

UNIVERZITET U BEOGRADU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET

mr Mirjana B. Srebrić

**OPLEMENJIVANJE SOJE
UKRŠTANJEM U PUNOM SRODSTVU
U CILJU POVEĆANJA PRINOSA ZRNA**

doktorska disertacija

Beograd, 2013

UNIVERSTY OF BELGRADE
FACULTY OF AGRICULTURE

MSc Mirjana B. Srebrić

**SOYBEAN BREEDING BY FULL SIB
CROSSING IN ORDER TO YIELD
INCREASING**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2013

Mentor: dr Gordana Šurlan-Momirović, redovni profesor,
Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Beogradu

Članovi komisije za ocenu doktorske disertacije:

1. **dr Slaven Prodanović**, redovni profesor,
Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Beogradu
2. **dr Zorica Pajić**, naučni savetnik,
Institut za kukuruz „Zemun Polje“, Beograd -Zemun
3. **dr Mile Ivanović**, naučni savetnik,
Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad
4. **dr Radovan Sabovljević**, vanredni profesor,
Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Beogradu

Datum odbrane: _____

Veliku zahvalnost upućujem mentoru doktorske disertacije prof dr Gordani Šurlan Momirović na pomoći, podršci, korektnom pristupu i korisnim savetima tokom izrade i pisanja rada. Zahvaljujem članovima komisije za odbranu doktorske disertacije dr Zorici Pajić, dr Slavenu Prodanoviću i dr Radovanu Sabovljeviću na pomoći i sugestijama tokom izrade i pisanja rada.

Posebno zahvaljujem članu komisije dr Miletu Ivanoviću na nesebičnoj pomoći oko planiranja eksperimenta, a posebno statističke obrade podataka.

Zahvaljujem svim kolegama iz Instituta za kukuruz koji su podrškom i savetima pomogli u realizaciji ove disertacije, a pre svega članovima grupe za soju, bez kojih ne bi mogao da bude urađen eksperimentalni deo rada.

Zahvaljujem dr Dragana Kovačeviću na trudu i vremenu koje je odvojio za analize gel elektroforeze korištene u ovom radu.

Zahvaljujem mojoj porodici i prijateljima na podršci i strpljenju.

OPLEMENJIVANJE SOJE UKRŠTANJEM U PUNOM SRODSTVU U CILJU POVEĆANJA PRINOSA ZRNA

SAŽETAK

Ukrštanjem Kunitz x Kador formirana je segregirajuća populacija. Kunitz predstavlja genotip bez Kunitz tripsin inhibitora u zrnu, koja nije prilagođena našim uslovima gajenja a Kador sortu standardnog hemijskog sastava zrna, adaptiranu na naše uslove. Posle testiranja prinosa zrna odabранe su tri F₃ linije. Obavljene su tri kombinacije ukrštanja odabralih linija, u kojima je svaka po jednom korišćena kao majka a po jednom kao otac. Potomstva odabralih linija i njihovih sestrinskih ukrštanja su testirana zajedno sa početnim roditeljima u tri odvojena poljska eksperimenta, postavljena na dve lokacije u trajanju od dve godine. Dobijeni podaci obrađeni su trofaktorijskom analizom varijanse prema planu podeljenih potparcela, da bi mogli da budu izračunati ostali genetičko-statistički pokazatelji. Kod potomstava obuhvaćenih istraživanjem su konstatovane signifikantne i visoko signifikantne razlike za proučavane osobine. Srednje vrednosti potomstava majki se nisu značajno razlikovale od odgovarajućih srednjih vrednosti potomstava ukrštanja u punom srodstvu. Kod svih testiranih potomstava su identifikovana prisutnost od boljeg roditelja. Prema izračunatim koeficijentima varijacije varijabilnost proučavanih osobina se nije povećala kod potomstava ukrštanja u punom srodstvu. Vrednosti za heritabilnost u širem smislu su se promenile posle obavljenog ukrštanja u punom srodstvu kod svih osobina obuhvaćenih istraživanjem. Preko koeficijenata proste korelacije i koeficijenata korelacije ranga, nije utvrđena pouzdana povezanost proučavanih osobina između potomstava sestrinskih ukrštanja i potomstava njihovih majki, sa izuzetkom visine stabla. Genetička dobit je uglavnom bila veća kod potomstava majki u odnosu na odgovarajuća ukrštanja u punom srodstvu. Posle ukrštanja u punom srodstvu je identifikovano više superiornih potomstava (u odnosu na adaptiranog roditelja) kako standardnog kvaliteta zrna tako i bez Kunitz tripsin inhibitora u zrelog zrnu.

Ključne reči: soja, ukrštanja u punom srodstvu, Kunitz tripsin inhibitor

Naučna oblast: BIOTEHNIČKE NAUKE

Uža naučna oblast: RATARSTVO I POVRTARSTVO

UDK broj: 633.34:631.627.5 (043.3)

SOYBEAN BREEDING BY FULL SIB CROSSING IN ORDER TO YIELD INCREASING

SUMMARY

A segregating population was made from cross combination Kunitz x Kador. Kunitz is a genotype without Kunitz trypsin inhibitor in row grain, not adapted to our growing conditions while Kador is a cultivar common grain structure adapted to growing conditions in our country. After yield testing, three F₃ lines were chosen for full sib crossing. Three cross combinations were made using those lines, once as a mother and once as a father each of them. Progenies of chosen lines, as well as progenies of their full sib crosses and initial parents were tested in three separated field experiments. The data were processed by the three factors split plot design analysis of variance, and after that other biometric parameters were calculated. In all progenies, investigated traits showed significant and high significant differences. There were no significant differences between mean values of investigated traits in mothers and full sib progenies. Progenies better yielding than adapted parent were identified. According to calculated coefficient of variation, trait variability of investigated traits did not increase within full sib progenies. Values of broad sense heritability of investigated characters changed after full sib crossing. Coefficients of simple correlations and rank correlations do not indicate significant correlation between characters of mother lines and adequate full sibs. Calculated genetic gain values of mother's progenies were mostly higher than belonging full sibs. More superior progenies were identified within full sibs in addition to mother's progenies, standard grain quality and Kunitz free, compared with adapted parent.

Key words: soybean, full sib crossing, Kunitz trypsin inhibitor

Scientific field: BIOTECHNICAL SCIENCIES

Special topic: FIELD AND VEGETABLE CROPS

UDK number: 633.34:631.627.5 (043.3)

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. CILJ ISTRAŽIVANJA.....	6
3. PREGLED LITERATURE.....	7
4. RADNA HIPOTEZA.....	15
5. MATERIJAL I METOD RADA.....	16
5.1.1. Ogledni materijal	16
5.1.2. Postavka ogleda.....	19
5.1.3. Statistička obrada podataka.....	20
5.1.4. Gel elektroforeza.....	30
6. REZULTATI I DISKUSIJA.....	32
6.1. Srednje vrednosti.....	34
6.2. Analiza varijanse	44
6.2.1. Analiza varijanse za sva potomstva soje i inicijalne roditelje.....	44
6.2.2. Analiza varijanse za potomstva linija soje majki i odgovarajućih sestrinskih ukrštanja.....	50
6.3. Komponente varijanse, koeficijenti varijacije i heritabilnost u širem smislu.....	55
6.3.1. Komponente varijanse.....	56
6.3.2. Koeficijenti varijacije i heritabilnost u širem smislu.....	58
6.4. Koeficijenti korelacija proučavanih osobina soje između potomstava majki i odgovarajućih ukrštanja u punom srodstvu	62
6.5. Genetička dobit od selekcije.....	65
6.6. Gel elektroforeza	68
7. ZAKLJUČAK.....	73
8. LITERATURA.....	75

1. UVOD

Soja se gaji više od 4000 godina. Narodima dalekog istoka bila je glavni izvor proteina u ishrani. Vekovima je soja, kao gajena biljna vrsta bila poznata samo na prostorima dalekog istoka. Tek u XVIII veku soja je dospela u botaničke bašte Evrope i Amerike. Značajnije gajenje soje kreće na početku XX veka. Zbog nedovoljnog poznavanja agrotehnike i načina upotrebe tada se gajila samo u nekoliko zemalja. Danas su površine pod sojom u SAD oko 28 miliona hektara, u Brazilu oko 20 miliona hektara i u Argentini oko 15 miliona hektara, što predstavlja i najveći areal gajenja. U Evropi se soja gaji na preko 2 miliona hektara. Rusija i Ukrajina su vodeće države u Evropi po površini na kojoj se gaji soja, uz najniže prinose, oko 1 t/ha. Najviše prosečne prinose u Evropi od preko 3 t/ha ima Italija. Slede Rumunija, Srbija, Hrvatska i Francuska sa takođe značajnim površinama i prinosima. Površine pod sojom u Srbiji su niz godina u porastu, poslednjih godina se kreću preko 200 000 hektara, sa prosečnim prinosom zrna preko 2 t/ha, (Miladinović i Hrustić 2008).

Primarni gen centar porekla soje, kao biljne vrste, je severoistočna Kina gde se veoma dugo zadržala pre nego što je počela da se širi preko centralne i južne Kine do Korejskog poluostrva. U Japanu je počela da se gaji između 200 g. p. n. e. i III veka n. e. Od početka nove ere do XVI veka soja je introdukovana u Indoneziju, Filipine, Vijetnam, Tajland, Maleziju, Burmu, Nepal i severnu Indiju, koji se smatraju sekundarnim gen centrom porekla, (Hymowitz, 1988.). U svetu postoji preko 160 institucija u oko 70 zemalja sa više od 170 000 genotipova soje, prema podacima IPGRI iz 2001. Najveća kolekcija sa 26 000 genotipova nalazi se u Kini. Ostale velike kolekcije nalaze se u SAD (16 000), Tajvanu (14 000), Ukrajini (7000), Rusiji (6000), Koreji (3600), Australiji (3100), Indiji (2500). U Brazilu se nalazi najveća južnoamerička kolekcija soje sa 4000 genotipova. Najveće evropske kolekcije su u Nemačkoj sa 3000 i Francuskoj sa 1600 genotipova, (Vratarić i Sudarić, 2008).

Zrno soje, kao i drugih leguminoza, osim korisnih sastojaka sadrži i kompleks antihraljivih supstaci (Mikić i sar.2009). Najviše ispitivane nepoželjne materije u zrnu soje su: tripsin inhibitori, hemaglutinin, saponin, goitrogeni faktori, alergeni, flatulenske supstance, lipoksidaza, ureaza. Supstace sa glavnim inhibitornim dejstvom su tripsin inhibitori (Bekrić i sar. 1983). Brojni autori smatraju da su glavni antinutritivni faktori

tripsin inhibitori i lektin (Becker-Ritt et al. 2004, Gu et al. 2010, Grant 1989). Ovi sastojci treba da budu u odgovarajućem stepenu eliminisani pre upotrebe u ishrani domaćih životinja a posebno ljudi. Zbog toga se zrno soje pre upotrebe prerađuje nekim od postupaka koji uključuje termičku obradu.

Gajene sorte soje pripadaju vrsti *Glycine max* (2n=40), prema prihvaćenoj **botaničkoj klasifikaciji** po Melchioru (1964) i Gazzoni (1964), kako navode Vratarić i Sudaruć (2008):

Podcarstvo: *Cormobionta*

Odeljak: *Spermatopyta*

Pododeljak: *Angiospermae*

Razred: *Dicotyledonae*

Podrazred: *Archichlamydae*

Red: *Rosales*

Podred: *Leguminosinae*

Porodica: *Leguminosae*

Podporodica: *Papilionaceae, Fabaceae*

Pleme: *Phaseoleae*

Podpleme: *Phaseolinae, Glycininae*

Rod: *Glycine* L.

Podrod: *Glycine* podrod *Soja*

Vrsta: *Glycine max* (L.) Merrill

Soja je samooplodna biljka, sa najviše 2,5% strane oplodnje koju obavljaju insekti u izuzetno povoljnim uslovima vlage i temperature (Ahrent i Cvinness, 1994). Sorte praktično predstavljaju čiste linije ili ređe smešu sličnih linija. Heterozis i imbirding depresija postoje, kao i kod drugih gajenih biljaka, ali nemaju praktični značaj (Burton i Browne, 2006).

Postoji nekoliko podela faza razvića soje, ali je najšire prihvaćena podela po Fehru i Cavinessu iz 1977. Osnovno pravilo podele je odvojeno tretiranje vegetativnog i reproduktivnog stadijuma razvića, s obzirom na to da reproduktivne faze počinju i odvijaju se dok vegetativne faze još nisu završene. Prve mahune se formiraju oko 14

dana posle pojave prvih cvetova. Za oko tri nedelje mahune i zrna dostižu svoju veličinu. Seme je fiziološki zrelo posle 65-75 dana od oplodnje i sadrži oko 55% vlage. Soja je biljna vrsta sa izraženom fotoperiodskom reakcijom, mada postoje i fotoperiodski neutralne sorte. Po pravilu, kasnije grupe zrenja imaju izraženiju fotoperiodsku reakciju. Prema dužini vegetacije sorte soje su svrstane u 13 grupa zrenja. Grupe zrenja se označavaju sa 000, 00, 0, I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX i X, po Hartwigu iz 1973, prema Miladinović i Đorđević (2008).

Seme soje je različite veličine oblika i boje, što zavisi od genotipa a veličina i od načina gajenja. Masa 1000 zrna varira od 20 do 500 grama (od divljih do povrtarskih sorti), kod komercijalnih sorti se kreće od 150 do 200 grama. Oblik zrna varira od okruglog do spljoštenog. Zrno soje čini embrion obavijen semenskom opnom. Embrion se sastoji od dva kotiledona, plumule sa dva primarna listića koji zatvaraju primordijum prvog lista, epikotila, hipokotila i korenka. Semenska opna, omotač, testa, je troslojna i čvrsto omotava embrion, klicu sa kotiledonima. Na mestu gde je zrno imalo kontakt sa mahunom, nalazi se hilum, pupak, kroz koji izlazi korenak. Soja pri klijanju iznosi kotiledone. Seme soje je sposobno za klijanje i nicanje kad dostigne jednu trećinu od punog nalivanja.

Koren soje je vretenast sa velikim brojem bočnih korenova. Dubina korena može biti do 180 cm ali se glavna masa nalazi do 30 cm. Koren soje raste dok raste i nadzemni deo biljke. Na korenju soje se u prisustvu odgovarajućih bakterija (*Bradyrhizobium japonicum*) formiraju krvžice u kojima se, kao i kod drugih leguminoza uspostavlja simbioza sa bakterijama azotofiksatorima.

Prema tipu rasta stabla soje razlikuje se indeterminantan, determinantan i semideterminantan tip. Stablo indeterminantnog tipa ne prestaje da raste sa početkom cvetanja nego se cvetovi formiraju i otvaraju istovremeno sa rastom stabla na vrhu stabla se nalazi list. Kod determinantnog stabla cvetanje počinje kad je stablo dostiglo približnu visinu i kada su svi nodusi formirani, traje kraće nego kod indeterminantnog tipa rasta, a stablo se završava cvetnom grančicom. Po pravilu sorte determinantnog tipa rasta imaju manji broj nodusa na stablu i formiraju više bočnih grana, (Bernard, 1972). Za regoine gde se gaje ranije grupe zrenja (do III) povoljnije su sorte indeterminantnog tipa rasta, (Kilgore-Norquest and Sneller, 2000), što važi i za uslove gajenja u našoj zemlji. Sve naše komercijalne sorte imaju stablo indeterminantnog tipa rasta. U toku

rasta stabla cvetanje se odvija sukcesivno od nižih nodusa ka vrhu, ova faza traje duže nego kod genotipova determinantnog tipa rasta. Efekat ovakvog cvetanja je da je u slučaju pojave nepovoljnih perioda u toku cvetanja i formiranja mahuna ovakvim uslovima izložen samo deo cvetova i seta formiranih mahuna. Optimalna visina stabla za komercijalne sorte je od 80 do 120 cm, sa visinom formiranja prve mahune na 4 do 16 cm. Sorte determinantnog tipa rasta imaju izraženu otpornost prema poleganju u odnosu na indeterminabtne.

Kod soje postoje tri tipa lista: kotiledoni, primarni listovi koji su jednostavni i složeni listovi (kod komercijalnih sorata najčešće se sastoje iz tri liske, a može ih biti do sedam). Primarni listovi su naspramni a složeni su raspoređeni naizmenično. U osnovi svake grane i peteljke svakog cveta nalazi se po par zalisaka. List soje može biti različitog oblika, od ovalnog do kopljastog, širine 3-10 sm i dužine 4-20 cm.

Građa cveta soje je tipična za leguminoze. Sastoji se iz čašice, krunice, prašnika (9 sa sraslim filamentima i jedan odvojen) i tučka. Krunica može biti bele ili ljubičaste boje i sortna je osobina. Soja je samooplodna biljka kod koje se cvetovi oprasuju uglavnom pre otvaranja. Stranooplodnja se u našim uslovima keće do 1% i nema praktični značaj. Cvetovi su, kod sorti indeterminantnog tipa rasta, skupljeni u grozdaste cvasti sa najčešće 3-5 cvetova i nalaze se u pazuhu listova i bočnih grana. Plod soje je mahuna sa dva šava. Seme je povezano sa mahunom naizmenično na stranama adaksijalnog šava. Mahuna sadrži jedno do pet zrna, kod većine komercijalnih sorti prosečno 2-3 zrna. Boja zrelih mahuna je sortna karakteristika i može biti od svetlo slamno zute do gotovo crne. Stablo, listovi i mahune soje su pokriveni maljama (postoje i genotipovi bez malja) koje mogu biti sive ili smeđe boje, što kao i ostale morfološke osobine, predstavlja sortnu osobinu, (Miladinović i Hrustić, 2008).

Glavne komponente prinosa zrna soje su: visina biljke, broj plodnih etaža po biljci, broj mahuna po biljci, broj zrna po biljci, masa zrna po biljci, masa 1000 zrna, pri čemu broj mahuna, broj zrna i masa 1000 zrna imaju najveći uticaj (Šurlan-Momirović, 1987). Cilj programa oplemenjivanja gajenih biljnih vrsta, a takođe i soje, je stvaranje superiornih genotipova u odnosu na već postojeće sorte, pre svega po prinosu zrna a zatim po ostalim značajnim osobinama za specifične namene i uslove gajenja. Dužina vegetacije sorte mora biti odgovarajuća za region u kome se gaji. Poželjno je da sorta bude otporna na poleganje i pucanje mahuna u toku sazrevanja. U zavisnosti od namene

i druge osobine soje kao što su: hemijski sastav zrna, boja semenskog omotača i hiluma, kao i veličina zrna, takođe, mogu biti značajne. U postupku odabiranja treba eliminisati genotipove soje koji su osetljivi prema ekonomski značajnim patogenima i štetočinama (Johnson and Bernard, 1963). Oplemenjivači koriste veliki broj metoda koje mogu biti na različite načine modifikovane, ali početak svake metode oplemenjivanja je izbor roditelja. Ovaj korak je od izuzetnog značaja i može biti limitirajući faktor za ceo postupak. Kriterijumi za odabiranje roditelja zavise od cilja programa stvaranja novih sorti. Posle izbora roditelja obavlja se ukrštanje ili ukrštanja za formiranje segregirajućih populacija. Tek u ovoj fazi počinje primena odabrane metode selekcije, koja vodi ka dobijanju homozigotnog materijala-linija a kasnije, posle niza testiranja, sorti.

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj ove doktorske disertacije, kao i oplemenjivanja uopšte, je procena i identifikacija superiornih genotipova u segregirajućem materijalu i stvaranje novih sorti. Da bi sorte soje, standardnog kvaliteta zrna, mogle da budu priznate i gajene, njihov prinos zrna mora biti značajno viši, ili bar na nivou standardne sorte odgovarajuće grupe zrenja, ako se radi o genotipu sa nekom specifičnom osobinom. Deo programa selekcije soje u Institutu za kukuruz „Zemun Polje“ se odnosi na stvaranje sorti bez prisustva Kunitz-tripsin inhibitora u zreloj zrnui. Pri planiranju ovog eksperimenta za ovu doktorsku disertaciju odabrana je jedna od metoda rekurentne selekcije, ukrštanja u punom srodstvu - odnosno sestrinska ukrštanja. Cilj oplemenjivanja soje bio je povećanje prinosa zrna, bez obzira na njegov hemijski sastav, i izdvajanje perspektivnih linija bez prisustva Kunitz-tripsin inhibitora u zreloj zrnui. Testiranje prinosa zrna perspektivnih linija se obavljeno je pod istim uslovima bez obzira na prisustvo Kunitz-tripsin inhibitora. Ne očekuje se da će linije sa ili bez Kunitz-tripsin inhibitora biti favorizovane, s obzirom da njegovo prisustvo nije u korelaciji sa prinosom zrna. Očekuje se izdvajanje perspektivnih linija, prvenstveno bez Kunitz tripsin inhibitora, ali i standardnog hemijskog sastava zrna, od kojih će posle odgovarajućih testiranja najbolje biti prijavljene za priznavanje kod Komisije za priznavanje sorti. Utvrđuje se povezanost prinosu i komponenti prinosu zrna između potomstava tri odabранe sestrinske linije soje i potomstava njihovih ukrštanja. Informacije koje će se dobiti preko genetičko-statističkih parametara mogu da doprinesu unapređenju programa oplemenjivanja.

3. PREGLED LITERATURE

Prvi programi oplemenjivanja soje su počeli 1936. godine u USA sa introdukcijom soje iz Kine i Japana. Zbog velikog poleganja i osipanja, velike visine biljaka i niskih prinosa zrna, sve do 1940. godine soja je na američkom kontinentu gajena kao krmna biljka. Klasičnim metodama oplemenjivanja je za približno 60 godina rešen problem poleganja i osipanja, značajno poboljšan prinos (za 60%) i kvalitet zrna, kao i tolerantnost prema patogenima i insektima. Sa povećanjem prinosa došlo je do smanjenja sadržaja proteina i povećanja sadržaja ulja u zrnu, a sa skraćenjem dužine vegetacije i redukcije visine do smanjenja poleganja (Pathan i Sleper, 2008). Prve sorte soje odabrane iz segregirajućih populacija registrovane su u USA. Od 1970. godine u programima oplemenjivanja klasičnim metodama svega nekoliko genotipova predstavlja najviše korišćene roditelje, tako da koeficijent sličnosti, određen preko rodoslova, sorti koje su registrovane do 2008. godine iznosi čak 0,89, a korelacija između prinosa zrna i divergentnosti roditelja iznosi svega 0,29 (Mikel i sar. 2010).

Klasična (fenotipska) selekcija predstavlja odabiranje superiornih genotipova iz segregirajućih populacija. Početak selekcije je stvaranje varijabilnosti za željene osobine. Selekcija, od F2 do F6-7 generacije, najčešće traje 8 – 10 godina (generacija), i završava se realizacijom nove sorte. Klasične metode se uspešno koriste u savremenim oplemenijvačkim programima soje:

- Pedigre metod je do sredine šezdesetih godina dvadesetog veka pedigree metod bio preovlađujući u selekciji soje. Pedigre metod podrazumeva odabiranje pojedinačnih biljaka u svim segregirajućim generacijama posle ukrštanja, sve dok se ne postigne odgovarajući stepen homozigotnosti. Pedigre metod daje odabiranja i odbacivanja linija u svakoj generaciji, povećavanje frekvencije poželjnih potomstava u kasnijim generacijama sa većom uniformnošću.

- Metod potomstva jednog zrna u suštini predstavlja modifikovan pedigree metod. Zbog smanjenog obima materijala je pogodan metod kod korišćenja zimske generacije, na taj način mogu da se odgaje tri generacije godišnje i brže se postiže visok stepen homozigotnosti.

- Metod ranog testiranja je efikasan za selekciju na povećan prinos ali zahteva puno prostora za poljske oglede.

- Metod povratnog ukrštanja najčešće se koristi za unošenje gena koji determinšu neku od specifičnih osobina, tako što je jedan od roditelja donor, a drugi je rekurentni roditelj. Rekurentna selekcija je metod koji se vrlo uspešno koristi u oplemenjivanju stranooplodnih biljaka. Uglavnom se koristi u cilju poboljšanja kvantitativnih osobina a započinje stvaranjem početne populacije koju je moguće formirati sa različitim brojem roditelja. U sledećim ciklusima se obavljuju ukrštanja odabranih superiornih linija. Na ovaj način se uspešno akumuliraju poželjni geni u jednoj populaciji. Za stvaranje komercijalnih sorti u bilo kojoj fazi može da se pređe na odabiranje pojedinačnih biljaka kao i kod pedigree selekcije. (Wilcox, 1998a).

- Rekurentna selekcija je kod soje korišćena u cilju povećanja varijabilnosti početne populacije (Allipadrini i Vello, 2004) ili poboljšanja željene osobine: veličine zrna (Tinius i sar. 1991), povećanja sadržaja proteina u zrnu (Brim i Burton, 1997), povećanja ulja u zrnu (Burton i Brim, 1981, Feng i sar. 1991), poboljšanja kvaliteta sojinog ulja odnosno povećanja sadržaja oleinske kiseline u zrnu (Burton i sar. 1983), poduženje faze nalivanja zrna (Hanson, 1992) i povećanja prinosa zrna (Kenworthy i Brim, 1979). Zbog toga što se kod soje teško postiže dovoljan broj ukrštanja potrebnih za pojedine cikluse rekurentne selekcije, nove sorte soje se pretežno stvaraju iz potomstava ukrštanja dva roditelja. Od celokupnog američkog sortimenta oko 10% sorti je stvoreno primenom povratnog ukrštanja, od čega polovina posle jednog povratnog ukrštanja (Mikel i sar. 2010). Metode rekurentne selekcije pri stvaranju brojnih sorti u američkim programima oplemenjivanja primenjene su uz korisćenje muške sterilnosti, pri čemu se ukrštanja obavljaju uz pomoć insekata (Werner i Wilcox, 1990, Hongjun i Wilcox, 1992) i muški fertilnih genotipova, gde je neophodno ukrštanja obaviti ručno (Bernard i sar. 1988). Bez obzira što muški sterilne biljke ometaju ocenu prinosa zrna, preporučuje se formiranje početnih populacija sa muški sterilnim genotipovima i kasnije korišćenje muški sterilnih biljaka iz odabranih linija, za lakše obavljanje rekombinacija i postizanje dovoljnog broja ukrštanja u postupku rekurentne selekcije u cilju povećanja prinosa zrna soje (Burton i sar. 1990).

Rekurentna selekcija se primenjuje i kod dugih gajenih biljnih vrsta, mnogo šire je korišćena u programima oplemenjivanja stranooplodnih biljaka kao što je kukuruz, gde je to takođe način popravke različitih odobina, kao što je otpornost prema insektima (Badu-Apraku, 2010). Zajednička karakteristika svih metoda rekurentne selekcije je

odabiranje i rekombinovanje manjeg broja superiornih potomstava za naredni ciklus selekcije (Stojković i sar. 2008).

Povezanost različitih tipova potomstava može da se analizira primenom korelacije. Ivanović i sar. (1987) su pratili povezanost različitih tipova potomstava dve populacije kukuruza uske i široke genetske osnove. Veza između prinosa zrna različitih tipova potomstava utvrđena je preko koeficijenata proste korelacijske i koeficijenata korelacijske ranga.

Primenom odgovarajućeg metoda selektorneri pokušavaju da ostvare što veći genetički progres u nekoj populaciji. U praktičnoj selekciji je od velikog značaja procena očekivane genetičke dobiti od selekcije kao pokazatelja uspešnosti primjenjenog selekcionog metoda i vrednosti ispitivane populacije. Veličina genetičke dobiti od selekcije zavisi od postojeće varijabilnosti populacije, visine heritabilnosti ispitivanih osobina, intenziteta selekcije i broja generacija potrebnih za jedan ciklus rekurentne selekcije (Eberhart, 1980). Genetičko unapređenje sorti soje sastoji se u unapređenju genetičke osnove morfoloških i fizioloških osobina, koja na direktni ili indirektni način doprinose povećanju kapaciteta rodnosti sorte. Genetička dobit od selekcije može da se koristi za upoređivanje vrednosti novih linija soje u odnosu na standardne sorte (Sudarić i sar. 2001). Genetička dobit se takođe primenjuje kod upoređivanja uspešnosti različitih metoda selekcije (Miladinović i sar. 2011) a takodje i upoređivanja različitih materijala u procesu selekcije (Stanković, 2002).

Osim klasičnih, i u kombinaciji sa klasičnim metodama, savremeni programi implementiranja podrazumevaju i primenu biotehnoloških metoda, pre svega primenu genskih markera u implementovanju soje. Prvi korišćeni markeri bili su morfološki markeri, lako uočljive morfološke osobine biljke, koje se lako prate kroz niz generacija, i služe za opis i identifikaciju materijala u gen bankama i karakterizaciju pri priznavanju novostvorenih sorti. Sa razvojem molekularne biologije omogućena je i primena molekularnih markera u genetici i implementovanju biljaka. Molekularni markeri se mogu podeliti u dve grupe: proteinski markeri, koji služe za identifikaciju produkata gena – specifičnih proteina i DNK markeri - RFLP, RAPD, DAF, SSR, AFLP, SNP. (Vratarić i Sudarić, 2008). Proteinski markeri se koriste za identifikaciju prisustva specifičnih proteina u zrnu soje (Chung, 2011), mogu zajedno sa morfološkim markerima da budu

pokazatelj sličnosti i diverziteta između genotipova (Salimi, 2013) što je od značaja pri izboru početnog materijala za proces selekcije.

Prinos je od velikog značaja za sve gajene biljne vrste, pa je i prinos zrna kod soje od velikog značaja. Prinos i komponente prinosa zrna soje su kvantitativne osobine a njihova ekspresija je pod velikim uticajem uslova spoljne sredine (Paul i sar. 2003). Smatra se da su broj mahuna, broj zrna i masa 1000 zrna najvažnije komponente prinosa zrna soje (Padney i Torrie, 1973) uključujući i broj mahuna i broj zrna po jedinici površine (De Burin i Pedersen, 2009). Prinos zrna po biljci i broj zrna po biljci predstavljaju efikasan kriterijum za selekciju soje na povećan prinos zrna (Sudarić i sar 2002).

Soja se gaji i zbog izuzetno kvalitetnog sastava zrna i njegove upotrebljivosti. Vrednost soje proizilazi iz sastava i kvaliteta njenog zrna. Zrno soje se koristi za ishranu ljudi i životinja a takođe za industrijsku preradu za razne namene. Najveće količine proizvedenog zrna soje u svetu se koriste za ishranu domaćih životinja. Kako svetska populacija broji preko šest milijardi ljudi, a procenjuje se da će za 25 godina biti preko devet milijardi, soja već danas predstavlja i značajnu komponentu u ishrani ljudi. Zbog kvaliteta belančevina soja može biti zamena za meso, više nego bilo koja druga gajena biljka. Poslednjih deset godina se razvija industrijska prerada zrna soje za ljudsku ishranu. Preradom zrna soje dobija se ulje i razni proizvodi sa 38-95% proteina koji se koriste u ishrani domaćih životinja (sačme, pogače, griz), za ishranu ljudi, (brašno, teksturirani belančevinasti koncentrati), kao sirovina u prehrambenoj, hemijskoj i farmaceutskoj industriji, (Vratarić i Sudaruć, 2008).

Prerada soje počinje tek u dvadesetom veku. Sa početkom industrijske prerade počinje i intenzivniji rad na proučavanju hemijskog sastava zrna soje. Zrno soje sadrži 35-50% proteina, 18-24% ulja, u zavisnosti od genotipa i uslova gajenja. Komercijalne sorte sarže oko 40% proteina, 20-22% ulja, 34% ugljenih hidrata i oko 5% minerala (N, P, S, Ca, Fe, Mg, Na, a takođe i vitamine A, B kompleks, D, e i K). Proteini soje su bogati esencijalnim aminokiselinama, posebno lizinom i metiononom. Belančevine soje su slične belančevinama animalnog porekla, što im daje visoku biološku vrednost. Zastupljene aminokiseline su: lizin (6-7%), histidin (3%), arginin (12-13%), treonin (4-5%), metiononin, fenilalanin (5%), triptofan (2%), serin (5-6%), valin (4-5%), metionin (1%), cistin (1%), izoleucin (5%) i druge. U sojinom ulju se nalaze masne kiseline:

palmitinska (11%), stearinska (4%), oleinska (23%), linoleinska (7-8%), palmitooleinska, miristinska i behininska po 0,1% i arahidonska (0,3%). Danas je soja vodeća uljana i proteinska gajena biljka. Soja u svetskoj proizvodnji ulja učestvuje sa 56% (Wilson, 2008).

Proteinski izolati i koncentrati dobijeni iz zrna soje su komercijalizovani još 1959. godine. Kvalitet sojinih proteina sa aspekta nutritivne i tehnološke vrednosti zavisi ne samo od sastava već i strukture proteinskih kompleksa (Tezuka i sar. 2000, Riblett i sar. 2001).

Osim korisnih proteina zrno soje, kao i drugih leguminoza, sadrži i jedinjenja proteinske prirode koja spadaju u antihranljivi kompleksi. Veoma bitni sastojci škodljivih supstanci u zrnu soje su tripsin inhibitori. Izolovana su dva tripsin inhibitora (Kunitz i Bowman-Birk tripsin inhibitor), koji blokiraju proteolitičke fermente tripsin i himotripsin i ometaju normalnu razgradnju molekula korisnih proteina u sistemu za varenje monogastričnih organizama. Ukupan sadržaj oba tripsin inhibitora u zrelom zrnu soje čini oko 6% ukupnih proteina (Laskowski i Kato 1980, prema Kim i sar, 2010).

Molekul Bowman-Birk tripsin inhibitora se sastoji od jednostukog polipeptidnog lanca koji sadrži 71 aminokiselinski ostatak, sa sedam disulfidnih veza, koje doprinose njegovoj termostabilnosti. Kunitz tripsin inhibitor se sastoji od polipeptidnog laca formiranog od 181 amino kiseline sa dve disulfidne veze, mase 20 kD, više nego dvostuko veće u odnosu na drugi tripsin inhibitor (Wolf, 1977, Song i sar. 1993). Tripsin inhibitori u zrnu soje imaju različito dejstvo u organizmu nepreživara: Kunitz tripsin inhibitor mnogo jače deluje na blokiranje tripsina a manje himotripsina, dok Bowman-Birk tripsin inhibitor podjednako ometa funkcionisanje oba proteolitička enzima (DiPietro i Liener 1989). Proučena je i sekundarna i tercijerna struktura Kunitz tripsin inhibitora. Samo oko 12 od ukupnog broja amino kiselinskih ostataka se vezuje za proteolitičke enzime, formirajući stabilan kompleks dve globularne strukture veličine oko 35 Å. (Wolf, 1977). Kunitz tripsin inhibitor je izolovan iz zrna soje u obliku kristalizovane supstance 1945 i dobio naziv po istraživaču koji je prvi obavio postupak kristalizacije. Identifikovan je kao protein globulinskog tipa, rastvorljiv u razblaženom kiselom, alkalnom ili slanom rastvoru (Kunitz, 1945).

Prisustvo Kunitz tripsin inhibitora u zreloem zrnu soje (*Glycine max*) je determinisano kodominantnim alelima multiplog alelnog sistema (u jednom lokusu). Postoji tri gena odgovorna za sintezu Kuniz tripsin inhibitora i od njihovog prisustva zavisi koji će tip Kunitz tripsin inhibitora biti prisutan. Označeni su kao Ti^a , Ti^b , i Ti^c (sa Rf vrednostima 0.79, 0.75 i 0.83), međusobno su kodominantni i dominantni u odnosu na četvrti gen označen kao ti . Odsustvo Kunitz tripsin inhibitora je ekspresija homozigotne recesivne konstitucije (Orf i Hymowitz 1979).

Kunitz tripsin inhibitor spada u proteine semena soje i predstavlja, kao i drugi proteini, specifični produkt gena. Različiti aleli determinišu različitu strukturu aminokiselina i veličine molekula. Ove razlike se lako detektuju korišćenjem gel elektroforeze, kojom se identificuje prisustvo ili odsustvo proteinske trake na odgovarajućem mestu na elektroforegramu (Sudarić i sar. 2011). Elektroforegram predstavlja proizvod elektroforeze. Elektroforeza je stara ali moćna metoda koja se primenjuje u raznim oblastima. Elektroforeza je elektrokinetička pojava koja podrazumeva kretanje nanelektrisanih čestica pod uticajem homogenog električnog polja kroz rastvor slabog elektrolita. Prilikom ovog procesa ne dolazi do hemijskih promena, tako da je davno otkriveno da to pogodna metoda za razdvajanje i identifikaciju proteina. Za ovaj postupak je Anre Tisellius dobio Nobelovu nagradu 1948 godine. Za različite primene razvijeni su različiti postupci elektroforeze a gel elektroforeza je jedan od njih (Trenkovski i sar. 2006). Identifikacija prisustva i sadržaja Kunitz tripsin inhibitora može da se obavlja u bilo kojoj fazi postupka selekcije, koristi se zrno pojedinačnih biljaka ili kao smeša – grupni uzorak, ako se radi o perspektivnim linijama u kasnijim generacijama samooplodnje ili kontroli kod gotovih sorti. Postupak može da obavlja na dva načina. Gel elektroforeza je kvalitativna metoda, pri čemu je dovoljan deo kotiledona sa pojedinačnog zrna koji se uzima sa suprotne strane u odnosu na hilium tako da zrno može da se koristi za setvu (Kollipara i sar. 1991). Kvantitativna metoda je utvrđivanje ukupnog sadržaja tripsin inhibitora (Hamerstand i sar., 1981), pri čemu uzorci bez Kunitz tripsin inhibitora pokazuju približno dvostruko niže vrednosti ukupnog sadržaja tripsin inhibitora (mg/g) u odnosu na one koji ga sadrže.

Kunitz-tripsin inhibitor se smatra supstancom sa najjačim inhibirajućim delovanjem u zreloem zrnu soje (Liener 1994). Blokiranjem funkcije proteolitičkih fermenta pouzrokuje hiperfunkciju a kasnije i hipertrofiju pankreasa monogastričnih

organizama. Ovakve promene se odvijaju u probavnom sistemu domaćih životinja nepreživara kao što su svinje i živina. Vidljive posledice su zaostajanje u rastu i razviću, što je izraženije kod mlađih organizama. Eliminacija Kunitz tripsin inhibitora omogućava upotrebu sirovog zrna soje u ishrani odraslih životinja nepreživara. Da bi sirovo zrno soje moglo da se koristi u ishrani mlađih domaćih životinja nepreživara potrebno je da, osim Kunitz tripsin inhibitora, bude oslobođeno i lektina (Palacos 2004). Kunitz tripsin inhibitor ima svoju funkciju u zrnu soje. Prema prvim istraživanjima smatra se da učestvuje u regulisanju transporta rezervnih proteina, inhibiciji endogenih proteaza u semenu i inhibira digestivne enzime insekata i biljojeda (Wilson, 1981). Njegovo glavno dejstvo je zaštita od insekata. Gen za Kunitz tripsin inhibitor je izolovan i unet u genom duvana (Nandi i sar. 1999), pirinča i pamuka (Yue-Feng i sar. 1998), bele deteline (Mc Manus i sar. 2005) i drugih biljnih vrsta u cilju postizanja rezistentnosti na insekte koji se hrane listom. Nema objavljenih podataka o posebnoj osetljivosti na insekte zrna soje bez Kunitz tripsin inhibitora. Pored svega toga Hymowitz (1986) tvrdi da Kunitz tripsin inhibitor nema agronomski značaj u soji. Utvrđena je značajna interakcija genotip x spoljna sredina (lokacija i đubrenje) za ukupnu aktivnost tripsin inhibitora u zrnu soje, koja je specifična kako za genotipove standardnog kvaliteta zrna, tako i za one bez Kunitz tripsin inhibitora u zrelem zrnu (Kumar i sar. 2003, Vollmann i sar. 2003).

Inaktivacija tripsin inhibitora u brašnu soje se u postupcima industrijske prerade obavlja dvofazno. To se uglavnom objašnjava razlikom u termostabilnosti Kunitz tripsin inhibitora i Bowman-Birk inhibitora. Sve do osamdesetih godina smatralo se da je Bowman-Birk inhibitor termostabilniji (Birk 1961, Rackis 1966, Obara i Watanabe 1971). Kasnije su objavljeni rezultati koji pokazuju da je termostabilnost oba tripsin inhibitora približna (DiPietro i Liener 1989). Van den Hout i sar. (1998) su došli do zaključka da se oba tripsin inhibitora istovremeno inaktiviraju u toku prve faze termičke obrade i da se pri tome Bowman-Birk inhibitor potpuno inaktivira, bez obzira što se u ranijim istraživanjima brojni autori slažu da je termostabilniji. U drugoj fazi se inaktivira ostatak aktivnosti Kunitz tripsin inhibitora, koja se zadržava zahvaljujući postojanju disulfidnih veza. Ovo ide u prilog ekonomičnijoj preradi zrna soje bez Kunitz tripsin inhibitora, koja bi mogla da se obavlja jednofazno uz manji utrošak vremena i energije. Bez obzira što je tremička obrada sirovog zrna soje i dalje

najefikasniji način inaktiviranja tripsin inhibitora konstatovano je da se u gotovim proizvodima zadržava 10-20% od njegove početne aktivnosti (Carvalho i sar. 1998). Prekomerno zagrevanje, naročito ako temperatura nije kontrolisama, smanjuje hranljivu vrednost proizvoda od zrna soje. Ovom prilikom se, osim tripsin inhibitora, denaturišu i korisni proteini razaranjem esencijelnih amino kiselina kao što su cistein, metionin i lizin što dovodi do pogoršanja funkcionalnih osobina proteina soje. Da bi se izbegla termička obrada razvijaju se i metode hemijske inaktivacije tripsin inhibitora (Sessa i Nelsen, 1991). Friedman (1991) i saradnici su proučavali kvalitet sojinog brašna dobijenog od zrna standardne sorte Williams 82 i izolinije ove sorte L 81-4590 bez Kunitz tripsin inhibitora u ishrani domaćih životinja nepreživara (sisara i živine). Sirovo brašno izolinije bez Kunitz tripsin inhibitora je bilo superiorno u odnosu na brašno standardne sortu. Takođe su utvrdili da se pri standardnoj industrijskoj preradi zrna soje, koja uključuje i tremičku obradu, u krajnjem proizvodu se zadržava 5-20% od početne tripsin inhibitorne aktivnosti. Brašno soje bez Kunitz tripsin inhibitora je posle duplo kraće termičke obrade u odnosu na brašno standardnog sastava moglo da se koristi za ishranu eksperimentalnih životinja bez posledica (hipertrofije pankreasa). Isti autori su konstatovali da je izolinija bez Kunitz tripsin inhibitora sačuvala normalnu distribuciju amino kiselina u zrnu, u odnosu na sortu koja ga sadrži. Moguće je potpuno eliminisati tripsin inhibitornu aktivnost, ali pri tome dolazi do smanjenja hranljive vrednosti drugih proteina. Pri temperaturnim tretmanima dolazi do denaturacije tripsin inhibitora ali i do smanjenja rastvorljivosti korisnih proteina i nemogućnosti njihovog usvajanja u organizmu domaćih životinja (Jajić i sar. 2006). U eksperimentima na pacovima, dobijen je bolji kvalitet svarljivosti sojinog brašna dobijenog od zrna bez Kunitz tripsin inhibitora u odnosu na zrno standardnog hemijskog sastava. Sastav amino kiselina u proteiniskom kompleksu u zreлом zrnu soje ne pokazuje veliku razliku u odnosu na zrno standardnih genotipova. Prema rezultatima koje su objavili Monteiro i sar. (2004) pri determinaciji sastava amino kiselina, konstatovan je smanjen sadržaj lizina kod genotipova bez Kunitz tripsin inhibitora, a ne metionina, kao što se nalazi u ranijim literaturnim izvorima (Ho Kim i sar. 1985). Ukupan sadržaj proteina u zrnu sorti bez Kunitz tripsin inhibitora u odnosu na sorte standardnog kvaliteta zrna je približan (Srebrić i sar. 2010). Prisustvo i odustvo Kunitz tripsin inhibitora ne utiče na prinos zrna soje (Žilić i sar. 1998).

4. RADNA HIPOTEZA

Sortiment soje koji se gaji u svetu i najčešće koristi kao početni materijal u programima oplemenjivanja ima usku genetičku osnovu u odnosu na druge gajene biljne vrste. Soja je samooplodna biljna vrsta, tako da heterozis i ako postoji, nije od posebnog značaja u procesu odabiranja i stvaranja novih sorti.

U ovoj doktorskoj disertaciji se pošlo od prepostavke da će se primenom metode ukrštanja u punom srodsву smanjiti varijabilnost ali i da će se povećati frekvencije poželjnih alela, za prinos zrna, a samim tim i izdvojiti superiorni genotipovi u potomstvu. Naša ranija istraživanja su pokazala da prisustvo Kunitz-tripsin inhibitora nije u korelaciji sa prinosom zrna. Ne očekuje se da selekcija u punom srodstvu, u cilju povećanja prinosa zrna, eliminiše genotipove bez Kunitz-tripsin inhibitora u zrelom zrnu u segregirajućim generacijama. Očekuje se izdvajanje superiornih genotipova u potomstvu dobijenom iz ukrštanaja u punom srodstvu, standardnog kvaliteta zrna i bez Kunitz tripsin inhibitora u zrelom zrnu.

5. MATERIJAL I METOD RADA

5.1. Ogledni materijal

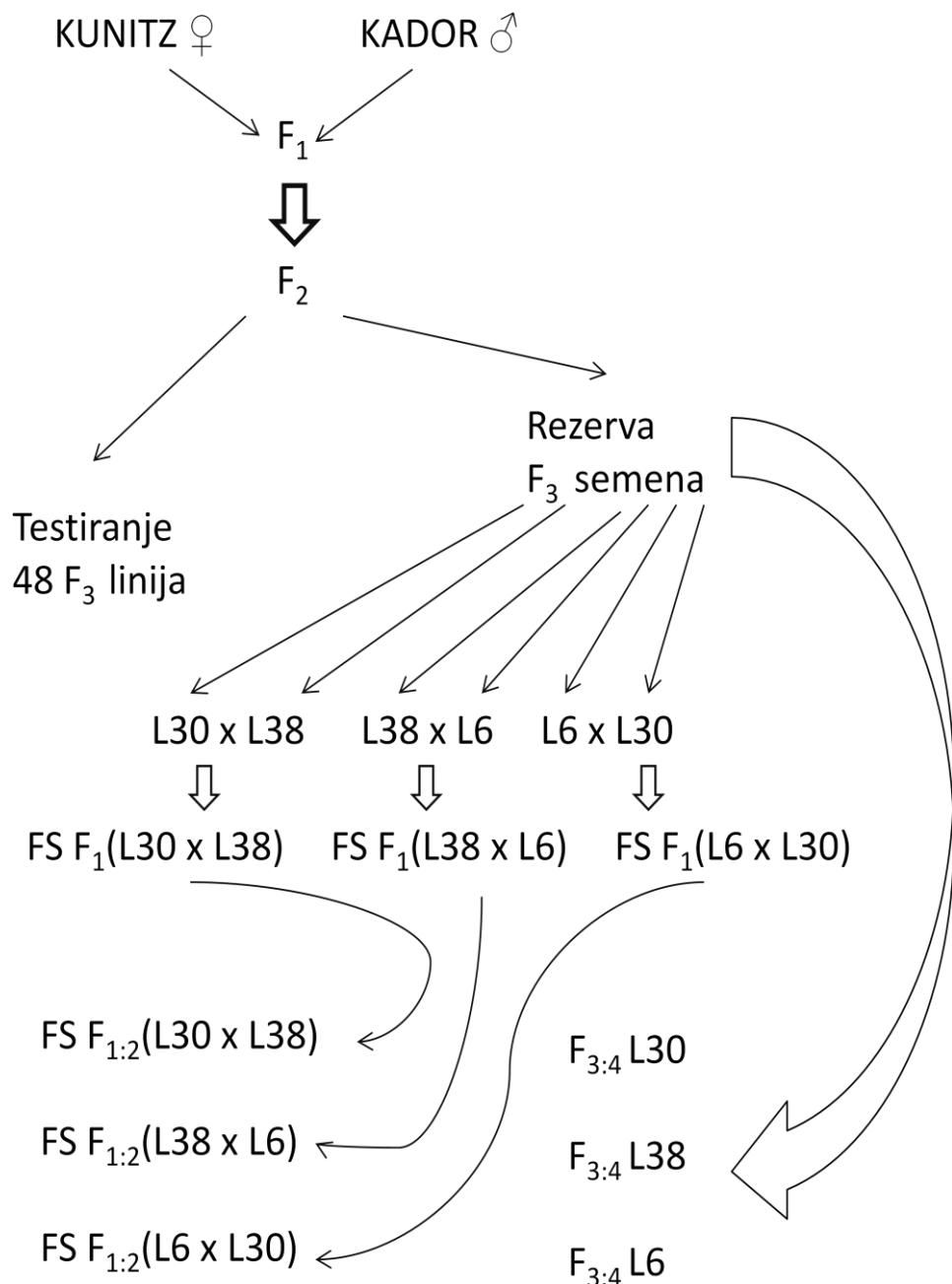
Program stvaranja novih sorti počinje formiranjem segregirajućeg materijala za odabiranje u narednim generacijama. Prvi korak svakog selekcionog programa soje je ukrštanje odabralih roditelja. Izbor roditelja je od presudnog značaja za uspeh programa oplemenjivanja. Kriterijumi za odabiranje roditelja zavise od cilja selekcije. Kad god je moguće odabiraju se roditelji sa što manje nepoželjnih osobina.

Materijal korišćen u ovom radu je formiran ukrštanjem dve sorte, kao inicijalnih roditelja, u cilju stvaranja visokoprinosnih linija. U ovoj kombinaciji ukrštanja majka je bila američka sorta Kunitz, izolinija sorte Williams 82, prva registrovana sorta soje bez Kunitz-tripsin inhibitora u zreloj zrnu (Bernard et al. 1991). Sorta pripada III grupi zrenja, što ne odgovara uslovima gajenja u našoj zemlji, posebno u regionima sa nižom godišnjom sumom aktivnih temperatura. Otac je bila sorta Kador, standardnog kvaliteta zrna, selekcionisana u francuskoj semenskoj kompaniji Semundo, II grupe zrenja, koja se u prethodnim testiranjima u našim uslovima pokazala kao visokoprinosna. Oba roditelja pripadaju sortama indeterminantnog tipa rasta stabla, koje su pogodnije za naše uslove gajenja. Tip rasta stabla je sortna osobina koja doprinosi reakciji prinosa zrna u specifičnim uslovima gajenja (Bernard 1972, Quattara and Weaver, 1994). Sorte determinanatnog tipa rasta stabla imaju prednosti pri ranoj setvi u uslovima navodnjavanja u povoljnim uslovima u južnim regionima gajenja (Kilgore-Norquest et al. 2000), kojima naša zemlja ne pripada.

Oplođenje se kod soje obavlja pre otvaranja cveta, pri čemu je tučak spreman za oplodnju pre otvaranja prašnika. Oba roditelja u ovoj kombinaciji su muški fertili genotipovi. Zbog toga je ukrštanje obavljeno ručno, uz uklanjanje neotvorenih prašnika iz cvetova sorte koja je korišćena kao majka. Uspešnost ukrštanja ne zavisi samo od spretnosti osobe koja obavlja postupak, već u velikom stepenu od spoljnih uslova, prvenstveno temperature, vlage zemljišta i vlažnosti vazduha. Zbog dimenzija i specifičnosti grade cveta ukrštanje soje je delikatan posao koji zahteva preciznost i strpljenje. U godini ukrštanja ne postoji način da se sa sigurnošću tvrdi da je uspešno

obavljeno, tako da je kontrola uspešnosti ukrštanja, koja je obavezni sastavni deo postupka obavljen na potencijalnim F_1 biljkama.

Potomstva odabralih linija soje i nihovih ukrštanja koja su testirana u ovom radu formirana su na sledeći način:



Svaki korak u formiranju potomstava ukrštanja u punom srodstvu koja su testirana u ovom radu predstavlja jednu generaciju. Za svaku generaciju bila je potrebna jedna godina, što znači da je za pripremu materijala za postavljanje poljskog eksperimenta, uključujući i testiranje odabralih F_3 linija, bilo potrebno 7 godina.

Utvrđeno je da niz osobina soje koje zavise od malog broja gena mogu biti potencijalni markeri za kontrolu obavljenih ukrštanja (Johnson and Bernard 1963). Kao marker se obično koristi neka od lako uočljivih morfoloških osobina, najčešće boja cveta, boja malja, boja hiluma i sl. Kao majka se koristi genotip sa recesivnom, a kao otac genotip sa istom osobinom u dominantnoj formi. U ovom slučaju to je bila boja cveta: majka je bila sorta Kunitz sa belim, a otac sorta Kador sa ljubičastim cvetom. Posejano je svo seme iz mahuna koje su se razvile iz cvetova na kojima je obavljeno ukrštanje. Iz ovog semena su odgajene potencijalne F_1 biljke. U fazi cvetanja obavljena je kontrola uspešnosti ukrštanja. Eliminsane su sve biljke sa belim cvetom-recesivnom osobinom, što je pouzdan pokazatelj da ukrštanje nije uspelo. Biljke sa ljubičastim cvetom su odgajene za dobijanje semena od kog je formirana segregirajuća F_2 populacija.

Iz F_2 populacije su izdvojene sve individualne biljke koje po dužini vegetacije nisu prevazilazle ranijeg roditelja (sortu Kador). Odabrano je 48 individualnih F_2 biljaka, sa dovoljnom količinom semena za dalji postupak, bez obzira na prisustvo Kunitz-tripsin inhibitora. Ukupna količina semena svake pojedinačne F_2 biljke je podeljena na dva dela. Prvi deo je upotrebljen za postavljanje ogleda za testiranje prinosa zrna u koje su bile uključene i roditeljske sorte, a drugi deo je ostavljen kao rezerva. Postavljen je jednogodišnji ogled po RCB dizajnu na dve lokacije (Zemun Polje i Indija), u dva ponavljanja sa elementarnom parcelom $1,5m^2$ (dva reda 3m dužine). Za određivanje prinosa zrna po biljci uzeti su uzorci od po 30 kompetentnih biljaka po ponavljanju. Odabранe su tri linije sa najboljim rangom prinosa zrna po biljci, koje su bile označene kao L6 (rang 2), L30 (rang 3) i L38 (rang 1).

Odabранe linije su bile roditelji ukrštanja u punom srodstvu. U tri kombinacije ukrštanja svaka linija je po jednom učestvovala kao majka i po jednom kao otac: L30 x L38, L38 x L6 i L6 x L30. Ukrštanja su obavljena na F_3 biljkama poreklom iz rezerve semena. Kao markeri za identifikaciju uspešno obavljenog ukrštanja korišćene su dve osobine: boja cveta i boja malja. L30 i L38 su imale ljubičaste i bele cvetove i sive i

žute malje, a L6 bele cvetove i žute malje. Polen za komponentu oca je uziman sa slučajno odabranih biljaka iz odgovarajuće linije, uzimajući u obzir da osobine koje su korišćene kao marker budu u fenotipski dominantnoj formi (biljke sa ljubičastim cvetom i/ili žutim maljama) kod L30 i L38. Ukrštanja su obavljena na biljkama iz linije majke sa obe osobine u recesivnoj formi (beli cvetovi i/ili sive malje) kod linija L30 i L38. Majčinske biljke je bilo lako identifikovati posle sazrevanja, na njima su obavljena ukrštanja a mahune sa potencijalno hibridnim semenom su bile obeležene. Posle uzimanja obeleženih mahuna koje su se formirale posle obavljenih ukrštanja, samooplodeno seme sa svih majčinskih biljaka je sačuvano dok se ne utvrdi uspešnost ukrštanja. Odgajene su biljke poreklom iz sestrinskih ukrštanja (FS) i eliminisane sve individue kod kojih nije došlo do ekspresije dominantne osobine komponente oca. Biljke kod kojih su uspešno obavljena sestrinska ukrštanja (FSF_1) su odgajene do sazrevanja. U kombinaciji L30 x L38 bilo je 20 FSF_1 biljaka; u kombinaciji L38 x L6 bilo je 10 FSF_1 biljaka i u kombinaciji L6 x L30 15 FSF_1 biljaka. U narednoj sezoni je umnoženo njihovo seme i sačuvano samooplodeno seme sa majčinskih biljaka. Na taj način je obezbedjena dovoljna količina semena za poljski eksperiment i postignut isti stepen homozigotnosti od 87,5 % kod potomstava majki ($F_{3:4}$) i potomstava sestrinskih ukrštanja ($FSF_{1:2}$). Prema Falconer-u (1960), pri ukrštanju sestrinskih linija u sledećoj generaciji ne menja se stepen homozigotnosti, tako je raspored homozigotnosti po generacijama da po generacijama sledeći:

generacija	Stepen homozigotnosti
F_1 ,	0%
F_2 ,	50%
F_3, FSF_1	75%
F_4, FSF_2	87.5%

5.2. Postavka ogleda

Poljski eksperiment je postavljen po potpuno slučajnom blok (RCB) dizajnu, sa tri ponavljanja, na dve već pomenute lokacije u trajanju od dve godine (2006 i 2007). Elementarna parcela se sastojala iz dva reda pet metara dužine sa međurednim rastojanjem od 0,5 m i rastojanjem biljaka u redu oko 4 cm što daje gustinu useva od

približno 400.000 biljaka ha⁻¹. Postavljena su tri ogleda, za svaku kombinaciju posebno. U svaki ogled su bila uključena potomstva majki, potomska sestrinska ukrštanja i inicijalni roditelji - sorte Kunitz i Kador.

U svakom ogledu meren je prinos zrna po biljci testiranih genotipova. Osim samog prinosa zrna praćene su i sledeće komponente prinosa: visina glavnog stabla, visina najniže formirane mahune, broj nodusa na glavnom stablu, broj mahuna po biljci, broj zrna po biljci i masa 1000 zrna. Sva merenja su obavljena na po 40 biljaka iz punog sklopa po ponavljanju, što ukupno čini 46080 individualnih biljaka.

5.3. Statistička obrada podataka

Dobijeni podaci su, za svaki ogled posebno i za svaki tip potomstva, obrađeni analizom varijanse trofoaktorijskog ogleda sa podeljenim potparcelama prema Hadživukoviću (1991), koji se koristi kod ogleda sa tri faktora. Ovakva analiza je omogućila da se razdvoje efekti spoljne sredine od efekta genotipa i da se efekti spoljne sredine rastave na uticaj godine i uticaj lokacije. Obrada podataka je obavljena u MSTAT programu Experiment model 13 (MSTAT Development Team, 1989), koji podrazumeva potpuno slučajan blok (RCB) dizajn za faktor A - sa faktorom B i faktorom C kao split plot sa tri pogreške. Za razliku od ostalih planova, plan podeljenih parcela daje ocenu proučavanih tretmana sa različitom preciznošću. Svaki faktor ima svoju pogrešku. Najveću grešku ima prvi faktor (podela). Pri svakoj sledećoj podeli u obračunu se dobija veći broj jedinica dok se pogreška smanjuje. Ovo daje mogućnost da se faktor od najvećeg značaja postavi na poslednju deobu i time obezbedi najveću preciznost. Značajne razlike tretmana na poslednjoj podeli (faktor C) mogu biti relativno male zbog male pogreške. Za brojnija potomstava majki i njihovih ukrštanja sa sestrinskom linijom (kombinacije L30 x L38 i L6 x L30) izračunati su najčešće korišćeni genetičko-statistički pokazatelji: komponente varijanse, koeficijenti varijacije i heritabilnosti u širem smislu.

Izračunate i korelacije između potomstava majki i potomstava sestrinskih ukrštanja za sve proučavane osobine, kao genetička dobit za obe kategorije potomstava.

Navedeni genetičko-biometrijski pokazatelji korišćeni u ovom radu, izračunati su prema odgovarajućoj proceduri:

Srednja vrednost: je izračunata kao prosek (aritmetička sredina) od četrdeset biljaka po ponavljanju za prinos zrna po biljci, visinu stabla, visinu najniže mahune, broj nodusa, broj mahuna i broj zrna. Srednja vrednost za masu 1000 zrna predstavlja prosek od četiri uzorka sa svake elementarne parcele.

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

Osnova primjenjenog modela **analize varijanse** prema Hadživukoviću (1991) čiji se opšti model može prikazati na sledeći način:

$$X_{ijkl} = \mu + p_i + \alpha_j + \varepsilon_{ij} + \beta_k + (\alpha\beta)_{jk} + \delta_{ijk} + \gamma_l + (\alpha\gamma)_{jl} + (\beta\gamma)_{kl} + (\alpha\beta\gamma)_{jkl} + \xi_{ijkl}$$

Gde su:

p_i - uticaj bloka (ponavljanja)

$\alpha_j, \beta_k, \gamma_l$ - dejstva tretmana

$(\alpha\beta)_{jk}, (\alpha\gamma)_{jl}, (\beta\gamma)_{kl}, (\alpha\beta\gamma)_{jkl}$ - uticaji interakcija

Ovaj model analize varijanse sastoji se iz tri dela.

Korektivni faktor je jedan i izračunava se na sledeći način:

$$C = \frac{(\sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^a \sum_{k=1}^b \sum_{l=1}^c X_{ijkl})^2}{rabc}$$

Sume kvadrata za prvi deo analize varijanse se izračunavaju na sledeći način:

Suma kvadrata blokova (ponavljanja):

$$SS_R = \frac{\sum_{i=1}^r R_i^2}{abc} - C$$

Suma kvadrata totala glavnih parcela G (blokovi-ponavljanja i faktor A):

$$SS_G = \frac{\sum_{k=1}^b \sum_{l=1}^c G_{kl}^2}{bc}$$

Suma kvadrata efekta A:

$$SS_A = \frac{\sum_{i=1}^a A_i^2}{bc} - C$$

Suma kvadrata pogreške (a):

$$SS_{P(a)} = SS_G + SS_R + SS_A$$

Sume kvadrata za drugi deo analize varijanse se izračunava prema sledećim jednačinama:

Suma kvadrata totala potparcela P (faktor B i interakcija AB) :

$$SS_{GP} = \frac{\sum_{i=1}^r \sum_{l=1}^c GP_{il}^2}{rc} - C$$

Suma kvadrata efekta B:

$$SS_B = \frac{\sum_{k=1}^b B_k^2}{rac} - C$$

Suma kvadrata interakcije AB+SS_A+SS_B:

$$SS_{(AB)} = \frac{\sum_{j=1}^a \sum_{k=1}^b (AB)_{jk}^2}{c} - C$$

Suma kvadrata interakcije AB:

$$SS_{AB} = SS_{GP} - SS_A - SS_B$$

Suma kvadrata pogreške (b):

$$SS_{P(b)} = SS_{(AB)} - SS_G - SS_B - SS_{AB}$$

Sume kvadrata za treći deo analize varijanse koji se odnosi na faktor za koji je potrebna najveća preciznost i njegove iterakcije izračunavaju se primenom sledećeg postupka:

Suma kvadrata efekta C:

$$SS_C = \frac{\sum_{l=1}^c C_l^2}{rab} - C$$

Suma kvadrata interakcije AC+SS_A+SS_C:

$$SS_{(AC)} = \frac{\sum_{j=1}^a \sum_{l=1}^c (AC)_{jl}^2}{rb} - C$$

Suma kvadrata interakcije AC:

$$SS_{AC} = SS_{AC} - SS_A - SS_B$$

Suma kvadrata interakcije BC+SS_B+SS_C:

$$SS_{(BC)} = \frac{\sum_{k=1}^b \sum_{l=1}^c (BC)_{kl}^2}{ra} - C$$

Suma kvadrata intreakcije BC:

$$SS_{AC} = SS_{(AC)} - SS_A - SS_C$$

Suma kvadrata interakcije ABC+SS_{AB}+SS_{AC}+SS_{BC}+SS_A+SS_B+SS_C:

$$SS_{(ABC)} = \frac{\sum_{j=1}^a \sum_{b=1}^k \sum_{l=1}^c (ABC)_{jkl}^2}{r} - C$$

Suma kvadrata interakcije ABC:

$$SS_{ABC} = SS_{ABC} - SS_{AB} - SS_{AC} - SS_{BC} - SS_A - SS_B - SS_C$$

Suma kvadrata totala:

$$SS_T = \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^a \sum_{k=1}^b \sum_{l=1}^c X_{ijkl}^2 - C$$

Suma kvadrata pogreške (c):

$$SS_{P(c)} = SS_T - SS_{(AB)} - SS_C - SS_{AC} - SS_{BC} - SS_{ABC}$$

Očekivane sredine kvadrata za opšti slučaj primjenjenog modela analize varijanse, po Hadživukoviću (1991) prikazane su u tabeli 1.

Tabela 1. Šema analize varijanse

Izvori variranja	Stepeni slobode df	Očekivana MS
Glavne parcele		
Blokovi (Ponavljanja)	(r-1)	$\sigma_c^2 + b\sigma_b^2 + a\sigma_a^2 + \frac{abc}{r-1} \sum_{i=1}^r p_i^2$
A	(a-1)	$\sigma_c^2 + b\sigma_b^2 + a\sigma_a^2 + \frac{rbc}{a-1} \sum_{j=1}^a \alpha_j^2$
Pogreška (a)	(r-1)(a-1)	$\sigma_c^2 + b\sigma_b^2 + a\sigma_a^2$
Potparcele		
B	(b-1)	$\sigma_c^2 + b\sigma_b^2 + \frac{rac}{b-1} \sum_{k=1}^b \beta_k^2$
AB	(a-1)(b-1)	$\sigma_c^2 + b\sigma_b^2 + \frac{rc}{(a-1)(b-1)} \sum_{j=1}^a \sum_{k=1}^b (\alpha\beta)_{jk}^2$
Pogreška (b)	a(r-1)(b-1)	$\sigma_c^2 + b\sigma_b^2$
Podeljene parcele		
C	(c-1)	$\sigma_c^2 + \frac{rab}{c-1} \sum_{l=1}^c \gamma_l^2$
AC	(a-1)(c-1)	$\sigma_c^2 + \frac{rb}{(a-1)(c-1)} \sum_{j=1}^a \sum_{l=1}^c (\alpha\gamma)_{jl}^2$
BC	(b-1)(c-1)	$\sigma_c^2 + \frac{ra}{(a-1)(a-1)} \sum_{k=1}^b \sum_{l=1}^c (\beta\gamma)_{kl}^2$
ABC	(a-1)(b-1)(c-1)	$\sigma_c^2 + \frac{r}{(a-1)(b-1)(c-1)} \sum_{j=1}^a \sum_{k=1}^b \sum_{l=1}^c (\alpha\beta\gamma)_{jkl}^2$
Pogreška (c)	ab(r-1)(c-1)	σ_c^2

Komponente varijanse su izračunate iz trećeg dela analize varijanse. Da bi to bilo moguće, primenjeno je proširenje ovog modela analize varijanse, koje je razradio Nyquist, 1991. U tabeli 2 su očekivane sredine kvadrata trećeg dela primjenjenog modela analize varijanse, gde je: faktor A godina (y), faktot B lokacija (l) i faktor C genotip (g).

Tabela 2. Očekivane sredine kvadrata iz trećeg dela analize varijanse (Nyquist, 1991)

Izvori variranja	df	MS	Očekivana MS
C (g) (genotip)	(g-1)	MS _g	$\sigma_e^2 + r\sigma_{gyl}^2 + lr\sigma_{gy}^2 + ry\sigma_{gl}^2 + ryl\sigma_g^2$
AC (y/g) godina/genotip	(y-1)(g-1)	MS _{gy}	$\sigma_e^2 + r\sigma_{gyl}^2 + lr\sigma_{gy}^2$
BC (l/g) lokacija/genotip	(l-1)(g-1)	MS _{gl}	$\sigma_e^2 + r\sigma_{gyl}^2 + yr\sigma_{gl}^2$
ABC (y/l/g) godina/lokacija/genotip	(y-1)(l-1)(g-1)	MS _{gyl}	$\sigma_e^2 + r\sigma_{gyl}^2$
Pogreška (e)	yl(r-1)(g-1)	MS _e	σ_e^2

Za brojnija potomstva ukrštanja u punom srodstvu izračunate su genetičke i fenotipske varijanse, heritabilnost u širem smislu i genetički i fenotipski koeficijenti varijacije prinos zrna po biljci i ostalih sedam izabranih osobina koje utiču na prinos kao i genetska dobit od selekcije. Kao brojnija potomstava izabrana su potomstva sestrinskih linija soje korišćenih kao majke i njihovih ukrštanja u punom srodstvu iz dve kombinacije i to L30 x L38 (sa po 20 potomstava majki i njihovih sestrinskih ukrštanja) i L6 x L30 (sa po 15 potomstava majki i odgovarajućih ukrštanja u punom srodstvu).

Genetička varijansa je izračunata na sledeći način:

$$\sigma_g^2 = \frac{MS_g - MS_{gy} - MS_{gl} + MS_{gyl}}{ryl}$$

gde je:

MS_g - sredina kvadrata genotipa iz analize varijanse

MS_{gy} - sredina kvadrata interakcije genotip/godina iz analize varijanse

MS_{gl} - sredina kvadrata interakcije genotip/lokacija iz analize varijanse

MS_{gyl} - sredina kvadrata interakcije genotip/godina/lokacija iz analize varijanse

r – broj ponavljanja

y – broj godina

l – broj lokacija

Varijanse interakcije su izračunate prema postupku:

$$\sigma_{gyl}^2 = \frac{MS_{gyl} - MS_e}{r}$$

$$\sigma_{gy}^2 = \frac{MS_{gy} - MS_{gyl}}{rl}$$

$$\sigma_{gl}^2 = \frac{MS_{gl} - MS_{gyl}}{ry}$$

gde je:

MS_e - sredina kvadrata greške

Sredina kvadrata greške predstavlja varijansu greške:

$$\sigma_e^2 = MS_e$$

Fenotipska varijansa zavisi od genetičke varijanse i iterakcije genotipa sa drugim faktorima:

$$\sigma_{ph}^2 = \sigma_g^2 + \frac{\sigma_{gy}^2}{y} + \frac{\sigma_{gl}^2}{l} + \frac{\sigma_{gyl}^2}{yl} + \frac{\sigma_e^2}{ryl}$$

gde je:

σ_g^2 - genetička varijansa

Za sve dobijene negativne vrednosti komponenti varijanse uzeta je vrednost 0 za izračunavanje drugih biometričkih pokazatelja (Hanson i sar. 1956, prema Borojević, 1981).

Koeficijenti genetičke (g) i fenotipske (ph) varijacije - izražavaju se u %

$$CV_g = \frac{\sqrt{\sigma_g^2}}{\bar{x}} \cdot 100 ; \quad CV_{ph} = \frac{\sqrt{\sigma_{ph}^2}}{\bar{x}} \cdot 100$$

Standardna greška genetičke varijanse je izračunata prema Lothorp i sar. 1985:

$$SE_{\sigma_g^2} = \sqrt{\frac{2}{(ryl)^2} \left[\frac{MS_g^2}{df + 2} \right]}$$

gde df predstavlja stepen slobode MS_g

Heritabilnost u širem smislu, za proučavane osobine soje, dobijena je iz odnosa genetičke i fenotipske varijanse (Dudley i Moll, 1969).

$$h^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_{ph}^2}$$

Izračunate vrednosti za heritabilnost u širem smislu mogu se smatrati pouzdanim ako su bar dvostruko veće od standardne greške heritabilnosti (Hanson, 1989).

$$SE_{h^2} = \frac{SE_{\sigma_g^2}}{\sigma_{ph}^2}$$

Koeficijenti linearne (proste) korelacije (r) između potomstava majki i odgovarajućih potomstava sestrinskih ukrštanja proučavanih osobina izračunati su po formuli (Hadživuković, 1991):

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n (p_i - \bar{p})(f_i - \bar{f})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (p_i - \bar{p})^2} \sqrt{\sum_{i=1}^n (f_i - \bar{f})^2}}$$

U ovom slučaju p predstavlja potomstva majki a f potomstva sestrinskih ukrštanja, n je broj jedinica u seriji.

Standardna greška koeficijenta korelacije:

$$S_r = \frac{\sqrt{1 - r^2}}{\sqrt{n - 2}}$$

Značajnost koeficijenata proste korelacijske određuje se primenom t testa za $df = n-2$:

$$t = \frac{r}{S_r}$$

Koeficijenti proste korelacijske pokazuju kvantitativno slaganje između dve promenljive, njihova vrednost se kreće od -1 do +1, u zavisnosti od stepena povezanosti i od toga da li sa porastom jedne promenljive raste i druga ili je njihova veza u obrnutoj srazmeri (što daje negativnu korelaciju).

Koeficijenti korelacijske ranga po Spirmanu (r_s), izračunati su na sledeći način:

$$r_s = 1 - \frac{6 \sum_{i=1}^n di^2}{n(n^2 - 1)}$$

Gde di predstavlja razliku ranga, u ovom slučaju između ranga proučavane osobine kod potomstava majki i ranga proučavane osobine kod potomstava odgovarajućih sestrinskih ukrštanja, a n broj jedinica u seriji. Kao i kod koeficijenata korelacijskih koeficijenata, dobijaju iz numeričkih podataka, i za koeficijent ranga važi pavilo da je kod potpunog slaganja, identičnog redosleda (ranga) $r_s = 1$, a kod potpunog neslaganja, obrnutog redosleda $r_s = -1$.

Određivanje značajnosti koeficijenata korelacijske ranga obavljeno je upoređivanjem sa tabelom koeficijenata korelacijske ranga za pragove značajnosti koja se preporučuje za $n > 8$ (Hadživuković 1991, Snedecor 1959).

Po definiciji **genetička dobit** od selekcije predstavlja iznos povećanja osobine koji je ostvaren kroz selekcioni program. Za svaku osobinu, u okviru kombinacija brojnijih potomstava, sa izračunata je genetička dobit od selekcije. Korišćena je procedura po Allard-u, 1960, uzet je pretpostavljeni intenzitet selekcije 10% ($k = 1,76$), kako preporučuju Vratarić i sar. (2010) i Miladinović i sar. (2011).

$$G_s = k \times \sigma_{ph} \times h^2$$

gde je:

k - koeficijent za prepostavljeni intenzitet selekcije

σ_{ph} - fenotipska standardna devijacija (kvadratni koren iz fenotipske varijanse)

h^2 – heritabilnost u širem smislu

Genetička dobit za različite osobine je upoređena preko **relativne genetičke dobiti** od selekcije (R) koja je izražena u procentima od prosečne vrednosti, i izračunata na sledeći način za pojedinačne osobine:

$$R = \frac{G_s}{\bar{x}}$$

gde je:

\bar{x} – prosečna vrednost za određenu osobinu

5.4. Gel elektroforeza

Elektroforeza predstavlja kretanje nanelektrisanih molekula u rastvoru u kome je obezbeđeno električno polje. U zavisnosti od nanelektrisanja, veličine, oblika i molekulske težine molekuli se kreću različitom brzinom i zauzimaju različitu poziciju na gelu.

Postupkom gel elektroforeze, na osnovu prisustva ili odsustva trake na elektroforegramu, identifikovana su potomstva biljaka koje su korišćene kao majke i potomstva njihovih sestinskih ukrštanja sa i bez Kunitz-tripsin inhibitora u zrnu. Za identifikaciju prisustva Kunitz tripsin inhibitora u zrnu testiranih potomstava majki i njihovih sestrinskih ukrštanja korišćena je rezerva semena sa majčinskih F_3 i sestrinskih ukrštanja FSF_1 biljaka čuvana u hladnoj komori. Mlevenje zrna soje je obavljeno na kataskaptu. Imajući u vidu stepen homozigotnosti, samleveno je po 10 zrna od svake biljke od kojih je napravljen grupni uzorak. Na isti način je pripremljeno i zrno sorti Kunitz i Kador kao početnih roditelja. Ekstakcija je obavljena po proceduri Hymowitz i Hadley (1972) koja je odabrana zbog specifičnog jasnog izdvajanja trake na mestu gde se nalazi Kunitz tripsin inhibitor. Od svakog uzorka je uzeto po 100 mg brašna i pomešano sa 1,5 ml ekstakcionog pufera (0,092 M TrisHCl pH 8,1; 13,3% saharoze; 0,023 M $CaCl_2$; 1mM PMSF). Proteini su ekstahovani na sobnoj temperaturi uz

povremeno mućkanje, tokom 20-30 minuta. Smeša je centrifugirana 5 minuta u Ependorf mikrocentrifugi. Za elektroforezu je uzeto po $10\mu\text{l}$ od gornjeg, bistrog sloja. Proteinska elektroforeza je vršena na nedenaturišućem (nativnom) poliakrilamidnom gelu koji se sastojao od 10% gela za razdvajanje i 5% za fokusiranje uzorka. Gel za razdvajanje je sadržao 0,375 M TrisHCl pH 8,8 a gel za fokusiranje 0,25 M TrisHCl pH 6,8 pufer. Gornji i donji rezervoari miniproteana (Mini Protean II, Bio-Rad) su punjeni sa 25mM TrisHCl, 192 mM glicin puferom za elektrofoezu. Elektroforeza na oko 120 V je trajala dok bromfenol plavi marker nije stigao do kraja gela za razdvajanje. Posle završene elektroforeze, gelovi su držani 1 sat u rastvoru za fiksiranje (30% etanola, 10% sirčetne kiseline). Bojenje gelova je trajalo oko 1 sat u rastvoru sa bojom comassie blue. Posle završenog bojenja gelovi su ispirani u istom rastvoru kao za fiksiranje do postizanja zadovoljavajuće vidljivosti proteinskih traka. Gelovi su fotografisani, spakovani u hermetički zatvorene polivinilske kesice i stavljeni na čuvanje na +4°C.

6. REZULTATI I DISKUSIJA

Ukrštanja odabranih sestrinskih linija su obavljena sa različitom uspešnošću. Ove razlike se mogu objasniti različitom veličinom cveta kod pojedinačnih F_3 biljaka, a takođe i specifičnostima tehnike pripreme cveta majke prikazanoj na slici 1. Brojnost uspešno ostvarenih potomstava je uticala na mogućnost izračunavanja planiranih selekcionih parametara.



Slika 1. Cvet majke pripremljen za ukrštanje

Prvo testiranje prinosa zrna po biljci odabranih linija iz ukrštanja sorti Kunitz i Kador poslužilo je samo za odabiranje tri najbolje linije.

Srednje vrednosti prinosa zrna po biljci F_3 linija, poreklom od odabranih F_2 biljaka, sa dve lokacije, prikazane su u tabeli 3. Za formiranje poljskog eksperimenta upotrebljen je deo semena sa 48 najprinosnijih F_2 biljaka. U tabeli su označene signifikantne razlike prinosa (+, ++, -, --) testiranih linija i manje prinosnog roditelja u odnosu na sortu Kador.

Sve odabrane linije, testirane u ovom eksperimentu su pokazale bar minimalnu prednost prinosa zrna u odnosu na sortu Kunitz (bez Kunitz tripsin inhibitora u zrelom zrnu), kao roditelja sa nižim prinosom. Linije označene kao L38 (sa rangom prinosa 1), L30 (po prinosu na mestu 2) i L6 (treća po rangu) su odabrane za sledeći ciklus ukrštanja. Sve tri odabrane F_3 linije su pokazale vrlo značajno viši prinos u odnosu na prinosnijeg roditelja, adaptiranu sortu Kador.

Tabela 3. Srednje vrednosti za prinos zrna po biljci (g) F₃ linija soje i roditeljskih sorti

Genotip	Prinos	Rang	Genotip	Prinos	Rang
L1	15,27	6	L26	13,13	27
L2	12,25	38	L27	13,37	23
L3	11,57	41	L28	15,30	5
L4	13,92	12	L29	13,07	29
L5	12,57	36	L30	16,76++	3
L6	16,81++	2	L31	14,02	11
L7	13,58	19	L32	10,26--	45
L8	13,50	20	L33	15,74+	4
L9	13,44	21	L34	12,74	32
L10	14,20	10	L35	11,93	39
L11	11,38	42	L36	8,99--	47
L12	13,61	17	L37	8,71--	49
L13	11,84	40	L38	17,68++	1
L14	13,76	14	L39	10,68-	44
L15	12,37	37	L40	13,19	25
L16	8,98--	48	L41	14,40	8
L17	13,71	15	L42	14,32	9
L18	15,25	7	L43	13,67	16
L19	12,72	33	L44	12,64	35
L20	9,94--	46	L45	13,01	30
L21	13,31	24	L46	13,07	28
L22	12,66	34	L47	13,16	26
L23	12,86	31	L48	11,24-	43
L24	13,58	18	Kunitz	8,07--	50
L25	13,89	13	Kador	13,37	22
Lsd _{0,05} = 2,007					
Lsd _{0,01} = 2,656					

Potomstva linija majki i potomstva njihovih sestrinskih ukrštanja su testirana posebno za svaku kombinaciju ukrštanja u punom srodstvu.

6.1. Srednje vrednosti

Srednje vrednosti proučavanih osobina poslužile su za izračunavanje biološko-statističkih pokazatelja prema odabranim metodama. Prikazane su prosečne vrednosti svih proučavanih osobina soje, za obe godine trajanja eksperimenta i obe lokacije.

Srednje vrednosti proučavanih osobina soje potomstava linija majki, potomstava iz kombinacije ukrštanja L30 x L38 i početnih roditelja

Iz ove kombinacije ukrštanja u punom srodsву, dobijeno je 20 uspešno ukrštenih FSF_1 biljaka. Odgajena su njihova potomstva ($FSF_{1:2}$) i potomstva njihovih majki ($F_{3:4}$). Iz podataka dobijenih merenjima na prosečnom uzorku od 40 biljaka iz svakog ponavljanja u poljskom eksperimentu, izračunate su srednje vrednosti za sva testirana potomstva i za inicijalne roditelje. U tabeli 4. su prikazane prosečne vrednosti svih proučavanih osobina $F_{3:4}$ linija majki i $FSF_{1:2}$ potomstava iz kombinacije ukrštanja L30 x L38 i početnih roditelja za formiranje ovih linija, sorti Kuniz i Kador. Početni roditelji su bili standardi za upoređivanje i izdvajanje genotipova prinosnijih od adaptiranog roditelja, sorte Kador. Linije koje su po prinosu zrna prevazišle sortu Kador, mogu se smatrati perspektivnim materijalom, treba da budu uključene u dalji proces odabiranja i testiranja.

Prinos zrna po biljci je kompleksna osobina, rezultanta proučavanih osobina biljke koje predstavljaju njegove komponente. Kod potomstava majki prinos se kretao od 10,91g do 14,12g a kod potomstava sestrinskih ukrštanja od 11,78g do 14,27g.

Prosečne vrednosti prinosa zrna po biljci za potomstva majki i potomstva sestrinskih ukrštanja (12,38g i 12,98g) se nisu značajno razlikovale. Sva potomstva-linije testirane u ovom eksperimentu pokazale su (što je i očekivano, s obzirom da potiču od odabranih najprinosnijih sestrinskih linija iz početne kombinacije ukrštanja), vrlo značajno viši prinos zrna po biljci u odnosu na manje prinosnog inicijalnog roditelja (sorta Kunitz).

U poređenju sa sortom Kador, adaptiranim na naše uslove, utvrđeno je da su 2 potomstva linija majki (označena sa 8 i 14) pokazala signifikantno viši prinos zrna po biljci, a 5 potomstava (11, 13, 16, 17 i 18) signifikantno niži. Potomstvo sestrinske kombinacije ukrštanja L30 x L38 označeno sa 24 je pokazalo visoko signifikantno viši

Tabela 4. Srednje vrednosti proučavanih osobina soje F_{3:4} linija majki i FSF_{1:2} potomstava iz kombinacije ukrštanja L30 x L38

Osobine								
Genotip	Prinos po biljci (g)	Visina (cm)	Vis. mah. (cm)	Broj nodusa	Broj grana	Broj mahuna	Broj zrna	Masa 1000 zrna (g)
Potomstvo majki	1	12,87	102,9	26,1	17,40	1,81	31,46	70,43
	2	12,46	113,4	26,2	18,33	2,04	31,80	72,48
	3	13,28	117,5	26,4	18,74	2,02	33,91	78,68
	4	12,00	106,3	24,0	17,11	1,58	29,89	67,02
	5	13,16	102,0	25,5	17,54	2,02	33,01	75,32
	6	12,96	105,0	21,8	17,72	1,35	34,22	79,81
	7	12,65	100,4	21,8	17,21	1,81	31,68	70,97
	8	14,12	115,1	23,6	18,45	1,33	33,09	75,53
	9	11,96	119,6	25,5	16,14	1,81	34,62	74,55
	10	12,27	108,3	23,1	18,62	1,35	30,72	69,62
	11	10,91	106,0	23,0	16,89	1,26	29,17	66,84
	12	12,21	113,4	24,4	17,25	1,63	32,63	71,68
	13	10,91	105,4	22,4	16,77	1,53	28,02	63,64
	14	14,03	108,6	21,9	18,01	2,05	35,15	77,06
	15	12,45	114,5	25,1	17,65	2,01	31,15	68,76
	16	11,43	103,4	24,4	17,92	1,59	31,58	68,02
	17	11,64	112,1	25,8	17,71	1,72	30,09	64,16
	18	11,44	102,3	23,6	16,90	1,50	29,30	64,80
	19	12,79	110,4	23,9	18,11	2,33	33,39	75,09
	20	12,02	106,3	23,4	16,33	1,80	31,33	68,49
		\bar{x}	12,38	108,65	24,09	17,55	1,73	31,81
								71,15
								172,79
Potomstvo FS ukrštanja	21	13,71	108,8	25,0	16,29	1,89	34,82	77,95
	22	12,77	115,1	26,3	17,21	2,12	33,15	74,97
	23	12,55	117,5	27,2	16,51	1,73	32,27	75,80
	24	14,27	108,6	22,9	17,50	1,94	37,75	85,21
	25	12,72	115,9	25,8	18,60	1,70	31,03	70,24
	26	12,87	116,7	24,6	17,42	1,66	33,94	77,41
	27	12,28	104,2	22,8	17,35	1,62	30,70	66,29
	28	12,95	114,0	26,9	17,41	1,64	33,38	73,43
	29	13,25	122,7	27,3	18,00	1,83	35,87	81,95
	30	12,95	119,8	25,5	18,34	1,58	31,98	72,31
	31	13,71	117,4	24,9	17,65	2,03	36,53	85,09
	32	13,38	108,1	22,9	19,70	1,50	35,81	80,10
	33	12,84	100,7	20,2	15,69	1,69	30,14	70,92
	34	13,21	113,4	24,0	17,42	1,63	34,15	75,19
	35	12,67	120,8	26,4	17,82	1,52	32,09	72,34
	36	12,78	108,2	24,8	17,19	1,80	33,81	73,79
	37	11,78	107,6	24,3	16,17	1,65	29,14	63,63
	38	13,21	110,1	22,0	18,98	1,61	33,59	76,17
	39	12,57	114,1	25,7	18,06	1,96	33,08	75,11
	40	13,08	96,2	23,0	16,82	1,76	31,55	70,26
		\bar{x}	12,98	111,99	24,61	17,51	1,74	33,25
								74,91
								172,16
Kunitz		9,12	105,5	26,4	15,67	1,40	23,58	51,32
Kador		12,71	110,6	24,3	16,74	1,22	34,27	78,82
Lsd _{0,05}		0,806	2,136	1,660	0,708	0,251	1,826	4,762
Lsd _{0,01}		1,068	2,813	2,186	0,932	0,330	2,087	6,265
								2,921

prinos, potomstva 21 i 31 signifikantno viši prinos zrna po biljci u odnosu na sortu Kador, a samo jedno potomstvo (linija 37) signifikantno niži.

Visina stabla se značajno i vrlo značajno razlikovala i unutar potomstava majčinske linije L38 (100,4 – 119,6cm) i potomstava ukrštanja sa sestrinskom linijom L30 (96,1 – 122,7cm). Razlika između prosečnih vrednosti za visinu glavnog stabla potomstava majki (108,65cm) i potomstava ukrštanja u punom srodstvu (111,99cm) je iznosila svega 3,34cm i bila visoko značajna. Ovakvom rezultatu je doprinela i mala vrednost najmanje značajne razlike, što je moguće kod načina statističke obrade podataka koja je primenjena. U odnosu na nižeg početnog roditelja, sortu Kunitz, većina testiranih potomstava je imala vrlo značajno više stablo i to 8 potomstava majki (2, 3, 8, 9, 12, 14, 15, 19) i 14 potomstava ukštanja u punom srodstvu (21, 22, 23, 24, 25, 26, 28, 29, 30, 31, 34, 35, 38, 39). Značajno više stablo, u odnosu na istog početnog roditelja, je izmereno kod 3 potomstva, (10, 32, 36). Značajno niže stablo u odnosu na sortu Kunitz, izmereno je kod potomstva sa oznakom 1, a vrlo značajno kod potomstava 5, 7, 18, 33 i 40. Ostala potomstva se po visini stabla nisu razlikovala od nižeg roditelja. U odnosu na početnog adaptiranog roditelja, sortu Kador, u kategoriji potomstava ukrštanja sestrinskih linija je uočeno 10 (22, 23, 25, 26, 28, 29, 30, 31, 34, 35) vrlo značajno viših i jedno značajno više (39), a kod potomstava iz linije majke svega 4 (3, 8, 9, 15) vrlo značajno i 3 (2, 12, 17) značajno viša. Vrlo značajno niža (1, 4, 5, 6, 7, 11, 13, 16, 18, 20) i značajno niža (2, 10), potomstva potiču pretežno od majki a u manjem broju (27, 33, 37, 40) vrlo značajno i 32, 36 značajno niža) od ukrštanja sestrinskih linija.

Visina najniže mahune se, za razliku od visine stabla, kod potomstava majki (24,09cm) i potomstava sestrinske kombinacije ukrštanja (24,61cm) u proseku nije značajno razlikovala, dok su u okviru oba potomstva utvrđene značajne i vrlo značajne razlike u rasponu od 21,8-26,4cm za potomstva majki i 20,1-27,3cm za sestrinska ukrštanja. Približno polovina potomstava u ogledu je imala najnižu mahunu na manjoj visini, a kod ostalih nije bilo značajnih razlika u odnosu na sortu Kunitz, koja ujedno predstavlja i genotip sa najvećom visinom najniže mahune, značajno različitom i od sorte Kador. Kod potomstava označenih sa 1, 2, 3, 29 i 35 izmerena je veća visina mahune u odnosu na Kador a 6, 7, 14, 24, 28, 33 i 38 manja.

Broj nodusa na glavnom stablu se uz značajne i vrlo značajne razlike kretao u približnim granicama za oba tipa potomstava, kod potomstava majki od 16,32 do 18,75

a kod potomstava sestrinskih ukrštanja od 16,17 do 19,70. Prosečne vrednosti su bile gotovo identične (17,55 i 17,51). Broj nodusa na glavnem stablu je bio najniži kod sorte Kunitz a testirana potomstva su imala uglavnom visoko signifikantno više nodusa, osim nekoliko izuzetaka (20, 21, 33, 37) sa brojem nodusa na nivou ovog početnog roditelja. U poređenju sa sortom Kador, približno polovina potomstava iz obe klase pokazuje statistički značajno i vrlo značajno viši broj nodusa po biljci, približno polovina se ne razlikuje. Potomstvo označeno brojem 33 je jedino sa vrlo značajno nižim brojem nodusa u odnosu na adaptiranog roditelja.

Amplituda variranja **broja grana po biljci** bila je veća u okviru potomstava majki (1,26-2,33) u odnosu na potomstva sestrinskih ukrštanja (1,50-2,12) a prosečne vrednosti za oba potomstva su bile gotovo identične (1,73 i 1,74). Inicijalni roditelji testiranih potomstava se ne razlikuju značajno po broju bočnih grana (1,40 i 1,22). Za razliku od poređenja sa sortom Kador, gde su osim nekoliko potomstava (6, 8, 10, 11) sva ostala sa signifikantno ili visoko signifikantno većim brojem grana, u odnosu na Kunitz gotovo polovina ne pokazuje značajnu razliku.

Broj mahuna po biljci je varirao od 28,02 do 35,15 kod potomstava majki i od 29,44 do 37,75 kod potomstava ukrštanja u punom srodstvu. Razlika između prosečnih vrednosti broja mahuna za potomstva majki i potomstva ukrštanja u punom srodstvu nije dostigla statistički značajnu vrednost (31,81 i 33,25). Sva potomstva su imala visoko signifikantno veći broj mahuna po biljci u odnosu na sortu Kunitz. U odnosu na sortu Kador, u okviru potomstava majki kod 12 linija (1, 2, 4, 7, 10, 11, 13, 15, 16, 17, 18, 20) je konstatovan značajno niži broj mahuna a kod 8 (3, 5, 6, 8, 9, 12, 14,19) broj mahuna na nivou boljeg početnog roditelja. Broj mahuna po biljci je kod potomstava sestrinske kombinacije ukrštanja pretežno bio na nivou sorte Kador (21, 22, 26, 28, 29, 32, 34, 36, 38, 39), uočena su i dva potomstva sa vrlo značajno većim brojem mahuna, označena kao 24 i 31. Ostala potomstva ukrštanja u punom srodstvu su bila sa značajno i vrlo značajno manjim brojem mahuna od sorte Kador.

Broj zrna po biljci se kretao, prema očekivanju, u saglasnosti sa brojem mahuna: za potomstva majki od 63,64 do 79,81 i za potomstva sestrinskih ukrštanja od 63,63 do 85,21 pri čemu njihove prosečne vrednosti (71,15 i 74,91) nisu dostigle signifikantnu razliku. Sorta Kunitz imala najmanji broj zrna po biljci, tako da su svi ostali genotipovi u eksperimentu pokazali visoko signifikantno veći broj zrna. U

poređenju sa adaptiranim početnim roditeljem, potomstva majki su pretežno bila sa signifikantno ili visoko signifikantno manjim brojem zrna. Iz potomstava dobijenih ukrštanjem u punom srodstvu, izdvojilo se potomstvo 24 sa vrlo značajno većim brojem zrna od sorte Kador.

Masa 1000 zrna se kretala od 157,8g kod sorte Kador do 187,2g kod potomstva linije majke broj 8. Bez obzira na individualne razlike između potomstava linije L33 i potomstava ukrštanja L30 x L38, njihove posečne vrednosti (172,79g i 172,16g) za masu 1000 zrna su bile približne.

Srednje vrednosti proučavanih osobina soje potomstava linija majki, potomstava iz kombinacije ukrštanja L38 x L6 i početnih roditelja

Srednje vrednosti proučavanih osobina 10 potomstava uspešno ukrštenih sestrinskih linija L38 i L6 i 10 potomstava njihovih majki iz linije L38 prikazane su u tabeli 5.

Prosečne vrednosti **prinosa zrna po biljci**, potomstava majki (12,69g) i potomstava ukrštanja u bliskom srodstvu ove kombinacije (13,14g), se nisu značajno razlikovale, uz signifikantne i visoko signifikantne razlike u okviru obe kategorije potomstava. Prinos zrna po biljci je varirao od 10,59g do 14,90g kod potomstava majki i u nešto užim granicama od 12,01g do 14,49g kod potomstava sestrinske kombinacije ukrštanja. Sorta Kunitz je imala najslabiji prinos zrna po biljci. Samo potomstvo linije majke označeno brojem 5 je bilo na nivou prinosa manje prinosnog roditelja, dok su sva ostala potomstva majki i sestinskih ukrštanja značajno i vrlo prinosnija. Dva potomstva majki (1 i 10) su bila visoko signifikantno prinosnija od sorte Kador, jedno (potomstvo 6) dalo je značajno viši prinos u odnosu na istog početnog roditelja a četiri potomstva (4, 5, 8 i 9) vrlo značajno niži. Dva potomstva ukrštanja u punom srodstvu, obeležena sa 13 i 16 su pokazala visoko značajno niži prinos zrna po biljci u odnosu na sortu Kador, jedno je dalo signifikanto viši prinos (potomstvo 12) a dva (potomstva 15, i 20) visoko signifikantno viši.

Visina stabla za potomstva majki (119,01 cm) i potomstva sestrinskih ukrštanja (118,57 cm) se veoma malo razlikovala po prosečnoj vrednosti za obe kategorije potomstava. Konstatovane su pojedinačne razlike potomstava kod oba tipa potomstva u

granicama 102,8-125,9 cm za potomstva majki i 100,9-127,9 cm za potomstva ukrštanja u punom srodstvu.

Tabela 5. Srednje vrednosti proučavanih osobina soje $F_{3:4}$ linija majki i $FSF_{1:2}$ potomstava iz kombinacije ukrštanja L38 x L6

		Osobine							
	Genotip	Prinos po biljci (g)	Visina (cm)	Vis. mah. (cm)	Broj nodusa	Broj grana	Broj mahuna	Broj zrna 1000 zrna (g)	Masa
Potomstva majki	1	14,49	123,8	27,9	18,20	2,27	38,78	87,14	166,4
	2	12,39	117,8	27,7	17,44	1,72	34,58	78,03	159,2
	3	13,47	125,9	27,0	17,63	1,66	37,03	86,78	154,8
	4	11,17	117,8	28,8	16,44	1,64	32,29	74,82	148,8
	5	10,59	102,8	25,3	16,47	1,69	29,48	69,35	152,5
	6	13,58	116,0	26,5	16,89	1,75	35,06	79,03	169,8
	7	12,86	125,5	26,8	17,55	1,77	33,52	78,27	164,2
	8	12,12	121,7	28,3	17,44	1,54	33,66	76,58	157,5
	9	11,30	120,6	28,1	17,18	1,09	31,55	72,20	156,1
	10	14,90	118,3	27,3	18,18	2,31	39,47	90,68	165,2
	\bar{x}	12,69	119,01	27,36	17,34	1,74	34,54	79,29	159,4
Potomstva FS ukrštanja	11	13,53	110,5	26,2	17,66	2,22	35,02	75,08	178,0
	12	13,63	119,5	27,4	18,41	1,92	36,08	82,58	165,9
	13	12,01	127,9	33,1	18,46	1,46	31,72	72,67	166,0
	14	12,54	114,2	26,1	16,61	1,59	35,11	82,52	150,3
	15	14,14	119,9	27,5	16,75	1,80	35,55	83,96	167,9
	16	12,13	121,6	28,4	17,91	1,20	31,42	69,77	173,2
	17	12,60	117,2	26,2	16,53	1,68	33,58	77,04	163,2
	18	13,23	111,3	25,3	16,99	1,30	32,75	78,08	170,1
	19	13,07	123,0	28,3	17,90	1,73	33,44	76,39	170,8
	20	14,49	120,6	27,4	17,97	2,60	38,28	86,58	165,4
	\bar{x}	13,14	118,57	27,49	17,52	1,70	34,29	78,46	167,1
Kunitz		10,07	106,9	24,7	16,07	1,50	27,14	59,12	175,9
Kador		12,99	110,3	26,0	16,18	1,38	34,15	76,45	161,3
Lsd _{0,05}		0,574	3,415	1,927	0,646	0,225	2,127	3,707	1,764
Lsd _{0,01}		0,758	4,532	2,543	0,885	0,297	2,808	4,892	2,327

Genotip sa najnižim stablom bila je sorta Kunitz. Sa izuzetkom potomstva označenog sa 5, sva ostala su pokazala visoko značajno veću visinu od oba početna roditelja.

Visina najniže mahune je bila približna kada se uporede prosečne vrednosti potomstava majki i potomstava ukrštanja sa sestrinskom linijom (27,36cm i 27,49cm). Najniža prva mahuna je uočena kod sorte Kunitz (24,7cm) a najviša kod potomstva sa oznakom 13 (33,1cm). Variranje visine najniže mahune kod potomstava majki (25,3cm – 28,8cm) bilo je u nešto užim granicama u odnosu na potomstva sestrinske kombinacije ukrštanja (25,2cm – 33,1cm).

Broj nodusa se kretao u granicama 16,44-18,20 za potomstva majki i 16,53-18,46 za potomstva ukrštanja L38 x L6, sa prosečnim vrednostima 17,34 i 17,52 koje se nisu značajno razlikovale. Sva potomstva su imala veći broj nodusa u odnosu na početne roditelje, osim potomstava 4, 5, 14, 15 i 17, koja se nisu značajno razlikovala od jednog a neka i od oba inicijalna roditelja.

Najmanji **broj grana** od 1,09 je ustanovljen kod potomstva 9 a najveći od 2,60 kod potomstva 20. Potomstva majki i potomstva ukrštanja sa sestrinskom linijom su imala praktično isti broj grana, prosečno 1,74 i 1,70. Potomstva su uglavnom imala više bočnih grana od oba početna roditelja, kako u proseku za obe kategorije potomstava, tako i pojedinačno, uz nekoloko izuzetaka (potomstva 9, 16 i 18).

Broj mahuna se, prema prosečnim vrednostima za potomstva majki (34,54) i potomstva ukrštanja u punom srodstvu (34,29), zanemarljivo razlikovao i bio približan broju mahuna adaptiranog roditelja (34,15). U okviru obe proučavane klase potomstava konstatovane su signifikante i visoko signifikantne razlike. Broj mahuna po biljci je varirao kod potomstava majki od 29,48 do 39,47 a kod potomstava njihovih ukrštanja sa sestrinskom linijom od 31,42 do 38,28. Kod svih testiranih potomstava je konstatovan veći broj mahuna u odnosu na sortu Kunitz. Nekoliko potomstava se razlikovalo po broju mahuna od sorte Kador: potomstva označena kao 1, 3, 10 i 20 su imala vrlo značajno veći broj mahuna, a potomstva 5, 9, 13, i 16 značajno i vrlo značajno manji.

Broj zrna po biljci, prosečno za potomstva majki (79,29) i potomstva sestrinske kombinacije ukrštanja (78,46), bio je na nivou boljeg roditelja, sorte Kador (79,45). Sorta Kunitz je imala najmanji broj zrna, potomstva majki i sestrinskih ukrštanja su se pretežno značajno i vrlo značajno razlikovala. Potomstva sa oznakom 1, 3, 10, 15 i 20

su imala značajno i vrlo značajno veći broj zrna a 5, 9, 11, 13, 16 manji u poređenju sa sortom Kador.

Masa 1000 zrna je pokazala brojne značajne i vrlo značajne razlike koje nisu utvrđene kod ostalih osobina. Veoma mala vrednost najmanje značajne razlike, što je moguće kod primjenjenog postupka obrade podataka, doprinela je ovakvoj značajnosti utvrđenih razlika. Utvrđeno je da je sorta Kunitz imala najkrupnije zrno (175,9g) uz signifikantne i visoko signifikantne razlike u odnosu na sve ostale genotipove u eksperimentu. Razlika prosečnih vrednosti za masu 1000 zrna potomstava majki (159,4g) i potomstava ukrštanja u punom srodstvu (167,1g), takođe je dostigla visoko signifikantnu vrednost. U odnosu na sortu Kador, vrlo značajno veću masu 1000 zrna imala su potomstva majki 1, 6, 7 i 10 i sva potomstva ukrštanja u punom srodstvu sa izuzetkom potomstva 14.

Srednje vrednosti proučavanih osobina soje potomstava linija majki, potomstava iz kombinacije ukrštanja L6 x L30 i početnih roditelja

Iz ukrštanja L6 x L30 identifikovano je 15 FSF₁ biljaka. Vrednosti proučavanih osobina njihovih potomstava prikazane su u tabeli 6.

Prinos zrna po biljci potomstava majki u ovom delu eksperimenta se kretao od 10,38g do 12,57g, a potomstava ukrštanja sa sestrinskom linijom u nešto širim granicama od 10,44g do 14,44g. razlika između prosečne vrednosti za prinos zrna po biljci potomstava majki (11,54g) i potomstava ukrštanja sa sestrinskom linijom (12,30g) nije dostigla signifikantnu vrednost. Manje prinosan početni roditelj, sorta Kunitz, je genotip sa najnižim prinosom u ovom delu eksperimenta (8,99g), uz vrlo značajne razlike u odnosu na sva testirana potomstva kao i na sortu Kador (12,97g). Potomstava i majki i potomstva sestrinske kombinacije ukrštanja bila su uglavnom značajno i vrlo značajno manje prinosna od sorte Kador, prinos potomstava označenih sa 22, 23, 28 i 30 bio signifikantno viši.

Visina stabla je, po svojim prosečnim vrednostima, bila približna za potomstva majki (110,6cm) i potomstva ukrštanja sa sestrinskom linijom (110,1cm). U okviru potomstava majki najviše potomstvo je imalo visinu od 117,8cm a najniže 105,8cm, a u

okviru potomstava sestrignske kombinacije ukrštanja najvuše 118,1cm a najniže 97,2cm.

Tabela 6. Srednje vrednosti proučavanih osobina soje F_{3:4} linija majki i FSF_{1:2} potomstava iz kombinacije ukrštanja L6 x L30

osobina								
Genotip	Prinos po biljci (g)	Visina (cm)	Vis. mah. (cm)	Broj nodusa	Broj grana	Broj mahuna	Broj zrna	Masa 1000 zrna (g)
Potomstva majki	1	11,08	116,1	26,0	17,42	1,52	31,75	71,75
	2	11,79	107,9	26,1	17,50	1,64	32,30	71,95
	3	10,38	105,8	25,8	16,15	1,21	30,84	67,06
	4	11,08	109,6	25,0	16,28	1,13	32,45	72,04
	5	12,57	111,3	21,3	17,42	2,42	36,82	77,01
	6	11,54	113,3	27,2	16,26	1,58	33,61	73,27
	7	11,29	106,2	26,3	16,08	1,04	26,58	59,27
	8	10,95	115,2	26,7	17,31	1,37	31,41	68,10
	9	10,70	110,3	27,8	16,58	1,35	27,75	60,21
	10	11,01	109,6	24,7	17,16	1,61	30,37	65,62
	11	12,01	106,6	25,2	16,85	1,46	34,05	78,09
	12	11,68	110,7	26,0	17,36	1,64	33,40	72,65
	13	11,32	108,3	26,2	16,35	1,32	30,44	71,43
	14	12,49	117,8	27,7	17,77	1,60	35,65	75,90
	15	12,55	110,3	26,5	17,37	1,48	34,51	75,22
		\bar{x}	11,54	110,6	25,9	16,89	1,49	32,03
							70,64	159,60
Potomstva FS ukrštanja	16	10,44	104,0	24,1	15,91	1,44	27,60	66,21
	17	11,82	108,1	24,2	17,59	1,47	32,61	72,05
	18	11,65	97,2	24,5	16,75	1,40	32,51	69,33
	19	11,60	117,8	25,6	17,62	1,60	33,81	76,29
	20	12,60	110,6	25,1	17,34	1,37	31,92	71,24
	21	12,79	120,7	25,2	16,13	1,93	35,54	77,22
	22	13,23	113,8	23,0	17,21	1,39	35,67	77,14
	23	13,94	112,2	22,0	16,53	1,47	36,68	78,98
	24	12,76	111,7	26,0	17,07	1,36	32,86	73,08
	25	12,35	104,8	25,0	17,86	1,11	32,35	71,97
	26	10,84	105,3	26,4	16,55	1,53	28,90	64,14
	27	12,04	111,7	25,4	16,84	1,34	34,12	73,52
	28	14,44	101,6	21,8	16,30	1,67	37,74	82,53
	29	11,28	117,7	27,7	16,90	1,79	32,67	69,70
	30	13,71	118,1	25,7	17,55	1,43	36,84	75,25
		\bar{x}	12,30	110,1	24,8	16,90	1,48	33,53
							73,24	164,92
Kunitz		8,99	105,7	26,1	17,00	1,11	23,65	51,21
Kador		12,97	112,3	26,0	16,56	1,38	34,71	74,49
Lsd 0.05		0,770	2,44	1,13	0,498	0,240	1,951	3,882
Lsd 0.01		0,949	3,22	1,49	0,656	0,316	2,572	5,116
								2,467
								3,252

Testirana potomstva su pretežno bila značajno i vrlo značajno viša od nižeg početnog roditelja (sorte Kunitz) a niža od višeg početnog roditelja, uz nekoliko izuzetaka.

Visina najniže mahune većine potomstava bila je na nivou početnih roditelja, između kojih nije bilo značajne razlike. Kod potomstava 5, 16, 17, 18, 22, 23 i 28 najniža mahuna se nalazila na visoko signifikantno manjoj visini, a kod potomstava 9, 14 i 26 na većoj. Najniža uočena visina kod ove grupe potomstava bila je 21,3cm a najviša 27,8cm. Nije bilo značajne razlike između prosečne visine potomstava majki (25,9cm) i potomstava ukrštanja sa sestrinskom linijom (24,8cm).

Broj nodusa po biljci se nije razlikovao kada se uporede vrednosti dobijene za inicijalne roditelje (17,00 i 16,56), kao i prosečne vrednosti potomstava majki (16,89) i ukrštanja u punom srodstvu (16,90). Statistički značajno manji broj nodusa u odnosu na sorte Kunitz i Kador imalo je potomstvo označeno sa 16, a veći potomstva 14, 17, 19, 25 i 30.

Između prosečnih vrednosti **broja grana** po biljci potomstava majki (1,49) i potomstava uktšanja sa sestrinskom linijom (1,48) nije bilo razlike. U poređenju sa sortom Kunitz, koja je početni roditelj sa manjim brojem grana, osim potomstava 3, 4, 7, 12, 25 i 27 koja su bila na istom nivou, kod svih ostalih potomstava je konstatovan značajno i vrlo značajno veći broj grana. Potomstva 4, 7 i 25 su u odnosu na sortu Kador imala manji broj grana na značajnom i vrlo značajnom nivou, a potomstva 2, 5, 11, 21, 28 i 29 veći.

Razlika između prosečnog **broja mahuna po biljci** potomstava majki (32,03) i ukrštanja sa sestrinskom linijom (33,53) nije dostigla značajnu vrednost. Sva potomstva su imala vrlo značajno veći broj mahuna po biljci u odnosu na sortu Kunitz, sa najmanjim brojem mahuna. U poređenju sa sortom Kador potomstva 5, i 23 su imala značajno, a potomstva 28 i 30 vrlo značajno veći broj mahuna po biljci.

Broj zrna po biljci je varirao kod potomstava majki od 59,27 do 78,09, a kod potomstava ukrštanja u punom srodstvu od 64,14 do 78,98. Potomstva majki (70,64) i potomstva ukrštanja sa sestrinskom linijom (73,24) se nisu značajno razlikovala po broju zrna, kada se uporede wihove prosečne vrednosti. Najmanji broj zrna po biljci konstatovan je kod sorte Kunitz, razlika je u odnosu na sva testirana potomsva i adaptiranog početnog roditelja bila vrlo značajna. Potomstva 3, 6, 7, 8, 9, 16, 18, 26 i 30

su imala vrlo značajno manji broj zrna po biljci u odnosu na sortu Kador, potomstvo 23 značajno veći a potomstvo 28 vrlo značajno veći.

Masa 1000 zrna je pokazala drugačije variranje u odnosu na ostale komponente prinosa, koje se kretalo između 152,5g i 168,9g unutar potomstava linija majki a kod potomstava ukrštanja sa sestrinskom linijom između 155,6g i 175,6g. Njihove prosečne vrednosti su se vrlo značajno razlikovale (159,60g i 164,92g), zbog male vrednosti namanje značajne razlike, bez obzira što je razlika bila manja od 4%.

6.2. Analiza varijanse

Prema dobijenim rezultatima, analizom varijanse je utvrđeno da nije bilo značajnih razlika između ponavljanja pri obradi podataka iz ogleda za sve kombinacije ukrštanja u ovom radu. Kako je ovo je uslov da se dobijeni rezultati mogu smatrati pouzdanim (Hadživuković, 1979), korišćeni su za dalje izračunavanje genetičko-statističkih pokazatelja.

6.2.1. Analiza varijanse za sva potomstva soje i inicijalne roditelje

Analiza varijanse za sva potomstva i inicijalne roditelje koji su bili uključeni u eksperiment, omogućila je pre svega poređenje potomstava sa inicijalnim roditeljima a zatim i srednjih vrednosti proučavanih osobina potomstava majki sa srednjim vrednostima odgovarajućih potomstava sestrinskih ukrštanja prikazanim u tabelama 4, 5 i 6.

Sredine kvadrata proučavanih osobina, sa naznačenom statističkom značajnošću, $F_{3:4}$ potomstava linija majki i $FSF_{1:2}$ potomstava iz kombinacije ukrštanja L30 x L38 i početnih roditelja sorti Kunitz i Kador, prikazane su u tabeli 7.

U prvom delu analize varijanse izdvojen je uticaj godine. Razlike između godine bile su statistički značajne za nivo rizika 0,01 prema F testu, što ukazuje pre svega na različite vremenske uslove u godinama trajanja eksperimenta.

U drugom delu analize varijanse izdvojen je uticaj lokacije i interakcija godine i lokacije. Razlika između lokacija je takođe bila statistički vrlo značajna, kao i interakcija između godine i lokacije, za sve osobine osim interakcije za visinu najniže

mahune, koja je pokazala značajnost na nivou verovatnoće od 5%. Ovo ukazuje na različite uslove gajenja na obe lokacije, kao i na specifičan uticaj godine po lokacijama.

Tabela 7. Sredine kvadrata iz analize varijanse proučavanih osobina soje F_{3:4} linija majki, FSF_{1:2} potomstava iz kombinacije ukrštanja L30 x L38, i početnih roditelja

Osobine					
Izvori variranja	df	Prinos zrna po biljci (g)	Visina stabla (cm)	Visina najniže mahune (cm)	Broj nodusa
Ponavljanja	2	0,186	4,053	5,445	1,889
A (godina) y	1	4919,319**	28068,254**	1278,491**	88,176**
Greška	2	0,327	7,256	11,515	1,029
B (lokacija)	1	3371,529**	216305,614**	385,735**	3887,056**
AB	1	130,425	6874,845**	74,428*	75,873**
Greška	4	0,134	4,108	5,499	0,240
C (genotip)	41	10,764**	472,205**	34,231**	8,746**
AC	41	6,637**	129,290**	18,637*	2,465*
BC	41	4,207**	130,008**	25,022*	3,240*
ABC	41	6,770**	92,637**	17,933*	5,418*
Greška	328	0,088	7,075	4,271	0,776
Masa 1000 zrna (g)					
Ponavljanja	2	0,001	3,388	4,885	12,626
A (godina) y	1	58,924**	17733,429**	8609,076**	76119,832**
Greška	2	0,001	1,228	11,122	7,587
B (lokacija)	1	2,170**	26363,909**	102914,835**	1714,227**
AB	1	5,571**	184,561**	1279,252**	349,500**
Greška	4	0,001	0,487	14,694	13,774
C (genotip)	41	0,746**	77,449**	486,281**	723,953**
AC	41	0,319**	46,630**	232,542**	163,663**
BC	41	0,242**	25,272**	127,969**	146,832**
ABC	41	0,217**	40,306**	236,141**	98,920**
Greška	328	0,001	1,057	4,450	7,627

*statistički značajno na nivou 5% verovatnoće

** statistički značajno na nivou 1% verovatnoće

Treći deo analize varijanse se odnosio na razlike između testiranih genotipova i interakcije između genotip/godina, genotip/lokacija i genotip/godina/lokacija.

Prema značajnosti sredine kvadrata, razlike između genotipova za sve proučavane osobine su bile statistički vrlo značajne. Sve interakcije su pokazale visoko signifikantnu značajnost za sve osobine osim visine najniže mahune i broja nodusa. Pomenute interakcije u ovom delu analize varijanse bile značajne za nivo rizika od 0,05. Značajnost interakcija ukazuje na specifične reakcije testiranih genotipova u zavisnosti od uslova spoljne sredine.

Sredine kvadrata i njihova statistička značajnost proučavanih osobina $F_{3:4}$ linija majki i $FSF_{1:2}$ potomstava iz kombinacije ukrštanja L38 x L6 prikazane su u tabeli 8. Kod svih proučavanih osobina su konstatovane visoko signifikantne razlike u zavisnosti od godine, sa izuzetkom visine stabla i broja nodusa kod kojih su razlike bile značajne na nivou verovatnoće od 95%.

Uticaj lokacije na varijabilnost prinosa zrna po biljci, broja nodusa, broja mahuna i broja zrna bio je statistički vrlo značajan a broja grana i masu 1000 zrna značajan. Nisu utvrđene pouzdane razlike za visinu najniže mahune u zavisnosti od lokacije.

F test je pokazao da postoje statistički vrlo značajne razlike između testiranih genotipova za prinos zrna po biljci i ostale proučavane osobine koje utiču na prinos. Interakcije genotip/godina, genotip/lokacija i genotip/godina/lokacija su bile značajne za nivo rizika od 0,01 prema F testu, takođe za sve osobine testirane u ovom radu.

Tabela 8. Sredine kvadrata iz analize varijanse proučavanih osobina soje F_{3:4} linija majki, FSF_{1:2} potomstava iz kombinacije ukršanja L38 x L6, i početnih roditelja

Osobine					
Izvori variranja	df	Prinos zrna po biljci (g)	Visina stabla (cm)	Visina najniže mahune (cm)	Broj nodusa
Ponavljanja	2	0,153	7,747	5,231	0,555
A (godina) y	1	2074,803**	3060,074*	1250,626**	10,046*
Greška	2	3,474	189,205	9,724	0,357
B (lokacija) 1	1	1004,796**	129737,516**	157,327	1726,364**
AB	1	93,963**	101,866	635,501*	306,161**
Greška	4	0,281	136,265	40,362	0,772
C (genotip) g	21	18,031**	624,927**	36,746**	5,727**
AC	21	5,542**	94,416**	18,865**	2,895**
BC	21	5,511**	197,992**	14,395**	2,551**
ABC	21	4,802**	59,459**	22,120**	1,608**
Greška	168	0,508	17,605	5,716	0,569
Masa 1000					
		Broj grana	Broj mahuna	Broj zrna	zrna (g)
Ponavljanja	2	0,259	3,920	4,212	0,206
A (godina) y	1	33,097**	8636,971**	49074,002**	13081,870**
Greška	2	0,191	22,329	164,667	4,592
B (lokacija) 1	1	6,931*	10303,252**	34945,667**	48,188*
AB	1	1,621	136,110*	1156,123**	1026,646**
Greška	4	0,316	11,190	16,052	4,851
C (genotip) g	21	1,612**	101,295**	605,911**	767,150**
AC	21	0,310**	38,662**	163,457**	192,621**
BC	21	0,158**	60,514**	222,214**	115,486**
ABC	21	0,217**	24,620**	114,428**	88,409**
Greška	168	0,078	6,968	21,153	4,788

*statistički značajno na nivou 5% verovatnoće

** statistički značajno na nivou 1% verovatnoće

U tabeli 9. prikazane su sredine kvadrata iz analize varijanse prinosa zrna i njegovih komponenti potomstava majki (L6) i njihovih ukrštanja sa sestrinskom linijom (L30), kao i inicijalnih roditelja od kojih su formirana sva potomstva obuhvaćena ovim proučavanjem. Razlike između godina su statistički vrlo značajne za većinu osobina biljke obuhvaćenih istraživanjem, a začajne za broj grana i masu 1000 zrna.

Lokacija je uticala na ispoljavanje vrlo značajnih razlika kod prinosa zrna po biljci, visine stabla, broja nodusa, broja mahuna, broj zrna i mase 1000 zrna. Za razliku od ovih osobina, nije bilo značajne razlike između lokacija za broj grana po biljci i visinu najniže mahune, kao i kod potomstava iz prethodne kombinacije ukrštanja u punom srodstvu.

Utvrđene su statistički visoko signifikantne razlike između genotipova za sve proučavane osobine. Interakcije između genotipa i godine, genotipa i lokacije i genotipa godine i lokacije takođe su bile visoko značajne.

Tabela 9. Sredine kvadrata iz analize varijanse proučavanih osobina soje F_{3:4} potomstava linija majki, FSF_{1:2} potomstava iz kombinacije ukršanja L6 x L30, i početnih roditelja

Osobine					
Izvori variranja	df	Prinos zrna po biljci (g)	Visina stabla (cm)	Visina najniže mahune (cm)	Broj nodusa
Ponavljanja	2	1,112	19,304	1,792	0,082
A (godina) y	1	1205,240**	2136,145**	1292,427**	22,635**
Greška	2	3,247	44,159	1,301	0,061
B (lokacija)	1	3692,503**	241914,806**	89,591	3182,688**
AB	1	999,347**	5067,483**	233,501*	334,451**
Greška	4	4,129	27,398	12,096	0,185
C (genotip)	31	15,994**	334,103**	31,003**	3,792**
AC	31	6,369**	60,960**	15,787**	1,523**
BC	31	4,530**	130,989**	17,883**	1,449**
ABC	31	3,697**	41,485**	18,155**	1,764**
Greška	248	0,802	9,227	1,972	0,229
Masa 1000 zrna (g)					
Ponavljanja	2	0,252	21,736	100,949	22,125
A (godina) y	1	17,699*	8167,723**	31686,608**	710,437*
Greška	2	0,415	44,295	105,457**	27,655
B (lokacija)	1	1,193	30474,161**	121124,374**	2052,067**
AB	1	0,017	3457,980**	19033,105**	18711,007**
Greška	4	1,341	31,607	146,588	11,383
C (genotip)	31	0,907**	111,034**	587,042**	780,221**
AC	31	0,908**	23,676**	147,557**	210,203**
BC	31	0,242**	26,881**	126,482**	241,625**
ABC	31	0,180**	19,888**	95,216**	109,292**
Greška	248	0,089	5,889	23,308	9,417

*statistički značajno na nivou 5% verovatnoće

** statistički značajno na nivou 1% verovatnoće

6.2.2. Analiza varijanse potomstava linija soje majki i sestrinskih kombinacija ukrštanja L30 x L38 i L6 x L30

Za izračunavanje genetičke i fenotipske varijanse, heritabilnosti u širem smislu i genetičkih i fenotipskih koeficijenata varijacije osam proučavanih osobina testiranih genotipova soje, urađena je analiza varijanse za brojnija potomstva majki i potomstva ukrštanja u punom srodstvu, kombinacija L30 x L38 i L6 x L30 posebno za svaku kategoriju potomstva ($F_{3:4}$ i $FSF_{1:2}$). Za dalja izračunavanja korišćene su sredine kvadrata iz trećeg dela analize varijanse.

Iz kombinacije ukrštanja sestrinskih linija soje L38 x L6 ostvareno je samo 10 potomstava ukrštanja u punom srodstvu. Zbog ovako malog broja potomstava precizniji biometrijski pokazatelji za ovu kombinaciju ukrštanja u punom srodstvu nisu rađeni.

U tabeli 10. prikazane su izračunate vrednosti sredina kvadrata iz analize varijanse $F_{3:4}$ potomstava majki iz kombinacije ukrštanja L30 x L38. Kod ove kombinacije ukrštanja u punom srodstvu ostvaren je najveći broj uspešnih ukrštanja, dobijeno je 20 uspešno ukrštenih FSF_1 semena.

Ustanovljene su statistički značajne i vrlo značajne razlike između godina trajanja eksperimenta a visoko signifikantne između lokacija na kojima je poljski eksperiment postavljen, za sve proučavane osobine. Interakcija godine i lokacije je takođe bila vrlo značajna.

Utvrđene su vrlo značajne razlike u zavisnosti od genotipa, kako za prinos zrna po biljci tako i za njegove komponente obuhvaćene istraživanjem. Sredine kvadrata za sve interakcije genotipa i uslova spoljne sredine takođe su dostigle statistički vrlo značajne vrednosti.

Tabela 10. Sredine kvadrata iz analize varijanse proučavanih osobina soje F_{3:4} potomstava linija majki iz kombinacije ukrštanja L30 x L38

Osobine					
Izvori variranja	df	Prinos zrna po biljci (g)	Visina stabla (cm)	Visina najniže mahune (cm)	Broj nodusa
Ponavljanja	2	0,115	6,376	0,102	0,368
A (godina) y	1	2239,926**	13697,216**	696,084**	29,519*
Greška	2	0,065	11,885	2,563	0,770
B (lokacija)	1	1579,835**	91123,550**	128,466**	1736,503**
AB	1	24,563**	2057,448**	51,143**	6,531**
Greška	4	0,062	3,350	1,016	0,263
C (genotip)	19	9,192**	371,755**	25,540**	5,772**
AC	19	4,091**	141,909**	19,370**	3,119**
BC	19	4,008**	71,963**	23,624**	2,987**
ABC	19	5,454**	104,007**	18,956**	5,318**
Greška	152	0,069	6,964	0,899	0,247
Masa 1000 zrna (g)					
Ponavljanja	2	0,016	4,019	5,782	20,037
A (godina) y	1	30,331**	8061,540**	39682,823**	35468,292**
Greška	2	0,009	1,512	2,284	6,811
B (lokacija)	1	2,158**	12144,452**	48252,781**	633,100**
AB	1	1,568**	21,588**	98,309**	105,337**
Greška	4	0,006	0,389	4,070	2,164
C (genotip)	19	1,096**	45,471**	275,733**	715,583**
AC	19	0,554**	41,504**	187,971**	253,516**
BC	19	0,249**	20,284**	105,565**	257,546**
ABC	19	0,215**	33,328**	205,319**	141,196**
Greška	152	0,013	1,022	3,494	12,388

*statistički značajno na nivou 5% verovatnoće

** statistički značajno na nivou 1% verovatnoće

Sredine kvadrata iz analize varijanse svih testiranih osobina soje, potomstava ukrštanja u punom srodstvu kombinacije L30 x L38, prikazane su u tabeli 11.

Tabela 11. Sredine kvadrata iz analize varijanse proučavanih osobina soje FSF_{1:2} potomstava ukrštanja u punom srodstvu iz kombinacije L30 x L38

Osobine					
Izvori variranja	df	Prinos zrna po biljci (g)	Visina stabla (cm)	Visina najniže mahune (cm)	Broj nodusa
Ponavljanja	2	0,172	0,765	0,562	0,138
A (godina) y	1	2544,499**	12092,720**	635,767**	42,538**
Greška	2	0,447	9,938	2,404	0,065
B (lokacija)	1	1618,866**	113334,986**	347,186**	2018,052**
AB	1	139,782**	4345,206**	35,713**	104,280**
Greška	4	0,119	6,397	0,677	0,096
C (genotip)	19	9,551**	551,395**	42,716**	9,539**
AC	19	7,362**	126,326**	10,345**	2,529**
BC	19	4,765**	170,109**	19,114**	4,031**
ABC	19	6,102**	79,790**	12,195**	2,935**
Greška	152	0,101	7,353	0,933	0,095
Masa 1000 zrna (g)					
Ponavljanja	2	0,003	0,854	1,425	1,733
A (godina) y	1	36,520**	9029,125**	43872,130**	37948,830**
Greška	2	0,011	5,133	10,783	3,738
B (lokacija)	1	5,358**	126,154**	48738,705**	555,408**
AB	1	0,928**	235,125**	1854,649**	343,444**
Greška	4	0,008	2,125	11,708	21,762
C (genotip)	19	0,392**	56,656**	370,829**	710,791**
AC	19	0,388**	51,917**	267,383**	82,900**
BC	19	0,399**	28,697**	126,636**	75,780**
ABC	19	0,438**	39,291**	207,898**	88,081**
Greška	152	0,010	1,032	5,873	9,735

*statistički značajno na nivou 5% verovatnoće

** statistički značajno na nivou 1% verovatnoće

Kao i kod potomstava majki iz ove kombinacije, utvrđena je značajnost sredina kvadrata koje potvrđuju varijabilnost u zavisnosti od godina, lokacija, genotipova i svih njihovih interakcija. Utvrđena je statistička značajnost za nivo verovatnoće od 1% kod svih proučavanih osobina.

Urađena je analiza varijanse za $F_{3:4}$ potomstva linije L6, majke u sestrinskoj kombinaciji ukrštanja sa linijom soje L30, a sredine kvadrata prikazane su u tabeli 12.

Tabela 12. Sredine kvadrata iz analize varijanse proučavanih osobina soje $F_{3:4}$ potomstava linije majke iz kombinacije ukrštanja L6 x L30

Osobina					
Izvori variranja	df	Prinos zrna po biljci (g)	Visina stabla (cm)	Visina najniže mahune (cm)	Broj nodusa
Ponavljanja	2	1,940	8,822	0,732	0,014
A (godina) y	1	364,120**	9272,684**	567,539**	12,487**
Greška	2	1,188	9,316	0,447	0,007
B (lokacija) 1	1	1701,846**	117961,216**	32,956	1352,190**
AB	1	364,963**	1838,631**	263,054**	133,248**
Greška	4	2,711	13,924	8,046	0,184
C (genotip) g	14	8,718**	157,761**	28,890**	4,081**
AC	14	2,387**	70,357**	16,045**	1,457**
BC	14	4,179**	68,660**	21,334**	0,872**
ABC	14	2,118**	32,625**	16,140**	2,162**
Greška	112	0,561	9,993	2,027	0,238
		Broj grana	Broj mahuna	Broj zrna	Masa 1000 zrna (g)
Ponavljanja	2	0,390	6,658	75,226	4,859
A (godina) y	1	3,286	3714,084**	12824,309**	133,283
Greška	2	0,313	23,104	55,295	29,819
B (lokacija) 1	1	0,899	14533,957**	57421,903**	2114,185**
AB	1	0,107	1174,942**	6590,701**	9177,614**
Greška	4	0,187	23,708	146,397	22,006
C (genotip) g	14	1,393*	110,023**	569,638**	545,664**
AC	14	0,152	19,750**	95,479**	120,105**
BC	14	0,187*	27,525**	119,540**	211,843**
ABC	14	0,193*	12,726*	59,314**	167,235**
Greška	112	0,089	6,404	21,331	14,463

*statistički značajno na nivou 5% verovatnoće

** statistički značajno na nivou 1% verovatnoće

Prema značajnosti sredine kvadrata, koje pokazuju razlike kod proučavanih osobina u zavisnosti od godina izvođenja eksperimenta, ustanovljeno je da je uticaj godine bio statistički značajan za nivo rizika od 99%, za sve osobine osim broja grana i mase 1000 zrna za koje nije konstatovan pouzdan uticaj godine.

Tabela 13. Sredine kvadrata iz analize varijanse proučavanih osobina soje FSF_{1:2} potomstava ukrštanja u punom srodstvu iz kombinacije ukrštanja L6 x L30

Osobine					
Izvori variranja	df	Prinos zrna po biljci (g)	Visina stabla (cm)	Visina najniže mahune (cm)	Broj nodusa
Ponavljanja	2	0,206	9,514	1,652	0,008
A (godina) y	1	456,786**	11306,755**	604,817**	14,140**
Greška	2	2,648	20,316	4,122	0,089
B (lokacija)	1	1878,323**	110964,775**	22,862	1588,059**
AB	1	653,446**	2715,926**	22,663	198,009**
Greška	4	2,304	22,213	7,720	0,037
C (genotip)	14	13,194**	559,383**	30,773**	4,192**
AC	14	6,422**	52,330**	17,607**	1,401**
BC	14	4,506**	206,781**	14,832**	1,764**
ABC	14	3,194**	47,288**	19,279**	1,325**
Greška	112	1,085	8,174	1,858	0,225
Masa 1000 zrna (g)					
		Broj grana	Broj mahuna	Broj zrna	
Ponavljanja	2	0,017	25,996	64,279	18,851
A (godina) y	1	15,103**	3900,331**	15800,875**	1994,670**
Greška	2	0,113	26,750	77,803	10,626
B (lokacija)	1	0,218	14883,422**	59542,310**	353,921**
AB	1	0,018	2499,475**	13289,023**	8694,450**
Greška	4	0,237	12,717	39,113	0,885
C (genotip)	14	0,473**	53,080**	274,666**	567,992**
AC	14	0,370**	26,885**	156,878**	209,424**
BC	14	0,337**	19,363**	114,594**	272,155**
ABC	14	0,288*	13,639**	68,721**	72,577**
greška	112	0,093	5,322	24,797	4,964

*statistički značajno na nivou 5% verovatnoće

** statistički značajno na nivou 1% verovatnoće

Sredine kvadrata koje pokazuju uticaj lokacije na varijabilnost osobina obuhvaćenih istraživanjem su uglavnom bile visoko signifikantne, sa izuzetkom visine najniže mahune i broja grana koje nisu dostigle značajne vrednosti. Broj grana je jedina osobina na čiju varijabilnost interakcija faktora spoljne sredine (godine i lokacije) nije značajno uticala.

Testiranjem značajnosti sredina kvadrata genotipa utvrđene su vrlo značajne razlike u okviru svih osobina potomstava majke u ovoj kombinaciji ukrštanja, a značajne za broj grana. Interakcije genotipa i faktora spoljne sredine su pretežno bile statistički vrlo značajne i značajne, osim interakcije genotip/godina za broj grana čija sredina kvadrata nije dostigla signifikantnu vrednost.

Prema statističkoj značajnosti sredina kvadrata prikazanih u tabeli 13. za potomstva ukrštanja u punom srodstvu L6 x L30, utvrđeni su vrlo značajni uticaji godina, lokacija, genotipova i njihovih interakcija na varijabilnost prinosa zrna po biljci, visinu biljke, broj nodusa, broj mahuna, broj zrna i masu 1000 zrna.

Analizom varijanse nije potvrđen pouzdan uticaj lokacije i interakcije godine i lokacije na visinu najniže mahune i broj grana po biljci za potomstva L6 i L6 x L30.

6.3. Komponente varijanse, koeficijenti varijacije i heritabilnost u širem smislu

Za manje brojna potomstva kombinacije L38 x L6 sa svega 10 uspešno odgajenih FSF₁ biljaka nije rađena detaljnija statistička obrada. Pod brojnijim potomstvima se podrazumevaju potomstva linija majki i odgovarajućih ukrštanja sa sestrinskom linijom sa 20 i 15 uspešno odgajenih FSF₁ biljaka, za koje su izračunati planirani genetičko-statistički pokazatelji.

6.3.1. Komponente varijanse

Izračunate vrednosti komponenti varijanse za osam proučavanih osobina, obe kategorije testiranih potomstava sestrinske kombinacije ukrštanja L30 x L38 prikazane su u tabeli 14, a kombinacije L6 x L30 u tabeli 15.

Tabela 14. Komponente varijanse proučavanih osobina soje $F_{3:4}$ potomstava linija majki i $FSF_{1:2}$ potomstava ukrštanja u punom srodstvu iz kombinacije L30 x L38

Osobine	σ_g^2	σ_{gy}^2	σ_{gl}^2	σ_{gyl}^2	σ_e^2	σ_{ph}^2
$F_{3:4}$	Prinos zrna po biljci (g)	0,546	0*	0*	1,795	0,069
	Visina stabla (cm)	21,849	6,267	0*	32,348	6,964
	Visina mahune (cm)	0,125	0,069	0,778	6,019	0,899
	Broj nodusa	0,415	0*	0*	1,690	0,247
	Broj grana	0,042	0,057	0,006	0,067	0,013
	Broj mahuna	1,418	1,363	0*	10,768	1,022
$FSF_{1:2}$	Broj zrna	15,626	0*	0*	67,275	3,494
	Masa 1000 zrna (g)	28,809	18,720	19,392	42,936	12,388
$FSF_{1:2}$	Prinos zrna po biljci (g)	0,294	0,210	0*	2,000	0,101
	Visina stabla (cm)	27,896	7,756	15,053	24,146	7,353
	Visina mahune (cm)	2,121	0*	1,153	3,754	0,933
	Broj nodusa	0,493	0*	0,183	0,947	0,095
	Broj grana	0,004	0*	0*	0,143	0,010
	Broj mahuna	1,278	2,104	0*	12,753	1,032
$FSF_{1:2}$	Broj zrna	15,392	9,914	0*	67,342	5,873
	Masa 1000 zrna (g)	53,349	0*	0*	26,115	9,735
60,689						

*za varijanse za koje su izračunate vrednosti negativne, uzeta je vrednost 0

Poznato je da fenotipska varijansa (σ_{ph}^2) predstavlja ukupno variranje između fenotipova gajenih u datim uslovima spoljne sredine. Genetička varijansa (σ_g^2) je deo ovog variranja koji pokazuje genotipske razlike između fenotipova. Varijansa interakcije (σ_{gyl}^2) je deo ukupnog variranja odgovoran za specifično ispoljavanje razlika između genotipova do kojih ne bi došlo u drugačijim uslovima gajenja (Dudley i Moll, 1969). Prema tome vrednosti fenotipske varijanse moraju biti veće od genetičke za istu osobinu, kao što je i prikazano u tabelama 14. i 15.

Kada se uporede vrednosti genetičke i fenotipske varijanse vidi se da je udeo genetičke varijanse u ukupnom variranju različit kako za pojedine osobine tako i za potomstva. Kod $F_{3:4}$ potomstava linije L30 (tabela 14.) uočeno je najveće učešće genetičke varijanse za visinu stabla a najmanje za visinu najniže mahune. Kod $FSF_{1:2}$ potomstava ukrštanja L30 sa sestrinskom linijom L38 najveće učešće genetičke varijanse je konstatovano za masu 1000 zrna a najmanje za broj mahuna.

Tabela 15. Komponente varijanse proučavanih osobina soje $F_{3:4}$ potomstava linija majki i $FSF_{1:2}$ potomstava ukrštanja u punom srodstvu iz kombinacije L6 x L30

Osobine	σ_g^2	σ_{gy}^2	σ_{gl}^2	σ_{gyl}^2	σ_e^2	σ_{ph}^2
$F_{3:4}$	Prinos zrna po biljci (g)	0,362	0,033	0,332	0,542	0,561
	Visina stabla (cm)	4,281	6,289	6,006	7,544	9,993
	Visina mahune (cm)	0,638	0*	0,866	4,704	2,027
	Broj nodusa	0,327	0*	0*	0,641	0,238
	Broj grana	0,104	0*	0*	0,035	0,089
	Broj mahuna	6,290	1,171	2,467	2,107	6,404
	Broj zrna	34,502	6,208	10,023	12,661	21,331
$FSF_{1:2}$	Masa 1000 zrna (g)	31,746	0*	7,435	50,942	14,463
	Prinos zrna po biljci (g)	0,455	0,538	0,219	0,703	1,085
	Visina stabla (cm)	28,963	0,840	26,582	13,038	8,174
	Visina mahune (cm)	1,468	0*	0*	5,807	1,858
	Broj nodusa	0,196	0,013	0,073	0,367	0,225
	Broj grana	0,005	0,030	0,025	0,032	0,093
	Broj mahuna	1,706	2,208	0,954	2,772	5,322
	Broj zrna	5,993	14,692	7,646	14,641	24,797
	Masa 1000 zrna (g)	13,249	22,808	33,263	22,538	4,964

*za varijanse za koje su izračunate vrednosti negativne, uzeta je vrednost 0

Najizraženije učešće genetičke varijanse u okviru $F_{3:4}$ potomstava linije L6 (tabela 15), utvrđeno je za broj grana, a kod $FSF_{1:2}$ potomstava iz kombinacije L6 x L30 za visinu stabla. Najmanje učešće genetičke varijanse u ukupnom variranju kod navedenih potomstva je primećeno za visinu najniže mahune (L6) i broj bočnih grana (L6 x L30). U zavisnosti od uslova gajenja odnosi između osobina mogu biti u različitom stepenu izmenjeni (Kwon i Torrie, 1964). Postoji i specifična reakcija

pojedinih genotipova na različite uslove gajenja (Holkar i sar. 2008), tako da se navedene razlike mogu objasniti specifičnom reakcijom testiranih potomstava i osobina na uslove spoljne sredine za vreme trajanja eksperimenta.

Komponente varijanse proučavanih osobina potomstava linija majki i potomstava ukrštanja u punom srodstvu obuhvaćenih testiranjem u ovom radu bili su polazna osnova za izračunavanje genetičkih i fenotipskih koeficijenata varijacije, heritabilnosti u širem smislu i genetske dobiti od selekcije.

6.3.2. Koeficijenti varijacije i heritabilnost u širem smislu

Vrednosti koeficijenata fenotipske varijacije (CV_{ph}) su bile više od koeficijenata genetičke varijacije (CV_g) za sva proučavana potomstva, kao što su to posebno istakli Mehta i sar. (1986) i Rajput i sar. (1987) .

Tabela 16. Koeficijenti varijacije i heritabilnost u širem smislu proučavanih osobina soje $F_{3:4}$ potomstava linija majki i $FSF_{1:2}$ potomstava ukrštanja u punom srodstvu iz kombinacije L30 x L38

Osobine	$CV_g\%$	$CV_{ph}\%$	h^2	$\pm SE_{h^2}$
$F_{3:4}$	Prinos zrna po biljci (g)	5,97	8,08	0,55 0,262
	Visina stabla (cm)	4,30	5,34	0,65 0,277
	Visina mahune (cm)	1,48	6,10	0,06 0,369
	Broj nodusa	3,67	5,28	0,48 0,227
	Broj grana	12,39	18,20	0,46 0,295
	Broj mahuna	3,74	6,94	0,29 0,285
	Broj zrna	5,56	8,04	0,48 0,259
$FSF_{1:2}$	Masa 1000 zrna (g)	3,10	4,46	0,48 0,295
	Prinos zrna po biljci (g)	4,17	7,34	0,32 0,307
	Visina stabla (cm)	4,72	6,05	0,61 0,292
	Visina mahune (cm)	6,06	8,03	0,57 0,289
	Broj nodusa	4,03	5,23	0,60 0,291
	Broj grana	8,23	13,78	0,09 0,288
	Broj mahuna	3,40	7,12	0,23 0,302
	Broj zrna	5,24	8,20	0,41 0,276
	Masa 1000 zrna (g)	4,24	4,53	0,88 0,284

Varijabilnost prinosa zrna po biljci i njegovih komponenti, potomstava majki i ukrštanja sa sestrinskom linijom u kombinaciji L30 x L38, izražena je preko koeficijenata varijacije i prikazana u tabeli 16. Varijabilnost prinosa zrna po biljci je bila nešto viša kod potomstava majki ($CV_g = 5,97\%$; $CV_{ph} = 8,08\%$) u odnosu na potomstva ukrštanja sa sestrinskom linijom ($CV_g = 4,17\%$; $CV_{ph} = 7,35\%$). Broj bočnih grana je osobina sa najvećom varijabilnošću, koja je takođe bila veća u okviru potomstava majki ($CV_g = 12,39\%$; $CV_{ph} = 18,20\%$) u odnosu na potomstava ukrštanja u punom srodstvu ($CV_g = 8,23\%$; $CV_{ph} = 13,78\%$). Varijabilnost najniže mahune se povećala kod potomstava sestrinskog ukrštanja ($CV_g = 6,06\%$; $CV_{ph} = 8,03\%$) u odnosu na potomstvo linije koja je korišćena kao majka ($CV_g = 1,48\%$; $CV_{ph} = 6,10\%$). Varijabilnost visine stabla i najvažnijih komponenti prinosa broja mahuna, broja zrna i mase 1000 zrna, se zadržala na približnom nivou posle obavljenog sestrinskog ukrštanja L30 x L38.

Tabela 17. Koeficijenti varijacije i heritabilnost u širem smislu proučavanih osobina soje $F_{3:4}$ potomstava linija majki i $FSF_{1:2}$ potomstava ukrštanja u punom srodstvu iz kombinacije L6 x L30

Osobine	$CV_g \%$	$CV_{ph} \%$	h^2	$\pm SE_{h^2}$
$F_{3:4}$	Prinos zrna po biljci (g)	5,30	7,52	0,50 0,336
	Visina stabla (cm)	1,87	3,27	0,36 0,333
	Visina mahune (cm)	3,08	6,00	0,26 0,379
	Broj nodusa	3,38	4,21	0,65 0,251
	Broj grana	21,28	22,87	0,86 0,317
	Broj mahuna	7,77	9,39	0,69 0,327
	Broj zrna	8,24	9,66	0,73 0,365
$FSF_{1:2}$	Masa 1000 zrna (g)	3,55	4,42	0,64 0,314
	Prinos zrna po biljci (g)	5,50	8,54	0,41 0,393
	Visina stabla (cm)	4,88	6,19	0,62 0,607
	Visina mahune (cm)	4,89	7,08	0,48 0,481
	Broj nodusa	2,61	3,49	0,56 0,516
	Broj grana	4,51	14,70	0,09 0,107
	Broj mahuna	3,94	6,34	0,39 0,367
	Broj zrna	3,35	6,54	0,26 0,249
	Masa 1000 zrna (g)	2,17	4,11	0,28 0,269

Najveća varijabilnost, kod kombinacije L6 x L30 ukrštanja u punom srodstvu (tabela 17) utvrđena je za broj bočnih grana, ubedljivo veća kod potomstava L6 ($CV_g = 21,28\%$; $CV_{ph} = 22,37\%$) u odnosu na daleko niže niže vrednosti za potomstava ukrštanja sa sestrinskom linijom L30 ($CV_g = 4,51\%$; $CV_{ph} = 14,70$). Ostale proučavane osobine su se svrstale u one koje su pokazale veću varijabilnost kod $F_{3:4}$ potomstava kao što su broj nodusa, broj mahuna, broj zrna i masa 1000 zrna i one sa većom varijabilnošću kod $FSF_{1:2}$ potomstava, i to prinos zrna po biljci, visina stabla i visina najniže mahune.

Ovo je u saglasnosti sa rezultatima Aditya i sar. (2011) kao i Bhat i sar. (2012) koji su proučavajući srodne genotipove soje, utvrdili velike razlike koeficijenata varijacije za osobine obuhvaćene istraživanjem.

Izračunate vrednosti za heritabilnost u širem smislu proučavanih osobina kretale su se u širokim granicama kod testiranih potomstava. Davno je uočeno da heritabilnost u širem smislu pokazuje veliku varijabilnost u zavisnosti od proučavanog materijala i uslova spoljne sredine uz razlike za pojedine osobine (Chan i sar. 1986). Svi genotipovi proučavani u ovom radu potiču od istih početnih roditelja. Uprkos tome, postojale su razlike između testiranih potomstava kako za izračunate vrednosti heritabilnosti u širem smislu, tako i za značajnost tih vrednosti kada se uporede sa standardnom greškom heritabilnosti.

Heritabilnost u širem smislu, prikazana u tabeli 16, za prinos zrna po biljci $F_{3:4}$ potomstava linije L30 iznosila je 0,55 a $FSF_{1:2}$ potomstava njenog ukrštanja sa sestrinskom linijom L38 0,32. Za iste kategorije potomstava sestrinske kombinacije ukrštanja L6 x L30, koje su prikazane u tabeli 17, ove vrednosti su bile 0,50 za $F_{3:4}$ potomstva i 0,41 $FSF_{1:2}$ uz dosta visoku standardnu grešku heritabilnosti. Dobijene vrednosti za heritabilnost prinosa zrna po biljci su niže od Sudarić i sar. (2002) koji su dobili vrednost od 0,71, Nassar (2013) od 0,63 a takođe i Karnwal i Singh (2009) koji su dobili vrednost od čak 0,80 za prinos zrna po biljci.

Visina stabla se smatra osobinom sa visokim stepenom naslednosti, ali u specifičnim uslovima, što se dogodilo i u ovom slučaju, dolazi do izražaja uticaj spoljne sredine, što je u saglasnosti sa istraživanjima Hrustić i sar. 1985. Heritabilnost visine

stabla testiranih potomstava bila je pouzdana za $F_{3:4}$ potomstava linije L30 i znosila je 0,65 i 0,61 za $FSF_{1:2}$ potomstva ukrštanja sa linijom L38 (tabela 16). Kod manje brojnih potomstava prikazanih u tabeli 17, za F_4 potomstava linije L6 bila je 0,36 a $FSF_{1:2}$ potomstava ukrštanja sa linijom L30 nešto viša (0,62) sa takođe višom standardnom greškom heritabilnosti. Prema literaturnim podacima, heritabilnost visine stabla se kreće između 0,63 (Sudarić i sar. 2002) i 0,85 (Karnwal i Singh, 2009).

Jedina vrednost za heritabilnost u širem smislu visine najniže mahune, koja je dospela pouzdanu vrednost izračunata je kod $FSF_{1:2}$ potomstava ukrštanja L30 x L38 (tabela 16.). Ovo je ujedno i najviša vrednost ovog pokazatelja za visinu najniže mahune u okviru testiranih potomstava i iznosila je 0,57. Kod ostalih potomstava heritabilnost visine najniže mahune se kretala od 0,06 ($F_{3:4}$ L30 prikazana u tabeli 16) do 0,48 ($F_{1:2}$ L6 x L30 prikazana u tabeli 17) a kada se uporedi sa standardnom greškom heritabilnosti, njene vrednosti se ne mogu smatrati pouzdanim.

Heritabilnost broja nodusa na glavnom stablu $F_{3:4}$ potomstava majki L30 (tabela 16) iznosila je 0,48, a $F_{3:4}$ za potomstava linje L6 (tabela 17) dobijena je vrednost od 0,65, što se, kada se uporedi sa vrednostima standardne greške heritabilnosti, može smatrati pouzdanim. Heritabilnost broja nodusa kod potomstava sestrinskih ukrštanja L30 x L38 i L6 x L30 iznosila je 0,60 i 0,56. Do sličnih rezultata su došli Sudarić i sar. (2002), dok su Karnwal i Singh (2009) prikazali znatno nižu vrednost od 0,3.

Heritabilnost broja bočnih grana je varirala u širokim granicama kod potomstava majki ($F_{3:4}$ linija L30 i L6) i iznosila je 0,46 i 0,87 a odgovarajućih sestrinskih ukrštanja bila je ista 0,09 kao što je prikazano u tabelama 16 i 17. Prema objavljenim rezultatima heritabilnost broja grana se kreće do 0,91 (Aditya i sar. 2011).

Broj mahuna po biljci je pokazao variranje vrednosti za heritabilnost u zavisnosti od materijala-potomstava. Više vrednosti su izračunate za potomstva majki (0,69) i potomstva sestrinskih ukrštanja (0,39) kombinacije L6 x L30 (tabela 17), u odnosu na brojnija potomstva iz kombinacije L30 x L38, (0,29 za potomstva majki i 0,23 za potomstva ukrštanja u punom srodstvu prikazano u tabeli 16). Ovako niske vrednosti i veliku varijabilnost heritabilnosti za broj mahuna po biljci dobili su Costa i sar (2008) pri testiranju F_3 familija iz različitih kombinacija ukrštanja.

Heritabilnost broja zrna po biljci (tabela 16) kod potomstava majki i ukrštanja u punom srodstvu kombinacije L 30 x L38 je pokazala slične vrednosti od 0,48 i 0,41 sa zadovoljavajućom pouzdanošću. Potomstva majki i potomstva ukrštanja sa sestrinskom linijom kombinacije L6 x L30 (tabela 17), su pokazala mnogo veću razliku dobijenih vrednosti za heritabilnost broja zrna (0,73 i 0,26). Prema literaturnim podacima, heritabilnost u širem smislu broja zrna po biljci kretala se od 0,35 (Costa i sar. 2008) do 0,95 (Karnwal i Singh, 2009).

Utvrđena je niža heritabilnost mase 1000 zrna za potomstva majki (0,48) kombinacije ukrštanja L 30 x L38 i potomstva ukrštanja sa sestrinskom linijom (0,88) kao što je prikazano u tabeli 16. Kod kombinacije L6 x L30 je za potomstva majki dobijena vrednost heritabilnosti mase 1000 zrna od 0,64 što je više u odnosu na odgovarajuća potomstva ukrštanja u punom srodstvu od 0,28 (tabela 17). Heritabilnost mase 1000 zrna se, prema podacima iz literature, kreće između 0,73 (Nassar, 2013) i 0,91 (Aditya i sar. 2011).

6.4. Koeficijenti korelacije proučavanih osobina soje između potomstava majki i odgovarajućih ukrštanja u punom srodstvu

Da bi se ustanovilo da li postoji i kolika je povezanost između potomstava majki i odgovarajućih sestrinskih ukrštanja u okviru prinosa zrna po biljci i ostalih proučavanih osobina urađene su linearne (proste) korelacione i korelacione ranga po Spirmanu, za kombinacije uspešnijih sestrinskih ukrštanja.

Vrednosti koeficijenata korelacije pojedinih proučavanih osobina između potomstava majki i potomstava njihovih ukrštanja sa sestrinskom linijom za kombinaciju L30 x L38 prikazane su u tabeli 18. Korelaciona povezanost između osobina potomstava majki i odgovarajućih potomstava ukrštanja u punom srodstvu je uglavnom bila niska i nesignifikantna tako da praktično nije postojala.

Tabela 18. Koeficijenti korelacija (r) i koeficijenti korelacija ranga (r_s) proučavanih osobina soje između potomstava majki i potomstava sestrinskih ukrštanja kombinacije L30 x L38

Osobine	r	r_s
Prinos zrna po biljci	-0,116	-0,191
Visina stabla	0,487*	0,424*
Visina najniže mahune	0,159	0,393
Broj nodusa	-0,002	0,066
Broj grana	0,179	0,192
Broj mahuna	0,156	0,181
Broj zrna	0,141	0,136
Masa 1000 zrna	0,307	0,638**

*statistički značajno na nivou 5% verovatnoće

** statistički značajno na nivou 1% verovatnoće

Utvrđena je pouzdana, srednje jaka koreaciona veza između visine stabla potomstava majki i visine stabla potomstava ove kombinacije ukrštanja u punom srodstvu i to kako preko koeficijenta proste korelacijske tako i preko koeficijenta korelacijske ranga. Prema koeficijentu korelacijske ranga konstatovana je i visoko signifikano značajna povezanost između veličine zrna potomstava majki i veličine zrna potomstava sestrinskih ukrštanja. Ovakve vrednosti koeficijenata korelacijske ukazuju nato da su visina stabla i masa 1000 zrna bile osobine na koje je komponenta oca imala najmanji uticaj.

Tabela 19. Koeficijenti korelacija (r) i koeficijenti korelacijskog ranga (r_s) proučavanih osobina soje između potomstava majki i potomstava sestrinskih ukrštanja kombinacije L6 x L30

Osobine	r	r_s
Prinos zrna po biljci	-0,171	-0,057
Visina stabla	0,419	0,389
Visina najniže mahune	0,033	0,093
Broj nodusa	0,143	0,118
Broj grana	-0,103	-0,161
Broj mahuna	-0,190	-0,182
Broj zrna	-0,287	-0,289
Masa 1000 zrna	0,341	0,300

Povezanost pojedinih proučavanih osobina između potomstava majki i potomstava ukrštanja u bliskom srodstvu za kombinaciju L6 x L30 prikazana je u tabeli 19. Nije utvrđena pouzdana povezanost između potomstava majki i odgovarajućih potomstava ukrštanja u punom srodstvu ni za jednu od proučavanih osobina.

Nedostatak povezanosti proučavanih osobina potomstava linije L6, koja je korišćena kao majka i potomstava njenih ukrštanja sa sestrinskom linijom, ukazuje na uticaj komponente koja je korišćena kao otac (L30), u ovoj kombinaciji ukrštanja sestrinskih linija.

6.5. Genetička dobit od selekcije

Za kombinacije L30 x L38 i L6 x L30 izračunata je genetička dobit i relativna genetička dobit po kategorijama potomstava, za prinos zrna po biljci i ostale proučavane osobine vezane za prinos.

Tabela 20. Genetička dobit od selekcije za potomstva majki (L30 F_{3:4}) i potomstva sestrinskih ukrštanja soje kombinacije (L30 x L38 FSF_{1:2})

Osobine	Potomstva	G _s	R (%)	Srednja vrednost
Prinos zrna po biljci (g)	L30 F _{3:4}	0,96	7,75	12,38
	L30 x L38 FSF _{1:2}	0,54	4,18	12,98
Visina stabla (cm)	L30 F _{3:4}	6,62	6,10	108,65
	L30 x L38 FSF _{1:2}	7,24	6,46	111,99
Visina najniže mahune (cm)	L30 F _{3:4}	0,15	0,62	24,09
	L30 x L38 FSF _{1:2}	1,93	7,78	24,61
Broj nodusa	L30 F _{3:4}	0,79	4,49	17,55
	L30 x L38 FSF _{1:2}	0,95	5,44	17,51
Broj grana	L30 F _{3:4}	0,24	14,25	1,73
	L30 x L38 FSF _{1:2}	0,03	1,81	1,74
Broj mahuna	L30 F _{3:4}	1,12	3,55	31,81
	L30 x L38 FSF _{1:2}	0,95	2,86	33,25
Broj zrna	L30 F _{3:4}	4,80	6,75	71,15
	L30 x L38 FSF _{1:2}	4,41	5,89	74,91
Masa 1000 zrna (g)	L30 F _{3:4}	6,56	3,80	172,79
	L30 x L38 FSF _{1:2}	12,05	7,00	172,16

Prema ostvarenoj genetičkoj dobiti, prikazanoj u tabeli 20, proučavane osobine potomstava iz kombinacije L30 x L38 su se svrstale u dve grupe. Genetička dobit za prinos zrna po biljci bila je veća kod potomstava majki (0,96g) u odnosu na potomstva ukrštanja u punom srodstvu (0,54g), a isti odnos je konstatovan i za broj grana (0,24 kod potomstava majki i 0,03 kod potomstava ukrštanja sa sestrinskom linijom), broj mahuna (1,12 za potomstva L30 i 0,95 za potomstva L30 x L38) i za broj zrna, sa ne tako drastičnom razlikom sa vrednostima od 4,80 i 4,14 zrna po biljci za odgovarajuća potomstva. U drugu grupu spadaju osobine kod kojih je izračunata vrednost genetičke dobiti bila veća za potomstva sestrinskih ukrštanja u odnosu na potomstva majki. Ovde spadaju visina stabla (7,24 cm za potomstva sestrinskih ukrštanja u odnosu na 6,62 cm za potomstva majki), visina mahune (1,93 cm za potomstva sestrinskih ukrštanja u odnosu na 0,15 cm za potomstva majki), broj nodusa (0,95 za potomstva L30 x L38 i 0,79 za potomstva L30) i masa 1000 zrna sa uočljivom razlikom izračunate vrednosti genetičke dobiti između testiranih potomstava ukrštanja u punom srodstvu od 12,05g i njihovih majki od 6,56g. Prosečne vrednosti za sve proučavane osobine kod obe kategorije potomstava iz kombinacije L30 x L38 se nisu značajno razlikovale tako da se isti odnosi vide i kada se posmatra genetička dobit preko relativnog pokazatelja. Najveća relativna genetička dobit je izračunata za broj bočnih grana po biljci za potomstva linije L30 (14,25%) a najmanja (0,62%) za visinu najniže mahune istog potomstva. Najveća razlika između genetičke dobiti ostvarene kod potomstava majki i sestrinskih ukrštanja u okviru ove kombinacije utvrđena je za osobinu broj grana (14,25% i 1,81%) a najmanja za visinu stabla (6,10% i 6,46%).

Dobit od selekcije za potomstva odgajena iz linije L6 i njenog ukrštanja sa sestrinskom linijom L30 prikazana je u tabeli 21. Može da se kaže da je genetička dobit za prinos zrna po biljci je bila identična za obe kategorije potomstava (0,75g i 0,76g), što se vidi i po relativnom pokazatelju (6,47% i 6,21%). Kod ostalih proučavanih osobina vrednosti za genetičku dobit od selekcije su se više razlikovale. Genetička dobit kod potomstava ukrštanja L6 x L30 za visinu stabla (7,46 cm) i visinu najniže formirane mahune (1,47 cm) bila je viša u odnosu na visinu (2,08 cm) i visinu mahune (0,72 cm) potomstava njihovih majki. Ostvarena genetička dobit kod potomstava majki za broj nodusa (0,80), broj grana (0,52), broj mahuna po biljci (3,66), broj zrna po biljci (8,81) i masu 1000 zrna (7,94g), bila je viša u odnosu na dobit za broj nodusa (0,58), broj grana

(0,04), broj mahuna (1,43) i masu 1000 zrna (3,39g) potomstava ukrštanja u punom srodstvu. Upoređivanjem izračunatih vrednosti relativne genetičke dobiti od selekcije utvrđeno je da je najveća dobit ostvarena za broj grana potomstava majki (35,4%), mada to ne predstavlja ni jednu celu granu po biljci, a najmanja (1,88%) za visinu stabla potomstava majki.

Tabela 21. Genetička dobit od selekcije za potomstva majki ($L6 F_{3:4}$) i potomstva sestrinskih ukrštanja soje kombinacije ($L6 \times L30 FSF_{1:2}$)

Osobine	Potomstva	G_s	R (%)	Srednja vrednost
Prinos zrna po biljci (g)	$L6 F_{3:4}$	0,75	6,47	11,54
	$L6 \times L30 FSF_{1:2}$	0,76	6,21	12,30
Visina stabla (cm)	$L6 F_{3:4}$	2,08	1,88	110,6
	$L6 \times L30 FSF_{1:2}$	7,46	6,78	110,1
Visina najniže mahune (cm)	$L6 F_{3:4}$	0,72	2,78	25,9
	$L6 \times L30 FSF_{1:2}$	1,47	5,94	24,8
Broj nodusa	$L6 F_{3:4}$	0,80	4,78	16,89
	$L6 \times L30 FSF_{1:2}$	0,58	3,45	19,90
Broj grana	$L6 F_{3:4}$	0,52	35,4	1,49
	$L6 \times L30 FSF_{1:2}$	0,04	2,45	1,48
Broj mahuna	$L6 F_{3:4}$	3,66	11,41	32,03
	$L6 \times L30 FSF_{1:2}$	1,43	4,26	33,53
Broj zrna	$L6 F_{3:4}$	8,81	12,78	70,64
	$L6 \times L30 FSF_{1:2}$	2,20	3,01	73,24
Masa 1000 zrna (g)	$L6 F_{3:4}$	7,94	4,98	159,60
	$L6 \times L30 FSF_{1:2}$	3,39	2,06	164,92

Sudarić i sar. (2001) su dobili niske vrednosti za genetičku dobit (0,038-0,045t/ha) i saglasno tome, relativnu genetičku dobit od selekcije od svega 0,98-1.2%. Testirali su divergentan materijal koji se sastojao od elitnih F4-F6 linija i standardnih sorti. Genetička dobit od selekcije, ostvarena u potomstvima testiranim u ovoj disertaciji je u saglasnosti sa rezultatima koje su objavili Miladinović i sar. (2011). Testirali su genotipove soje različitog porekla i iz različitih izvora. Rezultati prikazani u ovoj doktorskoj disertaciji se nalaze u okvirima široke lepeze vrednosti za genetičku dobit koje su objavili pomenuti autori: za prinos zrna $G_s = 17,6\text{-}362\text{kg/ha}$ odnosno $R = 0,84\text{-}11,8\%$; za broj mahuna po biljci $G_s = 0,4\text{-}16,3$ i $R = 1,2\text{-}37,9\%$; za broj zrna po biljci $G_s = 2,2\text{-}40,6$ i $R = 2,8\text{-}39,2\%$; za masu 1000 zrna $G_s = 5,9\text{-}34,8\text{g}$ i $R = 3,7\text{-}22,2\%$.

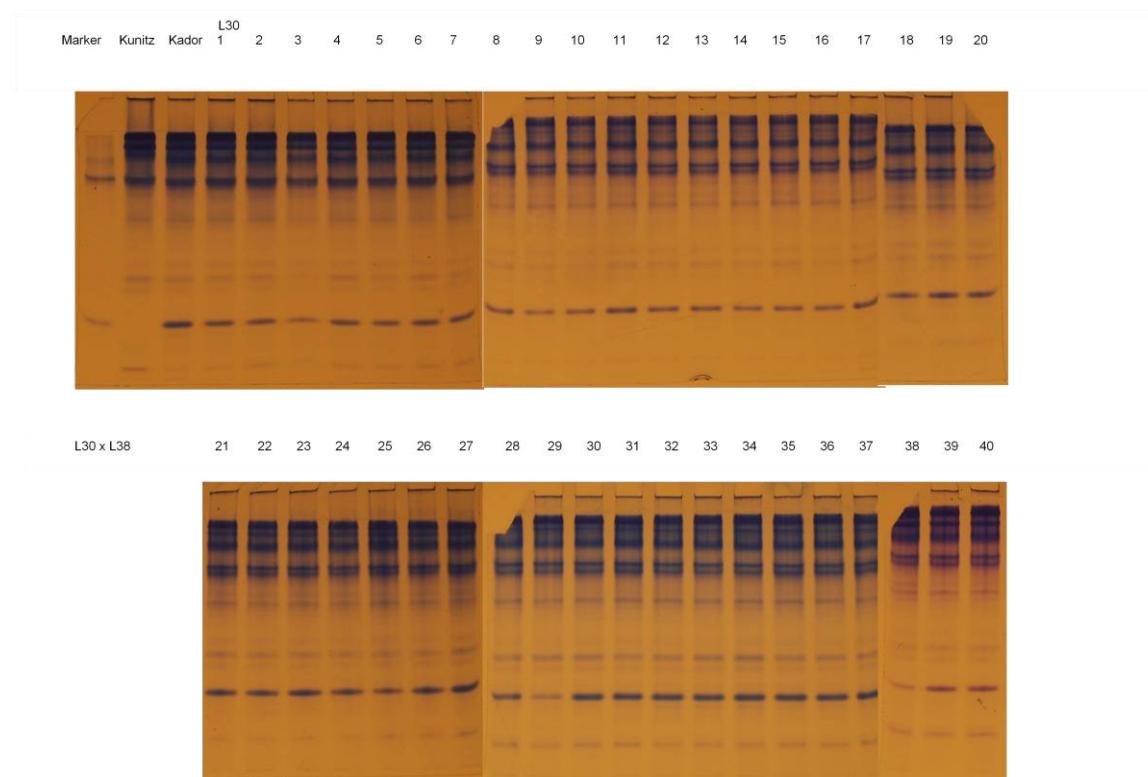
6.6. Gel elektroforeza

Za identifikaciju prisustva Kunitz tripsin inhibitora su urađeni elektroforegami potomstava razvijenih iz odabranih linija dobijenih iz ukrštanja Kunitz x Kador i njihovih sestrinskih kombinacija u sledećem ciklusu ukrštanja. Korišćeni pufer je selektivno izdvojio proteine iz uzorka, tako da su na elektroforegramu dobijene jasno izdvojene trake na mestu gde treba da se nalazi Kunitz tripsin inhibitor.

Na osnovu elektroforegrama je uočeno da trake koje odgovaraju poziciji Kunitz tripsin inhibitora nisu istog intenziteta. Moguće je da trake slabijeg intenziteta pripadaju heterogenim i/ili heterozigotnim potomstvima, s obzirom da potomstva majki pripadaju $F_{3:4}$ generaciji, a potomstva njihovih ukrštanja u punom srodstvu $FSF_{1:2}$ generaciji. Analiza je rađena iz grupnog uzorka, tako da je moguće da se u uzorku nalaze zrna hetreozigotnih biljaka ili zrna sa i bez Kunitz tripsin inhibitora. Primenom ove metode, koja je kvalitativna, ne mogu da se pouzdano razlikuju dominantni homozigoti i heterozigoti na ovom lokusu.

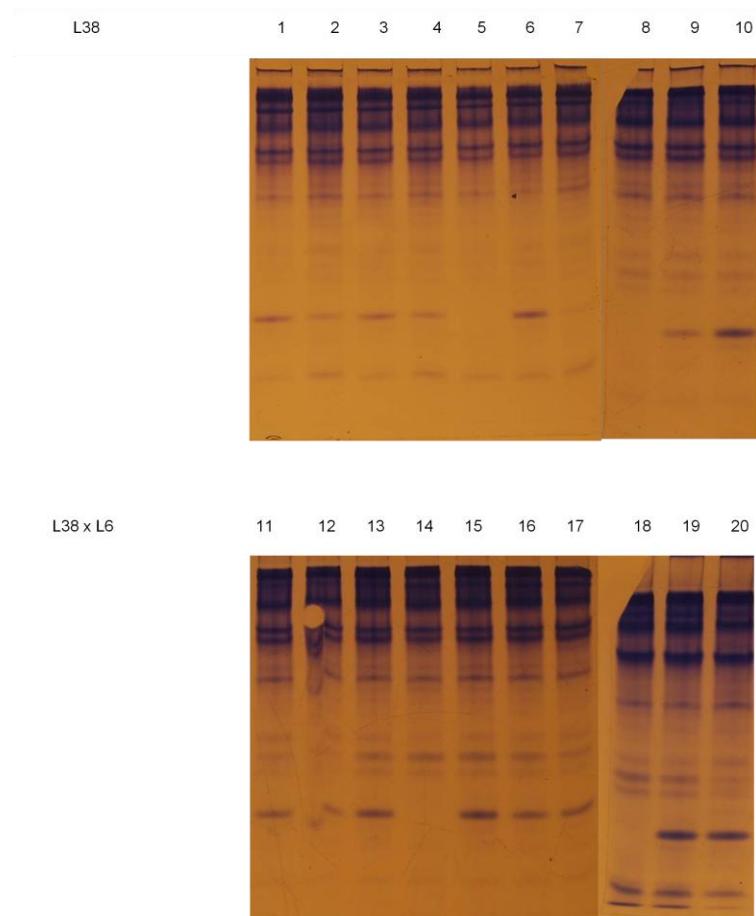
Na slici 2 prikazan je elektroforegram za identifikaciju prisustva Kunitz tripsin inhibitora u zrnu potomstava majki i sestrinskih ukrštanja soje za kombinaciju L30 x L38. Prvi uzorak je marker odnosno Kunitz tripsin inhibitor, koji je u procesu gel elektroforeze zauzeo svoje mesto i pokazuje gde treba da se nalazi traka kod grupnih uzoraka semena soje koje sadrži Kunitz tripsin inhibitor (koje ima dominantnu ili heterozigotnu konstituciju alela za prisustvo Kunitz tripsin inhibitora u zrelom zrnu).

Drugi uzorak pripada početnom roditelju bez Kunitz tripsin inhibitora, sorti Kunitz. Treći uzorak je dobijen iz zrna sorte Kador, standardnog kvaliteta zrna, koja sadrži Kunitz tripsin inhibitor. Jasno se vidi izražena traka na odgovarajućoj poziciji kod sorte Kador, dok kod sorte Kunitz ona nedostaje. Uzorci potomstava majki iz ove kombinacije obeleženi su brojevima 1-20 a odgovarajućih potomstva njihovih ukrštanja u punom srodstvu brojevima 21-40. Identifikovano je prisustvo Kunitz tripsin inhibitora kod svih 20 potomstava majki, tako da L30 predstavlja genotip sa dominantnom homozigotnom konstitucijom alela za prisustvo Kunitz tripsin inhibitora. Bez obzira na heterogenu konstituciju druge sestrinske linije L38 (koja se može videti na slici 3) sa kojom je ukrštena, kao što je i očekivano, i potomstva ukrštanja u punom srodstvu su takođe pokazala prisustvo trake na mestu gde se nalazi Kunitz tripsin inhibitor. Znači da iz ovih potomstava možemo da odaberemo perspektivan materijal samo na osnovu prinosa zrna, a mogućnost da se u narednim generacijama odabiranja izdvoji potomstvo bez Kunitz tripsin inhibitora sa zadovoljavajućim prinosom zrna nije velika.



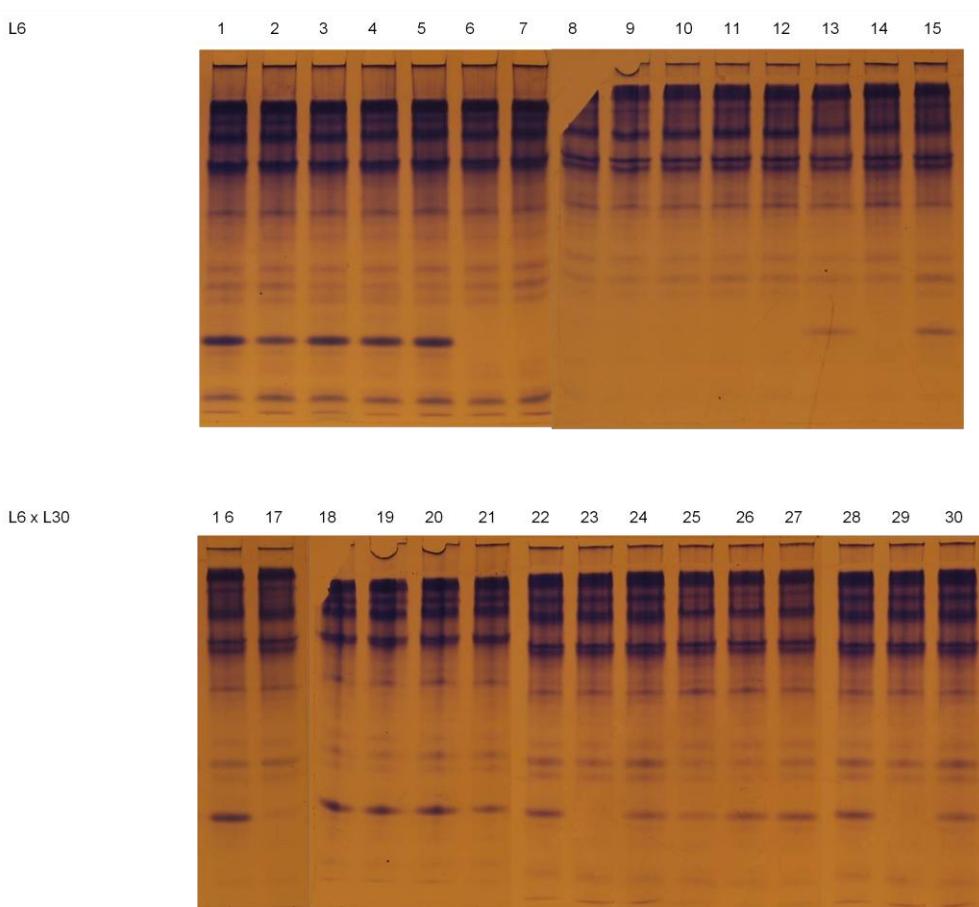
Slika 2. Elektroforegram potomstava majki i sestrinskih ukrštanja soje za kombinaciju L30 x L38

Rezultat gel elektroforeze grupnih uzoraka zrna potomstava biljaka majki L38 i njihovih ukrštanja sa sestrinskom linijom soje L6 prikazan je na slici 3. Potomstva majki označena su brojevima 1-10 a potomstva njihovih sestrinskih ukrštanja 11-20. Potomstva majki označena sa 5, 7 i 8 i potomstva ukrštanja sa sestrinskom linijom označena sa 14 i 18 nemaju traku na mestu gde treba da se nalazi Kunitz tripsin inhibitor na elektroforegramu, ova potomstva su identifikovana kao genotipovi bez Kunitz tripsin inhibitora u zreloem zrnu. Ovo znači da je odabrana F₃ linija L30 bila heterozigotna za prisustvo Kunitz tripsin inhibitora. Perspektivan materijal iz ove kombinacije može da se odabira ne samo prema postignutom prinosu zrna, već i uzimajući u obzir prisustvo Kunitz tripsin inhibitora u zreloem zrnu. Identifikovana potomstva bez Kunitz tripsin inhibitora su po svom prinosu zrna po biljci, prikazanom u tabeli 5, na nivou adaptiranog roditelja, što znači da ih možemo smatrati perspektivnim.



Slika 3. Elektroforegram potomstva majki i sestrinskih ukrštanja soje za kombinaciju L38 x L6

Na slici 4 je prikazan elektroforegram potomstava majki i sestrinskih ukrštanja za kombinaciju L6 x L30. Identifikovano je 8 potomstava linije L6 (označena sa 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 i 14) i 3 potomstva ukrštanja u punom srodstvu (označena sa 17, 23 i 29) bez Kunitz tripsin inhibitora. Kao i kod prethodne kombinacije, i u okviru potomstava L6 i L6 x L30, odabiranje linija za dalji postupak selekcije može se obaviti ne samo po prinosu zrna, kao glavom kriterijumu, već i po prisustvu Kunitz tripsin inhibitora. Visoko signifikantno bolji prinos zrna po biljci u odnosu na boljeg početnog roditelja, u okviru potomstava ove kombinacije sestrinskog ukrštanja pokazalo je potomstvo označeno kao 23 (tabela 6), koje ujedno predstavlja najperspektivnije potomstvo bez Kunitz tripsin inhibitora u zrnu.



Slika 4. Elektroforegram potomstva majki i sestrinskih ukrštanja soje za kombinaciju
L6 x L30

Ostala potomstva linije majke i njenih ukrštanja sa sestrinskom linijom, bez Kunitz tripsin inhibitora, pokazala su signifikantno i visoko signifikantno niži prinos zrna po biljci u odnosu na adaptiranog roditelja, sortu Kador.

Varijabilnost svih proučavanih osobina soje kao i prinosa zrna, kao najvažnije osobine, se nije značajno povećala kod potomstava ukrštanja u punom srodstvu u odnosu na potomstva majki, a srednje vrednosti su ostale na istom nivou. Bez obzira na to, identifikovano je više superiornih potomstava, u odnosu na adaptiranog roditelja, posle ukrštanja u punom srodstvu i kada se uzme u obzir i prisustvo Kunitz tripsin inhibitora. Zbog svega toga ovakav ili sličan postupak pri stvaranju novih sorti može da nađe svoju primenu, posebno ako se radi o materijalu sa nekom specifičnom osobinom, kao što je odsustvo Kunitz tripsin inhibitora u zrelom zrnu.

7. ZAKLJUČAK

Postupak ukrštanja u punom srodstvu primjenjen je za formiranje početnog materijala u cilju stvaranja perspektivnih linija soje prvenstveno bez Kunitz tripsin inhibitora u zrnu.

Zbog specifične građe cveta i tehnike ukrštanja, uspešnost po je kombinacijama bila različita.

Model analize varijanse koji je primjenjen za statističku obradu podataka omogućio je razdvajanje efekata spoljne sredine od efekta genotipa. Istovremeno je omogućena najveća preciznost za testiranje faktora od najvećeg značaja – genotipa, u ovom slučaju testirana potomstva u odnosu na početne roditelje.

Utvrđene su signifikantne i visoko signifikantne razlike za sve proučavane osobine u okviru odgovarajućih potomstava.

Srednje vrednosti potomstava ukrštanja u punom srodstvu se nisu značajno razlikovale od srednjih vrednosti potomstava majki za sve proučavane osobine i kombinacije ukrštanja u punom srodstvu.

Sva testirana potomstva su pokazala bolji prinos zrna u odnosu na sortu Kunitz, uglavnom uz statističku značajnost.

Kod svih kombinacija sestrinskih ukrštanja identifikovana su prinosnija potomstva u odnosu na sortu Kador, kako kod potomstava sestrinskih ukrštanja tako i kod potomstava njihovih majki.

Uticaji godine i lokacije na varijabilnost osobina obuhvaćenih proučavanjem su uglavnom bili statistički značajni i vrlo značajni, sa izuzetkom visine najniže mahune i broja grana kod potomstava linije L6 i kombinacije ukrštanja L6 x L30.

Varijabilnost između potomstava sestrinskih ukrštanja se nije povećala u odnosu na varijabilnost potomstava majki kod svih testiranih osobina. Varijabilnost prinosa zrna po biljci se nešto povećala kod jedne od dve kombinacije ukrštanja u punom srodstvu (L30 x L38) koje su obuhvaćene statističkom obradom. Najveća varijabilnost je utvrđena za osobinu broj grana po biljci, kod svih testiranih potomstava.

Bez obzira na usku genetičku osnovu proučavanog materijala, heritabilnost u širem smislu je pokazala velike razlike između potomstava majki i odgovarajućih sestrinskih ukrštanja u okviru svake osobine obuhvaćene istraživanjem.

Nije utvrđena pouzdana korelaciona povezanost osobina potomstava majki sa istim osobinama potomstava sestrinskih ukrštanja, sa izuzetkom visine stabla i mase 1000 zrna kod kombinacije L30 x L38.

Izračunate vrednosti za genetičku dobit od selekcije bile su vrlo različite za sve osobine i potomstva. Za većinu proučavanih osobina veća genetička dobit je postignuta kod potomstava majki.

Gel elektroforezom je obavljena identifikacija prisustva Kunitz tripsin inhibitora u zrnu, što je bitan kriterijum za odabiranje iz potomstava obuhvaćenih eksperimentom. Na taj način su se iz grupe perspektivnih potomstava izdvojili genotipovi sa željenom osobinom, pri čemu se potomstvo označeno sa 23 iz kombinacije L6 x L30 može smatrati najperspektivnijim.

8. LITERATURA

- Aditya J. P., P. Bhartiya, A. Bhartiya (2011): Genetic variability and character association for yield and component characters in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). *Jour. of Central European Agriculture.* 12(1):27-37
- Ahrent D. K. and C. E. Caviness (1994): Natural cross-pollination of twelve soybean cultivars in Arkansas. *Crop Sci.* 34: 376-378
- Allard, R. W. (1960): Principles of Plant Breeding. Ed. by John Wiley and Sons., Inc. New York, 1-485.
- Alliprandini L. F. and N. A. Vello (2004): Heritability and correlelions among traits in four-way soybean crosses. *Euphytica.* 136:81-91
- Badu-Apraku B. (2010): Effects of Recurrent Selection for Grain Yield and *Striga* Resistance in an Extra-Early Maize Population. *Crop Sci* 50:1735-1743.
- Birk Y. (1961): Purification and some properties of a highly active inhibitor of α -chymotrypsin from soybeans. *Biochim. Biophys. Acta.* 54:378-381
- Becker-Ritt A. B., F. Mulinari, I. M. Vasconcelos, C. R. Carlini (2004): Antinutritional and/or toxic factors in soybean (*Glycine max*. (L) Merril) seeds: comparison of different cultivars adapted to the southern region of Brazil. *J Sci Food Agric* 84:263–270
- Bekrić V., I. Božović, M. Srebrić (1983): Upotreba sojinog zrna i njegovih proizvoda u ishrani domaćih životinja. *Poljoprivreda.* 290: 22-29
- Bernard R. L. 1972: Two Genes Affecting Stem Termination in Soybeans. *Crop Sci.* 12:235-239
- Bernard R. L., Hymowitz T. and Cremens C. R. (1991): Registration of “Kunitz” soybean. *Crop. Sci.* 31:232-233.

- Bernard, Richard L., Juvik Gail A., Hartwig, Edgar E., Edvards Calton J. (1988): Origins and pedigrees of public varieties in the United States and Canada. Technical Bulletin United States Department Agriculture no. 1746. Agriculture Research Service. United States Department of Agriculture
- Bhat S., G. T. Basaravaja, P. M. Slimath (2012): Analysis of variability in segregating generation of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). Karnataka Jour. Agric. Sci. 25(2): 176-178
- Borojević S. (1981): Principi i metodi oplemenjivanja bilja. Novi Sad. Ćirpanov. 1981.
- Brim C. A. and J. W. Burton (1979): Recurrent selection in soybeans. II. Selection for increased percent protein in seeds. Crop Sci 19:494-498
- Burton J. W. and C. A. Brim (1981): Recurrent selection in soybeans. III. Increased percent oil in seeds. Crop Sci 21: 31-34
- Burton J. W, C. Browne (2006): Heterosis and inbreeding depression in two soybean single crosses. Crop Sci. 46: 2643-2648
- Burton, J. W., E. M. K. Koinange,, C. A. Brim (1990): Recurrent selfed progeny selection for yield in soybean using genetic male sterility. Crop Sci 30: 1222-1226
- Burton J. W., R. F. Wilson and C. A. Brim (1983): Recurrent selection in soybeans. IV. Selection for increased oleic acid percentage in seed oil. Crop Sci 23: 744-747
- Carvalho W. L., M. G. Almeida-Oliviera, E. G. Baross, M. A. Moreira (1998): Determination of genotypic classes for trypsin inhibitor in soybean seeds. Biotechnology Technics. 12(12): 859-863
- Chan K., R. Lee, F. Thseng (1986): Genetic variation of soybean hybrid populations by natural selection in spring crop season at four locations II Variation of heritabilities and correlations for certain agronomic characters in F_2 generation. Jour. Agric. Res. China 35(3): 280-291
- Jongil Chung (2011). Identification and Confirmation of SSR Marker Tightly Linked to the Ti Locus in Soybean [*Glycine max* (L.) Merr.], Soybean - Genetics and Novel Techniques for Yield Enhancement, Prof. Dora Krezsova (Ed.), ISBN: 978-953-307-721-5, InTech,

Available from: <http://www.intechopen.com/books/soybean-genetics-and-novel-techniques-for-yieldenhancement/identification-and-confirmation-of-ssr-marker-tightly-linked-to-the-ti-locus-in-soybean-glycinemax>

Costa M. M., A. O. Di Mauro, S. H. Uneda-Trevisoli, N. H. Castro Ariel, I. Marino Barbaro, G. D. Da Silveira, F. R. Silva Muniz (2008): Heritability estimation in early generations of two-way crosses in soybean. Bragatia, Campinas 67(1): 101-108

De Burin J. L., P. Pedersen (2009): Growth, yield and yield component changes among old and new soybean cultivars. Agronomy Jour 101(1): 124-130

DiPietro C. M., I. E. Liener (1989): Heat inactivation of the Kunitz and Bowman-Birk soybean protease inhibitors. J Agric Food Chem 37:39-44

Dudley J. W. and R. H. Moll (1969): Interpretation and use of estimates of heritability and genetic variances in plant breeding. Crop Sci. 12: 579-582

Falconer D. S. (1960): Introduction to quantitative genetics. Edinburgh, Oliver & Boyd, Second edition 1981.

Feng L., J. W. Burton, T. E. Carter Jr., and V. R. Pntalone (2004): Recurrent half-seeb selection with testcross evaluation for increased oil content in soybean. Crop Sci 44:63-69

Friedman M., D. L. Brandon, A. H. Bates, T. Hymowitz (1991): Comparison of a commercial soybean cultivar and an isolate lacking the Kunitz trypsin inhibitor: Composition, nutritional value and effects of heating. J. Agric. Food Chem. 39: 327-335

Grant G. (1989): Anti-nutritional effects of soyabean: a review. Prog Food Nutr Sci. 13(3-4):317-48

Gu C., H. Pan, Z. Sun, G. Qin (2010): Effect of soybean variety on anti-nutritional factors content, and growth performance and nutrients metabolism in rat. Int J Mol Sci. 11(3): 1048–1056

Guimaraes E. P. and W. R. Fehr (1989): Alternative strategies of recurrent selection for seed yield of soybean. *Euphytica* 40: 111-120

Hadživuković S. (1991): Statistički metodi. Poljoprivredni fakultet. Institut za ekonomiku poljoprivrede i sociologiju sela. Novi Sad.

Hadživuković S. (1979): Statistika. Izdavačka radna organizacija „Rad“, Beograd

Hamerstand, G. E., L. T. Black, J. D. Glover (1981): Trypsin inhibitors in soy products: Modification of the standard analytical procedure. *Cereal Chem.* 58, 42-45.

Hanson W. D. (1989): Standard errors for heritability and expected selection response. *Crop Sci.* 29(6): 1561-1562

Hanson W.D. (1992). Phenotypic recurrent selection for modified reproductive period in soybean. *Crop Sci.* 32:968-972

Ho Kim S., S. Hara, S. Hase, T. Ikenaka, H. Toda, K. Kitamura, N. Kaizuma (1985): Comparative study on amino acid sequences of Kunitz-type soybean trypsin inhibitors, Tia, Tib, Tic. *J. Biochem.* 98(2): 435-448

Holkar S., I. Swaroop, O. P. Girothia, S.H. Sharma (2008): Genotype x environment interaction analyses for seed yield and various characteristics in rainfeed soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). *Soybean Research.* 6:25-30

Hongjun Xu, J.R. Wilcox (1992). Recurrent selection for maturity and percent seed protein in *Glycine max* based on S_0 plant evaluations. *Euphytica* 62: 51-57

Hrustić M., B. Belić, Đ. Jocković (1985): Međuzavisnost komponenata prinosa soje (*Glycine max* (L.) Merrill) i njihov uticaj naprinos zrna po biljci. *Arhiv za polj. nauke.* 46(163):245-251

Hymowitz T. (1986): Genetics and breeding of soybean lacking the Kunitz trypsin inhibitor. In Nutritional and toxicological significance of enzyme inhibitors in food; friedman, M., Ed. ; Plenum Press. New York. 291-298.

Hymowitz T. (1988): Soybeans: The success story, proceedings of the First National Symposium, New Crops: Research, Development, Economics, Indianapolis, Indiana, 159-163

Hymowitz T., H.H. Hadley (1972): Inheritance of a trypsin inhibitor variant in seed protein of soybeans. *Crop Sci.* 12: 197-198

Iqbal S., T. Mahmood, T. M. Ali, M. Anwar, M. Sarwar (2003): Path coefficient analysis in different genotypes of soybean (*Glycine max (L.) Merrill*). *Pakistan Jour. Biol. Sci.* 6(12):1058-1087

Ivanović M., O. Stojnić, R. R. Greder (1987): correlations among grain yields of full-sib, half-sib, and selfed progenies in broad and narrow base populatins of maize (*Zea mays L.*). *Genetika.* 19 (1):37-45

Jajić I., B. Đurić, D. Glamočić (2006): Laboratorijski testovi u službi kontrole kvaliteta termičke obrade soje. *Savremena poljoprivreda.* 55 (5): 57-64

Johnson, H. W. and R. L. Bernard (1963): Soybean genetics and breeding. In: The soybean – genetcs, breeding, physiology, nutrition, management. Edited by A. G. Norman. The University of Michigan. Academic press – New York, san Francico, London. 1-70.

Karnwal M.K., K. Singh (2009): Studies of genetic variability, character association and path coefficient for seed yield and its contributing traits in soybean (*glycine max (L.) Merrill*). *Legume Res.* 32(1): 70-73

Kenwerty W. J. and C. A. Brim (1979): Recurrent selection in soybeans. I. Seed yield. *Crop Sci.* 19:315-318

Kilgore-Norquest L. , Sneller C.H. (2000): Effect of Stem Termination on Soybean Traits in Southern U.S. Production Systems. *Crop Science* 40:83-90

Kim D.S., K.J. Lee, J.B. Kim, S.H. Kim, J.Y.Song, Y.W.Seo, B.M. Lee, S.Y. Kang (2010): Identification of Kunitz trypsin inhibitor mutations using SNAP markers in soybean mutant lines. *Theor.Appl. Genet.* 121: 751-760

Kollipara K.P., J.M. Domagalski, T. Hzmowitz (1991): A quick method of resolving Soybean Kunitz trypsin inhibitor using polyacrilamide gel electrophoresis. *Soybean Genetics Newsletter*. 18: 234-236

Kumar V., A. Rani, C. Tindwani, M. Jain (2003): Lypoxigenase isozymes and trypsin inhibitor activities in soybean as influenced by growing location. *Food Chemistry* 83(1): 79-83

Kunitz M. (1945): Crystallization of a trypsin inhibitor from soybean. *Science*. 101(2635): 668-669

Kwon S. H. and J. H. Torrie (1964): Heritability and interrelationships among traits of two soybean populations. *Crop Sci.* 5: 196-198

Liener I. E. (1994): Implications of antinutritional components in soybean foods. *Crit Rev Food Sci Nutr* 34: 31-67

Lothorp J. E., R. E. Atkins, O. S. Smith (1985): Variability for yield and yield components in IAPIR grain sorghum random-mating population. I. Means, variance components and heritabilities. *Crop Sci.* 25:235-240

Mc Manus M. T., W. A. Laing, L. M. Watson, N. Marwick, C. R. Voisey, D. W. R. White (2005): Expression of the soybean (Kunitz) trypsin inhibitor in leaves of white clover (*Trifolium repens* L.). *Plant Sci.* 168(5):1211-1220

Mehta H., S. K. Sharma, N. R. Rana (1986): Genetic variability, interrelationships and path coefficient analysis of seed technological traits in soybean under different cropping systems. *Soybean Genetics Newsletter*. 13:78-73

Mikel M. A., Brian W. Diers B. W., Randall L. Nelson R. L., Smith H.H. (2010): Genetic Diversity and Agronomic Improvement of North American Soybean Germplasm *Crop Science* 50:1219-1229

Mikić A., V. Perić, V. Đorđević, M. Srebrić, V. Mihailović (2009): Anti-nutritional factors in some grain legumes. *Biotechnology in Animal Husbandry* 25 (5-6): 1181-1188

Miladinović J., Hrustić M. (2008): Značaj, poreklo i širenje soje. U: Soja. Monografija. Institut za ratarstvo i povrtarstvo. Novi Sad, Sojaprotein Bečeј. 13-39

Miladinović, J., Đorđević V. (2008): Morfologija i faze razvića soje. U: Soja. Monografija. Institut za ratarstvo i povrtarstvo. Novi Sad, Sojaprotein Bečeј. 44-66

Miladinović J., J. W. Burton, S. Balešević Tubić, D. Miladinović, V. Đorđević, V. Đukić: (2011): Soybean breeding: comparison of the efficiency of different selection methodes. Turk J. Agric For 35: 469-480

Mladenović Drinić, S., M. Srebrić, V. Perić, M. Stevanović, Z. Čamđija, V. Dragičević and D. Kovačević (2012): Effect og nitrogen on soybean grain quality traits. Book of Proceedings of the 47th Croatian and 7th International symposium on Agriculture, February 13-17, 1012, Opatia, Croatia, pp. 474-477

Monteiro M. R. P., N. M. B. Costa, M. G. A. Oliveira, C. V. Pires, M. A. Moreira (2004): Protein quality of soy lines lacking Kunitz's trypsin inhibitor and lipoxygenase isosymes. Rev. Nutr. 17(2):195-205

MSTAT Development Team (1989): MSTAT-C: A microcomputer program for the design, management and analysis of agronomic research experiments. MSTAT Development Team, Michigan State University, East Lansing.

Nandi A. K., D. Basu, S. Das, S. K. Sen. (1999): High level expression of soybean trypsin inhibitor gene in transgenic tobacco plants failed to confer resistance against damage caused by *Helicoverpa armigera*. J. Biosci 24:445–452.

Nassar M. A. A. (2013): Heterosis and combining ability of yield and its components in some crosses of soybean. Australian Jour. Of Basic and Appl. Sci. 7(1):566-572

Nyquist W. E. (1991): Estimation and prediction of selection response in plant populations. Critical Reviews in Plant Sci 10(3):235-322

Obara T., Y. Watanabe (1971): Heterogeneity of soybean trypsin inhibitors. II Heat inactivation. Cereal Chem. 48:523-527

- Orf J. H., T.Hymowitz (1979): Genetics of the kunitz trypsin inhibitor: An antinutritional factor in soybeans. Journal of the American Oil and Chemists' Society 56(8): 277-726
- Padney J. P., J. H. Torrie (1973): Path coefficient analysis of seed yield components in soybeans (*Glycine max L. Merr.*). Crop Sci 13: 503-505
- Palacios M. F., R. A. Easter, K. T. Soltwedel, C. M. Parsons, M. W. Douglas, T. Hymowitz and J. E. Pettigrew (2004): Effects of soybean variety and processing on growth performance of young chicks and pigs. J. Anim. Sci. 82:1108-1114
- Pathan M. S., D. A. Sleper (2008): Advances in soybean breeding. In G. Stacey (ed.). Genetics and genomics of soybean. Springer Science+Business Media LLC 2008
- Paul p. K., M. S. E. Alam, L. Rahman, L. Hassan, S. K. Paul (2003): Genotype x environment interaction in soybean (*Glycine max L.*). Journal of Biological Sciences. 3(2): 204-214
- Rackis J. J. (1966): Soybean trypsin inhibitors: Their inactivation during meal processing. Food Technol. 20:102-106
- Rajput M. A., G. Sharwar, K. H. Tahir (1987): Variability of some quantitative traits in soybean. Soybean Genetics Newsletter. 14:113-116
- Riblett A. L., T. J. Herald, K. A. Schmidt, K. A. Tilley (2001): Characterization of β -conglycinin and glycinin soy protein fractions from four selected soybean genotypes. Jour Agric. Food Chem. 49: 4983-4989
- Quattara S., D. B. Weaver (1994): Effect of growth habit on yield and agronomic characteristics of late-planted soybean. Crop Sci. 34 (4): 870-873
- Salimi S. (2013): relationships some soybean genotypes based on morphological and biochemical marker. International Agronomy and Plant Production 4(9): 2237-2243
- Sessa D. J., T. C. Nelsen (1991): Chemical inactivation of soybean protease inhibitors. Journal of the American Oil Chemists' Society. 68 (7): 463-470

Snedecor G.W. (1959): Statistical Methods, I. S. C. P., Ames, Iowa

Song S. L., C. H. Kim, S. J. Baek, Y. D. Choi (1993): Nucleotide sequences of cDNAs encoding the precursor for soybean (*Glycine max*) trypsin inhibitors (Kunitz type). *Plant Physiol.* 101:1401-1402

Srebrić M., S.Žilić, V. Perić, Lj. Jankulovski, D. Kovačević, S. Mladenović Drinić (2010): Variability of protein, oil and trypsin inhibitor content of ZP soybean genotypes. 45th Croatian & 5th International Symposium on Agriculture. Book of Proceedings. 15-19 February, Opatia, Croatia. 500-503

Stanković G. (2002): Genetička varijabilnost i genetička dobit od selekcije kod sintetičke populacije kukuruza (*Zea mays* L.). Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Novom Sadu. Magistarska teza.

Stojković S., N. Deletić, M. Biberdžić, D. Beković, M. Aksić 2008: Varijabilnost i povezanost komponenti prinosa kod S1 i HS potomstava jedne F3 populacije kukuruza. *Selekcija i semenarstvo. XIV*, 1-4: 63-68

Sudarić A., Vratarić M., Mladenović Drinić S., Zdunić Z. (2011). Genetic Improvement: Molecular-Based Strategies, Soybean - Molecular Aspects of Breeding, Aleksandra Sudaric (Ed.), ISBN: 978-953-307-240-1, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/articles/show/title/genetic-improvement-molecular-based-strategies>

Sudarić A., M. Vratarić, T. Duvnjak (2002): Quantitative analysis of yield components and grain yield for soybean cultivars. *Poljoprivreda*. 8(2):11-15

Sudarić A., M. Vratarić, T. Duvnjak, R. Sudar (2001): Genetski napredak u kvantitativnim svojstvima uroda i kakvoće zrna OS-linja soje I grupe zriobe, *poljoprivreda* 7(2):8-15

Šurlan-Momirović G. (1987): Genetičke i fenotipske korelacije morfoloških i biohemijskih osobina razičitih sorti soje (*Glycine max* (L.) Merrill). Doktorska disertacija. Sveučilište u Zagrebu, Fakultet poljoprivrednih znanosti. Zagreb

Tezuka M., H. Taira, Y. Igarashi, K. Yagasaki, T. Ono (2000): Properties of tofus and soy milks prepared from soybeans having different subunits of glycinin. Jour Agric. Food Chem. 48: 1111-1117

Tinius C. N., J.W. Burton, T. E. Carter Jr. (1991): Recurrent selection for seed size in soybean: Response to selection in replicate populations. Crop Sci 31: 1137-1141

Trenkovski S., R. Cmiljanić, T. Smiljković, G. Marinkov, Lj. Stojanović (2006): Osnovi teorije elektroforeze i mogućnosti primene. Biotechnology and Animal Husbandry 22 (5-6): 33-43

Van den Hout R., M. Pouw, H. Gruppen, Van't Riet K. (1998): inactivation kinetics study of the Kunitz soybean trypsin inhibitor and the Bowman-Birk inhibitor. J. Agric. Food Chem. 46: 281-285

Vollmann J., H.Grausgruber, H. wagentristl, H. Wohleser, P. Mchele (2003): Trypsin inhibitor activity of soybean as affected by genotype and fertilization. J Sci Food Agric 83:1581-1586

Vratarić, M., A. Sudarić (2008): Soja *Glycine max*. Monografija. Poljoprivredni institut Osijek.

Vratarić, M., A. Sudarić, T. Duvnjak, K. Šunjić (2010): Agronomска vrijednost vrlo ranih sorata soje. Sjemenarstvo 27(1-2): 5-17

Werner B. K., J. R. Wilcox (1990): Recurrent selection for yield in *Glycine max* using genetic male-sterility. Euphytica. 50: 19-26

Wilcox, J. R. (1998): Increasing seed protein in soybean with eight cycles of recurrent selection. Crop Sci.35, 1536-1540.

Wilcox, J. R. (1998a): Metodi oplemenjivanja soje. U: Soja. Monografija. Institut za ratarstvo i povrtarstvo Novi Sad, Sojaprotein DD za preradu soje Bečej

Wilson K. A. (1981): The structure, function and evolution of legume proteinase inhibitors. In RL Ory, Ed. Antinutritiens and natural toxicans in food. Food and Nutrition Press, Inc., Westport, CT, 187-360

Wilson R. F. (2008): Soybean: Market driven research needs. In: Genetics and genomics of soybean. Springer Science+Business Media, LLC: 3-15

Wolf W. J. (1977): Physical and chemical properties of soybean proteins. Journal of the American Oil and Chemists' Society. 54(2): 112A-117A

Žilić S., M. Jovanović (Srebrić), I. Božović, V. Bekrić (1998): Effects of the Kunitz trypsin inhibitor on agronomic characteristics of soybean, Genetika, 30 (3): 245-255

Žilić S., S. Sredojević, I. Božović, M. Jovanović (Srebrić) (1998a): Uticaj sadržaja Kunitz tripsin inhibitora na prinos i ukupan sadržaj ulja i protein u zrnu soje. Savremena poljoprivreda. 3-4: 67-70

Yue-Feng G., Zhen Z., Gui-Fang X., Yu Z., Qian W., Xiang-Hui L. (1998): Isolation of soybean Kunitz trypsin inhibitor gene and its application in plant insect-resistant genetic engineering. Acta Botanic Sinica. 5:405-411

BIOGRAFIJA

Mirjana Srebrić je rođena 26.11.1954. godine u Beogradu. Diplomirala je na Poljoprivrednom fakultetu u Beogradu, Odsek za ratarstvo 1982. godine. Magistarsku tezu pod nazivom “Proučavanje genetičke i fenotipske zavisnosti prinosa zrna soje (*Glycine max, L. Merrill*)” odbranila je 06.07.1994. godine na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Beogradu, grupa Genetika i oplemenjivanje ratarskih i povrtarskih biljaka. Kandidat je zaposlen u Institutu za kukuruz “Zemun Polje” u Odeljenju za Oplemenjivanje, Grupa za selekciju soje a u okviru Sektora za Naučnoistraživački rad. Objavila je, kao autor i koautor 71 rad i 80 saopštenja. Autor je 7 priznatih sorti soje, od čega dve bez Kunitz-tripsin inhibitora u zrnu. Kao prvi autor i član tima dobitnik je dve zlatne medalje i jedne Grand prix nagrade sa likom Nikole Tesle, dve godišnje nagrade Privredne komore Beograda, dve bronzane medalje na međunarodnoj izložbi.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а Мирјана Сребрић

број уписа 1251/1

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

„Оплемењивање соје укрштањем у пуном сродству у циљу повећања приноса
зрна“

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

Потпис докторанда

У Београду, _____

Прилог 2.

**Изјава о истоветности штампане и електронске
верзије докторског рада**

Име и презиме аутора Мирјана Сребрић _____

Број уписа 1251/1 _____

Студијски програм Ратарство и повртарство _____

Наслов рада „Оплемењивање соје укрштањем у пуном сродству у циљу повећања
приноса зрна“ _____

Ментор др Гордана Шурлан Момировић, редовни професор _____

Потписани _____

изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској
верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног
репозиторијума Универзитета у Београду**.

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

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

Потпис докторанда

У Београду, _____

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

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

„Оплемењивање соје укрштањем у пуном сродству у циљу повећања приноса зрна“

која је моје ауторско дело.

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

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

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

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

Потпис докторанда

У Београду, _____

1. Ауторство - Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.
2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.
3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.
4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.
5. Ауторство – без прераде. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.
6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцима, односно лиценцима отвореног кода.