

UDK 633.15:631.527.8

Prestizna selekciona svojstva samooplodnih linija kukuruza - dobra osnova za progres u oplemenjivanju*

- Originalni naučni rad -

Čedomir RADENović^{1,2}, Milomir FILIPOVIĆ¹, Goran STANKOVIĆ¹,
Dragojlo SELAKOVIĆ¹, Mile SEČANSKI¹, Ksenija MARKOVIĆ¹,
Zoran ČAMDŽIJA¹ i Jovan PAVLOV¹

¹Institut za kukuruz "Zemun Polje", Beograd

²Fakultet za fizičku hemiju, Univerzitet u Beogradu, Beograd

Izvod: U ovom radu potvrđuje se naša hipoteza da postoje elitne inbred linije kukuruza sa uspravnim položajem vršnih listova koje poseduju dominantno svojstvo efikasnog fotosintetično-fluorescentnog modela, te da se, kao takve, mogu uspešno koristiti u savremenim programima oplemenjivanja i proizvodnje hibridnog semena kukuruza. Ovoj konstataciji idu u prilog izloženi rezultati o uspravnom položaju vršnih listova prestižnih linija kukuruza, dinamici otpuštanja vode iz zrna u periodu sazrevanja i o fotosintetično-fluorescentnim pokazateljima: temperaturnoj zavisnosti intenziteta zakasnele fluorescencije hlorofila, Arenijusovom kriterijumu za određivanje kritičnih temperatura (temperature faznih prelaza) i o energiji aktivacije. Ukupno izloženi rezultati pokazuju da su svojstva prestižnih inbred linija kukuruza zasnovana na prirodi strukturnih i funkcionalnih promena, koje se odigravaju u njihovim tilakoidnim membranama i drugim hemijskim strukturama tkiva intaktnog lista i zrna, kao i na pozitivnim efektima u oplemenjivanju kukuruza.

Ključne reči: linija, list, tilakoidna membrana, fotosintetično-fluorescentni model, zakasnela fluorescencija hlorofila.

Uvod

U brojnim istraživanjima neophodno je povezivanje složenih i međuzavisnih procesa u osnovnim, multidisciplinarnim i primenjenim naukama. U ovom radu, prikazani su rezultati međuzavisnog istraživanja u oplemenjivanju, fotosintezi, fluorescenciji,

* Ovaj rad autori posvećuju uspomeni i dugom sećanju na lik i delo prerano preminulom dr Iliji Štariću, jednom od vodećih selekcionera kukuruza i velikom poborniku savremenih multidisciplinarnih istraživanja u Srbiji.

biofizičkoj hemiji i semenarstvu kod prestižnih inbred linija kukuruza sa uspravnim položajem vršnih listova.

Oplemenjivanje i semenarstvo kukuruza intenzivno su se razvijali u poslednjih 60 godina. Kao rezultat takve aktivnosti stvoreno je preko 1300 hibrida kukuruza za zno i silažu. Obezbeđeni su savremeni tehničko-tehnološki preduslovi za obavljanje modernog procesa oplemenjivanja i savremene proizvodnje hibridnog semena kukuruza, **Duwick**, 1977, 1984, **Sprague**, 1984, **Trifunović**, 1986, **Dumanović**, 1986, **Hallauer**, 1988, **Ivanović i sar.**, 1995, **Radenović i sar.**, 2000.

Počev od 1978. godine dolazi do značajnog povećavanja broja biljaka po jedinici površine (gustina biljaka), što je uticalo na povećavanje prinosa hibridnog semena i merkatilnog kukuruza, **Radenović i sar.**, 1978, **Kojić i sar.**, 1986, **Kojić**, 1993. Paralelno sa tim, razvijen je program u oplemenjivanju i proizvodnji hibridnog semena kukuruza koji je uključivao inbred linije kukuruza sa uspravnim položajem listova, **Radenović i sar.**, 1978, 2003a, b, 2004a, b, 2007, 2008, **Felner i sar.**, 2006. Prema našoj hipotezi proučavane su inbred linije sa uspravnim položajem vršnih listova, koje su najbliže pretpostavljenom fotosintetično-fluorescentom modelu kukuruza, **Radenović i Grodzinskij**, 1998.

U prethodnom periodu, istraživanja fotosinteze kukuruza nisu našla značajniju aplikaciju u oplemenjivanju i proizvodnji hibridnog semena kukuruza. Gotovo da nije bilo moguće dati jasnu i direktnu međuzavisnost fotosinteze, oplemenjivanja i proizvodnje hibridnog semena kukuruza. Takvo stanje je verovatno posledica postojanja više funkcionalnih međuzavisnosti koje objedinjuju strukturno-dinamične promene unutar hloroplasta i njihovih tilakoidnih membrana, sa jedne, i delovanja brojnih faktora spoljašnje sredine na njih, sa druge strane, **Radenović i sar.**, 2000, 2001a, b, 2004b, 2007.

U poslednjih 35 godina vrše se nova i značajna proučavanja u oblastima bioluminiscentnih i fluorescentnih proučavanja pojava i procesa u biljnim sistemima, uključujući kukuruz, **Barber i Neumann**, 1974, **Bukhov i sar.**, 1989, **Dzhibladze i sar.**, 1988, **Govindjee i Papageorgiou**, 1971, **Govindjee i sar.**, 1990, **Haveman i Lavorel**, 1975, **Hipkins i Barber**, 1974, **Holzapfel i Haug**, 1974, **Jurisnic**, 1986, **Jurisnic i Govindjee**, 1982, **Krause i Weis**, 1991, **Lichtenthaler i Rinderle**, 1988, **McCauley i Rubby**, 1981, **Papageorgiou**, 1975, **Veselovski i Veselova**, 1990, **Marković i sar.**, 1987, 1993, 1999, **Radenović**, 1992, 1994, 1997, **Radenović i sar.**, 1994a, b, **Radenović i Jeremić**, 1996. Utvrđena je direktna zavisnost intenziteta zakasnele fluorescencije (ZF) hlorofila i promene fotosintetičnih procesa u tilakoidnim membranama intaktnih listova kukuruza, **Radenović**, 1994, 1997, **Radenović i Jeremić**, 1996. Stvoreni su uslovi da se složeni fotosintetični procesi u intaktnom listu linija kukuruza prate pomoću fotosintetično-fluorescentog modela u vidu ZF hlorofila, **Radenović i sar.**, 2000, 2001a, b. U poslednjih dvadeset godina grupa istraživača Instituta za kukuruz "Zemun Polje", razvila je novi semi - neinvazivni fotosintetično-fluorescentni metod koji funkcionalno povezuje procese fotosinteze, fluorescencije i oplemenjivanja kukuruza, **Radenović i sar.**, 2002, 2003a, 2004a, **Marković i sar.**, 1996.

Metodi istraživanja u oblasti biofizičke hemije su doprineli raznovrsnom

povezivanju izučavanja fotosintetičnih i transportnih procesa u tilakoidnoj membrani i u različitim hemijskim strukturama zrna sa procesima fluorescentne spektroskopije, hemijske kinetike i dinamike otpuštanja vode iz zrna u periodu njegovog sazrevanja, **Radenović**, 1994, 1998, **Radenović i sar.**, 2007, 2008, **Rubin i sar.**, 1988.

Cilj ovoga rada bio je da se pokaže da prestižne inbred linije kukuruza, sa uspravnim položajem vršnih listova, mogu da ostvare ulogu efikasnog fotomodela, a to znači, da doprinesu funkcionalnoj povezanosti oplemenjivanja, fotosinteze i fluorescencije, a time i ukupnom progresu oplemenjivanja.

Materijal i metode

Biljni materijal. - Vršena su proučavanja četiri elitne inbred linije kukuruza sa uspravnim položajem vršnih listova: ZPPL 16, ZPPL 218, ZPPL 62 i ZPPL 233. Ispitivane linije pripadaju kolekciji Instituta za kukuruz "Zemun Polje". Daju se samo osnovna svojstva navedenih linija.

Inbred linija ZPPL 16 dobijena je iz BSSS populacije i pripada grupi zrenja FAO 700. Zrno joj je u tipu zubana, a oklasak roze boje. Ova linija je bila uključena u stvaranje više od dvadeset hibrida kukuruza. Široku primenu u ovom srednjeročnom periodu imaju hibridi: ZP 578, ZP 677, ZP 684.

Inbred linija ZPPL 218 pripada Lankaster heterotičnoj grupi i pripada grupi zrenja FAO 650. Zrno joj je u tipu zubana, a oklasak je crvene boje. Ova linija je bila uključena u stvaranje više od deset hibrida kukuruza, uključujući i hibride ZP 684 i ZP 606.

Inbred linija ZPPL 62 dobijena je iz BSSS populacije i pripada grupi zrenja FAO 350. Zrno ove linije je u tipu zubana, a oklasak crvene boje. Ova linija je bila uključena u stvaranje preko dvadeset hibrida kukuruza uključujući: ZP 260, ZP 341, ZP 360 i ZP 434.

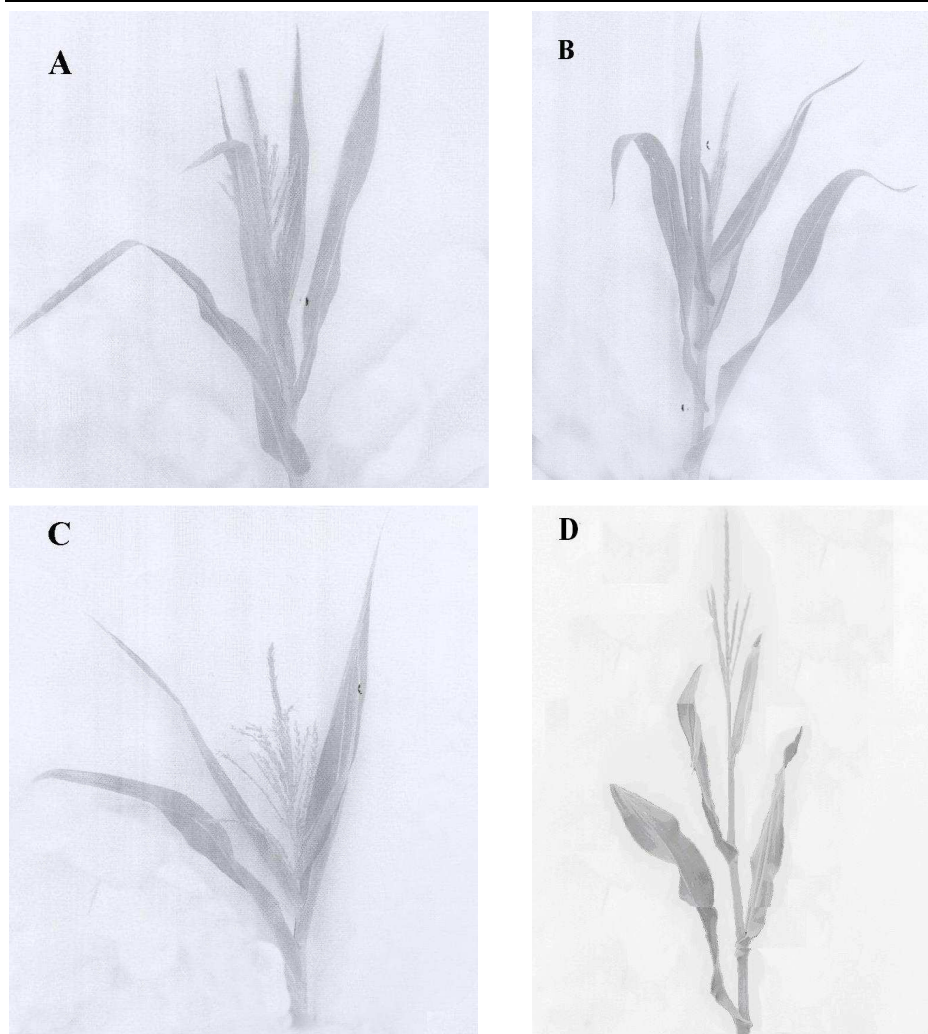
Inbred linija ZPPL 233 pripada Lankaster heterotičnoj grupi i grupi zrenja FAO 500. Zrno joj je u tipu poluzubana/polutvrduca, a oklasak crvene boje. Bila je uključena u stvaranje preko deset hibrida kukuruza, a najrašireniji je hibrid ZP 578.

Stvarni izgled prestižnih inbred linija kukuruza sa uspravnim položajem vršnih listova dat je na Slici 1.

Ispitivane prestižne linije kukuruza sa uspravnim položajem vršnih listova imaju svojstvo efikasnog fotomodela. Pored toga, one poseduju i značajno svojstvo bržeg otpuštanja vode iz zrna u periodu njegovog sazrevanja, kao i zadovoljavajuću tolerantnost, otpornost, plastičnost i adaptivnost na delovanje viših i visokih temperatura i suše.

Ukupna proučavanja navedenih inbred linija kukuruza sa uspravnim položajem vršnih listova obuhvatala su nekoliko serija eksperimenata, u kojima su primenjeni standardni i drugi odgovarajući metodski postupci.

1. Veličina ugla i lisna površina. - Prva serija eksperimenata odnosila se na ispitivanje uspravnog položaja vršnih listova. Pomoću specijalno konstruisanog



Slika 1. Stvarni izgled prestižnih inbred linija kukuruza sa uspravnim položajem vršnih listova: ZPPL 16 (A), ZPPL 218 (B), ZPPL 62 (C), ZPPL 233 (D)

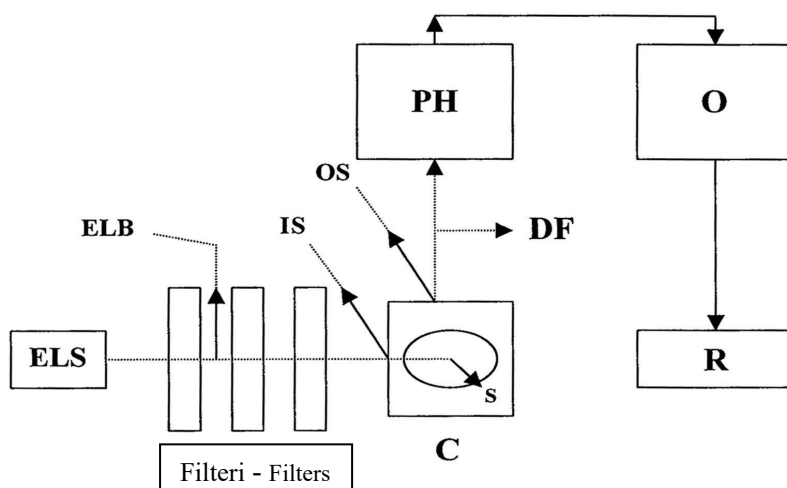
Actual appearance of maize inbred lines with top erect leaves and significant breeding properties: ZPPL 16 (A), ZPPL 218 (B), ZPPL 62 (C) and ZPPL 233 (D)

ugloma izvršeno je merenje veličine ugla između pravca prostiranja prvog lista iznad klipa i pravca prostiranja stabljike inbred linije kukuruza. Lisna površina je merena aparatom *Portable area meter*, model LI-3000. Veličina ugla između prvog lista iznad klipa i stabljike i veličina lisne površine utvrđeni su u trogodišnjim merenjima na 218 biljaka za svaku inbred liniju. Ovi metodski postupci opisani su u ranije objavljenim radovima, **Radenović i sar.**, 2003a, 2004a, b, 2007.

2. *Fotosintetično-fluorescentna merenja.* - Druga serija eksperimenata se odnosila na fotosintetično-fluorescentna istraživanja, koja su uključivala termalne

processe ZF hlorofila, kritične temperature faznih prelaza i energije aktivacije. Za ova proučavanja ispitivane linije su gajene u oglednom polju Instituta za kukuruz "Zemun Polje". Biljke kukuruza su donošene u laboratoriju iz oglednog polja, izeđu 7.00 i 8.00 časova. Prilikom uzimanja iz oglednog polja biljke su koso zasecane na prizemnoj internodiji. U laboratoriji su biljke držane potopljene u vodi po dužini jedne internodije. Dva časa pre fluorescentnog eksperimenta sve biljke su držane u staklenom zvonu crne boje. Sa takvih biljaka uziman je segment intaktnog lista iznad klipa i stavljan je u komoru fosforoskopa. Segment lista je držan u komori (u mraku) najmanje 15 minuta, a zatim je vršeno merenje termalnih procesa zakasnele fluorescencije hlorofila. Ova ispitivanja vršena su na 268 biljaka za svaku inbred liniju kukuruza.

Poboljšani, semi-neinvazivni fotosintetično-fluorescentni metod za merenje ZF hlorofila shematski je prikazan na Slici 2. Ovaj metod razvijen je i više puta poboljšavan u Institutu za kukuruz "Zemun Polje". Fotosintetično-fluorescentna merenja vršena su po metodu koji je opisan u radovima, *Radenović*, 1994, 1997, *Marković i sar.*, 1996, *Radenović i sar.*, 2001a, b, 2002, 2004a, b, 2007, 2008.



Slika 2. Principijelna šema fotosintetično-fluorescentnog metoda i aparature za merenje zakasnele fluorescencije hlorofila: C - mračna komora sa postoljem za uzorke; S - uzorak (segment intaktnog lista), filteri, ELS - izvor ekscitirajuće svetlosti, PH - fotomultiplikator; O - osciloskop, R - pisač, ELB - ekscitirajući zrak, DF - luminescentna svetlost (zakasnela fluorescencija), IS - ulazni prorez u mračnu komoru, OS - izlazni prorez iz komore

Experimental setup of the photosynthetic - fluorescence method and the measuring equipment for delayed chlorophyll fluorescence: C - dark chamber with a sample stand; s - sample (intact leaf segment), filters, ELS - excitation light source, PH - photo-multiplier; O - oscilloscope, R - printer, ELB - excitation light beam, DF - luminescent light (delayed fluorescence), IS - input chamber slot, OS - output chamber slot

3. *Dinamika promene sadržaja vode u zrnu.* - Treća serija eksperimenata odnosila se na sadržaj vode i dinamiku njenog otpuštanja iz zrna u periodu sazrevanja, što je praćeno primenom termičke metode sušenja zrna do konstantne mase na temperaturi od 105°C.

Za ova merenja uziman je prosečan uzorak zrna sa pet klipova. Za merenje stanja vode u zrnu birane su biljke kod kojih je došlo do pojave crnog sloja u osnovi zrna, odnosno do stanja fiziološke zrelosti. Merenje promene sadržaja vode u zrnu vršeno je posle sedam dana i trajalo je 35 dana. Ispitivanja dinamike transportnih procesa (otpuštanje vode iz zrna) u periodu sazrevanja su vršena u toku pet godina. Dugotrajna merenja su vršena zbog velike nestabilnosti ovog svojstva kod većine inbred linija kukuruza, *Radenović i sar.*, 2008, 2009.

Rezultati i diskusija

1. Veličina ugla i lisne površine prvog lista iznad klipa. - Rezultati veličine ugla između prvog lista iznad klipa i stabljike, kao i prosečne lisne površine dati su u Tabeli 1. Iz dobijenih rezultata za veličinu ugla sledi da proučavane prestižne inbred linije kukuruza spadaju u grupu inbred linija sa uspravnim položajem vršnih listova.

Tabela 1. *Ugao prvog lista iznad klipa i lisna površina elitnih inbred linija kukuruza sa uspravnim položajem vršnih listova*
The Angle of the Above-ear Leaf and the Leaf Area of Maize Elite Inbred Lines with Erect Top Leaves

Inbred linija Inbred line	FAO grupa zrenja FAO maturity group	Heterotično poreklo linije* Heterotic origin of the inbred [†]	Ugao prvog lista iznad klipa u stepenima Angle of the above-ear leaf in degrees		Lisna površina prvog lista iznad klipa (x 10 ³ cm ²) Area of the above-ear leaf (x 10 ³ cm ²)	
			\bar{x}	σ	\bar{x}	Σ
ZPPL 16	700	Zemun Polje - BSSS	18,3	1,12	3,63	328
ZPPL 218	650	Zemun Polje - Lankaster	22,1	1,36	3,91	412
ZPPL 62	350	Zemun Polje - BSSS	20,3	1,21	3,33	318
ZPPL 233	500	Zemun Polje - Lankaster	24,5	1,34	5,66	613

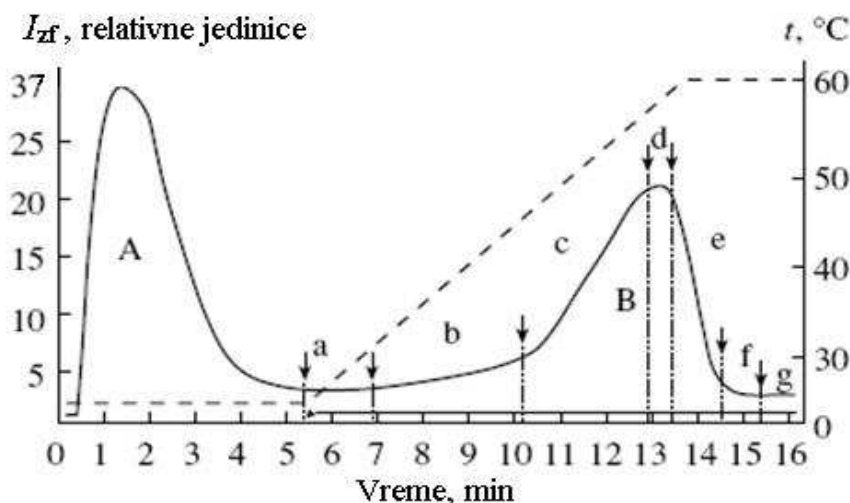
*Proučavane inbred linije kukuruza predstavljaju dobre heterotične parove, odlikuju se dobrim kombinacionim sposobnostima za prinos zrna, dobro se umnožavaju i rodne su.

[†]Studied inbred lines represent good heterotic pairs, they are characterised as good general combiners for grain yield, they increase well and they are high yielding.

2. Empirijski postupak fotosintetično-fluorescentnih proučavanja prvog lista iznad klipa. - Vršena su detaljna proučavanja termalnih procesa ZF hlorofila

ispitivanja inbred linija kukuruza sa uspravnim položajem vršnih listova. Kriva koja pokazuje dinamiku promene intenziteta stacionarnog nivoa ZF hlorofila u zavisnosti od temperature, naziva se termalna kriva. Trend njenog uspostavljanja najčešće je analogan promenama u trajanju segmenata u sekundama, označenih sa **a**, **b**, **c**, **d**, **e**, **f** i **g**, Slika 3., i do njega se došlo empirijskim postupkom, *Radenović i sar.*, 2008, 2009.

Ispitivanjem toka termalne krive i analizom trajanja pojedinih segmenata moguće je doći do saznanja o postojanju većeg broja kritičnih temperatura (temperature

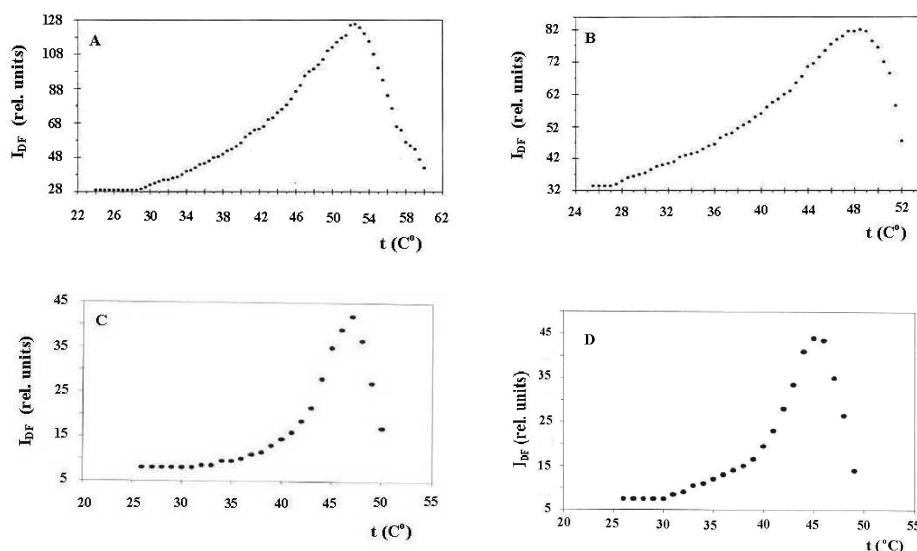


Slika 3. Shematski prikaz empirijskog postupka tipičnih promena intenziteta zakasnele fluorescencije hlorofila (I_{zf}) na intaktnom prvom listu iznad klipa proučavanih prestižnih samooplodnih linija kukuruza (puna linija) i promene temperature (isprekidana linija): Kriva **A** označava indukcione procese ZF hlorofila, kriva **B** obuhvata fotosintetično-fluorescentne termalne procese ZF hlorofila. Tipični vremenski segmenti (**a**, **b**, **c**, **d**, **e**, **f** i **g**) na termalnoj krivoj **B** odgovaraju dinamici promene I_{zf} u vremenu uspostavljanja ZF hlorofila. Na mestu dodira tipičnih vremenskih segmenata dolazi do strukturnih i funkcionalnih promena u tilakoidnoj membrani proučavanih samooplodnih linija kukuruza sa uspravnim položajem vršnih listova.

Schematic presentation of the empirical procedure of typical changes of DF intensities (I_{df}) on the intact above-ear leaf of the observed maize inbred lines with significant breeding properties (solid line) and changes of temperatures (dashed line): curve **A** indicates induction processes of DF, while curve **B** encompasses photosynthetic fluorescence thermal processes of DF. Typical temporal segments (**a**, **b**, **c**, **d**, **e**, **f** and **g**) on the thermal curve **B** correspond to dynamics of I_{df} changes at the time of a DF formation. Conformational and functional changes in the thylakoid membrane of observed maize inbred lines with erect top leaves occur at interception points of typical temporal segments.

faznih prelaza) na kojima dolazi do manjih ili većih strukturnih i funkcionalnih promena u tilakoidnoj membrani proučavanih linija kukuruza sa uspravnim položajem vršnih listova.

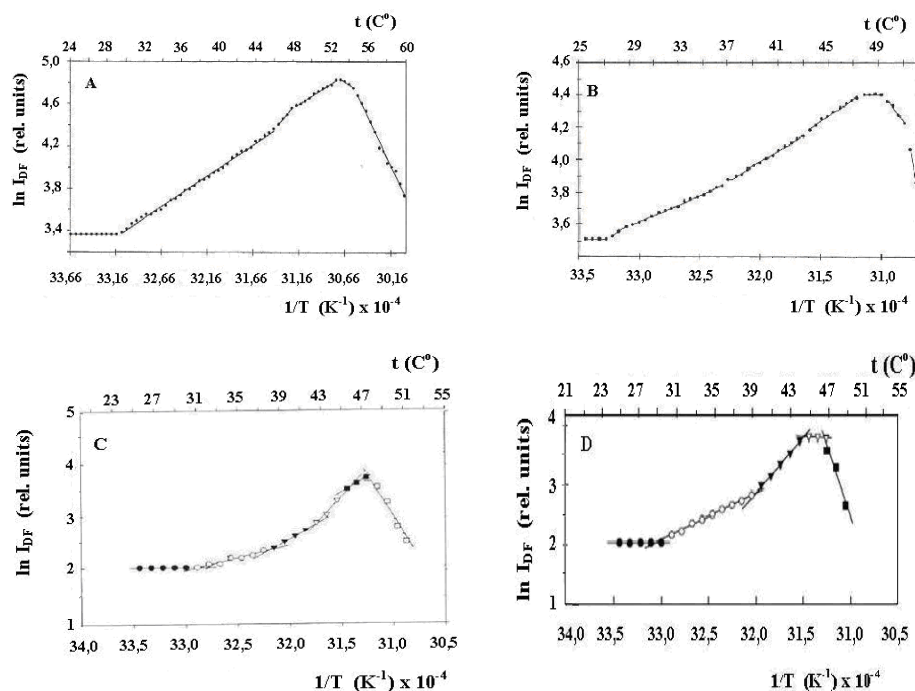
3. Temperaturna zavisnost intenziteta zakasnele fluorescencije hlorofila za tilakoidnu membranu inbred linija kukuruza sa uspravnim položajem vršnih listova. - Na Slici 4A, B, C, D date su promene intenziteta stacionarnog nivoa ZF hlorofila u funkciji temperature, za opseg 25-60°C, u tilakoidnoj membrani inbred linija kukuruza sa uspravnim položajem vršnih listova: ZPPL 16, ZPPL 218, ZPPL 62 i ZPPL 233.



Slika 4A, B, C, D Promena intenziteta zaksnele fluorescencije hlorofila (I_{ZF}) termalnih procesa u zavisnosti od delovanja temperature u tilakoidnoj membrani intaktnog prvog lista iznad klipa prestižnih inbred linija kukuruza sa uspravnim položajem vršnih listova: ZPPL 16(A), ZPPL 218(B), ZPPL 62(C) i ZPPL 233(D)

Changes of the intensity of the delayed chlorophyll fluorescence (I_{DF}) of thermal processes in dependence on the effects of temperatures in the thylakoid membrane of the intact above-ear leaf of the maize inbred lines with significant breeding properties and erect top leaves: ZPPL 16(A), ZPPL 218(B), ZPPL 62(C) and ZPPL 233(D)

4. Arenijusov kriterijum za utvrđivanje kritičnih temperatura i strukturnih promena u tilakoidnoj membrani inbred linija kukuruza sa uspravnim položajem vršnih listova. - Arenijusov kriterijum zasnovan je na postupku linearizacije temperaturne zavisnosti ZF hlorofila ipitivanih inbred linija kukuruza, Slika 5A, B, C, D. Njime se utvrđuju kritične temperature (temperature faznih prelaza) na kojima dolazi do strukturnih promena u tilakoidnoj membrani. Rezultati primene Arenijusovog kriterijuma na proučavane prestižne inbred linije kukuruza sa uspravnim položajem vršnih listova dati su na Slici 5A, B, C, D.



Slika 5A, B, C, D Arenijusov kriterijum za određivanje kritičnih temperatura i strukturnih promena u tilakoidnoj membrani intaktnog prvog lista iznad klipa proučavanih prestižnih linija kukuruza sa uspravnim položajem vršnih listova: ZPPL 16(A), ZPPL 218(B), ZPPL 62(C) i ZPPL 233(D)

The Arrhenius plot for the determination of critical temperatures and conformational changes in the thylakoid membrane of the intact above-ear leaf of maize inbred lines with significant breeding properties and erect top leaves: ZPPL 16(A), ZPPL 218(B), ZPPL 62(C) and ZPPL 233(D)

5. Energija aktivacije i kritične temperature u tilakodinoj membrani proučavanih inbred linija kukuruza sa uspravnim položajem vršnih listova. - U sklopu detaljnih proučavanja termalnih procesa ZF hlorofila, a posebno pri analizi toka termalne krive, pored temperature zavistnosti i Arenijusovog kriterijuma, izvršeno je obračunavanje veličine energije aktivacije za kritične temperature (temperature faznih prelaza) u tilakoidnoj membrani ispitivanih prestižnih linija kukuruza sa uspravnim položajem vršnih listova: ZPPL 16, ZPPL 218, ZPPL 62 i ZPPL 233. Rezultati ovih ispitivanja dati su u Tabeli 2.

Dinamika promene stanja vode i njenog otpuštanja u periodu sazrevanja zrna ispitivanih inbred linija kukuruza sa uspravnim položajem vršnih listova, prestižno je svojstvo i njemu se takođe pridaje velika pažnja u procesima savremenog oplemenjivanja i proizvodnje kvalitetnog hibridnog semena kukuruza.

Rezultati ovih proučavanja dati su u Tabeli 3.

Tabela 2. Promena energija aktivacije (Ea) i kritičnih temperatura (t°C) za vreme termalnih procesa u tilakoidnoj membrani intaktnog prvog lista iznad klipa proučavanih inbred linija kukuruza sa uspravnim položajem vršnih listova
Changes in Activation Energies (Ea) and Critical Temperatures (t°C) in the Course of Thermal Processes in the Thylakoid Membrane of the Intact Above-ear Leaf of Studied Maize Inbred Lines with Erect Top Leaves

ZPPL 16		ZPPL 218		ZPPL 62		ZPPL 233	
Ea, kJ/mol	t, °C	Ea, kJ/mol	t, °C	Ea, kJ/mol	t, °C	Ea, kJ/mol	t, °C
-	29,5	-	27,0	-	28,0	-	25
48,4	45,9	43,1	29,0	45,0	36,0	32	30
84,3	48,0	27,3	36,9	91,8	41,0	100,3	38
46,7	53,0	37,0	43,5	119,7	46,9	176,7	42
49,2	54,8	42,5	47,8	132,0	49,0	259,9	47
-	60,0	51,1	49,9	-	-	-	50

6. Dinamika promene stanja vode u periodu sazrevanja zrna za ispitivane inbred linije kukuruza sa uspravnim položajem vršnih listova. - Dinamika promene stanja vode i njenog otpuštanja u periodu sazrevanja zrna ispitivanih inbred linija kukuruza sa uspravnim položajem vršnih listova, prestižno je svojstvo i njemu se takođe pridaje velika pažnja u procesima savremenog oplemenjivanja i proizvodnje kvalitetnog hibridnog semena kukuruza. Rezultati ovih proučavanja dati su u Tabeli 3.

Druga polovina XX i prva dekada XXI veka se karakterišu ogromnim uspehom u oplemenjivanju kukuruza i proizvodnji kvalitetnog osnovnog i hibridnog semena. Od 1978. godine, dolazi do značajnog povećavanja broja biljaka po jedinici površine. Ovaj program je definisan kao program "gustina biljaka" i direktno je uticao na povećavanje prinosa kvalitetnog osnovnog i hibridnog semena kukuruza, **Radenović i sar.**, 1978. Gotovo paralelno sa programom "gustina biljaka" nastao je i program stvaranja inbred linija kukuruza sa uspravnim položajem vršnih listova. Smatralo se da su inbred linije kukuruza sa uspravnim položajem vršnih listova najbliže pretpostavljenom efikasnom fotomodelu, **Radenović i sar.**, 1978, 2000, 2001a, 2003a, 2004a, **Radenović i Grodzinskij**, 1998. Komplementarnom i masovnom realizacijom navedenih programa postignuti su vrlo značajni rezultati, kako u oplemenjivanju, tako i u proizvodnji hibridnog semena kukuruza, **Ivanović i sar.**, 1995, **Trifunović**, 1986, **Trifunović i sar.**, 2000, **Dumanović**, 1986, **Kojić**, 1993. Stvoreni su novi i brojni hibridi kukuruza za zrno i silažu, koji se gaje na velikim površinama, jer su visoko prinostni i odgovarajućeg kvaliteta biljke i zrna, **Duvick**, 1984, **Russell**, 1986, **Dumanović**, 1986, **Hallauer**, 1988, **Kojić**, 1993, **Ivanović i sar.**, 1995.

Savremena istraživanja se vrše posebnim ispitivanjem vršnih listova linija kukuruza. Posebno se izučava prvi list iznad klipa, ali i ostali vršni listovi do metlice. Ovi listovi ostvaruju najefikasnije i najduže fotosintetske procese neophodne biljci

kukuruzu, **Radenović i Grodzinskij**, 1998. Shodno rečenom izneta je hipoteza da upravo vršni listovi (iznad klipa) ostvaruju efikasnu fotosintezu.

U ovom radu učinjen je pokušaj da se posredstvom različitih proučavanja i analiza, dobije odgovor na sledeće pitanje: da li postoje pouzdana i dominantna svojstva inbred linija kukuruza sa uspravnim položajem vršnih listova, kojima se može postići planirani i zadovoljavajući progres u oplemenjivanju kukuruza i proizvodnji kvalitetnog hibridnog semena i kakva bi svojstva trebalo da imaju takve inbred linije kukuruza?

Bar delimičan odgovor na postavljena pitanja moguće je potražiti preko kraćeg osvrta na ostvarene rezultate više serija eksperimentalnih istraživanja. Prva serija eksperimenata obuhvatala je utvrđivanje veličine ugla i lisne površine proučavanih prestižnih inbred linija kukuruza sa uspravnim položajem vršnih listova, što ih, prema dobijenim rezultatima (Tabela 1) svrstava u značajna selekciona i semenarska svojstva, **Radenović i sar.**, 2003a, 2004a, b, 2007, 2008. Druga serija eksperimenata obuhvatala je fotosintetično-fluorescentna proučavanja strukturnih i funkcionalnih promena u tilakoidnoj membrani intaktnog prvog lista iznad klipa za prestižne inbred linije kukuruza. Temperaturna zavisnost termalnih procesa ZF hlorofila, za ispitivane inbred linije kukuruza, prikazana je u vidu empirijskog postupka (Slika 3). Dok su egzaktni rezultati ispitivanja temperaturne zavisnosti ZF hlorofila, za sve četiri prestižne inbred linije kukuruza, sa uspravnim položajem vršnih listova, dati na Slici 4A, B, C i D. Prikazani rezultati pokazuju da temperaturnu zavisnost ZF hlorofila za sve četiri inbred linije kukuruza sa uspravnim položajem vršnih listova, karakterišu tipična mesta dodira dva segmenta na termalnoj krivoj, Slike 3 i 4. Prvo tipično mesto javlja se na dodiru segmenta **a** i segmenta **b** i ono označava najnižu kritičnu temperaturu na kojoj se zapaža početna promena intenziteta ZF hlorofila. Drugo tipično mesto javlja se na dodiru segmenta **b** i segmenta **c** i odnosi se na linearnu monotonost sa uglom rastućeg dela krive intenziteta ZF hlorofila. U ovom predelu krive došlo je do evidentnih strukturnih promena u tilakoidnoj membrani. Treće tipično mesto, odražava manju ili veću zaobljenost krive maksimalno dostignutog intenziteta ZF hlorofila. Ovde su se desile prelomne "strukturne" promene na dva mesta dodira segmenta **c** sa segmentom **d**, i segmenta **d** sa segmentom **e**. Četvrto tipično mesto odnosi se na linearnu monotonost i ugao nagiba opadajućeg dela termalne krive za intenzitet ZF hlorofila. Ovaj segment termalne krive nosi u sebi poslednje strukturne promene do kojih je došlo u tilakoidnoj membrani. Te promene teško da imaju obeležje funkcionisanja živog lista. Tipična mesta dodira označena sa **f** i **g** nemaju gotovo nikakvu fiziološku ulogu. Analizirana tipična mesta dodira, Slike 3 i 4 A, B, C i D, mogu se smatrati mestima koja karakterišu inbred linije kukuruza sa uspravnim položajem vršnih listova, pošto su upravo to mesta strukturnih i funkcionalnih promena u tilakoidnoj membrani, **Radenović i sar.**, 2003a, b, 2004a, b, 2007.

Arenijusovim kriterijumom i linearizacijom temperaturne zavisnosti ZF hlorofila utvrđene su sve kritične temperature (temperature faznih prelaza) na kojima dolazi i do najmanjih strukturnih promena u tilakoidnoj membrani inbred linija kukuruza sa uspravnim položajem vršnih listova. Vrednosti kritičnih temperatura u

°C, njihova ferkvencija i međusobna udaljenost karakterišu proučavane inbred linije kukuruza sa uspravnim položajem vršnih listova u odnosu na njihovu tolerantnost, otpornost, plastičnost i adaptivnost prema višim i visokim temperaturama, ali i prema suši, **Radenović i sar.**, 2001a, b, 2002, 2003a. Arenijusov kriterijum zasnovan je na postojanju pravih linija. Svaka Arenijusova prava linija reprezentuje svoju energiju aktivacije (Ea). Mesto, gde se dve prave linije presecaju, označeno je kritičnom temperaturom. Rezultati vrednosti Ea u rastućem i opadajućem delu termalne krive, objašnjavaju se time da sa porastom temperature dolazi do manjih ili većih strukturnih promena kod molekula pigemata (hlorofil) u tilakoidnoj membrani usled čega ti molekuli postaju reaktivniji, a time oni stiču dodatnu energiju, koja se koristi u rekombinacionom procesu nastajanja ZF hlorofila (rezultati istraživanja su prikazani u Tabeli 2, **Radenović**, 1994, 1997, **Radenović i sar.**, 2003a, b, 2004a, b.

Pokazana fotosintetično-fluorescentna svojstva ispitivanih linija kukuruza, sa uspravnim položajem vršnih listova, mogu doprineti egzaktnijem, racionalnijem i bržem odvijanju procesa oplemenjivanja i proizvodnje hibridnog semena kukuruza, što ove inbred linije čini posebno značajnim.

Treća serija eksperimenata obuhvatala je termalna proučavanja specifičnog sadržaja vode u znu i dinamiku njenog otpuštanja u periodu sazrevanja. Transportni procesi i otpuštanje vode iz zrna u periodu njegovog sazrevanja su značajna i prestižna svojstva i njima se pridaje veliki ekonomski i naučni značaj, ne samo pri proučavanju i stvaranju linija kukuruza sa uspravnim položajem vršnih listova, nego i pri organizovanju proizvodnje hibridnog semena kukuruza, **Radenović**, 1998, **Radenović i sar.**, 2008, 2009. Brzina otpuštanja vode iz zrna u periodu sazrevanja vrlo je složen proces i zavisi od više parametara, i to: a) osmotskog pritiska u znu u periodu njegovog sazrevanja. Na ovaj proces znatno utiču spoljni atmosferski pritisak, kao i učestalost i intenzitet vazdušnih strujanja i znatne promene relativne vlage vazduha. Pored toga, osmotski pritisak u znu zavisi od strukturnih karakteristika hemijskih jedinjenja i prirode hemijske veze vode sa njima; b) strukture i debljine perikarpa i njegove propusne sposobnosti za vodu, odnosno transportnog kapaciteta vode kroz ovakvu strukturu; c) sadržaja i strukture skrobnih zrnaca i proteinskih telašaca, uključujući i njihov afinitet za vezivanje vode; d) morfoloških svojstava klipa; e) morfoloških svojstava zrna i f) drugih fizičko-hemijski parametara hemijskih struktura zrna, koji sa vodom ostvaruju interakciju.

Zaključak

Na osnovu rezultata istraživanja može se konstatovati da se semi-neinvazivni fotosintetično-fluorescentni metod može koristiti u oplemenjivanju i proizvodnji hibridnog semena kukuruza i vršiti ocenjivanje prestižnih inbred linija kukuruza na tolerantnost, otpornost, plastičnost i adaptivnost prema višim i visokim temperaturama kao i prema suši. Primenom navedenog metoda utvrđena su brojna svojstva i parametri fotosintetičnog aparata proučavanih prestižnih linija kukuruza sa

uspravnim položajem vršnih listova:

- Temperaturna zavisnost je praćena u opsegu 24-60°C,
- Utvrđena je različita monotonost u rastućem delu intenziteta termalne krive što ukazuje na nejednaku tolerantnost, otpornost, plastičnost i adaptivnost ispitivanih linija kukuruza prema višim i visokim temperaturama, kao i prema suši,
- Određene su vrednosti za kritične temperature na kojima dolazi do manjih i većih strukturnih i funkcionalnih promena u tilakoidnoj membrani ispitivanih linija sa uspravnim položajem vršnih listova,
- Određene su vrednosti za energije aktivacije (E_a , kJ/mol) pre i posle pojave kritičnih temperatura u termalnom procesu ZF hlorofila,
- Pokazano je da proučavane linije kukuruza poseduju svojstvo uspravnog položaja vršnih listova i efikasnog fotomodela,
- Za ispitivane prestižne linije kukuruza sa uspravnim položajem vršnih listova, pokazano je i analizirano svojstvo bržeg otpuštanja vode iz zrna u periodu njegovog sazrevanja.

Napomena

Ova istraživanja finansijskim sredstvima je, pored Instituta za kukuruz "Zemun Polje", delimično pomoglo i Ministarstvo za nauku i tehnološki razvoj Srbije (projekti: 03E211, 03E22, 142025, TR-20003, TR-20007, TR-20014).

Literatura

- Barber, J.** and **J. Neumann** (1974): An energy conservation site between H₂O and DBMIB: evidence from msec delayed light and chlorophyll fluorescence studies in chloroplasts. *FEBS Lett.* 40: 186-189.
- Bukhov, N.G., M.G. Rakhiberdyeva** and **N.V. Karapetyan** (1989): Nature of slow transient phenomena of variable and delayed fluorescence in leaves. *Soviet Plant Physiol.* 36: 1045- 1054 (in Russian).
- Dumanović, J.** (1986): Savremeni programi oplemenjivanja kukuruza. Zb. rad. Naučnog skupa "Genetika i oplemenjivanje kukuruza - dostignuća i nove mogućnosti", 11-12. decembar 1986, Beograd, Jugoslavija, str. 77-94.
- Duvick, D.N.** (1977): Genetic rates of grain in hybrid maize yields during the past 40 years. *Maydica* 22: 187-196.
- Duvick, D.N.** (1984): Genetic Contribution to Yield Gains of U.S. Hybrid Maize, 1930 to 1980. In: *Genetic Contributions to Yield Gains of Five Major Crop Plants*, ed. W.R.Fehr, CSSA, Special Publication 7, Crop Science Society of America, American Society of Agronomy, Madison, WI, USA, pp. 15-47.
- Dzhibladze, T.G., N.G., Bukhov** and **N.V. Karapetyan** (1998): Relations between kinetic curves of variable fluorescence and decisecond component of delayed fluorescence in plant leaves. *Biofizika* 33: 121-125 (na ruskom).

- Felner, M., E.D. Ford and E. van Volkenburgh** (2006): Development of erect leaves in a modern maize hybrids is associated with reduced responsiveness to auxin and light of young seedlings in vitro. *Plants signalling and behaviour* **1** (4): 201-211.
- Govindjee and G. Papageorgiou** (1971): Chlorophyll Fluorescence and Photosynthesis: Fluorescence Transients. In: *Photophysiology*, ed. A.C. Giese, Academic Press, NY, USA, 6: 1-46
- Govindjee, van Der Ven M., C. Preston, M. Seibert and E. Gratton** (1990): Chlorophyll a fluorescence lifetime distribution in open and closed photo system II reaction centre preparation: Analysis by multifrequency phase fluorometry. *Biochim. Biophys. Acta* **1015**: 173-179.
- Hallauer, A.R.** (1988): Modern methods in maize breeding. (1988), Book of Proceedings of the Workshop on Maize Breeding and Maize Production EUROMAIZE '88, October 6-8, 1988, Belgrade, Yugoslavia, pp. 1-20.
- Haveman, J. and J. Lavorel** (1975): Identification of the 120 msec phase in the decay of delayed fluorescence in spinach chloroplasts and aubchloroplasts particles as the intrinsic back reaction. The dependence of the level of this phase on the thylakoids internal pH. *Biochim. Biophys. Acta* **408**: 269-283.
- Hipkins, M.F. and J. Barber** (1974): Estimation of the activation energy for millisecond delayed fluorescence from uncoupled chloroplasts. *FEBS Lett.* **42**: 289-292.
- Holzapfel, C. and A. Haug** (1974): Time course of microsecond delayed light emission from *Scenedesmus obliquus*. *Biochim. Biophys. Acta* **333**: 52-58.
- Ivanović, M., R. Petrović, G. Drinić, V. Trifunović, L. Kojić, M. Vuković, M. Mišović, G. Radović, D. Ristanović, Z. Pajić, B.V. Trifunović i D. Jelovac** (1995): Pedeset godina selekcije ZP hibrida kukuruza. Knj. rad. Simpozijuma sa međunarodnim učešćem "Oplemenjivanje, proizvodnja i iskorišćavanje kukuruza - 50 godina Instituta za kukuruz "Zemun Polje"", 28-29. septembar 1995, Beograd, Jugoslavija, str. 3-16.
- Jurisnic, P.** (1986): Delayed Fluorescence: Current Concepts and Status. In: *Light Emission by Plants and Bacteria*, ed. Govindjee, Ames & Fork CD, Academic Press, Orlando, FL, USA, 291-328.
- Jursinic, P. and Govindjee** (1982) Effects of hydroxylamine and silicomolybdate on the decay in delayed light emission in the 6-100 microsecond range after a single 10 ns flash in pea thylakoids. *Photosynth. Res.* **3**: 161-177.
- Kojić, L.** (1993): Урожайность ЗП гибридов кукурузы разных периодов селекции. *Кукуруза* **93**: 1-13.
- Kojić, L. i M. Ivanović** (1986): Dugoročni programi oplemenjivanja kukuruza. Zb. rad. Naučnog skupa "Genetika i oplemenjivanje kukuruza - dostignuća i nove mogućnosti", 11-12. decembar 1986, Beograd, Jugoslavija, str. 57-75.
- Krause, G.H. and E. Weis** (1991): Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basic. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **42**: 313-349.

- Lichtenthaler, H.K.** and **U. Rinderle** (1988): The role of chlorophyll fluorescence in the detection of stress conditions in plants. *CRC Crit. Rev. Anal. Chem.* **19** (Suppl. I): S29-S85.
- Marković, D., M. Jeremić** i **Č. Radenović** (1996): Savremena biofizika. 4. Zakasnela fluorescencija hlorofila, izd. "Velarta", Beograd.
- Marković, D., M. Jeremić, Č. Radenović** and **M. Schara** (1993): Irreversible structural changes in thylakoid membranes at high temperatures detection by luminescence and EPR. *Gen. Physiol. Biophys.* **12**: 37-47.
- Marković, D., M. Jeremić, Č. Radenović** i **Ž. Vučinić** (1987) A study of temperature induced structural changes in photosynthetic system using delayed fluorescence. *Journal Serb. Chem. Soc.* **52**: 331-336.
- Marković, D., Č. Radenović, L. Rafailović, S. Žerajić, M. Jeremić** and **M. Marković** (1999): Temperature dependence of delayed fluorescence induction curve transient. *Gen. Physiol. Biophysics* **18**: 257-267.
- Mccauley, S.W.** and **R.H. Rubby** (1981): Delayed fluorescence induction in chloroplasts. Irradiation dependence. *Bichim. Biophys. Acta* **638**: 268-274.
- Papageorgiou, G.** (1975): Chlorophyll Fluorescence: Intrinsic Probe of Photosynthesis. In: ed. Govindjee, *Bioenergetics of Photosynthesis*, Academic Press, New York, pp. 319-371.
- Radenović, Č.** (1992): Investigation of photoinduced bioluminescence in maize leaf. *Contemp. Agric.* **40** (6): 15-38.
- Radenović, Č.** (1994): A study of delayed fluorescence in plant models: Photosynthetic transportation and membrane processes. *J. Serb. Chem. Soc.* **59**: 595-617.
- Radenović, Č.** (1997): Induction process and activation energy of delayed chlorophyll fluorescence. *Proceedings for Natural Sciences of Matica Srpska* **93**: 5-14.
- Radenović, Č.** (1998): Savremena biofizika. 5. Transportni procesi kroz membranu, izd. "Velarta", Beograd.
- Radenović, Č., M. Babić, N. Delić, Z. Hojka, G. Stanković, B.V. Trifunović, D. Ristanović** and **D. Selaković** (2003a): Photosynthetic properties of erect leaf maize inbred lines as the efficient photo-model in breeding and seed production. *Genetika* **35** (2): 85-97.
- Radenović, Č., M. Babić, N. Delić** and **D. Ristanović** (2003b): Effects of changes in thylakoid membranes - a measure for evaluation of resistance and adaptability of maize inbred lines to high temperature. *Book of Proceedings of Nat. Sci. Matica Srpska* **101**: 59-69.
- Radenović, Č., M. Babić, N. Delić, I. Štarić** i **L. Kojić** (2002): Новый фотосинтетическо-биоломинесцентный метод в селекции кукурузы. *Кукуруза и сорго* **4**: 21-24.
- Radenović, Č., M. Babić, Z. Hojka, G. Stanković, B.V. Trifunović, D. Ristanović, N. Delić** i **D. Selaković** (2004a): Характеристика инбредных линий кукурузы с вертикально стоящими листьями для эффективного использования в селекции. *Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук* **2**: 7-9.

- Radenović, Č., M. Filipović, V. Anđelković, M. Babić and A. Radojčić** (2009): Significant breeding properties of inbred maize lines as the basis for creating new, higher yielding hybrids. *Russian Agricultural Sciences* **35** (6): 374-377.
- Radenović, Č., M. Filipović, M. Babić, G. Stanković, A. Radojčić, M. Sečanski, J. Pavlov, D. Branković Radojčić and D. Selaković** (2008): Actual prestigious properties of maize inbred lines - a good initial basis for the efficient development of new and yielding maize hybrids. *Genetika* **40** (2): 121-133.
- Radenović, Č. and D. Grodzinskij** (1998): Erect leaf maize inbred lines - an efficient photosynthetic model. - A written communication Belgrade-Kiev and vice versa.
- Radenović, Č., Z. Hojka, D. Selaković, M.M. Mišović, M. Pavlov i M. Sečanski** (2004b): Photosynthetic properties of elite erect leaf maize inbred lines and their contribution to seed production improvement. *Book of Proceedings Nat. Sci. Matica Srpska* **106**: 45-56.
- Radenović, Č. and M. Jeremić** (1996) The study of delayed light emission in a plant models. *Arch. Biol. Sci.* **48**: 1-18.
- Radenović, Č., M. Jeremić i D. Marković** (1994a): Фотоиндуцированная биолуминисценция растений: фотосинтетические, транспортные и мембранные процессы. *Физиология и биохимия культурных растений* **26** (5): 419-433.
- Radenović, Č., M. Jeremić and D. Marković** (1994b): Delayed chlorophyll fluorescence in plants models. *Photosynthetica* **30**: 1-24.
- Radenović, Č., K. Konstantinov, N. Delić and G. Stanković** (2007): Photosynthetic and bioluminescence properties of maize inbred lines with upright leaves. *Maydica* **52** (3): 347-356.
- Radenović, Č., D. Ristanović and V. Trifunović** (1978): The theoretical and the development programme on the increase of the plant number per area unit for the development of erect leaf maize lines and for their more effective application in breeding. The internal note, Maize Research Institute, Zemun Polje, Belgrade, pp. 1-3.
- Radenović, Č., I. Štarić, I. Husić, M.M. Mišović, M. Filipović and L. Kojić** (2000): A study of functioning of thylakoid membranes in inbred lines of maize (*Zea mays* L.). *Genetika* **32** (3): 377-386.
- Radenović, Č., I. Štarić, M. Ivanović, I. Husić and L. Kojić** (2001b): Conformational and functional changes in thylakoid membranes - parameters for evaluation of maize inbred lines resistance to temperatures and drought. *J. Sci. Agric. Research* **62** (216-217): 5-20.
- Radenović, Č., I. Štarić, M. Ivanović i L. Kojić** (2001a): Биоломинесцентный отзыв инбредных линий кукурузы (*Zea mays* L.) на температуру и засуху. Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук **4**: 13-16.

- Rubin, A.B., A.A. Focht and P.S. Venediktov** (1988): Some kinetic properties of electron - transfer processes on the primary photosynthesis reaction. Transaction of the Moscow Society of Naturalists 28: 172-184.
- Russell, W.A.** (1986): Contributions of breeding to maize improvement in United States, 1920s-1980s. Iowa State J. Res. 61:5-34.
- Sprague, G.F.** (1984): Organization of breeding programs. 20th Ann. Illinois Corn Breeding School (USA) 20: 20.
- Trifunović, B.V., G. Stanković, M. Rošulj i V. Trifunović** (2000): Multiple regression analysis of prolificacy and effects on grain yield in synthetic populations of maize (*Zea mays* L.). Genetika **32** (3): 355-362.
- Trifunović, V.** (1986): Četrdeset godina moderne selekcije kukuruza u Jugoslaviji. Zb. rad. Naučnog skupa "Genetika i oplemenjivanje kukuruza - dostignuća i nove mogućnosti", 11-12. decembar 1986, Beograd, Jugoslavija, str. 5-46.
- Veselovski, V.A. and T.V. Veselova** (1990): Luminescent Characteristic of Plants Photosynthetic Apparatus. In: Luminescence of Plants, ed. Nauka, Moscow, Russia, 8-78.

Primljeno: 26.04.2010.

Odobreno: 19.06.2010.

* *
*

Significant Genetic Properties of Maize Inbred Lines - A Good Basis for Progress in Breeding

- Original scientific paper -

Čedomir RADENović^{1,2}, Milomir FILIPOVIĆ¹, Goran STANKOVIĆ¹,
Dragojlo SELAKOVIĆ¹, Mile SEČANSKI¹, Ksenija MARKOVIĆ¹,
Zoran ČAMDŽIJA¹ and Jovan PAVLOV¹

¹Maize Research Institute, Zemun Polje, Belgrade-Zemun

²Faculty of Physical Chemistry, University of Belgrade, Belgrade

Summary

This study conforms the hypothesis that there are elite maize inbred lines and hybrids with erect top leaves, which have a dominant property of an efficient photosynthetic and fluorescent model, that is successfully used in modern breeding programmes and the production of hybrid seed and commercial maize. This statement is supported by the displayed results on the erect position of the top leaves, the dynamics of grain dry-down during the maturation period and photosynthetic and fluorescence parameters: the temperature dependence of the delayed chlorophyll fluorescence intensity, the Arrhenius criterion for the determination of critical temperatures (phase transition temperatures) and the activation energies. The presented results show that properties of observed maize inbreds and their hybrids are based on the nature of conformational and functional changes that occur in their thylakoid membranes and other chemical structures of tissues of grain and intact leaves, as well as, on positive effects in maize breeding.

Received: 26/04/2010

Accepted: 19/06/2010

Adresa autora:

Čedomir RADENović

Institut za kukuruz "Zemun Polje"

Slobodana Bajića 1

11185 Beograd-Zemun

Srbija

E-mail: radenovic@sbb.rs