

Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ во Скопје
Факултет за земјоделски науки и храна – Скопје



М-р Леонора Коку Руфати

Систематска припадност на некои видови од родот *Triticum* врз основа
на полиморфизмот на морфолошките и молекуларните маркери

Скопје, 2026

УНИВЕРЗИТЕТ „СВ. КИРИЛ И МЕТОДИЈ“ ВО СКОПЈЕ
ФАКУЛТЕТ ЗА ЗЕМЈОДЕЛСКИ НАУКИ И ХРАНА -СКОПЈЕ

КОМИСИЈА ЗА ОЦЕНКА И ОДБРАНА
НА ДОКТОРСКАТА ДИСЕРТАЦИЈА

МЕНТОР:

Проф.д-р Силвана Манасиевска

Факултет за земјоделски науки и храна, Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ во Скопје

Проф.д-р Елизабета Мискоска-Милевска

Факултет за земјоделски науки и храна, Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ во Скопје

Проф.д-р Рената Куштеревска

Природно-математички факултет, Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ во Скопје

Проф.д-р Дане Бошев

Факултет за земјоделски науки и храна, Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ во Скопје

Проф.д-р Лилјана Колева Гудева

Земјоделски факултет, Универзитет „Гоце Делчев“ во Штип

Дата на одбрана

БЛАГОДАРНОСТ

Најискрено и длабоко им се заблагодарувам на сите кои придонесоа за изработката на оваа докторска дисертација.

Посебна благодарност упатувам до мојата менторка, проф. д-р Силвана Манасиевска, за нејзината стручна поддршка, насоки, трпение и континуирана помош во текот на целиот истражувачки процес. Нејзините совети и научна експертиза беа од клучно значење за успешната реализација на оваа работа.

Искрена и длабока благодарност упатувам и до членовите на комисијата за оценка и одбрана на овој труд — проф. д-р Елизабета Мискоска-Милевска и проф. д-р Дане Бошев од Факултетот за земјоделски науки и храна – Скопје, проф. д-р Рената Ќуштеревска од Природно-математичкиот факултет – Скопје и проф. д-р Лилјана Колева Гудева од Земјоделскиот факултет – Штип, за нивното драгоцено време, внимателното читање на трудот, и корисните забелешки и сугестии кои значително придонесоа за неговото подобрување и заокружување.

Искрено им благодарам и на членовите на моето семејство за нивната безрезервна љубов, разбирање и поддршка во сите фази од моето образование и научно усовршување.

Посебна и длабока благодарност посветувам на моите покојни родители, татко ми и мајка ми, чија љубов, животни вредности и поддршка претставуваат траен извор на инспирација. Оваа дисертација им ја посветувам ним, со неизмерна почит и благодарност.

СОДРЖИНА

АПСТРАКТ (на македонски)

ABSTRACT (на англиски)

ЛИСТА НА КРАТЕНКИ

1. ВОВЕД	1
2. ПРЕГЛЕД НА ЛИТЕРАТУРА	4
2.1 Еволуција на родот <i>Triticum</i>	4
2.2 Таксономска припадност на родот <i>Triticum</i>	7
2.3 Примена на фенотипски својства во еволутивните студии	12
2.4 Примена на молекуларни маркери во еволутивните студии	15
2.4.1 Примена на молекуларни маркери во геномот на родот <i>Triticum</i>	15
2.5 ДНК-микросателити како молекуларни маркери	18
2.5.1 ДНК-микросателити кај пченица	23
3. ЦЕЛИ НА ИСТРАЖУВАЊЕТО	30
4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ НА ИСПИТУВАЊАТА	31
4.1 Растителен материјал	31
4.1.1 Сорти пченица и нивната биологија	31
4.1.2 Испитувани линии	33
4.2 Методика на поставување на опитот	33
4.3. Анализа на квантитативните својства	33
4.4. Молекуларна анализа	34
4.4.1. Изолација на ДНК по протоколот NucleoSpin II Plant Kit (Machery Nagel)	35
4.4.2. Определување на концентрација и чистотата на изолираната ДНК	36
4.4.3. Полимеразно верижната реакција PCR	36
4.4.4. Анализа на PCR-амплифицираната ДНК	38
4.5. Статистичка обработка на резултатите	39
4.5.1. Статистичка обработка на квантитативните податоци	39
4.5.2. Статистичка обработка на молекуларните податоци	41

4.5.2.1. Анализа на генетската варијабилност и полиморфност	41
4.5.2.2 Генетската различност помеѓу испитуваните генотипови на пченица	42
5. УСЛОВИ НА ИСПИТУВАЊЕТО	43
5.1 Почвени услови	43
5.2. Климатски услови	44
6. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА	47
6.1 Анализа на морфолошките и производните карактеристики	47
6.1.1 Висина на стебло	47
6.1.2. Должина на клас	49
6.1.3. Број на зрна во главниот клас	50
6.1.4 Маса на зрна	51
6.1.5 Вкупен број на братимки по растение	53
6.2 Анализа на главните компоненти (PCA) на испитуваните генотипови пченица врз основа на морфолошките својства	54
6.3 Кластер анализа на генотипови пченица врз основа на морфолошките својства	58
6.3.1 Двојна кластер анализа	62
6.4 Анализа на микросателитските локуси	66
6.4.1 Детерминација на полиморфизмот на микросателитски локуси кај испитуваните генотипови	66
6.4.2 PIC-тест, забележана и очекувана хетерозиготност	68
6.4.3 Алелни варијанти, алелни фреквенции на анализираните микросателитски локуси кај сите анализирани генотипови	69
6.4.3.1 Алелни варијанти, алелни фреквенции на локусот Xgwm294	70
6.4.3.2 Алелни варијанти, алелни фреквенции на локусот Xwmc264	70
6.4.3.3. Алелни варијанти, алелни фреквенции на локусот Xgwm408	72
6.4.3.4 Алелни варијанти, алелни фреквенции на локусот Xcfd15	73
6.4.3.5 Алелни варијанти, алелни фреквенции на локусот Xbarc151	73
6.4.3.6 Алелни варијанти, алелни фреквенции на локусот Xgwm257	74
6.4.3.7. Алелни варијанти, алелни фреквенции на локусот Xwmc89	75
6.4.3.8 Алелни варијанти, алелни фреквенции на локусот Xbarc84	76
6.4.3.9 Алелни варијанти, алелни фреквенции на локусот Xcfd65	77
6.4.3.10. Алелни варијанти, алелни фреквенции на локусот Xgwm642	78

6.4.4	Анализа на полиморфизмот на микросателитските локуси кај родителските генотипови	83
6.5	Таксономска припадност на видовите од родот <i>Triticum</i>	87
6.5.1.	Коефициент на генетска блискост кај родителските генотипови	87
6.5.2	Коефициент на генетска блискост кај хибридните генотипови	88
6.5.3	Кластер анализа на генотипови пченица врз основа на микросателитски маркери	89
6.5.4	K-means кластер анализа на генотипови пченица врз основа на микросателитски маркери	94
6.5.5.	Анализата на главните компоненти (PCA) на анализираните генотипови пченица врз основа на микросателитски маркери	95
7.	ЗАКЛУЧОЦИ	98
8.	ЛИТЕРАТУРА	104
	ПРИЛОЗИ	117

СИСТЕМАТСКА ПРИПАДНОСТ НА НЕКОИ ВИДОВИ ОД РОДОТ *TRITICUM* ВРЗ ОСНОВА НА ПОЛИМОРФИЗМОТ НА МОРФОЛОШКИТЕ И МОЛЕКУЛАРНИТЕ МАРКЕРИ

АПСТРАКТ

Докторската дисертација е насочена кон определување на систематската припадност и таксономската диференцијација на трите економски и еволутивно значајни видови пченица од родот *Triticum* со различна геномска и хромозомска структура: *Triticum durum* Desf., *Triticum aestivum* L. и *Triticum dicoccum* Schrank ex Schübler, како и на линиите добиени со нивна меѓувидова хибридизација, преку интегриран пристап на морфолошка карактеризација и молекуларна анализа со микросателитски (SSR) маркери, со цел унапредување на систематиката и поддршка на селекцијата на пченицата.

За фенотипска карактеризација, евалуирани се пет родителски форми (сортите тврда пченица *мина* и *ива*; сортата мека пченица *скопјанка* и линијата *MT 6/2*; вариететот *Triticum dicoccum* var. *pherugeneum* - *dicoccum црвен*) и 90 линии добиени со нивна меѓувидова хибридизација. Морфолошката карактеризација опфати пет квантитативни својства (висина на растение, должина на клас, број на продуктивни братимки, број на зрна во клас и маса на зрна од клас), обработени со анализа на главните компоненти (PCA), кластер-анализа и двојна кластер-анализа. Молекуларната анализа беше извршена со 10 SSR маркери кај 50 генотипови, а генетската сличност и таксономската диференцијација беа проценети преку коефициенти на генетска блискост, кластер-анализа и PCA.

Резултатите покажаа високо значајни разлики меѓу родителските форми за сите испитувани морфолошки својства. Кластер-анализата и двојната кластер-анализа диференцираа четири јасни групи генотипови, во целосна согласност со PCA, при што вариететот *dicoccum црвен* се издвои како потполно автономен, потврдувајќи ја таксономската класификација на Dorofeev и сор. (1979). Идентификувана е и специфична група хибридни линии со трансгресивни вредности за компонентите на приносот, повисоки од родителските форми, што укажува на висок потенцијал за хетерозис кај вкрстувањата на таксономски подивергентни родители. Молекуларната анализа потврди висок степен на полиморфизам кај испитуваните генотипови, а дендрограмот конструиран врз основа на молекуларните податоци ги класифицира генотиповите во кластери целосно согласни со нивното пloidно ниво, при што тетраплоидните таксони (*T. durum* и *T. dicoccum*) покажаа јасна генетска дистанца во однос на хексаплоидните генотипови. Кај десетте анализирани SSR локуси беа идентификувани вкупно 48 алелни варијанти (просечно 4,8 алели по локус), со најголем полиморфизам на локусот Xwmc89 (9 алелни варијанти, PIC=0,85) — локус поврзан со QTL за принос на пченица при сушни услови. PCA базирана на молекуларната анализа, дополнително ја потврди оваа диференцијација. Анализата на генетската блискост потврди најголема различност помеѓу *T. aestivum* и *T. dicoccum*, поддржувајќи ја нивната еволутивна и таксономска одделеност. Кај дел од линиите добиени со меѓувидова хибридизација со *Triticum dicoccum* беше потврден конкретен молекуларен доказ за интрогресија, преку присуство на специфични алели, што покажува дека генетската варијабилност на овој диворастечки вид реално може да се внесе во геномот на култивираната пченица.

Истражувањето ја потврдува високата ефикасност на микросателитските маркери и мултиваријантните статистички методи во прецизното определување на систематската припадност и филогенетските односи кај видовите од родот *Triticum*. Добиените резултати овозможуваат појасно разграничување на тетраплоидните и хексаплоидните форми, а *Triticum dicoccum* се потврдува како посебен и таксономски значаен вид. Резултатите претставуваат значаен придонес за систематиката на пченицата, со потенцијална примена во базите на податоци и меѓународните колекции.

Клучни зборови: *Triticum*, систематска припадност, генетска дистанца, морфолошки својства, PCA, кластер-анализа, микросателитски маркери, дендрограм.

SYSTEMATIC AFFILIATION OF SOME SPECIES OF THE GENUS *Triticum* BASED ON THE POLYMORPHISM OF MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR MARKERS

ABSTRACT

The doctoral dissertation focuses on determining the systematic affiliation and taxonomic differentiation of three economically and evolutionarily important wheat species of the genus *Triticum* with different genomic and chromosomal structure: *Triticum durum* Desf., *Triticum aestivum* L. and *Triticum dicoccum* Schrank ex Schübler, as well as the lines obtained through their interspecific hybridization, through an integrated approach of morphological characterization and molecular analysis with microsatellite (SSR) markers, with the aim of advancing systematics and supporting wheat breeding.

For phenotypic characterization, five parental forms were evaluated (the durum wheat cultivars *Mina* and *Iva*; the common wheat cultivar *Skopjanka* and the line *MT 6/2*; the variety *Triticum dicoccum* var. *pherugeneum* – *dicoccum red*) and 90 lines obtained through their interspecific hybridization. Morphological characterization included five quantitative traits (plant height, spike length, number of productive tillers, number of grains per spike, and grain weight per spike), processed using principal component analysis (PCA), cluster analysis, and double cluster analysis. Molecular analysis was performed with 10 SSR markers in 50 genotypes, and genetic similarity and taxonomic differentiation were assessed through genetic-similarity coefficients, cluster analysis, and PCA.

The results showed highly significant differences among the parental forms for all morphological traits examined. Cluster analysis and double cluster analysis differentiated four clear genotype groups, fully consistent with PCA, with the variety *dicoccum red* standing out as completely autonomous, confirming the taxonomic classification of Dorofeev et al. (1979). A specific group of hybrid lines with transgressive values for yield components, higher than the parental forms, was also identified, indicating a high potential for heterosis in crosses between taxonomically more divergent parents. Molecular analysis confirmed a high degree of polymorphism among the genotypes examined, and the dendrogram constructed from the molecular data classified the genotypes into clusters fully consistent with their ploidy level, with the tetraploid taxa (*T. durum* and *T. dicoccum*) showing a clear genetic distance from the hexaploid genotypes. Across the ten SSR loci analyzed, a total of 48 allelic variants were identified (an average of 4.8 alleles per locus), with the highest polymorphism at the *Xwmc89* locus (9 allelic variants, PIC = 0.85) — a locus associated with a QTL for wheat yield under drought conditions. PCA based on the molecular analysis further confirmed this differentiation. Genetic-similarity analysis confirmed the greatest divergence between *T. aestivum* and *T. dicoccum*, supporting their evolutionary and taxonomic separation. In some of the lines obtained through interspecific hybridization with *Triticum dicoccum*, concrete molecular evidence of introgression was confirmed through the presence of specific alleles, showing that the genetic variability of this wild-growing species can indeed be introduced into the genome of cultivated wheat.

The research confirms the high efficiency of microsatellite markers and multivariate statistical methods in precisely determining the systematic affiliation and phylogenetic relationships among species of the genus *Triticum*. The results obtained enable a clearer distinction between tetraploid and hexaploid forms, and *Triticum dicoccum* is confirmed as a distinct and taxonomically significant species. The results represent a significant contribution to wheat systematics, with potential application in databases and international collections.

Keywords: *Triticum*, systematic affiliation, genetic distance, morphological traits, PCA, cluster analysis, microsatellite markers, dendrogram.

ЛИСТА НА КРАТЕНКИ

A	аденин
Abs	абсорбанца
AFLP	полиморфизам во должината на амплифицираните фрагменти (Amplified Fragment Length Polymorphism)
bp	базен пар
CV%	варијационен коефициент
G	гванин
ДНК	дезоксирибонуклеинска киселина
dATP	деоксиаденозин трифосфат
dCTP	деоксицититидин трифосфат
dGTP	деоксигванозин трифосфат
dNTP	деоксинуклеозид трифосфат
dTTP	деокситимидин трифосфат
He	очекувана хетерозиготност (expected heterozygosity)
Ho	набљудувана хетерозиготност (observed heterozygosity)
EST	ознака на експримирана секвенца (Expressed Sequence Tag)
FAO	Организација за храна и земјоделство при Обединетите Нации (Food and Agriculture Organization)
иPHK	информативна PHK
ISSRs	повторувања на внатрешни едноставни секвенции (Inter Simple Sequence Repeats)
L.	Лине (Linnaeus)
MAS	маркер-асистирана селекција (Marker-Assisted Selection)
mA	милиампер
mg	милиграм
μL	микролитри
nm	нанометри
PIC	содржина на полиморфни информации (Polymorphism Information Content)
PCR	полимеразно верижна реакција (Polymerase Chain Reaction)
QTL	квантитативни локуси на особини (Quantitative Trait Loci)
RAPD	случајно амплифицирана полиморфна ДНК (Random Amplified Polymorphic DNA)
RFLP	полиморфизам на должина на рестрикциони фрагменти (Restriction Fragment Length Polymorphism)
PHK	рибонуклеинска киселина
sp.	вид
SNP	полиморфизам на поединечни нуклеотиди (Single Nucleotide Polymorphism)

SSR	повторувања на едноставни секвенци (Simple Sequence Repeats)
Taq ДНК полимераза	ДНК полимераза изолирана од термофилната бактерија <i>Thermus aquaticus</i>
U	урацил
UV	ултравиолетова светлина
var,	вариетет

1.ВОБЕД

Пченицата е житна култура од фамилијата Poaceae и претставува важна стопанска култура. Таа е опишана како кралица на житните култури поради површината што ја зафаќа, високото производство и значајната позиција што ја има во меѓународниот пазар на храната. Пченицата припаѓа на редот Poales, фамилијата Poaceae, подфамилијата Pooidea, родот *Triticum*. Зафаќа површина од 219.500.000 хектари, производство од 793.012.175 тони и просечен принос од 3.64 t/ha (FAO, 2024). Во 2024 година во Република Северна Македонија пченицата била одгледувана на околу 70.000 хектари, при што е остварено производство од приближно 230–245 илјади тони и просечен принос од 3,4–3,5 t/ha. Овие вредности се блиски до светскиот просек на принос на пченица.

Повеќето култивирани сорти пченица припаѓаат на два вида од родот *Triticum*, хексаплоидната пченица ($2n=6x=42$, AABBDD) *Triticum aestivum* L. и тетраплоидната пченица ($2n=4x=28$, AABB) *Triticum durum* Desf. Меката пченица *Triticum aestivum* L. е најважен и најраспространет вид со 90% од целокупното производство. Втор вид по распространетост е тврдата пченица *Triticum durum* Desf., која е застапена со 5% од целокупното производство, а другите видови пченица се застапени со помалку од 5% од целокупното производство (Monneveux и сор., 2012).

Родот *Triticum* се состои од диплоидни $2n = 14$, тетраплоидни $4n = 28$ и хексаплоидни $6n=42$ видови. Основниот процес во еволуцијата на видовите на родот *Triticum* била алоплоидизација преку хибридизација со видовите од родот *Aegilops* од кој потекнуваат неколку тетраплоидни и хексаплоидни видови пченица, од кои повеќето се доместицирани (Feldman и Levy, 2012). Филогенетското создавање на меката пченица се одвивало во две етапи на еволуцијата. Диплоидните видови со геном AA се вкрстиле со други видови со геном BB. По создавањето на амфиплоидот со геном AABB настанала хибридизација со диплоидни видови со геном DD што резултирало со формирање на хексаплоидните видови како *Triticum aestivum* со геном AABBDD (El Baidouri и сор., 2017).

Пченицата се карактеризира со исклучително тесна генетска основа, која произлегува од процесот на самооплодување, од долгиот процес на доместикација на меката и тврдата пченица, транзицијата од традиционални популации на современи селектирани сорти и од интензивната селекција во меѓународни рамки (Mondini и сор.,

2010). Познавањето на систематската припадност овозможува ефикасно управување и искористување на генетските ресурси.

Денешното познавање за биолошката разновидност покрива помалку од 20% од вкупниот проценет светски биодиверзитет, а таксономската позиција и еволутивните односи на многубројните таксони се во голема мера нерешени. Во последните децении, покрај напорите за надминување на недостатоците во евидентирањето на биолошката разновидност, во научните истражувања сè повеќе се применува филогенијата. На тој начин, класификацијата на организмите се темели на претпоставените еволутивни врски меѓу таксоните (Kim и Вугне, 2016). Таксономијата и систематиката несомнено го претставуваат столбот на науката за биолошката разновидност на пченица, бидејќи претставуваат основа за идентификација и раздвојување на единствени таксономски единици, но и на повисоките таксономски категории. Проучување на филогенезата, еволуцијата и систематиката на родот *Triticum* е неопходна за да се добијат соодветни одговори на барањата на модерната наука, што се должи пред сè на потребата за дополнително подобрување на овој род, поради постојаните климатски промени и растот на човечката популација, односно зголемената потреба за храна. Филогенетската и еволутивната варијабилност на пченицата има значаен удел во дизајнирање на конзервациона програма, како и за избор на генетски ресурси кои ќе се користат во програмите за подобрување на култивираните видови. Покрај тоа, информациите за систематската припадност се клучни и во селекцијата, за идентификација, за предвидување на успехот на интогресијата и за сертификација на нови линии и комерцијални сорти.

За време на долгиот еволутивен процес на модерната култивирана пченица, се случиле брзи промени во геномот на пченицата, што резултирало со загуба на голем број на гени (Rahman и сор., 2020). За создавање нова филогенетската варијабилност, може да се користат генетските ресурси на сродни диворастечки видови, како *Triticum dicoccum*, кој претставува добар извор на нова варијабилност.

Систематската припадност е дефинирана како вредност на варијабилноста што се рефлектира и во разликите во секвенциите на ДНК, биохемиските, физиолошките или морфолошките карактеристики. Биолошката разновидност и систематската припадност на пченицата може да се одреди со употреба на повеќе видови маркери: морфолошки, биохемиско-генетски маркери (изоензими и протеини) и молекуларни (ДНК) маркери. Во

последните децении, во истражувањата сè повеќе се инкорпорира филогенијата, базирајќи ја класификацијата на видовите врз претпоставките за еволутивните односи помеѓу таксоните, а истражувањата на интра и интерспецифична варијабилност се поцелосни со интегративно користење на податоци од различни видови маркери (Lee и Palci, 2015). Употребата само на морфолошки маркери е лимитирана и е резултат на генетската експресија, така што од нив може да се добие основната информација, но тие исто така зависат и од интеракцијата меѓу генотипот и надворешната средина. ДНК маркерите се особено корисни заради нивната независност од надворешните услови, високиот степен на полиморфизам, нивната скоро неограничена достапност и нивниот огромен потенцијал за автоматизација (Merritt и сор., 2015). Употребата на молекуларни ДНК маркери овозможува откривање на варијации или полиморфизми кои постојат за одредени региони на ДНК, што претставува основа за утврдување на варијабилноста кај видовите, сортите, линиите и нивна таксономска детерминација (Nadeem и сор., 2018). Информациите обезбедени од полиморфизмот на морфолошките и ДНК маркерите се многу посигурни бидејќи се засноваат на сеопфатни податоци кои потекнуваат од различни извори. Земајќи ги предвид сите предности и недостатоци на анализата на поединечни маркери, најдобри резултати за идентификација на видовите или сортите и нивна таксономска детерминација се добива со нивна комбинирана анализа.

Добиените резултати од истражувањето ќе имаат значајна научна и апликативна вредност. Од научен аспект, тие ќе придонесат кон продлабочување на сознанијата во областа на ботаниката, генетиката и молекуларната систематика на растенијата, и воедно ќе обезбедат основа за идни истражувања насочени кон проучување на генетскиот диверзитет и еволутивните односи кај видовите од родот *Triticum*. Се очекува анализата на полиморфизмот на ДНК-маркерите кај различни видови пченица да овозможи попрецизна процена на таксономските и филогенетските односи меѓу испитуваните таксони во споредба со проценките базирани исклучиво на морфолошките карактеристики. На тој начин ќе се обезбедат посигурни податоци за систематската поставеност и еволутивната поврзаност на видовите, што ќе придонесе за поцелосно разбирање на систематиката на родот *Triticum*. Дополнително, прецизното разграничување на таксоните ќе овозможи подобро согледување на генетската и биолошката разновидност на пченицата, како и

развивање на научно засновани стратегии за зачувување, управување и одржливо користење на нејзините генетски ресурси.

2. ПРЕГЛЕД НА ЛИТЕРАТУРА

2.1 Еволуција на родот *Triticum*

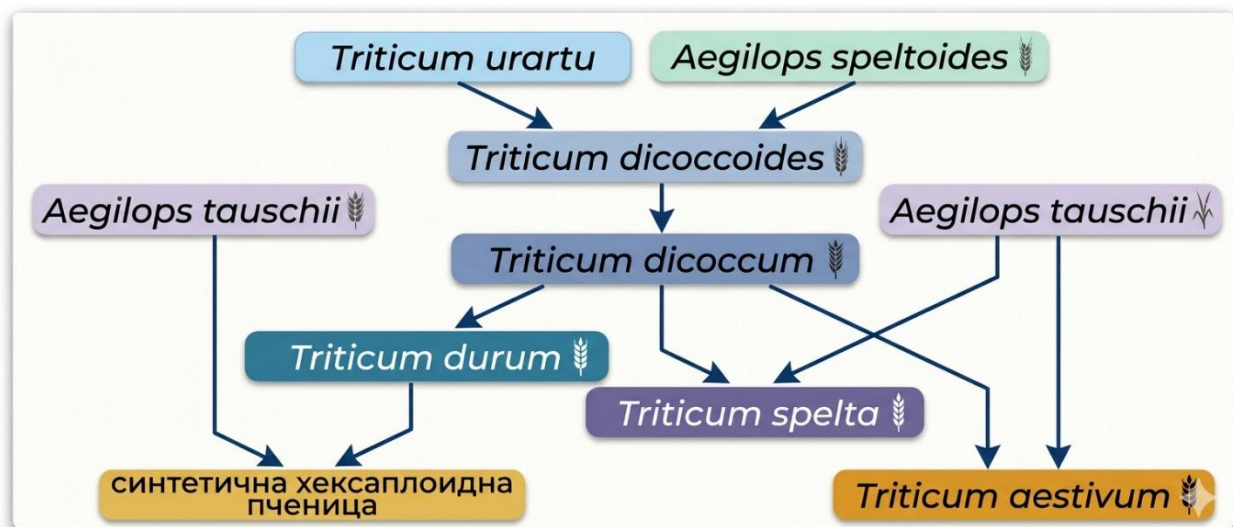
Сите култивирани видови пченица потекнуваат од родот *Triticum*, кој припаѓа на редот *Triticeae*, подфамилијата *Pooideae*, фамилијата *Poaceae*. Се претпоставува дека еволуцијата на подфамилијата *Pooideae*, која освен пченица вклучува јачмен и овес, започнала во периодот пред 50 до 80 милиони години. Малку подоцна, пред 35 милиони години, се поделиле трибусите *Triticeae* и *Poeae*. Родот *Hordeum* (јачмен) се поделил од родот *Triticum/Aegilops* пред околу 11 милиони години, додека родот *Secale* (овес) се поделил пред околу 7 милиони години (Peleg, 2011). Благодарение на напредните цивилизации во Југозападна Азија, Кина и Јужна Америка, неколку видови од фамилијата *Poaceae* како пченица (род *Triticum*), ориз (род *Oryza*) и пченка (род *Zea*) биле одгледувани пред 8.000 и 12.000 години (Pozzi и Salamini, 2007).

Главната сила во еволуцијата на видовите на родот *Triticum* била алоплоидизација преку хибридизација со видовите на родот *Aegilops* (Feldman и Levy, 2012). Според Tsunewaki (2009), алоплоидизацијата ја забрзува еволуцијата на геномот со предизвикување на брзи геномски промени преку создавање на различни генетски и епигенетски промени и исто така ги олеснува спорадичните геномски промени кои не можат да се остваруваат на ниво на диплоиден геном.

Еволуцијата на родот *Triticum* започнала со еволутивно раздвојување на диплоидните предци на денешните А, В и D геноми пред приближно 2,5–4,5 милиони години. Видовите *Triticum urartu* и *Triticum monococcum*, носители на А-геномот, се поделиле пред околу 0,5–1 милион години, додека тетраплоидните видови пченица настанале како резултат на природна хибридизација и полиплоидизација пред приближно 0,3–0,5 милиони години (Huang и сор., 2002). Во процесот на создавањето на тетраплоидните пченици се случиле два независни настани на хибридизација. Едниот настан е поврзан со потеклото на тетраплоидната пченица *Triticum dicoccoides* со геном AABB, а другиот со потекло на *Triticum timopheevii* со геном AAGG (Kilian и сор., 2007).

Генезата на тетраплоидните видови со AABB и AAGG геном ја поставила основата за понатамошна диверзификација. *Triticum dicoccoides* и *Triticum timopheevii* се доместицирани, а нивните култивирани форми се појавиле во раната фаза на земјоделството пред околу 10.000 години. Од видот *Triticum dicoccoides* дивергирале денешните култивирани тетраплоидни видови *Triticum durum* и *Triticum dicoccum* (Özkan и сор., 2011).

Хексаплоидните пченици се појавиле преку природна хибридизација меѓу тетраплоидните видови и диплоидните видови на родот *Aegilops* и *Triticum*. *Triticum zhukovskyi* (AAAAGG) потекнува од хибридизацијата на *Triticum timopheevii* (AAGG) со култивираниот *Triticum monosocum* во Транскавказкиот регион (Dvořák и сор., 1998; Singh и сор., 2019). Од друга страна, хексаплоидната пченица *Triticum aestivum* (AABBDD) настанала преку хибридизација на тетраплоидниот вид *Triticum dicoccum* (AABB) со диплоидниот вид *Aegilops tauschii* (DD) (Wang и сор., 2013). Овој еволутивен настан се случил пред приближно 7.000–8.000 години и резултирал со појава на хексаплоидна пченица со зголемена адаптивност и подобрен приносен потенцијал. Поради овие поволни агрономски карактеристики, овие форми биле подложени на рана човечка селекција и култивација, што придонело кон започнување на понатамошната еволуција и диверзификација на современите култивирани видови пченица (Shewry, 2007). Еволуцијата на родот *Triticum* е предствена на слика 1.



Слика 1. Еволуција на родот *Triticum* (според Peng и сор., 2011).

За одредување на донорите на геномот А, геномот В и геномот D направени се голем број на истражувања. Zohary и сор. (1969) со цитогенетски и морфолошки анализи како донор на геномот А го предложил *Triticum monococcum*. Но, со признавањето на *Triticum urartu* како нов вид, цитогенетските (Chapman и сор., 1976), имунохемиските (Konarev, 1983), електрофоретските анализи на протеините (Ciaffi и сор., 1997), ДНК анализи (Brandolini и сор., 2006; Ling и сор., 2013; Zhang и сор., 2021) утврдиле дека овој вид е донор на геномот А на полиплоидните видови пченица. Исто така постои општа согласност дека донорот на геномот D, кој е одговорен за добриот квалитет на брашното кај меката пченица е *Aegilops tauschii* Coss. (Wang и сор., 2015; Jia и сор., 2013).

И покрај бројните обиди за идентификација на донорот на В-геномот, неговото еволутивно потекло останува најконтроверзно и сè уште недоволно разјаснето во научната литература. Причините за недостатокот на совпаѓање помеѓу денешните геноми на диплоидните видови и геномот В може да бидат поврзани со повисокиот степен на диверзификација на геномот В во однос на геномот А (Petersen и сор., 2006) или поради тоа што донорот на геномот В е исчезнат во процесот на еволуција (Andersson и сор., 2015). Повеќе студии покажале дека геномот В кај тетраплоидната и хесаплоидната пченица е сличен со геномот S на таксономската група *Sitopsis* на родот *Aegilops*. Во рамките на таксономската група *Sitopsis*, како потенцијални донори на В-геномот се предложени неколку видови, меѓу кои *Aegilops bicornis* (von Büren, 2001), *Aegilops longissima* (Ogihara и Tsunewaki, 1982; Baum и сор., 2009) и *Aegilops speltoides*, за кој во досегашните истражувања се акумулирани најсилни и најконзистентни докази кои ја поддржуваат неговата потенцијална улога како донор на геномот В. Golovnina и сор. (2007) извршиле филогенетска анализа базирана на ДНК кај сите видови на пченица и блиските видови на родот *Aegilops* и заклучиле дека најсличен геном со геномот В е геномот S на *Aegilops speltoides*, што го поддржува монофилетско еволутивно потекло на В геномот. До исти резултати дошле Haider (2013) и Li и сор., (2022).

Потеклото на А-геномот (*Triticum urartu*) и на D-геномот (*Aegilops tauschii*) денес се сметаат за широко прифатени, поткрепени со независни цитогенетски, имунохемиски, електрофоретски и ДНК анализи. Контрадикторни/нерешени прашања: потеклото на В-геномот останува најконтроверзно во еволуцијата на родот и покрај тоа што *Aegilops speltoides* е предложен како најверојатен донор врз основа на филогенетски анализи

(Golovņina и сор., 2007; Haider, 2013; Li и сор., 2022). Недостатокот на целосно совпаѓање со денешните диплоидни геноми остава простор за алтернативни хипотези (исчезнат донор наспроти повисок степен на диверзификација). Отворено прашање: точната временска и просторна реконструкција на настаните на алоплоидизација, како и прашањето за дифилетско наспроти монофилетско потекло на полиплоидните форми, бараат понатамошна интеграција на компаративни геномски податоци.

2.2 Таксономска припадност на родот *Triticum*

Таксономијата на родот *Triticum* L., како и на многу други култивирани растителни родови, претставува сложено и делумно контроверзно поле на истражување. Класификацијата на пченицата има долга историја, при што првите систематски обиди се поврзуваат со работата на Karl Line, кој ја поставил основата на родовата класификација врз основа на јасно забележливи морфолошки карактеристики (Balint и сор., 2000). Во првото издание на *Species Plantarum* (1753), се опишани пет видови: *Triticum aestivum*, *Triticum hybernum*, *Triticum turgidum*, *Triticum spelta* и *Triticum monococcum*. Подоцна, во второто издание (1764), е дополнет и видот *Triticum polonicum*. Од XVIII до почетокот на XX век, морфолошките и фитогеографските карактеристики претставувале единствена основа за таксономската класификација на родот *Triticum*. Еден од првите посистематизирани пристапи во современата смисла е класификацијата на Schulz (1913), кој предложил прв филогенетски ориентиран систем заснован на морфолошки белези (Yen и сор., 2020). Schulz го поделил родот *Triticum* во три главни таксономски групи: еднозрни, двозрни и спелта пченици. Овие групи не се разликуваат само морфолошки, туку покажуваат и разлики во однос на нивната отпорност кон различни болести.

Почнувајќи од XX век, таксономската класификација на пченицата се заснова на цитогенетски и генетски методи, кои значително придонесуваат за пообјективно дефинирање на еволутивните и филогенетските релации во рамките на родот *Triticum* (Hillman, 2001). Со цитогенетски методи Sakamura (1918) и Kihara (1924) утврдиле дека видовите пченица спаѓаат во три групи врз основа на нивната полиплоидност: диплоидни $2n = 14$, тетраплоидни $4n = 28$ и хексаплоидни $6n = 42$. Врз основа на цитогенетските испитувања, Kihara (1924) ја создава геномската формула на *Triticum monococcum* L. (AA),

Triticum turgidum L. (AABB) и *Triticum aestivum* L. (AABBDD) и го претставил својот цитогенетски метод за проучување на филогенетските односи меѓу видовите на родот *Triticum*.

Постојат повеќе класификации на пченица кај кои постои несовпаѓање во однос на бројот на видови и подвидови кај секоја плоидна секција. Денес, истражувачите најчесто се потпираат на класификацијата на Mac Key (1966, 1968, 1975, 1989), подоцна модифицирана од van Slageren (1994), и класификацијата на Dorofeev и сор. (1979). Првата класификација најчесто се употребува во западната, додека втората во источната научна заедница (Goncharov, 2005).

Mac Key својата класификација ја заснова врз мал број на гени вклучени во контролата на морфолошките разлики при што оваа класификација се карактеризира со широк концепт за видовите и брои само десет видови. Таксономијата на родот *Triticum* според Mac Key од 2005 година го дели родот *Triticum* на четири секции:

- првата секција *Monococcon* Dumort. се состои од диплоидни видови ($2n=14$) во која припаѓаат *Triticum monococcum* L. и *Triticum urartu* Tumanian ex Gandilyan.
- втората секција *Dicoccoidea* Flaksb. ја вклучува тетраплоидната серија ($2n=28$), односно *Triticum turgidum* L, во кој се вклучени подвидовите *turgidum* и *durum*.
- третата секција *Triticum* се состои од хексаплоидна серија ($2n=42$) која ги вклучува видовите *Triticum zhukovskyi* Menabde & Ericz, *Triticum kiharae* Dorof. et Migush и *Triticum aestivum* L. со нивните подвидови.
- четвртата секција *Triticosecale* (Wittm. ex Camus) Mac Key се состои од три вида : *Triticum semisecale* Mac Key, *Triticum neoblaringhemii* (Wittm. ex Camus) Mac Key, comb. nov. и *Triticum* (Wittm.) Mac Key.

Dorofeev и сор. (1979) детално ги опишале морфолошките карактеристики во класификацијата и истата има улога во истражувањата за биодиверзитетот. Во класификацијата детално се опишани култивирани видови пченица, но и диворастечките предстваници. Дваесет и седум вида и 1242 интраспецифични таксони што се опишани, се целосно каталогизирани со ботанички описи, таксономски клучеви, географската дистрибуција, потекло и историја. Според ова класификација родот *Triticum* е поделен на два подрода *Triticum* и *Boeoticum*, според присуството на геномот A^b који потекнува од

Triticum urartu Thum. ex Gandil. и геномот A^u со потекло од *Triticum boeoticum* Boiss. (Goncharov, 2011). Преглед на системот на класификација на Dorofeev и сор. (1979) е даден во Табела 1. Подродот *Triticum* понатаму е поделен на три секции. Секција *Urartu* Dorof. et A. Filat. на која и припаѓа *Triticum urartu* Thum. ex Gandil со диплоиден број на хромозоми $2n=14$ (AA), секцијата *Dicoccoides* Flaksb во која припаѓаат тетраплоидните видови $2n=28$ (A^uB) *Triticum dicoccoides* (Koern. ex Aschers. et Graeb.) Schweif. (A^uB), *Triticum dicoccum* (Schränk) Schuebl. $2n=28$ (AuB), *Triticum karamyshevii* Nevski $2n=28$ (A^uB), *Triticum ispahanicum* Heslot $2n=28$ (AuB), и секција *Triticum* која се состои од тетраплоидни видови *Triticum turgidum* L. (A^uB), *Triticum jakubzineri* Udacz. et Schachm., *Triticum durum* Desf. (A^uB), *Triticum turanicum* Jakubz. (A^uB), *Triticum polonicum* L. (A^uB), *Triticum aethiopicum* Jakubz. (A^uB), *Triticum carthlicum* Nevski (syn. *T. persicum* Vav.) (A^uB) како и хексаплоидни видови ($2n=42$), *Triticum macha* Dekapr. et Menabde (A^uBD), *Triticum spelta* L. (A^uBD), *Triticum vavilovii* (Thum.) Jakubz. (A^uBD), *Triticum compactum* Host (A^uBD), *Triticum aestivum* L. (A^uBD), *Triticum sphaerococcum* Perciv. (A^uBD) и *Triticum petropavlovskyi* Udacz. et Migusch. (A^uBD). Подродот *Boeoticum* Migusch. et Dorof. ги вклучува секцијите *Monococcon* Dum. со видовите *Triticum boeoticum* Boiss. (A^b), *Triticum monococcum* L. (A^b), *Triticum sinskajae* A. Filat. et Kurk (A^b) и секција *Timopheevii* A. Filat. et Dorof. во која припаѓаат видовите *Triticum araraticum* Jakubz. (A^bG), *Triticum timopheevii* (Zhuk.) Zhuk. (A^bG), *Triticum zpukovskii* Menabde et Erizjan (A^bAbG) и *Triticum militinae* Zhuk. et Migusch. (A^bG). Последната секција е *Kiharae* Dorof. et Migusch. во кои е класифициран видот *Triticum kiharae* Dorof. et Migusch. (A^bGD).

Класификацијата на van Slageren (1994) е надопонување на класификацијата на Mac Key (1989). Filatenko и Hammer (1997) објавиле нови описи на пченица на интраспецифично ниво. Откриени се нови морфолошки варијации според кои се опишани четири нови ботанички вариетети кај *Triticum monococcum* L., пет ботанички вариетети кај *Triticum urartu* Thum. ex Gandil и шест ботанички вариетети кај *Triticum boeoticum* Boiss. Em. Schiemann. Goncharov (2011) направил ревизија на класификација на Dorofeev, врз основа на компаративна-генетска анализа, според која сите диворастечки и култивирани диплоидни видови, се класифицирани во посебна група *Monococcon*.

Hammer и сор. (2011), ги споредувале двата системи на класификација на пченица. Тие наведуваат дека постоењето на голем број критериуми кај класификациите на Mac Key (1966, 1989) и van Slageren (1994) кои се користат за поделба на видовите, подвидовите и вариететите, ќе доведе до недоволна застапеност на генетскиот диверзитет. Широкиот концепт на видовите го редуира богатството на морфолошките варијации кај диворастечката и култивираната пченица.

Табела 1. Преглед на класификацијата на родот *Triticum* според Dorofeev и сор. (1979)

	Подрод	Секција / Геном	Видови
<i>Triticum</i>	<i>Triticum</i>	<i>Urartu</i> Au	<i>T. urartu</i>
		<i>Dicoccoides</i> AuB	<i>T. dicoccoides</i>
			<i>T. dicoccum</i>
			<i>T. karamyshevii</i>
			<i>T. ispahanicum</i>
		<i>Triticum</i> AuBD	<i>T. turgidum</i>
			<i>T. jakubzineri</i>
			<i>T. durum</i>
			<i>T. turanicum</i>
			<i>T. polonicum</i>
			<i>T. aethiopicum</i>
			<i>T. carthlicum</i>
			<i>T. macha</i>
			<i>T. spelta</i>
			<i>T. vavilovii</i>
			<i>T. compactum</i>
			<i>T. aestivum</i>
			<i>T. sphaerococcum</i>
			<i>T. petropavlovskyi</i>
	<i>Boeoticum</i>	<i>Monococcon</i> Ab	<i>T. boeoticum</i>
			<i>T. monococcum</i>
			<i>T. sinskajae</i>
		<i>Timopheevii</i> AbG	<i>T. araraticum</i>
			<i>T. timopheevii</i>
			<i>T. zhukovskyi</i> bAbG
			<i>T. militinae</i>
		<i>Kiharae</i> AbGD	<i>T. kiharae</i>
Вкупно	2	6	27

Како недостаток на ова класификација тие наведуваат неколку податоци: вклучувањето на една диворастечка пченица *Triticum dicoccoides* (Körn. ex Aschers. et Graebn.) Schweinf и девет тетраплоидни култивирани пченици *Triticum turgidum* L., *Triticum dicoccum* (Schrank) Schuebl., *Triticum karamyshevii* Nevski, *Triticum ispahanicum* Heslot, *Triticum durum* Desf., *Triticum turanicum* Jakubz., *Triticum polonicum* L., *Triticum aethiopicum* Jakubz., *Triticum carthlicum* Nevski во еден вид *Triticum turgidum*; вклучување на постари видови во еволутивно помладите видови *Triticum turgidum* и *Triticum timopheevii* (Zhuk.) Zhuk; како и оценувањето на видовите *Triticum araraticum* Jakubz. и *Triticum timopheevii* како посебни видови иако тие не можат да се вкрстат за да даваат плодно потомство.

Поделбата на видовите пченица врз основа на плоидноста (диплоидни, тетраплоидни, хексаплоидни) е цитогенетски добро утврдена и општо прифатена во научната заедница. Контрадикторни сознанија: класификациите на Mac Key (широк концепт на видот, десет видови) и на Dorofeev и сор. (тесен концепт, 27 видови) даваат значително различен број таксономски единици за истиот генетски материјал, а нивната паралелна употреба ја отежнува директна споредба на резултатите меѓу студиите. Недостигот на консензус укажува на потребата од ревидирана и интегрирана класификација која ќе ги комбинира морфолошките со молекуларните критериуми.

Познавањето на таксономијата и систематиката претставува фундаментална основа за проучување на биолошката разновидност кај пченицата, бидејќи овозможува прецизна идентификација и разграничување на филогенетски таксони. Во овој контекст, утврдувањето на систематската припадност на видовите од родот *Triticum* е од суштинско значење за добивање релевантни научни сознанија и нивна примена во современите истражувања. Зачувувањето на таксономските единици подразбира нивна задолжителна идентификација, а потоа и заштита на овие единствени филогенетски ентитети. Во овој поглед, интегрираниот пристап кој комбинира морфолошки и молекуларно-генетски маркери се смета за неопходен за адекватно одговарање на барањата на современата биолошка наука. Во последните децении се забележува значително зголемување на примената на методи од молекуларната биологија во еволутивните и систематските истражувања. Развиени се бројни аналитички методи и софтверски програми за детекција

и анализа на варијации на морфолошко и молекуларно ниво, што придонесува за зголемена прецизност и ефикасност при проценката на систематската припадност на пченицата.

2.3 Примена на фенотипски својства во еволутивните студии

Биолошката разновидност и систематската припадност кај пченицата може да се одреди со употреба на повеќе видови маркери меѓу кои се и фенотипските својства. Фенотипските својства се евидентираат на различни нивоа: морфолошки, физиолошки и биохемиски. Според начинот на наследување вообичаена е поделбата на: квалитативни фенотипски својства кои се одредени од еден или повеќе пара гени и се изразени во форма на мал број дисконтинуирани категории, а влијанието на животната средина врз нивната експресија е занемарливо и квантитативни фенотипски својства кои се контролирани од страна на голем број гени со адитивен или неадитивен ефект, покажуваат континуирана дистрибуција на фреквенции и нивната експресија во голема мера е под влијание на животната средина. Фенотипските својства традиционално се користат при идентификација на видовите, во филогенетски студии и диференцијација на сортите (Smýkal и сop., 2008). Во рамките на Комисијата на Европската Унија (Програма за селекција на растенија отпорни на болести и употреба на генбанка) создаден е дескриптор за пченица со листа на карактеристики кои треба да се опишаат за секоја сорта, популација и линија која се одгледува во реонот или се чува во генбанка.

Многу автори ја доведуваат во прашање веродостојноста на морфолошките маркери и како аргументи истакнуваат: ограничен број на морфолошки маркери, низок степен на полиморфизам, полигена природа на наследство и интеракцијата меѓу генотипот и надворешната средина (Sönmezoğlu и сop., 2012; Govindaraj и сop., 2015). Сепак, морфолошките маркери остануваат значајни во проучувањето на филогенетските односи, бидејќи овозможуваат релативно брза проценка на присутната варијабилност и систематската припадност (Babić и сop., 2011). Во согласност со тоа, Dodig и сop. (2010) наведуваат дека влијанието на надворешната средина врз фенотипската експресија може да се минимизира преку анализа на поголем број примероци, со што се зголемува сигурноста на добиените резултати. Лимитираната употреба на морфолошките маркери може да се надмине со оценување на разновидноста на ниво на одделни локуси со примена на биохемиски и молекуларни маркери. Иако морфолошките маркери не се доволни за

проценка на систематска припадност, молекуларните маркери нудат само дополнителни информации. Токму затоа треба да се развива пристапот, кој ќе овозможи комбинирање на морфолошките и молекуларните маркери (Xunias и сop., 2020).

Податоците добиени со евалуација на фенотипски својства може да се анализираат со различни статистички методи, од едноставните униваријанти па сè до посложените мултиваријанти техники. Mohammadi и Prasanna (2003) ја потенцираат важноста на мултиваријантна анализа како соодветен метод за одредување на поврзаноста и оддалеченоста на испитуваните генотипови, при што анализа на главната компонента PCA и кластер анализа се најчесто користени методи во анализата за групирање на генотиповите врз основана на сличностите на агрономските својства. Мултиваријантните техники истовремено анализираат сет на податоци кои се состојат од мерење на повеќе својства на различни генотипови, ставајќи ги во повеќедимензионален простор во кој секое својство е одредено со една димензија, така што генотиповите со слични вредности на особини се тесно позиционирани во повеќедимензионалниот простор. Бројни истражувачи ги групирале линиите, сортите и видовите на пченица. Најчесто користеле различни типови на мултиваријантна PCA и кластер анализа.

Mohammadi и сop., (2021) со анализа на морфолошките карактеристики на клас утврдиле дека постојат значителни разлики помеѓу тетраплоидата и хексаплоидната пченица во однос на должина на клас, маса на зрна по клас и број на зрна по клас. За повеќето анализирани параметри во групите на тетраплоидната и хексаплоидна пченица е констатирана висока генотипска варијација. Karagöz и сop., (2006) според морфолошки и агрономски својства карактеризирале 112 популации на диворастечка пченица и 12 популации на култивирана пченица. Филогенетското стебло конструирано од резултатите добиени од анализа на 5 морфолошки својства е компатибилно со шематскиот приказ на таксономската група *Aegilops* (van Slageren, 1994). Компаративната анализа на генотиповите кај тврда и мека пченица покажале значителни варијации помеѓу видовите, но и во рамките на видовите. Со следење на 7 морфолошки својства и со последователна статистичка обработка на добиените резултати, Giunta и сop., (2019) биле во можност да ги одделат сите примероци на пченица според нивната таксономска припадност.

Во XX век, зголемената употреба на современите сорти на пченица драстично го намали одгледувањето на стари локални популации. Fiore и сор., (2019) направиле карактеризација на старите локални популации на тврдата пченица во Сицилија со помош на молекуларни маркери и агроморфолошки својства. Разликите помеѓу локални популации од модерните сорти биле значајни за сите тестирани особини, а кластер и PCA анализата покажале групирање на тестирани примероци во 6 групи. Присуството на значителни разлики помеѓу локалните популации, како и присуството на подобри популации во однос на приносот, се основа за искористување на овие важни генетски ресурси. Врз основа на голем број квантитативни особини, Agarwal и сор. (2019) ја проучувале генетската дистанца на дваесет генотипови на пченица. Тестираните генотипови биле класифицирани во два кластери, при што еден генотип бил надвор од главниот кластер. Фенотипската дивергенција во популацијата е во корелација со географското потекло на видот односно географската одалеченост од автохтоното место на колекционирање (Jaradat и сор., 2011). Soriano и сор. (2016) спровеле анализа на таксономската и генетската варијабилност кај 172 популации од тврда пченица и 20 современи сорти, собрани од 21 земја од медитеранскиот регион. Со кластер-анализа е добиен дендограм со шест главни кластери, при што тврдата пченица од источниот Балкан и Турција е поделена во две одделни групи, што укажува на различно потекло на популациите собрани во Македонија и Србија. Испитувањата на филогентската поврзаност и генетската ерозија кај тврдата пченица во Италија и Шпанија покажале присуство на забележителен полиморфизам кој се одржувал во селекциониот процес во текот на минатиот век (Amallah и сор., 2015). Компаративната анализа на генотиповите кај тврда и мека пченица покажале значителни варијации помеѓу видовите, но и во рамките на видовите.

Испитувајќи ја стабилноста на приносот на зрното на 18 генотипови на пченица, во четири локалитети, Mohammadi и Prasanna (2003) ги групираа испитуваните генотипови во три главни кластери. Во рамките на првиот кластер се високо-приносни генотипови со ниска стабилност, во вториот кластер се о генотипови со среден или низок принос, кои покажале ниска или умерена стабилност, а генотиповите со низок принос на зрно и висока стабилност го сочинувале третиот кластер.

Голем број независни студии (Mohammadi и сор., 2021; Karagöz и сор., 2006; Giunta и сор., 2019; Soriano и сор., 2016) потврдуваат дека мултиваријантните техники (PCA,

кластер-анализа) применети врз квантитативни морфолошки својства успешно разграничуваат генотипови според плоидност и географско потекло. Но постои спротивставеност меѓу авторите кои ја доведуваат во прашање веродостојноста на морфолошките маркери поради нивната полигена природа и влијанието на надворешната средина (Sönmezoğlu и сор., 2012; Govindaraj и сор., 2015), и оние кои сметаат дека тие остануваат корисни доколку се анализира поголем број примероци (Dodig и сор., 2010). Степенот до кој фенотипската дивергенција навистина ја одразува филогенетска блискост, наспроти можна конвергентна адаптација на слични услови на средината, не е целосно разјаснет, што ја потврдува потребата од комбиниран пристап со молекуларни маркери.

2.4 Примена на молекуларни маркери во еволутивните студии

2.4.1 Примена на молекуларни маркери во геномот на родот *Triticum*

Молекуларните маркери се фрагменти на ДНК кои претставуваат дел од генот или некодирачки дел од геномот и се карактеризираат со висок степен на полиморфизам. Поред високиот степен на полиморфизам овие маркери се корисни и заради нивната независност од надворешните услови, нивната скоро неограничена достапност, дистрибуција низ целиот геном и нивниот огромен потенцијал за автоматизација (Hayward и сор., 2015). Молекуларните маркери може да се поделат во две групи: 1) кодоминантни маркери: RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) и микросателити (*SSR, Simple Sequence Repeats*); 2) доминантни маркери: AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) и RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) (Acquaah, 2012). Кодоминантните маркери овозможуваат детекција на двете алелни варијанти на еден локус, како и определување на алелната фреквенција за дадениот локус. Доминантните маркери овозможуваат откривање на еден алел во поголем број локуси, при што не е можно разликувањето на хетерозиготите од хомозиготите. Втората поделба на молекуларните маркери се врши врз основа на методот за одредување на полиморфизмот на ДНК: 1) хибридизација помеѓу пробите и хомологните ДНК сегменти (RFLP), 2) Полимеразна верижна реакција - PCR (RAPD, AFLP, SSR) и 3) секвенционирање (SNP - *Single Nucleotide Polymorphism*) (Poczai и сор., 2013).

Развојот на молекуларните методи овозможи вклучување на генетските информации во филогенетските анализи за одредување на адекватната положба на бројни таксони на пченица во филогенетското стебло. Изборот на соодветен молекуларен маркер е од примарна важност за решавање на филогенетските врски, бидејќи тие се различно информативни за различни таксономски нивоа. Вообичаено високо конзервативните молекуларни маркери т.е маркери кои имаат бавна еволуција се користат при испитување на филогенетските односи на повисоки таксономски нивоа, додека хиперваријабилните молекуларни маркери кои брзо еволуираат се користат кога се анализираат филогенетските врски помеѓу пониските таксономски категории (Wiens, 2005). Дефинирањето на генетските односи меѓу важни економски култивирани видови пченица и нивните сродни диворастечки видови е важно за дизајнирање на конзервациска програма и за избор за генетските ресурси кои ќе се користат во програмите за подобрување на култивираните видови.

Систематиката и филогенетските врски во родот *Triticum* со употреба на молекуларни маркери се анализирани од голем број на научници. Golovnina и сор. (2007) со ДНК анализи извршиле филогенетска анализа на сите познати видови пченица и блиските видови на родот *Aegilops*. Врз основа на филогенетското стебло сите анализирани видови на пченица и *Aegilops* се поделени во четири групи. Полиплоидните видови пченица се поделени во две групи, групата Emmer (каде се групирани сите пченици со геном AABB) и групата Timopheevii (во која припаѓаат видовите пченица со геном G како и *Aegilops speltoides*), со што јасно се раздвојуват видовите на пченица со геном B и G. Третата група се состои од диплоидни пченици со геном AA (*Triticum boeoticum*, *Triticum monococcum*, *Triticum urartu*), додека видовите од секцијата *Sitopsis* на родот *Aegilops* се во рамките на четвртата група. Базирани на високиот степен на интраспецифична варијација забележана кај *Aegilops speltoides*, како и на јасната диференцијација на геномите B и G кај полиплоидните пченици, истите автори ја поддржуваат хипотезата за дифилетичко потекло на полиплоидните пченици, односно нивно настанување од два генетски различни еволутивни предци. Испитувањата на филогенетските односи меѓу геномот A кај осум видови пченица (*Triticum monococcum* L., *Triticum boeoticum* Boiss., *Triticum urartu* Tumanian ex Gandilyan, *Triticum durum* Desf., *Triticum turgidum* L., *Triticum dicoccum* Schrank ex Schübler, *Triticum dicoccoides* (Körn. ex Asch. & Graebner) Schweinf. и *Triticum aestivum*

L.) во Иран покажале дека највисока генетска сличност (0,89) имаат *Triticum aestivum* и *Triticum durum*. Во филогенетското стебло, тетраплоидните видови се поделени во две групи. Во првата група припаѓаат *Triticum turgidum* и *Triticum durum*, додека во втората група се класифицирани *Triticum dicoccoides* и *Triticum dicoccum*. Групирањето во два кластери на тетраплоидните видови пченица се објаснуваа со различни постхбридизациони модификации на геномот А. И покрај високата генетска сличност помеѓу *Triticum durum* и *Triticum turgidum* двата таксони покажуваат сигнификанти генетски варијации што укажува на тоа дека тие претставуваат посебни видови (Ehtemam и сор., 2010), со што се потврдуваат резултатите добиени од морфолошките студии на Rahiminegad и Kharazian., (2005). Филогенетската анализа спроведена со четири групи генетски маркери од Oliveira и сор. (2012) даваат иста класификација на овие тетраплоидни пченици. Haider и сор. (2010) ја испитувале филогенетската поврзаност кај седум видови на родот *Triticum* и 20 видови на родот *Aegilops* со A-PAGE, SDS PAGE на резервните протеини, RAPDs и ISSRs. Резултатите од електрофоретската анализа на резервните протеини како и резултатите од анализата на ДНК покажале многу мал полиморфизам помеѓу видовите на двата рода. Врз основа на трите филогенетски стебла конструирани од резултатите од трите користени маркери, истите автори предлагаат спојување на двата рода. Направени се повеќе обиди за испитување на таксономската поврзаност меѓу видовите во фамилијата Poaceae, која вбројува 10.000 видови класифицирани во 600-900 родови (Wolowski и сор., 2016).

Abbasov и сор. (2018) во генетската идентификација на диплоидните и тетраплоидните видови пченица утврдиле дека фенотипските слични видови не се секогаш и генотипски слични. Видовите *Triticum monococcum* и *Triticum boeoticum*, како и *Triticum dicoccoides* и *Triticum persicum* генетски се многу различни еден од друг, додека во дендограмот составен врз основа на компонентите на принос се групирани во еден субкластер.

Со проучување на 14 сорти пченица од пет различни институти, Kirovani и сор. (2018), со кластерска анализа добиле три групи сродни сорти пченица во однос на полиморфизмот на молекуларните маркери. Во секоја група спаѓаат сорти кои потекнуват од истите институти, што укажува на тоа дека институтите за селекција често ги користат истите сорти како донатори на гени. Taranto и сор., (2020) дошле до заклучок дека

генетската варијабилност се променила во последните 45 години, што се должи на промените во селекционите цели и хибридизацијата со гермплазма од други држави. Одредувањето на алелната конституција кај популации, сорти и линии кои се чуваат во генбанката укажало дека 75% од идентитетот на генотиповите се одржува, но и дека се јавуваат одредени разлики. Тоа укажува на потребата од континуирано, внимателно испитување и одржување на конзервираниот генетски материјал во генбанките, за да не се дозволи мешање и дуплирање на примероците. Филогенетска анализа на 90 сорти на мека пченица со микросателитски маркери покажало јасна поделба на сортите на пченица во зависност од нивното географско потекло. Генетската одалеченост на сортите била во корелација со географското потекло на видот односно географската одалеченост од автохтоното место на колекционирање (Tugushev и сор., 2017).

Постојат неколку различни генетски ресурси за подобрување на пченицата. Меѓу нив се и пченици од далечни таксономски групи кои содржат гени кои ја одредуваат отпорноста на абиотски и биотски стресови, како и високиот квалитет на зрното (Govindaraj и сор., 2015). Затоа одредувањето на филогенетските односи помеѓу диворастечките и култивираниите видови пченица е клучна поради генетските варијации кои можат да се користат за развивање на подобрени сорти. Во филогенетското стебло на три тетраплоидни пченици кое е составено врз основа на ДНК маркери, *Triticum dicoccoides* и *Triticum dicoccum* се групирани посебно од *Triticum durum* со што се потврдува хипотезата *Triticum dicoccoides* е еволутивен предок на *Triticum dicoccum*.

2.5 ДНК-микросателити како молекуларни маркери

Микросателитите се кратки тандемски повторувачки ДНК секвенции, составени од единици од 1 до 6 базни парови, кои се карактеризираат со варијации во бројот на повторувањата на основната единица. Тие се широко распространети во прокариотските и еукариотските геноми. (Wang и сор., 2009). Микросателитите се наоѓаат во кодирачките и не кодирачките региони и се дистрибуираат низ целиот геномот. Исто така, тие се присутни и во геномот на митохондриите и хлоропластите (Ellegren, 2004).

Положбата на микросателитите во геномот ја одредува нивната функционална улога и може да влијае врз различни аспекти на генската експресија и геномската стабилност. Тие

учествуваат во организацијата на хроматинот, регулацијата на генската експресија, процесите на рекомбинација и репликација на ДНК, како и во клеточната делба. Микросателитите кои се наоѓаат во некодирачки региони, исто така, ја регулираат транскрипцијата и транслацијата на гените. Експанзијата на микросателитите во некодирачките региони може да доведе до слабеење или губење на функцијата на генот (Wang и сор., 2009). Вклучувањето на микросателитите во овие клучни биолошки процеси доведуваат до промени во фенотипот и имаат значајна улога во еволутивните процеси (Saeed и сор., 2016).

Во зависност од нивната геномска локализација, микросателитските маркери се класифицираат како геномски (gSSR) и генски (EST-SSR) (Expressed Sequence Tag, EST-derived) микросателити. Геномските микросателити се добиваат од геномската ДНК и можат да бидат присутни во различни кодирачки и некодирачки региони на геномот, додека генските микросателити потекнуваат од експресирани секвенци и се поврзани со геномски региони кои подлежат на транскрипција (Ellis и Burke, 2007).

Според бројот на нуклеотиди во повторувачката низа, SSR се поделени на моно, ди, три, тетра, пента и хексануклеотиди. Кај многу видови според Li и сор., 2002, поголем број од микросателитите (48-67%) се динуклеотиди. Во растенијата, како многу честа динуклеотидна повторувачка секвенца се јавува секвенцата која содржи (AT) (Morgante и Olivieri, 1993). Според овие автори растенијата се богати со (TA) или (GA) повторувачки секвенци и соодносот на различните типови на микросателити зависи од видот. Тринуклеотидните и хексануклеотидните повторувања се почесто застапени во кодирачките региони, бидејќи не предизвикуваат мутации со поместување на рамката на читање (frameshift) односно не ја нарушуваат триплетната (кодонска) структура на транслацијата (Tóth и сор., 2000; Ellegren, 2004). Кај монокотиледоните растенија се забележува поголема фреквенција на тринуклеотидни повторувања богати со GC-бази, во споредба со дикотиледоните (Gupta и сор., 2003). Од тетрануклеотидните, GATA/GACA повторувачка секвенца е присутна кај многу виши растенија, а нивната фреквентност зависи од видот (Gupta и сор., 2003). Голем број на студии укажуваат на важноста од користење на повторувањата со минимална фреквенција на повторување (Weber, 1990; Morgante и Olivieri, 1993 ; Merritt и сор., 2015).

Микросателитите според изгледот на мотивот што се повторува може да се поделат на: едноставни целосни (simple perfect), едноставни нецелосни (simple imperfect), сложени целосни (compound perfect) и сложени нецелосни (compound imperfect). Едноставните целосни се составени од еден повторувачки мотив $(AAG)_n$, а едноставните нецелосните содржат еден или повеќе повторувачки мотиви со различни должини $(AAC)_n$ (AGC) $(AAC)_n + 1$. Сложени целосни микросателити се конструирани од два или повеќе различни повторувачки мотиви со иста должина $(AAG)_n$ $(AATG)_n$, додека кај сложените нецелосните има прекин во микросателитната секвенција со еден или повеќе мотиви, а мотивите се со различни должини $(AATG)_n$ (AGC) $(AATG)_n + 1$ (Vieira и сop., 2016). Овие структурални варијации се поврзани со нивната дистрибуција и еволутивна динамика во геномот.

Во оваа насока, Tóth и сop. (2000) спровеле детална анализа на микросателитите кај различни еукариотски таксони, од габи до човек, при што утврдиле изразена таксономска специфичност во нивната дистрибуција. Оваа специфичност се манифестира преку различна застапеност на повторувачките мотиви во кодирачките и некодирачките региони, како и во интроните и интергенските региони. Ова специфичност делумно може да се објасни со интеракцијата на мутацискиот механизам и различната селекција (Li и сop., 2004).

Густината на SSR, исто така, варира помеѓу различни таксони. Кај *Arabidopsis*, микросателитите се јавуваат во просек на секои 6.04kb (Lawson и сop., 2006), или на секои 212–292 kb кај хексаплоидната пченица (Ma и сop., 1996). Постои сигнификанта негативната корелација помеѓу фреквенциите на микросателитите и големината на геномот. Видовите од фамилијата Poaceae со големи геномски димензии се одликуваат со ниска до умерена фреквенција на микросателити (Deng и сop., 2016).

Промените во зголемувањето и намалувањето на бројот на повторувања во SSR секвенците и самата нивна еволуција се поврзани со стапката на мутација. Формирањето на микросателити е многу сложен и динамичен еволутивен процес (Ellegren, 2004). Процесите кои најверојатно придонеле за формирање и еволуција на микросателитите вклучуваат еднострано лизгање на ДНК полимеразата (single-stranded DNA slippage), нееднаков кросинговер, генска конверзија, грешки во механизмите за поправка на ДНК и активност на ретротранспозони (Schlötterer, 2000). Истиот автор наведува дека меѓу сите споменати

причини за полиморфизмот и еволуцијата на микросателитите најзначајно е лизгањето на полимеразата, додека другите механизми се застапени во помал процент, но дека имаат одредена улога која допрва треба да се истражи. Стапката на мутација е под влијание на голем број фактори, меѓу кои најзначајна е должината на микросателитот. Дополнително, улога имаат големината на повторувачкиот мотив, нуклеотидната композиција, позицијата во геномот (кодирачки или некоирачки секвенци), присуството на микросателити на водечкиот или заостанатиот ланец, како и растојанието од местото на иницирање на ДНК репликацијата (Amos и сор., 2008). Точноста на репликацијата и механизмите за поправка, како и епигенетските фактори може да влијаат на стабилноста на микросателитот (Branzei и Foiani, 2010).

Регионите што ги опкружуваат повторувачките секвенци се конзервирани кај индивидуи од ист вид и се користат за дизајнирање на парови прајмери специфични за даден локус, кои овозможуваат нивно амплифицирање во текот на полимеразната верижна реакција. Создавањето на прајмери за репликација и анализа на микросателити бара неколку чекори. Првиот чекор опфаќа создавање библиотеки кои содржат геномска ДНК или пак развивање збогатени библиотеки со цел идентификација на специфични типови микросателити. Откако ќе се создаде библиотеката, таа се пребарува со хибридизација со олигонуклеотидни проби. Позитивните клонови се подложуваат на секвенционирање, а врз основа на добиените секвенци што го опкружуваат повторувачкиот мотив се дизајнираат прајмери. Во исто време, секвенцата на прајмерот мора да биде дизајнирана на таков начин што ќе се избегне формирање на димери. Идентификуваните и дизајнираните прајмери за микросателитски локус можат дополнително да се користат за негово амплифицирање преку PCR реакција, а потоа да се анализираат со електрофореза (Gupta и Varshney, 2000). Брзиот напредок на технологиите за секвенционирање овозможува сеопфатна анализа на геномот, вклучително и кај помалку истражувани видови, при што се овозможува идентификација и развој на голем број молекуларни маркери погодни за примена во различни генетиски и еволутивни студии (Metzker, 2010).

GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) е база на податоци што содржи нуклеотидни секвенци за над 260.000 видови. Повеќето од секвенците пронајдени во оваа база на

податоци се создадени преку нивното пријавување од поединечни лаборатории или конзорциуми за секвенционирање на геномот (Benson и сор., 2013).

Од почетокот на 80-тите години, кога започнале првите анализи со микросателити, па до денес, микросателитите наоѓаат голема примена во различни генетски, молекуларни, популациско таксономски и филогенетски (еволутивни) истражувања. Првата студија за полиморфизмот и наследувањето на микросателитските маркери кај растенијата е спроведена на соја (Akcaуа и сор., 1992). Досегашната примена на микросателити резултирала со значително повеќе податоци при анализа на полиморфизмот во споредба со RAPD, RFLP и AFLP маркери (Agarwal и сор., 2008; Powell и сор., 1996). Единственоста и значењето на микросателитските маркери во студиите за идентификација и генетска сродност произлегува од нивната мултиалелна природа, кодоминантно наследување, висок степен на полиморфизам, поради разликите во бројот на тандемски повторувања во рамките на микросателитниот регион (различни алелни варијанти), кодоминантно наследување, широка покриеност на геномот, лесна амплификација со примена на PCR-техника, што ги прави овие маркери многу погодни за различни апликации (Varshney и сор., 2005).

Микросателитските маркери се применуваат во различни области на генетиката и растителната биологија, особено за проценка на генетската варијабилност, идентификација и карактеризација на индивидуи, сорти и линии. Тие се користат и во популациски студии за утврдување на генетската структура и динамика на популациите, во идентификација на хибриди, како и во геномско мапирање и детекција на локуси поврзани со квантитативни особини (QTL). Дополнително, микросателитите претставуваат важна алатка и во селекцијата потпомогната со маркери (MAS) и во управувањето и конзервацијата на генетските ресурси (Varshney и сор., 2005). Микросателитите играат важна улога и во пронаоѓањето на специфични региони на геномот кои ги регулираат важните физиолошки и агрономски својства (Chen и сор., 2020).

Микросателитските маркери претставуваат една од најинформативните молекуларни маркери во современите таксономски и еволутивни истражувања. Брзата еволуција на микросателитите која е резултат на високата фреквенција на мутации во повторувачките секвенци предизвикува висока варијабилност во бројот на повторувачки единици и овозможуваат добивање на сигурни информации на генетски разлики дури и кај

блиско сродни таксони (Gadaleta и сop., 2011; Koppolu и сop., 2010). Поради нивната широка дистрибуција во геномот и високиот степен на полиморфизам, микросателитите се особено погодни за одредување на филогенетските и еволутивните односи како и за утврдување на таксономската припадност на видовите, сортите и линиите. (Wang и сop., 2012; Moretzsohn и сop., 2013; Merritt и сop., 2015; Zhang и сop., 2019). Покрај тоа, микросателитските маркери се карактеризираат со висока преносливост помеѓу блиско сродни видови. Ова овозможува успешна амплификација на хомологни локуси и кај различни таксони со примена на исти прајмери. Како резултат на тоа, тие претставуваат ефикасна и економична алатка за генетски анализи кај видови без претходно развиени специфични маркери. Ова својство значително ја олеснува компаративната анализа на генетската структура, еволутивните односи и степенот на генетска сродност, особено кај еволутивно блиски видови (Xiao и сop., 2016; Barbará и сop., 2007).

Примената на молекуларните маркери во филогенетските анализи се оправдува со сознанијата дека процесите на формирање на таксоните и генетска дивергенција не секогаш се придружени со пропорционални морфолошки промени. Оттука, морфолошките карактеристики не секогаш ја одразуваат вистинската еволутивна историја на таксоните, поради што молекуларните податоци претставуваат посигурна основа за реконструкција на филогенетските односи.

2.5.1 ДНК-микросателити кај пченица

За пченицата досега се развиени и карактеризирани повеќе од 4000 микросателитски (SSR) маркери, кои покриваат различни региони на геномот и претставуваат значаен ресурс за генетски истражувања (Han и сop., 2015).

Микросателитните маркери на пченица се движат од моно-нуклеотидни до хекса-нуклеотидни тандемно повторувани секвенци со густина на повторувања најголема на хромозомот 2D и најмала на хромозомот 3A (Han и сop., 2015; Jaiswal и сop., 2017). Карактеристиките на микросателитите (фреквенцијата и распределбата на микросателитите во однос на должината на мотивот, типот и бројот на повторувања) се слични кај видовите од фамилијата Poaceae. Меката пченицата има повисоки фреквенции на динуклеотидни

повторувања (47.24 %), во однос на тврдата пченица кај која најзастапени се моноклеотидните повторувања со 47.58 % (Deng и сор., 2016). Геномските секвенци на геномот D покажале присуство на повеќе од 860126 микросатели, од кои 37,7% со триплетни и 27,5% со тетрамерни повторувања (Jia и сор., 2013). Ling и сор., 2013, утврдиле дека 33,6% од микросателитите се специфични за геномот A и 28,7% од локусите на SSR се полиморфни кај меката пченица.

Првите истражувања за примена на микросателитските маркери кај пченицата се поврзуваат со работата на Röder и соработниците, кои во 1995 година ја испитувале застапеноста, варијабилноста и хромозомската локализација на микросателитите во хексаплоидната пченица (*Triticum aestivum*). Ова истражување ја потврдило високата информативност и полиморфност на SSR маркерите и ги поставило темелите за нивната широка примена во генетичките анализи на пченицата (Röder и сор., 1995). Поради полиплоидната природа на пченицата, дел од микросателитските маркери покажуваат геномска специфичност и се локализирани исклучиво во еден од трите геноми (A, B или D), додека другите микросателити иако се амплифицираат на повеќе локуси, тие лесно се разликуваат со користење на систем со висока резолуција. Во рамките на еден локус на пченица можно е да се детектираат над 40 различни алелини варијанти што ги прави исклучително информативни во споредба со другите маркери (Roeder и сор., 2002; Hao и сор., 2006).

Во текот на изминатите децении, во различни истражувачки центри ширум светот се развиени голем број микросателитски (SSR) маркери за пченицата. Нивниот развој се темели на различни геномски ресурси, вклучувајќи уникатни геномски секвенци, EST (Expressed Sequence Tag) секвенци, геномски и cDNA библиотеки, како и други јавно достапни бази на нуклеотидни секвенци. Овие ресурси овозможиле идентификација на голем број полиморфни SSR локуси и значително го проширила спектарот на маркери достапни за генетички, филогенетски и селекциски истражувања кај пченицата (Röder и сор., 1998; Gao и сор., 2004; Yu и сор., 2004; Song и сор., 2005; Oslovíčová и сор., 2014).

SSR маркерите се локус специфични во рамките на еден вид и имаат одредена позиција во геномот. Првата физичка мапа е формирана врз основа на 763 SSR локуси со примена на различни делециони линии (Sourdille и сор., 2004). Најновата интегрална

физичка мапа на пченицата е развиена од Kumar и сор. (2013) со 2031 микросателити кои се распоредени кај сите хромозоми на пченица.

Микросателитските маркери развиени за одреден вид често покажуваат висока преносливост и можат успешно да се применат и кај блиско сродни видови. Оваа карактеристика е резултат на зачуваноста на соседните секвенци што ги опкружуваат SSR локусите, овозможувајќи амплификација на хомологни геномски региони кај различни таксони. Сепак, ефикасноста на амплификацијата и нивото на детектираниот полиморфизам имаат тенденција да се намалуваат со зголемување на генетското и еволутивното растојание меѓу испитуваните видови, што ја ограничува нивната информативност кај подалечно сродните таксони (Arif и сор., 2010;). Во оваа насока, Gadaleta и соработниците (2011) при идентификацијата на нови микросателитски локуси во геномот на меката пченица истовремено ја оцениле и нивната преносливост кај сродни диплоидни и тетраплоидни видови од родот *Triticum*. Резултатите покажале висока степен на трансфербилност на испитуваните SSR маркери, што ја потврдува нивната применливост во интерспецифични генетски анализи. Слично на тоа, Gupta и сор. (2003) утврдиле дека значителен дел од EST-SSR маркерите (43 од 78) успешно се амплифицираат и кај родот *Hordeum*, што укажува дека соседните секвенци на микросателитските региони се еволутивно конзервирани не само на ниво на вид, туку и меѓу сродни родови во фамилијата Poaceae.

Високата преносливост на микросателитските маркери е особено значајна за примена кај диворастечките видови, чии геноми се помалку истражени или сè уште не се целосно секвенционирани, а кои претставуваат важен извор на генетска варијабилност за подобрување на култивираната пченица.

Mardi и сор. (2011), во истражувањето на филогенетските односи кај генотиповите на тврда пченица, наведуваат дека коефициентите на генетска сличност добиени врз основа на микросателитски маркери се пониски во споредба со оние добиени со RAPD и AFLP анализи. Сепак, резултатите засновани на микросателитски маркери покажуваат највисок степен на конзистентност за еволутивното потекло на испитуваните генотипови.

Високиот степен на микросателитски полиморфизам овозможува да се разликуваат блиски таксони. Gorji и Zolnoori (2011) анализираше 38 генотипови на мека пченица со помош на 23 избрани микросателити. Откриени се 75 варијанти на алели. Вредностите на PIC се движеле од 0,19 до 0,78 Roussel и сор., (2004) ја испитувале молекуларната разновидност на 559 француски сорти на мека пченица, во студијата биле вклучени стари популации и познати сорти одгледувани во периодот од 1800 до 2000 година, користејќи сет од 41 микросателити. Резултатите покажале намалување на бројот на алели за 25% по 1970 година. Истите автори (2005) го продолжиле своето истражување вклучувајќи сорти пченица од 15 европски земји. Резултатите од кластерската анализа на 15 географски региони биле поделени во две групи, а бројот на алели во однос на географското потекло е најголем кај португалските и шпанските сорти, а најмал кај француските сорти пченица. Kyratzis и сор., (2019) со микросателитска анализа откриле поголема генетска разновидност кај локалните популации отколку кај современите сорти на тврда пченица, а најголемите разлики меѓу двете групи биле забележани во геномот A. Bányai и сор., (2006) анализираше 96 сорти пченица регистрирани во Унгарија користејќи 15 микросателитски маркери на различни краци на хромозомите, при што се утврдени 94 алели. Повеќето сорти биле хомозиготни за сите микросателитски локуси, освен 11 сорти кои покажале хетерозиготност на шест локуси. Локусот gwm312 покажал највисок степен на хетерозиготност (4,4%). Процениле дека се потребни само осум микросателити за успешно разликување на 83 сорти. Една од најобемните студии за генетската разновидност на пченицата била спроведено од Нао и сор. (2006) со вклучување на 1680 сорти од кинеската колекција на пченица колекционирана во последните 50 години. Колекцијата била анализирана со 78 микросателити кои идентификувале 1366 алели, од кои 1253 беа поврзани со 71 локус. Од 21 пара хромозоми на пченица, хромозомите 7A, 3B и 2D покажале најголема разновидност, додека хромозомите 2A, 1B, 4D, 5D и 1D имале најмала разновидност. Според Tsopev и сор., (2021) највисоките PIC вредности била забележани во геномот A (0,6537) во споредба со геномот B (0,6445) и геномот D (0,5375). Помалиот број на полиморфни маркери на геномот D може да се објасни со помалата фреквенција на рекомбинација кај овој геном.

Belete и сор. (2021) утврдиле висок просечен број на алели по локус (10,06) за 20-те испитувани SSR маркери кај 52 генотипови на мека пченица во студија насочена кон

идентификација на родителски генотипови со потенцијал за толеранција на суша. Во споредба со ова, повеќе студии пријавуваат понизок степен на алелна разновидност кај различни генетски ресурси на пченица. Zhang и сор. (2010), анализирајќи 205 елитни линии од САД со 245 SSR маркери, утврдиле 7,2 алели по локус, додека Chen и сор. (2012), при испитување на 90 кинески генотипови со 269 SSR локуси, пријавиле 5,05 алели по локус. Слично, Landjeva и сор. (2006) идентификувале 6,8 алели по локус кај 91 бугарска сорта мека пченица регистрирана во XX век, користејќи 19 микросателитски маркери. Овие разлики укажуваат на варијабилноста на алелната разновидност во зависност од генетскиот материјал, бројот и типот на SSR маркерите, како и потеклото на испитуваните генотипови.

Географската компонента на микросателитската (молекуларната) разновидност, односно микросателитскиот полиморфизам, често доминира во моделите на генотипско групирање кај испитуваните колекции. Во анализа на структурата на популацијата кај 136 генотипови на тврда пченица, Marzario и сор. (2018) утврдиле конзистентно групирање на генотиповите според географското потекло и педигрето, при што гермплазмата од иста институција покажала тенденција на кластеризација во исти подгрупи, што се припишува на повторната употреба на елитни линии во рамките на одгледувачките програми. Слично, Tsõmbalova и сор. (2008), со примена на микросателитски маркери, заклучиле дека генетското растојание кај примероци од ист регион е значително помало во споредба со меѓурегионалните популации, што укажува на клучната улога на географското потекло и еколошките услови во обликувањето на генетската варијација. Дополнително, SSR анализата спроведена од Wang и сор. (2018) покажува јасна диференцијација помеѓу кинеските и јапонските генотипови, кои претставуваат два независни генетски фондови, додека корејската гермплазма покажува интермедиерна сличност со двата фонда, што укажува на нејзина можна архаична или посредничка генетска позиција. Значајните корелации помеѓу микросателитските маркери и различни климатски и почвени фактори сугерираат дека природната селекција придонесува кон адаптивна екогеографска диференцијација на микросателитската варијабилност, која се манифестира не само во кодирачките, туку и во не кодирачките геномски региони (Fahima и сор., 2002). Генерално, резултатите од овие студии укажуваат дека микросателитската варијабилност кај пченицата е значително под влијание на географското потекло, педигрето и еколошките услови. Оваа структурираност на генетската разновидност доведува до јасна популациска

диференцијација и формирање на географски конзистентни генетски групи. Дополнително, забележаните асоцијации помеѓу SSR маркерите и еколошките фактори потврдуваат дека природната селекција игра важна улога во обликувањето на адаптивната генетска структура, вклучително и во некодирачките геномски региони. Овие сознанија ја нагласуваат значајноста на микросателитските маркери како моќна алатка за анализа на популациската структура и еволутивните процеси кај пченицата.

Zhang и сор., (2021) спровеле детална споредба на моделите на дистрибуција на микросателити кај *Triticum aestivum*, *Triticum urartu*, *Aegilops speltoides*, *Aegilops tauschii*, *Triticum dicocoides* и *Triticum dicoccum*, и откриле ефикасни маркери за идентификација на некои поединечни хромозоми и следење на еволуцијата на микросателитите од диплоидните предци до хексаплоидната пченица. За време на еволуцијата на пченицата, проширувањето на SSR секвенцата се случува претежно во центромерните и перичентромерните региони на хромозомите на геномот В придружено со мало проширување и елиминација на другите хромозоми. Овој резултат покажал дека геномот В бил поподложен на промени за време на полиплоидизацијата на пченицата.

Во процесот на селекција постои постојана потреба за нови извори на посакувани особини. За таа цел, се внесуваат повеќе гени со помош на меѓувидна хибридизација од блиски и далечни таксономски групи кои ги содржат гените за својствата од интерес. Еден од примерите за внесување на генот за отпорност на рѓа од *Triticum timopheevii* (Zhuk.) во *Triticum aestivum* и испитување на локализирањето на фрагментите од геномот на *Triticum timopheevii* со помош на микросателитски маркери на добиените F1 и F2 генерации е изведен од Leonova и сор. (2010). Авторите утврдиле дека главниот локус на транслоцираниот хромозом 5BS.5BL-5GL, кој сочинува 64% од фенотипската варијанса на особината, е тесно поврзан со микросателитните маркери Xgwm814 и Xgwm1257. Авторите предлагаат при контролирање на преносот на вредни особини кај новите сорти на пченица, да се користат микросателитски маркери лоцирани во близина на овие гени.

Севкупната анализа на микросателитските (SSR) маркери кај пченицата покажува дека тие претставуваат една од најзначајните и најинформативни категории на молекуларни маркери во современата систематика на пченицата, бидејќи овозможуваат објективна и високорезолуциска проценка на генетската сродност меѓу различните таксони. За разлика

од морфолошките карактеристики, кои често се под влијание на условите на надворешната средина и покажуваат ограничена варијабилност, SSR маркерите директно ја рефлектираат генетската структура и степенот на дивергенција меѓу геномите. Нивната примена овозможува прецизно разграничување на видовите, подвидовите и генетските линии во рамките на родот *Triticum*, како и детекција на еволутивни врски меѓу диплоидните, тетраплоидните и хексаплоидните форми. Особено значајна е нивната способност да ги разликуваат геномите A, B и D, што директно придонесува за појаснување на потеклото и еволуцијата на култивираната пченица. Дополнително, SSR маркерите овозможуваат реконструкција на филогенетските односи и поддршка на различни таксономски модели, со што придонесуваат за разрешување на контроверзиите во класификацијата на пченицата. Поради нивната висока информативност, репродуктивност и преносливост, тие претставуваат еден од најсигурните молекуларни инструменти за модерна систематика и еволутивна биологија на пченицата.

3. ЦЕЛИ НА ИСТРАЖУВАЊЕТО

Систематската припадност и таксономската диференцијација на видовите од родот *Triticum*, како и на добиените хибридни генотипови, претставуваат комплексно научно прашање, чие решавање бара интегриран пристап заснован на повеќе типови независни маркери, чии сознанија взаемно се проверуваат и надополнуваат. Токму затоа, истражувањето се темели на научната хипотеза дека полиморфизмот на морфолошките и микросателитските молекуларни маркери овозможува диференцијација на испитуваните видови и хибридни генотипови од родот *Triticum* и ја рефлектира нивната генетска блискост.

Со цел да се провери поставената хипотеза, истражувањето, преку интегриран пристап кој опфаќа теренски испитувања за морфолошка евалуација и молекуларни анализи, беше насочено кон утврдување на:

- фенотипска карактеризација на генотиповите од видовите *Triticum durum*, *Triticum aestivum* и *Triticum dicoccum*, врз основа на важни морфолошки и производни својства,
- утврдување на главните детерминанти на фенотипската разновидност,
- класификација на анализираните генотипови врз основа на испитуваните морфолошки карактеристики,
- молекуларна карактеризација на генотипови на *Triticum durum*, *Triticum aestivum* и *Triticum dicoccum* користејќи микросателитски маркери,
- одредување на полиморфизмот на десет микросателитски маркери кај пченица од видовите *Triticum durum*, *Triticum aestivum* и *Triticum dicoccum*,
- класификација на анализираните генотипови врз основа на микросателитските маркери.

Морфолошките и микросателитските маркери се употребени за детерминација на генетската разновидност и анализа на генетската сличност меѓу видовите *Triticum durum*, *Triticum aestivum* и *Triticum dicoccum*. Интерпретација на резултатите добиени со двата типа независни маркери овозможува проверка на поставената хипотеза и ќе придонесе за подобро разбирање за систематиката на пченицата, појасна класификација на генотиповите, како и придонес за подобро разбирање на генетската основа на нивната разновидност .

4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ НА ИСПИТУВАЊАТА

4.1 Растителен материјал

Со цел да се испита полиморфизмот кај пченица, користени се три различни видови пченица од родот *Triticum* и тоа видовите: *Triticum durum* Desf. (тврда пченица), *Triticum aestivum* L. (мека пченица) и *Triticum dicoccum* Schrank ex Schubler (дворзрнест лимец) и линиите добиени при нивна хибридизација. Во истражувањето беа вклучени две домашни сорти (мина и ива) од видот *Triticum durum*, сортата скопјанка и линијата MT 6/2 од видот *Triticum aestivum*, и еден вариетет од диворастечката флора *Triticum dicoccum* var. *pherugeneum* (*dicoccum* црвен) и 90 линии добиени при нивна хибридизација.

Испитуваните видови пченица имаат различна геномска и хромозомска структура и тоа:

Triticum aestivum - три генома A,B и D, $2n=42$ хромозоми.

Triticum durum - два генома A и B, $2n=28$ хромозоми.

Triticum dicoccum - два генома A и B, $2n=28$ хромозоми.

4.1.1 Сорти пченица и нивната биологија

Изборот на родителските сорти беше извршен врз база на претходни испитувања. За нивните поважни особини ќе дадеме краток опис.

Сорти тврда пченица- *Triticum durum* Desf.

Сортата мина е создадена во Земјоделскиот институт во Скопје со крстосување на сортите Г-5570 x ЗТ1. Призната е во 1982 година. Селекционер на сортата е д-р Иван Ангелов. Мина е зимска сорта тврда пченица (*Triticum durum* var. *affine*), со висина на стеблото до класот 80,5 cm и бел клас со бели осилки. Отпорна е на полегнување, има добра отпорност на пепелница и рѓи, поднесува висока агротехника. Генетскиот потенцијал за принос е околу 8 t/ha (Ангелов, 1990).

Сортата ива е создадена во Земјоделскиот институт во Скопје со крстосување на линијата Б7/6/9 x сортата Кондо. Призната е во 1988 година. Селекционер на сортата е д-р Иван Ангелов. Ива е зимска сорта тврда пченица (*Triticum durum* var. *mareiense*), висината

на стеблотот до класот е 77 cm, класот е црвен со црвени осилки. Отпорна е на полегнувања, има задоволителна отпорност на пепелница и рѓи, поднесува висока агротехника. Генетскиот потенцијал за принос е околу 8,5 t/ha (Ангелов, 1990).

Сорти мека пченица- *Triticum aestivum* L.

Сортата *скопјанка* е создадена во Земјоделскиот институт во Скопје со крстосување на сортите ЦК-197 x Кавказ. Призната е во 1982 година, а селекционер на сортата е инж. Илија Оровчанец. Скопјанка е зимска сорта мека пченица (*Triticum aestivum* var. *lutescens*), средно доцна сорта, класот е без осилки и висината на стебло до клас е 82 cm. Има добра отпорност на ниски температури и полегнување, има задоволителан полска отпорност на рѓи и пепелница и одлична отпорност на осипување на зрното. По квалитетот спаѓа во Б2-Б1 класа. Генетскиот потенцијал за принос е над 10 t/ha (Ангелов, 1990).

Линијата *MT 6/2* е линија мека пченица (*Triticum aestivum* var. *lutescens*). Порано класа во однос на сортата *скопјанка*, класот е бел, без осилки, висина на стеблото до клас е 80 cm. Има добра отпорност на полегнување и задоволителна отпорност на пепелница и рѓи.

Вариетет од видот *Triticum dicoccum* Schrank ex Schubler

Растенијата од видот *Triticum dicoccum* се едногодишни растенија со висина на стеблото до 1 m. Листовите се рамни, голи или со куси влакненца, со голи лисни ракавици. Класот е со осилки, ретко без осилки, збиен, и се распаѓа на клавчиња при што нодусите на вретеното остануваат прицврстени со клавчињата. Клавчињата се издолжени, прицврстени, но само 2 цвета во клавчето се фертилни. Плевите се со испупчен раб и запци на врвот. Долната плевица е стесната, клунеста, и речиси секогаш со осило. Плодот е странично сплеснат и се наоѓа меѓу плевиците од кои не се одвојува. Овој вид уште е познат под името двозрнест лимец и се одгледува во определени простори, главно во ридско-планинските реони на Балканскиот Полуостров, Кавказ, Мала Азија, Етиопија, Мароко, Јемен, Индија и Северна Америка. Кај нас во Македонија се среќава во ограничени реони, главно во ридско-планинските делови. Засега може да се најде само во реонот на Берово и Беровско каде на мали површини е застапен како култивиран вид пченица и служи за исхрана на луѓето и домашните животни.

Вариететот *Triticum dicoccum* var. *pherugeneum* (*dicoccum* црвен) се одликува со стебло повисоко од 1 m и црвен клас со црвени осилки. Слабо е отпорен на полегнување, но има добра отпорност на пепелница и рѓи. Вариететот се одликува со присуство на гама глијадинот 45 одговорен за висок квалитет на тестенините.

4.1.2 Испитувани линии

Истражуваните 90 линии пченица се создадени од проф. д-р Силвана Манасиевска, а како метод за хибридизација бил користен дијалелниот начин на вкрстување. Притоа сортите и линиите вклучени во анализата биле меѓу себе крстосани без реципрочни крстоски (Манасиевска-Симиќ, 2006).

4.2 Методика на поставување на опитот

Опитите беа поставени во село Опаје-Кумановско, на поле кое е на 395 метри надморска височина, и позиционирањето е изведена со GPS уреди. Опитот е поставен по методот на случаен блок систем во две повторувања во текот на 2018/2019 година. Сеидбата на семето беше извршена во ноември 2018 година, рачно во редови долги 1m со меѓуредовно и внатрешредовно растојаније од 20 cm. При наведените услови на сеидба добиените вредности на својствата се со поголема вредност отколку вредностите кои би се добиле при сеидба со нормална густина. Во текот на вегетацијата е применета стандардна агротехника.

4.3. Анализа на квантитативните својства

Испитувањата на квантитативни својства беа извршени со биометриски мерења на крајот од вегетацијата, по прибирање на материјалот во лабораторијата по ботаника на Факултетот за земјоделски науки и храна во Скопје. Во лабораториски услови беа анализирани по 20 растенија за секој генотип. Беа анализирани следниве квантитативни својства:

- висина на стеблото (cm),
- должина на клас (cm),
- број на продуктивни братимки,

- број на зрна во клас и
- маса на зрна во клас (g).

4.4. Молекуларна анализа

Педесет избрани генотипови, кои претходно беа фенотипски евалуирани, се користени за молекуларна анализа со примена на микросателитски маркери. Така, по морфолошката карактеризација, беа избрани 50 генотипови врз основа на резултатите од конструираниот дендрограм, при што изборот беше направен така што беа опфатени претставници од сите формирани кластери и поткластери. На овој начин се обезбеди репрезентативен примерок што ја одразуваше целокупната морфолошка варијабилност на анализираниот материјал. Избраните генотипови беа користени за понатамошна молекуларна анализа со 10 микросателитски маркери.

Молекуларните анализи беа извршени во лабораторијата Microsynth Ecogenics AG, која претставува специјализиран центар за молекуларна генетика и геномски анализи со седиште во Баларг, Швајцарија. За молекуларните анализи од секој избран генотип беа анализирани по пет индивидуи (растенија). Вистинскиот избор на ДНК-микросателитите и стандардизацијата на PCR - условите за амплификација на варијабилните региони во геномот на пченицата претставува основен предуслов за понатамошни ДНК анализи. Беа избрани 10 микросателитски локуси распоредени во сите три геноми врз основа на степенот на полиморфизам и нивната положба на хромозомите, чија информативност и полиморфност беше испитувана во оваа студија (Табела.2). Основните податоци за микросателитски маркери беа преземени од постоечката база на податоци на GrainGenes <http://wheat.pw.usda.gov/GG2/index.shtml>.

Префиксите на микросателитите користени во оваа студија ги претставуваат институциите каде што се дизајнирани: 1. GWM - IPK Gatersleben (Röder и cop., 1995; Pestsova и cop., 2000); 2. WMC - the Wheat Microsatellite Consortium (Gupta и cop., 2002); 3. BARC - Beltsville Agricultural Research Center, R. Ward (Song и cop., 2005), USA; 4. CFD - INRA Clermont-Ferrand (Guyomarc'h и cop., 2002).

Табела 2. Прајмери користени во истражувањето

Nr	Primer Name	Chr	Primer Prefix	Primer Sequence	Primer Prefix	Primer Sequence
1	Xgwm294	2A	F (Forward)	5' GCAGAGTGATCAATGCCAGA 3'	R (Reverse)	5' GGATTGGAGTTAAGAGAGAACCG 3'
2	Xwmc264	3A	F	5' CTCCATCTATTGAGCGAAGGTT 3'	R	5' CAAGATGAAGCTCATGCAAGTG 3'
3	Xcfd15	1A	F	5' CTCCCGTATTGAGCAGGAAG 3'	R	5' GGCAGGTGTGGTGATGATCT 3'
4	Xbarc151	5AL	F	5' TGAGGAAAATGTCTCTATAGCATCC 3'	R	5' CGCATAAACACCTTCGCTCTTCCACTC 3'
5	Xbarc84	3BL	F	5' CGCATAACCGTTGGGAAGACATCTG 3'	R	5' GGTGCAACTAGAACGTACTTCCAGTC 3'
6	Xgwm257	2B	F	5' AGAGTGCATGGTGGGACG 3'	R	5' CCAAGACGATGCTGAAGTCA 3'
7	Xwmc89	4B	F	5' ATGTCCACGTGCTAGGGAGGTA 3'	R	5' TTGCCTCCCAAGACGAAATAAC 3'
8	Xgwm408	6B	F	5' GTATAATTCGTTACAGCACGC 3'	R	5' TCGATTATTTGGGCCACTG 3'
9	Xcfd65	1D	F	5' AGACGATGAGAAGGAAGCCA 3'	R	5' CCTCCCTGTTTTTGGGATT 3'
10	Xgwm642	7D	F	5' ACGGCGAGAAGGTGCTC 3'	R	5' CATGAAAGGCAAGTTCGTCA 3'

4.4.1.Изолација на ДНК по протоколот NucleoSpin II Plant Kit (Machery Nagel)

Изолацијата на ДНК беше изведена според протоколот NucleoSpin II Plant Kit (Machery Nagel). Зрна од секој генотип беа изникнати во петријеви садови. По 'ртење, создадена е смеса од која е одвоено свежо ткиво, потребно за изолација на ДНК. Растителното ткиво беше хомогенизирано во присуство на течен азот. Во епендорфи од 1,5 mL беа ставени по 100 mg растителен материјал. Потоа беа додани 400 µL пуфер за лизирање PL1 (СТАВ based) и 10 µL раствор на RN-аза А. Беа промешани 2-5 пати и беа инкубирани на 65°C по 10 минути. Пред продолжување на постапката примероците беа оставени да се оладат 5 минути на собна температура. Лизатот беше префрлен во спин колона за филтрација со центрифугирање на 11.000 x g за 2 мин. Внимателно беше отстранет супернатантот кој содржеше ДНК и му беше додадено 450 µL пуфер РС. Пуферот РС е пуфер за врзување (Binding Buffer PC), кој се додава на прочистениот лизат (супернатантот кој ја содржи ДНК) со цел да се создадат оптимални услови (висока концентрација на соли/хаотропни агенси) за реверзибилно врзување на ДНК за силика-мембраната на спин-колоната во наредниот чекор на центрифугирање. Оваа содржината беше префрлена во колоната за врзување на ДНК, која беше центрифугирана 1 минута на 11.000 x g. Потоа, врзаната ДНК беше измиена три пати. Во првата постапка е измиена со 400 µL пуфер за испирање/миење PW1. Вториот пат е измиена со 700 µL пуфер за mieiње/испирање PW2, додека третиот пат е измиена со 200 µL пуфер за mieiње PW2. Помеѓу секоја постапка на испирање (миење), спин колоните беа центрифугирани 1 минута на

11.000 x g, а супернатантот беше внимателно отстранет. Конечното елуирање на ДНК беше направено со 50 µL претходно загреан (65 °C) PE (5 mM Tris–HCl, pH 8,0). Ова постапка е повторена два пати со истата колона. Методот што се користеше за екстракција на ДНК се покажа како исклучително погоден, што е докажано со добриот принос и чистотата на изолатот потврден при понатамошната квантификација. За долгорочно складирање на примероците, геномската ДНК се чуваше на температура од -20°C.

4.4.2. Определување на концентрација и чистотата на изолираната ДНК

За понатамошна ДНК анализа, изолатот беше користен за контрола на квалитетот и квантитетот на растворот на ДНК. Концентрацијата и чистотата на изолираната ДНК беа определени со UV-спектрофотометриски метод на 260 nm бранова должина. Концентрацијата е одредена врз основа на следната формула:

$$X(\mu\text{g}/\mu\text{L}) = \text{Abs}_{260} \times 50 (\text{dilution factor DF}) \times 50 \mu\text{g}/\text{ml}/1000$$

Вредноста на апсорпција на бранова должина на ултравиолетова светлина од 260 nm ги претставува максималните вредности на апсорпција за двоверижна молекула на ДНК, додека максималната вредност на апсорпција за протеините е на бранова должина од 280 nm. Чистотата на ДНК беше пресметана со делење на абсорбанцата при 260 nm со она при 280 nm ($\text{Abs}_{260} / \text{Abs}_{280}$). Доколку овој однос се движи меѓу 1,7 и 2,0 се смета дека изолатите на ДНК имаат добар квалитет. Вредности пониски од 1,7 индицираат присуство на протеини и други контаминанти, додека вредности повисоки од 2 обично се јавуваат доколку има присуство на РНК или органски растворувачи во изолатот. Таквите изолати потребно е да се реекстрахираат и да се репреципитираат.

4.4.3. Полимеразно верижната реакција PCR

Кај изолираната ДНК од растителниот материјал, преку *in vitro* амплификацијата се овозможува умножување на целните локуси. Полимеразно верижната реакција (PCR – Polymerase Chain Reaction) може да се дефинира како репетитивна, двонасочна ензимска синтеза на ограничен сегмент на ДНК молекулата. Освен присуство на матична ДНК,

односно примерок од изолираната двоверижна секвенца, која треба да се амплифицира, неопходно е и присуство на ДНК- полимераза (најчесто *Taq* – полимераза, ензим изолиран од термостабилната бактерија *Thermus aquaticus*), иницирачки олигонуклеотиди (прајмери), деоксирибонуклеозиди (dATP, dGTP, dCTP и dTTP) и PCR пуфер. Во текот на полимеразно верижната реакција, во точно определени временски интервали се случуваат циклични промени на температурата, што овозможуваат верижно одвивање на три чекори: денатурација, анилирање и елонгација. Денатурацијата претставува раздвојување на ДНК ланците, анилирањето е чекорот во кој прајмерите се прикачуваат на двата раздвоени матични ДНК синцири, а елонгацијата претставува полимеризација на копија од синцирот во продолжение на прајмерот во присуство на ДНК-полимераза. Во секој циклус се амплифицира регионот од матичните ДНК-молекули ограничен со двата прајмери.

Амплификациите се изведуваа во PCR System 9700 gold машина.

Составот на растворот (Таб 3) за одвивање на PCR-реакција имаше вкупен волумен од 25µL и содржеше 15ng/µL ДНК, 1 x PCR пуфер, 1,5 mM MgCl₂, 200 µM за секој dNTP нуклеозид трифосфат (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), 10µM за секој forward и reverse прајмер и 0,5 единици на HotStarTaq ДНК полимераза.

Табела 3. Состав на растворот за одвивање на PCR-реакција

Реагенси	С во растворот	µL во една PCR реакција
dH ₂ O		5,6
HotStarTaq Master Mix: HotStarTaq ДНК полимераза PCR пуфер dNTP MgCl ₂	0,5 u 1 X 200 µM за секој dNTP 1,5 mM	13
forward прајмер	0,3 µM	1,2
reverse прајмер	0,3 µM	1,2
ДНК	15ng/µL	4,0
Вкупен волумен		25

PCR –реакциите за испитуваните прајмери се одвиваа во следниве услови:

Табела 4. Условите на PCR-реакциите

	Време (минути)	Температура (°C)	Број на циклуси
Иницијална денатурација	15	95	
Денатурација	0,5	94	35
Анилирање	1,5	56	
Елонгација	1	72	
Финална елонгација	30	72	

4.4.4. Анализа на PCR-амплифицираната ДНК

Анализата на PCR-амплифицираната ДНК, добиена со умножување на тестираните микросателитски локуси, беше изведена со ДНК анализатор на *Applied Biosystems 3730XL*.

ДНК –анализатор е систем со четири капилари, долги 50 cm, специјално дизајнирани за генотипизирање на микросателити. Секвенсерот овозможува споредба на микросателитски фрагмент со прецизност од еден базен пар. Принципот на работа на апаратот се заснова на методот на електрофореза и примената на флуоресцентно означени прајмери. Под влијание на наизменична струја на патеката од катодата до анодата, флуоресцентно означените прајмери минуваат низ ласерскиот зрак на апаратот, кој го снима испуштеното флуоресцентно зрачење, преведувајќи го во електрофореограм, од кои може да се прочита големината на производот и интензитетот на флуоресценцијата. За одвојување на PCR производите се користеше полимер POP-7 (Polydimethyl acrylamide – 4% полидиметил акриламид, 8 М уреа, 5% 2-пиролидинон). Прајмер секвенците за SSR маркерите обележени се со 4 бои: 6 FAM – сина боја, NED – жолта боја, PET – црвена боја и VIC – зелена боја. Пред анализата, во микротитарните плочи беа додадени 2 µl PCR производи, односно 0,5 µl од сите четири бои. Потоа, на секоја од плочите е додадено 0,2 µl стандарди за должина (GeneScan500 LIZ Size Standard, Applied Biosystems, Life Technologies) и 7.8µl Hi-Di Formamide (Applied Biosystems, Life Technologies). Пред

почетокот на капиларната електрофорезаа, производите беа денатурирани 5 минути на температура од 94°C за да се обезбеди движење на сегментите со еден синцир низ капиларниот систем.

Податоците добиени со анализа на фрагментите беа собрани во програмата DataCollection верзија 3.0., а потоа се користеше софтвер за обработка на податоците GeneMapper верзија4.0. (Applied Biosystems, Forster City, CA, USA).

4.5. Статистичка обработка на резултатите

4.5.1. Статистичка обработка на квантитативните податоци

Просечна вредност и варијабилност- Основните статистички показатели, за квантитативните особини, беа пресметани со помош на програмата InfoStat ver. 2011 (Di Rienzo и сор., 2011)., при што беа пресметани следниве параметри: аритметичка средина, грешка на аритметичката средина, стандардна девијација и варијационен коефициент (CV%). За примена на мултиваријантните техники за анализа на податоците, просечните вредности на генотиповите за квантитативните својства беа извршени со помош на статистичкиот пакет R 3.5.1. Анализата на главните компоненти (PCA) беше изведена со користење на пакетот „psych“ (Revelle, 2014), каде што матрицата со податоци е стандардизирана по автоматизам, што значи дека вредностите на компонентите се стандардни вредности (аритметичка средина = 0, стандардна девијација = 1). Компонентите беа екстрахирани сè додека Eigen value е поголема од 1. Двојната кластер-анализа беше спроведена со квантитативните својства кои беа во висока корелација со првите три главни компоненти. Еуклидското растојание помеѓу генотиповите беше пресметано со користење на стандардизираните вредности на избраните својства. Добиените вредности беа нормализирани според Roldan-Ruiz и сор. (2001), а конструкцијата на дендрограмите беше извршена со методот на Ward.

Хиерархиско кластерирање беше применето за групирање на генотиповите врз основа на квантитативните податоци. Кластерска анализа или класификација е непараметриски модел за одредување на природното групирање во различни кластери (групи), земајќи предвид дека разликите помеѓу генотиповите во рамките на една група се

статистички незначителни. Анализа на главните компоненти е применета за да се идентификува постоечката структура на фенотипските варијации во испитуваните генотипови на пченица, како и структурата на групирањето на генотиповите на пченица врз основа на квантитативните особини. Оваа мултиваријантна техника претставува статистичка постапка за намалување на мултидимензионалната природа на матриците на податоци. Се користи за намалување на димензионалноста на збирот на податоци, додека се задржуваат оние карактеристики на податоците што придонесуваат најмногу за варијансата. Во табела 5 се претставени броевите на генотиповите во PCA биплотот и дендограмот.

Табела 5. Броевите на генотиповите во PCA биплотот и дендограмот

Број		Родител			
1		мина			
2		ива			
3		скопјанка			
4		MT 6/2			
5		disocum црвен			
Број	Генотип	Број	Генотип	Број	Генотип
6	1/1	36	5/4	66.	11/1
7	1/2	37	5/5	67.	11/2
8	1/3	38	5/6	68.	11/3
9	1/4	39	6/1	69.	12/1
10	1/5	40	6/2	70.	12/2
11	2/1	41	6/3	71.	12/3
12	2/2	42	6/4	72.	12/4
13	2/3	43	6/5	73.	13/1
14	3/1	44	6/6	74.	13/2
15	3/2	45	6/7	75.	14/1
16	3/3	46	6/8	76.	15/1
17	3/4	47	7/1	77.	15/2
18	3/5	48	7/2	78.	15/3
19	3/6	49	7/3	79.	16/1
20	3/7	50	7/4	80.	16/2
21	3/8	51	7/5	81.	16/3
22	3/9	52	7/6	82.	19/1
23	3/10	53	8/1	83.	19/2
24	3/11	54	8/2	84.	19/3
25	3/13	55	8/3	85.	19/4
26	3/44	56	9/1	86.	20/2
27	4/1	57	9/2	87.	20/3
28	4/2	58	9/3	88.	20/4
29	4/3	59	10/1	89.	20/5
30	4/4	60	10/2	90.	20/9
31	4/5	61	10/3	91.	c/13
32	4/6	62	10/4	92.	c/14
33	5/1	63	10/5	93.	c/16
34	5/2	64	10/6	94.	c/17
35	5/3	65	10/7	95.	c/18

Намалувањето на димензионалноста на податоците вклучува намалување на бројот на изворните варијабли на мал број на индекси, кои се линеарна комбинација на изворните варијабли и се нарекуваат главни компоненти (principal components-PC). Првата оска (PC 1) опфаќа најголем дел од варијабилноста содржана во оригиналниот сет на податоци во однос на другите оски, додека втората оска (PC 2) објаснува најголем дел од варијабилноста што не е содржана во PC 1 итн. Вкупниот број на главните компоненти е еднаков на вкупниот број на оригиналните варијабли.

4.5.2. Статистичка обработка на молекуларните податоци

Анализата на генетската варијабилност и полиморфност беше пресметувана со помош на софтверски програми GenAEx (Peakall и Smouse, 2012), PowerMarker v. 3.25 (Liu et al., 2005) и XLSTAT (Version 2015.5.01.22537).

4.5.2.1. Анализа на генетската варијабилност и полиморфност

Алелна и генотипска фреквенција

Алелната фреквенција е пресметана кога вкупниот број на детерминирани алелни варијанти за даден локус во анализираната популација е поделен со вкупниот број на примероци во популацијата, претходно помножен со два. Генотипската фреквенција е пресметана како однос помеѓу вкупниот број на генотипови за дадениот локус во анализираната популација и вкупниот број на примероци во популацијата.

PIC-тест

За анализа на полиморфноста на испитуваните микросателитски маркери беше користен тест за одредување информативност на полиморфност на анализираниот локус (PIC- Polymorphism information content). Овој тест е предложен од Botstein и сор. (1980), а PIC може да има вредности од 0 до 1. Според авторите, доколку PIC вредноста за ДНК маркерот е помала 0,25, маркерот се означува како слабо информативен, за вредности од 0,25 до 0,50, се означува како умерено информативен, додека за вредности поголеми од 0,50 се декларира како високо информативен.

Забележана и очекувана хетерозиготност

Хетеризогтноста на локусот е еден од показателите за структурата на популацијата. Забележаната хетерозиготност (H_o) претставува пропорција од хетерозиготите во популацијата. Очекуваната хетерозиготност (H_e) претставува веројатност дека случајно избраните алели се различни. Изразената разлика помеѓу забележаната и очекуваната хетерозиготност укажува на зголемено или намалено ниво на хетерогеност во испитуваната популација. Двете анализи се изведени според описот даден од страна на Nei (1987).

4.5.2.2 Генетската различност помеѓу испитуваните генотипови на пченица

Анализа на генетска дистанца

Анализите на генетска дистанца помеѓу испитуваните генотипови ја покажува генетската сличност, односно различност. Местоположбата на испитуваните родители кои припаѓаат на различни видови од родот *Triticum* е одредувана откако се добиени податоците за генетската блискост или оддалаченост на генотиповите врз основа на анализата на електрофореграмите.

За проценка на генетската блискост меѓу испитуваните пченици врз основа на микросателитскиот состав беа пресметани два показатели: Јакардовиот коефициент на сличност (Rohlf, 2005) и Евклидовото растојание.

Филогенетски анализи

Податоците беа стандардизирани, при што беа изведени анализа на главните компоненти (PCA) и дијаграм на распрскување (scatter plot) на главните компоненти во однос на варијаблите и единиците. Хиерархиската кластер-анализа беше спроведена со помош на UPGMA методот (Unweighted Pair Group Method using Arithmetic Average), а дендрограмот беше креиран со користење на квадратното Еуклидско растојание како коефициент на блискост. Во табела 6 се претставени броевите на генотипови во PCA биplotот и дендограмот.

Табела 6. Броевите на генотиповите користени во молекуларниот (SSR) PCA-биplot и дендограм

Број	Генотип	Број	Генотип
1	10/2	26	3/5
2	10/3	27	3/6
3	10/6	28	3/8
4	10/7	29	3/9
5	11/3	30	4/1
6	12/1	31	4/2
7	13/1	32	4/4
8	1/3	33	4/5
9	14/1	34	4/6
10	1/4	35	6/1
11	15/3	36	6/3
12	1/5	37	6/6
13	16/3	38	6/7
14	19/1	39	7/2
15	19/3	40	7/4
16	19/4	41	7/6
17	20/4	42	8/1
18	20/5	43	9/1
19	20/9	44	9/2
20	2/2	45	9/3
21	2/3	46	Мина
22	3/10	47	ива
23	3/11	48	скопјанка
24	3/13	49	МТ/6
25	3/3	50	дисосит црвен

5. УСЛОВИ НА ИСПИТУВАЊЕТО

5.1 Почвени услови

Пченицата покажува одредена чувствителност кон оделни почвени типови. Таа бара длабоки и плодни почви, а исто така високи приноси и добар квалитет се добива со длабока обработка од 30-40 cm (Petrovski, 2001). Почвите треба да бидат добро обезбедени со хранливи материи и со лесно достапна вода. Вредноста на рН треба да е неутрална до слабо алкалина (6,5-8,0), но некои сорти во услови на добра агротехника може да поднесат и слабо кисели почви. Најдобри почви за одгледување на пченицата се чернозем, алувијаните почви, смолниците и делувијалните почви.

Според најновата класификација на почвите на Р.Македонија (Filipovski, 2006), испитувањата беа извршени на алувијален тип на почви. каде механичките и физичко-хемиските својства се во голема мера хомогени. Поволен однос на глинесто-песокливата фракција овозможува овие почви да имаат добри механички особини кои обезбедуваат високи приноси со примена на висока агротехника. Овој тип почви се одликува со добра

водопоропустливост и релативна добра вододржливост, што има големо значење и правилно обезбедување на растенијата во вода во текот на вегетацијата.

Резултатите и почвените услови, односно за хемискиот состав на почвата, се изнесени во Табела. 7.

Табела 7. Хемиски состав на почвата

Длабочина (cm)	CaCO ₃ (%)	pH		Хумус (%)	N %	P ₂ O ₅ mg/ 100g почва	K ₂ O mg/ 100g почва
		H ₂ O	KCl				
0-20	3.23	7.6	6.95	2,80	0.12	15.1	21.06
20-40	2.9	7.5	6.75	2,12	0.15	13,00	17.48

Почвата е слабо хумусна, во слојот од 0 до 20 cm има 2,8%, а во слојот од 20 до 40 cm има 2,1% хумус. Почвата е карбонатна на длабочина од 0 до 40 cm. Содржината на CaCO₃ се движи од 3.23% на длабочина од 0 до 20 cm, до 2.9% на длабочина од 20 до 40 cm. Присуството на карбонати во почвата влијае врз почвените својства, реакцијата, составот, апсорбирани јони и др. Реакцијата на почвата (pH во вода) се движи од 7,5 до 7,6, а содржината на KCl од 6.75 до 6.95, што значи дека оваа почва е со неутрална до слабо кисела реакција.

5.2. Климатски услови

Пченицата е култура која бара умерено континентална клима со умерена топлина и влажност. Одделни видови од родот *Triticum* имаат различни потреби од топлина и влажност. Пченицата има долг вегетативен период со кој ги зафаќа речиси сите годишни времиња, а со тоа е изложена на различни временски услови и е приспособена на различни климатски фактори.

Во зависност од одделните фази на вегетативен развојот пченицата има одредени барања во однос на температурата. Поникнувањето најдобро се одвива при температура од 12 до 25⁰C, брзото значајно се намалува или преставува на температура под 2⁰C и над 20⁰C. Цутењето добро се одвива на 18 до 22⁰C, а налевањето на зрното добро се одвива на температура од 22 до 23⁰C. Температура над 37⁰C допринесува до запирање на

вегетацијата и се забрзува созревањето на пченицата. Ако при тоа се јави сушен период (недостаток на врнежи, недостапност на почвена влажност) и топли ветрови, растението ќе биде доведено до топлотен удар.

Пченицата е култура која може да издржи релативно ниски температури. Меката пченица е значително поотпорна на ниски температури од тврдата пченица. Меката пченица може поднесе ниски температура до -20°C , додека тврдата пченица од -8°C до -12°C , а во услови на снежна покривка можат да издржат и пониски температури.

Пченицата е хидрофилно растеније и за време на периодот на вегетација троши 465-565 g вода по растение. Потребите на пченица за вода варираат во зависност од фазата во која се наоѓа пченица. Во текот на поникнувањето и братањето, пченица консумира 30 % од вкупната побарувачка на вода. Во понатамошниот развој потребите за вода се зголемуваат во периодот на класањето и наливањето на зрното. Во фазата на созревање потребите се намалуваат. Оптимална влажност на почвата за пченица е 70-80% од максималниот капацитет и варира по фенофази. Варијацијата се движи од 65% во фаза на братање, 65-70% во фаза на наливање на зрното, до 85% во фаза на класање.

Резултатите од средномесечните температури и месечните суми на врнежи за испитуваната година се изнесени во Таб.8.

Табела 8. Средномесечни температури ($^{\circ}\text{C}$) и месечни суми на врнежи (mm) за 2018/2019 година за Кумановскиот регион.

Години Месеци	2018/2019 год.	
	Температура ($^{\circ}\text{C}$)	Врнежи (mm)
Октомври	10.9	83.4
Ноември	8.3	66.7
Декември	2.8	81.8
Јануари	2.1	20.9
Февруари	3.8	72.5
Март	7.5	64.7
Април	13.1	69.4
Мај	17.9	72.4
Јуни	21.1	42.2
Јули	23.1	30.6
Вкупно		584.6

Во текот на испитуваната година 2018/2019 во периодот од сеидба до жетвата, беа забележани доволни количини врнежи и оптимални температури за поникнување на пченицата. Единствено во текот на месец јануари се појавува краток сушен период. Во испитуваната година во периодот на сеидбата и поникнувањето (октимври и ноември), температурните услови беа поволни и среднодневните температури на воздухот се движеа од 10.9 до 8.3⁰C. Врнежите во овој период беа генерално поволни, со исклучок на почетокот на месец октомври кога беше регистриран краток сушен интервал. Среднодневните температури беа негативни само во јануари, додека во другите зимски месеци средната месечната температура на воздухот беше над нулата.

Во периодот април- јули 2018/2019 година температурата на воздухот се движеше од 13.1 во април до 23.1⁰C во јули. Вкупната сума врнежи за целиот вегетативен период иснесува 584.6 mm. Распоредот на врнежи беше поволен, а настапи само еден сушен период во март, што влијаеше на формирањето на стеблото и индиректно на приносот. Температурите беа поволни во критичните фази на вегетативниот развој

Пченицата како и повеќето други култури при повисоки количества на влажност во почвата дава и повисоки приноси. Таа има умерени потреби за влажност на воздухот, што зависи и од сортата. За пченицата е особено важно да има доволно врнежи во април и мај или ако ги нема да се обезбеди вода за наводнување. Во период од сеидба до созревање потребни се околу 120 до 460 mm врнежи. За време на класење и зреење (мај и јуни) пченицата има потреба од 15 до 90 l/ m² (Ćukaliev, 2005).

Средно месечните температури и врнежи и суми на врнежи се дадени во Таб.8. податоците се однесуваат на Кумановскиот регион. Од анализираните климатските услови, пред се температурните услови и сумата на врежи во текот на вегетацијата и од добиените резултати од испитувањата, може да се согледа влијанието на надворешните фактори врз морфолошките и производните својства на сортите пченица. Високите температури во текот на летниот период ја инхибираат фотосинтезата и влијаат негативно на повеќето физиолошки процеси. Особено, на физиологијата на растенијата големо влијание имаат максималните температури и минималните врнежи.

6. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

6.1 Анализа на морфолошките и производните карактеристики

6.1.1 Висина на стебло

Висината на стеблото на пченицата е важна квантитативна карактеристика на пченица, која не само што ја одредува структурата на растението, дополнително има влијание и на приносот. Од биолошка и стопанска гледна точка, висината на растенијата има значење како индикатор за изедначеноста и стабилноста на сортата.

Средните вредности за висината на стеблото кај испитуваните родителски сорти и нивните испитуваните линии се дадени во Табела 9. Најниска средна вредност за висината на стеблото кај родителите вклучени во нашите испитувања покажа линијата *MT 6/2* (63.8 cm), а со највисока средна вредност е вариететот *dicoccum црвен* (110.9 cm). Варијабилноста на висината на стеблото кај родителите е ниска, при што се движи од 3,61% кај *dicoccum црвен* до 5,54% кај сортата *скопјанка*. Кај испитуваните линии висината на стеблото покажува значителна варијабилност. Најниска средна вредност за висината на стеблото покажа генотипот 6/8 (57.15 cm), додека со највисока средна вредност е генотипот 4/1 (89.1 cm), потоа генотипот 2/1 (89 cm) и генотипот 4/6 (87.1 cm). Варијабилноста кај испитуваните генотипови во однос на висината на стеблото е висока и се движи од 5.0 % до 19.2 %. Притоа, најголема хомогеност покажаа генотиповите 10/6 и 11/1 (5.0%), а најголем коефициент на варијација имаше генотипот 15/3 (19.2%). Во однос на висината на стеблото, *dicoccum црвен* се издвојува со најголеми генетски разлики споредено со останатите родители и испитуваните линии. Резултатите за варијабилноста за висината на стеблото се во согласност со резултатите на Манасиевска (2002), Aliu и сор. (2010) и Karagöz и сор.(2006). Mollasadeghi и сор. (2012), кои дошле до заклучок дека висината на стеблото е една од морфолошките карактеристики што покажува поголема варијација од другите карактеристики.

Табела 9. Просечни вредности и варијабилност на висината на стеблото (cm) на испитуваните генотипови пченица

Родител					$\bar{x}$	sd				CV(%)				se	
мина					82.90	3.29				3.97				2.41	
ива					90.40	3.85				4.26				1.93	
скопјанка					75.40	4.10				5.54				2.11	
MT 6/2					63.80	3.42				5.37				1.83	
disossum црвен					110.90	4.01				3.61				2.32	
Генотип	$\bar{x}$	sd	CV(%)	se	Геноти п	$\bar{x}$	sd	CV- %	se	Генотип	$\bar{x}$	sd	CV- %	se	
1/1	77.15	7.85	10.10	1.75	5/4	71.40	3.96	5.70	0.87	11/1	78.15	3.96	5.00	0.88	
1/2	74.65	7.34	9.80	1.64	5/5	74.15	6.57	8.40	1.46	11/2	78.85	5.05	6.30	1.12	
1/3	69.60	5.68	8.10	1.52	5/6	63.05	4.35	6.90	0.97	11/3	80.40	4.52	5.60	1.01	
1/4	73.95	4.48	6.00	1.00	6/1	72.10	5.94	8.30	1.32	12/1	61.80	7.06	11.40	1.57	
1/5	75.85	5.25	6.90	1.17	6/2	66.05	4.66	7.20	1.04	12/2	61.70	7.27	11.70	1.62	
2/1	89.00	6.79	7.60	1.51	6/3	65.75	4.22	6.40	0.95	12/3	63.00	3.96	6.40	0.87	
2/2	86.90	11.7	13.50	2.63	6/4	71.35	7.16	10.00	1.61	12/4	60.05	3.30	5.10	0.73	
2/3	86.80	7.96	9.50	1.78	6/5	64.35	4.33	6.40	0.96	13/1	75.15	5.76	7.80	1.28	
3/1	80.40	6.09	7.30	1.36	6/6	57.75	3.61	6.20	0.80	13/2	73.80	6.28	8.60	1.41	
3/2	80.80	3.80	4.40	0.85	6/7	58.60	6.65	11.30	1.48	14/1	80.70	7.08	8.70	1.58	
3/3	79.55	3.56	4.80	0.79	6/8	57.15	4.57	8.50	1.02	15/1	62.15	3.93	6.70	0.75	
3/4	79.95	6.88	8.30	1.52	7/1	74.85	6.25	8.30	1.39	15/2	61.30	5.72	9.30	1.27	
3/5	79.15	3.29	4.40	0.73	7/2	73.80	4.76	6.40	1.06	15/3	59.05	11.39	19.20	0.31	
3/6	80.20	6.12	7.10	1.36	7/3	67.30	8.27	12.10	1.85	16/1	71.25	6.15	8.10	1.37	
3/7	80.70	5.08	6.50	1.13	7/4	72.75	5.24	7.40	1.17	16/2	73.80	4.31	5.80	0.90	
3/8	76.30	5.32	6.40	1.19	7/5	70.90	6.67	9.30	1.49	16/3	72.85	6.09	8.30	1.36	
3/9	73.70	5.76	7.20	1.28	7/6	77.70	6.26	8.40	1.38	19/1	81.45	5.72	7.30	1.27	
3/10	74.60	5.07	6.30	1.13	8/1	78.95	4.75	6.30	1.06	19/2	84.45	6.90	8.40	1.54	
3/11	75.95	6.82	8.70	1.52	8/2	70.45	4.94	7.10	1.10	19/3	79.90	5.68	7.20	1.27	
3/13	73.50	7.22	9.30	1.61	8/3	70.05	3.53	5.00	0.78	19/4	75.35	7.83	10.30	1.75	
3/44	78.80	5.31	6.30	1.18	9/1	87.85	7.29	8.30	1.63	20/2	79.40	8.60	10.80	1.92	
4/1	89.10	5.40	6.20	1.20	9/2	82.40	7.75	9.40	1.72	20/3	80.90	6.82	8.20	1.52	
4/2	79.10	5.96	7.40	1.32	9/3	84.60	9.63	11.20	2.15	20/4	83.05	3.34	4.90	0.74	
4/3	79.30	4.98	6.50	1.11	10/1	68.50	7.63	11.10	1.71	20/5	76.30	6.15	8.60	1.37	
4/4	72.11	5.66	7.10	1.26	10/2	64.65	8.74	13.50	1.95	20/9	82.75	5.41	6.30	1.21	
4/5	82.15	5.42	6.40	1.12	10/3	66.35	4.28	6.10	0.95	c/13	82.05	4.37	8.10	0.97	
4/6	87.10	5.04	5.40	1.12	10/4	66.65	6.62	9.90	1.48	c/14	83.75	5.67	6.30	1.26	
5/1	73.50	7.44	10.10	1.66	10/5	69.95	4.16	5.90	0.93	c/16	72.65	4.86	6.60	1.09	
5/2	66.30	5.03	7.20	1.12	10/6	73.65	3.70	5.00	0.82	c/17	81.25	4.49	6.10	2.10	
5/3	62.00	7.98	12.80	1.78	10/7	73.45	5.94	8.30	1.32	c/18	79.00	5.17	6.60	1.16	

Висината на стеблото е контролирана од голем број minor гени со послаб индивидуален ефект, при што секој од нив придонесува за експресијата на одредено својство. Покрај нив, major гените (Rht гени) имаат силен единечен ефект и ја детерминираат фенотипската експресија на оваа карактеристика (Dimitrijević и Petrović., 2005). Оваа генетска основа се рефлектира и во широката варијација на средните вредности на висината на стеблото кај испитуваните родители и испитуваните линии на пченица.

6.1.2. Должина на клас

Должината на класот кај пченица е својство кое како и кај останатите житни култури, значително придонесува за зголемување на приносот. Должината на класот е во позитивна корелација со приносот, при што сортите со подолги класови речиси секогаш постигнуваат повисоки вредности.

Табела 10. Просечни вредности и варијабилност на должината на клас (cm) на испитуваните генотипови пченица

Родител			$\bar{x}$		sd		CV(%)			se				
мина			7.33		0.68		13.52			0.34				
ива			8.50		0.78		9.35			0.32				
скопјанка			11.05		0.72		9.24			0.29				
MT 6/2			10.66		1.18		6.56			0.30				
disosum црвен			5.50		0.61		11.13			0.35				
Генотип	$\bar{x}$	sd	CV-%	se	Геноти п	$\bar{x}$	sd	CV(%)	se	Генотип	$\bar{x}$	sd	CV-%	se
1/1	10.38	1.09	10.50	0.25	5/4	8.27	0.89	13.10	0.20	11/1	9.72	1.36	11.30	0.31
1/2	10.72	1.17	10.60	0.27	5/5	9.00	0.76	10.80	0.17	11/2	10.05	0.99	14.00	0.23
1/3	11.16	0.85	10.90	0.20	5/6	9.44	1.09	8.50	0.25	11/3	9.83	1.15	9.90	0.27
1/4	11.16	0.81	7.00	0.21	6/1	8.77	0.87	11.60	0.20	12/1	10.27	1.40	11.60	0.33
1/5	10.94	0.87	8.20	0.20	6/2	8.61	0.84	10.00	0.19	12/2	10.27	1.12	13.60	0.26
2/1	14.11	1.40	7.90	0.33	6/3	8.77	0.87	9.80	0.20	12/3	10.88	1.07	10.90	0.25
2/2	13.66	1.32	9.90	0.31	6/4	9.11	0.90	10.00	0.21	12/4	10.88	1.13	9.90	0.26
2/3	13.00	0.76	9.70	0.17	6/5	9.11	1.20	9.80	0.29	13/1	11.44	1.42	10.30	0.33
3/1	7.83	0.87	5.80	0.20	6/6	8.22	0.73	13.50	0.17	13/2	10.83	1.61	12.40	0.37
3/2	7.16	1.39	19.50	0.15	6/7	8.88	1.13	8.90	0.26	14/1	10.52	1.45	14.90	0.34
3/3	7.44	1.00	9.20	0.23	6/8	9.05	1.16	12.70	0.27	15/1	10.22	1.26	13.80	0.29
3/4	7.67	0.69	13.40	0.16	7/1	8.88	1.13	12.80	0.26	15/2	11.05	1.25	12.30	0.20
3/5	7.77	1.14	9.00	0.26	7/2	9.00	0.84	12.70	0.19	15/3	9.77	1.80	11.30	0.42
3/6	7.91	0.79	14.70	0.18	7/3	7.88	0.90	9.30	0.21	16/1	9.83	1.72	18.30	0.40
3/7	8.16	0.61	9.90	0.14	7/4	9.22	0.54	11.40	0.12	16/2	11.16	1.58	17.50	0.37
3/8	8.10	0.67	7.50	0.15	7/5	8.83	0.70	5.90	0.16	16/3	11.94	1.79	14.10	0.42
3/9	8.72	1.17	8.30	0.27	7/6	8.55	1.42	8.10	0.33	19/1	10.44	1.24	15.00	0.29
3/10	8.00	0.76	13.50	0.17	8/1	8.27	0.82	16.60	0.19	19/2	11.11	1.84	11.90	0.43
3/11	8.50	0.70	9.50	0.16	8/2	9.05	0.93	9.90	0.23	19/3	11.72	1.07	16.10	0.25
3/13	8.33	0.97	8.30	0.22	8/3	8.88	0.83	10.30	0.19	19/4	11.22	2.18	9.10	0.49
3/44	7.44	1.14	11.60	0.25	9/1	13.77	0.80	9.30	0.18	20/2	11.88	2.82	19.40	0.66
4/1	12.94	1.51	15.40	0.35	9/2	15.05	1.47	5.80	0.34	20/3	11.55	1.33	13.70	0.31
4/2	12.05	1.25	11.60	0.29	9/3	11.61	0.84	9.70	0.19	20/4	12.00	1.64	11.50	0.38
4/3	12.16	0.85	10.40	0.20	10/1	8.94	0.72	7.30	0.16	20/5	10.94	1.47	13.70	0.34
4/4	12.94	1.58	7.00	0.37	10/2	8.94	1.21	8.10	0.28	20/9	10.16	1.58	13.40	0.37
4/5	12.88	1.13	12.20	0.26	10/3	9.27	1.12	13.50	0.27	c/13	11.27	1.52	15.50	0.35
4/6	12.33	1.53	8.70	0.36	10/4	7.72	2.19	12.10	0.51	c/14	10.72	1.52	13.50	0.35
5/1	8.94	0.87	12.40	0.20	10/5	8.91	1.26	13.30	0.28	c/16	11.05	1.73	14.20	0.40
5/2	9.50	1.24	9.70	0.29	10/6	8.66	1.02	14.10	0.24	c/17	11.22	1.73	15.60	0.400
5/3	7.72	1.01	13.10	0.23	10/7	8.16	0.92	11.80	0.21	c/18	10.83	1.46	15.40	0.34

Должината на клас кај родителските генотипови се движи од 5.5 cm за *disosum црвен* до 11,05 cm за *скопјанка* (Табела 10). Кај потомството најголема просечна вредност има генотипот 9/2 (15.05 cm), а најмала просечна вредност генотипот 3/2 (7.16 cm). Должината на клас во однос на родителите е зголемена кај 21 генотип: 2/1, 2/2, 2/3, 4/1, 4/2, 4/3, 4/4, 4/5, 4/6, 9/1, 9/2, 9/3, 16/2, 16/3, 19/2, 19/3, 19/4, 20/2, 20/3, 20/4, c/13 и c/17.

Кај родителите варијабилноста се движи од 6.56 % кај линијата *MT 6/2* до 13.52 % кај сортата *мина*, додека кај потомството најголема варијабилност изрази генотипот 3/2 (19.5 %), кој исто така имаше и најкраток клас. Најголема хомогеност на ова компонента на принос е забележана кај генотиповите 3.1 и 9.2 (5.8%). Наведените хомогени генотипови покажаа и мала варијабилност за висината на стеблото.

Испитувањата на Манасиевска (2002), во однос на должината на класот покажуваат дека должината на класот варира во зависност од видот, а исто така е забележано и варирање помеѓу сортите од мека и тврда пченица. Petrović и сор., (2017) утврдиле дека средните вредности на должината на класот кај десет анализирани генотипови на мека пченица се движат од 7.1 cm до 9.7 cm, со значителни разлики помеѓу генотиповите.

6.1.3. Број на зрна во главниот клас

Број на зрна во главниот клас е една од најважните производни карактеристики што влијае на приносот.

Бројот на зрна во главниот клас кај родителите (Табела 11) е најголем кај сортата *скопјанка* (53.5) а најмал број на зрна има *dicosmit црвен* (15.90). Кај *dicosmit црвен* бројот на зрна во главниот клас е помал во однос на другите родители околу 3 до 3.5 пати. Варијабилноста на единките за ова својство е најголема кај *dicosmit црвен* (23.87 %), а најмала кај *скопјанка* (10.41 %)

Средните вредности на бројот на зрна во главниот клас се разликуваа меѓу испитуваните генотипови. Најниската средна вредност за ова особина е забележана кај генотипот 15/3 (40), а најголема средна вредност кај генотипот 16/3 (69.5) (Табела 11). Најмала варијабилност за бројот на зрна во главниот клас е утврдена кај генотипот 9/3 (9.2 %), а најголема варијабилност е забележана кај генотипот 9/1 (39.6 %).

Резултатите за бројот на зрна во главниот клас се во согласност со резултатите на Манасиевска (2002), Ilievski и сор. (2013) и Petrović и сор. (2017).

Табела 11. Просечни вредности и варијабилност на бројот на зрна во главниот клас на испитуваните генотипови пченица

Родител	$\bar{x}$				sd				CV(%)				se	
<i>мина</i>	49.85				7.06				14.14				2.74	
<i>ива</i>	49.55				5.55				11.21				2.34	
<i>скопјанка</i>	53.55				5.57				10.41				2.54	
<i>MT 6/2</i>	46.55				8.45				18.16				2.15	
<i>disossum црвен</i>	15.90				3.79				23.87				2.32	
Геноти п	$\bar{x}$	sd	CV- %	se	Геноти п	$\bar{x}$	sd	CV- %	se	Геноти п	$\bar{x}$	sd	CV-%	se
1/1	55.40	9.41	16.90	2.10	5/4	55.30	8.16	14.00	1.82	11/1	55.70	6.72	12.00	1.50
1/2	54.10	8.22	15.20	1.83	5/5	52.10	8.35	16.00	1.86	11/2	51.40	7.16	13.90	1.60
1/3	50.10	10.2	20.30	2.28	5/6	52.20	6.75	12.90	1.51	11/3	52.70	11.67	22.10	2.61
1/4	65.00	7.34	11.30	1.63	6/1	46.30	7.49	16.10	1.67	12/1	52.90	10.57	33.10	1.41
1/5	50.10	9.66	19.20	2.14	6/2	45.20	7.77	17.20	1.73	12/2	62.50	5.82	9.30	1.30
2/1	53.10	10.4	19.50	2.32	6/3	47.60	12.50	26.40	2.81	12/3	55.80	7.51	13.40	1.68
2/2	51.70	6.82	13.10	1.52	6/4	53.20	9.89	18.50	2.21	12/4	51.60	7.27	14.00	1.62
2/3	52.50	9.20	17.50	2.05	6/5	52.10	7.22	13.80	1.61	13/1	62.00	9.33	15.00	2.08
3/1	54.40	7.58	13.90	1.69	6/6	41.10	5.99	14.50	1.34	13/2	53.20	10.90	20.40	2.43
3/2	56.60	8.85	15.60	1.97	6/7	53.80	6.32	11.70	1.41	14/1	45.80	7.40	16.10	1.65
3/3	53.70	6.86	14.56	1.85	6/8	48.60	8.67	17.80	1.93	15/1	58.70	7.60	12.90	1.70
3/4	50.80	8.45	16.60	1.89	7/1	64.70	7.54	17.50	1.85	15/2	56.30	8.83	15.60	1.97
3/5	59.00	8.62	14.60	1.92	7/2	63.90	7.12	11.10	1.59	15/3	40.00	12.7	31.80	2.84
3/6	57.70	12.5	21.60	2.79	7/3	59.10	8.70	14.70	1.94	16/1	55.30	8.71	15.70	1.94
3/7	61.60	7.27	11.80	1.62	7/4	66.10	9.86	14.90	2.20	16/2	48.20	9.77	20.20	2.18
3/8	64.90	11.9	18.40	2.66	7/5	56.00	9.93	17.70	2.22	16/3	69.50	7.77	11.10	1.73
3/9	65.40	10.6	16.20	2.37	7/6	53.50	8.43	15.70	1.88	19/1	44.10	7.43	16.80	1.66
3/10	66.70	9.98	14.90	2.23	8/1	46.40	7.43	16.00	1.66	19/2	59.30	11.49	19.30	2.57
3/11	60.90	7.48	12.20	1.67	8/2	49.10	8.40	17.10	1.87	19/3	63.10	9.05	14.30	2.02
3/13	60.60	8.11	13.30	1.81	8/3	51.80	6.66	12.50	1.48	19/4	50.80	5.03	9.50	1.12
3/44	58.00	9.21	15.80	2.05	9/1	44.20	17.50	39.60	3.93	20/2	57.80	7.71	13.30	1.72
4/1	54.90	8.35	15.20	1.87	9/2	55.70	11.30	20.60	2.53	20/3	58.70	19.57	33.30	4.37
4/2	55.80	5.67	10.10	1.26	9/3	59.60	5.49	9.20	1.22	20/4	58.40	10.95	18.70	2.44
4/3	59.10	7.65	12.90	1.71	10/1	52.60	9.75	18.50	2.18	20/5	57.20	10.08	17.60	2.25
4/4	53.70	5.82	10.80	1.30	10/2	62.20	10.30	16.60	2.31	20/9	51.60	8.93	17.20	1.99
4/5	52.10	9.98	19.10	2.23	10/3	49.90	11.20	22.40	2.50	c/13	54.80	10.13	18.40	2.26
4/6	55.30	6.90	12.40	1.54	10/4	56.90	6.81	11.90	1.52	c/14	58.40	8.08	13.80	1.80
5/1	50.20	9.63	19.10	2.15	10/5	57.90	10.90	18.80	2.44	c/16	61.30	8.99	14.60	2.01
5/2	56.80	9.74	17.10	2.17	10/6	50.40	9.53	18.90	2.13	c/17	61.30	8.99	14.60	2.01
5/3	50.80	7.27	14.30	1.62	10/7	48.50	11.80	24.40	2.64	c/18	58.70	9.61	16.30	2.14

6.1.4 Маса на зрна

Масата на зрната е уште една важна компонента на приносот. Разликите во масата на зрната во класот имаат значително влијание на конечниот принос.

Од родителите најголема маса на зрна во класот има сортата *мина* (3.40 g), додека најмала маса има *disossum црвен* (0,62 g) кој има и најмал број на зрна во класот (Табела 12). Средните вредности за маса на зрна по клас се движат од 1.78 g кај генотипот 15/3, до 4.01 g кај генотипот 16/3, кој исто така имаше и најголема средна вредност за бројот на зрна во главниот клас.

Табела 12. Просечни вредности и варијабилност на масата на зрна (g) кај испитуваните генотипови пченица

Родител	$\bar{x}$	sd	CV(%)	se
<i>мина</i>	3.40	0.44	13.12	0.09
<i>ива</i>	2.70	0.37	13.81	0.13
<i>скопјанка</i>	2.38	0.37	15.52	0.10
<i>МТ 6/2</i>	2.20	0.34	15.72	0.10
<i>dicossum црвен</i>	0.62	0.18	29.29	0.11

Генотип	$\bar{x}$	sd	CV-%	se	Генотип	$\bar{x}$	sd	CV-%	se	Генотип	$\bar{x}$	sd	CV-%	se
1/1	2.97	0.54	18.20	0.12	5/4	3.44	0.64	18.70	0.14	11/1	2.69	0.37	13.90	0.08
1/2	2.90	0.54	18.50	0.12	5/5	3.16	0.53	16.90	0.11	11/2	2.40	0.43	18.10	0.09
1/3	2.43	0.49	20.40	0.10	5/6	3.32	0.47	14.20	0.10	11/3	2.54	0.61	24.70	0.14
1/4	3.23	0.47	14.60	0.10	6/1	2.78	0.67	24.10	0.14	12/1	2.84	0.50	20.40	0.11
1/5	2.80	0.53	18.50	0.12	6/2	2.84	0.70	24.60	0.15	12/2	3.75	0.92	24.72	0.20
2/1	3.21	0.99	30.80	0.22	6/3	3.04	0.66	21.70	0.14	12/3	2.44	0.38	15.60	0.09
2/2	2.57	0.49	19.10	0.10	6/4	3.44	0.70	20.40	0.15	12/4	2.20	0.34	15.40	0.07
2/3	2.90	0.53	17.90	0.11	6/5	3.08	0.65	21.30	0.14	13/1	3.37	0.72	21.60	0.16
3/1	3.02	0.53	17.60	0.11	6/6	2.18	0.42	19.30	0.09	13/2	2.96	0.69	23.40	0.15
3/2	2.97	0.89	29.90	0.19	6/7	3.07	0.42	13.80	0.09	14/1	2.52	0.44	17.70	0.09
3/3	3.34	0.85	29.70	0.17	6/8	2.21	0.52	23.60	0.11	15/1	2.71	0.54	19.30	0.14
3/4	3.02	0.65	21.70	0.14	7/1	3.10	0.55	18.20	0.11	15/2	2.49	0.65	26.10	0.14
3/5	2.96	0.69	23.40	0.15	7/2	3.30	0.53	16.10	0.11	15/3	1.78	0.89	50.30	0.19
3/6	3.07	0.80	26.10	0.17	7/3	3.01	0.57	19.20	0.12	16/1	2.77	0.66	23.90	0.14
3/7	3.23	0.55	17.10	0.12	7/4	3.31	0.66	19.90	0.14	16/2	2.18	0.54	25.10	0.12
3/8	3.20	0.76	23.10	0.17	7/5	2.90	0.75	26.10	0.16	16/3	4.01	2.21	55.20	0.49
3/9	3.35	0.52	15.73	0.11	7/6	2.83	0.57	20.10	0.12	19/1	2.35	0.42	17.90	0.09
3/10	3.49	0.59	17.00	0.13	8/1	2.64	0.39	14.90	0.10	19/2	3.07	0.68	22.20	0.15
3/11	3.33	0.52	15.80	0.11	8/2	2.93	0.52	17.90	0.17	19/3	2.44	0.51	20.90	0.11
3/13	2.71	0.55	20.30	0.12	8/3	2.70	0.87	32.30	0.14	19/4	2.71	0.62	22.90	0.13
3/44	3.07	0.46	15.00	0.10	9/1	2.64	0.76	28.80	0.13	20/2	2.88	0.80	27.73	0.17
4/1	3.01	0.50	16.70	0.10	9/2	2.98	0.76	25.50	0.12	20/3	2.65	0.62	17.10	0.13
4/2	2.94	0.69	23.50	0.23	9/3	3.28	0.55	16.80	0.12	20/4	3.05	0.60	19.60	0.13
4/3	3.15	0.46	14.60	0.10	10/1	2.64	0.65	24.60	0.14	20/5	2.95	0.63	21.40	0.14
4/4	2.72	0.46	17.10	0.10	10/2	2.89	0.55	19.30	0.12	20/9	2.46	0.65	26.50	0.14
4/5	2.89	0.80	27.60	0.17	10/3	2.47	0.55	22.40	0.12	c/13	2.82	0.62	22.20	0.13
4/6	2.99	0.46	15.60	0.10	10/4	2.62	0.46	17.80	0.10	c/14	2.93	0.48	16.60	0.10
5/1	3.16	0.56	17.70	0.12	10/5	2.88	0.65	22.80	0.14	c/16	2.88	0.70	24.39	0.15
5/2	3.51	0.52	14.80	0.11	10/6	2.50	0.49	19.80	0.10	c/17	3.07	0.54	17.60	0.12
5/3	2.98	0.52	17.40	0.11	10/7	2.45	0.64	26.40	0.14	c/18	2.43	0.48	20.10	0.10

Варијабилноста на родителските генотипови се движи од 13.12 % кај сортата *мина* до 29.29 % кај *dicossum црвен*. Ова својство е доста варијабилно и кај родителите и кај нивните испитуваните линии. Така, најголема хомогеност на ова компонента на принос е забележана кај генотиповите 11/1 (13.9 %). Најголема варијабилност се јавува кај генотипот 16/3 (55.2 %), кој имаше и најголема средна вредност за масата на зрна по клас.

Масата на зрна по клас покажува значителни статистички разлики и голема варијабилност кај генотипови на мека пченица (Knežević и сор., 2014; Protić и сор., 2012). Petrović и сор. (2017) даваат податоци за масата на зрна кај генотипови на мека пченица кои се движаат од 1.9 g до 2.9 g, со коефициент на варијација 34.5 %.

6.1.5 Вкупен број на братимки по растение

Братењето е својство кое директно влијае врз приносот. Вкупниот број братимки по растение е својство кое најмногу зависи од густината на сеидбата, исхраната, климатските услови, но и од генетскиот потенцијал на генотипот.

Табела 13. Просечни вредности и варијабилност на вкупниот број братимки по растение на испитуваните генотипови пченица

Родител			$\bar{x}$			sd			CV-%			se		
мина			4.45			0.89			19.93			0.45		
ива			6.35			1.03			16.37			0.43		
скопјанка			5.95			0.87			13.87			0.40		
MT 6/2			5.55			0.99			17.99			0.49		
дисосит црвен			11.40			2.23			19.59			0.45		
Генотип	$\bar{x}$	sd	CV-%	se	Геноти п	$\bar{x}$	sd	CV(%)	se	Генотип	$\bar{x}$	sd	CV-%	se
1/1	4.00	1.08	27.10	0.24	5/4	6.80	3.20	47.20	0.71	11/1	7.60	2.76	36.40	0.61
1/2	5.30	1.80	34.30	0.40	5/5	6.05	2.85	47.20	0.63	11/2	7.45	2.32	31.50	0.51
1/3	5.55	1.98	35.20	0.44	5/6	7.09	4.70	59.50	1.05	11/3	6.90	2.61	37.80	0.58
1/4	6.10	2.14	35.20	0.47	6/1	7.45	2.10	29.00	0.48	12/1	6.05	2.81	46.50	0.62
1/5	5.95	1.60	26.90	0.35	6/2	5.95	3.28	55.10	0.73	12/2	4.60	1.87	40.70	0.41
2/1	5.95	1.53	25.80	0.34	6/3	7.35	3.64	49.60	0.81	12/3	5.05	1.95	38.80	0.43
2/2	6.15	1.22	19.90	0.27	6/4	6.95	2.96	42.60	0.66	12/4	4.20	2.01	47.90	0.44
2/3	7.10	2.29	32.20	0.51	6/5	8.20	3.91	47.70	0.87	13/1	5.65	2.45	43.40	0.54
3/1	10.90	5.65	51.60	1.26	6/6	5.90	2.17	36.80	0.48	13/2	4.80	1.90	38.70	0.42
3/2	11.80	5.05	42.80	1.12	6/7	6.20	2.85	46.10	0.63	14/1	6.35	2.64	41.50	0.59
3/3	11.90	4.42	37.10	0.98	6/8	6.90	3.30	47.90	0.73	15/1	5.85	2.20	38.50	0.50
3/4	12.70	4.72	37.20	1.05	7/1	6.95	2.76	39.70	0.61	15/2	6.65	3.60	54.10	0.80
3/5	15.30	5.87	38.40	1.31	7/2	6.60	3.10	46.90	0.69	15/3	6.55	3.50	53.40	0.78
3/6	14.30	5.50	38.10	1.23	7/3	6.50	4.40	67.70	0.98	16/1	5.65	2.40	43.00	0.54
3/7	12.50	4.38	34.90	0.97	7/4	8.35	3.37	44.60	0.83	16/2	5.30	2.40	45.40	0.53
3/8	10.00	3.07	30.70	0.68	7/5	6.45	2.35	36.40	0.52	16/3	5.20	2.80	53.80	0.62
3/9	5.70	1.89	33.20	0.42	7/6	6.20	2.54	41.00	0.56	19/1	7.35	3.26	44.40	0.72
3/10	8.35	3.80	45.60	0.85	8/1	10.3	4.43	42.80	0.99	19/2	7.78	2.61	33.60	0.58
3/11	8.42	4.27	50.70	0.95	8/2	10.7	4.11	38.40	0.91	19/3	5.70	2.67	46.90	0.59
3/13	7.95	3.47	50.70	0.95	8/3	11.8	2.51	21.20	0.56	19/4	5.60	2.30	41.10	0.51
3/44	7.95	4.35	54.80	0.97	9/1	7.50	2.37	31.60	0.53	20/2	6.55	1.57	23.90	0.35
4/1	8.15	3.16	38.80	0.70	9/2	7.60	2.92	38.50	0.65	20/3	6.00	2.71	45.20	0.60
4/2	8.20	4.40	53.60	0.98	9/3	7.50	3.22	42.90	0.72	20/4	4.10	2.12	51.80	0.47
4/3	5.95	2.21	37.10	0.49	10/1	10.20	4.19	40.80	0.93	20/5	5.05	2.06	40.80	0.46
4/4	7.30	1.71	23.50	0.38	10/2	7.75	3.59	46.40	0.80	20/9	5.60	3.23	57.70	0.72
4/5	6.85	2.51	36.70	0.56	10/3	7.65	3.13	40.90	0.70	c/13	5.85	2.53	43.40	0.56
4/6	6.10	2.90	47.50	0.64	10/4	7.15	2.83	39.60	0.63	c/14	4.50	2.09	46.40	0.56
5/1	7.85	1.89	24.10	0.42	10/5	7.75	3.68	47.50	0.82	c/16	6.20	3.86	62.20	0.86
5/2	6.70	2.71	40.50	0.63	10/6	6.85	3.13	45.70	0.70	c/17	5.85	2.10	36.00	0.46
5/3	5.85	1.69	28.90	0.37	10/7	8.15	2.90	35.60	0.64	c/18	4.10	2.12	51.80	0.47

Од испитуваните родители со најголем просечен број на братимки по растение е *дисосит црвен* (11.40), додека сортата *мина* е со најмал број на братимки (4.45) (Табела 13). Во испитуваните генотипови, просечната вредност за вкупниот број братимки по растение се движи од 4 кај генотипот 1/1, до 15.3 кај генотипот 3/5. Во однос на ова својство, анализираните родители и генотипови покажаа голема варијабилност. Варијациониот

коэффициент кај родителите се движи од 13.87 % кај сортата *скопјанка* до 19.93 % кај сортата *мина*. Најмала варијабилност изрази генотипот 2/2 (19.9%),а најголема варијабилност е забележана е кај генотипот 7/3 (67.7%).

Резултатите за варијабилноста за висината на стеблото се во согласност со резултатите на *Karagöz и sor.*(2006) и *Brbaklić и sor.*(2015).

6.2 Анализа на главните компоненти (РСА) на испитуваните генотипови пченица врз основа на морфолошките својства

Анализата на главните компоненти (РСА) ги поедноставува сложените податоци со трансформирање на корелираните варијабли во помал број варијабли наречени главни компоненти. Првата главна компонента опфаќа максимална варијабилност на податоците во однос на следните компоненти. Овој метод овозможува анализирање на корелациските односи меѓу морфолошките особини, групирање на генотиповите на пченица, како и идентификување на супериорните генотипови врз основа на анализираните својства.

Анализа на главните компоненти овозможи намалување на бројот на пет основни карактеристики на три нови варијабли со зачувување на значителен дел од варијансата на примарните податоци. Анализата на главните компоненти покажа дека три компоненти имаат Eigen-вредност > 1 и истите објаснуваат 85,75% од вкупната варијабилност на популацијата. Првата главна компонента PC1 опфаќа 37,71% од варијабилноста на испитуваните генотипови. Истата се должи на својствата, број на зрна во клас, маса на зрна во клас и должина на класот, кои имаат најголемо учество во оваа компонента. Истите својства во најголема мера го детерминираат диверзитетот на испитуваната популација. Втората главна компонента PC2 објаснува 28,19% од варијабилноста, која се должи пред сè на бројот на братимки по растение. Најголемо учество во третата главна компонента PC3 има својството висина на растение. Истата опфаќа 19,85% од вкупната варијабилност на анализираните генотипови (Табела 14).

Табела 14. PCA анализа – Главни компоненти, кумулативни вредности на фенотипска варијанса и Eigen вредности

Анализирани својства	PC1	PC2	PC3
Висина на растение	-0,385	0,005	0,900
Должина на клас	0,486	-0,688	0,343
Број на зрна	0,846	0,360	0,125
Маса на зрна	0,742	0,521	0,181
Број на братимки	-0,485	0,731	0,126
Eigen вредност	1,88	1,41	1,00
Процент на варијанса (%)	37,71	28,19	19,85
Кумулативен процент на варијанса (%)	37,71	65,90	85,75

За визуелна презентација и интерпретација на податоците, векторските проекции на испитуваните варијабли и положбата на генотиповите се претставени на биplot графиконот (Слика 2). Користејќи го косинусот на аглие помеѓу векторите на кое било својство, можеме да го процениме коефициентот на корелација (Yan и Kang, 2003), каде острите агли помеѓу векторите на својствата укажуваат на позитивна корелација, тапите агли негативна корелација, а правите агли укажуваат на недостаток на корелација.

Така од биplotот е јасно дека тесниот агол помеѓу векторот на број на зрна во главниот клас и векторот на маса на зрна во главниот клас укажува дека постои значајна позитивна корелација помеѓу овие две особини. Од друга страна, бројот на зрна во клас и маса на зрна од клас имаат средно-силна, но негативна корелација со висина на растение. Должина на клас е во високо-сигнификативна негативна корелација со бројот на братимки. Умерено негативна корелација постои помеѓу висина на растение и должина на клас, додека поврзаноста на висина на растение и број на братимки беше негативна, но помалку изразена. Отсуството на корелација е утврдено за својствата број на зрна во клас со број на братимки, како и за масата на зрна од клас со број на братимки. Резултатите за корелација на висината на стеблото со бројот на зрна, како и со маса на зрна добиени од PCA се во согласност со резултатите на Khan и сор. (2015) и Mishra и сор. (2015). Во истражувањето од Aghaee и сор., (2010) утврдено е негативна корелација помеѓу бројот на зрна и масата на зрна со висината на стеблото, како и помеѓу должината на клас и бројот на братимки, што е во согласност со резултатите добиени во ово истражување. Според Stefanova-Dobрева и Muhova (2020), бројот на зрна е во значајна позитивна корелација со масата на зрната.

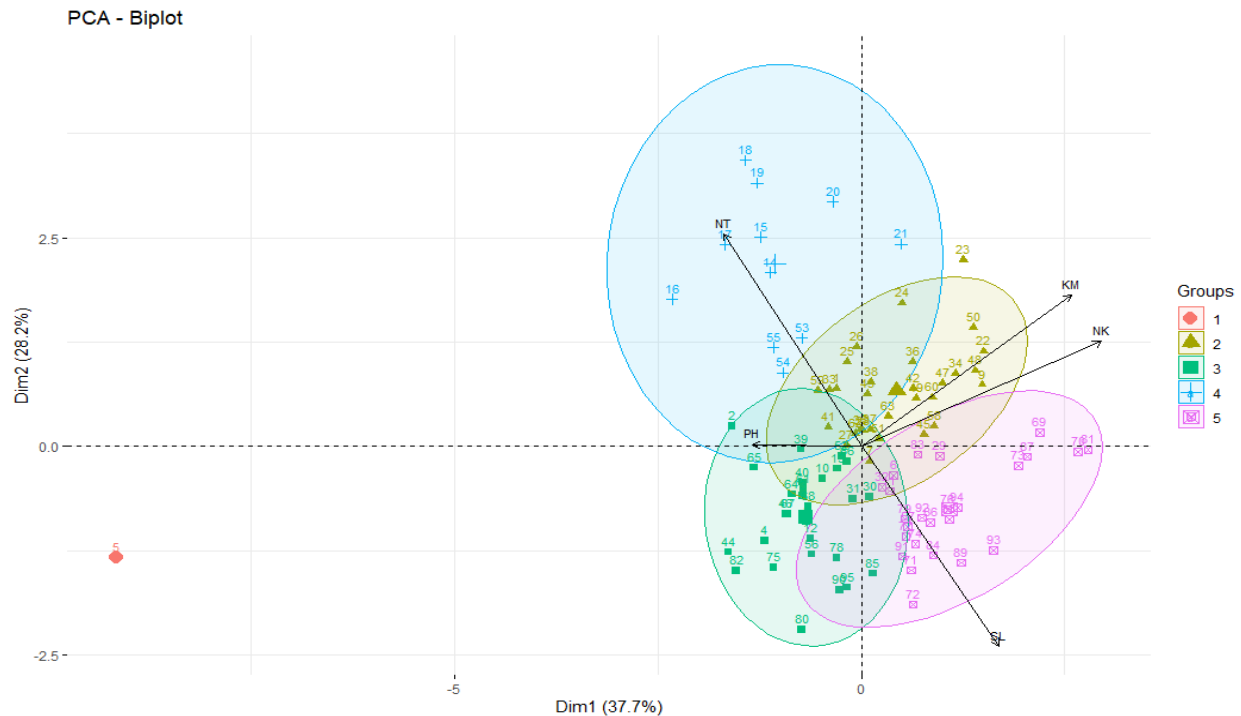
Долгите вектори на генотиповите *dicossum црвен*, 3/5, 3/6, 12/2 и 16/3 укажуваа дека овие генотипови имаат екстремни вредности за една или повеќе особини, од кои испитуваните линии 12/2 и 16/3 се особено супериорни генотипови за нивните високи позитивни вредности на должина на клас, број на зрна и маса на зрна. Овие генотипови се придружени од други испитувани линии (3/10, 7/4, 3/9, 12/1, 13/1 и 10/4), кои исто така покажуваат високи вредности за должина на класот, број на зрна и маса на зрна. Според Gerema (2021) и Voeven и сор. (2020), колку родителските форми се генетски пооддалечени, толку е поголем потенцијалот за генска интеракција во форма на доминација и епистаза, што доведува до зголемен потенцијал за хетерозис и трансгресија.

Графичкиот приказ за првите две компоненти од РС анализата овозможи издвојување на четири групи генотипови. Најјасно раздвојување на генотиповите е забележано по должината на оската на првата главна компонента PC1, што го објасни најголемиот дел од почетната варијабилност (37,71%). Имајќи предвид дека првата главна компонента PC1 се должи на својствата број на зрна, маса на зрна и должина на класот, генотиповите во првата главна компонента се групирани во најголема мера според компонентите на принос.

Вариететот *dicossum црвен* не припаѓа во ниту една група поради високите вредности за висина на растение и број на братимки и ниските вредности за сите останати својства (Слика 2). Кластерот 4 и 5 покажаа значително појасно раздвојување од кластерот 2 и 3, што се должи на генотипови со различни таксономски карактеристики групирани во овие кластери.

Генотиповите од втората групата се карактеризираа со високи вредности за број на зрна и маса на зрна, а кои имаат надпросечни вредности за број на братимки, како и подпросечни вредности за висина на стеблото и должина на клас. Генотиповите од третата групата имаа високи вредности за висина на растение и должина на клас и подпросечни вредности за бројот на братимки, бројот на зрна и маса на зрна.

Генотиповите од четвртата групата се одликуваа со голем број братимки по растение, просечни вредности за висината на стебло и подпросечни до просечни вредности за должина на клас, број на зрна и маса на зрна.



Слика 2. Дистрибуција на генотиповите на РС-биplot врз основа на анализираните својства (РН- висина на стебло ; SL- должина на клас; НК-број на зрна КМ - маса на зрна; NT-број на продуктивни братимки).

Генотиповите од петата група се карактеризираа со високи вредности за должина на клас, средно високи до високи вредности за број на зрна маса на зрна и ниски вредности за другите својства.

Со анализа на главните компоненти беше забележано групирањето на родителите во посебни групи. Вариететот *dicosmit црвен* не припаѓа во ниту една група и се издвојува како посебен. Сортите на тврда пченица *мина* и *ива* се издвоени во посебна група (четврта група) од претставниците на мека пченица. Сортата *скопјанка* и *линијата MT 6/2* се групирани во различни групи, при што *скопјанка* припаѓа на третата група, а *линијата MT 6/2* на петтата.

Интерпретацијата на PCA биplotот покажа дека испитуваните линии добиени со вкрстување на петте родители имаат широк опсег на генетска варијација за морфолошките својства. Положбата на испитуваните линии во PCA биplotот беше одредена врз основа на заедничките особини и од нивното генетско потекло. Испитуваните линии кои беа

групирани блиску еден до друг во биплотот споделуваа слични комбинации на морфолошки својства наследени од нивните родители. Испитуваните линии кои беа позиционирани поблиску до едниот родител покажаа повеќе слични особини од тој родител, додека оние позиционирани помеѓу двајцата родители покажаа особини од двата родители. Испитуваните линии кои на биплотот беа позиционирани далеку од нивните родители претставуваат нови генетски комбинации или неочекувана експресија на морфолошките својства и би можеле да бидат од интерес за понатамошни проучувања.

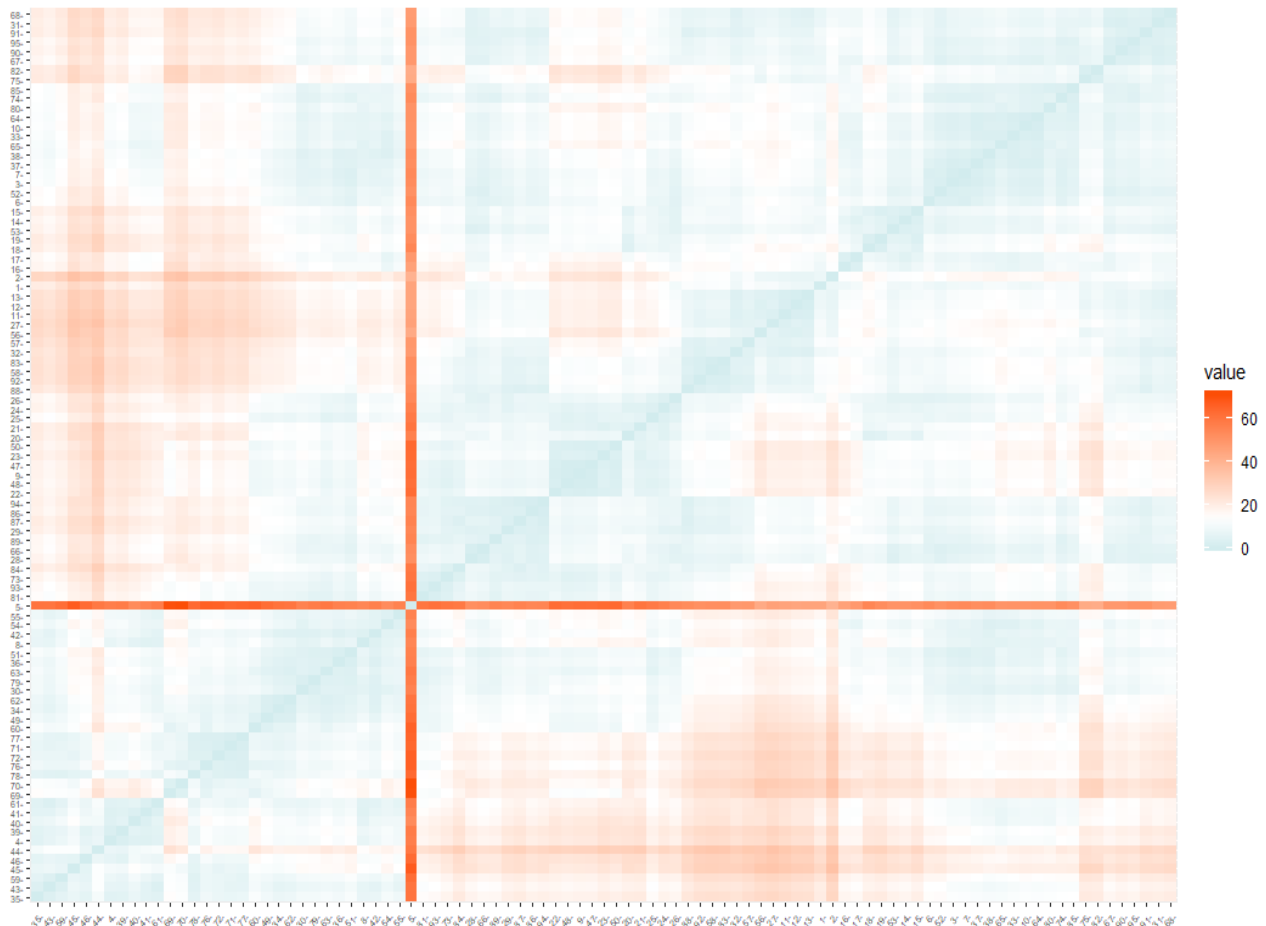
6.3 Кластер анализа на генотипови пченица врз основа на морфолошките својства

Кластер анализата претставува група на мултиваријантни техники чија цел е групирањето на генотиповите врз основа на нивните карактеристики, така што сличните генотипови се математички поврзани во истиот кластер. Успешната класификација подразбира висока хомогеност, т.е. минимална варијабилност во рамките на истата група, и висока хетерогеност т.е. максимална варијабилност помеѓу различни групи (Manly, 2005). Во основа можат да бидат: метод базиран на матрицата на дистанца помеѓу генотиповите што дава графички приказ (дендрограм) на идентификуваните групи и метод базиран на модел (Mohammadi и Prasanna, 2003).

Групирањето на родителските генотипови и испитуваните линии добиени со вкрстување на *Triticum aestivum* (мека пченица), *Triticum durum* (тврда пченица) и *Triticum dicoccum* беше спроведено со употреба на кластерска анализа заснована на Еуклидската дистанца помеѓу генотиповите, а конструкцијата на дендрограмите беше извршена со методот на Ward.

Дистанцата помеѓу испитуваните генотипови на пченица, врз основа на анализираните морфолошки својства е претставена на Слика 3. Од графиконот може да се забележи дека вариететот *dicoccum црвен* има најголема дистанца од сите останати анализирани генотипови. Голема дистанца е забележана и кај генотиповите 6/6, 6/7, 6/8, 12/2 и 12/3. Помеѓу видовите, најголема оддалеченост постои меѓу *Triticum aestivum* и *Triticum dicoccum*. *Triticum durum* и *Triticum dicoccum* споредени меѓу себе покажуваат дека се поблиски. Видовите *Triticum aestivum* и *Triticum durum* покажуваат голема дистанца, особено меѓу линијата *MT 6/2* и сортите *ива* и *мина*.

Меѓувидовата хибридизација овозможила создавање на генетски оддалечени линии кои содржат генетскиот материјал од сите трите вида на пченица. Хибридизацијата на подивергенти родители од различни видови на пченица резултира со формирање на генотипови кои имаат поголема генетска дистанца во споредба со хибридизацијата на поблиски родители, што доведува до зголемување на потенцијалот за хетерозис и трансгресија.



Слика 3. Дистанца помеѓу испитуваните генотипови врз основа на морфолошките својства

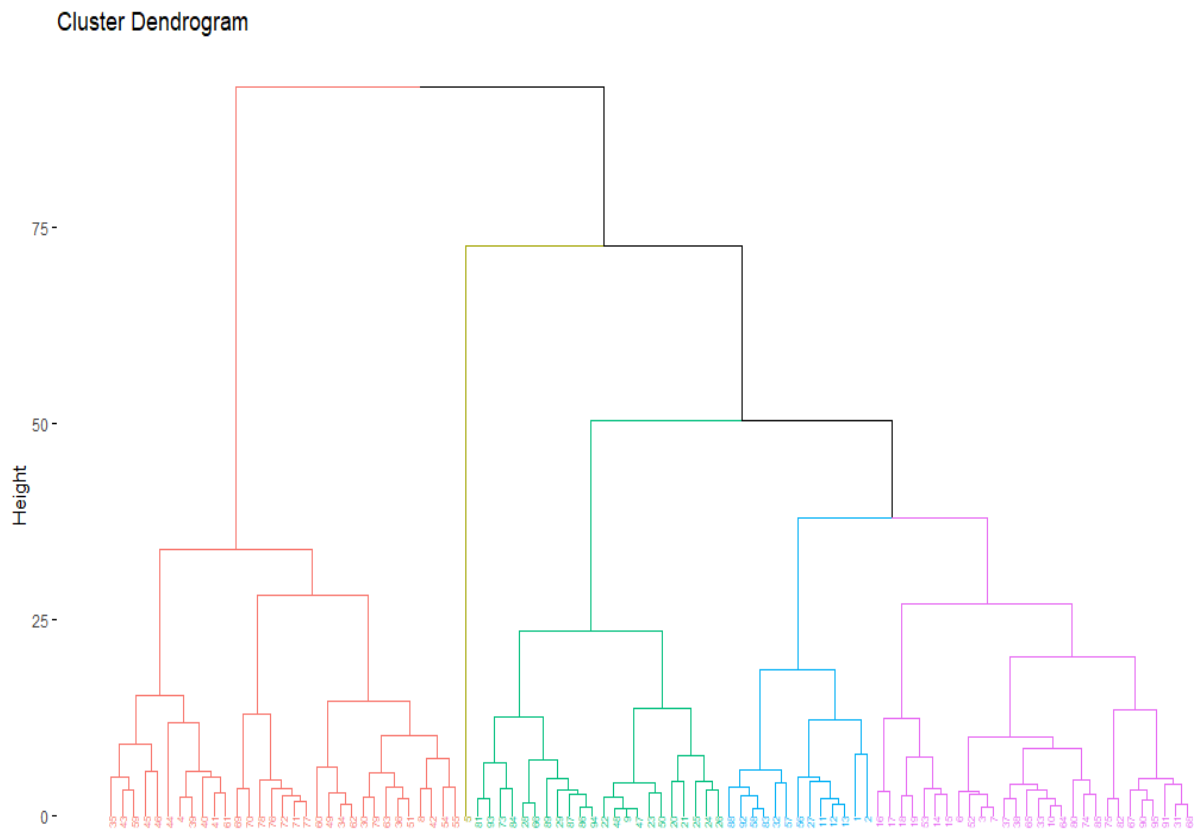
Пресметаната дистанца помеѓу генотиповите врз основа на морфолошките својства, беше употребена за конструкција на дендрограм според методот на Ward. Добиениот дендограм ја прикажува кластерската структура и степенот на сличност меѓу испитуваните таксони на пченица.

Врз основа на пресметаната дистанца помеѓу генотиповите, применета врз анализираните морфолошки својства, конструиран е дендрограм со употреба на методот на Ward. Со овој метод, генотиповите, сортите и линиите постепено се поврзуваат во групи (кластери) според степенот на нивната меѓусебна сличност, при што генотиповите со најмала дистанца се спојуваат први, а понатаму, на повисоко хиерархиско ниво, се приклучуваат кон поголеми групи. Добиениот дендрограм, прикажан на Слика 4, овозможува визуелно и квантитативно да се согледа филогенетската и морфолошката поврзаност на испитуваните генотипови, како и нивната позиција во рамките на таксономијата на родот *Triticum*.

Анализата опфаќа вкупно 95 испитувани родители и линии добиени со меѓувидова хибридизација, распоредени во четири главни кластери, при што секој кластер понатаму се дели на помали подгрупи според степенот на морфолошка сличност. Посебно место во анализата зазема вариететот *dicossum* црвен, кој поради изразената морфолошка оддалеченост од сите останати генотипови не се вклучува во ниту еден од четирите кластери, туку се издвојува како целосно посебен, што е во согласност со таксономската класификација според Dorofeev и сор. (1979), која *Triticum dicossum* го третира како посебен вид, различен од *Triticum durum*.

Вториот кластер се поврзува со првиот на повисоко хиерархиско ниво, што значи дека, и покрај тоа што претставуваат посебни групи, тие сепак покажуваат одреден степен на заедничка морфолошка основа во споредба со преостанатите два кластери. Овој кластер брои 22 генотипови, распоредени во две подгрупи. Во првата подгрупа спаѓаат генотиповите 16/3, с/16, 13/1, 19/3, 4/2, 11/1, 20/5, 4/3, 20/3, 20/2 и с/17, додека втората подгрупа ја сочинуваат генотиповите 3/9, 7/2, 1/4, 7/1, 3/10, 7/4, 3/7, 3/8, 3/11 и 3/44. Посебно е значајно што во рамките на овој кластер се наоѓа генотипот 16/3, кој во текот на истражувањето се покажа како еден од најпродуктивните хибридни генотипови. Генотиповите во овој кластер, освен што покажуваат висока меѓусебна морфолошка поврзаност (т.е. мала дистанца во рамките на кластерот), имаат и особено блиски вредности за клучните морфолошки својства (висина на стебло, должина на клас, број и маса на зрна, број на братимки), што укажува на висока фенотипска стабилност и уедначеност во рамките на оваа група.

Третиот кластер е најмалиот по бројност меѓу четирите главни кластери, со вкупно 13 генотипови, распоредени во две подгрупи. Првата подгрупа ја сочинуваат меѓусебно сличните генотипови 20/4, с/14, 9/3, 19/2, 4/6 и 9/2. Втората подгрупа претставува посебно значаен наод. Во неа, покрај генотиповите 9/1, 4/1, 2/1, 2/2 и 2/3, се вклучени и двете сорти тврда пченица, *мина* и *ива*, кои се издвојуваат заедно во иста, посебна подгрупа. Во однос на внатрешната дистанца во овој кластер, генотипот 20/4 и сортата *ива* покажуваат најголема морфолошка оддалеченост во рамките на групата, додека сите останати генотипови во кластерот меѓусебно имаат помала дистанца. Најмала дистанца, а со тоа и највисок степен на морфолошка сличност во рамките на овој кластер, е забележана меѓу генотипот 9/3 и генотипот 19/2 кои практично се преклопуваат по своите морфолошки карактеристики.



Слика 4. Дендрограм за испитуваните генотипови врз основа на морфолошките својства

Четвртиот кластер е составен од 28 генотипови, поделени во три подгрупи. Во првата подгрупа спаѓаат генотиповите 3/3, 3/4, 3/5, 3/6, 8/1, 3/1 и 3/2. Втората подгрупа е воедно и најбројна во рамките на овој кластер и ја сочинуваат генотиповите 1/1, 7/6, сортата *скопјанка*, 1/2, 5/5, 5/6, 10/7, 5/1, 1/5, 10/6, 16/2, 13/2 и 19/4. Кон оваа подгрупа, на повисоко хиерархиско ниво, по сличност се приклучува и третата подгрупа, составена од генотиповите 14/1, 19/1, 11/2, 20/9, с/18, с/13, 4/5 и 11/3. Во рамките на овој кластер, сортата *скопјанка* покажува најмала дистанца, односно највисока морфолошка сличност, со генотипот 1/2. Останатите генотипови во кластерот меѓусебно покажуваат поголема морфолошка оддалеченост, при што најизразена дистанца, односно највисока морфолошка разлика во рамките на целиот кластер, е забележана меѓу генотипот 3/3 и генотипот 13/3.

За разлика од сите останати испитувани генотипови, вариететот *dicoccum црвен* не се вклучува во ниту еден од четирите главни кластери. Тој се одвојува на најрана хиерархиска гранка на дендрограмот, што значи дека неговата морфолошка дистанца во однос на сите останати генотипови е значително поголема од дистанците забележани во рамките и помеѓу четирите кластери. Ова целосно изолирано позиционирање дополнително ја потврдува неговата таксономска посебност во однос на групата *Triticum durum*, во согласност со класификацијата на Dorofeev и сор. (1979).

6.3.1 Двојна кластер анализа

Двојна кластер анализа беше користена за групирање на генотиповите според нивната сличност за анализираните морфолошки својства, како и за групирање на овие особини според нивната корелација. Покрај дендрограмот, кој ги покажува сличностите на генотиповите, како и зависноста на поединечните особини, значаен елемент на двојна кластер анализа (кластерскиот дијаграм) е бојата, која укажува за нивото на одредени својства кај генотиповите. Светло розовите нијанси означуваат високи вредности на својството за одреден генотип, а светлозелените нијанси укажуваат на ниски вредности на својството во набљудуваниот генотип. Жолта ги означува просечните вредности.

Со набљудување на распредот на генотиповите на пченица во кластерскиот дијаграм, може да се забележат четири групи во кои се групирани генотипови со слични морфолошки својства (Слика 5).

Во втората група беа класифицирани генотиповите со средно-високи до високи вредности за висината на растение, бројот на зрна и масата на зрна. Во оваа група се издвојуваат две подгрупи. Во првата подгрупа групирани се генотиповите со ниски вредности за должината на клас, а во втората генотиповите со средно-високи до високи вредности за истото својство.

Во третата група се лоцирани генотиповите со високо стебло, долг клас и средно до средно високи вредности за останатите својства, но и сортата *мина* и сортата *ива*, кои освен за висината на растение и масата на зрна од клас, имаа ниски вредности за сите останати својства.

Во четвртата група се детектирани три подгрупи. Во првата се наоѓаат генотиповите со високи вредности за бројот на братимки и ниски вредности за должината на клас, со средно-високо до високо стебло. Во втората подгрупа се генотиповите со средно-високо стебло, средно-ниски до ниски вредности за бројот на зрна и ниски вредности за должина на клас (со исклучок на генотиповите 16/2, 13/2 и 19/4, кои имаат долги класови). Третата подгрупа ги опфати генотиповите со високо стебло и долг клас и ниски до средно-ниски вредности за останатите својства.

Сите анализирани својства се групираат во две групи. Во првата група се наоѓаат својствата: маса на зрна, број на продуктивни братимки и должина на клас, додека во рамките на втората група спаѓаат својствата: број на зрна и висина на стебло.

Анализата на дендограмот покажа формирање на јасни групи и врски меѓу трите видови на пченица и испитуваните линии добиени со нивно вкрстување. Дендограмот овозможи раздвојување на родителите и нивните линии во четири главни кластери со изразена меѓусебна оддалеченост според анализираните морфолошки својства. Притоа вариететот од видот *Triticum dicoccum* не припаѓа во ниту една група и се издвојува како посебен. Издвојувањето на *dicoccum* црвен како посебен укажува на значителна генетска дивергенција како од меката така и од тврдата пченица, што го одразува неговиот посебен еволутивен процес и неговата посебната генетска структура.

Интересно е што, претставниците на мека пченица, сортата *скопјанка* и линијата MT/6 се наоѓаат во различни групи. Нивното присуство во различни кластери, односно разликите на морфолошките својства помеѓу нив настанале како резултат на различните насоки при нивната селекција. Спротивно, сортите на тврдата пченица *мина* и *ива* се наоѓаат во истата група поради присуство на генетска сличност помеѓу нив. Ова генетска сличност може да се објасни со помалку интензивната селекција која се врши кај сортите на тврда пченица во споредба со сортите на мека пченица, што резултира со помала генетска варијација и нивно групирање во ист кластер. Сепак, присуството на сортите на тврда пченица во посебен кластер од претставниците на мека пченица ја нагласува генетската диференцијација помеѓу овие два вида на пченица, и покрај нивната блиска поврзаност.

Дендрограмот покажа одредена сличност помеѓу третиот и четвртиот кластер. Од друга страна, беше забележана многу голема дистанца помеѓу овие два кластери со првиот и вториот кластер. Родителите и нивните линии припаѓаат во различни кластери со значителна генетска дистанца, што укажува дека хибридизацијата помеѓу трите вида на пченица овозможило создавање на генетски оддалечени хибридни генотипови.

Кај генотиповите на пченица кои се групирани во истата група, генерално се забележува слично потекло, односно се забележува дека овие генотипови со слични морфолошки својства имаат или еден или два заеднички родители.. Вкрстувањата на таксономски подивергентни родители резултираа со формирање на хибридни генотипови који имаа поголема генетска варијација за важни агрономски особини во споредба со вкрстувањата на поблиски родители.

Покрај тоа, некои линии значително се разликуваа од нивните родители. Така, во втората група беа идентифицирани линии, кои се карактеризираа со поголеми вредности за број на зрно и масата на зрна од нивните родители и претставуваат нов значаен извор на фенотипска варијација. Според Mehari и сор., (2015), колку е поголемо генетското растојание помеѓу родителите, толку е поголема веројатноста за појава на хетерозис и поголема генетичка варијабилност во сегрегираните генерации.

Нашите истражувања покажаа дека морфолошките својства кај анализираните линии добени со меѓувидово вкрстување не претставуваат само интермедиерни фенотипски

вредности, туку комплексно комбинирање на морфолошки својства наследени од двата родител. Дополнително, дел од линиите покажаа екстремни вредности за одделни морфолошките својства, што е во согласност и со резултатите од други истражувања (Abbott и сор., 2013).

Генерално, со анализата на дендрограмот на *Triticum aestivum*, *Triticum durum* и *Triticum dicoccum* беше утврдено различно групирање за секој вид, што ја нагласува значајната генетска диференцијација меѓу нив. Оваа јасна поделба укажува дека секој вид поседува уникатни генетски карактеристики кои се одржувале преку еволутивните процеси и селекција на пченицата. Посебното групирање на меката пченица, најверојатно се должи на нејзината хексаплоидна природа и долгата историја на одгледување за различни морфолошки особини. Слично, тврдата пченица, првенствено одгледувана за производство на тестенини, формира посебен кластер, што го одразува нејзиниот тетраплоиден геном и селекција за особини како што се висока содржина на протеини и еластичност на глутенот. Двозрнестиот лимец, кој е помалку култивиран вид, исто така се групира независно, што укажува на зачувување на неговиот уникатен генетски идентитет.

Разликите утврдени во ова истражување, покрај нивното значење за систематиката на родот *Triticum*, можат да бидат корисни и за конзервација на биолошкиот диверзитет на овој вид, како и за нивна примена во селекционите програми. Јасната дистинкција меѓу испитуваните видови ја нагласува важноста од одржување и искористување на оваа разновидност за да се задоволат растечките барања за производство на пченица во различни услови на животната средина.

6.4 Анализа на микросателитските локуси

6.4.1 Детерминација на полиморфизмот на микросателитски локуси кај испитуваните генотипови

Покрај анализите на морфолошките својства, употребата на молекуларни маркери е исто така важна за одредување на систематската припадност на растителниот материјал, чија ефикасност и доверливост се засниваат врз можноста за директно и брзо детектирање на варијабилноста на генотиповите, при што е исклучено влијанието на факторите на

животната средина. Така, по морфолошката карактеризација, беа избрани 50 генотипови за понатамошна молекуларна анализа со 10 микросателитски маркери. Песетте генотипови беа избрани врз основа на резултатите од конструираниот дендрограм, при што изборот беше направен така што беа опфатени претставници од сите формирани кластери и поткластери. На овој начин се обезбеди репрезентативен примерок што ја одразуваше целокупната морфолошка варијабилност на анализираниот материјал.

Табела 15. Анализираниите микросателитски маркери со број на откриени алели на ниво на тестираните генотипови на пченица, забележана хетерозиготност и очекувана хетерозиготност, PIC

Бр	Микросателитски маркер	Хромозомска локација	Очекувана големина на алел (bp)	Број на алели	Ho	He	PIC
1	Xgwm294	2A	67-99	3	0,03	0,60	0,59
2	Xwmc264	3A	133-141	6	0,03	0,59	0,60
3	Xcfd15	1A	161-177	3	0,02	0,20	0,75
4	Xbarc151	5AL	214-246	6	0,01	0,79	0,74
5	Xgwm408	6B	155—189	3	0,02	0,59	0,61
6	Xgwm257	2B	195-199	3	0,05	0,50	0,53
7	Xwmc89	4B	125-179	9	1	0,67	0,85
8	Xbarc84	3BL	105-129	4	0,98	0,63	0,62
9	Xcfd65	1D	156-202	5	0,82	0,72	0,70
10	Xgwm642	7D	168-199	6	1	0,47	0,69
Вкупно				48			
Просечна вредност				4.8	0,39	0,51	0,66

Бројот на регистрирани алелни варијанти за следените микросателитски локуси кај сите анализирани генотипови е прикажан во Табела 15. Најголем број на алелни варијанти (9) во однос на сите испитувани генотипови, беше забележан на Xwmc89 локусот. По шест алелни варијанти беа забележани на локусите Xwmc264, Xbarc151, Xgwm642, пет алелни варијанти беа забележани на локусот Xcfd65, четири на локусот Xbarc84 и само три беа забележани на локусите Xgwm294, Xcfd15, Xgwm408, и Xgwm257. Просечниот број на забележани алели за сите микросателитски локуси кај сите испитувани генотипови пченица изнесуваше 4.8. Слични резултати за бројот на алели по локус (4-8) користејќи 10 микросателитски маркери во молекуларна анализа на 29 генотипови пченица се добиени од

страна на Sönmezoğlu и Terzi (2018). Сепак, Roussel и сор. (2005) утврдиле дека европските сорти на пченица имаат просечно 16 алели по локус. Висока вредност на просечен број на алели по локус (18.1), утврдиле Huang и сор. (2002) користејќи 26 микросателитски маркери во анализа на 998 генотипови на мека пченица од 68 држави.

Во ова истражување просечниот број на забележани алели по микросателитски локус изнесуваше 4.8, и кај релативно малиот број анализирани генотипови со релативно мал број на микросателитски маркери, и може да се заклучи дека анализираните генотипови претставуваат извор на биолошка разновидност.

6.4.2 PIC-тест, забележана и очекувана хетрозиготност

PIC-тестот (*Polymorphism information content*) ја одредува информативноста на полиморфноста на микросателитските локуси и како таков е неопходен во анализите за одредување на адекватноста на применетите микросателитски локуси во детерминацијата на генетската различност на таксоните. Според Serrote и сор. (2020) информацијата за содржината на полиморфизмот на даден локус (PIC) е параметар кој е условен од бројот на алелите, но и од алелната фреквенција. Доколку алелите не се правилно дистрибуирани во геномот, локусот со најголем број на алели не значи дека треба да има најголема PIC-вредност. Во овие истражувања, PIC-тестот укажа на различна информативност на применетите микросателитски локуси кај испитуваните генотипови пченица (Таб. 15). Најмалата просечна вредност на PIC во однос на сите испитани генотипови беше забележана за локусот Xgwm257 (0.53), а најголемата за локусот Xwmc89 (0.85). Просечната вредност на PIC за сите десет микросателитски локуси изнесуваше (0.66) и според класификацијата на Botstein и сор. (1980), сите испитувани микросателитски локуси припаѓаат на групата високо информативни маркери. Овие резултати со просечна вредност на PIC од 0,66 укажуваат на високо ниво на полиморфност и значителна генетска варијабилност меѓу анализираните генотипови. Полиморфноста на микросателитските локуси беше очекувана, бидејќи како материјал за истражувањата се користени три различни видови пченица од родот *Triticum* со различна геномска и хромозомска структура.

Забележаната хетерозиготност (H_o) се движеше од 0,01 за локусот $Xbarc151$ до 1 за локусот $Xwmc89$ и локусот $Xgwm642$ (Таб. 15) со просечна вредност од (0.39). Очекувана хетерозиготност (H_e), т.е. генетски диверзитет се движеше од 0,20 за локусот $Xcfd15$ до 0,79 за локусот $Xbarc151$ додека просечна вредност за сите испитани локуси беше 0,51. Овие резултати не отстапуваат значително од резултатите добиени од Chen и сор. (2012), кои при анализа на кинески сорти мека пченица со SSR маркери утврдиле високо ниво на очекувана хетерозиготност (околу 0,56).

Од резултатите на просечната очекувана хетерозиготност (H_e) и просечната забележана хетерозиготност (H_o) во однос на сите испитувани генотипови пченица, беше констатирано дека за поголемиот број на микросателитски локуси ($Xgwm294$, $Xwmc264$, $Xcfd15$, $Xbarc151$, $Xgwm408$ и $Xgwm257$) забележаната хетерозиготност има помала вредност од очекуваната хетерозиготност, што укажува на намалено ниво на хетерогеност кај испитуваните генотипови. Кај четири микросателитски локуси ($Xwmc89$, $Xbarc84$, $Xcfd65$ и $Xgwm642$) забележаната хетерозиготност има поголема вредност од очекуваната хетерозиготност, што укажува на зголемено ниво на хетерогеност кај испитуваните генотипови.

Врз основа на добиените резултати од истражувањето, може да констатираме дека кај десетте микросателитските маркери постои високо ниво на полиморфизам кај проучуваните генотипови. Затоа овие микросателитски маркери може да се употребат во анализа на генетската варијабилност, одредување на генетска дистанца, како и за воспоставување на генетска сличност меѓу испитуваните видови на пченица.

6.4.3 Алелни варијанти, алелни фреквенции на анализираните микросателитски локуси кај сите анализирани генотипови

Генетската размена помеѓу видовите на родот *Triticum* преку хибридизација има клучна улога во еволуцијата и доместификацијата на пченицата. Алелниот состав на микросателитските локуси кај испитуваните линии ја рефлектира генетската размена помеѓу видовите. Ова размена може да резултира со комбинација на алели од родителите или со присуство на нови алелни варијанти.

6.4.3.1 Алелни варијанти, алелни фреквенции на локусот Xgwm294

Со фрагмент анализите на Xgwm294 локусот (Прилози сл. 15-17) беа забележани 3 алелни варијанти (67-93-99 bp). На истиот микросателитски локус, Musilová и сор. (2013) забележале 4 различни алели кај испитуваните генотипови на мека пченица, El-Rawy и сор. (2021) забележале 2 алели кај генотипови на мека и тврда пченица, Sönmezoğlu и сор. (2012) регистрале 5 различни алели, додека Kondić и сор. (2016) регистрирале 10 алелни варијанти кај култивираната пченица и 13 алелни варијанти кај диворастечки сродници на пченица.

Од податоците изнесени во Табела 16 може да се констатира дека алелната варијанта од 67 bp на Xgwm294 локусот се јавува кај 23 испитувани генотипови, алелната варијанта од 99 bp е откриена кај 21 генотип, додека алелната варијанта од 93 bp е откриена само кај 7 од анализираните генотипови. Најголемата алелна фреквенија (0.45) (Слика 6), беше констатирана за алелната варијанта со големина 67 bp. Алелната варијанта од 99 bp имаше алелна фреквенија од 0.41, додека алелната варијанта од 93 bp имаше најмала алелна фреквенција (0.14).

Табела 16. Алелни варијанти на локусот Xgwm294

Локус Xgwm294			
Алелни варијанти	67 bp	93 bp	99 bp
Генотипови	10/2, 10/3, 10/6, 10/7, 12/1, 13/1, 14/1, 19/1, 19/3, 19/4, 20/4, 20/5, 20/9, 4/1, 4/2, 4/4, 4/5, 4/6, 7/4, 8/1, 9/3, <i>dicocum црвен, ива</i>	11/3, 15/3, 2/2, 2/3, 9/2, <i>скопјанка, МТ 6/2</i>	1/3, 1/4, 1/5, 16/3, 3/10, 3/11, 3/13, 3/3, 3/5, 3/6, 3/8, 3/9, 5/3, 6/3, 6/6, 6/7, 7/2, 7/6, 9/1, 9/3, <i>мина</i>
Вкупно	23	7	21

6.4.3.2 Алелни варијанти, алелни фреквенции на локусот Xwmc264

Со фрагмент-анализите на локусот Xwmc264 беа забележани 6 алелни варијанти (126, 133, 134, 136, 138 и 141 bp) (Прилози сл. 18-23). Кај овој микросателитски локус беа забележани две специфични алелни варијанти (133 и 136 bp). Алелната варијанта 133 bp

беше забележана кај генотипот 11/3, додека алелната варијанта 136 bp кај генотипот 9/2 (Таб. 17).

Во процесот на хибридизација, на различни видови пченица, е зголемена геномската нестабилност, што доведува до формирање на специфични микросателитски алелни варијанти кои се разликуваат од оние што се наоѓаат кај родителите. Овие разлики во големината на алелните варијанти се резултат на различни генетски механизми. Генетските механизмите со кои може да се објасни формирањето на овие специфични алелни варијанти се лизгањето на ДНК полимеразата при репликација на ДНК (Oliveira и сор., 2006) нееднаквиот crossing over за време на рекомбинација (Hongshen и сор., 2022) и мутациите (Raquin и сор., 2008).

Од податоците прикажани во табела 17 беше констатирано дека алелната варијанта од 126 bp се јавува кај три, алелната варијанта 134 bp кај 5, алелната варијанта 138 bp кај 12 и алелната варијанта 141 bp кај 29 испитувани генотипови. Алелните фреквенции на овој микросателитски локус се прикажани во Слика 6. Најголемата алелна фреквенција (0.55) беше констатирана за алелната варијанта со големина 141 bp. Алелната варијанта од 138 bp имаше алелна фреквенција од 0.28, алелната варијанта од 134 bp имаше алелна фреквенција од 0.1, додека алелната варијанта од 126 bp имаше алелна фреквенција од 0.04. Фреквенциите на специфичните алелни варијанти 136 bp и 133 bp имаа вредност 0.01 односно 0.02.

Табела 17. Алелни варијанти на Xwmc264

Локус Xwmc264						
Алелни варијанти	126 bp	133 bp	134 bp	136 bp	138 bp	141 bp
Генотипови	7/2, 7/6, <i>мина</i>	11/3	10/2, 10/3, 10/6, 10/7, <i>дисосит црвен</i>	9/2	12/1, 13/1, 1/3, 14/1, 1/4, 15/3, 1/5, 16/3, 9/1, 9/3, <i>скопјанка</i> , <i>МТ 6/2</i>	19/1, 19/3, 19/4, 20/4, 20/5, 20/9, 2/2, 2/3, 3/10, 3/11, 3/13, 3/3, 3/5, 3/6, 3/8, 3/9, 4/1, 4/2, 4/4, 4/5, 4/6, 5/3, 6/3, 6/6, 6/7, 7/4, 7/6, 8/1, <i>ива</i>
Вкупно	3	1	5	1	12	29

На истиот микросателитски локус Kondić и сор. (2016), регистрирале 10 алелни варијанти кај култивираната пченица и дури 14 алелни варијанти кај диворастечките сродници на пченица.

6.4.3.3. Алелни варијанти, алелни фреквенции на локусот Xgwm408

Во овие истражувања на локусот Xgwm408 беа забележани три алелни варијанти со големина од 155, 187 и 189 bp (Прилози сл. 24-26). На истиот микросателитски локус El-Rawy и сор. (2021) забележале 5 различни алели кај сортите на мека и тврда пченица, додека Salem и сор. (2015) регистрирале 4 алели кај генотиповите на мека пченица.

Алелната варијанта 155 bp се јавува кај 7, алелната варијанта 187 bp се јавува кај 17, додека алелната варијанта 189 bp се јавува кај 24 анализирани генотипови (Табела 18). Најголема алелна фреквенција (0.52) беше забележана кај алелната варијанта 189 bp, проследено од алелната варијанта 187 bp со алелна фреквенција од 0.41 и алелната варијанта 155 bp со алелна фреквенција 0.07 (Слика 7).

Табела 18. Алелни варијанти на локусот Xgwm408

Локус Xgwm408			
Алелни варијанти	155 bp	187 bp	189 bp
Генотипови	6/3, 6/7, 7/2, 7/4, 7/6, 8/1, <i>мина</i>	11/3, 1/3, 14/1, 1/4, 15/3, 1/5, 16/3, 4/1, 4/2, 4/4, 4/5, 4/6, 9/1, 9/2, 9/3, <i>скопјанка</i> , <i>MT 6/2</i>	10/2, 10/3, 10/6, 10/7, 12/1, 13/1, 19/1, 19/3, 19/4, 20/4, 20/5, 20/9, 2/2, 2/3, 3/10, 3/11, 3/13, 3/5, 3/6, 3/8, 5/3, 6/6, <i>ива</i> , <i>disocut црвен</i>
Вкупно	7	17	24

6.4.3.4 Алелни варијанти, алелни фреквенции на локусот Xcfd15

Во истражувањата на локусот Xcfd15 беа регистрирани 3 алели (Прилози сл. 27-29). Големината на алелните варијанти беше 161-163-177 bp. На истиот микросателитски локус Dinkar и сор., (2020) исто така забележале три алелни варијанти (168,180,200 bp) кај испитуваните генотипови на мека пченица.

Од податоците прикажани во Табела 19, беше констатирано дека алелната варијанта 161 bp на локусот Xcfd15 се јавува кај 12, алелната варијанта 163 bp кај 36 и алелната варијанта 177 bp кај 2 анализирани генотипови. Според резултатите прикажани во слика 7 најголема алелна фреквенција има алелната варијанта 163 bp (0.51), проследено од алелната варијанта 161 bp (0.47), додека алелната варијанта 177 bp претставува ретка алелна варијанта бидејќи се карактеризира со мала фреквенција од 0.02.

Табела 19. Алелни варијанти на локусот Xcfd15

Локус Xcfd15			
Алелни варијанти	161 bp	163 bp	177 bp
Генотипови	10/3, 10/6, 10/7, 6/7, 11/3, 15/3, 3/11, 5/3, 6/3, 6/7, 7/2, ива	12/1, 13/1, 1/3, 14/1, 1/4, 1/5, 16/3, 19/1, 19/3, 19/4, 20/4, 20/5, 20/9, 2/2, 2/3, 3/11, 3/13, 3/3, 3/5, 4/1, 4/2, 4/4, 4/5, 4/6, 5/3, 6/3, 6/6, 6/7, 7/2, 9/1, 9/2, 9/3, мина, МТ 6/2, ива, скопјанка,	дисосит црвен, мина
Вкупно	12	36	2

6.4.3.5 Алелни варијанти, алелни фреквенции на локусот Xbarc151

Со фрагмент анализите на на локусот Xbarc151 беа забележани 6 алелни варијанти (214, 216, 218, 242, 244, 246 bp) (Прилози сл. 30-35). Од овие алелни варијанти алелната варијанта 218 bp и 244 bp претставуваа специфични алелни варијанти на испитуваните линии. На истиот микросателитски локус Soriano и сор (2016) забележале 4 алели кај култивираниите сорти на тврда пченица, додека пак Türkoğlu и сор.(2023) две различни алели кај генотиповите на мека пченица.

Од податоците прикажани во Табела 20 може да се констатира дека алелната варијанта 214 bp на локусот Xbarc151 се јавува само кај 4 анализирани генотипови. Алелната варијанта 216 bp беше забележана кај 13, алелната варијанта 218 bp кај 14 и алелната варијанта 246 bp беше забележана кај 7 испитувани генотипови. Кај само два анализирани генотипови е забележана алелната варијанта 242 bp,

Алелните фреквенции на овој микросателитски локус се прикажани во Слика 8. Најголемата алелна фреквенија (0.42) беше констатирана за алелните варијанти 216 и 218 bp. Алелна фреквенија од 0.1 беше утврдена за алелната варијанта 244 bp. Другите алелни варијанти претставуваа ретки алели со алелна фреквенија од 0.03 за алелната варијанта 246 bp, 0.02 за алелната варијанта 214 bp и 0.01 за алелната варијанта 242 bp. Генерално алелите чија фреквенција е помала од 5% се сметаат за ретки алели кај популациите на пченица (Dagnaw и сор., 2023). Овие алели можат да дадат вредни сознанија за биолошката разновидност, систематска припадност и еволутивните процеси на пченица.

Табела 20. Алелни варијанти на локусот Xbarc151

Локус Xbarc151						
Алелни варијанти	214bp	216 bp	218 bp	242 bp	244 bp	246 bp
Генотипови	10/3, 10/6, 10/7, <i>disoccut</i> <i>црвен</i>	10/2, 20/4, 20/9, 2/2, 2/3, 4/1, 4/2, 4/4, 4/5, 7/4, 8/1, <i>мина</i> , <i>ива</i>	3/10, 3/11, 3/13, 3/3, 3/5, 3/6, 3/8, 3/9, 5/3, 6/3, 6/6, 6/7, 7/2, 7/6,	4/6, <i>MT</i> 6/2	11/3, 12/1, 13/1, 14/1, 15/3, 16/3, 19/1, 19/3, 19/4, 20/5,	1/3, 1/4, 1/5, 9/1, 9/2, 9/3, <i>скопјанка</i>
Вкупно	4	13	14	2	10	7

6.4.3.6 Алелни варијанти, алелни фреквенции на локусот Xgwm257

Со фрагмент анализите на Xgwm257 локусот (Прилози сл. 36-38) беа забележани 3 алелни варијанти (195-197-199 bp). На истиот микросателитски локус Jabari и сор. (2023) забележале 7 различни алели кај испитуваните диворастечки представници на пченица, Кутаг и сор. (2016) забележале 2 алела кај генотипови на мека и 3 алели кај генотипови

на тврда пченица, додека а Sönmezoğlu и сор. (2012) регистрале 6 различни кај анализираните генотипови на тврда пченица.

Од податоците изнесени во Табела 21 може да се констатира дека алелната варијанта од 197 bp на Xgwm257 локусот се јавува кај 29 од испитуваните генотипови, алелната варијанта од 199 bp е откриена во 20 од генотиповите, додека алелната варијанта од 195 bp е откриена само кај 2 од анализираните генотипови. Најголемата алелна фреквенција (0.52) (Слика 8) беше констатирана за алелната варијанта со големина 197 bp. Алелната варијанта од 199 bp имаше алелна фреквенција од 0.45, додека алелната варијанта од 195 bp имаше најмала алелна фреквенција (0.03).

Табела 21. Алелни варијанти на локусот Xgwm257

Локус Xgwm257			
Алелни варијанти	195 bp	197 bp	199 bp
Генотипови	16/3, мина	10/2, 10/3, 10/6, 10/7, 11/3, 1/5, 2/2, 2/3, 3/10, 3/11, 3/13, 3/3, 3/5, 3/6, 3/8, 3/9, 4/6, 5/3, 6/3, 6/6, 6/7, 7/2, 7/4, 7/6, 8/1, 9/1, 9/3, ива, disoccut црвен,	12/1, 13/1, 1/3, 14/1, 1/4, 15/3, 19/1, 19/3, 19/4, 20/4, 20/5, 20/9, 4/1, 4/2, 4/4, 4/5, 9/1, 9/2, скопјанка, МТ 6/2
Вкупно	2	29	20

6.4.3.7. Алелни варијанти, алелни фреквенции на локусот Xwmc89

Во спроведеното истражување, меѓу десетте микросателитски маркери е користен и маркерот Xwmc89 кој се наоѓа во локусот Xwmc89 на хромозомот 4В и е поврзан со QTL (Quantitative Trait Loci), за принос при сушни услови (Mohi-Ud-Din и сор., 2022). Со фрагмент анализите на локусот Xgwm257 (Прилози сл. 39-45) беа утврдени 9 алелни варијанти (125-127-129-131-145-147-175-177-179 bp), од кои алелните варијанти 147 и 179 bp претставуваа специфични алелни варијанти забележани кај испитуваните линии.

Од податоците прикажани во табела 22 беше констатирано дека алелната варијанта од 125 bp се јавува кај 13, алелната варијанта 127 bp кај 34, алелната варијанта 129 bp кај 2, алелната варијанта 177 bp кај еден и алелната варијанта 131 bp кај 27 испитувани

генотипови. За вкупно 32 генотипови беше утврдено присуство на алелната варијанта 145bp, додека за 14 генотипови беше утврдено присуство на алелната варијанта 175 bp. Специфичната алелна варијанта 147 bp се јавува кај генотипот 4/2, додека другата специфична варијанта 179bp беше забележано кај генотиповите 11/3 и 15/3.

Алелните фреквенции на овој микросателитски локус се прикажани во Слика 9. Најголемата алелна фреквенија (0.27) беше констатирана за алелната варијанта со големина 127 bp. Алелната варијанта од 145 bp имаше алелна фреквенија од 0.25, алелната варијанта од 131bp имаше алелна фреквенција од 0.21, додека алелната варијанта од 175 bp имаше алелна фреквенија од 0.11. Алелната варијанта од 125 bp покажа алелна фреквенција од 0.10. Алелните фреквенции на ретките аели беа 0.01 за алелните варијанти од 147 и 177 bp и 0.02 за алелните варијанти од 129 и 179 bp.

Табела 22. Алелни варијанти на локусот Xwmc89

Локус Xwmc89									
Алелни варијанти	125 bp	127bp	129bp	131bp	145bp	147bp	175bp	177bp	179bp
Генотипови	1/3, 1/4, 1/5, 16/3, 4/2, 5/3, 6/3, 6/6, 7/2, 7/4, 8/1, 9/3, мина	10/3, 10/6, 10/7, 11/3, 12/1, 13/1, 14/1, 15/3, 19/1, 19/3, 19/4, 20/4, 20/5, 20/9, 2/2, 2/3, 3/10, 3/11, 3/13, 3/3, 3/5, 3/6, 3/8, 3/9, 4/1, 4/4, 4/5, 4/6, 6/7, 9/1, 9/2, ива, скопјанка, MT 6/2	<i>dicoccut</i> <i>црвен</i> , 10/2	11/3, 12/1 13/1, 1/5 14/1, 1/4 15/3, 1/5 16/3, 19/1 19/3, 19/4 20/4, 20/5 20/9, 2/2, 2/3, 4/1, 4/2, 4/4, 4/5, 4/6, 9/1, 9/2, 9/3, MT 6/2 скопјанка,	10/2, 10/3, 10/6, 10/7, 13/1, 14/1, 19/1, 19/3, 19/4, 20/4, 20/5, 20/9, 2/2, 2/3, 3/10, 3/11, 3/13, 3/3, 3/5, 3/6, 3/8, 3/9, 5/3, 6/3, 6/6, 6/7, 7/2, 7/4, 8/1, 9/1, мина, ива	4/2	12/1, 1/3, 1/4, 1/5, 16/3, 4/1, 4/2, 4/4, 4/5, 4/6, 9/2, 9/3, скопјанка, MT 6/2	<i>dicoccut</i> <i>црвен</i>	11/3, 15/3
Вкупно	13	34	2	27	32	1	14	1	2

6.4.3.8 Алелни варијанти, алелни фреквенции на локусот Xbarc84

Во овие истражувања на локусот Xbarc84 беа забележани 4 алелни варијанти со големина од 105, 120, 126 и 129 bp. (Прилози сл. 46-48). На истиот микросателитски локус

El-Rawy и сор. (2021) забележале 4 различни алелни варијанти кај сортите на мека и 5 алелни варијанти кај сорти на тврда пченица.

Алелната варијанта 105 bp е утврдено кај 47, алелната варијанта 120 bp кај 16 и алелната варијанта 126 bp кај 31 анализирани генотипови. Ретката алелна варијанта 129 bp се јавува само кај еден генотип (Табела 23). Најголема алелна фреквенција (0.43) беше забележана кај алелната варијанта 105 bp, потоа алелната варијанта 126 bp со алелна фреквенција од 0.33, алелната варијанта 120 bp со алелна фреквенција 0.23 и алелната варијанта 129 bp со алелна фреквенција од 0.01 (Слика 9).

Табела 23. Алелни варијанти на локусот Xbarc84

Локус Xbarc84				
Алелни варијанти	105bp	120bp	126 bp	129 bp
Генотипови	10/3, 10/6, 10/7, 11/3, 12/1, 13/1, 1/3, 14/1, 1/4, 15/3, 1/5, 16/3, 19/1, 19/3, 19/4, 20/4, 20/5, 20/9, 3/10, 3/11, 3/13, 3/3, 3/5, 3/6, 3/8, 3/9, 4/1, 4/2, 4/4, 4/5, 4/6, 5/3, 6/3, 6/6, 6/7, 7/2, 7/4, 7/6, 8/1, 9/1, 9/2, 9/3, мина, ива, скопјанка, МТ 6/2, discoscut црвен	10/2, 19/1, 19/3, 7/2, 20/4, 20/5, 20/9, 3/10, 3/11, 3/13, 3/3, 3/5, 3/6, 3/8, 3/9, ива	10/3, 10/6, 10/7, 11/3, 12/1, 13/1, 1/3, 14/1, 1/4, 15/3, 1/5, 16/3, 19/1, 4/1, 4/2, 4/4, 4/5, 4/6, 5/3, 6/3, 6/6, 6/7, 7/4, 7/6, 8/1, 9/1, 9/2, 9/3, мина, скопјанка, МТ 6/2	discoscut црвен
Вкупно	47	16	31	1

6.4.3.9 Алелни варијанти, алелни фреквенции на локусот Xcfd65

Со фрагмент-анализите на локусот Xcfd65 беа забележани 5 алелни варијанти (156, 164, 166, 198 и 202 bp) (Прилози сл. 49-52). На истиот микросателитски локус Salem и сор.(2015) забележале 7 различни алели,

Од податоците прикажани во табела 24 беше констатирано дека алелната варијанта од 156 bp се јавува кај 11, алелната варијанта 164 bp кај 8, алелната варијанта 166 bp кај 13,

алелната варијанта 198 bp кај 2 и алелната варијанта 202 bp кај 23 испитувани генотипови. Алелните фреквенции на овој микросателитски локус се прикажани во Слика 10. Најголемата алелна фреквенција (0.45) беше констатирана за алелната варијанта со големина 202 bp. Алелната варијанта од 156 bp имаше алелна фреквенција од 0.19, алелната варијанта од 164 bp имаше алелна фреквенција од 0.13, додека алелната варијанта од 166 bp имаше алелна фреквенција од 0.21. Фреквенцијата на ретката алелна варијанта 198 bp имаше вредност од 0.02.

Табела 24. Алелни варијанти на локусот Xcfd65

Локус Xcfd65					
Алелни варијанти	156bp	164 bp	166 bp	198 bp	202 bp
Генотипови	9/1, 9/2, 1/5, 2/2, 9/3, 20/4, 20/9, 4/5, 4/6, 12/1, 13/1	19/1,19/3, 19/4, 20/9, 4/1, 4/2, 4/4, 9/3	11/3, 13/1, 1/3, 14/1, 1/4, 15/3, 1/5, 16/3, 9/1, 20/5, 2/3, <i>MT6/2 скопјанка,</i>	11/3, 19/3,	12/1, 13/1, 1/3, 14/1, 1/4, 15/3, 1/5, 16/3, 19/1, 19/4, 20/4, 20/5, 20/9, 2/2, 2/3, 4/1, 4/2, 4/5, 4/6, 9/2, 9/3. <i>MT6/2, скопјанка,</i>
Вкупно	11	8	13	2	23

6.4.3.10. Алелни варијанти, алелни фреквенции на локусот Xgwm642

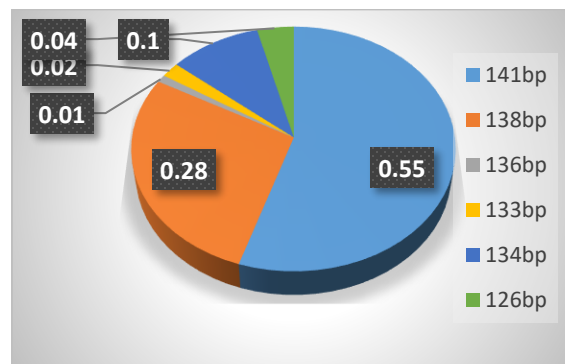
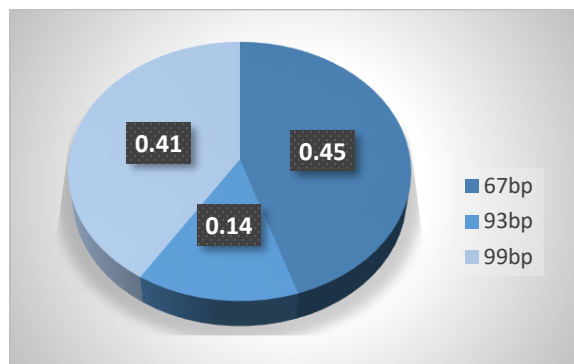
Со фрагмент анализите на на локусот Xgwm642 беа забележани 6 алелни варијанти (168, 179, 187, 193, 197, 199 bp), (Прилози сл. 53-56). Алелните варијанти 193, 197 и 199 bp претставува специфични алелни варијанти за овој локус. На истиот микросателитски локус Türkoğlu и сор.(2023) забележале 5 алели кај култивирани сорти на мека пченица.

Од податоците прикажани во Табела 25 може да се констатира дека алелната варијанта 168b p на локусот Xgwm642 беше забележана кај 29 анализирани генотипови. Алелната варијанта 179 bp беше забележана кај 23 и алелната варијанта 187 bp беше забележана кај 26 испитувани генотипови. Алелните варијанти 193 bp, 197 bp и 199 bp беа откриени кај еден генотип.

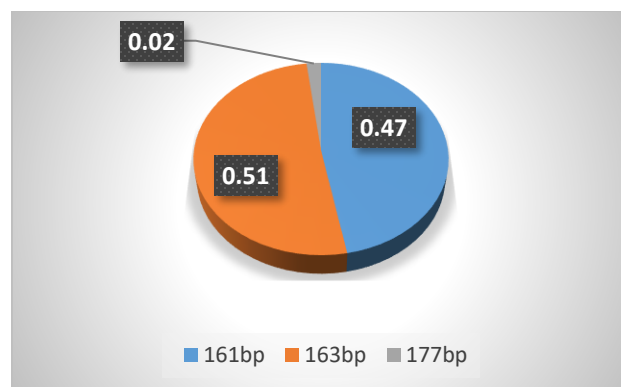
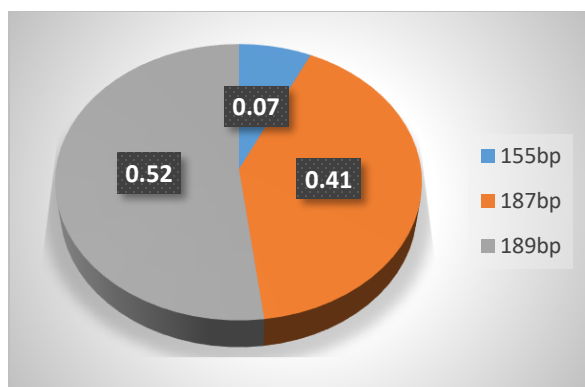
Алелните фреквенции на овој микросателитски локус се прикажани во Слика 10. Алелна фреквенија од 0.42 беше констатирана за алелната варијанти 168 bp, 0.14 за алелната варијанта 179 bp и 0.40 за алелната варијанта 187 bp. Другите алелни варијанти претставуваа ретки алели со алелна фреквенија од 0.01 за алелните варијанти 197 bp, 199 bp и 0.02 за алелната варијанта 193 bp.

Табела 25. Алелни варијанти на локусот Xgwm642

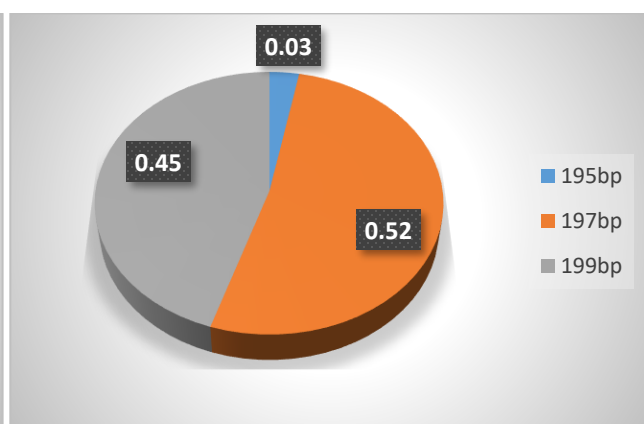
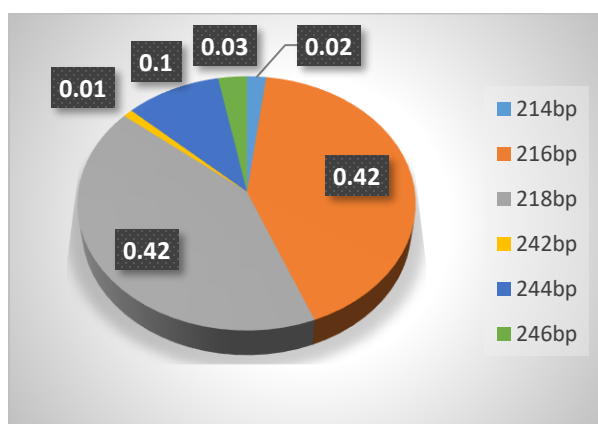
Локус Xgwm642						
Алелни варијанти	168bp	179 bp	187 bp	193 bp	197bp	199bp
Генотипови	11/3,12/1,13/1, 1/3, 14/1, 1/4, 15/3, 1/5, 16/3, 19/1,19/3,19/4, 20/4,20/5,20/9, 2/2, 2/3, 3/10, 4/1, 4/2, 4/4, 4/5, 4/6, 5/3, 9/1, 9/2, 9/3, MT 6/2 <i>скопјанка</i>	1/3, 14/1, 1/4, 15/3, 1/5, 16/3, 19/4, 20/4,20/5, 20/9, 2/2, 2/3, 3/10, 4/1, 4/2, 4/4, 4/5, 4/6, 5/3, 9/1, 9/2, MT 6/2, <i>скопјанка</i>	12/1, 13/1, 14/1, 16/3, 1/4, 15/3, 19/1, 19/3, 19/4, 20/4, 1/3, 1/5, 20/5, 20/9, 2/2, 2/3, 4/1, 4/2, 4/4, 4/5, 4/6, 9/1, 9/2, 9/3, MT 6/2, <i>скопјанка</i>	11/3	9/3	12/1
Вкупно	29	23	26	1	1	1



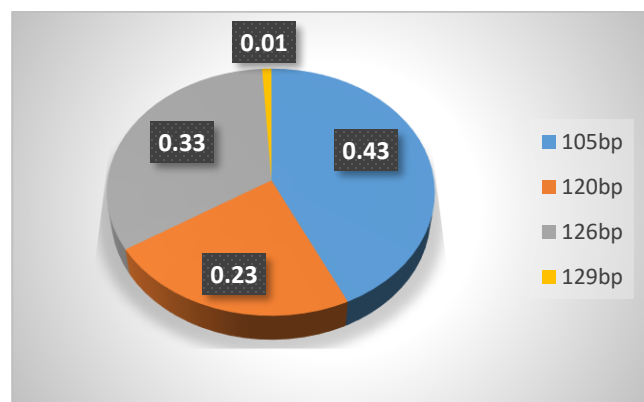
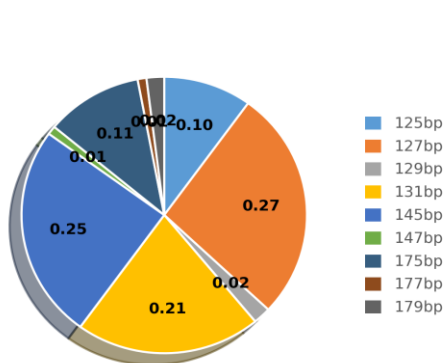
Слика 6. Алелни варијанти и нивни фреквенции за локусот Xgwm294 (лево) и локусот Xwmc264 (десно)



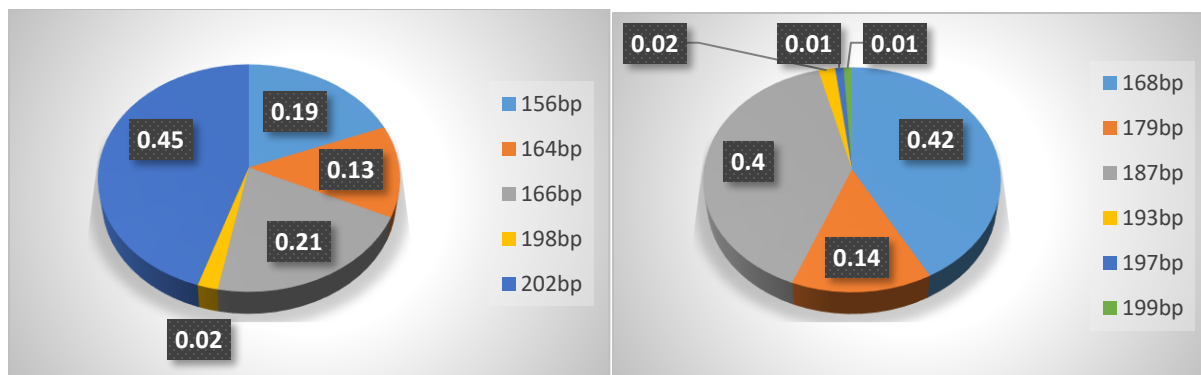
Слика 7. Алелни варијанти и нивни фреквенции за локусот Xgwm408 (лево) и локусот Xcfd15 (десно)



Слика 8. Алелни варијанти и нивни фреквенции за локусот Xbarc151(лево) и локусот Xgwm257 (десно)



Слика 9. Алелни варијанти и нивни фреквенции за локусот Xwmc89 (лево) и локусот Xbarc84 (десно)

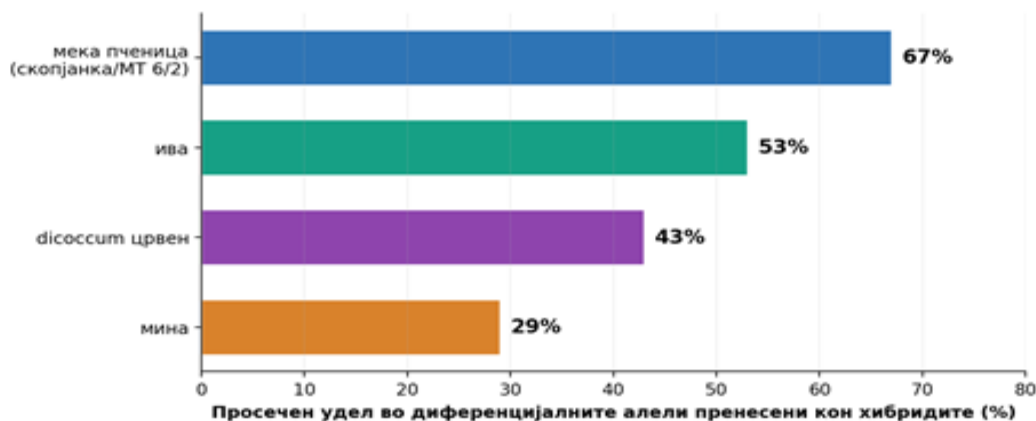


Слика 10. Алелни варијанти и нивни фреквенции за локусот Xcfd65(лево) и локусот Xgwm642(десно)

Врз основа на добиените резултати од нашето истражување може да се констатира дека кај родителските генотипови од мека пченица, тврда пченица и *dicossum* црвен, како и кај нивните линии, е утврдена значителна алелна варијабилност на десетте анализирани микросателитски локуси. Алелниот состав на овие локуси ја одразува генетската размена меѓу трите вида. Кај испитуваните линии беа забележани алелни комбинации наследени од едниот или од двата родитела, но и специфични, неродителски алелни варијанти кои произлегуваат од хибридната природа на геномот и претставуваат рекомбинантни или мутантни комбинации. Такви специфични варијанти, отсутни кај сите родителски форми, беа регистрирани на локусите wmc264 (133 bp кај линијата 11/3 и 136 bp кај 9/2), wmc89 (147 bp кај 4/2 и 179 bp кај 11/3 и 15/3), barc151 (218 и 244 bp), gwm642 (193, 197 и 199 bp кај линиите 11/3, 3/3 и 12/1, соодветно) и cfd65 (198 bp кај 11/3 и 200 bp кај 4/4). Појавата на овие алели претставува молекуларен показател за создавање на нова генетска варијабилност при меѓувидовата хибридизација, веројатно како последица на рекомбинации и точкести мутации во геномските региони каде се наоѓаат анализирани локуси. Во таа смисла особено се издвојува линијата 11/3, која носи најголем број уникатни, неродителски алели (wmc264 = 133 bp, wmc89 = 179 bp, cfd65 = 198 bp и gwm642 = 193 bp) и претставува генетски најоддалечена линија во испитуваниот материјал.

Истовремено, анализата на преносот на родителските алели кон линиите открива нерамномерен придонес на петте родителски форми во генетскиот состав на потомството (Слика 11). Иако сортата *мина* се одликува со најголем број карактеристични (специфични) алели и претставува една од молекуларно најпрепознатливи родителски форми, таа

пренесува најмал дел од нив кон своите линии само 29% , наспроти 67% кај меката пченица (скопјанка/МТ 6/2), 53% кај ива и 43% кај *dicossum* црвен. Ваквиот распоред укажува на нерамномерно наследување на родителските геноми при меѓувидовата хибридизација, при што доминира хексаплоидниот геном.



Слика 11. Наследувањето на родителските алели кај линиите добиени со меѓувидова хибридизација

Сепак, оваа асиметрија во наследувањето не подразбира губење на генетската информација од таксономски подивергентните родители, напротив, дел од нивните уникатни алели успешно се вградуваат во геномот на култивираната пченица. Најилустративен е примерот со линиите, кај кои беше регистриран пренос на специфични (уникатни) алели на двозрнестиот лимец: специфичниот алел *wmc264* = 134 bp е присутен кај сите четири линии (10/2, 10/3, 10/6 и 10/7), алелот *barc151* = 214 bp кај 10/3, 10/6 и 10/7, а *wmc89* = 129 bp кај линијата 10/2, варијанти што надвор од овие линии се јавуваат единствено кај *dicossum* црвен. Овој пренос претставува конкретен молекуларен доказ дека уникатната генетска варијабилност на *Triticum dicossum* се интрогресира (се внесува) во геномот на култивираната пченица.

Разгледани заедно, овие наоди претставуваат едно од клучните научни придобивки на оваа дисертација. Тие покажуваат дека меѓувидовата хибридизација во родот *Triticum* не е едноставен и рамномерен спој на родителските геноми, туку динамичен процес во кој, покрај нерамномерниот придонес на родителите, се создаваат и нови, неродителски алелни варијанти и се овозможува насочен пренос (интрогресија) на пожелна, уникатна варијабилност од примитивните сродници кон култивираната пченица. На тој начин,

дисертацијата дава директна молекуларна потврда за вредноста на *dicossum црвен* и другите подивергентни родители како извори на нови алели и го истакнува нивниот потенцијал во идните селекциски програми за проширување на стеснетата генетска основа на современата пченица.

Полиморфизмот што се јавува при меѓувидова хибридизација на *Triticum durum*, *Triticum dicossum* и *Triticum aestivum* е голем и се карактеризира и со појава на различни комбинации на микросателитските алелни варијанти кај испитуваните линии, и би можел да се искористи за да се максимизира богатството на алели кај трите видови од родот *Triticum*.

6.4.4 Анализа на полиморфизмот на микросателитските локуси кај родителските генотипови

Испитуваните родителски генотипови покажаа висока полиморфност во однос на анализираните микросателитски локуси. Полиморфноста на родителите беше очекувана, бидејќи како материјал за истражувањата се користени три различни видови пченица од родот *Triticum* со различна геномска и хромозомска структура и тоа видовите: *Triticum durum* (тврда пченца) со два генома А и В, *Triticum aestivum* (мека пченица) со присуство на три геноми А,В, и D и *Triticum dicossum* (двозрнест лемец) со два генома А и В.

Алелните варијанти на сите анализирани микросателитски локуси кај родителските генотипови се прикажани во Табелата 26. Бројот на алелни варијанти се движеше од 10 кај сортите *ива*, *мина* и *dicossum црвен*, до 17 кај сортите *скопјанка* и *MT6/2*. Кај хексаплоидите пченици, 6 од вкупно 17 алелни варијанти припаѓаат на микросателитските локуси на геномот D.

Од вкупно 3 алелни варијанти на локусот Xgwm294 присутен е алелот 93bp кај сортата *скопјанка* и линијата *MT6/2* од видот *Triticum aestivum*, кај сортата *ива* и вариететот *dicossum црвен* присутен е алелот 67 bp, додека кај сортата *мина* алелот 99 bp.

На локусот Xwmc264 од вкупно 4 алелни варијанти кај *мина* е присутен алелот 126 bp, кај *ива* алелот 141 bp, кај *скопјанка* и кај *MT6/2* алелот 138 bp, додека кај вариететот *dicossum црвен* алелот 134 bp.

Табела 26. Алелни варијанти на микросателитските маркери присутни кај родителските генотипови.

	<i>Triticum durum</i>		<i>Triticum aestivum</i>		<i>Triticum dicoccum</i>
	<i>Мина</i>	<i>Ива</i>	<i>Скопјанка</i>	<i>МТ 6/2</i>	<i>Дисосит црвен</i>
Локус	Алелни варијанти (bp)				
Xgwm294	99	67	93	93	67
Xwmc264	126	141	138	138	134
Xcfd15	161	161	163	163	177
Xbarc151	216	216	246	242	214
Xgwm408	187	155	187	187	189
Xgwm257	195	197	199	199	197
Xwmc89	125, 145	127,145	127,131,175	127,131,175	129,177
Xbarc84	105,126	105,120	105,126	105,126	105,129
Xcfd65			156,166, 202	164,166, 202	
Xgwm642			168,179,187	168,179,187	
Вкупно	10	10	17	17	10

На локусот Xcfd15 беа забележани три алелни варијанти (161, 163 и 177 bp). Вариететот *dicoccum црвен* во овој локус го поседува алелот 177 bp, сортите од видот *Triticum durum* алелот 161 bp и сортите од видот *Triticum aestivum* го поседуваат алелот 163 bp.

Четири алелни варијанти се присутни на локусот Xbarc151, од кои алелот 214 bp е забележан кај вариететот *dicoccum црвен*, алелот 216 bp кај сортите од видот *Triticum durum*, алелот 246 bp кај сортата *скопјанка* и алелот 242 bp кај линијата *МТ6/2*.

Од вкупно 3 алелни варијанти на Xgwm408 локусот кај сортата *мина*, сортата *скопјанка* и линијата *МТ6/2* е присутен алелот 187 bp, кај сортата *ива* алелот 155 bp и кај вариететот *dicoccum црвен* е присутен алелот 197 bp.

Кај сортата *скопјанка*, линијата *МТ6/2* од видот *Triticum aestivum* во локусот Xgwm257 е присутен алелот 199 bp, кај сортата *ива* и вариететот *dicoccum црвен* алелот 197 bp, додека кај сортата *мина* е присутен алелот 195 bp.

Од вкупно седум алелни варијанти на локусот Xwmc89 кај сортата *скопјанка* и линијата MT6/2 од видот *Triticum aestivum* беа забележани три (127, 131 и 175 bp), кај сортата *мина* две (125 и 145 bp), кај сортата *ива* две (127 и 145 bp) и кај вариететот *dicossum црвен* две алелни варијанти (129 и 177 bp).

Четири алелни варијанти беа присутни кај локусот Xbarc84. Алелната варијанта 105 bp е присутна кај сите родителски генотипови. Кај сортата *мина*, сортата *скопјанка* и линијата MT6/ е присутен алелот 126 bp. Алелот 120 bp беше забележен само кај сортата *мина*, додека алелот 129 само кај вариететот *dicossum црвен*.

Локусот Xcfd65 и локусот Xgwm642 се локализирани во D геномот на пченица, затоа нивните варијанти алели беа забележани само кај претставниците на хексаплоидната пченица. Четири алелни варијанти беа присутни кај локусот Xcfd65. Алелните варијанти 166 bp и 202 bp ги поседуваат сортата *скопјанка* и линијата MT/6. Сортата *скопјанка* кај овој локус го поседува алелот 155 bp, додека линијата MT/6 алелот 164 bp.

Кај локусот Xgwm642 беа забележани три алелни варијанти (168, 179 и 187 bp) кои беа присутни како кај сортата *скопјанка* така и кај линијата MT/6.

Од споредбата на испитуваните родителски генотипови во однос на присуството на алелните варијанти може да се утврди бројот на заедничките и различните алелните варијанти. Во зависност од бројот на заедничките и различните алелни варијанти може да се утврди индексот на сличност меѓу видовите и нивните претставници. Сортата *мина* и *ива* имаат 8 заеднички и 12 различни алелни варијанти. Сортата *мина* и вариететот *dicossum црвен* од вкупно 20 алели имаат само една заедничка алелна варијанта, додека сортата *ива* со овој вариететот имаат 3 заеднички алелни варијанти. Сортата *скопјанка* и линијата MT6/2 имаат 31 заеднички и само 3 различни алелни варијанти. Кај локусите кои се наоѓаат во геномот A и геномот B, сортата *скопјанка* и сортата *мина* имаат 18 различни и 3 заеднички алелни варијанти. Истиот резултат е забележан и кај споредбата на алелните вариететот *dicossum црвен*, како и линијата MT6/2 и вариететот *dicossum црвен* имаат 20 различни и само еден заеднички алел. Споредбата на сортите внатре во видот покажува поголема сличност за алелните варијанти.

Меѓу анализираните видови од родот *Triticum* беа забележани значителни разлики во алелната композиција на микросателитските локуси. Алелните варијанти на микросателитските локуси кои потекнуваат од генотиповите од видот *Triticum dicoccum* се разликуваат скоро во целост во однос на алелните варијанти кај *Triticum durum* и *Triticum aestivum*. Кај микросателитските локуси на *Triticum dicoccum*, речиси сите алели се специфични само за овој вид. Исклучок претставува алелната варијанта со должина од 205 bp на локусот Xbarc84, која покрај кај *Triticum dicoccum*, е забележана и кај видовите *Triticum durum* и *Triticum aestivum*. Алелните варијанти 97 bp на локусот Xgwm257 и 67 bp на локусот Xgwm294, се присутни само кај сортата *ива* од видот *Triticum durum*. Видовите *Triticum aestivum* и *Triticum durum* имаат три исти алелни варијанти, две алелни варијанти (105 bp, 126 bp) на микросателитскиот локус Xbarc84 и алелната варијанта 187 bp на микросателитскиот локус Xgwm408, Сите други алелни варијанти за овие два вида на пченица се различни.

Алелните варијанти на микросателитските локуси кои се единствени само за одреден вид на родот *Triticum* се показатели за полиморфизмот и генетската дивергенција меѓу трите анализирани видови пченица. Молекуларната карактеризација и проценка на генетската сличност меѓу видовите *Triticum aestivum*, *Triticum durum* и *Triticum dicoccum* се од фундаментално значење за идентификација на нови и разновидни извори на алели, што ќе овозможи подобрување на генетската основа за различни својства кај генотиповите на пченица.

Добиените резултати за сличностите и разликите во однос на алелните варијанти на 10 микросателитски маркери за полиморфноста на видовите од родот *Triticum* ги потврдуваат и резултатите за разликите кои овие видови пченица ги поседуваат во однос на морфолошките својства.

6.5 Таксономска припадност на видовите од родот *Triticum*

6.5.1. Коефициент на генетска блискост кај родителските генотипови

Систематска поврзаност кај родителските генотипови од три различни видови од родот *Triticum* е утврдена откако се добиени податоците за генетска блискост од генотиповите со анализа на електрофореграмите на микросателитските маркери. Во зависност од бројот на заедничките и различните алелни варијанти може да се одреди коефициентот на блискост меѓу видовите и нивните претставници. Коефициентот на генетска блискост ја квантифицира блискоста меѓу видовите врз основа на алелната композиција на микросателитските локуси. Со цел да се утврди генетската поврзаност на 5 родителски генотипови на пченица, утврден врз основа на полиморфизмот на анализираните микросателитски маркери, одреден е Jaccard коефициентот за генетска блискост (Табела 27).

Табела 27. Коефициент на генетска блискост кај испитуваните видови-Јаскард коефициент

Родители	<i>мина</i>	<i>ива</i>	<i>скопјанка</i>	<i>МТ 6/2</i>	<i>dicocsum црвен</i>
<i>Мина</i>	1,00	0,25	0,08	0,08	0,052
<i>Ива</i>		1,00	0,125	0,125	0,176
<i>Скопјанка</i>			1,00	0,91	0,038
<i>МТ 6/2</i>				1,00	0,038
<i>dicocsum црвен</i>					1,00

Добиените резултати за генетската блискост укажуваат дека најголема генетска блискост се јавува меѓу сортите внатре во видот. На пример, меѓу сортите *мина* и *ива* од видот *Triticum durum* генетската блискост е 0,25, додека меѓу *скопјанка* и *МТ 6/2* од видот *Triticum aestivum* генетската блискост е 0,91, што е резултат на скоро идентичните алелни варијанти. Видовите *Triticum durum* и *Triticum aestivum* споредени меѓу себе покажуваат дека коефициентот за генетска блискост е низок особено меѓу сортата *мина* и *скопјанка*, како и меѓу *мина* и *МТ 6/2* (0,08). Генетската сличност меѓу сортата *ива* и генотиповите од *Triticum aestivum* е повисока (0,125). Меѓу *dicocsum црвен* и сортата *ива* генетската сличност е повисока (0,176), додека меѓу сортата *мина* и *dicocsum црвен* е помала и изнесува 0,052.

Ниските вредности на коефициентот на генетската блискост меѓу тврдата пченица и двозрнестиот лемец се оправдани и очекувани и одат во прилог на класификацијата според Dorofeev и сор., (1979). Според ова класификација тврдата пченица и двозрнестиот лемец претставуваат посебни видови, па е сосема оправдана генетската разлика меѓу нив. Добиените резултати за генетската сличност укажуваат дека најниска генетска сличност (0,038) постои меѓу видовите *Triticum aestivum* и *Triticum dicoccum*.

6.5.2 Коефициент на генетска блискост кај хибридните генотипови

Меѓу линиите добиени со меѓувидова хибридизација, вредностите на Јакардовиот коефициент се движат од 0,12 до 1,00 (просечно 0,43), што покажува дека дел од линиите се речиси идентични, додека други се изразито генетски оддалечени, (Прилози сл.57).

Највисока генетска блискост (1,00) беше утврдена кај линиите со заедничко потекло, односно сестринските линии од иста хибридна комбинација, кои поседуваат идентичен алелен состав на сите 10 SSR локуси. Такви се паровите 1/3 и 1/4, 10/3 и 10/7, 19/3 и 19/4, 3/6, 3/8 и 3/9, 3/10 и 3/11, 4/1 и 4/5, 6/3 и 6/7, како и 7/4 и 8/1. Особено хомогена е групата линии од хибридната комбинација 3/х (3/5, 3/6, 3/8, 3/9, 3/10, 3/11 и 3/13), кај кои сличноста се задржува на $J \geq 0,93$. Високата блискост во рамките на овие групи се должи на нивното заедничко родителско потекло и ограничената сегрегација на анализираните локуси.

Спротивно на тоа, најголема генетска оддалеченост меѓу линиите беше забележана кај линиите од хибридната комбинација 10/х (10/2, 10/3, 10/7) во однос на линиите од хибридната комбинација 1/х (1/3, 1/4, 1/5), како и во однос на линиите 15/3, 16/3 и 9/2, кај кои коефициентот изнесува само 0,12–0,16. Слична оддалеченост покажуваат и паровите 12/1 и 7/6, односно 4/2 и 7/2 (0,15). Како генетски најизолирани се издвојуваат линиите 11/3 и 10/2, кои имаат најниска просечна сличност со останатите линии (0,31), што укажува дека нивниот алелен состав, обликуван од различни родителски комбинации и присуство на специфични (рекомбинантни) алели, најмногу отстапува од останатиот материјал.

Ваквиот распоред покажува дека генетската блискост меѓу линиите во прв ред го следи нивното потекло: линиите од иста хибридна комбинација формираат тесно поврзани

групи, додека линиите од различни хибридни комбинации — особено 10/x наспроти 1/x се меѓу себе најоддалечени

6.5.3 Кластер анализа на генотипови пченица врз основа на микросателитски маркери

Врз база резултатите за генетската оддалеченост конструирано е дендрограм (кластер-дендограм) со методот на Ward. Дендограмот конструиран според методот на Ward ја одредува местоположбата на анализираните таксони, како и хиерархиската подреденост на испитуваните таксони. Добиенот дендограм (сл.12) ја покажува генетската поврзаност на видовите и овозможува класификација на анализираните генотипови во осум различни групи (кластери), а во рамките на пет од нив постојат помали подгрупи.

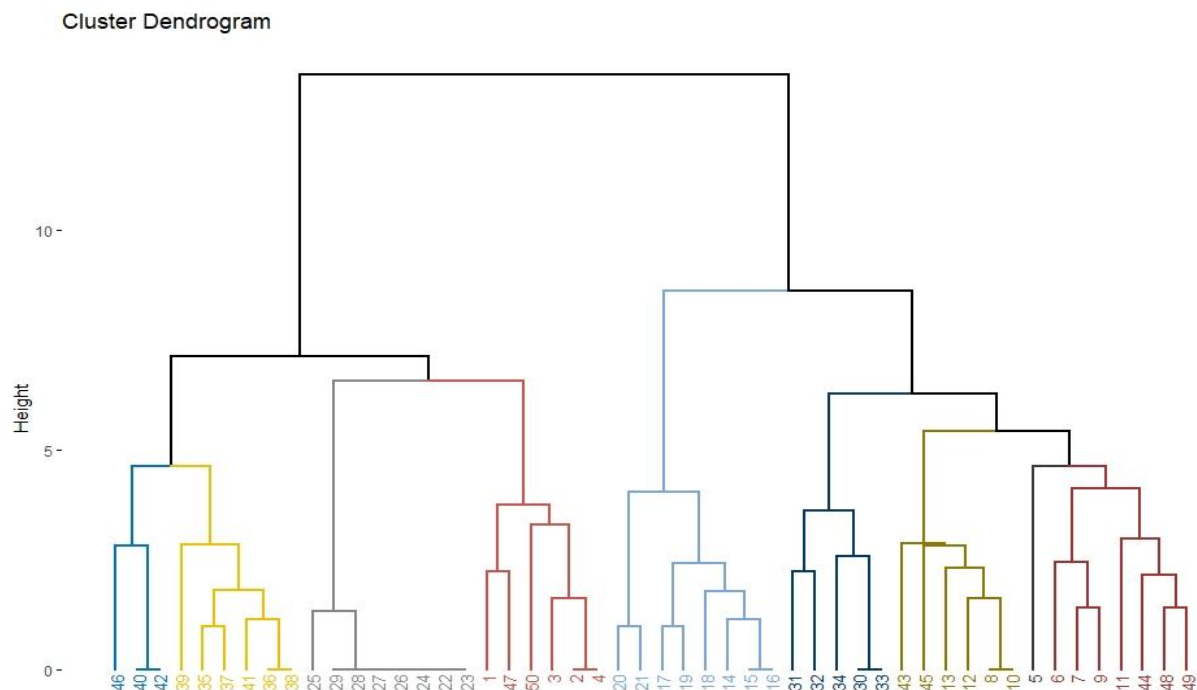
Резултатите од класификацијата на генотиповите покажаа отстапување во однос на дендрограмот конструиран врз основа морфолошки карактеристики.

Првата група се состои од сортата *мина* и линиите 7/4 и 8/1, кои не се разликуваат еден од друг според алелниот состав на микросателитски локуси.

Генотиповите 6/1, 6/3, 6/6, 6/7, 7/2 и 7/6 ја сочинуваат втората група, во која генетски најоддалечен е генотипот 7/2. Генотиповите од ова група со најмала генетска дистанца се генотиповите 6/3 и 6/7.

Во третата група спаѓаат генотиповите 3/3, 3/9, 3/8, 3/6, 3/5, 3/13, 3/11 и 3/10, од кои освен генотипот 3/3 сите други генотипови не се разликуваат еден од други според алелниот состав на микросателитски локуси. Хомогеноста во оваа подгрупа беше висока во споредба со другите подгрупи во дендрограмот

Четвртата група се состои од шест генотипови, групирани во две подгрупи. Во првата подгрупа на четвртиот кластер спаѓаат сортата *ива* и генотипот 10/2. Во втората подгрупа се групирани генотиповите 10/3, 10/6, 10/7 и вариететот *dicoccum црвен*. Во рамките на овој кластер вариететот *dicoccum црвен* е генетски најоддалечен, а останатите генотипови имаат помала генетска дистанца



Слика 12 Дендограм на испитуваните генотипови пченица врз основа на микросателитски маркери

Првите четири кластери се поврзан со другите четири кластери на повисоко хиерархиско ниво и укажуваат на голема генетска дистанца.

Во петиот кластер припаѓаат осум генотипови кои се групирани во три подгрупи. Првата подгрупа ја сочинуваат меѓусебно слични генотипови пченица 2/2 и 2/3, додека во втората подгрупа се групираа генотиповите 20/4 и 20/9. Третата подгрупа вклучува четири генотипови, меѓу кои се: 20/5, 19/1, 19/3 и 19/4. Најмала генетска дистанца во ова група е забележана кај генотиповите 19/3 и 19/4, додека генотипот 20/5 значително се разликува од другите генотипови.

Во рамките на шестата група беа формирани две подгрупи. Во првата подгрупа спаѓаат генотиповите 4/2 и 4/4. Втората подгрупа се состои од три генотипови 4/1, 4/5 и 4/6. Најмала генетска дистанца во ова група е забележана меѓу генотипот 4/1 и генотипот 4/5, додека другите генотипови имаа поголема генетска оддалеченост.

Во седмата група се групирани генотиповите 1/3, 1/4, 1/5, 9/1, 9/3 и генотипот 16/3, кои се покажаа како високо продуктивен во нашето истражување. Генотиповите 1/3 и 1/4, не се разликуваа еден од друг според алелниот состав на микросателитските локуси.

Во осмиот кластер припаѓаат осум генотипови кои се групирани во две подгрупи. Во првата подгрупа се наоѓаат генотиповите 12/1, 13/1 и 14/1. Во втората подгрупа се групирани сортата *скопјанка*, линијата *MT 6/2* и генотиповите 9/2 и 15/3. Забележително е дека во рамките на овој кластер генетски најразличен генотип е генотипот 11/3, кој не припаѓа во ниту една подгрупа и се издвојува како посебен. Генотиповите 15/3 и 9/2 покажаа високо ниво на хетерогеност. Во овој кластер се наоѓаат и генотиповите кои се покажаа како високо продуктивни во нашето истражување.

Резултатите од анализата на дендограмот открија јасни групи и генетска сличност меѓу трите анализирани видови на пченица и линиите добиени со нивно вкрстување, со што се објаснува нивната меѓусебна поврзаност и систематска припадност во рамките на родот *Triticum*.

Со анализа на припадноста на генотиповите на одредени групи, забележана е конзистентност при групирањето на генотиповите, според нивото на плоидност, што е во согласност и со сознанијата на други автори (Drikvand и сор., 2015; Klymiuk и сор., 2019). Во првите четири кластери се групирани тетраплоидните таксони, кои покажаа голема генетска дистанца со хексаплоидните генотипови кои се наоѓаат во последни четири кластери. Исто така овие анализи јасно покажаа дека и покрај разликите во морфолошките особини двата тетраплоидни вида, *Triticum durum* и *Triticum dicoccum* покажуваат сличности во нивната генетска структура, што доведува до поблиско групирање и укажува на тоа дека се генетски блиски видови. Иако, *Triticum durum* и *Triticum dicoccum* имаат заеднички предок *Triticum dicoccoides*, тие еволуирале како посебни видови со различни генетски и фенотипски карактеристики преку процесот на доместификација и континуирана селекција. Се забележува дека сортата *мина* е подивергентна во однос на сортата *ива* и вариететот *dicoccum црвен*, кои пак се наоѓаат во ист кластер и се помалку дивергентни. Ваквото групирање на сортите од ист вид може да се објасни со генетските варијации кои постојат во рамките на ист вид поради нивното географско потекло или е резултат на природните и човечките селекциони притисоци, но и различните насоки при

нивната селекција. Идентификуваните морфолошки разлики помеѓу двата вида не беа потврдени преку микросателитската анализа. Родителите од *Triticum aestivum* (скопјанка и МТ 6/2) се издвоени како најоддалечени во осмиот кластер. Посебно издвојување на генотиповите од *Triticum aestivum* укажува на значителна генетска дивергенција, како од *Triticum durum*, така и од *Triticum dicoccum*, што го одразува неговиот посебен еволутивен процес и посебната генетска структура. Со помош на дендограмот се добива јасна и детална слика за еволутивната насока на анализираните видови, како и за степенот на нивната дивергенција.

Според дендограмот испитуваните линии беа групирани во осум различни кластери, додека нивните родители во 3 различни кластери со голема генетска дистанца. Кластер анализата откри јасни групи и врски меѓу испитуваните линии создадени со меѓувидова хибридизација на *Triticum durum*, *Triticum dicoccum* и *Triticum aestivum*. Испитуваните линии покажаа голема разлика во однос на родителите кои се користени за вкрстување. Ова веројатно се должи на реорганизацијата во испитуваните линии кои го придружуваат формирањето на стабилни форми за време на хибридизацијата. Кластерската анализа покажа дека испитуваните линии беа групирани во кластери според нивното потекло, односно во голема мера беше забележана регуларност при групирање на генотипови со еден од родителите или со двата родителели од кои потекнуваат. Во првата група и втората група беа групирани испитуваните линии, заедно со сортата мина. Исто така сортата скопјанка и линијата МТ 6/2 спаѓаа во истата група како и повеќето линии на кои овие генотипови им биле родители. Генотиповите на четвртата група се групирани во иста група со сортата ива и вариететот *dicoccum црвен*.

Петиот кластер, претставува посебен кластер каде се групирани испитуваните линии кои генетски се разликуваат од нивните родителски видови. Овие кластери претставуваат уникатни генетски комбинации кои произлегуваат од хибридизацијата. Може да се претпостави дека во овие случаи се случиле рекомбинации и мутации во одредени делови од геномот каде се наоѓаат анализираните микросателитски локуси.

Генерално, дистрибуција на испитуваните линии долж дендограмот во различни генетски оддалечени групи го одразува нивниот генетски состав и нивниот однос со родителските таксони. Исто така може да се констатира дека хибридизацијата помеѓу трите

вида пченица овозможила создавање на генетски оддалечени хибриди, кои претставуваат значителен потенцијал за подобрување на генетската варијабилност во процесот на селекција и подобрување на сортите на пченица.

Со анализа на добиените дендограми, може да се забележи дека не е добиен ист распоред на анализираните родители кои припаѓаат на различни видови, како и на испитуваните линии добиени од нивното вкрстување. Несовпаѓањето помеѓу класификацијата на генотиповите на пченица во дендограмот базиран на морфолошки својства и дендограмот базиран на микросателитските маркери, може да се објасни со фактот дека иако сортите или видовите може значително да се разликуваат по морфолошките особини поради селективното одгледување, тие сепак може да споделуваат повеќе генетски сличности на молекуларно ниво, како што е наведено од анализата на микросателитските маркери. Делумното совпаѓање во класификацијата на генотиповите според молекуларни податоци и класификацијата според морфолошките податоци може да биде последица на бројот на молекуларни маркери користени во ова истражување, како и на фактот дека изборот на маркерите не е направен врз основа на врската маркер-својство. Делумно совпаѓање во класификацијата на генотиповите на пченица според морфолошките и молекуларните (SSR) податоци е утврдена и од други автори (Al-Ashkar и сор., 2020; Sallam и сор., 2024). Ова укажува на сложеноста на генетската разновидност како внатре во видовите на пченица, така и меѓу нив, и ја потенцира потребата од примена на повеќе методолошки пристапи за проценка на генетските односи меѓу нив.

Испитуваните видови пченица поседуваат специфични геномски карактеристики кои се манифестираат преку различна експресија на фенотипските својства и специфичниот полиморфизам на микросателитските локуси. Разбирањето на овие генетски фактори е од суштинско значење за разјаснување на еволутивната историја и систематска припадност на пченица, како и за насочување на програмите за селекција со цел подобрување на продуктивноста и одржливоста на ова земјоделска култура.

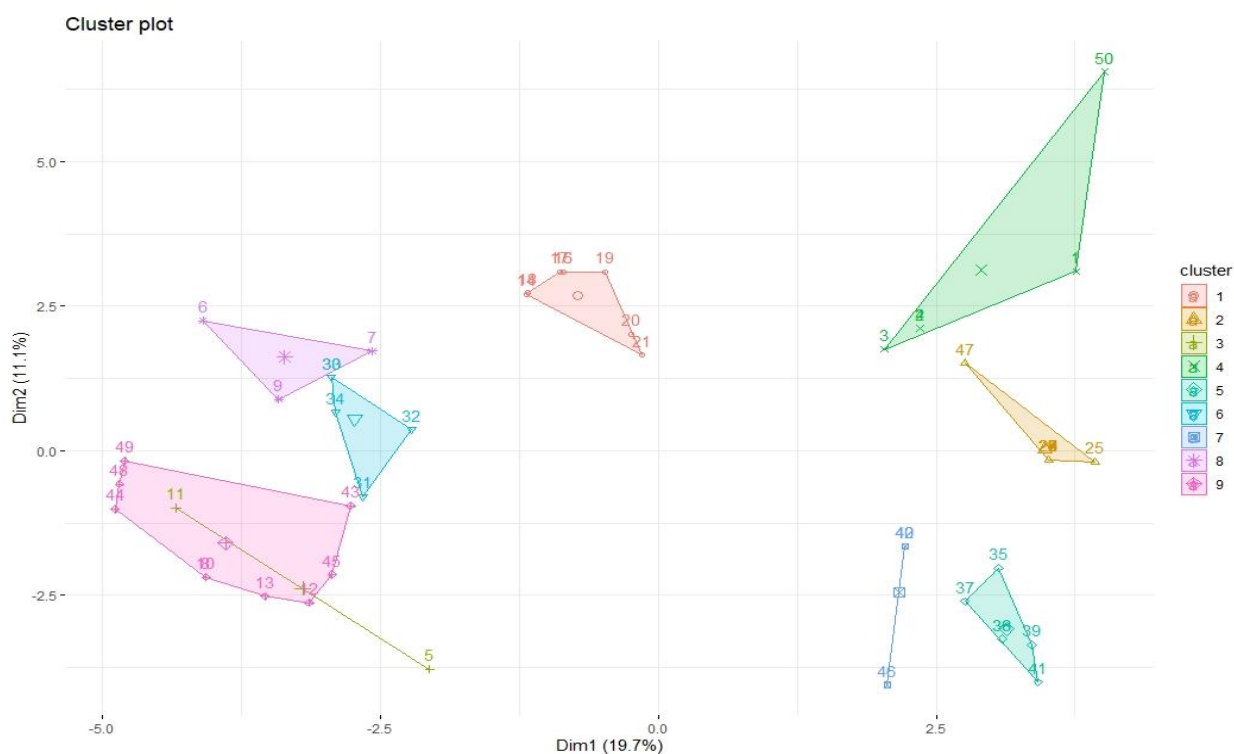
6.5.4 K-means кластер анализа на генотипови пченица врз основа на микросателитски маркери

За да се провери дали со употреба на микросателитски маркери кај анализираните генотипови на пченица се формираат слични кластери беше користен и друг статистички пристап односно методата на K-means кластер анализа. K-means кластер анализа ја дели базата на податоци во претходно дефиниран број (K) на кластери. Секоја податочна точка се назначува до најблискиот центар (центроид) на кластерот со цел да се минимизира варијансата во кластерот. Оптималниот број на кластери беше одреден со методот на силуэта и генотиповите. Анализираните генотипови беа групирани во осум кластери.

Слично како и кај претходните резултати, со овој пристап на групирање, петте анализирани родители беа распределени во различни кластери. За сите освен седум генотипови, формираните групи се поклопуваат со оние добиени преку хиерархиското кластерирање (Слика 13).

Најпрво, се издвојуваат генотиповите на *Triticum durum* и *Triticum dicoccum*, кои во претходните анализи се покажаа дека се значително различни од *Triticum aestivum* според анализираните микросателитските маркери. Сепак, и овде може да се забележи можноста за да се дефинира единствен модел на варијабилност на микросателитските маркери, според кој е прикажана јасна дискриминација на трите анализирани таксони. Јасната поделба помеѓу кластерите укажува на различни генетски профили. Формирањето на добро одвоени кластери, укажува на тоа дека користените микросателитните маркери може да се користат за ефикасно разликување на испитуваните видови на пченица.

Издолжените кластери укажуваа за постоење на градиент на генетска варијација во таа група. Ова се должи на генетската разновидност во рамките на таа група. Според положбата во просторот на анализираните линии во формираните групи може да констатираме дека сите формирани кластери се многу хетерогени. Во кластер биплотот положбата на приот кластер кој е на голема дистанца од сите други кластери укажува на тоа дека испитуваните линии на овој кластер генетски се разликуваат од нивните родители и претставуваат уникатни генетски комбинации кои произлегуваат од меѓувидовата хибридизација.



Слика 13 Кластер плот на испитуваните родителски генотипови од различни видови пченица и линии добиени од нивно вкрстување.

6.5.5. Анализата на главните компоненти (PCA) на анализираните генотипови пченица врз основа на микросателитски маркери

Групирањето на анализираните генотипови беше извршено и со користење на анализата на главните компоненти (PCA). PCA исто така беше изведена со цел визуелно да се претстават генетските растојанија на анализираните генотипови, набљудувајќи го моделот и степенот на варијабилноста.

Првите две главни компоненти објаснија 30,8% (PC1 19,7% и PC2 11,1%) од вкупната варијабилност за микросателитските маркери (Слика 14). Ваквиот процент на варијабилност е значително поголем во споредба со резултатите од другите истражувања (Arora и сор.,2014; Landjeva и сор. ,2014).

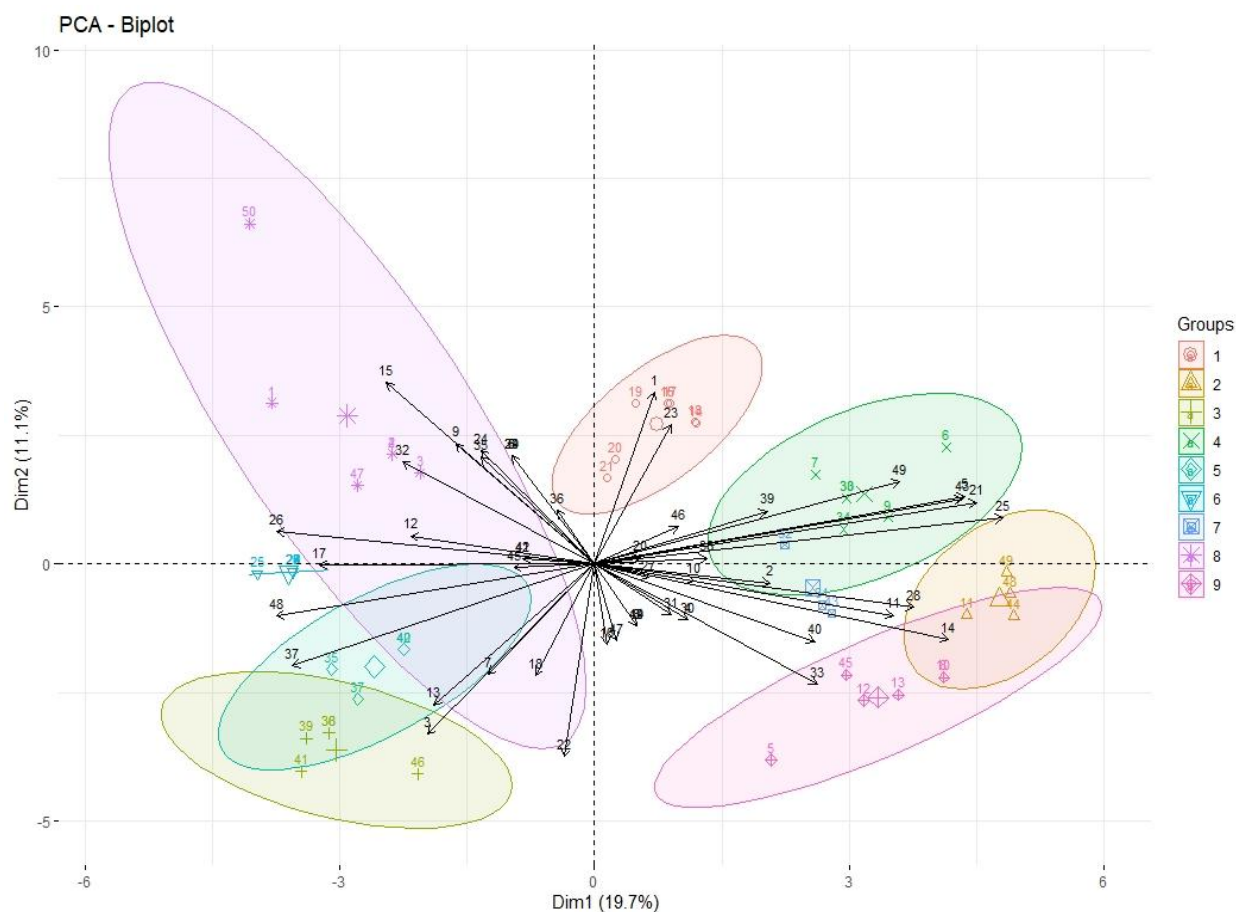
Со графичкиот приказ за првите две компоненти од РС анализата се издовени седум групи на генотипови. Групирањето на генотипови врз основа на анализа на главните компоненти беше во согласност со моделот на групирање базиран на кластер анализата. Хексаплоидните генотипови на пченица беа јасно одделени од тетраплоидните пченици долж оската на првата главна компонента PC1, што го објаснува најголемиот дел од почетната варијабилност (19,7%). Сите хексаплоидни генотипови беа групирани во 1, 2, 4 и 9 групата со значителна оддалеченост од групата 3, 5 и 8 во која се наоѓаат сите тетраплоидни генотипови.

Групите составени од родителите и испитуваните линии создадени од нивно вкрстување кои беа диференцирани во кластерската анализа се забележани и на графиконот за анализа на PCA. PCA анализата, го потврди групирањето на сортата *ива* и вариететот *dicossum црвен* во еден кластер (осми кластер), како и посебно групирање на сортата *мина* во третиот кластер. Исто така, генотиповите од *Triticum aestivum* (*скопјанка* и *MT 6/2*) се групирани заедно и се издвоени како најоддалечени во третиот кластер. Помали отстапувања во групирањето во споредба со кластерската анализа беа пронајдени само за одредени генотипови (3/3, 3/5, 2/3, 9/1, 10/7) кои беа распоредени надвор од сите кластери, што најверојатно се должи на различниот методолошки пристап на двете мултиваријантни статистички процедури кои беа применети на ист збир на податоци. Врз основа на биплот анализата на првите две компоненти, хексаплоидните генотипови очигледно имаа различна дистрибуција од тетраплоидните. Сепак, таква разлика не беше забележана меѓу тетраплоидните генотипови, што илустрира дека тие имале слична дистрибуција меѓу нив.

Сличен модел на распределба на генотипови од различни видови на пченица во анализата на главните компоненти врз основа на молекуларни маркери утврдиле и други автори. При избор на мултиваријантни методи Mohammadi и Prasanna (2003) препорачуваат анализата на главните компоненти да се користи во комбинација со кластерска анализа за проучување на генетската варијација кај различни видови на пченица, особено кога првите два главни компоненти објаснуваат повеќе од 25% од генетската варијација.

Во ова истражување, првите две главни компоненти објаснија 30,8% (PC1 19,7% и PC2 11,1%) од вкупната варијабилност за микросателитските маркери, што значи дека PCA може да се користи или самостојно или во комбинација со кластер анализа за да се

дискутира за генетската варијација и систематска припадност на анализираниите таксони на пченица.



Слика 14 Дистрибуција на генотиповите на РС-биplotот врз основа на анализираниите микросателитски маркери

Со комбинирање на методите на кластер анализа и анализа на главните компоненти за групирање на анализираниите генотипови на пченица врз основа на податоци од молекуларна анализа, се доби појасен увид во систематската припадност на анализираниите видови на пченица. Овие сознанија ќе дават придонес во зачувувањето на биолошката разновидност на родот *Triticum*, како и нивно практична примена во селекционите програми на пченицата.

7. ЗАКЛУЧОЦИ

Врз основа на изнесените резултати од истражувањето може да се извлечат следниве поважни заклучоци:

- Кај испитуваните видови на пченица од родот *Triticum* и избраните родителски генотипови кои беа вклучени во испитувањето постојат значајни разлики за просечните вредности кај сите испитувани морфолошки својства.
- Анализата на главните компоненти овозможи подобро разбирање на генетската структура на испитуваните генотипови, како и придонесот на секој од анализираните морфолошки и производни својства во фенотипската варијација. Со анализа на главни компоненти (PCA), се добиени три главни компоненти со гранична вредност на оптоварување (eigenvalue) поголема од 1. Кумулативниот процент на трите главни компоненти изнесува 85,75%%, од вкупното варирање. Својства кои во најголема мера ја детерминираат варијацијата на испитуваните видови на пченица се број на зрна во клас, маса на зрна од клас и должина на класот, додека својството висина на стебло најмаку се разликувала помеѓу генотиповите.
- Со анализата на корелацијата помеѓу морфолошките својства се добија позитивни и негативни корелации. Значајна позитивна корелација постои помеѓу број на зрна во клас и маса на зрна од клас. Должина на клас е во негативна корелација со бројот на братимки.
- Резултатите од анализа на главните компоненти (PCA) покажаа дека анализираните генотипови јасно се издвојуваат во четири различни групи. Вариететот *dicoccum црвен* не припаѓа во ниту една група и се издвојува како посебен. Сортите на тврда пченица *мина* и *ива* се издвојуваат во посебна група од представниците на мека пченица. Сортата *скопјанка* и линијата *MT 6/2* се групирани во посебни групи.
- Резултатите добиени од анализата на групирањето на генотиповите на пченица со примена на кластер анализа и двојна кластер анализа се во согласност со резултатите добиени од анализата на главните компоненти. Анализираните генотипови јасно се издвојуваат во четири различни групи. Сортите на тврда пченица *мина* и *ива* се одвојуваат во посебна група од претставниците на мека пченица. Сортата *скопјанка* и линијата *MT 6/2* се групирани во посебни групи, додека вариететот *dicoccum црвен*

се издвојува како посебен. Ова поделба на генотипови во дендограмот беше соодветна со познатите модели на фенотипската варијација на анализираниите видови на пченица. Групата на тврда пченица се состои од претставници кои освен за високо стебло и долг клас, имаа средно ниски вредности за сите останати својства, додека во групите на мека пченица беше обратно.

- Издвојувањето на *dicocum црвен* како посебен укажува на значителна генетска дивергенција како од меката, така и од тврдата пченица, што го одразува неговиот посебен еволутивен процес и посебната генетска структура. Овој резултат оди во прилог на класификацијата според Dorofeev и сор.(1979).
- Кај хибридниите генотипови на пченица кои се групирани во истата група, генерално се забележува слично потекло, односно се забележува дека овие генотипови со слични морфолошки својства имаат еден заеднички родител или два заеднички родители.
- Покрај тоа, идентификувана е група со хибридни генотипови (втора група) кои имаа повисоки вредности за компонентите на принос од нивните родители. Ово укажува на постоење на нов извор на фенотипска варијација, кои би можеле да бидат од корист при изборот на потенцијални родителски парови,
- Хибридизацијата на таксономски подивергентни родители резултираа со формирање на хибридни генотипови кои имаа поголема фенотипска варијација за важни агрономски особини во споредба со вкрстувањата на поблиски родители.
- Кластер анализа и анализа на главните компоненти (PCA) овозможиле ефикасна класификација на генотиповите врз основа на морфолошки и производни карактеристики.
- Во зависност од анализираниите морфолошки и производни карактеристики може да се утврди дека постојат таксономски различни генотипови, што овозможува подобрување на сознанието за систематиката на родот *Triticum* со помош на морфолошките маркери.
- Практичното значење на овие испитувања е можноста преку примената на морфолошките својства во хибридниите генерации однапред да се издвојат перспективните генотипови, кои се одликуваат со висока родност.

- Откриен е значаен полиморфизам на испитуваните микросателитски локуси, со идентификувани 48 алелни варијанти и просечен број од 4,8 алели по локус, што укажува на значителна генетска варијација во испитуваниот материјал.
- Најголем број на алелни варијанти (9) во однос на сите испитувани генотипови беше забележан на локусот Xwmc89 а најмал број (3) кај локусите Xgwm294s, Xcfd15, Xgwm408, и Xgwm257.
- Најмалата просечна вредност на PIC во однос на сите испитани генотипови беше забележана за локусот Xgwm257 (0.53), а најголемата за локусот Xwmc89 (0.85). Просечната вредност на PIC за сите десет микросателитски локуси изнесуваше (0.66) и според класификацијата на Botstein и сор. (1980), сите испитувани микросателитски локуси припаѓаат на групата високо информативни маркери.
- Локусот Xwmc89, познат како маркер поврзан со QTL за принос на пченица при сушни услови, во ова истражување покажа и најголем број алелни варијанти (9) и најголема PIC-вредност (0,85), што го издвојува како особено информативен маркер за идни студии за толеранција на суша кај пченицата.
- Родителските генотипови се разликуваат според бројот на алелните варијанти во различните анализирани микросателитски локуси. Бројот на алелните варијанти кај родителските генотипови се движи од 17 кај *скопјанка*, *MT 6/ 2* и 10 кај *мина*, *ива* и *dicocum црвен*.
- Вариететот *dicocum црвен* поседува уникатни (приватни) алелни варијанти на неколку микросателитски локуси (Xcfd15=177 bp, Xbarc151=214 bp, Xwmc89=129 и 177 bp, Xbarc84=129 bp), кои не се среќаваат кај останатите родителски генотипови, што претставува дополнителна молекуларна потврда за неговата таксономска посебност.
- Генерално за сите анализирани микросателитски локуси констатирана е многу голема генетска диференцијација во однос на испитуваните видови. Видовите *Triticum durum*, *Triticum dicocum* и *Triticum aestivum* споредени меѓу себе поседуваат мал број заеднички алелни варијанти, со што се потврдува различноста меѓу видовите. Алелните варијанти на микросателитските локуси кои се единствени само за одреден вид на родот *Triticum* се показатели за генетска диференцијација и еволутивна дивергенција меѓу трите анализирани видови на пченица.

- Најниска генетска сличност (0,038) постои меѓу видовите *Triticum aestivum* и *Triticum dicoccum*. Видовите *Triticum durum* и *Triticum aestivum* споредени меѓу себе покажуваат дека коефициентот за генетска блискост е низок особено меѓу сортата *мина* и *скопјанка*, како и меѓу *мина* и *MT 6/2* (0,08). Генетската сличност меѓу сортата *ива* и генотиповите од *Triticum aestivum* е повисока (0,125). Меѓу *dicoccum црвен* и сортата *ива* генетската сличност е повисока (0,176), додека меѓу сортата *мина* и *dicoccum црвен* е помала и изнесува 0,052. Ниските вредности на коефициентот на генетската блискост меѓу тврдата пченица и двозрнестиот лимец се оправдани и очекувани и одат во прилог на класификацијата според Dorofeev и сор., (1979). Според ова класификација тврдата пченица и двозрнестиот лимец претставуваат посебни видови, па е сосема оправдана генетската разлика меѓу нив.
- *Triticum dicoccum* како диворастечки сродник на видовите од големо економско значење како што се меката и тврда пченица може да игра значајна улога во нивното подобрување. Имено, во овој труд беше потврдено дека има голема разновидност, што го прави уште позначаен и потенцијален извор на нова варијабилност, што исчезлива во процесот на селекција на меката и тврда пченица.
- При испитувањето на полиморфизмот на алелните варијанти кај испитуваните хибриди, се јавуваат комбинации кои се идентични на родителските генотипови, рекомбинантни и мутантни комбинации. Полиморфизмот што се јавува при меѓувидова хибридизација на *Triticum durum*, *Triticum dicoccum* и *Triticum aestivum* е голем што се карактеризира со појава на различни комбинации на микросателитските алелни варијанти кај испитуваните линии.
- Линијата 11/3 се издвои како генетски најоддалечена линија во целиот испитуван материјал, носејќи најголем број уникатни, неродителски (рекомбинантни/мутантни) алели на локусите Xwmc264, Xwmc89, Xcfd65 и Xgwm642.
- Дендограмот конструиран врз основа на микросателитските маркери, со анализата на добиените генетски дистанци помеѓу испитуваните генотипови пченица, овозможи нивно класифицирање во осум различни кластери. Забележана е регуларност при групирањето на генотиповите, според нивото на плоидност. Во првите четири кластери се групирани тетраплоидните таксони, кои покажаа голема

генетска дистанца со хексаплоидните генотипови кои се наоѓаат во последни четири кластери. *Triticum durum* и *Triticum dicoccum* се генетски блиски видови. Генотиповите од *Triticum aestivum* (скопјанка и MT 6/2) се издвоени како најоддалечени, што укажува на значителна генетска дивергенција како од *Triticum durum* така и од *Triticum dicoccum*, а што е одраз на неговиот посебен еволутивен процес и различна генетска структура.

- Дендрограмската анализа открија јасни групи и генетска сличност меѓу хибридните генотипови формирани со меѓувидова хибридизација на *Triticum durum*, *Triticum dicoccum* и *Triticum aestivum*. Испитуваните линии покажаа голема разлика во однос на родителите кои се користени за вкрстување. Ова веројатно се должи на реорганизацијата на хибридните геноми кои го придружуваат формирањето на стабилни форми за време на хибридизацијата.
- Кластерската анализа покажа групирање на испитуваните линии во кластери според нивното потекло, односно во голема мера беше забележана регуларност при групирање на генотипови со еден од родителите или со двата родители од од кои потекнуваат.
- Покрај тоа, идентификувана е посебна група (втора група) каде се групирани линии кои генетски се разликуваат од нивните родители. Овие кластери претставуваат уникатни генетски комбинации кои произлегуваат од хибридизацијата и потврдија постоење на нова генотипска варијација.
- Преносот на родителските алели кон испитуваните линии беше нерамномерен: сортата *мина*, и покрај најголемиот број специфични родителски алели, пренела само 29% од нив кон своите линии, наспроти 67% кај хексаплоидните родители (скопјанка/MT 6/2), 53% кај *ива* и 43% кај *dicoccum црвен*, што укажува на доминантно наследување на хексаплоидниот геном при меѓувидовата хибридизација.
- Од резултатите, беше регистриран конкретен молекуларен доказ за интрогресија на специфични алели на *dicoccum црвен* (Xwmc264=134 bp, Xbarc151=214 bp, Xwmc89=129 bp) кои се пренесени кај дел од линиите, што потврдува дека уникатната генетска варијабилност на *Triticum dicoccum* реално може да се внесе во

геномот на култивираната пченица, што е еден од клучните научни придонеси на оваа дисертација.

- Резултатите добиени од анализата на основните компоненти (PCA) врз основа на микросателитските маркери се во согласност со резултатите добиени од кластер анализата.
- Од добиените резултати може генерално да се заклучи дека има висок степен на употребливоста на применетите микросателитски маркери во одредување на генетската варијација и систематска припадност кај испитуваните видови на родот *Triticum*.
- Резултатите од групирањето на генотиповите со користење на различни методи (дендрограм, кластер плот, PCA) потврдуваат дека користените микросателитски маркери се ефикасни во одредување на генетската варијација и систематска припадност кај испитуваните видови на родот *Triticum*.
- Резултатите добиени во ова истражување би можеле да бидат корисни за креирање на база на податоци и нивно пренесување кон други генбанки.
- Резултатите од ово истражување ќе дават придонес во зачувувањето на биолошката разновидност на родот *Triticum*, како и нивно практична примена во селекционите програми на пченица.
- Добиените резултати може да дадат насоки за натамошни истражувања во областа на ботаниката, генетиката и биомолекуларна систематика на пченица.

8. ЛИТЕРАТУРА

1. Abbasov, M., Akparov, Z., Gross, T., Babayeva, S., Izzatullayeva, V., Hajiyeve, E., Rustamov, K., Gross, P., Tekin, M., Akar, T., et al. (2018). Genetic relationship of diploid wheat (*Triticum* spp.) species assessed by SSR markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 65, 1441–1453.
2. Abbott, R., Albach, D., Ansell, S., Arntzen, J.W., Baird, S.J., Bierne, N., Boughman, J., Brelsford, A., Buerkle, C.A., Buggs, R., Butlin, R.K. (2013). Hybridization and speciation. *Journal of Evolutionary Biology*, 26, 229–246.
3. Aghaee, M., Mohammadi, R., Nabovati, S. (2010). Agro-morphological characterization of durum wheat accessions using pattern analysis. *Australian Journal of Crop Science*, 4(7): 505–514. ISSN: 1835-2707
4. Arif, I.A., Bakir, M.A., Khan, H.A., Al Farhan, A.H., Al Homaidan, A.A., Bahkali, A.H., Al Sadoon, M. & Shobrak, M. (2010). A brief review of molecular techniques to assess plant diversity. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(5), 2079–2096.
5. Acquaah, G. (2012). *Principles of Plant Genetics and Breeding*. John Wiley & Sons, Hoboken, USA.
6. Agarwal, M., Shrivastava, N., Padh, H. (2008). Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. *Plant Cell Reports*, 27, 617–631.
7. Akkaya, M.S., Bhagwat, A.A., Cregan, P.B. (1992). Length polymorphisms of simple sequence repeat DNA in soybean. *Genetics*, 132, 1131–1139.
8. Al-Ashkar, I., Alderfasi, A., Ben Romdhane, W., Seleiman, M.F., El-Said, R.A., Al-Doss, A. (2020). Morphological and genetic diversity within salt tolerance detection in eighteen wheat genotypes. *Plants*, 9(3), 287.
9. Aliu, S., Fetahu, Sh. (2010). Determination of genetic variation for morphological traits and yield components of new winter wheat (*Triticum aestivum* L.) lines. *Notulae Scientiae Biologicae*, 2(1), 121–124.
10. Amallah, L., Taghouti, M., Rhrib, K., Gaboun, F., Hassikou, R. (2015). Genetic variability in agro-morphological and quality traits of Mediterranean durum wheat landraces. *Cereal Research Communications*, 43, 123–132.
11. Amos, M., Cooper, S., Helmlinger, D., Bot, C., García-Higuera, I., Petrini, J.H.J. (2008). The regulation of DNA replication initiation in eukaryotic cells. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 9, 932–945.
12. Andersson, D.I., Jerlström-Hultqvist, J., Näsval, J. (2015). Evolution of new functions de novo and from preexisting genes. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 7(6).
13. Ангелов, И. (1990). *Новосоздадени сорти поледелски и градинарски култури*. Земјоделски факултет, Скопје.
14. Arain, S.M., Sial, M.A., Jamali, K.D., Laghari, K.A. (2019). Grain yield performance, correlation and cluster analysis in elite bread wheat (*Triticum aestivum* L.) lines. *Acta Agrobotanica*, 71(4), 1747.
15. Arora, A., Kundu, S., Dilbaghi, N., Sharma, I., Tiwari, R. (2014). Population structure and genetic diversity among Indian wheat varieties using microsatellite (SSR) markers. *Australian Journal of Crop Science*, 8(9), 1281–1289.
16. Babić, V., Babić, M., Filipović, M., Delić, N., Purar, B. (2011). Vizuelna ocena fenotipa po UPOV deskriptoru i srodnost linija kukuruza. *Ratarstvo i Povrtarstvo*, 48, 321–326.

17. Bányai, J., Szűcs, P., Karsai, I., Mészáros, K., Kuti, Cs., Láng, L. & Bedő, Z. (2006). *Cultivar identification by molecular markers*. Cereal Research Communications, 34(2–3), 865–870.
18. Barbará, T., Palma-Silva, C., Paggi, G.M., Bered, F., Fay, M.F. & Lexer, C. (2007). Cross-species transfer of nuclear microsatellite markers: potential and limitations. *Molecular Ecology*, 16(18), 3759–3767.
19. Baum, B.R., Edwards, T., Johnson, D.A. (2009). Phylogenetic relationships among diploid *Aegilops* species inferred from 5S rDNA units. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 53, 34–44.
20. Balint, A., Kovacs, F.G., Sutka, J. (2000). Origin and taxonomy of wheat in the light of recent research. *Acta Agronomica Hungarica*, 48(3), 301–313.
21. Belete, Y., Shimelis, H. and Laing, M. (2021). Genetic diversity and population structure of bread wheat genotypes determined via phenotypic and SSR marker analyses under drought-stress conditions. *Journal of Crop Improvement*, 35(3), 303–325.
22. Benson, D.A., Cavanaugh, M., Clark, K., Karsch-Mizrachi, I., Lipman, D.J., Ostell, J. and Sayers, E.W. (2013). GenBank. *Nucleic Acids Research*, 41(D1), D36–D42.
23. Boeven, P.H.G., Zhao, Y., Thorwarth, P., Liu, F., Maurer, H.P., Gils, M., Schachschneider, R., Schacht, J., Ebmeyer, E., Kazman, E., Mirdita, V., Dörnte, J., Kontowski, S., Horbach, R., Cöster, H., Holzapfel, J., Jacobi, A., Ramgraber, L., Reinbrecht, C., Starck, N., Varenne, P., Starke, A., Schürmann, F., Ganai, M., Polley, A., Hartung, J., Beier, S., Scholz, U., Longin, C.F.H., Reif, J.C., Jiang, Y. and Würschum, T. (2020). Negative dominance and dominance-by-dominance epistatic effects reduce grain-yield heterosis in wide crosses in wheat. *Science Advances*, 6(24), eaay4897.
24. Botstein, D., White, R.L., Skolnick, M. and Davis, R.W. (1980). Construction of genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *American Journal of Human Genetics*, 32, 314–331.
25. Brandolini, A., Vaccino, P. and Boggini, G. (2006). Quantification of genetic relationships among A genomes of wheats. *Genome*, 49, 297–305.
26. Branzei, D. & Foiani, M. (2010). Maintaining genome stability at the replication fork. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 11, 208–219.
27. Brbaklić, L., Trkulja, D., Kondić-Špika, A., Hristov, N., Denčić, S., Mikić, S., Tomičić, M. and Kobiljski, B. (2015). Genetic associations in detection of QTLs for wheat spike-related traits. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 50(2), 149–159.
28. Chapman, V., Miller, T.E. and Riley, R. (1976). Equivalence of the A genome of bread wheat and *Triticum urartu*. *Genetical Research*, 27, 69–76.
29. Chen, X., Min, D., Yasir, T.A. and Hu, Y.-G. (2012). Genetic diversity, population structure and linkage disequilibrium in elite Chinese winter wheat investigated with SSR markers. *PLoS ONE*, 7(9), e44510.
30. Chen, W., Sun, D., Li, R., Wang, S., Shi, Y., Zhang, W. & Jing, R. (2020). Mining the stable quantitative trait loci for agronomic traits in wheat (*Triticum aestivum* L.) based on an introgression line population. *BMC Plant Biology*, 20, 275.
31. Ciaffi, M., Dominici, L. and Lafiandra, D. (1997). Gliadin polymorphism in wild and cultivated einkorn wheats. *Theoretical and Applied Genetics*, 94, 68–74.
32. Dagnaw, T., Mulugeta, B., Haileselassie, T., Geleta, M., Ortiz, R. and Tesfaye, K. (2023). Genetic diversity of durum wheat germplasm as revealed by morphological and SSR markers. *Genes (Basel)*, 14(6), 1155.

33. Deng, P., Wang, M. and Feng, K. (2016). Genome-wide characterization of microsatellites in Triticeae species. *Scientific Reports*, 6, 32224.
34. Dimitrijević, M., Petrović, S. (2005). Genetika populacije — adaptabilnost i stabilnost genotipa. Poljoprivredni fakultet i Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad.
35. Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., Gonzalez, L., Tablada, M. and Robledo, C.W. (2011). InfoStat versión 2011. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
36. Dinkar, V., Jha, S. K., Mallick, N., Niranjana, M., Agarwal, P., Sharma, J. B., & Vinod. (2020). *Molecular mapping of a new recessive wheat leaf rust resistance gene originating from Triticum spelta*. *Scientific Reports*, 10, Article 22113
37. Dodig, D., Zorić, M., Kobiljski, B., Šurlan-Momirović, G. and Quarrie, S. (2010). Assessing drought tolerance and genetic diversity in wheat using SSR markers and phenotypic data. *Crop and Pasture Science*, 61, 812–824.
38. Dorofeev, V.F., Filatenko, A.A., Migushova, E.F., Udaczin, R.A. and Jakubziner, R.R. (1979). *Wheat*. Flora of Cultivated Plants I (V.F. Dorofeev and O.N. Korovina, eds.). Leningrad: Kolos, Russia.
39. Drikvand, R.M., Najafian, G., Elham and Salahvarzi, A. (2015). Investigation of genetic diversity of some durum and bread wheat genotypes using SSR markers. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*, 6(3), 24–32.
40. Dvořák, J., Luo, M.C., Yang, Z.L. and Zhang, H.B. (1998). The structure of the *Aegilops tauschii* gene pool and the evolution of hexaploid wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 97, 657–670.
41. Čukaliev, O. (2005). *Voden režim na zemjodelskite kulturi i navodnuvanje*. Skopje: Fakultet za zemjodelski nauki i hrana, Univerzitet “Sv. Kiril i Metodij”.
42. Ehtemam, M.H., Rahiminejad, R.M., Saeidi, H., Tabatabaei, B.S., Krattinger, G.S. and Keller, B. (2010). Relationships among the A genomes of *Triticum* L. species as evidenced by SSR markers. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(11), 4309–4325.
43. El Baidouri, M., Murat, F., Veyssiere, M., Molinier, M., Flores, R., Burlot, L., Alaux, M., Quesneville, H., Pont, C. and Salse, J. (2017). Reconciling the evolutionary origin of bread wheat (*Triticum aestivum*). *New Phytologist*, 213(3), 1477–1486.
44. El-Rawy, M.A., Taghian, A.S., El-Aref, H.M., Abd El-Fatah, B.E. and El-Sanousy, S.A. (2016). Genetic diversity in wheat genotypes using SSR markers. *Research Journal of Applied Biotechnology*, 2(1), 127–138.
45. Ellegren, H. (2004). Microsatellites: simple sequences with complex evolution. *Nature Reviews Genetics*, 5, 435–445.
46. Ellis, J.R. & Burke, J.M. (2007). EST-SSRs as a resource for population genetic analyses. *Heredity*, 99, 125–132.
47. El-Rawy, M.A. and Hassan, M.I. (2021). Assessment of genetic diversity in durum and bread wheat genotypes based on drought tolerance and SSR markers. *Plant Breeding and Biotechnology*, 9(2), 89–103.
48. Fahima, T., Röder, M.S., Wendehake, K., Kirzhner, V.M. and Nevo, E. (2002). Microsatellite polymorphism in natural populations of wild emmer wheat (*Triticum dicoccoides*) in Israel. *Theoretical and Applied Genetics*, 104, 17–29.
49. FAO (2024). FAOSTAT statistical database. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. Available at: <http://www.fao.org/faostat/en/#home>

50. Feldman, M. and Levy, A.A. (2012). Genome evolution due to allopolyploidization in wheat. *Genetics*, 192(3), 763–774.
51. Filatenko, A.A. and Hammer, K. (1997). New descriptions of hulled wheats on the infraspecific level. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 44, 285–288.
52. Filipovski, G. (2006). *Pochvite na Republika Makedonija*. Skopje: Makedonska akademija na naukite i umetnostite (MANU).
53. Fiore, M.C., Mercati, F., Spina, A., Blangiforti, S., Venora, G., Dell’Acqua, M., Lupini, A. and Preiti, M. (2019). High-throughput genotype, morphology, and quality traits evaluation for wheat landraces. *Plants*, 8, 116.
54. Gadaleta, A., Giancaspro, A., Zacheo, S.A., Nigro, D., Giove, S.L., Colasuonno, P. and Blanco, A. (2011). Comparison of genomic and EST-derived SSR markers in wheat phylogenetic analysis. *Plant Genetic Resources*, 9, 243–246.
55. Gao, L.F., Zhang, X.Y., Xia, X.C., He, Z.H., Zhan, X.D., Li, X., Zhang, Y., Huang, X.Q., Wang, D.S. & Zhang, A.M. (2004). Development and characterization of wheat EST-derived microsatellites. *Theoretical and Applied Genetics*, **108**, 150–157.
56. Gerema, G. (2021). Evaluation of durum wheat genotypes for genetic variability, heritability and correlation studies. *Journal of Agriculture and Natural Resources*, 3(2), 150–159.
57. Giunta, F., Pruneddu, G., Zuddas, M. and Motzo, R. (2019). Bread and durum wheat: intra- and inter-specific variation in yield and protein. *European Journal of Agronomy*, 105, 7–18.
58. Golovnina, K.A., Glushkov, S.A., Blinov, A.G., Mayorov, V.I., Adkison, L.R. and Goncharov, N.P. (2007). Molecular phylogeny of the genus *Triticum*. *Plant Systematics and Evolution*, 264, 195–216.
59. Goncharov, N.P. (2005). Comparative-genetic analysis: a base for wheat taxonomy revision. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 41(Special Issue), 52–55.
60. Goncharov, N.P. (2011). Genus *Triticum* L. taxonomy: the present and the future. *Plant Systematics and Evolution*, 295, 1–11.
61. Gorji, A.H. and Zolnoori, M. (2011). Genetic diversity in hexaploid wheat genotypes using microsatellite markers. *Asian Journal of Biotechnology*, 3, 368–377.
62. Govindaraj, M., Vetriventhan, M. and Srinivasan, M. (2015). Importance of genetic diversity in crop plants. *Genetics Research International*, 2015, 431487.
63. Gupta, P.K., Rustgi, S. and Sharma, S. (2003). Transferable EST-SSR markers for wheat diversity studies. *Molecular Genetics and Genomics*, 270, 315–323.
64. Gupta, P.K., Balyan, H.S., Edwards, K.J., Isaac, P., Korzun, V., Röder, M.S., Gautier, M.F., Joudrier, P., Schlatter, A.R., Dubcovsky, J., De la Peña, R.C., Khairallah, M., Penner, G., Hayden, M.J., Sharp, P., Keller, B., Wang, R.C.C., Hardouin, J.P., Jack, P. and Leroy, P. (2002). Genetic mapping of 66 new SSR loci in bread wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 105(2–3), 413–422.
65. Gupta, P.K. & Varshney, R.K. (2000). The development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant breeding with emphasis on bread wheat. *Euphytica*, 113, 163–185.
66. Guyomarc’h, H., Sourdille, P., Charmet, G., Edwards, K.J. and Bernard, M. (2002). SSR markers from *Aegilops tauschii* and transferability to wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 104(6–7), 1164–1172.

67. Haider, N., Nabulsi, I. and MirAli, N. (2010). Comparison of A-PAGE, SDS-PAGE, ISSR and RAPD in *Triticum* and *Aegilops*. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 57, 1023–1039.
68. Haider, N. (2013). The origin of the B genome of bread wheat. *Genetika*, 49(3), 303–314.
69. Hammer, K., Filatenko, A.A. and Pistrick, K. (2011). Taxonomic remarks on *Triticum* and *Triticocecale*. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 58, 3–10.
70. Han, B., Wang, C., Tang, Z., Ren, Y., Li, Y., Zhang, D., Dong, Y. and Zhao, X. (2015). Genome-wide analysis of SSR markers in Chinese Spring wheat. *PLOS ONE*, 10(11), e0141540.
71. Hao, C.Y., Wang, L.F., Zhang, X.Y., You, G.X., Dong, Y.S., Jia, J.Z., Liu, X.W., Shang, X.W., Liu, S.C. and Cao, Y.S. (2006) Genetic Diversity in Chinese Modern Wheat Varieties Revealed by Microsatellite Markers. *Science in China Series C*, 49, 218–226.
72. Hayward, A., Dalton-Morgan, J., Javaid, M., Faure, S., Uauy, C. & Horsnell, R. (2015). Molecular marker applications in plants: from genotyping to genome-wide association studies. *Plant Biotechnology Journal*, 13(6), 722–735.
73. Hillman, G. (2001): Archaeology, Percival, and the problems of identifying wheat remains. *Wheat taxonomy: the legacy of John Percival*, 27–36.
74. Hongshen W., Li, J., Yang, F., Wang, Q., Yang, N., Zhu, X. and co-authors (2022). Pentaploidization enriches the genetic diversity of wheat by enhancing the recombination of AB genomes. *Frontiers in Plant Science*, 13, 883868.
75. Huang, Q., Börner, A., Röder, M. S. and Ganal, M. W. (2002). Assessing genetic diversity of wheat (*Triticum aestivum* L.) germplasm using microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 105(5), 699–707.
76. Ilievski, M., Spasova, D., Kukutanov, R., Atanasova, B., Jovanov, D. (2013). Variety specificity of soft wheat varieties in organic production. *Plant Studies*, 3(6), 24–28.
77. Jabari, M., Golparvar, A., Sorkhilalehloo, B., & Shams, M. (2023). Investigation of genetic diversity of Iranian wild relatives of bread wheat using ISSR and SSR markers. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 21(1), 73.
78. Jaiswal, S., Sheoran, S., Arora, V., Angadi, U.B., Iquebal, M.A., Raghav, N., Aneja, B., Kumar, D., Singh, R., Sharma, P. and co-authors (2017). Putative microsatellite DNA marker-based wheat genomic resource for varietal improvement and management. *Frontiers in Plant Science*, 8.
79. Jaradat, A. A. (2011). Ecogeography, genetic diversity, and breeding value of wild emmer wheat (*Triticum dicoccoides*). *Australian Journal of Crop Science*, 5, 1072–1086.
80. Jia, J., Zhao, S., Kong, X., Li, Y., Zhao, G., He, W. and co-authors (2013). *Aegilops tauschii* draft genome sequence reveals a gene repertoire for wheat adaptation. *Nature*, 496, 91–95.
81. Karagöz, A., Pılmalı, N., and Polat, T. (2006). Agro-morphological characterization of some wild wheat (*Aegilops* L. and *Triticum* L.) species. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 30, 387–398.
82. Khan, M.K., Pandey, A., Thomas, G., Akkaya, M.S., Kayis, S.A., Ozsensoy, Y., Hamurcu, M., Gezgin, S., Topal, A., & Hakki, E.E. (2015). Genetic diversity and population structure of wheat in India and Turkey. *AoB Plants*, 7, plv083.
83. Kihara, H. (1924). Cytologische und genetische Studien bei wichtigen Getreidearten. *Memoirs of the College of Science, Kyoto Imperial University*, Series B, 1–200.

84. Kilian, B., Ozkan, H., Deusch, O., Effgen, S., Brandolini, A. and co-authors (2007). Independent wheat B and G genome origins in outcrossing *Aegilops* progenitor haplotypes. *Molecular Biology and Evolution*, 24, 217–227.
85. Kim, K.C. and Byrne, L.B. (2016). Biodiversity loss and the taxonomic bottleneck. *Ecology Research*, 21, 794–810.
86. Kirouani, A., Henkrar, F., Udupa, S.M., Boukhalfoun, L., Bouzerzour, H. (2018). Genetic diversity in Algerian durum wheat varieties using microsatellite markers. *Bioscience Journal*, 34, 1575–1583.
87. Klymiuk, V., Fatiukha, A., Huang, L., Wei, Z.Z., Kis-Papo, T., Saranga, Y., Krugman, T. and Fahima, T. (2019). Durum wheat as a bridge between wild emmer wheat genetic resources and bread wheat. In: *Applications of Genetic and Genomic Research in Cereals*, Elsevier, 201–230.
88. Konarev, V.G. (1983). The nature and origin of wheat genomes. In: *Proceedings of the 6th International Wheat Genetics Symposium*, Kyoto, Japan, 65–75.
89. Kondić-Špika, A. Đ., Denčić, S. S., Mladenov, N. V., Trkulja, D., Mikić, S. Z., Hristov, N. S., & Marjanović-Jeromela, A. M. (2016). Polymorphism of microsatellite loci in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) and related species. *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke*, 131, 81–89.
90. Koppolu, R., Upadhyaya, H.D., Dwivedi, S.L., Hoisington, D.A., Varshney, R.K. (2010). Genetic relationships among seven sections of genus *Arachis* studied using SSR markers. *BMC Plant Biology*, 10(15).
91. Knežević, D., Jelić, M., Paunović, A., Đurić, N., & Branković, S. (2014). Genetic and environmental impact on nitrogen accumulation and utilization in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Agriculture & Forestry*, 60(3), 45–53.
92. Kumar, S., Goyal, A., Mohan, A., Balyan, H.S., Gupta, P.K. (2013). An integrated physical map of simple sequence repeats in bread wheat. *Australian Journal of Crop Science*, 7(4), 460–468.
93. Kumar, A. (2016). *Molecular Characterization of Wheat*. M.Sc. Thesis, Department of Plant Breeding and Genetics, Punjab Agricultural University, Ludhiana, India
94. Kyratzis, A.C., Nikoloudakis, N., & Katsiotis, A. (2019). Genetic variability in landraces populations and risk of genetic erosion. *PLOS ONE*, 14(10), e0224255.
95. Landjeva, S., Korzun, V., Ganeva, G. (2006). Evaluation of genetic diversity among Bulgarian winter wheat varieties. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 53(8), 1605–1614.
96. Landjeva, S., Ganeva, G., Korzun, V., Palejev, D., Chebotar, S., & Kudrjavitsev, A. (2014). Genetic diversity of old bread wheat germplasm from the Black Sea region evaluated by microsatellites and agronomic traits. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*, 12(3), 233–242.
97. Lawson, M.J., & Zhang, L. (2006). SSR distribution in Arabidopsis and rice genomes. *Genome Biology*, 7(2), R14.
98. Lee, M.S., Palci, A. (2015). Morphological phylogenetics in the genomic age. *Current Biology*, 25, 123–132.
99. Leonova, I.N., Budashkina, E.B., Flath, K., Weidner, A., Börner, A. & Röder, M.S. (2010). *Microsatellite mapping of a leaf rust resistance gene transferred to common wheat from Triticum timopheevii*. *Cereal Research Communications*, 38(2), 211–219

100. Li, Y.-C., Korol, A.B., Fahima, T., Nevo, E. (2002). Microsatellites: genomic distribution and functions. *Molecular Ecology*, 11, 2453–2465.
101. Li, Y.-C., Korol, A.B., Fahima, T., Nevo, E. (2004). Microsatellites within genes: structure, function and evolution. *Molecular Biology and Evolution*, 21, 991–1007.
102. Li, L.F., Zhang, Z.B., Wang, Z.H., Li, N., Sha, Y., Wang, X.F. and co-authors (2022). Genome sequences of five *Sitopsis* species. *Molecular Plant*, 15(3), 488–503.
103. Ling, H., Zhao, S., Liu, D., Wang, J., Sun, H., Zhang, C. and co-authors (2013). Draft genome of *Triticum urartu*. *Nature*, 496(7443), 87–90.
104. Ma, Z.Q., Röder, M.S. & Sorrells, M.E. (1996). Frequencies and sequence characteristics of di-, tri-, and tetra-nucleotide microsatellites in wheat. *Genome*, 39(1), 123–130.
105. Mac Key, J. (1966). Species relationship in *Triticum*. In: Proceedings of the 2nd International Wheat Genetics Symposium. Hereditas Supplement, 2, 237–275.
106. Mac Key, J. (1968). Relationship in the Triticinae. In: Findlay, K.W., Shepherd, K.W. (eds.), *Proceedings of the 3rd International Wheat Genetics Symposium*, Canberra, pp. 39–50.
107. Mac Key, J. (1975). The boundaries and subdivision of the genus *Triticum*. In: *Proceedings of the 12th International Botanical Congress*, Leningrad, Vol. 2.
108. Mac Key, J. (1977). Sec. Diccocoidea Flaksb. of wheat, its phylogeny, diversification and subdivision. In: *Proceedings of the Symposium on Extended Availability of Wheat Genetics Resources*, Bari, pp. 5–46.
109. Mac Key, J. (1989). Genus *Triticum* and its systematics. In: Shumny, V.K. (ed.), *Vavilov's legacy in modern biology*. Nauka, Moscow, pp. 170–185.
110. Mac Key, J. (2005). Wheat: its concept, evolution and taxonomy. In: Royo, C. et al. (eds.), *Durum wheat breeding: Current approaches and future strategies*, Vol. 1. CRC Press, Boca Raton, pp. 3–61.
111. Macherey-Nagel (2014). Genomic DNA from plant. User Manual: NucleoSpin Plant II, July 2014 / Rev. 09.
112. Манасиевска, С. (2002). Протеински профил на некои видови пченица (*Triticum aestivum*, *Triticum durum* и *Triticum dicoccum*) и нивните морфолошки, биолошки и производни карактеристики. Магистерски труд, Скопје, стр. 89.
113. Манасиевска-Симиќ, С. (2006). Полиморфизам на глутенини, глијадини и компоненти на принос кај хибриди пченица од видовите *Triticum aestivum*, *Triticum durum* и *Triticum dicoccum*. Докторска дисертација, Факултет за земјоделски науки и храна, Универзитет „Св. Кирил и Методиј“, Скопје.
114. Manly, B.F.J. (2005). *Multivariate statistical methods: A primer* (3rd ed.). Chapman & Hall/CRC.
115. Mardi, M., Naghavi, M.R., Pirseyedi, S.M. et al. (2011). Comparative assessment of SSAP, AFLP and SSR markers for evaluation of genetic diversity of durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. durum). *Journal of Agricultural Science and Technology*, 13, 905–920.
116. Marzario, S., Logozzo, G., David, J.L., Zeuli, P.S., & Gioia, T. (2018). Molecular genotyping (SSR) and agronomic phenotyping for utilization of durum wheat ex situ collection. *Genes*, 9(10), 465.
117. Mehari, M., Tesfay, M., Yirga, H., Mesele, A., Abebe, T., Workineh, A., & Amare, B. (2015). GGE biplot analysis of genotype-by-environment interaction in wheat. *Communications in Biometry and Crop Science*, 10(1), 17–26.

118. Merritt, B.J., Culley, T.M., Avanesyan, A., Stokes, R., & Brzyski, J. (2015). Characteristics of plant microsatellite markers that confer higher levels of genetic variation. *Applied Plant Sciences*, 3(8), apps.1500025.
119. Metzker, M.L. (2010). Sequencing technologies—the next generation. *Nature Reviews Genetics*, 11, 31–46.
120. Mishra, C.N., Tiwari, V., Satish, V., Gupta, A., Kumar, I., & Sharma, D. (2015). Genetic diversity and agromorphological traits in wheat. *SABRAO Journal of Breeding and Genetics*, 47(1), 21–28.
121. Mohammadi, S.A., & Prasanna, B.M. (2003). Analysis of genetic diversity in crop plants: salient statistical tools and considerations. *Crop Science*, 43, 1235–1248.
122. Mohammadi, M., Mirlohi, A., Majidi, M.M., & Kartalaei, E.S. (2021). Emmer wheat as a source for trait improvement in durum wheat. *Euphytica*, 217, 1–20.
123. Mondini, L., Noorani, A., & Pagnotta, M.A. (2010). Assessing plant genetic diversity by molecular tools. *Diversity*, 105, 146–155.
124. Monneveux, P., Jing, R., & Misra, S.C. (2012). Phenotyping for drought adaptation in wheat. *Frontiers in Physiology*, 3, 429.
125. Moretzsohn, M.C., Gouvea, E.G., Inglis, P.W., Leal-Bertioli, S.C., Valls, J.F., & Bertioli, D.J. (2013). Relationships of cultivated peanut and wild species using intron sequences and SSR markers. *Annals of Botany*, 111(1), 113–126.
126. Morgante, M., & Olivieri, A.M. (1993). PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. *The Plant Journal*, 3, 175–182.
127. Mohi-Ud-Din, M., Hossain, M.A., Rohman, M.M., Uddin, M.N., Haque, M.S., Dessoky, E.S., Alqurashi, M., & Aloufi, S. (2022). Genetic diversity of bread wheat for drought tolerance. *Sustainability*, 14(16), 9818.
128. Mollasadeghi, V., Elyasi, S., & Mirzamasoumzadeh, B. (2012). Genetic variation in wheat genotypes. *Annals of Biological Research*, 3(10), 4734–4740.
129. Musilová, M., Trojan, V., Vyhnánek, T., & Havel, L. (2013). Genetic variability for coloured caryopses in wheat. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 49(3), 116–122.
130. Nadeem, M.A., Nawaz, M.A., Shahid, M.Q., et al. (2018). DNA molecular markers in plant breeding. *Biotechnological Equipment*, 32, 261–285.
131. Nei, M. (1987). *Molecular Evolutionary Genetics*. New York: Columbia University Press.
132. Ogihara, Y., & Tsunewaki, K. (1982). Diversity of chloroplast genome in *Triticum* and *Aegilops*. *Japanese Journal of Genetics*, 57, 371–396.
133. Oliveira, E.J., Pádua, J.G., Zucchi, M.I., Vencovsky, R., & Vieira, M.L.C. (2006). Microsatellite origin and evolution. *Genetics and Molecular Biology*, 29(2), 294–307.
134. Oliveira, H.R., Campana, M.G., Jones, H., Hunt, H.V., Leigh, F.J., Redhouse, D.I., Lister, D.L. & Jones, M.K. (2012). Tetraploid wheat landraces in the Mediterranean basin: taxonomy, evolution and genetic diversity. *PLoS ONE*, 7(5), e37063.
135. Oslovičová, V., Simmonds, J.R., Snape, J.W., Gálová, Z., Balážová, Z., & Matušíková, I. (2014). Molecular marker-based characterization of wheat genotypes. *Cereal Research Communications*, 42(2), 189–198.
136. Özkan, H., Willcox, G., Graner, A., Salamini, F., & Kilian, B. (2011). Domestication of wild emmer wheat. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 58, 11–53.
137. Peakall, R., & Smouse, P.E. (2012). GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. *Bioinformatics*, 28(19), 2537–2539.

138. Peleg, Z., Fahima, T., Korol, A.B., Abbo, S., & Saranga, Y. (2011). Genetic analysis of wheat domestication. *Journal of Experimental Botany*, 62(14), 5051–5061.
139. Peng, J. H., Sun, D., Nevo, E. (2011). Wild emmer wheat, *Triticum dicoccoides*, occupies a pivotal position in wheat domestication process. *Australian Journal of Crop Science*, 5(9), 1127–1143.
140. Petersen, G., Seberg, O., Yde, M., & Berthelsen, K. (2006). Phylogenetic relationship of *Triticum* and *Aegilops* and evidence for the origin of the A, B, and D genomes of common wheat (*Triticum aestivum*). *Molecular Phylogenetics*.
141. Pestsova, E., Ganal, M.W., & Röder, M.S. (2000). Isolation and mapping of microsatellite markers specific for the D genome of bread wheat. *Genome*, 43(4), 689–697.
142. Petrović, S., Dimitrijević, M., Banjac, B., & Mladenov, V. (2017). Correlation and path coefficient analysis of yield components in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Annals of Agronomy*, 41(2), 12–20.
143. Petrović, S., Marić, S., Čupić, T., Rebekić, A., & Rukavina, I. (2017). Assessment of molecular and phenotypic diversity among winter wheat cultivars. *Genetika*, 49(2).
144. Poczai, P., Varga, I., & Laos, M. (2013). Advances in plant gene-targeted and functional markers: a review. *Plant Methods*, 9, 6.
145. Popovski, D. (2001). *Posebno poledelstvo: Žitni kulturi*. Skopje: Ministry of Education and Science of the Republic of Macedonia.
146. Powell, W., Morgante, M., Andre, C., Hanafey, M., Vogel, J., Tingey, S., & Rafalski, A. (1996). The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR markers for germplasm analysis. *Molecular Breeding*, 2(3), 225–238.
147. Pozzi, C., & Salamini, F. (2007). Genomics of wheat domestication. In: Varshney, R.K., Tuberosa, R. (eds.), *Genomics Assisted Crop Improvement*, Vol. 2, 453–481.
148. Protić, R., Protić, N., Jovanović, M., Janković, S., & Popović, V. (2012). Yield components of winter wheat varieties in different seeding density. *Journal of Agricultural Sciences (Belgrade)*, 57(3), 133–143.
149. Rahiminejad, M.R., & Kharazian, N. (2005). Illustration of and a key to the genus *Triticum* in Iran. *Wheat Information Service*, 99, 29–34.
150. Rahman, S., Islam, S., Yu, Z., She, M., Nevo, E. и Ma, W. (2020). Current progress in understanding and recovering the wheat genes lost in evolution and domestication. *International Journal of Molecular Sciences*, 21, 8870.
151. Raquin, A.-L., Depaulis, F., Lambert, A., Galic, N., Brabant, P. и Goldringer, I. (2008). Experimental estimation of mutation rates in a wheat population with a gene genealogy approach. *Genetics*, 179(4): 2195–2211.
152. Revelle, W. (2014). *psych: Procedures for Psychological, Psychometric, and Personality Research*. Northwestern University, Evanston, Illinois, USA.
153. Roldan-Ruiz, I., Van Eeuwijk, T.J., Gilliland, P., Dubreuil, C., Dillman, C., Lallemand, J. и De Loose, M. (2001). A comparative study of molecular and morphological methods of describing relationships between perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) varieties. *Theoretical and Applied Genetics*, 103: 1138–1150.
154. Rohlf, F.J. (2005). *NTSYSpc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System*, Version 2.2. Exeter Software, Setauket, New York, USA.

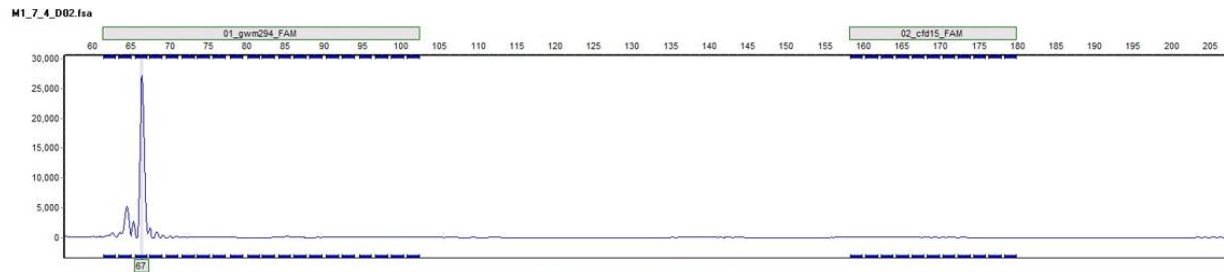
155. Röder, M.S., Plaschke, J., König, S.U., Börner, A., Sorrells, M.E., Tanksley, S.D. и Ganal, M.W. (1995). Abundance, variability and chromosomal location of microsatellites in wheat. *Molecular and General Genetics*, 246(3): 327–333.
156. Röder, M.S., Korzun, V., Wendehake, K., Plaschke, J., Tixier, M.H., Leroy, P. & Ganal, M.W. (1998). Construction and analysis of a microsatellite-based database of wheat genotypes. *Genetics*, 149(4), 2007–2023.
157. Roeder, M.S., Wendehake, K., Korzun, V., Bredemeijer, G., Laborie, D., Bertrand, L., Isaac, P., Rendell, S., Jackson, J., Cooke, R.J., Vosman, B. и Ganal, M.W. (2002). Construction and analysis of a microsatellite-based database of European wheat varieties. *Theoretical and Applied Genetics*, 106: 67–73.
158. Roussel, V., Koenig, J., Beckert, M. и Balfourier, F. (2004). Molecular diversity in French bread wheat accessions related to temporal trends and breeding programmes. *Theoretical and Applied Genetics*, 108(5): 920–930.
159. Roussel, V., Leisova, L., Exbrayat, F., Stehno, Z. и Balfourier, F. (2005). SSR allelic diversity changes in 480 European bread wheat varieties released from 1840 to 2000. *Theoretical and Applied Genetics*, 111(1): 162–170.
160. Saeed, A.F., Wang, R. и Wang, S. (2016). Microsatellites in pursuit of microbial genome evolution. *Frontiers in Microbiology*, 6: 1462.
161. Sakamura, T. (1918). Kurze Mitteilung über die Chromosomenzahlen und die Verwandtschaftsverhältnisse der *Triticum*-Arten. *Botanical Magazine Tokyo*, 32:150–153.
162. Sallam, M., Ghazy, A., Al-Doss, A.A. и Al-Ashkar, I. (2024). Combining genetic and phenotypic analyses for detecting bread wheat genotypes of drought tolerance through multivariate analysis techniques. *Life*, 14(2): 183.
163. Salamini, F., Özkan, H., Brandolini, A., Schäfer-Pregl, R. и Martin, W. (2002). Genetics and geography of wild cereal domestication in the Near East. *Nature Reviews Genetics*, 3: 429–441.
164. Salem, K.F.M., Röder, M.S. и Börner, A. (2015). Assessing genetic diversity of Egyptian hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) using microsatellite markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 62: 377–385.
165. Schlötterer, C. (2000). Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. *Chromosoma*, 109(6): 365–371.
166. Schulz, A. (1913). *Die Geschichte der kultivierten Getreide*. Louis Nebels Verlag, Berlin.
167. Serrote, C.M.L., Reiniger, L.R.S., Silva, K.B., Rabaiolli, S.M.S. и Stefanel, C.M. (2020). Determining the polymorphism information content of a molecular marker. *Gene*, 726: 144175.
168. Shewry, P.R. (2007). Improving the protein content and composition of cereal grain. *Journal of Cereal Science*, 46(3): 239–250.
169. Singh, N., Wu, S., Tiwari, V., Sehgal, S., Raupp, J., Wilson, D., Abbasov, M., Gill, B. и Poland, J. (2019). Genomic analysis confirms population structure and identifies inter-lineage hybrids in *Aegilops tauschii*. *Frontiers in Plant Science*, 10: 9.
170. Smýkal, P., Horáček, J., Dostálová, R. и Hýbl, M. (2008). Variety discrimination in pea (*Pisum sativum* L.) by molecular, biochemical and morphological markers. *Journal of Applied Genetics*, 49(2): 155–166.

171. Song, Q.J., Shi, J.R., Singh, S., Fickus, E.W., Costa, J.M., Lewis, J., Gill, B.S., Ward, R. и Cregan, P.B. (2005). Development and mapping of microsatellite (SSR) markers in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 110(3): 550–560.
172. Soriano, J.M., Villegas, D., Aranzana, M.J., García del Moral, L.F. и Royo, C. (2016). Genetic structure of modern durum wheat cultivars and Mediterranean landraces matches with their agronomic performance. *PLoS ONE*, 11(8): e0160983.
173. Sourdille, P., Cadalen, T., Guyomarc'h, H., Snape, J.W., Perretant, M.R., Charmet, G., Boeuf, C., Bernard, S. и Bernard, M. (2004). An update of the Courtot × Chinese Spring intervarietal molecular marker linkage map for the QTL detection of agronomic traits in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 106: 530–538.
174. Sönmezoğlu, O.A., Bozmaz, B., Yildirim, A., Kandemir, N. и Aydin, N. (2012). Genetic characterization of Turkish bread wheat landraces based on microsatellite markers and morphological characters. *Turkish Journal of Biology*, 36: 589–597.
175. Sönmezoğlu, Ö.A. и Terzi, B. (2018). Characterization of some bread wheat genotypes using molecular markers for drought tolerance. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 24(1): 159–166.
176. Stefanova-Dobreva, S. и Muhova, A. (2020). Influence of NPK fertilization on grain yield and some components of durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Scientific Papers. Series A. Agronomy*, 63(1).
177. Ward, J.H. Jr. (1963). Hierarchical grouping to optimize an objective function. *Journal of the American Statistical Association*, 58: 236–244.
178. Türkoğlu, A., Haliloğlu, K., Mohammadi, S.A., Öztürk, A., Bolouri, P., Özkan, G., Bocianowski, J., Pour-Aboughadareh, A. и Jamshidi, B. (2023). Genetic diversity and population structure in Türkiye bread wheat genotypes revealed by simple sequence repeats (SSR) markers. *Genes*, 14(6): 1182.
179. Taranto, F., D'Agostino, N., Rodriguez, M., Pavan, S., Minervini, A.P., Pecchioni, N., Papa, R. и De Vita, P. (2020). Whole genome scan reveals molecular signatures of divergence and selection related to important traits in durum wheat germplasm. *Frontiers in Genetics*, 11: 217.
180. Tóth, G., Gáspári, Z. и Jurka, J. (2000). Microsatellites in different eukaryotic genomes: Survey and analysis. *Genome Research*, 10: 967–981.
181. Tsõmbalova, J., Haljak, M., Ingver, A. и Järve, K. (2008). Genetic diversity of Estonian-grown spring wheat varieties assessed by microsatellite and morphological analyses. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B – Soil and Plant Science*, 58: 97–104.
182. Tsonev, S., Christov, N.K., Mihova, G., Dimitrova, A. & Todorovska, E.G. (2021). Genetic diversity and population structure of bread wheat varieties grown in Bulgaria based on microsatellite and phenotypic analyses. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 35(1), 1520–1533.
183. Tsunewaki, K. (2009). Plasmon analysis in the *Triticum–Aegilops* complex. *Breeding Science*, 59: 455–470.
184. Turuspekov, Y., Plieske, J., Ganai, M. и Akhunov, E. (2017). Phylogenetic analysis of wheat cultivars in Kazakhstan based on the wheat 90K single nucleotide polymorphism array. *Plant Genetic Resources*, 15: 29–35.
185. van Slageren, M.W. (1994). *Wild Wheats: A Monograph of Aegilops L. and Triticum L.* (Poaceae). Wageningen Agricultural University Papers 94(7). Wageningen Agricultural University, Wageningen, Netherlands.

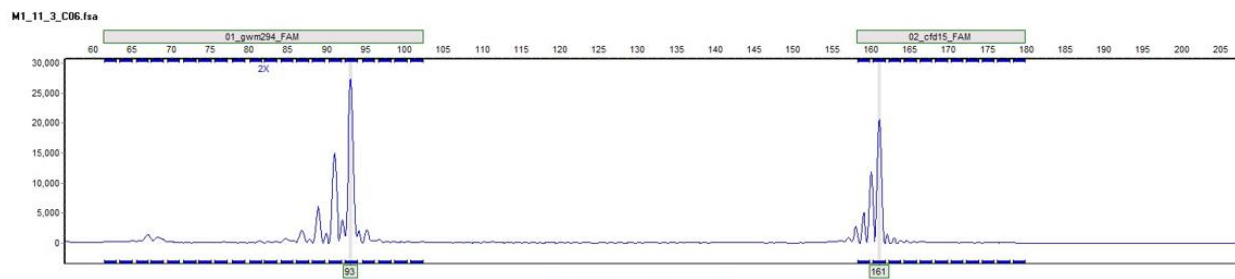
186. Varshney, R.K., Sigmund, R., Börner, A., Korzun, V., Stein, N., Sorrells, M.E., Langridge, P. и Graner, A. (2005). Interspecific transferability and comparative mapping of barley EST-SSR markers in wheat, rye and rice. *Plant Science*, 168(1): 195–202.
187. Vieira, M.L.C., Santini, L., Diniz, A.L. и Munhoz, C.F. (2016). Microsatellite markers: What they mean and why they are so useful. *Genetics and Molecular Biology*, 39(3): 312–328.
188. von Büren, M. (2001). Polymorphisms in two homeologous gamma-gliadin genes and the evolution of cultivated wheat. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 48: 205–220.
189. Wang, J., Luo, M.C., Chen, Z., You, F.M., Wei, Y., Zheng, Y. и Dvorak, J. (2013). *Aegilops tauschii* single nucleotide polymorphisms shed light on the origins of wheat D-genome genetic diversity and pinpoint the geographic origin of hexaploid wheat. *New Phytologist*, 198: 925–937.
190. Wang, Y., Lu, D., Chung, Y.J. и cop. (2018). Genetic structure, divergence and admixture of Han Chinese, Japanese and Korean populations. *Hereditas*, 155: 19.
191. Wang, M.L., Barkley, N.A. и Jenkins, T.M. (2009). Microsatellite markers in plants and insects. Part I: Applications of biotechnology. *Genes, Genomes and Genomics*, 3(1): 13–27.
192. Wang, K.J., Li, X.H. и Liu, J. (2012). Fine-scale phylogenetic structure and major events in the history of the current wild soybean (*Glycine soja*) and taxonomic assignment of semi-wild type (*Glycine gracilis* Skvortz.). *Journal of Heredity*, 103(1): 13–27.
193. Wang, Y., Drader, T., Tiwari, V.K., Dong, L., Kumar, A., Huo, N., Ghavami, F., Iqbal, M.J., Lazo, G.R., Leonard, J., Gill, B.S., Kianian, S.F., Luo, M.C. и Gu, Y.Q. (2015). Development of a D-genome specific marker resource for diploid and hexaploid wheat. *BMC Genomics*, 16(1): 646.
194. Weber, J.L. (1990). Informativeness of human (dC-dA)_n·(dG-dT)_n polymorphisms. *Genomics*, 7: 524–530.
195. Wiens, J.J. (2005). Can incomplete taxa rescue phylogenetic analyses from long-branch attraction? *Systematic Biology*, 54: 731–742.
196. Wolowski, M., Freitas, L., Rudall, P.J. и cop. (2016). A revised evolutionary history of Poales: Origins and diversification. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 101(1): 217–238.
197. Xiao, Y., Xia, W., Ma, J., Mason, A.S., Fan, H., Shi, P., Lei, X., Ma, Z. & Peng, M. (2016). Genome-Wide Identification and Transferability of Microsatellite Markers between Palmae Species. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1578.
198. Xynias, I.N., Mylonas, I., Korpetis, E.G., Ninou, E., Tsaballa, A., Avdikos, I.D. и Mavromatis, A.G. (2020). Durum wheat breeding in the Mediterranean region: Current status and future prospects. *Agronomy*, 10(3): 432.
199. Yan, W. и Kang, M.S. (2003). *GGE Biplot Analysis: A Graphical Tool for Breeders*,
200. Yen, C., Yang, J., Yuan, Z., Ning, S. и Liu, D. (2020). Reihe system of genus *Triticum*. Bo: Biosystematics of Triticeae. Springer, Singapore.
201. Yu, J.K., Dake, T.M., Singh, S., Benscher, D., Li, W., Gill, B. & Sorrells, M.E. (2004). Development and mapping of EST-derived simple sequence repeat markers for hexaploid wheat. *Genome*, 47(5), 805–818.
202. Zhang, Y., Fan, C., Chen, Y. и cop. (2021). Genome evolution during bread wheat formation unveiled by the distribution dynamics of SSR sequences on chromosomes using FISH. *BMC Genomics*, 22: 55.

203. Zhang, D., Bai, G., Zhu, C. и соp. (2010). Genetic diversity, population structure, and linkage disequilibrium in U.S. elite winter wheat. *The Plant Genome*, 3(2): 117–127.
204. Zhang, Z., Xie, W., Zhao, Y. и соp. (2019). EST-SSR marker development based on RNA-sequencing of *Elymus sibiricus* and its application for phylogenetic relationships analysis of seventeen *Elymus* species. *BMC Plant Biology*, 19: 235.
205. Zohary, D., Harlan, J.R. и Vardi, A. (1969). The wild diploid progenitors of wheat and their breeding value. *Euphytica*, 18: 58–65.

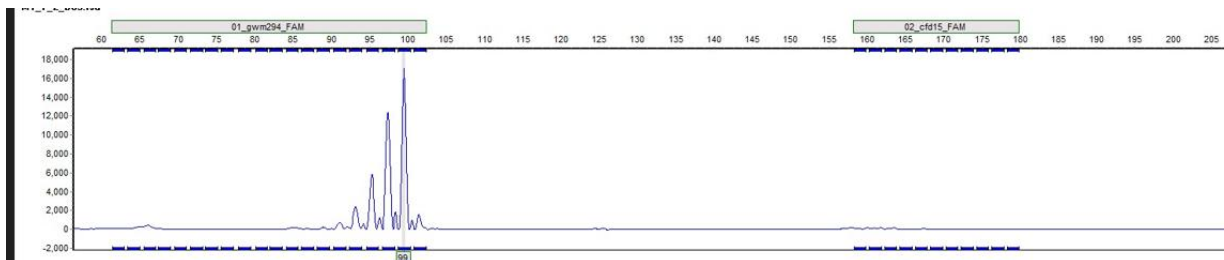
ПРИЛОЗИ



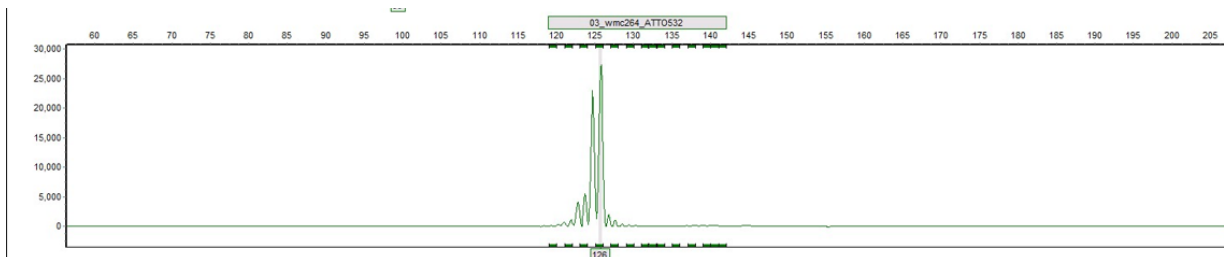
Слика 15 Електрофореграм на Xgwm294- локусот



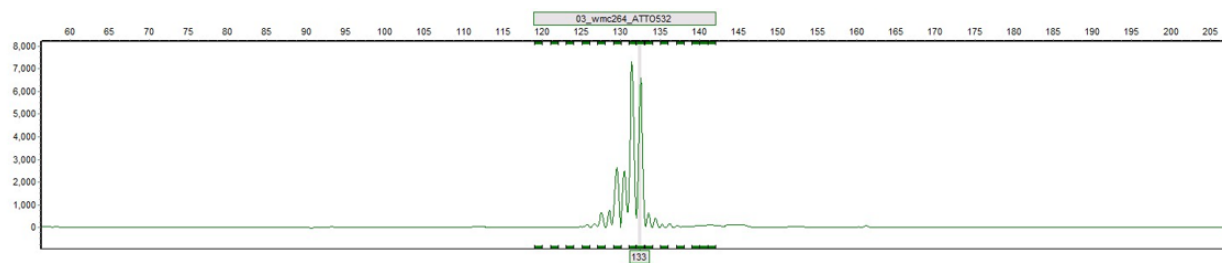
Слика 16 Електрофореграм на Xgwm294- локусот



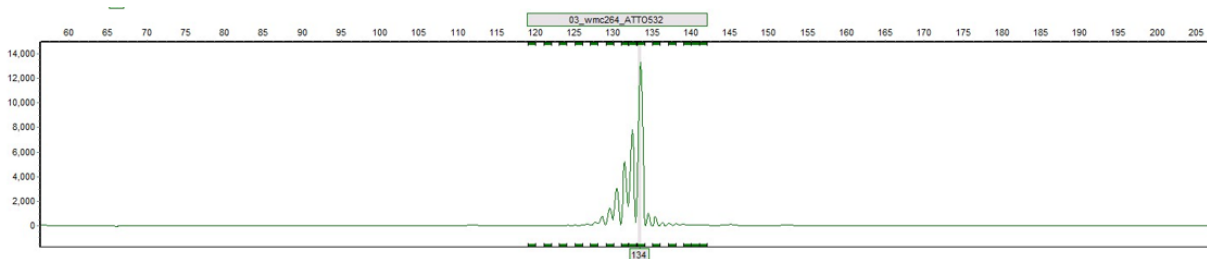
Слика 17 Електрофореграм на Xgwm294- локусот



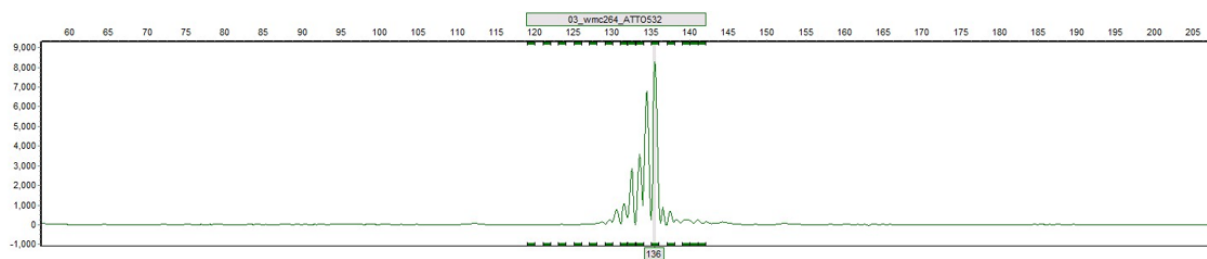
Слика 18 Електрофореграм на Xwmc264- локусот



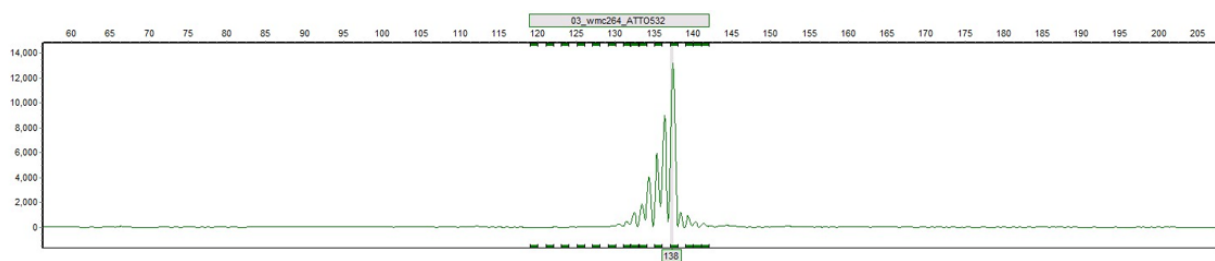
Слика 19 Електрофореграм на Xwmc264- локусот



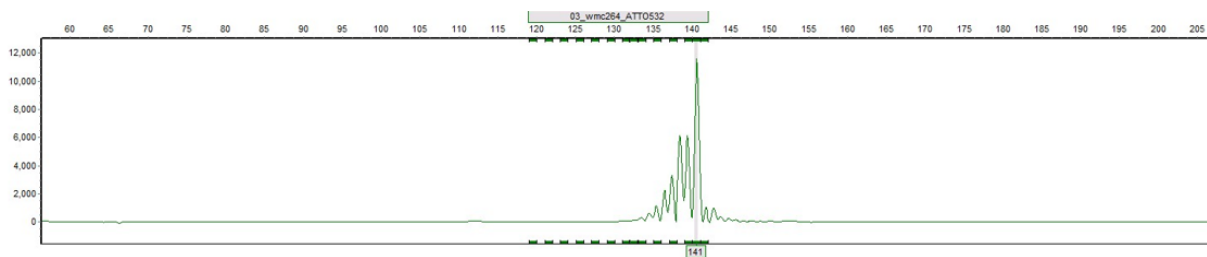
Слика 20 Електрофореграм на Xwmc264- локусот



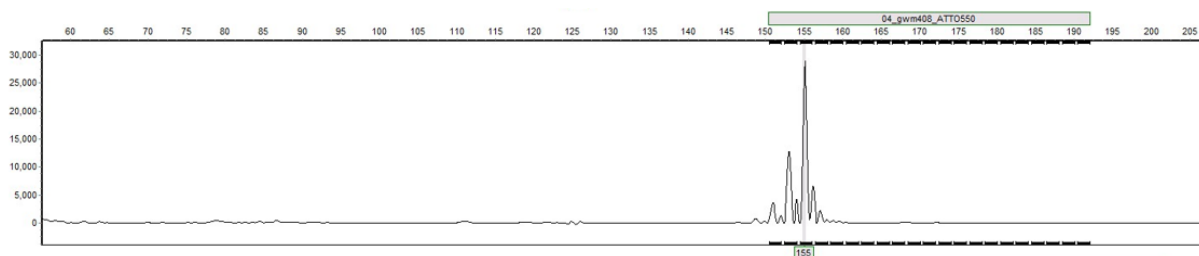
Слика 21 Електрофореграм на Xwmc264- локусот



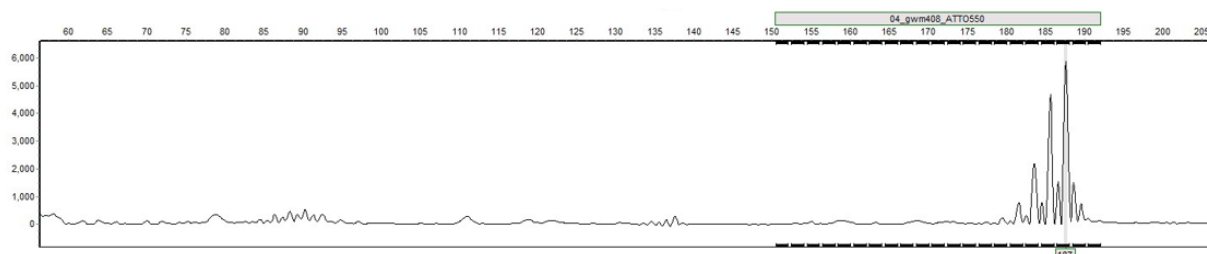
Слика 22 Електрофореграм на Xwmc264- локусот



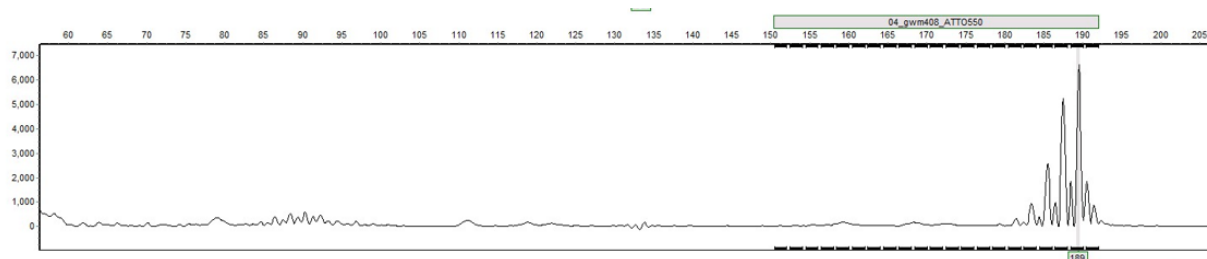
Слика 23 Електрофореграм на Xwmc264- локусот



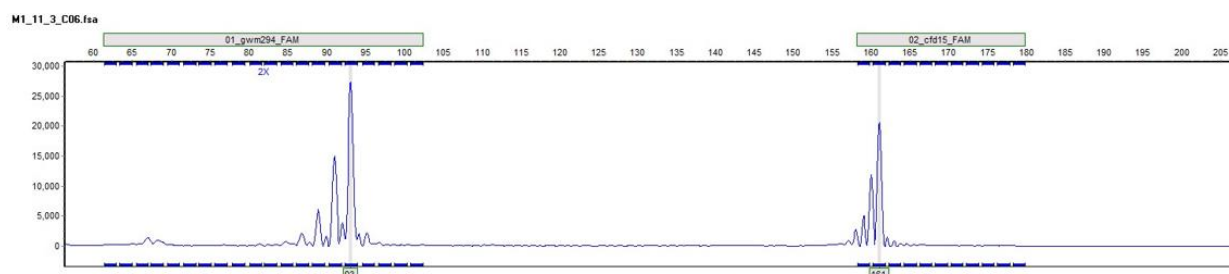
Слика 24 Електрофореграм на Xgwm408- локусот



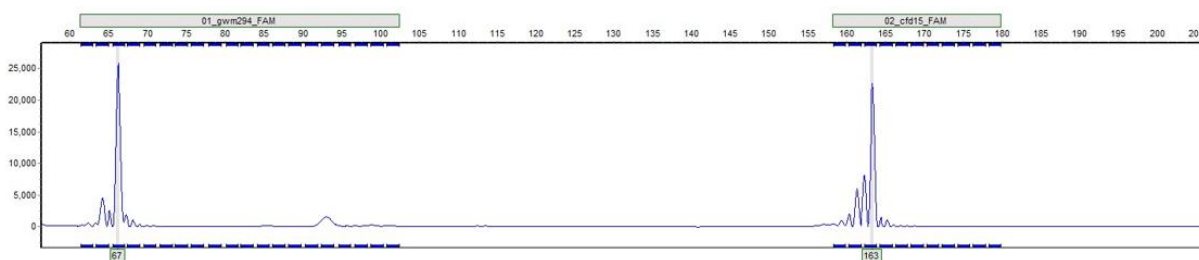
Слика 25 Електрофореграм на Xgwm408- локусот



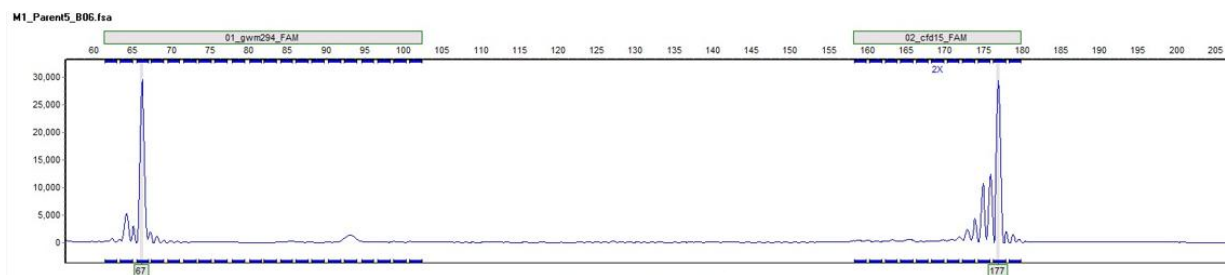
Слика 26 Електрофореграм на Xgwm408- локусот



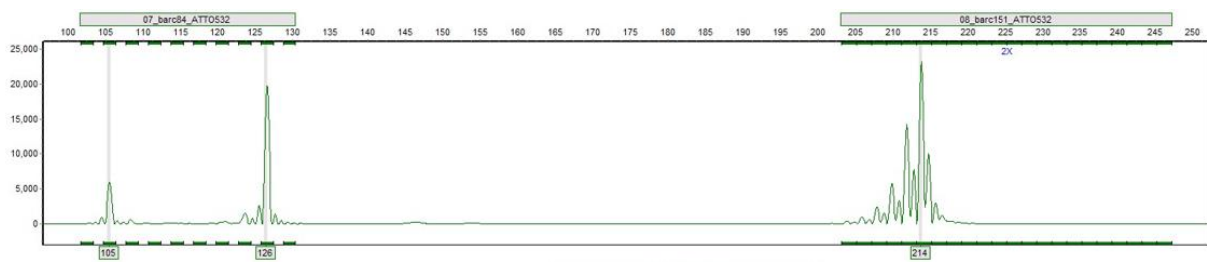
Слика 27 Електрофореграм на Xcfd15 – локусот



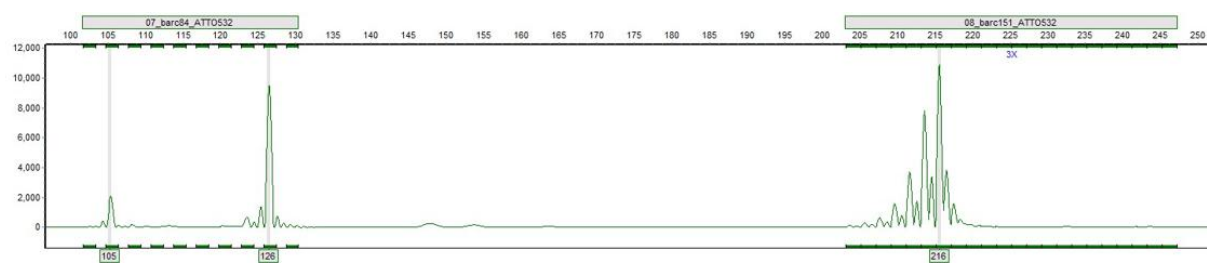
Слика 28 Електрофореграм на Xcfd15 – локусот



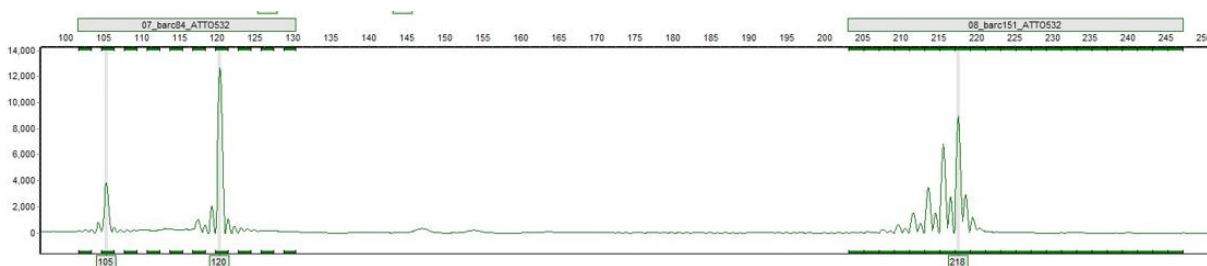
Слика 29 Электрофореграм на Xcfd15 – локусот



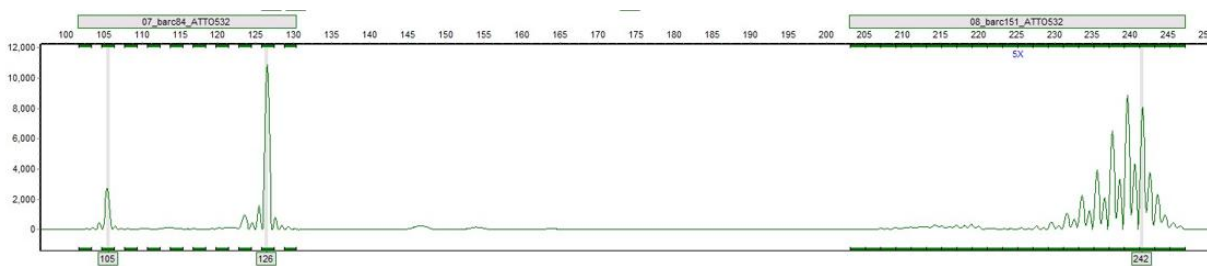
Слика 30 Электрофореграм на Xbarc151 – локусот



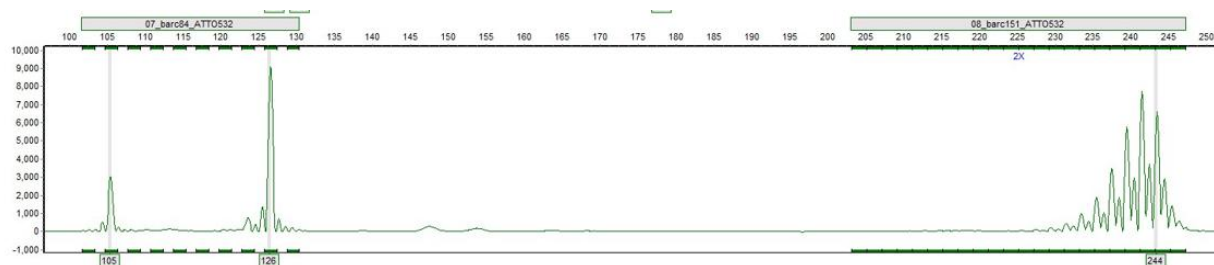
Слика 31 Электрофореграм на Xbarc151 – локусот



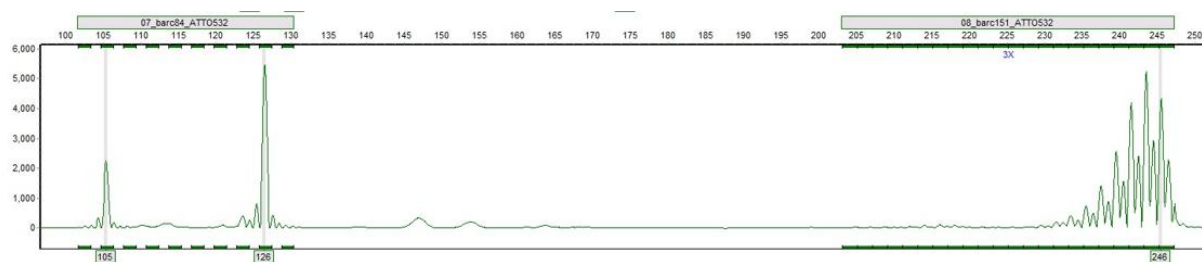
Слика 32 Электрофореграм на Xbarc151 – локусот



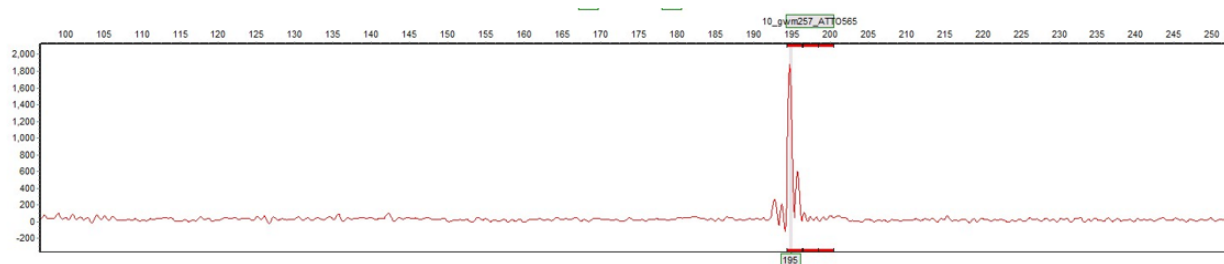
Слика 33 Электрофореграм на Xbarc151 – локусот



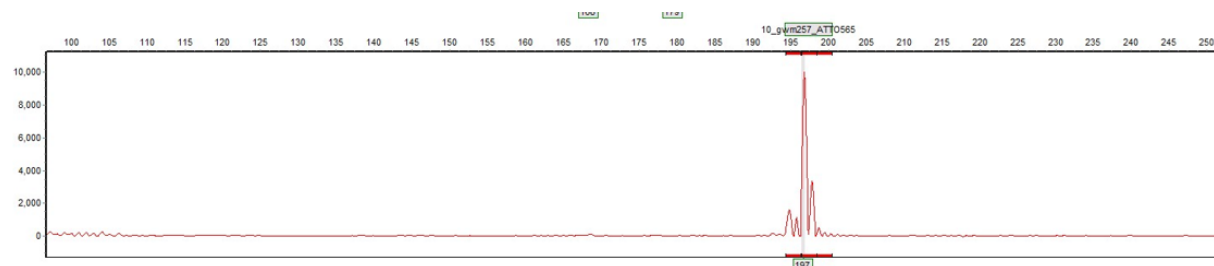
Слика 34 Електрофореграм на Xbarc151 – локусот



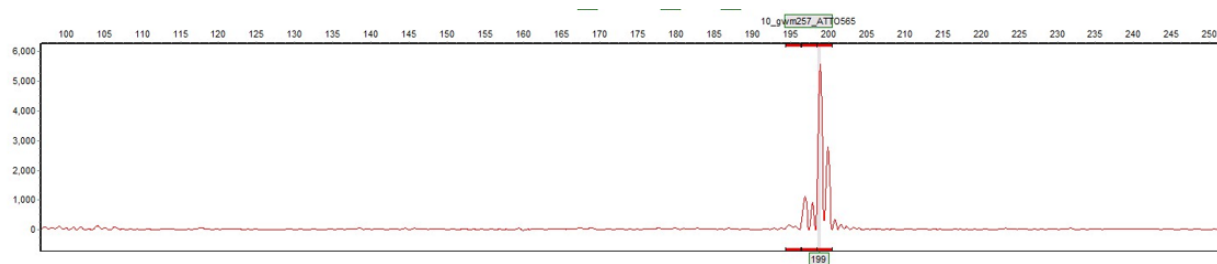
Слика 35 Електрофореграм на Xbarc151 – локусот



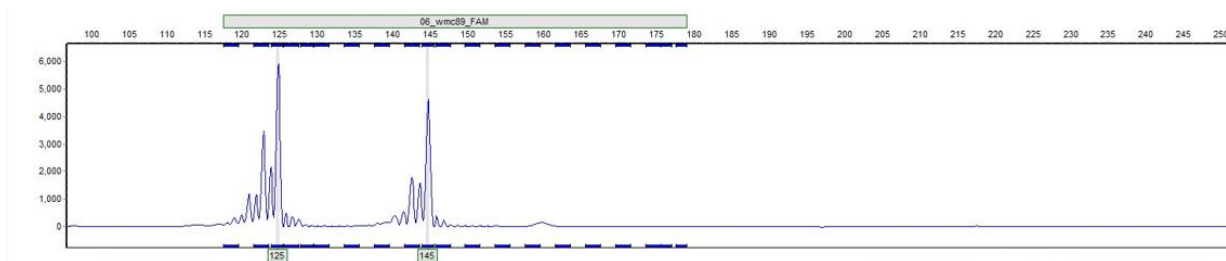
Слика 36 Електрофореграм на Xgwm257 – локусот



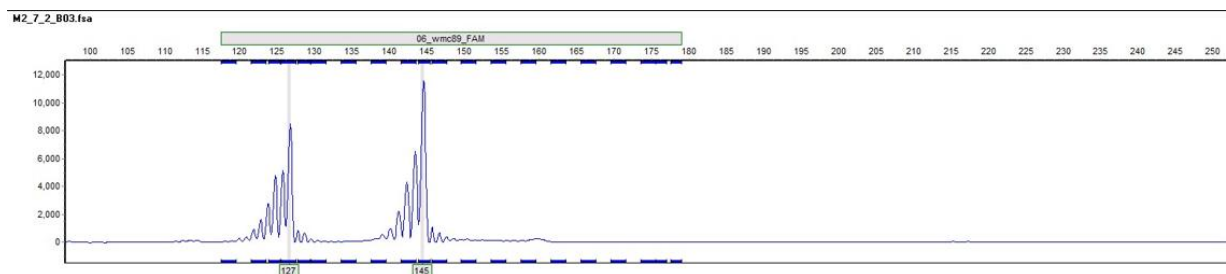
Слика 37 Електрофореграм на Xgwm257 – локусот



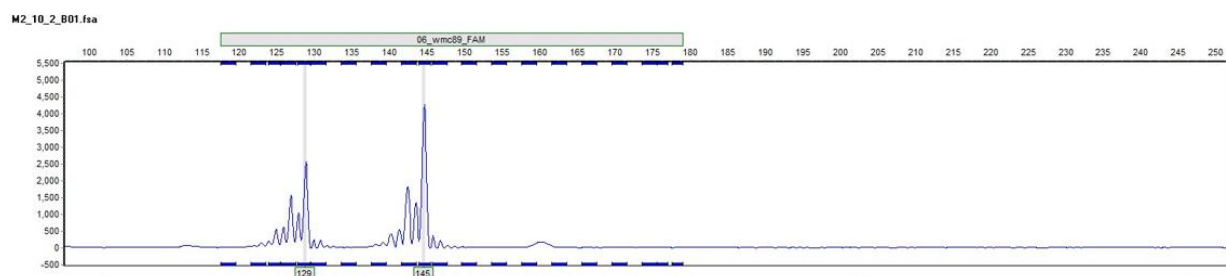
Слика 38 Електрофореграм на Xgwm257 – локусот



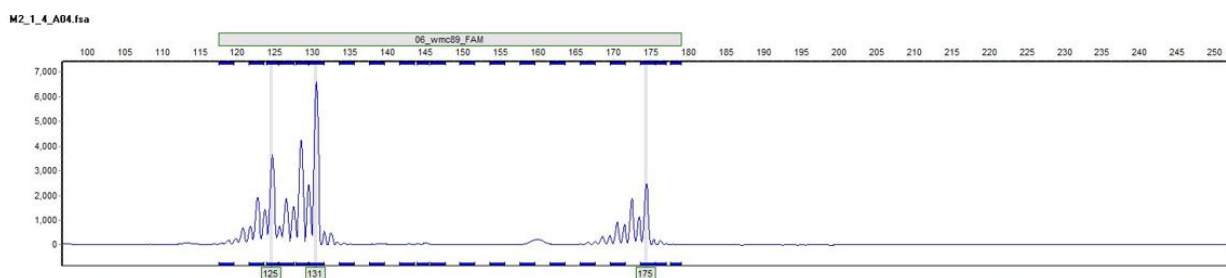
Слика 39 Электрофореграм на Xwmc89 – локусот



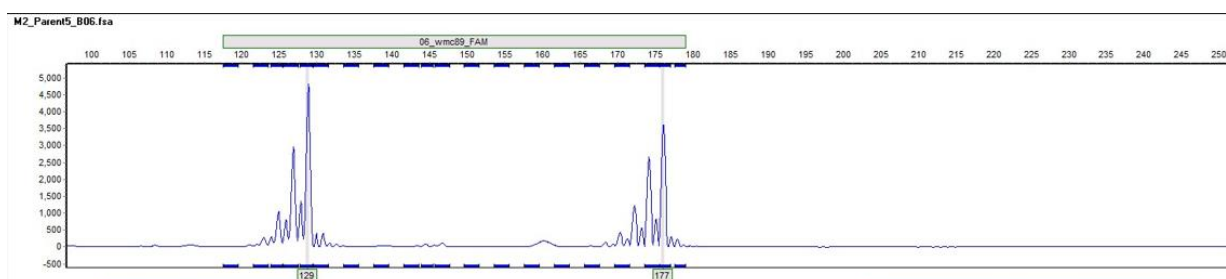
Слика 40 Электрофореграм на Xwmc89 – локусот



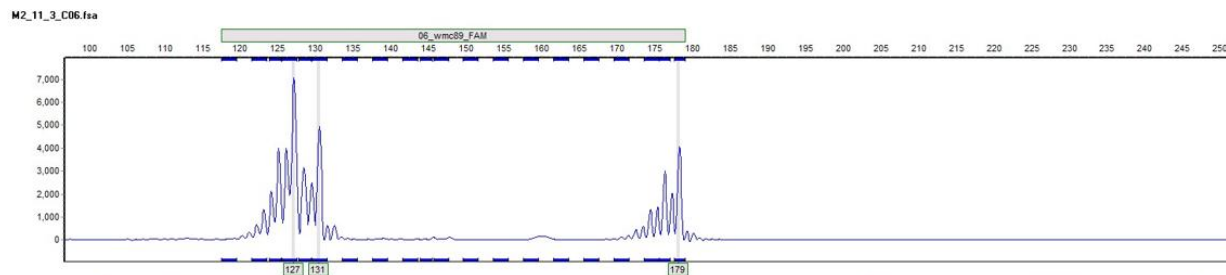
Слика 41 Электрофореграм на Xwmc89 – локусот



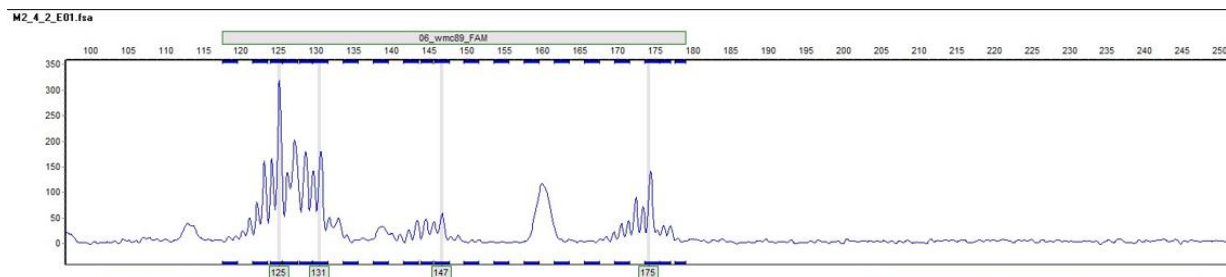
Слика 42 Электрофореграм на Xwmc89 – локусот



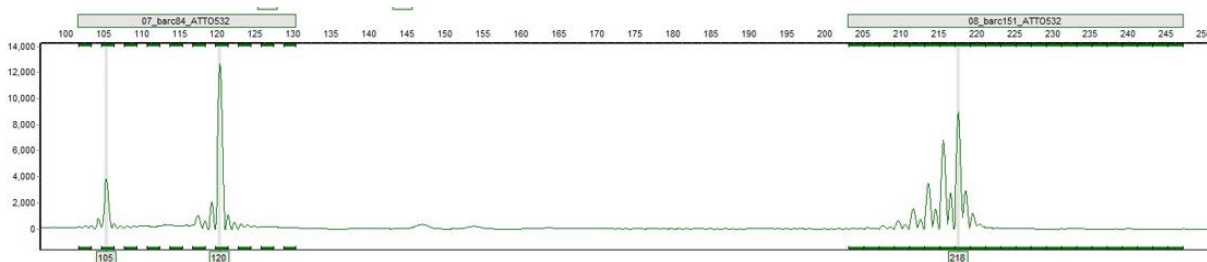
Слика 43 Электрофореграм на Xwmc89 – локусот



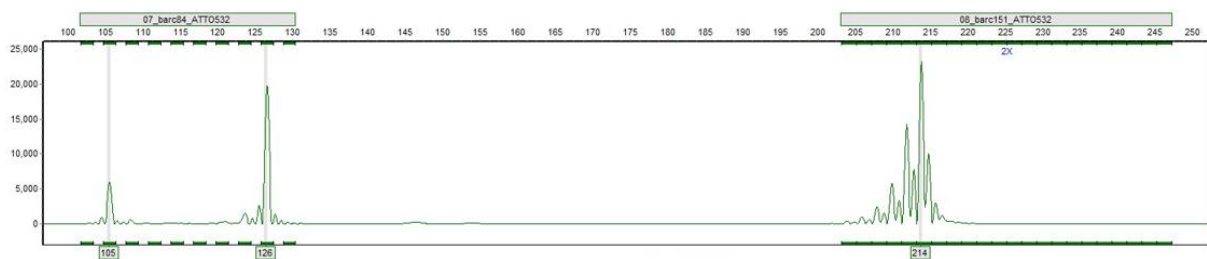
Слика 44 Электрофореграм на Xwmc89 – локусот



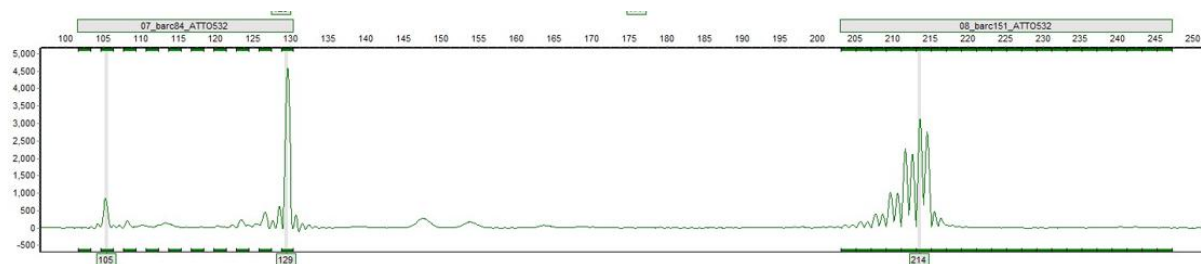
Слика 45 Электрофореграм на Xwmc89 – локусот



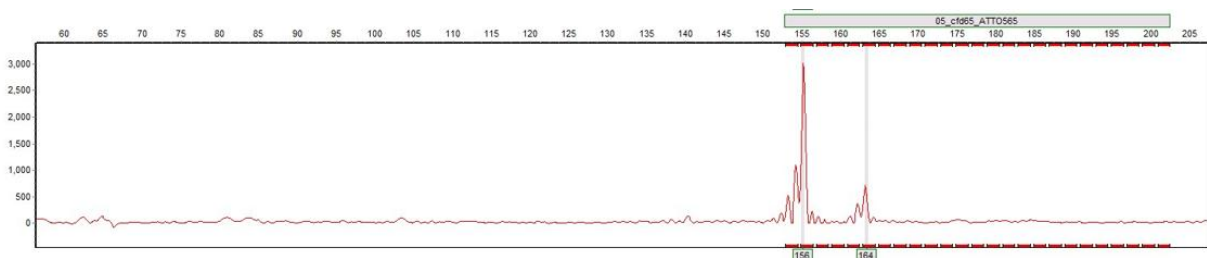
Слика 46 Электрофореграм на Xbarc84 – локусот



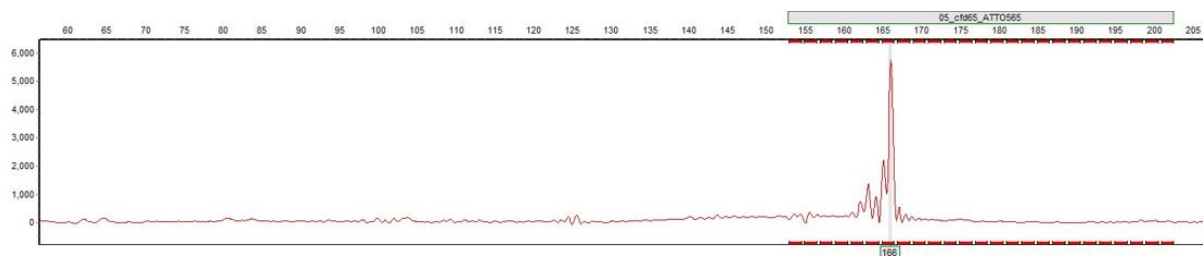
Слика 47 Электрофореграм на Xbarc84 – локусот



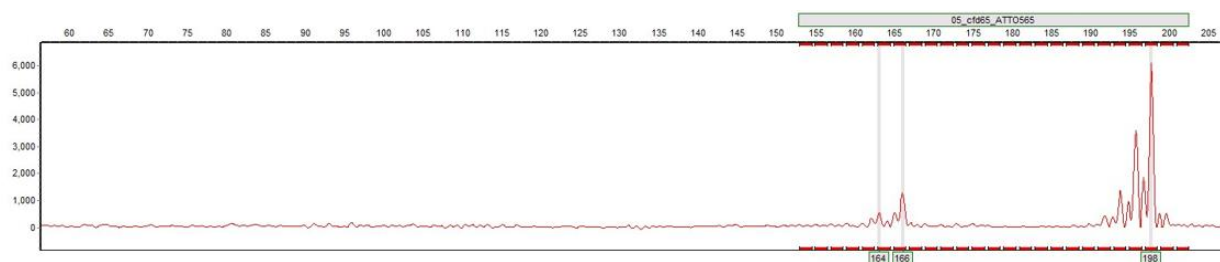
Слика 48 Электрофореграм на Xbarc84 – локусот



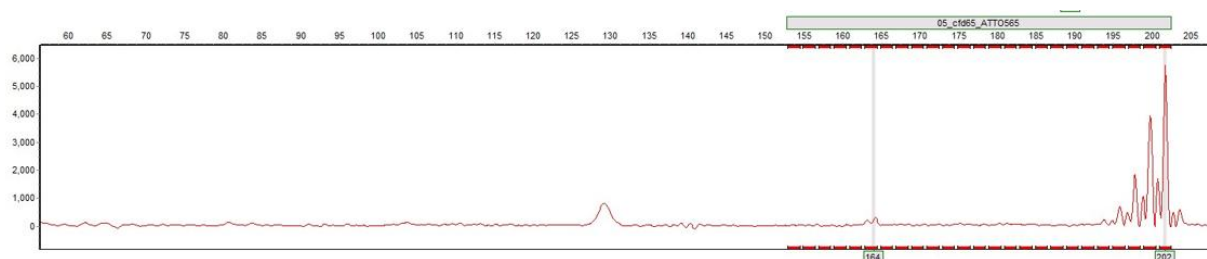
Слика 49 Электрофореграм на Xcfd65– locusот



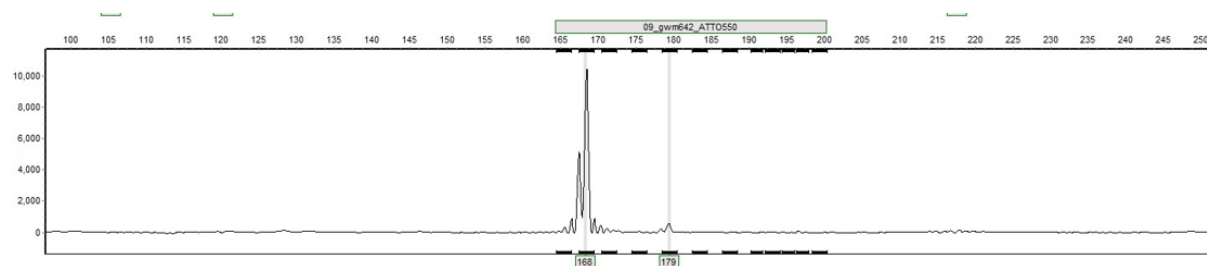
Слика 50 Электрофореграм на Xcfd65– locusот



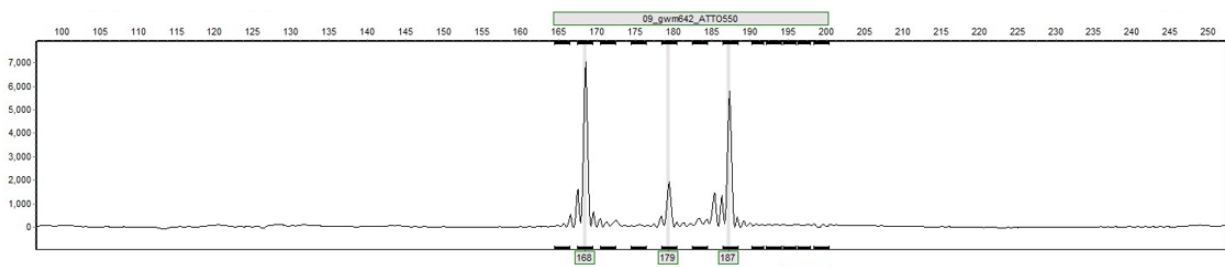
Слика 51 Электрофореграм на Xcfd65– locusот



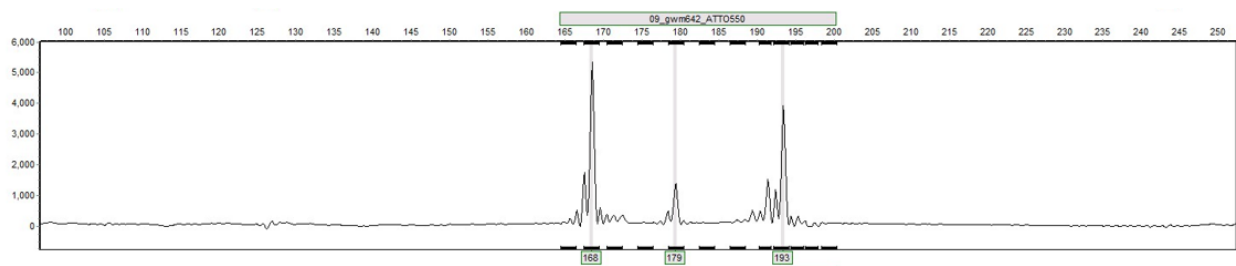
Слика 52 Электрофореграм на Xcfd65– locusот



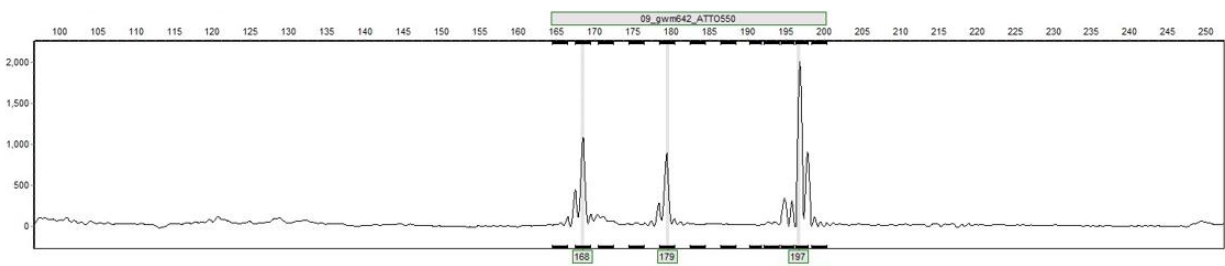
Слика 53 Электрофореграм на Xgwm642– locusот



Слика 54 Электрофореграм на Xgwm642– локусот



Слика 55 Электрофореграм на Xgwm642– локусот



Слика 56 Электрофореграм на Xgwm642– локусот

