35, 1-16.
- Hampton, J.G. (1993): The ISTA perspective of seed vigor testing. *Journal of Seed Technology*. 17, 105-109.
- Hampton, J.G., and TeKrony, D.M. (1995): *Handbook of Vigour Test Methods*, 3<sup>rd</sup> Edition, The International Seed Testing Association, Zurich, Switzerland.
- Han Z., Ku, L., Zhang, Z., Zhang, J., Guo, S., Liu, H., Zhao, R., Ren, Z., Zhang, L., Su, H., Dong, L. and Chen, Y. (2014): QTLs for seed vigor-related traits identified in maize seeds germinated under artificial aging conditions. *PLoS ONE* 9(3): e92535. doi:10.1371/journal.pone.0092535.
- Helgason, S.B. (1953): A study of genetic factors and techniques affecting cold-test performance in corn. Ph.D. Thesis. University of Minnesota. St. Paul, Minn.
- Hiltner, L. and Ihssen, G. (1911): Uber das schlechte Auflaufen und die Auswinterung des Getreides infolge Befalls des Saatgutes durch *Fusarium*. *Ladw. Jahrbuch fur Bayern*. 1:20-60, 231-278.
- Hoegemeyer, T.C. and Gutormsen, T.J. (2000): Identifying maize inbreds with inherently better seed quality. In Moore, S.H., J.J. Volenec, and D.M. Karl, eds, *Genetic Improvement of Seed Quality*. Crop Science Society of America, Inc., Madison, WI, pp 39–46.
- Hoffmaster, A.L., Fujimura, K., McDonald, M.B. and Bennett, M.A. (2003): An automated system for vigor testing three-day-old soybean seedlings. *Seed Science and Technology*, 31, 701-713.
- International Seed Testing Association (2015): *International Rules for Seed Testing*, edition 2015. ISTA Basserdorf, CH.
- Iqbal, J., Shiwari, Z.K. and Rabbani, M. (2014): Investigation of total seed storage proteins of Pakistani and Japanese maize (*Zea mays* L.) through SDS-PAGE markers. *Pak. J. Bot.*, 46, 817-822.
- Jevtić, S. (1986): *Biologija i proizvodnja semena ratarskih kultura*. Nolit, Beograd.

- Jones, D.F. (1918) The effects of inbreeding and crossbreeding upon development. Connecticut Agric. Exp. Stn. Bull. 207: 5-100.
- Khajeh-Hosseini, M., Lomholt, A. and Matthews, S. (2009): Mean germination time in the laboratory estimates the relative vigour and field emergence of commercial seed lots of maize (*Zea mays* L.). Seed Sci. & Technol., 37,446-456.
- Kollipara, K.P., Imad, N.S., Robert, D.W., Lauer, M.J. and Singletary, G.W. (2002): Expression profiling of reciprocal maize hybrids divergent for cold germination and desiccation tolerance. Plant Physiol., 129, 974-992.
- Konstantinov, K. and Mladenović Drinić, S. (2000): Genetički markeri viših biljaka, Savremena biofizika, „Biomarkeri - detekcija, struktura i funkcija”, Beograd (155-221).
- Koranyi, P. (1989): Simple purity checking of maize (*Zea mays* L.) lines and hybrids by protein monomer analysis. Seed Sci. & Technol., 17: 161-168.
- Kruse, M. (1996): Embryo excision versus longitudinal cut in tetrazolium viability determination of cereal seeds. Seed Science and Technology, 24, 171-183.
- Kucharik, C.J. (2006): A multidecadal trend of earlier corn planting in the central USA. Agron. J., 98, 1544–1550. doi:10.2134/agronj2006.0156
- Lakon, G. (1942): Topographischer Nachweis der Keimfähigkeit der Getreidefrüchte durch Tetrazoliumsalze. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft, 60: 299–305. doi: 10.1111/j.1438-8677.1942.tb00466.x
- Larson, R.A. (1997): Naturally Occurring Antioxidants. Lewis Publ., Boca Raton.
- Lauer, J.G., Carter, P.R., Wood, T.M., Diezel, G., Wiersma, D.W., Rand, R.E. and Mlynarek, M.J. (1999): Corn hybrid response to planting date in the northern Corn Belt. Agron J, 91, 834–839.
- Lee, E., and Tracy, W.F. (2009): Modern Maize Breeding. pp: 141-162, in: The Handbook of Maize; Vol.2. Genetics and Genomics, eds. J. Bennetzen and S. Hake. Springer Science, New York, NY.
- Lee, E.A., Staebler, M.A. and Tollenaar, M. (2002): Genetic variation in physiological discriminators for cold tolerance-early autotrophic phase of maize development. Crop Sci, 42, 1919–1929.

- Leipner, J., Jompuk, C., Camp, K., Stamp, P. and Fracheboud, Y. (2008): QTL studies reveal little relevance of chilling-related seedling traits for yield in maize. *Theor. Appl. Genet.*, 116, 555–562. doi:10.1007/s00122-007-0690-2
- Leist, N. (2005): Genetic purity testing. Preuzeto 19.1.2016. sa <http://www.slideshare.net/abhishekkatagi517/genetic-purity-testing>
- Lekić, S. (2001): Uticaj temperature na promene pokazatelja životne sposobnosti semena kukuruza. Doktorska disertacija. Poljoprivredni fakultet - Zemun. Beograd.
- Liu, M.X., Wang, Y., Jian-Guo, H., Pei-Sheng, M. and Wang, Y.W. (2010): Prolamin extraction from high polyphenol seeds of sorghum (*Sorghum* spp.) and species discrimination and varieties identification by ultrathin-layer isoelectric focusing. *African Journal of Biotechnology*. 9(40), 6645-6653.
- Lovato, A., Noli, E. and Lovato, A.F.S. (2005): The relationship between three cold test temperatures, accelerated ageing test and field emergence of maize seed. *Seed Science and Technology*, 33, 249-253.
- Lovato, A., Noli, E., Lovato, A.F.S. and Gamberini, G. (2001a): Effect of three low temperatures of cold test on germination on maize, sorghum, soyabean and sunflower. Seed Symposium, ISTA Congres, Angers, France, June 2001.
- Lovato, A., Noli, E., Lovato, A.F.S., Beltrami, E. and Grassi, E. (2001b): Comparison between three cold test low temperatures, accelerated ageing test and field emergence on maize seed. Seed Symposium, ISTA Congres, Angers, France, June 2001.
- Marchi, J.L., Cicero, S.M., and Gomes Junior, F.G. (2011): Using computerized analysis of seedlings to evaluate the physiological potential of peanut seeds treated with fungicide and insecticide. (Utilização da análise computadorizada de plântulas na avaliação do potencial fisiológico de sementes de amendoim tratadas com fungicida e inseticida). *Revista Brasileira de Sementes*, 33 (4), 652-662.
- Marcos Filho, J. (2015): Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. *Scientia Agricola*, 72(4), 363-374. <https://dx.doi.org/10.1590/0103-9016-2015-0007>
- Marcos Filho, J., Kikuti, A.L.P. and Lima, L.B. (2009): Procedures for evaluation of soybean seed vigor, including an automated computer imaging system. (Métodos para avaliação do vigor de sementes de soja, incluindo a análise computadorizada de imagens).

- Revista Brasileira de Sementes, 31 (1), 102-112.  
<http://www.scielo.br/pdf/rbs/v31n1/a12v31n1.pdf>
- Marcos-Filho, J. (1998): New approaches to seed vigor testing. *Scientia Agricola*, 55, 27-33.
- Martin, B. and O'Neil, M. (1987): Laboratory tests for the assesment of vigor in maize. *Proc. 9th Seed Tech. Conf. (Iowa State Univ.)*, pp. 209-219.
- Martin, B.A., Smith, O.S. and O'Neil, M. (1988): Relationships between laboratory germination tests and field emergence of maize inbreds. *Crop Sci.*, 28, 801-805.
- Matthews, S. and Khajeh-Hosseini, M. (2007): Length of the lag period of germination and metabolic repair explain vigour dfferences in seed lots of maize (*Zea mays*). *Seed Sci. & Technol.*, 35, 200-212.
- Matthews, S. and Powell, A. (1981): Controlled deterioration test. In: *Handbook of Vigor Test* (ed. D.A. Perry), pp. 49-56. Zurich, International Seed Testing Association.
- Matthews, S., Beltrami, E., El-Khadem, R., Khajeh-Hosseini, M., Nasehzadeh, M. and Urso, G. (2011): Evidence that time for repair during early germination leads to vigour dfferences in maize. *Seed Sci. & Technol.*, 39, 501-509.
- Matthews, S., El-Khadem, R., Casarini, E., Khajeh-Hosseini, M., Nasehzadeh, M. and Wagner, M.H. (2010). Rate of physiological germination compared with the cold test and accelerated ageing as a repeatable vigour test for maize. *Seed Science and Technology*, 34, 379-389.
- Matthews, S., Noli, E., Demir, I., Khajeh-Hosseini, M. and Wagner, M.H. (2012): Evaluation of seed quality: from physiology to international standardization. *Seed Science Research*, 22, 69-73.
- McDonald, M.B. (1993): The history of seed vigor testing. *Journal of Seed Technology*. 17, 93-100.
- McDonald, M.B. (1994): Seed lot potential: viability, vigour and field performance. *Seed Science and Technology*, 22, 421-425.
- McDonald, M.B. (1999): Seed deterioration: physiology, repair and assessment. *Seed Science and Technology*, 27, 177-237.
- McDonald, M.B. (2004): Лична комуникација.

- Messmer, M.M., Melchinger, A.E., Lee, M., Woodman, W.L. and Lamkey, K.R. (1991): Diversity and relationships among US maize inbreds revealed by restriction fragment length polymorphism. *Crop Sci.*, 31:669-678.
- Milivojević, M. (2005). Primena vigor testova u ocenjivanju kvaliteta semena kukuruza (*Zea mays* L.). Magistarski rad, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Srbija.
- Milošević M., Ćirović, M., Mihaljev, I. i Dokić, P. (1996): Opšte semenarstvo. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- Milošević, M., Rajnpreht, J., Ćirović, M. i Zlokolica, M. (1994): Metodi ispitivanja životne sposobnosti semena kukuruza. *Selekcija i semenarstvo*, 1, 179-182.
- Mladenović Drinić, S, Trifunović, S., Drinić, G. and Konstantinov, K. (2002): Genetic diversity and its correlation to heterosis in maize as revealed by SSR based markers. *Maydica*, 47, 1-8.
- Mock, J.J. and Eberhart, S.A. (1972): Cold tolerance in adapted maize populations. *Crop Sci.*, 12, 466-469.
- Mock, J.J. and McNeill, M.J. (1979): Cold tolerance of maize inbred lines adapted to various latitudes in North America. *Crop Science*, 19, 239-242.
- Mock, J.J. and Skrdla, W.H. (1987): Evaluation of maize plant introductions for cold tolerance. *Euphytica*, 27, 27-32.
- Mock, J.J., Pearce, R.B. (1975): Idiotypic of maize. *Euphytica*, 24, 613–623.
- Mondo, V.H.V., Cicero, S.M., Dourado-Neto, D., Pupim, T.L., Dias, M.A.N. (2013): Seed vigor and initial growth of corn crop. *Journal of Seed Science*, 35, 64-69,
- Mortimore, C.G. (1949): *Zea mays* germination; reaction under cold test conditions. M.S. Thesis. University of Minnesota. St. Paul, Minn.
- Mosely, P.R., Crosbie, T.M. and Mock, J.J. (1984): Mass selection for improved cold and density tolerance of two maize populations. *Euphytica*, 33, 263–269.
- Muminović, J. (1998): Predviđanje relativne dužine čuvanja semena kukuruza (*Zea mays* L.) u banci gena. Magistarski rad. Poljoprivredni fakultet. Novi Sad.
- Munamava, M. R., Goggi, A.S., and Pollak, L. (2004): Seed Quality of Maize Inbred Lines with Different Composition and Genetic Background, *Crop Sci.* 44:542-548.
- Nagar, R.P., Dadlani, M. and Sharama, S.P. (1998): Effect of hydropriming on field emergence and crop growth of maize genotypes. *Seed. Res.* 26, 1-5.

- Nagy, E., Gyulai, G., Szabo, Z., Hegyi, Z., Marton, L.C. (2003): Application of morphological descriptions and genetic markers to analyse polymorphism and genetic relationship in maize. *Acta Agronomica Hungarica* 51 (3), 257-265.
- Nerling, D., Coelho, M.C.M. and Nodari R.O. (2013): Genetic diversity for physiological quality of seeds from corn (*Zea mays* L.) intervarietal crossbreeds. *Journal of Seed Science*, 35 (4), 449-456.
- Nguyen, H.T., Leipner, J., Stamp, P. and Guerra-Peraza O. (2009): Low temperature stress in maize (*Zea mays* L.) induces genes involved in photosynthesis and signal transduction as studied by suppression subtractive hybridization. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47, 116–122.
- Nijënstein, J.H., and Kruse, M. (2000): The potential for standardisation in cold testing of maize (*Zea mays* L.), *Seed Sci. & Technol.*, 28, 837-851.
- Noli, E. (2004): Analysis of Genetic Quality of Tomato, Pepper and Eggplant Seeds by Means of Seed Storage Protein Electrophoresis. *Sementi Elette*, 50: 67-74.
- Noli, E., Casarini, G., Urso, G. and Conti, S. (2008). Suitability of three vigour test procedures to predict field performance of early sown maize seed. *Seed Science and Technology*, 36, 168-176.
- Ocvirk, D., Špoljarević, M., Špoljarić Marković, S., Lisjak, M., Hanzer, R. and Teklić, T. (2014): Seed germinability after imbibition in electrical conductivity test and relations among maize seed vigour parameters. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 12 (1), 140-145.
- Opra, B. (2002): Uticaj porekla i uslova ispitivanja na klijanje hibridnog semena kukuruza. Magistarski rad. Poljoprivredni fakultet-Zemun, Beograd.
- Otoni, R.R. and McDonald, M.B. (2005): Moisture and temperature effects on maize and soybean seedlings using the seed vigor imaging system. *Seed Science and Technology*, 27, (2), 243-247.
- Pajić, Z., Popović, R. i Štarić, I. (1998): Uticaj endosperma na klijavost semena kukuruza (*Zea mays* L.). *Selekcija i semenarstvo*, 5, 69-72.
- Panobianco, M. and Vieira, R.D. (1996): Electrical conductivity of soybean soaked seeds. I. Effect of genotype. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 31, 621-627.



- Pejić, I., Ajmone-Marsan, P., Morgante, M., Kozumplick, V., Castiglioni, P., Taramino, G. and Motto, M. (1998): Comparative analysis of genetic similarity among maize inbred lines detected by RFLPs, RAPDs, SSRs and AFLPs. *Theor. Appl. Genet.*, 97, 1248-1255.
- Perry, D.A. (1984): Report of the vigour test committee, 1980-1983. *Seed Science and Technology*, 12, 287-299.
- Pešev, N.V. (1970): Genetic factors affecting maize tolerance to low temperatures at emergence and germination. *Theoretical and Applied Genetics*, 40, 351-356.
- Pinell, E.L. (1949): Genetic and environmental factors affecting corn germination at low temperatures. *Agron. Journal*, 41, 562-569.
- Pinto, C.A.G., Carvalho, M.L.M., Andrade, D.B., Leite, E.R. and Chalfoun, I. (2015): Image analysis in the evaluation of the physiological potential of maize seeds. *Revista Ciência Agronômica*, 46 (2), 319-328.
- Pollak, L.M. (2002): The history and success of the public-private project on germplasm enhancement of maize (GEM). *Adv. Agron.*, 78, 45-87.
- Pollmer, W.G. (1969): Keimung und Wachstum von Maisvarietäten bei niedrigen Temperaturen. *Bayerisches Landwirtschaftliches Jahrbuch*, 46, 279-288.
- Poperelya, F.A., Asyka, Y.A., Klyochko, P.F., Sokolov, V.M., Trofimov, V.A. and Sergeev, V.V. (1989): Determining the hybridity of maize seed according to electrophoretic zein spectra. *Doklady Vsesoyuznoi Ordena Lenina i Ordena Trudovogo Krasnogo Znameni Akademii Selskokhoz Yaistvennykh Nauk V.I. Lenina*, 3: 2-4.
- Powell, A.A. (1986): Cell membranes and seed leachate conductivity in relation to the quality of seed for sowing. *Journal of Seed Technology*, 10, 81-100.
- Powell, A.A., Matthews, S. and Oliveira, M. de A. (1984): Seed quality in grain legumes. *Advances in Applied Biology*, 10, 217-285.
- Presterl, T., Ouzunova, M., Schmidt, W., Moeller, E.M., Roeber, F.K., Knaak, C., Ernst, K., Westhoff, P. and Geiger, H.H. (2007): Quantitative trait loci for early plant vigour of maize grown in chilly environments. *Theor. Appl. Genet.* 114:1059–1070. doi:10.1007/s00122-006-0499-4
- Priestley, D.A. (1986): Seed ageing. Cornell University Press, New York.

- Radić, V. (2003): Uticaj nepovoljnih činilaca na klijavost pojedinih genotipova kukuruza (*Zea mays* L.). Magistarski rad. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- Rehman, H., Iqbal, H., Basra, S.M.A., Afzal, I., Farooq, M., Abdul, W. and Wang, N. (2015): Seed priming improves early seedling vigor, growth and productivity of spring maize. *Journal of Integrative Agriculture*, 14, 1745–1754.
- Reis, L.S., Pereira, M.G., Silva, R.F. and Meireles, R.C. (2011): Effect of heterosis on sweet corn seeds quality. *Revista Brasileira de Sementes*, 33(2), 310-315. <http://www.scielo.br/pdf/rbs/v33n2/13.pdf>
- Revilla, P., Malvar, R.A., Cartea, M.E. and Ordás, A. (1998): Identifying open-pollinated populations of field corn as sources of cold tolerance for improving sweet corn. *Euphytica*, 101, 239–247.
- Revilla, P., Butron, A., Malvar, R.A., Ordas, A. (1999): Relationships among kernel weight, early vigor, and growth in maize. *Crop Science*, 39, 654–658.
- Revilla, P., Malvar, R.A., Cartea, M.E., Butròn, A. and Ordás, A. (2000): Inheritance of cold tolerance at emergence and during early season growth in maize. *Crop Sci.* 40, 1579-1585.
- Revilla, P., Hotchkiss, J.R. and Tracy, W.F. (2003a): Cold tolerance evaluation in a diallel among open-pollinated sweet corn cultivars. *HortScience*, 38, 88–91.
- Revilla, P., Soengas, P., Cartea, M.E., Malvar, R.A. and Ordás, A. (2003b): Isozyme variability among European maize populations and the introduction of maize in Europe. *Maydica*, 48, 141–152.
- Revilla, P., Butrón, A., Cartea, M.E., Malvar, R.A., and Ordás, A. (2005a): Breeding for cold tolerance. In: M. Ashraf and P.J.C. Harris, editors, *Abiotic stresses. Plant resistance through breeding and molecular approaches*. The Haworth Press, Inc., New York.
- Revilla, P., Abuín, M.C., Malvar, R.A., Soengas, P., Ordás, B. and Ordás, A. (2005b): Genetic variation between Spanish and American versions of sweet corn inbred lines. *Plant Breeding* 124, 268–271.
- Revilla, P., Velasco, P., Malvar, R.A., Cartea, M.E., Orda's, A. (2006): Variability among maize (*Zea mays* L.) inbred lines for seed longevity. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 53, 771–777.

- Revilla, P., Butrón, A., Rodríguez, V.M., Malvar, R.A. and Ordás, A. (2009): Identification of genes related to germination in aged maize seed by screening natural variability. *Journal of Experimental Botany*, 60 (14), 4151–4157. doi:10.1093/jxb/erp249
- Revilla, P., Rodríguez, V.M., Ordás, A., Rincént, R., Charcosset, A., Giauffret, C., Melchinger, A.E., Schön, C.C., Bauer, E., Altmann, T., Brunel, D., Moreno-González, J., Campo, L., Ouzunova, M., Laborde, J., Álvarez, Á., Ruíz de Galarreta, J.I. and Malvar, R.A. (2014): Cold Tolerance in Two Large Maize Inbred Panels Adapted to European Climates. *Crop Sci.*, 54, 1981–1991. doi: 10.2135/cropsci2013.11.0733
- Richner, W, Soldati, A, and Stamp, P. (1996): Shoot-to-root relations in fieldgrown maize seedlings. *Agronomy Journal*, 88, 56–61.
- Roberts, E.H. (1984): The control of seed quality and its relationship to crop productivity. *Proceedings of the Australian Seed Research Conference*, 11-25.
- Rodríguez, V.M., Butrón, A., Malvar, R.A., Ordás, A. and Revilla, P. (2008): Quantitative trait loci for cold tolerance in the maize IBM population. *Int J Plant Sci*, 169, 551–556.
- Rodríguez, V.M., Butrón, A., Rady, M.O.A., Soengas, P. and Revilla, P. (2014): Identification of quantitative trait loci involved in the response to cold stress in maize (*Zea mays* L.). *Mol. Breeding*, 33, 363–371.
- Rodríguez, V.M., Butrón, A., Sandoya, G., Ordás, A. and Revilla, P. (2007): Combining maize base germplasm for cold tolerance breeding. *Crop Science*, 47 (4), 1467-1474.
- Rodríguez, V.M., Romay, M.C., Ordás, A. and Revilla, P. (2010): Evaluation of European maize (*Zea mays* L.) germplasm under cold conditions. *Genet Resour Crop Evol*, 57, 329–335. DOI 10.1007/s10722-009-9529-9
- Rohlf, F.J. (2000): NTSYS-pc. Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Version 2.0 Exeter Software, Setaket, N.Y.
- Roldan-Ruiz, I., van Eeuwijk, F.A., Gilliland, T.J., Dubreuil, P., Dillmann, C., Lallemand, J., De Loose, M. and Baril, C.P. (2001): A comparative study of molecular and morphological methods of describing relationships between perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) varieties. *Theor. Appl. Genet.* 103, 1138–1150.
- Rosić, K. (1959): Uticaj pojedinih frakcija semena na razviće, rastenje i prinos kukuruza. *Hibridni kukuruz Jugoslavije*, 9, 3-17.

- Sako, Y., McDonald, M.B., Fujimura, K., Evans, A.F. and Bennett, M.A. (2001): A system for automated seed vigor assesment. *Seed Science and Technology*, 29, 625-636.
- Salas Fernandez, M.G., Schoenbaum, G., and Goggi, S. (2014): Novel germplasm and screening methods for early cold tolerance in sorghum. *Crop Sci.* 54(6), 2631-2638.
- Salhuana, W., Pollak, L.M., Ferrer, M., Paratori, O. and Vivo, G. (1998): Breeding potential of maize accessions from Argentina, Chile, USA, and Uruguay. *Crop. Sci.*, 38, 866-872.
- Santipracha, W., Santipracha, Q. and Wongvarodom, V. (1997): Hybrid corn seed quality and accelerated aging. *Seed Science and Technology*, 25, 203-208.
- Schultz, Q.E. (1992): Embracing advances in seed testing technology in the 90's. *Proc. 14<sup>th</sup> Seed Tech. Conf. (Iowa State Univ.)*, pp. 1-25.
- Scott, G.E. (1981): Improvement for Accelerating Aging Response of Seed in Maize Populations; *Crop Science*, 21, 1, 41-43.
- Semuguruka, G.H., Compton, W.A., Sullivan, C.Y. and Thomas, M.A. (1981): Some measures of temperature response in corn (*Zea mays* L.). *Maydica*, 26, 209–218.
- Senior, M.L. and Heun, M. (1993): Mapping maize microsatellite and polymerase chain reaction confirmation of the targeted repeats using CT primer. *Genome*, 36, 884-889.
- Shah, A.H., Khan, M.F. and Khaliq, A. (2003): Genetic characterization of some maize (*Zea mays* L.) varieties using SDS-PAGE. *Asian J. Plant Sci.*, 2, 1188-1191.
- Shaw, R.H. (1988): Climate requirement. Pp. 609-638. In *Corn and Corn Improvement*. Third Edition, G.F. Sprague and J.W. Dudley (Eds). American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, USA.
- Shawn, R. (1988): Climate requirement. In: Sprague GF, Dudley JW (eds) *Corn and corn improvement*. ASA Madison, Madison.
- Shewry, P.R. and Casey, R. (1999): *Seed Protein*. Kluwer Academic Publishers. Drenthe.
- Shieh, W.J. and McDonald, M.B. (1982): The influence of seed size, shape and treatment on inbred seed corn quality. *Seed Sci. Tech.*, 10, 307-313.
- Silva, A.V.N., Gomes Junior, F.G. and Cicero, S.M. (2012): Computerized imaging analysis of seedlings for assessment of physiological potential of wheat seeds. *Revista Brasileira de Sementes*, 34 (4), 589-596.

- Silva-Neta I.C., Pinho, E.V., Veiga, A.D., Pinho, R.G., Guimarães, R.M., Caixeta, F., Santos, H.O. and Marques, T.L. (2015): Expression of genes related to tolerance to low temperature for maize seed germination. *Genet. Mol. Res.* 14 (1): 2674-2690.
- Sivritepe, H.O., Senturk, B. and Teoman, S. (2015) Electrical Conductivity Tests in Maize Seeds. *Adv Plants Agric Res* 2(7): 00075. DOI: 10.15406/ apar.2015.02.00075
- Smith, J.S.C. (1984): Genetic variability within U.S. commercial hybrid maize (*Zea mays* L.)”, *Maydica* 29, 175-184.
- Smith, J.S.C. (1989): The characterization and assessment of genetic diversity among maize (*Zea mays* L.) hybrids that are widely grown in France: chromatographic data and isosymic data. *Euphytica*, 43, 73-85.
- Smykal, P., Horaek, J., Dostalova, R., Hybl, M. (2008): Variety discrimination in pea (*Pisum sativum* L.) by molecular, biochemical and morphological markers. *J. Appl. Genet.* 49(2), 155-166.
- Sobkowiak, A., Jon´czyk, M., Jarochovska, E., Biecek, P., Trzcinska Danielewicz J., Leipner, J., Fronk, J. and Sowin´ski, P. (2014): Genome wide transcriptomic analysis of response to low temperature reveals candidate genes determining divergent cold sensitivity of maize inbred lines. *Plant Mol. Biol.*, 85, 317–331.
- Sokal, R.R. and Michener, C.D. (1958): A statistical method for evaluating systematic relationships. *Univ. Kans. Sci. Bull.*, 38, 1409-1438.
- Srdić, J., Mladenović Drinić, S, Pajić, Z. and Filipović, M (2007): Characterisation of maize inbred lines based on molecular markers, heterosis and pedigree data. *Genetika*, 39 (3), 355 -363.
- Srdić, J., Nikolić, A., Pajić, Z., Mladenović Drinić, S. and Filipović, M. (2011): Genetic similarity of sweet corn inbred lines in correlation with heterosis, *Maydica* 56 (3), 251-256.
- Stainer, A.M., Kruze, M. and Fuchs, H. (1999): A re-assessment of the comparison of tetrazolium viability testing and germination testing. *Seed Science and Technology*, 27, 59-65.
- Stamp, P. (1986): Chilling stress in maize. In ‘Breeding of silage maize. Proceedings of Eucarpia Workshop’. (Eds O Dolstra, P Miedema) 43–50. (Pudoc: Wageningen, The Netherlands)

- Stamp, P., Feil, B., Schortemeyer, M. and Richner, W. (1997): Responses of roots to low temperatures and nitrogen forms. In 'Plant roots from cells to systems'. (Ed. HM Anderson) pp. 143–154. (Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, The Netherlands)
- Stewart, C.R., Martin, B.A., Reding, L. and Cenvick, S. (1990): Seedling growth, mitochondrial characteristics, and alternative respiratory capacity of corn genotypes differing in cold tolerance. *Plant Physiology*, 92, 761–766. doi: 10.1104/pp.92.3.761
- Stone, P.J., Sorensen, I.B., Jamieson, P.D. (1999): Effect of soil temperature on phenology, canopy development, biomass and yield of maize in a cool temperature climate. *Field Crops Research*, 63, 169–178. doi: 10.1016/S0378-4290(99)00033-7
- Strigens, A., Freitag, N.M., Gilbert, X., Grieder, C., Riedelsheimer, C., Schrag, T.A., Messmer, R. and Melchinger, A.E. (2013): Association mapping for chilling tolerance in elite flint and dent maize inbred lines evaluated in growth chamber and field experiments. *Plant Cell Environ.* 36, 1871–1887. doi:10.1111/pce.12096
- Strigens, A., Grieder, C., Haussmann, B.I.G. and Melchinger, A.E. (2012): Genetic variation among inbred lines and testcrosses of maize for early growth parameters and their relationship to final dry matter yield. *Crop Sci.*, 52, 1084–1092. doi:10.2135/cropsci2011.08.0426
- Stuber, C.W. and Goodman, M.M. (1983) Allozyme genotypes for popular and historically important inbred lines of corn, *Zea mays* L. New Orleans: Agricultural Research Service, United States Department of Agriculture.
- Szundy, T. and Kovacs, I. (1981a): Study of cold tolerance in maize genotypes of various levels of heterozygosity and their hybrids. I. Time of emergence of heterozygous genotypes. *Novenytermeles*, 30, 301-308.
- Szundy, T. and Kovacs, I., (1981b): Study of cold tolerance in maize genotypes of various levels of heterozygosity and their hybrids. II. Emergence percentage in heterozygous genotypes. *Novenytermeles*, 30, 385-390.
- Štajner, D., Kraljević-Balalić, M., Milošević, M. i Vujaković, M. (2000): Otpornost semena na činioce stresa. *Zbornik radova, sveska 33*, 227-234.
- Tang, S., TeKrony, D.M., Egli, D.B., Cornelius, P. and Rucker, M. (1999a): Survival characteristics of corn seed during storage. I. Normal distribution of seed survival. *Crop Science*, 39, 1394-1400.

- Tang, S., TeKrony, D.M., Egli, D.B., Cornelius, P. and Rucker, M. (1999b): Survival characteristics of corn seed during storage. II. Rate of seed deterioration. *Crop Science*, 39, 1400-1406.
- Tang, S., TeKrony, D.M., Egli, D.B. and Cornelius, P. (2000): An alternative model to predict corn seed deterioration during storage. *Crop Science*, 40, 463-470.
- Tanksley, S.D. (1983): Molecular markers in plant breeding. *Plant Molecular Biology Reporter*, 1, 3-8.
- TeKrony, D.M. (1996): Accelerated ageing test conditions for hybrid corn seed. *Iowa seed science, The newsletter of the Seed science center*, 16, 3-4.
- TeKrony, D.M. (2001): Seed vigor testing. In: *Seed technology training manual*. (eds. M. B. McDonald, T. Gutormson, and B. Turnipseed). Pp. 11.-11.20. Society of Commercial Seed Technologists, Ithaca, NY.
- TeKrony, D.M. (2003): Precision is an essential component in seed vigour testing. *Seed Science and Technology*, 31, 435-447.
- TeKrony, D.M. and Woltz, J. (1998): Standardization of the cold test for corn seed. *Proceedings of the 52<sup>nd</sup> Annual Corn and Sorghum Research Conference*, 206-227.
- TeKrony, D.M., and Hunter, J.L. (1995): Effect of Seed Maturation and Genotype on Seed Vigor in Maize. *Crop Science*, 35, 857-862.
- TeKrony, D.M., Egli, D.B. and Rucker, M. (2001): Survival characteristics of inbred corn seed during storage. *Seed Technology*, 23, 197-205.
- TeKrony, D.M., Shande, T., Rucker, M. and Egli, D.B. (2005): Effect of seed shape on corn germination and vigour during warehouse and controlled environment storage. *Seed Science and Technology*, 33, 185-197.
- Thompson, J.R. (1979): *An Introduction to Seed Technology*. Leonard Hill, Glasgow, UK.
- Timóteo, T.S. and Marcos-Filho, J. (2013): Seed performance of different corn genotypes during storage. *Journal of Seed Science*, 35: 207-215.
- Timperio, A.M., Egidi, M.G. and Zolla, L. (2008): Proteomics applied on plant abiotic stresses: Role of heat shock proteins (HSP). *J Proteomics*, 71, 391-411.
- Varga, P., Berzy, T., Anda, A. and Ertsey, K. (2012): Relationship between seed harvesting method and seed physiological quality for a number of Pioneer maize hybrids. *Maydica*, 57, 220-225.

- Vasquez-Ramos, J.M. and Sanchez, M. de la. (2003): The cell cycle and seed germination. *Seed Science Research*, 13, 113-130.
- Verheul, M.J., Picatto, C. and Stamp, P. (1996): Growth and development of maize (*Zea mays* L.) seedlings under chilling conditions in the field. *Eur J Agron*, 5, 31–43.
- Vesković, M., Popović, R., Mirić, M. i Đukanović, L. (1994): Uticaj razvoja korenovog sistema klijanaca nekih roditeljskih komponenata semenskog kukuruza na nicanje i preživljavanje u poljskim uslovima. *Selekcija i semenarstvo*, 1, 115-118.
- Vieira, R.D., Neto, A.S., Mudrovitsch de Bittencourt, S.R. and Panobianco, M. (2004): Electrical conductivity of seed soaking solution and soybean seedling emergence. *Scientia Agricola*, 61, 164-168.
- Vieira, R.D., TeKrony, D.M., Egli, D.B. and Rucker, M. (2001): Electrical conductivity of soybean seeds after storage in several environments. *Seed Science and Technology*, 29, 599-608.
- Waes, J. Van (1995): The use of a cold test to predict field emergence of maize in official variety trials in Belgium. *Seed Science and Technology*, 23, 211-224.
- Wang, C., Bian, K., Zhang, H., Zhou, Z. and Wang J. (1994): Polyacrylamide gel electrophoresis of salt soluble proteins for maize variety identification and genetic purity assessment. *Seed Sci. & Techn.* 22, 51-57.
- Wang, X.F., Knoblauch, R. and Leist. N. (2000): Varietal discrimination of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) by ultrathinlayer isoelectric focusing of seed protein. *Seed Sci. & Technol.*, 28: 521-526.
- Westermeier, R. (2001): *Electrophoresis in Practice*, Third edition. WILEY-VCH, Weinheim, Federal Republic of Germany.
- Woltz, J.M. and TeKrony, D.M. (2001): Accelerating aging test for corn seed, *Seed Technology*, 23, 21-34.
- Woltz, J.M., TeKrony, D.M., Egli, D.B. and Vincelli, P. (1998): Corn cold test germination as influenced by soil moisture, temperature and pathogens. *Seed Technology*, 20, 56-70.
- Wu, X.L., Liu, H.Y., Wang, W., Chen, S.N., Hu, X.L., Li, C.H. (2011): Proteomic analysis of seed viability in maize. *Acta Physiol. Plant.*, 33, 181–191.



- 
- Wych, R.D. (1988): Production of hybrid seed corn. p. 565-605. *In* G.F. Sprague and J.W. Dudley (ed.). Corn and corn improvement. 3rd Ed. Agron. Monogr. 18. ASA, CSSA and SSSA, Madison, WI.
- Yadav, V.K. and Singh, I.S. (2010): Comparative evaluation of maize inbred lines (*Zea mays* L.) according to dus testing using morphological, physiological and molecular markers. *Agricultural Sciences*, 1, 131-142.
- Zhao, T., Yan, M., Lu, Y.P., Yang, F., Huang, J. and Wang, X.F. (2003): Genetic purity testing of two-line hybrid rice seeds by ultrathin-layer isoelectric focusing of proteins. *Seed Sci. & Technol.* 33, 45-52.

## БИОГРАФИЈА

Марија Миливојевић (рођена Чуле) рођена је 06. новембра 1976. године у Београду. Основну школу и гимназију завршила је у Београду.

Школске 1995/96 уписала је Пољопривредни факултет Универзитета у Београду, Одсек за ратарство. Факултет је завршила 17. априла 2000. године са просечном оценом 9,25 и оценом 10 на дипломском испиту. Дипломски рад одбранила је на предмету Оплемењивање биљака са темом „Карактеристике признатих сорти парадајза и паприке у Југославији”, и тиме стекла звање дипломирани инжењер пољопривреде за ратарство.

У току основних студија учествовала је у размени студената и летњу двомесечну праксу обавила у Институту за испитивање земљишта у Акри, Гана 1998. године.

Постдипломске студије на Пољопривредном факултету у Новом Саду, Група Генетика и оплемењивање биљака, уписала је школске 2000/01 године. На овом смеру положила је све испите предвиђене наставним планом и програмом са просечном оценом 9,71.

Магистарски рад је одбранила 7.11.2005. под насловом: „Примена вигор тестова у оцењивању квалитета семена кукуруза (*Zea mays* L.)“ и стекла звање магистра наука из области семенарства.

Септембра 2000. године, као стипендиста Министарства за науку, технологију и развој Републике Србије, ангажована је у Лабораторији за испитивање семена, Института за кукуруз „Земун Поље“ где је од 01. марта 2001. запослена на неодређено време.

До сада је обавила усавршавања из различитих области семенарства и испитивања семена учешћем на међународним курсевима организованим од стране **ISTA** (примена тетразолиум теста, Немачка, 2002; испитивање вигора семена, Аустрија, 2003; примена статистике у испитивању семена, Немачка, 2005, курс система квалитета, Швајцарска, 2006, испитивање клијавости, Естонија, 2016), **ISSS** (курс дуговечности семена, Немачка, 2015), Института CHANIA (Курс управљања биодиверзитетом, Египат, 2001), и од стране САД амбасаде, (студијски боравак на Ohio State University, 2004).

Говори енглески и руски језик.

Удата је и има троје деце.

За време свог истраживачког рада у Институту као аутор или коаутор објавила је 20 радова и саопштења.