

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Sveučilište u Dubrovniku

Institut Ruđer Bošković

Poslijediplomski interdisciplinarni sveučilišni studij

Molekularne bioznanosti

LOVRO VUKADINOVIĆ

**Modeliranje utjecaja zasušivanja korištenjem visokopropusne precizne
fenotipizacije i genotipizacije kukuruza**

Doktorski rad

Osijek, 2025.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Sveučilište u Dubrovniku
Institut Ruđer Bošković
Doktorski studij Molekularne bioznanosti
Znanstveno područje: Interdisciplinarno područje znanosti
Znanstvena polja: biologija, poljoprivreda

Doktorski rad

Modeliranje utjecaja zasušivanja korištenjem visokopropusne precizne fenotipizacije i genotipizacije kukuruza

Lovro Vukadinović

Doktorski rad je izrađen u: Poljoprivredni institut Osijek

Mentor/i: naslovni izv. prof. dr. sc. Domagoj Šimić, znanstveni savjetnik u trajnom izboru

Kratki sažetak doktorskog rada: 165 inbred linija kukuruza genotipizacijskog panela Poljoprivrednog instituta Osijek bilo je podvrgnuto progresivnom stresu suše u kontroliranim uvjetima s ciljem utvrđivanja varijabilnosti svojstava biomase, JIP testa, hiperspektralnog odziva te njihove korelacijske strukture. Cjelogenomske asocijacijske analize s molekularnim markerima također su provedene za odabrane parametre. Stres sušom je uzrokovao promjene u mjeranim parametrima gdje su zabilježeni karakteristični uzorci promjene vrijednosti, potkrijepljeni korelacijama između parametara. Analize s molekularnim markerima pokazale su značajne asocijacije s nekoliko parametara. Korišteno je četiri modela strojnoga učenja za ispitivanje sposobnosti predviđanja biomase na temelju svih fenotipskih i genotipskih podataka. Istraživanje je unaprijedilo razumijevanje stresa suše kod kukuruza i korištenih metoda fenotipizacije, asocijacijskih analiza i strojnog učenja u svrhu optimizacije oplemenjivačkih programa.

Broj stranica: 147

Broj slika: 44

Broj tablica: 6

Broj literaturnih navoda: 256

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: kukuruz, suša, fenotipizacija, genotipizacija, modeliranje

Datum javne obrane:

Povjerenstvo za javnu obranu:

- 1.
- 2.
- 3.
4. (zamjena)

Doktorski rad je pohranjen u: Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici Zagreb, Ul. Hrvatske bratske zajednice 4, Zagreb; Gradskoj i sveučilišnoj knjižnici Osijek, Europska avenija 24, Osijek; Sveučilištu Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Trg sv. Trojstva 3, Osijek

BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek
University of Dubrovnik
Ruder Bošković Institute
Doctoral Study of Molecular biosciences
Scientific Area: Interdisciplinary area of science
Scientific Fields: biology, agronomy

PhD thesis

Modeling of water withholding stress using high-throughput precise phenotyping and genotyping in maize

Lovro Vukadinović

Thesis performed at: Agricultural institute Osijek

Supervisor/s: adjunct professor. Domagoj Šimić, Ph.D., scientific advisor with tenure

Short abstract: 165 maize inbred lines from the genotyping panel of the Agricultural Institute Osijek were subjected to progressive drought stress under controlled conditions to determine the variability of traits of biomass, JIP test, hyperspectral responses and their correlation structure. Genome-wide association analyses with molecular markers were also performed for selected parameters. Drought stress caused changes in the measured parameters where characteristic patterns of value change were recorded supported by parameter correlation. Analyses with molecular markers showed significant associations with several parameters. Four machine learning models were used to test the ability of biomass prediction based on all available phenotypic and genotypic data. The research improves the understanding of drought stress in maize, as well as of the used phenotyping, genotyping and machine learning methods in order to optimize breeding programs.

Number of pages: 147

Number of figures: 44

Number of tables: 6

Number of references: 256

Original in: Croatian

Key words: maize, drought, phenotyping, genotyping, modeling

Date of the thesis defense:

Reviewers:

- 1.
- 2.
- 3.
4. (substitute)

Thesis deposited in: National and University Library in Zagreb, Ul. Hrvatske bratske zajednice 4, Zagreb; City and University Library of Osijek, Europska avenija 24, Osijek; Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Trg sv. Trojstva 3, Osijek

Sadržaj

1. Uvod.....	1
1.1 Značenje kukuruza.....	1
1.2 Suša kod kukuruza	1
1.3 Fenotipizacija za detekciju sušnog stresa.....	5
1.3.1 Fluorescencija klorofila	6
1.3.1.1 JIP test.....	9
1.3.2 Hiperspektralno snimanje.....	11
1.3.2.1 Vegetacijski indeksi.....	13
1.4 Genotipizacija i analiza genetske raznolikosti kod kukuruza.....	15
1.5 QTL analize i cjelogenomske studije pridruživanja (GWAS) kod kukuruza	15
1.6 Modeliranje i strojno učenje.....	17
2. Ciljevi.....	23
3. Materijal i metode	24
3.1 Biljni materijal i genotipizacija.....	24
3.2 Fenotipizacija	30
3.2.1 Priprema i uzgoj.....	30
3.2.2 Prikupljanje podataka.....	31
3.2.3 Obrada podataka	34
3.3 Cjelogenomska studija pridruživanja (GWAS)	34
3.4 Modeliranje i strojno učenje.....	35
4. Rezultati	38
4.1 Fenotipizacija	38
4.1.1 Phi_Po.....	41
4.1.2 Psi_o	43
4.1.3 Phi_Eo.....	45
4.1.4 Phi_Pav	47
4.1.5 Pi_Abs.....	49
4.1.6 NDVI	51
4.1.7 SRI	53
4.1.8 ZMI	55
4.1.9 PSNDa	57
4.1.10 RDVI.....	59
4.1.11 MCARI1	61
4.1.12 Greenness (G)	63
4.1.13 MCARI	65
4.1.14 GM1.....	67
4.1.15 GM2.....	69
4.1.16 Korelacije među indeksima.....	71
4.1.17 Mase svježe i suhe tvari	73

4.2 Cjelogenomska analiza pridruživanja (GWAS).....	76
4.3 Modeliranje i strojno učenje.....	86
4.3.1 PLSR.....	86
4.3.2 Random forest.....	90
4.3.3 XGBoost	94
4.3.4 CNN_MLP.....	98
5. Rasprava	103
5. Zaključci	114
6. Literatura.....	116
7. Sažetak	144
8. Summary.....	145
9. Životopis.....	146

1. Uvod

1.1 Značenje kukuruza

Kukuruz (*Zea mays* L.) je jedna od najbitnijih biljaka u svijetu koja je temeljno oblikovala ljudsku civilizaciju kroz tisućljetnu domestikaciju i uzgoj. Smatra se da potječe s meksičkih i gvatemalskih visoravni od prije 7.000 – 10.000 godina iz divlje vrste trave native tom području, teozinte (Hallauer i Carena, 2009.). S prostora srednje Amerike brzo se proširio po Južnoj Americi u smjeru Anda i kasnije duž istočne obale kroz Brazil te po Sjevernoj Americi prema današnjem teritoriju Kanade, a u Europu je stigao krajem 15. stoljeća. (Tenaillon i Charcosset, 2011.). Kukuruz posjeduje najširi raspon kultivacije od svih usjeva, od 50°S Kanade do 40°J Čilea, od planinskog lanca Anda (3.400 m nadmorske visine) do Karipskog otočja (Tenaillon i Charcosset, 2011.).

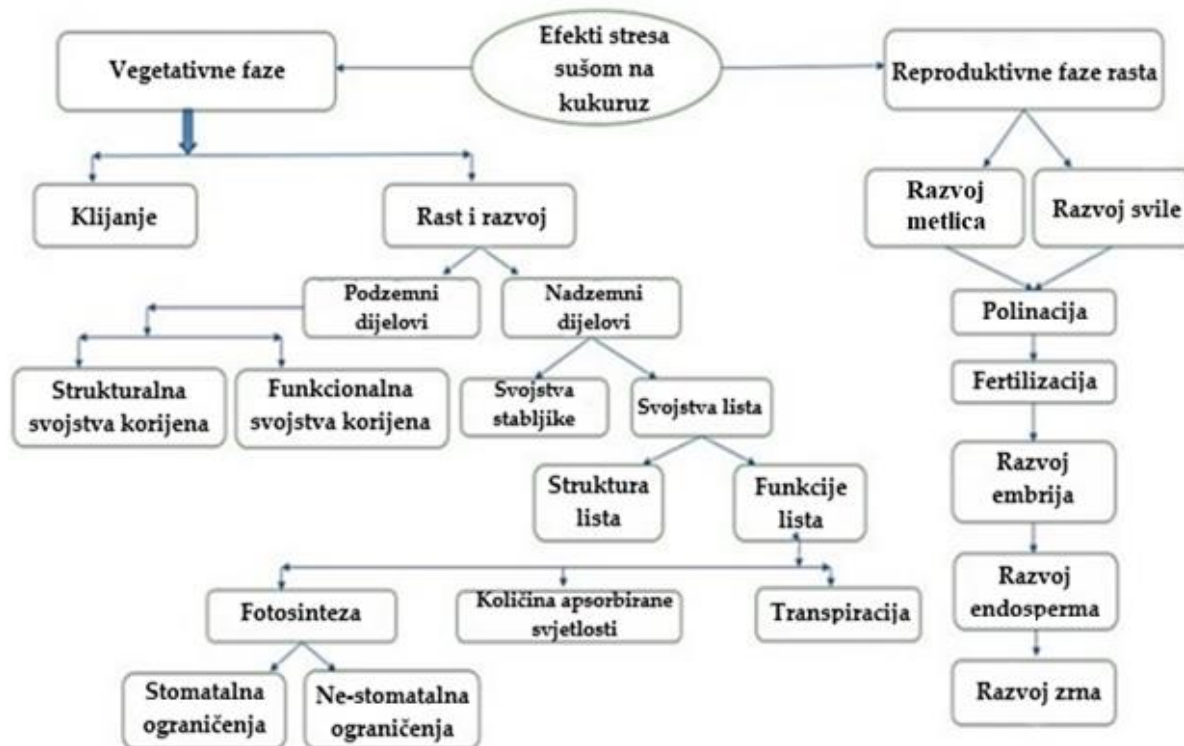
Uz rižu i pšenicu, kukuruz je vodeća kultura žitarica, a skupa čine veliku sastavnicu ljudske prehrane s udjelom od 42% svjetskih kalorija i 37% proteinskog unosa (Erenstein i sur., 2022.). U proteklih 60 godina, proizvodnja kukuruza je porasla šesterostruko s oko 200 milijuna tona (1961.) na 1,24 milijardi tona (2023.) (FAOSTAT) s procijenjenom ukupnom uzgojnom površinom od 197 milijuna hektara godišnje što ga čini drugim usjevom po uzgoju nakon pšenice (Erenstein i sur., 2022.). S obzirom na široku rasprostranjenost i uporabu kukuruza, velik broj ljudi se oslanja upravo na ovaj usjev kao temeljnu prehrambenu ratarsku kulturu). Kukuruz se, direktno kao hrana, najviše koristi u zemljama niskih do niže-srednjih primanja (Erenstein i sur., 2022.), stoga su te regije drastičnije pogođene potencijalnim poremećajima u proizvodnji i opskrbi kukuruzom.

1.2 Suša kod kukuruza

Jedna od značajnih prijetnji globalnoj proizvodnji usjeva, pa tako i kukuruza, predstavljaju klimatske promjene. Promjena klime sa sobom donosi dugoročne promjene u vremenskim obrascima i povećanu incidenciju ekstremnih klimatskih pojava koje postaju sve nepredvidljivije i jačeg intenziteta. (Li i sur., 2022.) navode kako bi porast temperature od 1,5°C i 2,0°C i mogao rezultirati smanjivanjem prinosa kukuruza za 0,18 % (pri 1,5°C) i 10,8 % (pri 2,0°C). Dalje ističu važnost i hitnost poduzimanja mjera adaptacije i smanjivanja negativnih utjecaja klimatskih promjena. Drastične promjene uvjeta okoliša rezultiraju

suboptimalnim i ekstremnim uvjetima uzgoja usjeva što rezultira povećanjem abiotskog stresa i smanjivanjem produktivnosti.

Suša, kao prirodna pojava i abiotski stres predstavlja značajnu prijetnju proizvodnji usjeva. Međutim, klimatske promjene su rezultirale ubrzanjem hidroloških procesa i bržim nastupanjem suša koje su ujedno i jačeg intenziteta (Mukherjee i sur., 2018.). Kukuruz kao kultura, iako učinkovit u iskorištavanju vode, osjetljiv je na sušu. Suša može nastupiti u bilo kojem trenutku rasta i razvoja kukuruza te negativno utjecati na potencijal klijanja, rast klijanca, rast i razvoj biljke, razvoj polena i svile, interval polinacija-svilanje, razvoj embrija i endosperma te razvoj zrna (Aslam i sur., 2015.). Početne faze rasta i razvoja kukuruza (do razvoja sedmog-osmog lista) su kritične kod stresa sušom jer suša u tom periodu može rezultirati slabijom uspostavom stabljike i pod ekstremnim uvjetima potpunim neuspjehom uspostave klijanaca (Aslam i sur., 2015.). Efekti sušnog stresa na vegetativnu i reproduktivnu fazu kukuruza su prikazani na Slici 1. Iz prikaza se vidi kako suša negativno djeluje na više procesa vegetativne faze koja uključuje klijanje, razvoj korijena (strukturnih i funkcionalnih svojstava) i nadzemnih dijelova, stabljika i lišća. Ove promjene utječu na fotosintezu (putem stomatalnih i nestomatalnih ograničenja), količinu apsorbirane svjetlosti i transpiraciju. U reproduktivnoj fazi, stres suše utječe na razvoj metlica i svile, remeteći procese oprašivanja i oplodnje što za rezultat ima negativan utjecaj na razvoj embrija, endosperma i zrna te u konačnici smanjuje prinos zrna.



Slika 1. Efekti sušnog stresa na vegetativnu i reproduktivnu fazu kukuruza (Prilagođeno prema (Aslam i sur., 2015.))

Odgovori na stres sušom su specifični za biljnu vrstu, stadij razvoja, intenzitet i trajanje stresa, a otpornost se generalno definira kao sposobnost biljke za detekciju deficita vode i pokretanje obrambenog odgovora (Liu i Qin, 2021.). Sposobnost biljaka da se nose s nametnutim stresom se drastično razlikuje ne samo između različitih kultura, nego i unutar same kulture (između genotipova). Wang i sur. (2016.) navode raspon stope preživljavanja klijanaca, 367 različitih inbred linija kukuruza pri jakoj suši, od 83 % do 2 %, što dodatno ukazuje na veliku genetsku raznolikost za ovo svojstvo. Kako bi se smanjile negativne posljedice klimatskih promjena na uzgoj i proizvodnju kukuruza i zajamčila sigurnost hrane i opskrba ovom važnom kulturom, bitna strategija istraživača je upravo oplemenjivanje u svrhu povećanja tolerantnosti na stres sušom.

Istraživanja utjecaja stresa sušom na kukuruz su se intenzivirala u drugoj polovini prošlog stoljeća s istraživanjima u kojima su istraživači uspostavili temeljnu terminologiju i konceptualni okvir koji se i danas koristi: bijeg od suše (završetak životnog ciklusa prije stresa), izbjegavanje suše (održavanje sadržaja vode u tkivu unatoč suši u tlu) i tolerancija na sušu (održavanje funkcije pri niskim vodnim potencijalima). Claassen i Shaw, (1970.) su pokazali da ozbiljan nedostatak vode u razdoblju od nekoliko dana prije svilanja do otprilike 25 dana

nakon toga može u potpunosti eliminirati prinos, uspostavljajući kritični prozor ranjivosti koji je i danas u fokusu istraživačke strategije. Istraživanja Westgate i Boyer (1986.) rezultirala su bitnim uvidima u reproduktivnu fiziologiju kukuruza pri uvjetima suše. Bitna otkrića vezana za metaboličke mehanizme koji stoje iza gubitka prinosa uzrokovanog sušom su povezana s istraživanjima devedesetih godina (Zinselmeier i sur., 1995.; Zinselmeier i sur., 1995.).

Ziyomo i Bernardo, (2013.) navode kako je izbor sekundarnih svojstava visoke heritabilnosti i značajnih genetskih korelacija s agronomskim svojstvima od komercijalnog interesa učinkovitiji pristup od direktne selekcije te kako cjelogenomska selekcija može povećati genetske dobitke po jedinici vremena za prinos zrna pri uvjetima suše. Sekundarna svojstva se mogu klasificirati na temelju njihovog doprinosa jednoj ili više determinanta prema kojima je moguće modeliranje prinosa, a one su količina transpirirane vode, učinkovitost iskorištavanja vode (engl. *water use efficiency*; WUE) i žetveni indeks (Ribaut i sur., 2009.). U navedena svojstva, prema autorima, svrstavaju se dubina i zdravlje korijena, površina lista, uvijanje listova (*leaf rolling*), osmotska prilagodba, stomatalna provodljivost, temperatura površine listova, vodna provodljivost, koncentracija apscisinske kiseline, fotosintetska aktivnost, interval polinacija-svilanje, rast klipa i broj klipova po biljci, broj zrna po klipu, senescencija listova, koncentracija klorofila u listovima i visina biljke.

Privatni sektor je značajno utjecao na poboljšanje germplazme kukuruza u kontekstu stresa sušom s kompanijama poput Pioneer-a i DeKalb-a koji su prednjačili u ovim oplemenjivačkim pothvatima. (Castleberry i sur., 1984.). Aslam i sur., 2015.) navode doprinose i ostalih organizacija diljem svijeta u oplemenjivanju s ciljem poboljšanja tolerantnosti na sušu, gdje izdvajaju Međunarodni centar za poboljšanje kukuruza i pšenice (*International Maize and Wheat Improvement Center*; CIMMYT), čiji su preliminarni pozitivni rezultati utjecali na povećan interes za ulaganja te su projekti poput *The Water Efficient Maize for Africa* (WEMA) i *The Drought Tolerant Maize for Africa* (DTMA) privukli strane investitore s velikim ulozima. Korištenje kontroliranog okruženja zajedno s robusnim eksperimentalnim dizajnom i temeljitim statističkim analizama pomaže u povećanju točnosti procjena genotipskih srednjih vrijednosti (Sheoran i sur., 2022.)

1.3 Fenotipizacija za detekciju sušnog stresa

Za ispitivanje stanja usjeva u uvjetima stresa, u svrhu boljeg razumijevanja genetičkih odrednica svojstava otpornosti, razvijene su brojne tehnike fenotipizacije. Poseban naglasak se stavlja na opće pristupačne, neinvazivne, pouzdane metode visoke propusnosti (*high-throughput precise phenotyping*) koje mogu generirati veliku količinu podataka u relativno kratkom vremenu. Sun i sur. (2022.) navode kako se ulažu veliki napor u razvoj asortimana optičkih senzora visokopropusnih fenotipizacijskih tehnologija. Današnja istraživanja u fokus stavljaju uporabu visokopropusne fenotipizacije koja pruža mogućnost zabilježbe kompleksnih fenotipskih varijacija te pouzdanu fenotipizaciju većeg broja genotipova na manjoj površini i u ranijoj fazi razvoja smanjujući trajanje uzgojnih ciklusa i gubitak potencijalno važnih alela (Rebetzke i sur., 2019.). Moderne fenomske platforme za cilj imaju zabilježbu svojstava poput razvoja biljke, arhitekture (strukturne građe), fotosintetske učinkovitosti, stope rasta ili produktivnosti biomase na stotinama i tisućama biljaka u jednom danu (Mir i sur., 2019.). Također, umjesto ograničavanja fenotipa na osobine koje ljudsko oko može uočiti, uporabom modernih senzora i integracije s umjetnom inteligencijom omogućeno je istraživanje cijelog fenoma, odnosno kompletnog raspona fenotipske ekspresije, koji obuhvaća i vidljiva i skrivena svojstva na koje utječu genetski, okolišni i razvojni čimbenici (Zdrazil i sur., 2025.).

Nedavni trendovi istraživanja korištenjem fenotipizacije u fokus stavljaju visokopropusne fenotipske tehnologije visoke preciznosti i velike pristupačnosti, posebice fenotipizacija temeljena na uporabi optičkih senzora i sustava za prikupljanje podataka koji označavaju novu digitalnu eru fenotipizacije usjeva (Sun i sur., 2022.). Aktualne metode s pripadajućim sensorima temeljene na različitim elektromagnetnim odgovorima na raznim valnim duljinama su navedene također u radu Sun i sur. (2022.) , a uključuju RGB snimanje (*red-green-blue imaging*), fluorescencija klorofila, kompjutorizirnu tomografiju X-zrakama (*X-ray CT*), mjerenje hiperspektralnog i multispektralnog odziva, termalne snimke, snimke magnetske rezonancije (MRI) i Raman snimanje, te trodimenzionalno snimanje morfologije biljaka ToF (*time-of-flight*) tehnike i LiDAR (*light detection and ranging*).

Trenutno korištene neinvazivne metode za kontinuirano praćenje stanja usjeva se kategoriziraju u dvije skupine: daljinsko očitavanje (*remote sensing*) i proksimalno (blizinsko) očitavanje (*proximal sensing*). *Remote sensing* je jedna od tehnologija precizne poljoprivrede koja podrazumijeva prikupljanje podataka pri različitim prostornim, vremenskim i spektralnim

rezolucijama s daljine, korištenjem senzora koji uključuju zabilježbe vidljivog dijela spektra, multispektrale i hiperspektralne snimke, termalne i mikrovalne zapise te platforme poput satelita, pilotnih letjelica, bespilotnih letjelica (*unmanned aerial vehicles*; UAV), bespilotnih zračnih sustava (*unmanned aerial systems*; UAS) ili dronova (Khanal i sur., 2020.). Ovakav tip prikupljanja podataka ima ograničenja poput interferencija nepovoljnim vremenskim uvjetima, atmosferskim uvjetima i potencijalnom periodu potrebe za ponovno prikupljanje podataka (*revisit time*), koja se mogu nadvladati korištenjem proksimalnog mjerenja koje posjeduje ključnu prednost proksimalnih senzora – vlastiti izvor svjetla (Darra i sur., 2021.). Nadalje, osim potencijalnih interferencija mjerenjem u poljskim uvjetima, biljke uzgajane u polju pokazuju veću varijabilnost (prostorne i vremenske varijacije u dozračenom sunčevom svjetlu, svojstva tla, mikroklima i biološki pritisak od strane nametnika) što za rezultat ima otežanu detekciju i kvantifikaciju genetskih čimbenika koji imaju utjecaj na fenotip (Ge i sur., 2016.). Način rješavanja ovog problema može biti uzgoj u kontroliranim uvjetima za izučavanje fenotipskih razlika između različitih genotipova pod kontroliranim uvjetima stresa (Ge i sur., 2016.).

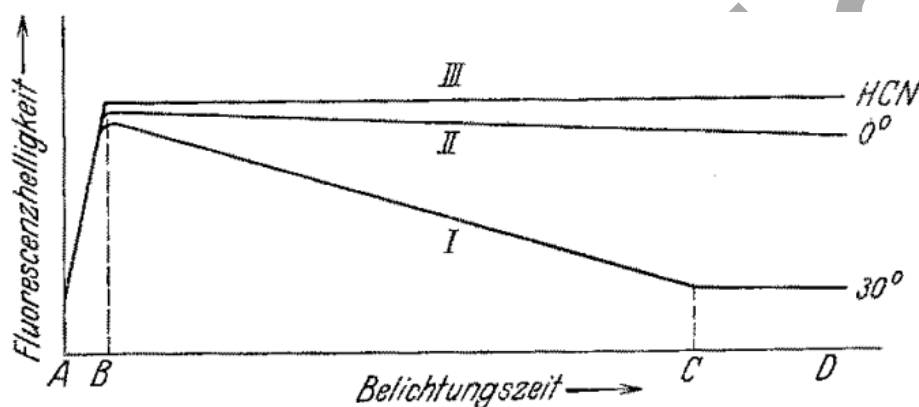
1.3.1 Fluorescencija klorofila

Mjerenje fluorescencije klorofila (ChlF) je u zadnjim desetljećima obilježilo biljnu fiziologiju kao jedna od najprimjenjivanijih metoda ispitivanja stanja usjeva u raznim uvjetima uzgoja (toplinski stres, stres teškim metalima, stres sušom, solni stres, biotski stres i dr.). Ova spektroskopska metoda se temelji na iskorištavanju reemitiranog svjetla iz molekula klorofila nakon apsorpcije svjetla za dobivanje informacija o funkcijama fotosintetskog aparata i potencijalnom utjecaju okolišnih faktora na promjenu njegove funkcije.

Apsorbirana svjetlost u klorofilu ima tri ishoda: koristi se u procesu fotosinteze, raspršuje se kao toplina ili se reemitira kao fluorescencija u crvenom dijelu spektra (650 – 850 nm) (Bolhar-Nordenkamp i sur., 1989.). Relativni udio energije koja prati pojedini ishod pruža ključne informacije o učinkovitosti i zdravlju fotosustava II (PSII), što mjerenje fluorescencije čini posebno vrijednim za procjenu fotosintetske učinkovitosti u različitim uvjetima okoline.

Fenomen fluorescencije klorofila je prvi puta sustavno proučavan tridesetih godina prošlog stoljeća od strane Kautskyja i Hirscha koji su primijetili karakterističan porast i pad intenziteta fluorescencije pri naglom osvjetljavanju listova adaptiranih na mrak (Kautsky i Hirsch, 1931.). Iz ovog razloga se ta pojava danas i naziva Kautskyjev efekt. U radu su opisana tri vremenska

perioda kinetike fluorescencije klorofila koja su prikazana na slici 2: (1) A-B: nagli porast fluorescencije od slabe do maksimuma. (2) B-C: spori pad od maksimuma fluorescencije. (3) C-D: period u kojem je fluorescencija konstantna (stacionarna faza); nekoliko minuta nakon osvjetljavanja. (Lichtenthaler i Rinderle, 1988.)



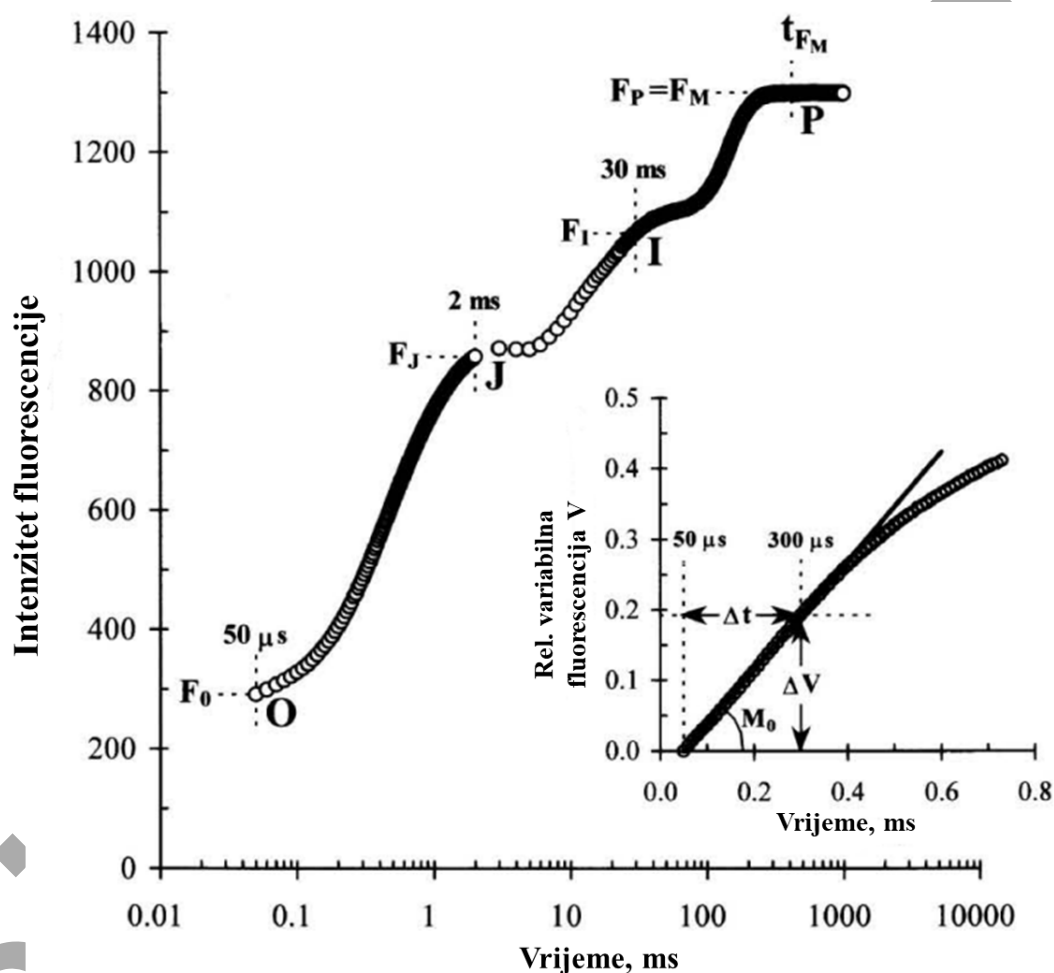
Slika 2. Izvorni shematski prikaz promjene intenziteta fluorescencije klorofila listova nakon osvjetljavanja pri: 30°C (I), pri 0°C (II) i prilikom apliciranja cijanida (III). Os apcisa: vrijeme osvjetljavanja; os ordinata: intenzitet fluorescencije; Preuzeto iz (Kautsky i Hirsch, 1931)

Znanstvena osnova ove metode je dodatno učvršćena istraživanjima Weisa i Berrya (1987.) i Gentya i sur. (1989.) utvrđivanjem kvantitativnih odnosa između brzine transporta elektrona i prinosa fluorescencije te identifikacijom F_v/F_m omjera (maksimalni kvantni prinos fotokemije fotosustava II) kao osjetljivog indikatora za otkrivanje fotoinhibicije PSII izazvane različitim faktorima stresa od strane Krausea (1988.) te Krausea i Weisa (1991.).

Molekule klorofila *a* su integralne komponente kompleksa za prikupljanje svjetlosti (*light-harvesting complex*; LHC) kao dio fotosustava PSI i PSII u tilakoidnim membranama klorofila. Apsorpcija fotona od strane molekula antena ekscitira molekule klorofila (Chl^*) s početnog S_0 na prvo elektronski pobuđeno stanje S_1 u izrazito kratkom vremenu ($< 10-15$ s) (Misra i sur., 2012.).

Energija dobivena apsorpcijom fotona se u PSII koristi za cijepanje molekula vode na molekularni kisik i elektrone što se odvija u lumenu tilakoida stvarajući protonski gradijent kroz tilakoidnu membranu (Cooper, 2000.). Visoko-energizirani elektroni bivaju preneseni kompleksu citokroma *bf* (membranski proteinski kompleks u funkciji plastokinon:plastocijanin oksidoreduktaze (Clark i Hind, 1983.)) putem plastokinona ka plastocijaninu koji ih predaje fotosustavu i gdje apsorpcija dodatnih fotona ponovo generira visoko-energizirane elektrone (Cooper, 2000.).

Šest desetljeća nakon inicijalne opservacije Kautsky-jevog efekta (tranzijenta), isti efekt je zabilježen u većoj vremenskoj rezoluciji pokazujući polifaznu strukturu tranzijenta koju možemo vidjeti na Slici 3.



Slika 3. Tipični polifazni (OJIP) porast fluorescencije klorofila *a* kod viših biljaka na logaritamskoj skali od 50 μ s do 1 s. Oznake predstavljaju odabrane podatke fluorescencije za JIP-test za izračunavanje strukturalnih i funkcijskih parametara. Signali su: intenzitet fluorescencije F_0 (50 μ s), intenziteti fluorescencije F_J (2 ms) i F_I (30 ms), maksimalni intenzitet fluorescencije $F_P=F_M$ (t_{F_M}). Dodatak grafa prikazuje tranzijent izražen kao relativna varijabilna fluorescencija $V=(F-F_0)/(F_M-F_0)$ nasuprot vremenu od 50 μ s do 1 ms. (Prilagođeno iz: (Strasser i sur., 2004.))

Tranzijent fluorescencije posjeduje točke infleksije označene grupnim nazivom OJIP, pri čemu svako slovo predstavlja jednu fazu (O- *origin*, J i I su intermedijarne faze i P- *peak*). Uz navedene faze u nekim slučajevima P-faza može biti razdijeljena na G (nije prisutno u angiospermama; rana aktivacija feredoksin-NADP⁺-reduktaze) i H fazu (ravnovrijedno P fazi) te u nekim uzorcima pod toplinskim stresom i K faza između O i J.

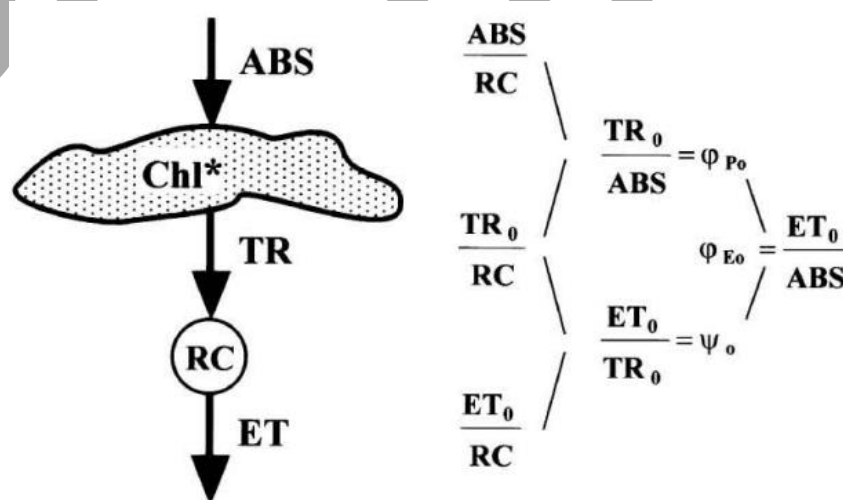
Analizom tranzijenta fluorescencije (Kaustky-jevih krivulja), dobivaju se detaljne informacije o strukturi, konformaciji i funkciji fotosintetskog aparata, a bazira se na teoriji protoka energije kroz biomembrane (Strasser i sur., 2004.), a sama analiza se naziva i JIP-test.

1.3.1.1 JIP test

JIP-test se koristi kao alat za ispitivanje okolišnih utjecaja na fotosintetske organizme i ispitivanje karakteristika novih genotipova in vivo, a primjenjuje se na tranzijente inducirane dovoljno jakim aktiničnim svjetlom (*peak* pri 650 nm iz skupa od od šest ili tri svjetlećih dioda (PEA-fluorimetar i Handy-PEA-fluorimetar)) za izazivanje maksimalnih vrijednosti J- i I-koraka fluorescencije, ali i P- koraka (Strasser i sur., 2004.).

Za analizu vrijedi dogma kako je stanje PSII reakcijsih centara definirano samo redoks stanjem primarnog kvinon akceptora (Q_A) gdje je pri reduciranom Q_A (Q_A^-) reakcijski centar zatvoren i ChlF antena je jaka, dok je pri oksidiranom Q_A reakcijski centar otvoren i fluorescencija antena je ugašena (*quenched*) (Duysen i Sweers, 1963.; Strasser i sur., 2004.).

Na Slici 4 je prikazan pojednostavljen shematski prikaz energetske kaskade od apsorpcije svjetla od PSII do transporta elektrona s pripadajućim oznakama: ABS - tok fotona apsorbiran antenama pigmenata (*absorption flux*) koji ekscitira klorofil (Chl^*), TR – (*trapping flux*) dio ekscitacijske energije koja je usmjerena u reakcijske centre za reduciranje elektron akceptora Q_A koji se zatim reoksidira reducirajući lanac transporta elektrona iza Q_A^- (*electron transport flux*; ET); RC – reakcijski centar (Strasser i sur., 2004.)



Slika 4. Pojednostavljeni shematski prikaz energetske kaskade od apsorpcije svjetla do elektron transporta (Preuzeto iz: (R. J. Strasser i sur., 2004.)

Slika 5 prikazuje parametre fluorescencije klorofila od kojih je pet bilo od interesa u ovom istraživanju, a oni uključuju Phi_Po (maksimalni kvantni prinos primarne fotokemije), koji predstavlja potencijalnu učinkovitost pretvorbe energije u PSII kada su svi reakcijski centri otvoreni; Psi_o, koji predstavlja vjerojatnost da zarobljeni eksiton pomakne elektron u lanac prijenosa elektrona dalje od Q_A⁻; Phi_Eo, koji predstavlja kvantni prinos prijenosa elektrona; Phi_Pav, koji daje mjeru vremena potrebnog za postizanje maksimalne razine ChlF (u ms); i Pi_Abs (indeks indeks fotosintetske učinkovitosti), koji kvantificira opću funkcionalnost i učinkovitost protoka elektrona.

Prinosi i omjeri protoka		
$\Phi_{Po} \equiv TR_o/ABS = [1 - (F_o/F_M)]$	Phi_Po	maksimalni kvantni prinos primarne fotokemije (pri t=0)
$\Psi_o \equiv ET_o/TR_o = (1 - V_j)$	Psi_o	vjerojatnost (pri t=0) da će zaprimljeni eksiton potjerati elektron u transportni lanac iza Q _A ⁻
$\Phi_{Eo} \equiv ET_o/ABS = [1 - (F_o/F_M)] \Psi_o$	Phi_Eo	kvantni prinos transporta elektrona (pri t=0)
$\Phi_{Do} \equiv 1 - \Phi_{Po} = (F_o/F_M)$	Phi_Do	kvantni prinos (pri t=0) rasipanja energije
$\Phi_{Pav} = \Phi_{Po} (1 - V_{av}) = \Phi_{Po} (S_m/t_{FM})$	Phi_Pav	prosječan (između t=0 i t _{FM}) kvantni prinos primarne fotokemije
Indeksi performansi (PI) pri t=0		
$PI_{ABS} \equiv \frac{RC}{ABS} \cdot \frac{\Phi_{Po}}{1 - \Phi_{Po}} \cdot \frac{\Psi_o}{1 - \Psi_o}$	Pi_Abs	indeks fotosintetske učinkovitosti na apsorpcijskoj bazi
$PI_{CS} \equiv \frac{RC}{CS_x} \cdot \frac{\Phi_{Po}}{1 - \Phi_{Po}} \cdot \frac{\Psi_o}{1 - \Psi_o}$	Pi_cs	indeks fotosintetske učinkovitosti na bazi eksitiranog presijeka

Slika 5. Formule parametara fluorescencije klorofila (Prilagođeno prema: (R. J. Strasser i sur., 2004.))

In vivo mjerenja ChlF su postala učestao alat u istraživanjima funkcionalnosti fotosintetskog aparata osamdesetih godina prošlog stoljeća (Fracheboud i sur., 1999.). Istraživan je utjecaj brojnih okolišnih čimbenika na biljke i promjenu njihovog fiziološkog stanja (senescencija, fotoinhibicija, toplinski stres, stres teškim metalima, solni stres, stres sušom i dr. (Arief i sur., 2023.; Baker i Rosenqvist, 2004.; Kalaji i sur., 2014.; Matsubara i sur., 2011.; Moustaka i Moustakas, 2023.). Kod kukuruza, rana istraživanja Earla i Tollenaara (1998.) na odnosu tilakoidnog elektron transporta i fotosintetskog usvajanja CO₂ su pokazala kako je mjerenje ChlF pouzdana metoda usporedbe stope fotosinteze između različitih kultivara kukuruza. Širokoj primjenjivosti ove metode u istraživanju svojstava kukuruza u različitim (nepovoljnim) uvjetima okoline svjedoči i velik broj istraživanja uzgoja u tim stresnim uvjetima koji između ostalog uključuju solni stres (Kan i sur., 2017.; Shabala i sur., 1998.; Yan Lu i Tong, 2018.), temperaturni stres (Doğru, 2021.; Killi i sur., 2020.; Sinsawat i sur., 2004.), stres uzrokovan

teškim metalima (da Silva i sur., 2012.; Franić i sur., 2020.; Joshi i Mohanty, 2004.), a upravo zbog važnosti i značajnog utjecaja, stres sušom se ističe kao bitna sastavnica istraživačkih interesa. Brojna istraživanja su pokazala korisnost podataka ChlF pri usporedbi različitih kultivara kukuruza za tolerantnost suše (Jan i sur., 2024.). Brestic and Zivcak (2013.) navode popis istraživanja fokusirana oko uporabe specifičnih parametara ChlF za ispitivanje i probir različitih genotipova kukuruza pri uvjetima suše (Fo, Fv, Fv/Fm (Gholamin i Khayatnezhad, 2011.); ϕ PSII, ETR (O'Neill i sur., 2006.); Fo, Fv (Smillie i Gibbons, 1981.); qP, qN, ETR, Fv/Fm (Cruz de Carvalho i sur., 2011.); Fv/Fm, PI (Lepeduš i sur., 2012.; Zegada-Lizarazu i sur., 2012.)).

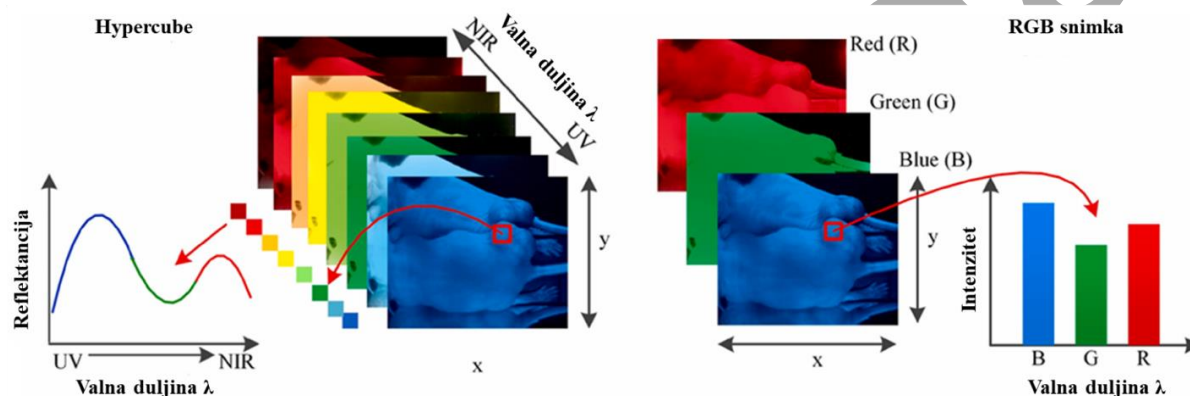
1.3.2 Hiperspektralno snimanje

Naziv „hiperspektralno snimanje“ se prvi puta pojavljuje krajem 20. stoljeća, a pripisuje se Goetz i sur. (1985.). Sam razvoj ove metode je iziskivao nekoliko tehnoloških inovacija i usko je povezan s napretkom u području digitalne elektronike i računalnih mogućnosti (Goetz, 2009.).

Hiperspektralno snimanje (*hyperspectral imaging*; HSI) predstavlja sofisticirani tehnološki napredak spektroskopskih metoda koje integriraju principe snimanja, spektroskopije i kemometrike (Ma i sur., 2019.). Ističe se od ostalih konvencionalnih metoda snimanja svojom mogućnosti zabiljezbe znatno veće količine podataka praćenjem kontinuiteta elektromagnetskog spektra s više valnih duljina i većom spektralnom rezolucijom (Bhargava i sur., 2024.). HSI razdjeljuje elektromagnetski spektar u mnoštvo uskih, graničnih pojasa valnih duljina što omogućuje dobivanje vrlo detaljnih prostornih spektralnih informacija svakog pojedinog piksela u snimci (Mateen i sur., 2018.).

Osnovni princip HSI leži u jedinstvenim spektralnim otiscima različitih materijala i bioloških tkiva. Pri interakciji elektromagnetskog zračenja s biljnim tkivom, specifične valne duljine bivaju apsorbirane, reflektirane ili transmitirane, ovisno o molekularnom sastavu i strukturalnim karakteristikama materijala, odnosno tkiva. Ove interakcije tvore karakteristične i jedinstvene spektralne otiske koji se mogu analizirati za dobivanje detaljnih informacija o zdravlju biljaka, stanju stresa i fiziološkim procesima (Ustin i Gamon, 2010.).

Podatkovni zapis koji proizlazi iz HSI je trodimenzionalna baza podataka spektralnih i prostornih informacija dobivenih iz spektralnih informacija pojedinog piksela dvodimenzionalnog detektora, a naziva se *hypercube* (Bhargava i sur., 2024.). Slika 6 prikazuje razliku između *hypercube* podatkovnog zapisa i konvencionalnih, *red-green-blue* (RGB) snimaka.



Slika 6. Strukturalne razlike *hypercube* podatkovnog zapisa i RGB snimke (Prilagođeno prema (Bhargava i sur., 2024))

Raspon valnih duljina elektromagnetskog spektra značajan za praćenje vegetacije se proteže od 400 do 2500 nm što obuhvaća vidljivi (400 – 700 nm), blisko-infracrveni (*near-infrared*; NIR) (700 – 1300 nm) i kratkovalni infracrveni (1300 – 2500 nm) dio spektra od kojih svaki pruža jedinstvene informacije o karakteristikama biljaka i njihovom fiziološkom stanju (Jensen, 2007.).

Tipična vegetacijska spektralna reflektancija pokazuje visoku reflektanciju u NIR dijelu spektra, a nižu u vidljivom dijelu spektra radi visoke apsorpcije valnih duljina vidljivog spektra od strane klorofila i jake reflektancije valnih duljina NIR spektra od strane unutarnjih struktura i sadržaja vode biljnih stanica (Le i sur., 2023.). Unutarnje strukture lista i biokemijske komponente lista poput sadržaja zelenila (*greenness content*; klorofil i karotenoidi), dušik, lignin, celuloza, voda imaju važnu ulogu u spektralnim karakteristikama reflektancije biljaka (Le i sur., 2023.).

U vidljivom dijelu spektra, klorofilna apsorpcija dominira spektralnim odzivom s jakom apsorpcijom na približno 430 nm i 660 nm koja odgovara klorofilu a, te 453 nm i 643 nm za klorofil b (Lichtenthaler, 1987.). Pri 550 nm (zeleni boja) apsorpcija klorofila je minimalna, što objašnjava zašto zdrava vegetacija ljudskom oku izgleda zelena. Ove značajke povezane s klorofilom služe kao primarni pokazatelj općeg zdravlja biljaka.

NIR dio spektra karakterizira izražena refleksija od zdrave vegetacije zbog višestrukog raspršenja unutar strukture mezofila lista. Ovaj fenomen je prvi puta opisan od strane (Gates, 1965.), a javlja se zbog minimalne apsorpcije biljnog tkiva u ovom rasponu valnih duljina, dok stanične strukture formiraju brojne granice zrak-voda koje raspršuju upadno zračenje (Xu i Ye, 2023.). Promjene u strukturi lista, sadržaju vode ili staničnom integritetu izravno utječu na NIR reflektanciju što ovo područje čini posebno osjetljivim na stresne uvjete.

1.3.2.1 Vegetacijski indeksi

Kako bi se iz mnoštva spektralnih informacija zabilježenih hiperspektralnim senzorima mogli izvući korisni podatci za kvantificiranje specifičnih biljnih karakteristika, kreirane su formule, odnosno matematički odnosi pojedinih valnih duljina koje nazivamo vegetacijskim indeksima (VI). Oni kombiniraju strateški izabrane valne duljine kako bi poboljšali signal povezan za specifično svojstvo. Vegetacijski indeksi hiperspektralnih mjerenja služe kao indikatori za procjenu fizioloških i biokemijskih karakteristika, procjenu potencijalne biomase i prinosa, detekciju bolesti i identifikaciju svojstava poput otpornosti na sušu (Mohd Asaari i sur., 2022.). Opširan pregled hiperspektralnih indeksa i njihove uporabe u preciznoj poljoprivredi u protekla dva desetljeća je dan u radu (Rama i suradnika (2024.).

Istaknuti hiperspektralni indeksi korišteni u izradi ovoga rada se mogu se svrstati u dvije kategorije, oni koji koriste reflektancije NIR dijela elektromagnetnog spektra i oni koji koriste reflektancije UVIS (ultraljubičasti i vidljivi) dijela spektra.

Hiperspektralni indeksi koji koriste spektralnu refleksiju bliskog infracrvenog (NIR) područjau ključuju NDVI, SRI, ZMI, PSNDa i RDVI. Indeks normalizirane razlike vegetacije (*Normalized Difference Vegetation Index*; NDVI) procjenjuje zelenilo (*greenness*) vegetacije i cjelokupno zdravlje biljaka uspoređujući vrijednosti refleksije bliskog infracrvenog i crvenog područja (Lu i sur., 2011.; Shuaibu i sur., 2016.; Verma i sur., 2022.). Indeks jednostavnog omjera (*Simple Ratio Index*; SRI) mjeri snagu vegetacije kroz omjer refleksije bliskog infracrvenog i crvenog područja (Jordan, 1969.; Nguy-Robertson i sur., 2012.; Verma i sur., 2022.). Indeks Zarco-Tejada i Millera (ZMI) procjenjuje sadržaj klorofila ciljajući valne duljine koje su posebno osjetljive na apsorpciju klorofilom (Moorthy i sur., 2003.; Zarco-Tejada i sur., 2001.). Indeks refleksije starenja biljaka a (*Plant Senescence Reflectance Index a*; PSNDa) identificira senescenciju biljaka otkrivanjem promjena refleksije povezanih s razgradnjom klorofila (Adak i sur., 2021.; Blackburn, 1998.). Renormalizirani indeks razlike vegetacije

(*Renormalized Difference Vegetation Index*; RDVI) je verzija NDVI-ja, dizajnirana s normaliziranom formulom kako bi se minimizirala varijabilnost fotosintetski aktivnog zračenja i poboljšala točnost rezultata (He i sur., 2019.; Ihuoma i Madramootoo, 2017.; Zhang i sur., 2019.).

Među često primjenjivanim HS indeksima izvedenim iz ultraljubičastog i vidljivog spektra (UVIS) su MCARI1, G, MCARI, GM1 i GM2. Modificirani indeks apsorpcije klorofila u refleksiji 1 (*Modified Chlorophyll Absorption in Reflectance Index 1*; MCARI1) nadovezuje se na izvorni MCARI uključivanjem dodatnih valnih duljina, povećavajući osjetljivost na varijacije klorofila (Eddy i sur., 2008.; Wu i sur., 2008.). Indeks zelenosti (G) mjeri udio zelene refleksije unutar vidljivog spektra, služeći kao pokazatelj zdravlja vegetacije (Acharya i sur., 2016.). Modificirani indeks apsorpcije klorofila u refleksiji (*Modified Chlorophyll Absorption in Reflectance Index*; MCARI) procjenjuje dubinu apsorpcije klorofila u biljnim tkivima kako bi se pratila fotosintetska aktivnost i stres (Ardıç i sur., 2021.). Gitelsonov i Merzlyakov indeks 1 (GM1) procjenjuje koncentraciju klorofila analizom omjera refleksije na valnim duljinama osjetljivim na klorofil (Zhao i sur., 2007.). Gitelsonov i Merzlyakov indeks 2 (GM2) oslanja se na različite omjere valnih duljina kako bi pružio komplementarnu procjenu za robusniju analizu.

Prednosti hiperspektralnog mjerenja u neinvazivnoj, ranoj detekciji stresa brzo su prepoznate što je rezultiralo brзом implementacijom ove metode o širokom spektru istraživanja, osobito u praćenju stanja vegetacije (Blackburn, 2007.). Uporaba hiperspektralnih senzora je zastupljena na više razina, od biljnih tkiva u laboratorijima, pojedinačnih biljaka u staklenicima ili klima komorama do mjerenja karakteristika skupa biljaka u poljskim uvjetima (Thomas i sur., 2018.). Kod kukuruza su se hiperspektralna mjerenja i pripadajući indeksi koristili, između ostalog, za procjenu udjela vode (Zhang i Zhou, 2015.), ranu detekciju stresa i oporavka (Asaari i sur., 2019.; Römer i sur., 2012.), kako kod abiotskog tako i biotskog stresa (Del Fiore i sur., 2010.). I kod hiperspektralnih mjerenja suša je vrlo zastupljen interes istraživača pogotovo u proteklom destljeću s nizom relevantnih istraživanja. Novija istraživanja pokazala su da proksimalno hiperspektralno snimanje može uspješno otkriti dnevne i sušom izazvane fiziološke promjene kod kukuruza, s automatiziranim platformama za fenotipizaciju koje omogućuju visokoučinkovitu procjenu odgovora na stres (Mertens i sur., 2021.). Fokus se stavlja na visoku propusnost, ranu detekciju (Asaari i sur., 2019.; Jingyong i sur., 2023.), nedestruktivnost (Mohd Asaari i sur., 2022.) i poboljšanje procjene statusa vode u kukuruzu

(Meiyan i sur., 2022.). Kao i ostale metode prikupljanja podataka i hiperspektralna mjerenja prate trend integracije sa suvremenim metodama obrade podataka poput strojnog učenja (Dao i sur., 2021.; García-Vera i sur., 2024.; Okyere i sur., 2024.; Pandey i sur., 2017.; Yendrek i sur., 2017.).

1.4 Genotipizacija i analiza genetske raznolikosti kod kukuruza

Biotehnološki napretci, ponajprije uporaba molekularnih markera, su uvelike revolucionizirali istraživanja tolerancije suše započevši novu molekularnu, genomsku eru istraživanja. Kod kukuruza je prva karta povezivanja bazirana na molekularnim markerima napravljena od strane Helentjaris i sur. (1986.) (Tuberosa i sur., 2002.), a prva genetska analiza tolerancije suše kod kukuruza uporabom lokusa kvantitativnih svojstava (*quantitative trait loci*; QTL) 1995. godine (Kim i Lee, 2023.). Setter i sur. (2011.) su koristili ciljane SNP pristupe s 1.536 markera iz kandidatskih gena kako bi identificirali lokuse koji reagiraju na sušu, što predstavlja rane studije genomske asocijacije. Općenito, primjena visokopropusne genotipizacije značajno je unaprijedila istraživanja pružajući dublji uvid u genetsku raznolikost, omogućujući identifikaciju ključnih gena povezanih s određenim svojstvima te ubrzanje oplemenjivačkih procesa. Zbog svoje brzine i učinkovitosti, ova molekularna metoda istraživačima omogućuje analizu desetaka tisuća DNA markera, čime se dobivaju vrijedni podatci o evoluciji, prilagodbi i poboljšanju usjeva. Genotipizacijske tehnologije su doživjele značajnu transformaciju unutar proteklih desetljeća prelazeći sa sustava niske gustoće markera na visokopropusne genomske platforme sposobne za istovremeno ispitivanje milijuna jednonukleotidnih polimorfizama, (*single nucleotide polymorphism*) - SNP). Analiza genetske raznolikosti podrazumijeva istraživanja raznolikosti među jedinkama unutar populacija te populacija iste vrste uporabom različitih sustava genetskih markera (biljega) od kojih su najupotrebljavaniji sustavi mikrosatelitnih i SNP markera (Pejić i Šatović, 2022.). Moderni pristup genotipizaciji se oslanja upravo na platforme temeljene na SNP-ovima koji nude superiorniju pokrivenost genoma i veću isplativost (Xu i sur., 2009.).

1.5 QTL analize i cjelogenomske studije pridruživanja (GWAS) kod kukuruza

Razumijevanje genetske strukture je temeljno ishodište za molekularno raščlanjivanje (*dissection*) kompleksnih kvantitativnih svojstava u njihove sastavne genetske komponente. Uporaba molekularnih markera u mapiranju QTL-ova i cjelogenomskim studijama pridruživanja (*genome-wide association study* - GWAS) je značajno unaprijedilo preciznost

molekularnog rasčlanjivanja svojstava, a integracija visokopropusne genotipizacije i visokopropusne precizne fenotipizacije je revolucionizirala mogućnosti mapiranja QTL-ova s dosad nezabilježenom rezolucijom i preciznošću potičući oplemenjivanje vođeno podacima (*data-driven*) i ubrzavanje genetskog napretka (Swetha i sur., 2025.). Razvoj visokopropusnih platformi poput Illumina MaizeSNP50 BeadChip je omogućilo vrlo precizno QTL mapiranje i GWAS visoke rezolucije u populacijama kukuruza (Guan i sur., 2024.).

QTL mapiranje uključuje analizu cijelog genoma usmjerenu na otkrivanje odnosa između genotipova u različitim genomskim regijama i fenotipova povezanih s kvantitativnim svojstvima te se usredotočuje na identificiranje broja, položaja, učinaka i interakcija QTL-ova (Zeng, 2001.). Glavni cilj mapiranja QTL-ova je odrediti kromosomske regije koje značajno doprinose varijacijama uočenim u kvantitativnim svojstvima unutar populacije, a ta lokalizacija je ključna i za identificiranje temeljnih gena te za poboljšanje našeg razumijevanja genetskih mehanizama koji potiču varijacije svojstava (Zeng, 2001.). Preciznost mapiranja QTL-ova ovisi o nekoliko faktora, uključujući veličinu populacije, heritabilnost ispitivanog svojstva, razinu efekta individualnih QTL-ova i gustoći markera (Liang i sur., 2022.). Uporaba QTL analize kod kukuruza za stres sušom aktualna je metoda posljednjih 30 godina (Agrama i Moussa, 1996.; Lebreton i sur., 1995.). Povezujući QTL-ove s bitnim morfo-fiziološkim svojstvima, prinosom i stabilnosti QTL-ova kroz različite okoline za ta svojstva se dobio detaljniji uvid u genetske i molekularne mehanizme tolerancije na sušu kod kukuruza (Li i sur., 2024.; Messmer i sur., 2009.; Tuberosa i sur., 2002.) s ciljem poboljšavanja tolerantnosti kukuruza na sušu (Liu i Qin, 2021.; McMillen i sur., 2022.; Rasheed i sur., 2023.). Također, u genetskim analizama povezivani su i parametri ChlF za fotosintetsku učinkovitost kod kukuruza uzgajanim u poljskim uvjetima (Galic i sur., 2019.; Šimić i sur., 2014.). Sheoran i sur., (2022.) navode kako tolerancija na sušu kod kukuruza može biti unaprijeđena kombinacijom (gen)omike s visokopropusnom fenotipizacijom.

Liu i Qin (2021.) ističući važnost ranog razvoj klijanaca za uspješno uspostavljanje kukuruza i postizanje optimalnog prinosa zrna navode kako detekcija QTL-ova povezanih s otpornošću na sušu tijekom juvenilne faze doprinosi širem razumijevanju otpornosti na sušu tijekom cijelog životnog ciklusa kukuruza te razumijevanju kompleksnog mehanizma ovog agronomskog svojstva.

GWAS predstavlja moćnu tehniku za identifikaciju gena odgovornih za specifična svojstva. To se postiže ispitivanjem genomskih regija gdje su varijacije u genotipu statistički povezane

s odgovarajućim varijacijama u fenotipu (Susmitha i sur., 2023.). Ono označava promjenu paradigme od tradicionalnih pristupa QTL kartiranja koje se oslanja na biparentalne segregirajuće populacije dok GWAS koristi prirodnu genetsku raznolikost prisutnu u skupinama raznolike germplazme. GWAS se kod kukuruza koristio u istraživanjima otpornosti na bolesti i biotski stres (Shrestha i sur., 2019.; Wang i sur., 2012.), pojedina strukturalna svojstva (poput svojstava komušine i listova) (Cui i sur., 2016.; Tian i sur., 2011.; Yang i sur., 2020.), biokemijska svojstva (Galić i sur., 2022.; Li i sur., 2019.; Liu i sur., 2016.; Wu i sur., 2022.), te abiotski stres gdje se velika pozornost pridaje stresu sušom. Jin i sur. (2023.) su proveli GWAS za identifikaciju SNP markera povezanih sa sadržajem klorofila kroz cijeli vegetacijski period kukuruza. GWAS i analiza kandidatskih gena za sadržaj klorofila petog lista u ranoj fazi razvoja te u fazi sazrijevanja zrna je rađena u istraživanju Liu i sur. (2024.). Wang i sur. (2016.) su radili analizu sedam povezanih fenotipskih svojstava te asocijaciju s 41.101 SNPova na 201 inbred liniji kukuruza iz sedam okolina opskrbljenih vodom te s nedostatkom vode. Zhang i sur. (2016.) su proveli cijelogenomsku studiju pridruživanja korištenjem 156.599 SNPova 318 inbred linija kukuruza radi boljeg razumijevanja genetske podloge metaboličkih promjena vezanih za toleranciju suše. U radu Liu i Qin (2021.) je sadržan popis identificiranih QTLova za rezistenciju na sušu za više svojstava, uporabom različitog broja SNPova (2.052 – 955.690) korištenih u radovima 2013.-2020. Sahito et al. (2024.) ističu važnost integracije genomike, transkriptomike, proteomike, metabolomike, epigenomike i fenomike za unapređenje razumijevanja tolerancije stresa te navode napretke i buduće mogućnosti GWAS studija u istraživanju kukuruza.

1.6 Modeliranje i strojno učenje

Podatci prikupljeni uzorkovanjem i mjerenjem parametara pokusa nam daju uvide u strukturu svojstava ispitivanih uzoraka i sustava, a osobitu vrijednost dobivaju u predviđanju ishoda u budućim scenarijima. Predviđanje performansi usjeva u određenim uvjetima zahtijeva razvoj dobrog modela čije modeliranje ovisi o količini i kvaliteti prikupljenih podataka raznih parametara, a za rezultat omogućuje optimizaciju uzgoja, oplemenjivačkog procesa i iskorištavanja dostupnih resursa.

Modeliranje usjeva predstavlja kvantitativni pristup razumijevanju odnosa između rasta, razvoja usjeva i okolišnih uvjeta. Ovi modeli služe kao virtualni laboratoriji u kojima

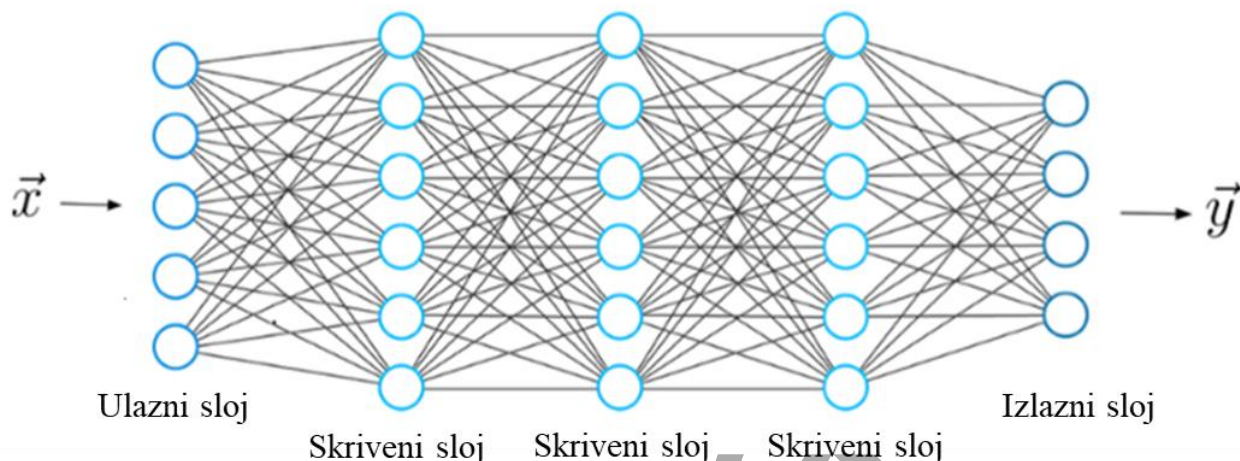
istraživači mogu testirati hipoteze, procijeniti scenarije upravljanja i predvidjeti ishode u različitim uvjetima (Gavasso-Rita i sur., 2024.). Temeljno načelo modeliranja usjeva je matematički prikaz bioloških procesa koji upravljaju rastom, razvojem biljaka i stvaranjem prinosa.

Modeli usjeva se mogu svrstati u tri kategorije: empirijski (statistički), mehanistički (*process-based*) i hibridni. Statistički modeli oslanjaju se na opažene odnose između ulaznih varijabli i rezultata bez eksplicitnog predstavljanja temeljnih bioloških procesa. Ovi modeli se ističu u točnosti predviđanja kada je dostupno dovoljno povijesnih podataka, ali im može nedostajati mogućnost objašnjavanja uzročnih mehanizama (Chambers i Hastie, 1992.). Mehanistički modeli pokušavaju simulirati temeljne fiziološke i biokemijske procese koji upravljaju rastom i razvojem usjeva. Ovi modeli pružaju mehanistički uvid u odgovore usjeva na stresne uvjete okoliša, ali zahtijevaju opsežnu parametrizaciju i mogu biti računalno zahtjevni (Chuine i Régnière, 2017.). Hibridni modeli kombiniraju elemente statističkog i mehanističkog pristupa, iskorištavajući njihove zasebne prednosti, a istovremeno smanjujući njihova ograničenja. Pojava tehnika strojnog učenja (*machine learning*; ML) olakšala je razvoj sofisticiranih hibridnih modela koji mogu uhvatiti složene nelinearne odnose uz zadržavanje interpretabilnosti (Camps-Valls i sur., 2025.).

Konvergencija naprednih tehnologija i metoda prikupljanja podataka sa strojnim učenjem je temeljno transformirala istraživanja biljne fiziologije u proteklom desetljeću. Nedavni napreci u računalnoj snazi i komputacijskim mogućnostima te razvoju naprednih algoritama omogućili su obradu i analizu velike količine podataka u stvarnom vremenu, otvarajući nove mogućnosti za primjenu visokopropune fenotipizacije i genotipizacije. Strojno učenje je polje umjetne inteligencije koje obuhvaća širok spektar računalnih metoda koje omogućavaju sustavima prepoznavanje i usvajanje složenih obrazaca unutar skupa podataka bez specifičnog programiranja. U istraživanjima biljne fiziologije, algoritmi strojnog učenja su izvrsni u identifikaciji kompleksnih odnosa između spektralnih odziva i fizioloških parametara te za stvaranje predviđanja (predikcija) iz velikih, kompleksnih setova podataka (Panahi i sur., 2025.). Sama nelinearna priroda brojnih fizioloških procesa ih čini pogodnima za analizu korištenjem strojnog učenja pošto ML algoritmi uključuju fleksibilnost i nelinearne metode koje se dobro prilagođavaju kompleksnim multidimenzionalnim setovima podataka bez strogih pretpostavki (Crossa i sur., 2025.).

Povećana dostupnost spektralnih podataka visoke rezolucije, potreba za efikasnim ne-destruktivnim metodama mjerenja i potreba za brzim i preciznom procjenom stanja usjeva i razine stresa su glavni pokretači povećane upotrebe strojnog učenja u istraživanjima biljne fiziologije. Bitan rezultat navedenoga je ubrzanje oplemenjivačkih procesa skraćivanjem koraka evaluacije, selektiranjem uzoraka u ranim fazama bez potrebe detaljne fenotipizacije prije selekcije (Crossa i sur., 2025.). Odabir algoritama ovisi o nekoliko čimbenika uključujući veličinu seta podataka, složenosti podataka, računalnim mogućnostima i fiziološkim parametrima koji se istražuju. Često korišteni algoritmi strojnog učenja u istraživanjima biljne fiziologije i za predviđanje prinosa usjeva su linearna regresija (LR), *Random Forest* (RF), *Gradient Boosting Trees* (GBT) dok su za duboko učenje (*deep learning*) najupotrebljivnije neuronske mreže i *Long Short-Term Memory* (LSTM) (Shawon i sur., 2025.). Shawon i sur. (2025.) daju pregled tehnika i uporabe strojnog učenja u istraživanjima u proteklih 7 godina (2017. – 2024.).

Duboko učenje je potkategorija strojnog učenja karakteristične arhitekture koja sadrži više procesuirajućih slojeva algoritama pod nazivom neuronske mreže, a omogućava tim računalnim modelima učenje prikaza podataka s više stupnjeva apstrakcije (LeCun i sur., 2015.). Svaka neuronska mreža posjeduje „neurone“ (čvorišta) koji međusobno komuniciraju te je njihova međusobna povezanost procijenjena na temelju njihove mogućnosti za davanjem željenog ishoda (poput sinapsi neurona mozga koje su ojačane kada njihovi neuroni imaju korelirani output) (Choi i sur., 2020.). Na Slici 7. je prikazan shematski prikaz arhitekture jednostavne neuronske mreže.



Slika 7. Shematski prikaz arhitekture neuronske mreže gdje vektor x predstavlja ulazne podatke iz kojih neuronska mreža uči, a vektor y izlazne podatke, odnosno rezultat komputacija neuronske mreže (Prilagođeno prema: (Oppermann, 2023.))

Glavna razlika između konvencionalnih metoda strojnog učenja i dubokog učenja je izostanak koraka ekstrakcije odlika (*feature extraction*) kod dubokog učenja. Ovaj korak služi kao pretprocesuiranje podataka za strojno učenje pošto se sirovi podatci ne mogu direktno primijeniti na tradicionalne algoritme strojnog učenja (Oppermann, 2023.) što je bitna prednost dubokog učenja. U nastavku su navedeni neki od najupotrebljivanih algoritama strojnog učenja, korišteni i u ovom istraživanju.

Partial Least Square Regression (PLSR) algoritam je kreiran drugom polovicom prošlog stoljeća (1977.), a pripisuje se švedskom ekonomistu i statističaru koji je radio na ekonometrijskim modelima povezanim s metodama procjene sistema simultanih jednačbi korištenjem iterativnih procedura (Jöreskog i Wold, 1982.; Mateos-Aparicio, 2011.). Metoda je brzo našla primjenu i u drugim poljima poput kemije gdje je i detaljno opisana (Geladi i Kowalski, 1986.). U istraživanjima biljne fiziologije je našla primjenu uz spektroskopske metode fenotipizacije za predviđanje odlika biljke iz stotine/tisuće spektralnih podataka. PLSR modeli su postigli veliku preciznost u predviđanju svojstava lista poput mase lista po površini (*leaf-mass per area*; LMA) i sadržaj suhe tvari (*Leaf Dry Matter Content*; LDMC) s $R^2 > 0.85$ i $\%RMSE < 10\%$ (R^2 - koeficijent determinacije RMSE- korijen srednje kvadratne pogreške (*Root-mean-squared error*)) (Kothari i sur., 2023.). Fu i sur. (2020.) su koristili PLSR za procjenjivanje svojstava fotosinteze korištenjem hiperspektralnih odziva. Preciznost predviđanja promjene kvantnog prinosa i vodnog potencijala izazvane sušom kod kukuruza, korištenjem hiperspektralnog snimanja i PLSR-a je pokazana i u radu (Mertens i sur., 2021.).

Random Forest (RF) algoritam je kreiran od strane Lea Breimana 2001. godine na temelju ranijeg rada sa stablima odlučivanja i *bagging*-om (*bootstrap aggregating*) (Breiman, 2001.). Razvoj metode Random Forest ubrzan je s primjenom u području genomike, gdje se sposobnost ovog algoritma za obradu visokodimenzionalnih podataka bez eksplicitnog odabira odlika (*feature*) i zabilježbu odnosa između genotipa i fenotipa pokazala učinkovitom (Crossa i sur., 2025.). U radu Vittrack-Tamam i sur. (2020.) RF se koristio za identifikaciju 23 valne duljine hiperspektralnih mjerenja biljaka pamuka povezanih sa strukturalnim svojstvima i udjelom vode. Zhang i sur. (2025.) su koristili RF za sustavnu analizu značajnih svojstava povezanih za toleranciju stresa suše kod klijanaca 78 hibrida kukuruza i procjenu performansi modela za predviđanje.

XGBoost (*eXtreme Gradient Boosting*) je algoritam razvijen od strane Tianqi Chena nadogradnjom na okvir pojačavanja gradijenta (*boosting*) uspostavljenom od strane Jerome Friedmana (Chen i Guestrin, 2016.). Regularizacijski mehanizmi ovog algoritma sprečavaju *overfitting* bez gubljenja sposobnosti predviđanja. Yoon i sur. (2023.) su koristili hiperspektralne snimke s algoritmima strojnog učenja (PLSR, AdaBoost, XGBoost, LightGBM) za neivazivnu brzu detekciju biljnih metabolita gdje su u većini slučajeva boosting algoritmi pokazali superiornije performanse. Kod kukuruza, Nyéki i sur. (2021.) su predviđali prinos korištenjem umjetne inteligencije uporabom prostorno-vremenskih podataka za treniranje modela gdje se XGBoost algoritam izdvojio kao najbolji regresijski model s preciznošću od 92,1 %. Zhang i sur. (2025.) su također koristili i XGBoost za sustavnu analizu značajnih svojstava povezanih za toleranciju stresa suše kod klijanaca 78 hibrida kukuruza i procjenu performansi predviđanja modela gdje je ovaj model pokazao optimalnu klasifikaciju s $R^2 = 0,863$.

Konvolucijske neuralne mreže (*Convolutional Neural Networks* (CNN)) je napredna verzija umjetnih neuralnih mreža, a svoje začetak nalazi u radovima Kunihika Fukushime, Davida Hubela i Torstena Wiesel (Fukushima, 1980.; Hubel i Wiesel, 1968.). Danas ima široku primjenu u mnogim granama ljudske djelatnosti, od prepoznavanja slika i vizualnih zapisa te klasifikaciji, procesuiranje jezika i govora, medicinskoj dijagnostici, autonomnim vozilima i dr. U istraživanjima biljne fiziologije se upotrebljuje za detekciju bolesti (Demilie, 2024.; Sutaji i Rosyid, 2022.) i klasifikaciji (Lee i sur., 2015.; Yalcin i Razavi, 2016.), s metodama visokopropusne fenotipizacije (Jiang i Li, 2020.; Yu i sur., 2017.). An i sur. (2019.) su koristili konvolucijske neuralne mreže za identifikaciju i klasifikaciju sušnog stresa kod kukuruza s

iznimnom preciznošću od 98,14 % i 95,95 %. Yang i sur. (2021.) su procjenjivali prinos kukuruza uporabom CNN-a treniranih korištenjem podataka dobivenih hiperspektralnim mjerenjem.

Dijk i sur. (2021.) daju pregled trenutnog stanja i napretka strojnog učenja u istraživanjima biljne fiziologije i oplemenjivanja biljaka s fokusom na primjene u biokemijskim analizama, na makroskopskoj skali i povezivanju genotipova s fenotipovima. U istraživanju kukuruza, strojno učenje je našlo široku primjenu u detekciji bolesti (Panigrahi i sur., 2020.; Setiawan i sur., 2022.), prisutnosti toksina (Camardo Leggieri i sur., 2021.), predviđanju prinosa (Baio i sur., 2023.; Croci i sur., 2023.; Shahhosseini i sur., 2019.), predviđanju biomase (Han i sur., 2019.), u prediktivnom oplemenjivanju (Washburn i sur., 2020.) o čijem postanku i razvoju od tridesetih godina prošlog stoljeća do danas piše (Bernardo, 2021.) te u istraživanju stresa (Azrai i sur., 2024.; Nazari i sur., 2023.; Niu i sur., 2021.; Ornella i sur., 2012.; Zubler i Yoon, 2020.). U genomici, strojno učenje (ML) je ključno za genomsku selekciju (GS), metodu koja predviđa genetsku vrijednost biljaka korištenjem podataka o genomskim markerima gdje je umjetna inteligencija uspješno korištena za predviđanje crossover-a kod kukuruza (Farooq i sur., 2024.). Na temelju inbred-specifičnih uzoraka DNA metilacije pod stresom, istraživači su uspjeli precizno klasificirati setove transkribiranih gena i identificirati pseudogene (Sartor i sur., 2019.). Primjenom strojnog učenja ostvarena je izvanredna preciznost, s *data-driven* hibridnim modelima usjeva koji su postigli RMSE od 7,16 % za predviđanje prinosa koristeći četiri desetljeća podataka američkog kukuruznog pojasa (Chang i sur., 2023.). Baio i sur. (2023.) su koristili i usporedili različite modele strojnog učenja za predviđanje prinosa kukuruza koristeći se spektralnim informacijama, temperaturnim podacima i različitim upravljanjem navodnjavanja. Korištenjem 14 godina satelitskih *Moderate Resolution Imaging Spectroradiometer* (MODIS) i klimatskih podataka s uporabom *Artificial Neural Network* - ANN, *Convolutional Neural Network* - CNN, *Stacked-Sparse AutoEncoder* - SSAE i *Long-Short Term Memory* - LSTM modela za predviđanje, Ju i sur. (2021.) su procjenjivali prinos kukuruza i soje u SAD-u. Uporaba četiri algoritma strojnog učenja s podacima dobivenim visokopropusnim praćenjem stanja kukuruza u stvarnom vremenu je pokazala visoku učinkovitost detekcije i predviđanja uvijanja lista s preciznošću >80 % za sve primjenjene algoritme (Spišić i sur., 2022.).

2. Ciljevi

1. Ispitati varijabilnost u odgovoru svojstava biomase, JIP-testa, te hiperspektralnog odziva na zasušivanje između odabranih inbred linija iz genotipizacijskog panela Poljoprivrednog instituta Osijek (PIO)
2. Utvrditi korelacijsku strukturu svojstava, te provesti asocijacijske i regresijske analize s molekularnim biljezima
3. Upotrijebiti metode strojnog učenja s ciljem integracije podataka precizne fenotipizacije i genotipizacije s ciljem predviđanja genomskog „ideotipa“ s poželjnim odgovorom na uvjete zasušivanja

3. Materijal i metode

3.1 Biljni materijal i genotipizacija

U pokusu je korišteno 165 inbred linija kukuruza (*Zea mays*, L.) različitog porijekla prethodno genotipiziranih korištenjem Illumina Infinium Maize50K čipa (Illumina, Inc., San Diego, Kalifornija, SAD) (Ganal i sur., 2011.). Popis samooplodnih linija kukuruza s pripadajućim podrijetlom prikazan je u Tablici 1. Ovaj panel sačinjen je od elitnog materijala od čega je većina originalni materijal stvoren u sklopu nekoliko oplemenjivačkih programa oplemenjivača kukuruza Poljoprivrednog Instituta Osijek (PIO). Prema podrijetlu, 82 inbred linije su nerazvrstane, 19 je tvrdunaca, a ostale linije pripadaju u zubane, od toga 34 pripada u BSSS (*Iowa Stiff Stalk Synthetic*), 15 u Ohio/Lancasteri 15 u Iodent heterotičku skupinu.

Tablica 1. Popis genotipova - inbred linija kukuruza korišten u pokusu s pripadajućim podrijetlom (pedigream) i heterotičkom skupinom prema podrijetlu.

Redni broj	Genotip u pokusu	Podrijetlo	Heterotička skupina prema podrijetlu
1	481	JB481-2020	tvrdunac
2	482	JB482-2020	tvrdunac
3	483	JB483-2020	tvrdunac
4	484	JB484-2020	tvrdunac
5	486	JB486-2020	nerazvrstano
6	487	JB487-2020	tvrdunac
7	488	JB488-2020	tvrdunac
8	489	JB489-2020	tvrdunac
9	490	JB490-2020	tvrdunac
10	491	JB491-2020	tvrdunac
11	493	JB493-2020	tvrdunac
12	497	JB497-2020	tvrdunac
13	498	JB498-2020	tvrdunac
14	499	JB499-2020	tvrdunac
15	500	JB500-2020	nerazvrstano
16	501	29-48	BSSS
17	502	14-48	nerazvrstano
18	503	30-48	BSSS
19	504	PHP02	BSSS
20	505	PH207	BSSS
21	506	PHG50	BSSS
22	507	PHG29	BSSS
23	508	OPAL108	nerazvrstano
24	511	PHK76	Ohio/Lancaster

25	512	LH123Ht	nerazvrstano
26	513	PHV78	Ohio/Lancaster
27	514	6-2L	BSSS
28	517	PHG35	nerazvrstano
29	518	L-SIS-A	BSSS
30	523	L-SIS-F	BSSS
31	524	L-SIS-G	BSSS
32	525	L-SIS-H	BSSS
33	526	L-SIS-J-CO	nerazvrstano
34	531	L-SYN-IBO	BSSS
35	534	L-SYN-IV	BSSS
36	535	L-SYN-V	BSSS
37	536	L-SYN-VI	BSSS
38	537	L-SYN-VII	BSSS
39	538	L-SYN-VIII	BSSS
40	539	L-SYN-IX	BSSS
41	540	L-SYN-X	nerazvrstano
42	542	B73	Iodent
43	543	PHPR5	nerazvrstano
44	544	1132	Iodent
45	545	PHP38	nerazvrstano
46	546	PHHB9	nerazvrstano
47	548	MT-T-1	nerazvrstano
48	550	MT-T-3	nerazvrstano
49	551	MT-T-4	nerazvrstano
50	552	MT-T-5	nerazvrstano
51	553	MT-T-6	nerazvrstano
52	555	7000	Iodent
53	556	7001	Iodent
54	557	7002	Iodent
55	558	7003	Iodent
56	559	MCEC-7804	nerazvrstano
57	560	22°7728/3MP-A	nerazvrstano
58	561	6°MCECMP-A	nerazvrstano
59	562	6°MCECMP-B	nerazvrstano
60	563	6°MCECMP-C	nerazvrstano
61	564	4°7728/3IDUK-A	Iodent
62	566	7°7728/37820/2A	nerazvrstano
63	567	7°7728/37820/2B	nerazvrstano
64	568	7728/3-3230A	nerazvrstano
65	569	7728/3-3230B	Iodent
66	571	Oh43	nerazvrstano
67	573	B14	nerazvrstano
68	574	B37	nerazvrstano

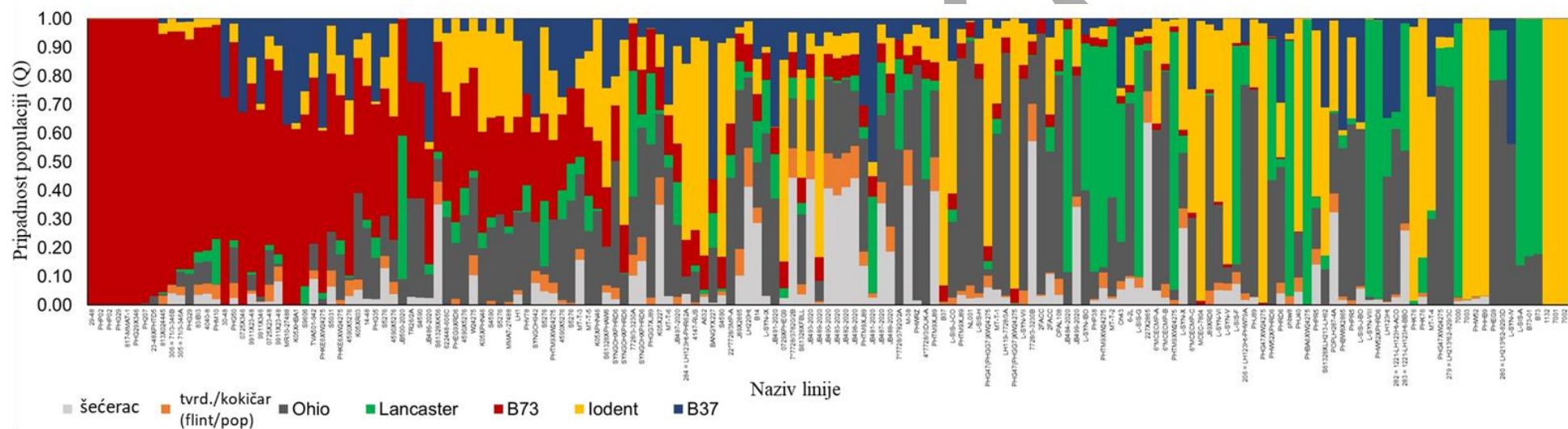
69	575	B73	Iodent
70	577	A632	nerazvrstano
71	579	279 = LH213 ² 62-829/3C	BSSS
72	580	280 = LH213 ² 62-829/3D	BSSS
73	581	282 = 1221-LH123Ht- ACO	nerazvrstano
74	582	283 = 1221-LH123Ht- BBO	nerazvrstano
75	583	284 = LH123Ht-PHR62A	nerazvrstano
76	585	305 = 71/3-346A	BSSS
77	586	306 = 71/3-346B	BSSS
78	587	306 = 71/3-346B	BSSS
79	588	TR26/2A	nerazvrstano
80	590	POPLH287-4A	nerazvrstano
81	591	M-38	nerazvrstano
82	592	MR10-27488	nerazvrstano
83	593	MMAT-27488	nerazvrstano
84	594	TVA501-942	nerazvrstano
85	597	622448-606C	nerazvrstano
86	599	LH119-7728/3A	Iodent
87	600	2FACC	Iodent
88	601	0729XPHEG9	nerazvrstano
89	602	0725X23-48	nerazvrstano
90	603	0725X346	BSSS
91	606	S4590	nerazvrstano
92	607	S4590	nerazvrstano
93	609	S4590	nerazvrstano
94	610	S5276	nerazvrstano
95	611	S5276	nerazvrstano
96	612	S5276	nerazvrstano
97	613	S5031	nerazvrstano
98	614	S5276	nerazvrstano
99	615	S9606	nerazvrstano
100	616	4590X5276	nerazvrstano
101	617	4590X5276	nerazvrstano
102	618	4590X5276	nerazvrstano
103	619	4590X5276	nerazvrstano
104	620	9911X23-48	BSSS
105	621	9911X23-48	BSSS
106	622	9911X346	nerazvrstano
107	623	S61328XFBLL	tvrdunac
108	627	K05X227	tvrdunac
109	629	BANGYX227	nerazvrstano
110	630	K05XPHN46	nerazvrstano

111	631	K05XPHN46	nerazvrstano
112	632	S61328XLH213-LH62	tvrdunac
113	633	S61328XPHAW6	tvrdunac
114	636	PHBA6XW24275	nerazvrstano
115	637	K05XHBA1	nerazvrstano
116	638	K05XR03	tvrdunac
117	639	S61328XK56	tvrdunac
118	640	PHG47XW24275	nerazvrstano
119	642	PHG47XW24275	nerazvrstano
120	643	PHTM9XW24275	nerazvrstano
121	644	PHTM9XW24275	nerazvrstano
122	645	PHTM9XW24275	nerazvrstano
123	646	PHKE6XW24275	nerazvrstano
124	647	PHKE6XW24275	nerazvrstano
125	648	PHG47(PHGG7)XW24275	Ohio/Lancaster
126	649	PHG47(PHGG7)XW24275	Ohio/Lancaster
127	650	PHBW8X2865	nerazvrstano
128	651	227X2865	nerazvrstano
129	653	PHTM9XJ89	Ohio/Lancaster
130	654	PHTM9XJ89	Ohio/Lancaster
131	655	PHTM9XJ89	Ohio/Lancaster
132	656	PHW52XPHRD6	nerazvrstano
133	657	PHW52XPHRD6	nerazvrstano
134	659	SYNGOHXPHRD6	Ohio/Lancaster
135	660	SYNGOHXPHRD6	Ohio/Lancaster
136	661	SYNGOHXPHRD6	Ohio/Lancaster
137	662	J89XRD6	Ohio/Lancaster
138	663	PHEG9XRD6	nerazvrstano
139	664	813X024445	BSSS
140	665	PHG29X346	BSSS
141	666	23-48XPHTD5	BSSS
142	667	SYNGOH942	nerazvrstano
143	668	W24275	nerazvrstano
144	669	PHRD6	Ohio/Lancaster
145	670	4040-8	BSSS
146	671	PHEG9	Iodent
147	673	4147-RUS	nerazvrstano
148	675	PHWRZ	nerazvrstano
149	676	phbw8	nerazvrstano
150	679	J89X2865	Ohio/Lancaster
151	680	PHGG7XJ89	nerazvrstano
152	681	PHPR5	nerazvrstano
153	682	PHW52	nerazvrstano
154	683	PHJ40	nerazvrstano

155	686	PHJ89	Ohio/Lancaster
156	687	PHK76	Ohio/Lancaster
157	688	PHG29	BSSS
158	689	PHP02	BSSS
159	690	PHM10	BSSS
160	691	LH220Ht	nerazvrstano
161	692	LH1	nerazvrstano
162	693	LH213	Iodent
163	696	2FACC	Iodent
164	697	NL001	Iodent
165	699	83IBI3	BSSS

BSSS – Iowa Stiff Stalk Synthetic

Analiza genotipizacijskih podataka detaljno je opisana u radu Vukadinović i sur., (2025.). Nedostajuće pozicije (2,5 %) i heterozigoti (<5 %) filtrirani su iz skupa podataka i imputirani korištenjem LDKNNI metode (Money i sur., 2015.) što je rezultiralo da se finalni ukupni genotipizacijski set sastojao od 33.001 molekularnog markera korištenih za daljnju analizu. Analiza genetske raznolikosti provedena je pomoću računalnog programa Admixture v2 (Alexander i Lange, 2011.). Na temelju rezultata, inbred linije klasificirane su u sedam ($k=7$) poznatih genskih skupova (*gene pools*), odnosno populacija kukuruza: šećerac, Lancaster, Ohio, tvrdunac/kokičar (flint/pop), B73, B37 i Iodent, kao i nerazvrstane (*admixture*). Točan udio pojedinog genskog skupa prikazan je u dodatnim materijalima u radu Vukadinović i sur., (2025.). Grafički prikaz genetske strukture za $k=7$ prikazan je na Slici 8. Svaki od 165 genotipova prikazan je stupcem obojenim sukladno Q koeficijentu pripadnosti pojedinom genskom skupu (populaciji). Rezultati analize genetske strukture korišteni su kao podaci za cjelogenomsku studiju pridruživanja.



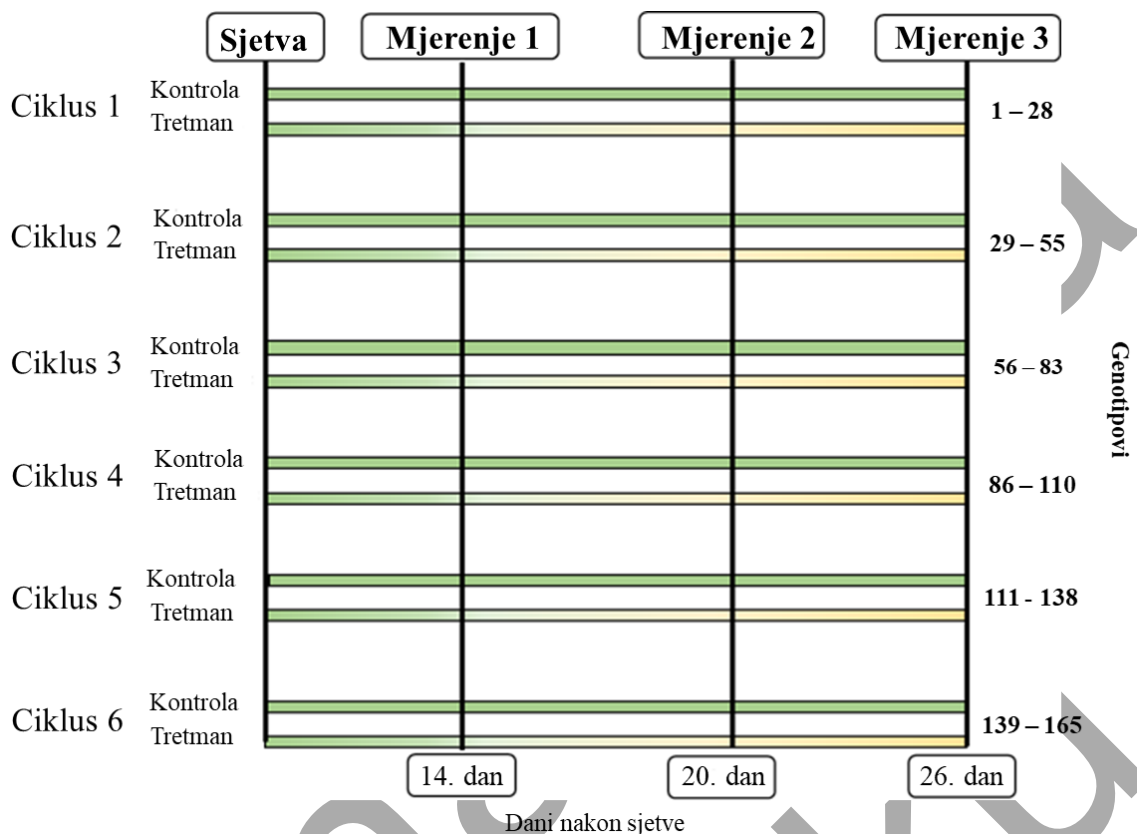
Slika 8. Genetska struktura 165 genotipova (inbred linija) kukuruza korištenih u pokusu dobivena pomoću 33.001 SNP molekularnog markera

3.2 Fenotipizacija

3.2.1 Priprema i uzgoj

Sjetva je provedena u plastičnim posudama dimenzija: 39 cm (širina), 59 cm (dužina), 17 cm (visina) napunjene s 5,5 kg univerzalnog supstrata (Terra Brill TYPical 5, Njemačka). Sijano je po jedno sjeme po mjestu sjetve. Svaka posuda za uzgoj je sadržavala 7 genotipova s po 5 biljaka po genotipu kako bi se osigurao dovoljan konačni broj biljaka po uzorku. Svaki set genotipova je bio postavljen u triplicatu za kontrolu i jednako za tretman zasušivanjem. Zalijevanje je bilo prilagođeno potrebama biljaka određivanjem poljskog vodnog kapaciteta (PVK). Voda koja se koristila za zalijevanje posuda se uzimala iz filtracijskog sustava integriranog u uzgojnu klima komoru.

Uzgoj biljaka je proveden u klima komori s jednom policom (*double-tier*) (FITOCLIMA 12000 PLH proizvođača Aralab, Rio de Mouro, Portugal. Uzgoj svih 165 genotipova je zbog ograničenog kapaciteta komore obavljen u šest ciklusa. Na Slici 9 se nalazi shematski prikaz tijeka pokusa. Pokus je bio postavljen istovremeno u kontroli koja je bila zalijevana svakodnevno, te tretmanu zasušivanjem koje je provedeno izostavljanjem zalijevanja od desetog dana nakon sjetve. Na temelju rezultata preliminarnog pokusa, biljke su bile uzgajane ukupno 28 dana, što je dovoljno da biljke u kontroli razviju 6 do 7 pravih listova.



Slika 9. Shematski prikaz tijeka pokusa

Uvjeti uzgoja bili su postavljeni na sljedeći način: 18 sati dana pri temperaturi od 25°C i relativnom vlažnosti od 65 %, te 8 sati noći pri temperaturi od 18°C i relativnom vlažnosti od 90 %. Biljke su bile osvjetljene svjetlošću od 550 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ korištenjem PHILIPS Master TL-D 58W/865 fluorescentnih žarulja (PHILIPS, Amsterdam, Nizozemska). Deset dana nakon nicanja, biljke su bile prorijeđene na dvije biljke po genotipu u svakoj posudi.

3.2.2 Prikupljanje podataka

Mjerenja su se sastojala od mjerenja fluorescencije klorofila i hiperspektralnog odziva listova. Mjerenja su provedena tri puta tijekom pokusa uporabom tri zasebna uređaja. Fluorescencija klorofila bila je mjerena uređajem MP100 (PhotonSystem Instruments (PSI), Drásov, Republika Češka) 25min nakon adaptacije listova na tamu upotrebom hvataljki (klipsa). Hiperspektralna mjerenja su bila provedena uporabom dva ručna spektrometra, PolyPen RP 410 UV/VIS (PhotonSystem Instruments (PSI), Drásov, Republika Češka) koji mjeri hiperspektralne odzive u rasponu 380 – 790 nm i PolyPen RP 410 NIR (PhotonSystem Instruments (PSI), Drásov, Republika Češka) koji mjeri hiperspektralne odzive u rasponu 640

– 1.050 nm. Uređaji posjeduju vlastiti izvor svjetla te mjere rezolucijom od 8 nm, a kalibracija je provedena korištenjem Spectralon standarda (*PolyPen | Handheld Devices*).

Prvi set mjerenja je izvršen na 14. dan nakon sjetve, drugi set na 20. dan i posljednji set mjerenja na 26. dan nakon sjetve (Slika 9). Dvije biljke svakog genotipa po uzgojnoj posudi su bile mjerene što je rezultiralo ukupnim brojem od šest tehničkih replika po genotipu po tretmanu (ukupno 12 replika za kontrolu i tretman za svaki genotip). Posude za uzgoj su bile randomizirane unutar klima komore promjenom njihovog mjesta i orijentacije naspram središnjeg prolaza/zidova kako bi se minimizirali potencijalni mikrookolišni efekti. Randomizacija se vršila po završetku svakog seta mjerenja. 28. dan nakon sjetve uslijedilo je uzorkovanje i odvaga biomase. Vaganje je provedeno korištenjem precizne vage PS 6100.R2.M (Radwag, Radom, Poljska). Uzorci su zatim bili sušeni u sušioniku tokom 48h pri temperaturi od 78°C i ponovo vagani kako bi se dobila masa suhe tvari uzoraka. Tablica 2. prikazuje popis korištenih parametara.

Tablica 2. Popis parametara s njima pripadajućim jednađbama i referencama

Indeksi	Formula	Reference
ChlF indeksi		
Maksimalni kvantni prinos primarne fotokemije listova adaptiranih na mrak (Phi_Po)	$\Phi_{Po} = 1 - (F_0/F_m) \text{ (or } F_v/F_m)$	(Strasser i sur., 2000.)
Vjerojatnost da zarobljeni eksiton pomakne elektron u lanac transporta elektrona dalje od QA (Psi_o)	$\Psi_o = 1 - VJ$	(Strasser i sur., 2000.)
Kvantni prinos transporta elektrona (Phi_Eo)	$(1 - (F_0/F_m)) \times \Psi_o$	(Strasser i sur., 2000.)
Vrijeme potrebno za postizanje maksimalne fluorescencije klorofila (Phi_Pav)	$\Phi_{Po} (SM/tF_m)$	(Strasser i sur., 2000.)
Fotosintetska učinkovitost na osnovi apsorpcije (Pi_Abs)	$(RC/ABS) [\Phi_{Po}/(1-\Phi_{Po})] [\Psi_o/(1-\Psi_o)]$	(Strasser i sur., 2000.)
NIR indeksi		
Indeks normalizirane razlike vegetacije (NDVI)	$(RNIR - RRED)/(RNIR + RRED)$	(Rouse i sur., 1974.)
Indeks jednostavnog omjera (SRI)	$RNIR/RRED$	(Jordan, 1969.; Rouse i sur., 1974.)
Indeks Zarco-Tejada i Millera (ZMI)	$R750/R710$	(Zarco-Tejada i sur., 2001.)
Indeks refleksije starenja biljaka a (PSNDa)	$(R790 - R680)/(R790 + R680)$	(Blackburn, 1998.)
Renormalizirani indeks razlike vegetacije (RDVI)	$(R780 - R670)/((R780 + R670)0.5)$	(Roujean i Breon, 1995.)
UVIS indeksi		
Modificirani indeks apsorpcije klorofila u refleksiji 1 (MCARI1)	$1.2 \times [2.5 \times (R790 - R670) - 1.3 \times (R790 - R550)]$	(Haboudane i sur., 2004.)
Indeks zelenosti (G)	$R554/R677$	(Kauth i Thomas, 1976.)
Modificirani indeks apsorpcije klorofila u refleksiji (MCARI)	$[(R700 - R670) - 0.2 \times (R700 - R550)] \times (R700/R670)$	(Daughtry i sur., 2000.)
Gitelsonov i Merzlyakov indeks 1 (GM1)	$R750/R550$	(Gitelson i Merzlyak, 1997.)
Gitelsonov i Merzlyakov indeks 2 (GM2)	$R750/R700$	(Gitelson i Merzlyak, 1997.)

3.2.3 Obrada podataka

Obrada podataka i statistička analiza izvršene su Python programskim jezikom unutar Visual Studio Code (VSCode 1.96.2) računalnog programa (Visual Studio Code - Code Editing. Redefined; Welcome to Python.Org, 2025) . Cijeli set podataka prvo je obrađen uporabom interkvartilnog raspona kako bi se izdvojile i uklonile atipične vrijednosti (*outliers*) nakon čega su nedostajuće vrijednosti imputirane korištenjem IterativeImputer funkcije scikit-learn paketa (IterativeImputer). Podatci su standardizirani korištenjem StandardScalera (scikit-learn 1.7) (StandardScaler).

Za statističku analizu korišten je sljedeći mješoviti linearni model

$$y_{ijk} = \mu + (G_i) + T_j + M_k + (GT_{ij}) + (GM_{ik}) + TM_{jk} + (GTM_{ijk}) + e_{ijk}$$

gdje je y_{ijk} srednja vrijednost svojstva i-tog genotipa j-tog tretmana k-tog mjerenja, μ ukupna prosječna vrijednost, G_i učinak i-tog genotipa, T_j učinak j-tog tretmana, M_k učinak k-tog mjerenja, GT_{ij} , GM_{ik} , TM_{jk} , GTM_{ijk} su odnosni interakcijski učinci, a e_{ijk} je ostatak, odnosno pogreška pokusa uzimajući u obzir i r-tu repeticiju. Slučajni efekti prikazani su sa zagradama „()“, dok su efekti bez zagrada korišteni kao fiksni.

Za razliku od rezultata prikazanih kod Vukadinović i sur. (2025) gdje su korišteni BLUP-ovi odnosno metoda najboljeg linearnog nepristranog predviđanja (*best linear unbiased prediction* - BLUP) ovdje su prikazane nekorrigirane (izvorne) srednje vrijednosti za sva svojstva. Zbog konzistentne značajnosti interakcija genotip $\times$ tretman (GT), kao i tretman $\times$ mjerenje (TM) u analizi varijance za sva svojstva, proveden je post-hoc Fisherov test najmanje značajne razlike ili LSD test (LSD – *least significant difference*). U rezultatima su prikazane LSD vrijednosti za srednje vrijednosti svih svojstava grupirane posebno po tretmanima (kontrola i zasušivanje).

3.3 Cjelogenomska studija pridruživanja (GWAS)

Fenotipski podatci su agregirani prema srednjim vrijednostima unutar svake kombinacije mjerenog tretmana i genotipa te kombinirani s genomskim podacima za asocijacijsko mapiranje (AM). AM je provedeno u računalnom programu Tassel verzije 5.2.96 (Bradbury i sur., 2007.; Monier i sur., 2022,) korištenjem procedure miješanog linearnog modela, uzimajući u obzir strukturu populacije (Q), procijenjenu analizom glavnih koordinata sa šest osi, i srodnost (K) izračunato metodom identičnosti po stanju s do šest predačkih alela, tj. MLM+Q+K. Bonferronijev prag za deklariranje značajnosti asocijacije određen je sljedeći

simpleM postupak koji su opisali Gao i sur., (2008.) i Gao i sur. (2010.). Ukratko, od 33.001 filtriranih i imputiranih markera, efektivni broj markera određen je na 8.201, a prag značajnosti od $\alpha = 0,05$ podijeljen je s efektivnim brojem markera, što je rezultiralo vrijednošću $-\log(p)$ od 5,214. Za vizualizaciju rezultata cjelogenomskih studija priduživanja korišteni su Manhattan i QQ (kvantil-kvantil) dijagrami. Usko podudaranje vrijednosti na QQ dijagramima s linijom jednakosti pri nižim vrijednostima $-\log_{10}(p)$ ukazuje na valjanost statističke metode dok odvajanje vrijednosti od linije jednakosti i intervala pouzdanosti pri većim vrijednostima $-\log_{10}(p)$ pokazuje značajnost zabilježenih asocijacija.

3.4 Modeliranje i strojno učenje

Analiza je provedena učitavanjem podataka i odabirom feodlika (*features*) iz više domena mjerenja. Skup odlika uključuje hiperspektralna mjerenja iz UV-VIS i NIR područja elektromagnetskog spektra, OJIP parametre fluorescencije klorofila, izračunate spektralne indekse i nekoliko kvantitativnih, kontinuiranih varijabli, uključujući Su/Sh, Flint/pop, Ohio, Lancaster, B73, Iodent, B37, masa sto zrna (*hundred kernel weight*) (HKW).

Nedostajuće vrijednosti u numeričkim stupcima bile su imputirane pomoću srednjih vrijednosti stupaca. Izabran je nasumični podskup podataka koji je predstavljao podjednaku zastupljenost tretmana.

Četiri pristupa strojnom učenju primjenjena su za ispitivanje različitih vrsta odnosa u podacima: Parcijalna regresija najmanjih kvadrata (PLSR) sa 62 komponente korištena je kao osnovna linearna metoda. Ovaj pristup korekcije kolinearnosti izvornih podatak je bio prikladan zbog velikog broja autokoreliranih spektralnih podataka. 62 komponente su odabrane radi optimizacije, kako bi se zadovoljilo Gauss – Markovljevo načelo ostvarivanja najboljih nepristranih predviđanja. XGBoost (Ekstremno gradijentno pojačavanje) imao je konfiguraciju od 100 estimatora, stopom učenja od 0,1 i maksimalnom dubinom od 6 radi sprečavanja prekomjernog prilagođavanja (*overfitting*) uz održavanje dovoljne složenosti modela za obuhvat nelinearnih odnosa. Random Forest je koristio 100 stabala (*decision tree*) s maksimalnom dubinom od 10, koristeći paralelizaciju procesa za računalnu učinkovitost. Ovakav sklop modela je pružio prirodno rangiranje važnosti odlika i obradu nelinearne interakcije između varijabli bez potrebe za eksplicitnim prilagođavanjem odlika (*features*) poput logaritmiranja, kvadriranja i dr. Konvolucijska neuronska mreža s višeslojnim

perceptronom (CNN-MLP) je korištena kao metoda dubokog učenja. Arhitektura se sastojala od dva konvolucijska sloja (64 i 32 filtra, svaki s veličinom jezgre 3) nakon čega su uslijedile operacije objedinjavanja maksimalne vrijednosti (*max pooling*). Konvolucijski slojevi su izdvojili lokalne uzorke iz spektralnih podataka. Izdvojene odlike su zatim prošle kroz potpuno povezanu mrežu s dva skrivena sloja (128 i 64 neurona) koji uključuju 30 %-tno odstranjivanje (*dropout*) s ciljem dodatneregularizacije. Ova arhitektura se koristila za obuhvat i lokalnih spektralnih uzoraka i globalnih odnosa između varijabli.

Analiza je koristila dvije komplementarne strategije evaluacije za procjenu generalizacije modela: Analiza po kombinaciji koja je trenirala odvojene modele za svaku kombinaciju tretmana i mjerenja te je procjenjivala njihovu učinkovitost na svim ostalim kombinacijama. To je stvorilo sveobuhvatnu matricu unakrsne validacije koja pokazuje koliko dobro modeli generaliziraju u različitim eksperimentalnim uvjetima. Globalna podjela treninga i testiranja koristila je uobičajenu nasumičnu podjelu podataka za trening i validaciju (*train-test split*) 80-20 za procjenu ukupne učinkovitosti modela. Odvojeni modeli trenirali su se za predviđanja svježih, odnosno suhih tvari, s neovisnim skalarima standardizacije za odlike i svaku ciljnu varijablu osiguravajući da razlike u skalama između svježih i suhih tvari ne utječu na proces učenja. Svi podatci su standardizirani pomoću *StandardScalera* prije treniranja modela. Za ulaze neuronske mreže, matrica značajki se preoblikovala kako bi se dodala dimenzija kanala, tretirajući spektralna mjerenja kao 1D signal analogan podacima vremenskih serija.

Neuronske mreže su trenirane u 50 epoha od kojih svaka predstavlja jedan kompletan prolaz kroz čitav skup podataka pri čemu model ažurira svoje unutarnje parametre učeći iz svakog primjera. Veličina serije od 32 predstavlja koliko se uzoraka za treniranje modela obrađuje zajedno prije ažuriranja modela. Koristio se Adam optimizator (*Adaptive Moment Estimation*) (*Adam — PyTorch 2.8 Documentation*) koji je optimizacijski algoritam prvog reda temeljen na gradijentima i adaptivnoj procjeni s stopom učenja od 0,001 i srednjom kvadratnom pogreškom kao funkcijom gubitka (Kingma i Ba, 2017.). Podjela validacije od 20 % iz podataka za treniranje prati *overfitting* tijekom treniranja.

Za metode temeljene na stablu odluke, modeli su koristili svoje odgovarajuće zadane kriterije dijeljenja prikladne za regresijske zadatke. Performanse modela procijenile su se pomoću koeficijenta determinacije (R^2) i srednje kvadratne pogreške (MSE) za obje ciljne varijable prema sljedećim formulama:

$$MSE_{DW} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (DW_{stvarna,i} - DW_{predviđena,i})^2$$

$$MSE_{FW} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (FW_{stvarna,i} - FW_{predviđena,i})^2$$

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (y_{stvarna,i} - y_{predviđena,i})^2}{\sum_{i=1}^n (y_{stvarna,i} - \bar{y}_{stvarna})^2}$$

pri čemu je:

$$\bar{y}_{stvarna} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n y_{stvarna,i}$$

4. Rezultati

4.1 Fenotipizacija

Na Tablici 3. prikazane su srednje vrijednosti kontrole i tretmana s pripadajućim standardnim devijacijama za odabrane ChlF parametre i njihova razlika za pojedino mjerenje te LSD vrijednosti za kontrolu i tretman U tablici je vidljiv izražen pad srednjih vrijednosti parametara u tretmanu kroz mjerenja (osim kod Phi_Pav parametra gdje srednje vrijednosti rastu) te rast vrijednosti pripadajućih standardnih devijacija. Razlike srednjih vrijednosti također bilježe rast kroz mjerenja s najvećom razlikom u posljednjem mjerenju.

Tablica 3. Srednje vrijednosti kontrole i tretmana s pripadajućim standardnim devijacijama za odabrane ChlF parametre i njihova razlika za pojedino mjerenje te LSD vrijednosti za kontrolu, tretman i skupna vrijednost LSD-a. Podebljana vrijednost označava statistički značajnu razliku.

Phi_Po			
	Kontrola	Tretman	Razlika
Mjerenje 1	0,81 ± 0,02	0,81 ± 0,02	0,01
Mjerenje 2	0,79 ± 0,02	0,77 ± 0,04	0,02
Mjerenje 3	0,77 ± 0,04	0,62 ± 0,18	0,15
LSD	0,05	0,14	
Psi_o			
Mjerenje 1	0,60 ± 0,05	0,59 ± 0,06	0,01
Mjerenje 2	0,56 ± 0,06	0,52 ± 0,26	0,04
Mjerenje 3	0,52 ± 0,09	0,42 ± 0,16	0,1
LSD	0,08	0,11	
Phi_Eo			
Mjerenje 1	0,49 ± 0,05	0,48 ± 0,05	0,01
Mjerenje 2	0,44 ± 0,06	0,40 ± 0,07	0,04
Mjerenje 3	0,40 ± 0,09	0,25 ± 0,12	0,15
LSD	0,07	0,1	
Phi_Pav			
Mjerenje 1	933 ± 15	933 ± 16	0,49
Mjerenje 2	940 ± 17	947 ± 17	7
Mjerenje 3	953 ± 20	964 ± 16	11
LSD	16	34	
Pi_Abs			
Mjerenje 1	3,23 ± 1,14	3,03 ± 1,20	0,20
Mjerenje 2	2,31 ± 1,00	1,68 ± 0,89	0,63
Mjerenje 3	1,84 ± 1,15	0,54 ± 0,53	1,30
LSD	1,07	1,23	

Tablici 4. prikazuje srednje vrijednosti kontrole i tretmana s pripadajućim standardnim devijacijama za odabrane HS indekse NIR dijela spektra i njihova razlika za pojedino mjerenje te LSD vrijednosti za kontrolu i tretman U tablici je vidljiv pad srednjih vrijednosti parametara u tretmanu kroz mjerenja te rast vrijednosti pripadajućih standardnih devijacija. Razlike srednjih vrijednosti također bilježe rast kroz mjerenja s najvećom razlikom u posljednjem mjerenju.

Tablica 4. Srednje vrijednosti kontrole i tretmana s pripadajućim standardnim devijacijama za odabrane HS indekse NIR dijela spektra i njihova razlika za pojedino mjerenje te LSD vrijednosti za kontrolu, tretman i skupna vrijednost LSD-a; podebljana vrijednost označava statistički značajnu razliku.

NDVI			
	Kontrola	Tretman	Razlika
Mjerenje 1	0,41 ± 0,03	0,40 ± 0,03	0,01
Mjerenje 2	0,40 ± 0,03	0,37 ± 0,04	0,03
Mjerenje 3	0,37 ± 0,05	0,33 ± 0,06	0,04
LSD	0,01	0,05	
SRI			
Mjerenje 1	2,42 ± 0,18	2,34 ± 0,15	0,08
Mjerenje 2	2,32 ± 0,16	2,18 ± 0,21	0,14
Mjerenje 3	2,19 ± 0,22	2,00 ± 0,29	0,19
LSD	0,16	0,20	
ZMI			
Mjerenje 1	1,78 ± 0,14	1,73 ± 0,13	0,05
Mjerenje 2	1,69 ± 0,15	1,63 ± 0,19	0,06
Mjerenje 3	1,56 ± 0,19	1,45 ± 0,23	0,11
LSD	0,14	0,16	
PSNDa			
Mjerenje 1	0,44 ± 0,03	0,43 ± 0,03	0,01
Mjerenje 2	0,43 ± 0,03	0,40 ± 0,04	0,03
Mjerenje 3	0,40 ± 0,04	0,36 ± 0,06	0,04
LSD	0,01	0,05	
RDVI			
Mjerenje 1	67,3 ± 5,4	65,4 ± 4,5	2,0
Mjerenje 2	65,5 ± 4,2	62,7 ± 6,7	2,8
Mjerenje 3	62,3 ± 6,6	56,89 ± 10,0	5,5
LSD	4,9	8,0	

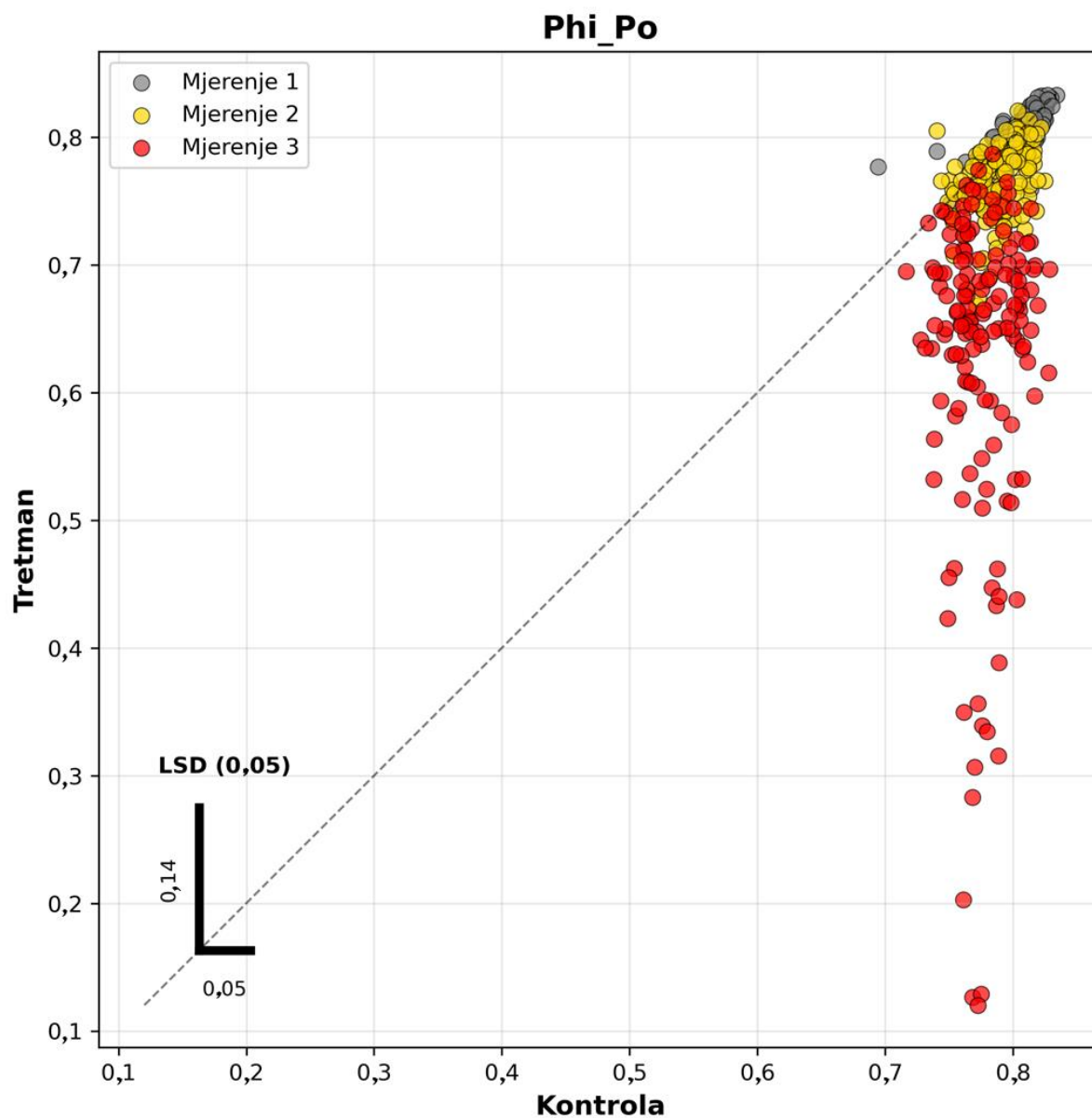
Tablica 5. prikazuje srednje vrijednosti kontrole i tretmana s pripadajućim standardnim devijacijama za odabrane HS indekse UVIS dijela spektra i njihova razlika za pojedino mjerenje te LSD vrijednosti za kontrolu i tretman. Tablica pokazuje vidljiv pad srednjih vrijednosti parametara u tretmanu kroz mjerenja (osim kod MCARI indeksa gdje vrijednosti rastu) te rast vrijednosti pripadajućih standardnih devijacija. Kod MCARI1 indeksa vidljiv je porast vrijednosti u kontroli kroz mjerenja. Razlike srednjih vrijednosti također bilježe rast kroz mjerenja s najvećom razlikom u posljednjem mjerenja (osim kod MCARI i GM1 indeksa).

Tablica 5. Srednje vrijednosti kontrole i tretmana s pripadajućim standardnim devijacijama za odabrane HS indekse NIR dijela spektra i njihova razlika za pojedino mjerenje te LSD vrijednosti za kontrolu, tretman i skupna vrijednost LSD-a; podebljana vrijednost označava statistički značajnu razliku.

MCARI1			
	Kontrola	Tretman	Razlika
Mjerenje 1	12.668 ± 1.081	12.862 ± 1.128	194
Mjerenje 2	13.069 ± 1.316	12.522 ± 1.770	547
Mjerenje 3	13.520 ± 1.723	11.013 ± 2.827	2.507
LSD	1.215	2.091	
G			
Mjerenje 1	1,44 ± 0,07	1,45 ± 0,07	0,01
Mjerenje 2	1,48 ± 0,09	1,46 ± 0,10	0,02
Mjerenje 3	1,54 ± 0,11	1,40 ± 0,13	0,14
LSD	0,08	0,10	
MCARI			
Mjerenje 1	1.710 ± 496	1.844 ± 461	134
Mjerenje 2	1.972 ± 588	1.972 ± 763	0,5
Mjerenje 3	2.489 ± 915	2.137 ± 909	352
LSD	659	689	
GM1			
Mjerenje 1	1,31 ± 0,08	1,29 ± 0,08	0,02
Mjerenje 2	1,25 ± 0,09	1,21 ± 0,11	0,04
Mjerenje 3	1,17 ± 0,11	1,18 ± 0,11	0,01
LSD	0,09	0,08	
GM2			
Mjerenje 1	1,65 ± 0,09	1,62 ± 0,09	0,03
Mjerenje 2	1,58 ± 0,11	1,52 ± 0,14	0,06
Mjerenje 3	1,50 ± 0,14	1,40 ± 0,18	0,10
LSD	0,11	0,12	

4.1.1 Phi_Po

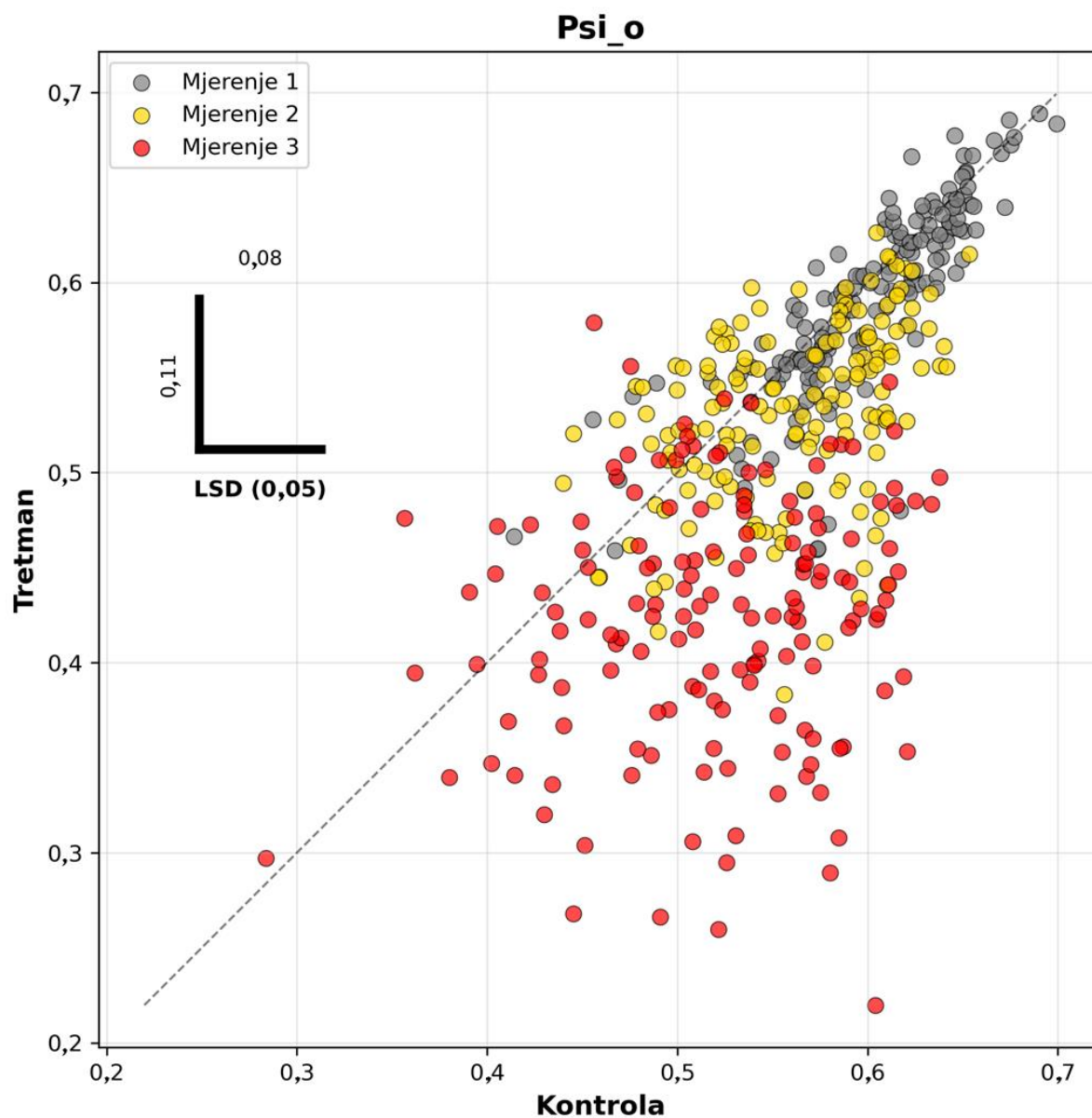
Slika 10. prikazuje odnose srednjih vrijednosti maksimalnog kvantnog prinosa primarne fotokemije (Phi_Po) između kontrole i tretmana kroz tri mjerenja. Vremenska progresija stvara kaskadni efekt. Pri prvom mjerenju većina genotipova održava relativno visoke vrijednosti Phi_Po, grupirajući se blizu dijagonalne linije. Intenzifikacijom stresa suše kroz drugo mjerenje, a posebno treće, uočava se dramatičan pad vrijednosti Phi_Po kod većine genotipova. Raspon vrijednosti kontrole pri prvom mjerenju je 0,69 - 0,84 sa srednjom vrijednost od 0,81, dok je raspon vrijednosti tretmana pri prvom mjerenju 0,67 – 0,85 sa srednjom vrijednosti od 0,81. Raspon vrijednosti kontrole pri drugom mjerenju je 0,69 – 0,84 sa srednjom vrijednosti od 0,79, dok je raspon vrijednosti tretmana pri drugom mjerenju 0,57 – 1,21 sa srednjom vrijednosti od 0,77. Raspon vrijednosti kontrole pri trećem mjerenju je 0,60 – 0,84 sa srednjom vrijednost od 0,77, dok je raspon vrijednosti tretmana pri trećem mjerenju 0,00 – 1,22 sa srednjom vrijednosti od 0,62. Pri prvom mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 0,001 (0,2%); (tretman/kontrola omjer: 0,998), pri drugom mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 0,02 (3,0 %); (tretman/kontrola omjer: 0,97) pri trećem mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je statistički značajna 0,15 (19,8 %); (tretman/kontrola omjer: 0,80). Kontrola bilježi blagi pad vrijednosti (4,2 %), dok tretman bilježi znatno veći pad (23,0 %) kroz tri mjerenja. Najmanje vrijednosti u trećem mjerenju su imali genotipovi 587, 563 i 568.



Slika 10. Odnosi srednjih vrijednosti maksimalnog kvantnog prinosa primarne fotokemije između kontrole i tretmana kroz tri mjerenja. Isprekidana linija označava jednake vrijednosti kontrole i tretmana, a pune linije uz oznaku LSD (0,05) označavaju najmanju značajnu razliku na razini $p \leq 0,05$

4.1.2 Psi_o

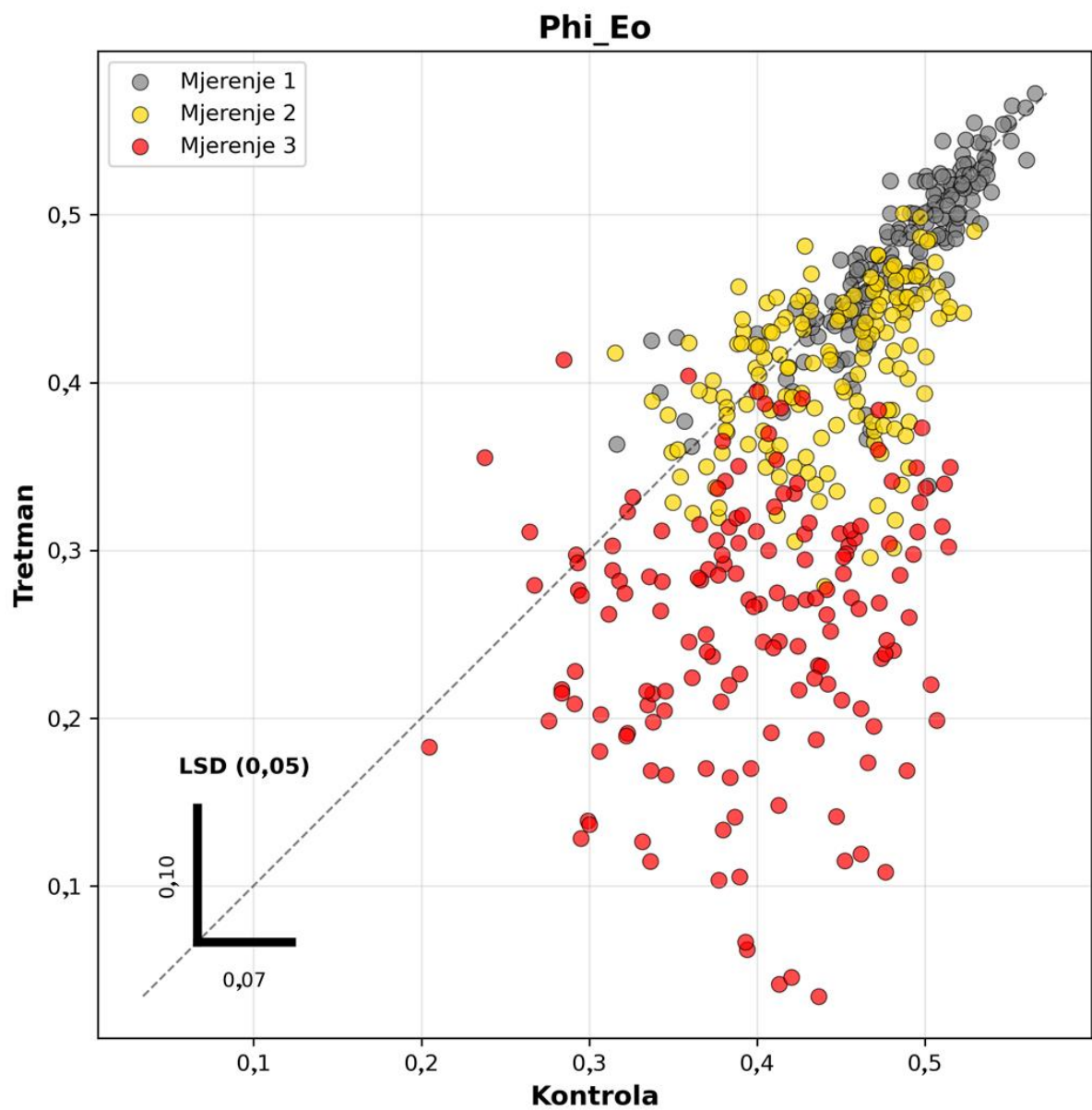
Odnosi srednjih vrijednosti za vjerojatnosti da zarobljeni eksciton pomakne elektron u lanac transporta elektrona dalje od Q_A (Psi_o) između kontrole i tretmana kroz tri mjerenja su prikazani na Slici 11. Vremenska progresija pokazuje sličan trend kao i kod prethodnog grafa s progresivnim padom vrijednosti intenzifikacijom stresa suše no s većim raspršenjem vrijednosti od prethodnog grafa. Raspon vrijednosti kontrole pri prvom mjerenju je 0,25 – 0,72 sa srednjom vrijednost od 0,60, dok je raspon vrijednosti tretmana pri prvom mjerenju 0,30 – 0,71 sa srednjom vrijednosti od 0,59. Raspon vrijednosti kontrole pri drugom mjerenju je 0,23 – 0,69 sa srednjom vrijednosti od 0,56, dok je raspon vrijednosti tretmana pri drugom mjerenju -0,24 – 0,68 sa srednjom vrijednosti od 0,52. Raspon vrijednosti kontrole pri trećem mjerenju je 0,13 – 0,70 sa srednjom vrijednosti od 0,52, dok je raspon vrijednosti tretmana pri trećem mjerenju -2,97 – 0,80 sa srednjom vrijednosti od 0,42. Pri prvom mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 0,02 (1,8 %); (tretman/kontrola omjer: 0,98), pri drugom mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 0,04; (tretman/kontrola omjer: 0,93), pri trećem mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 0,10 (19,7 %); (tretman/kontrola omjer: 0,80). Kontrola bilježi pad vrijednosti (13,9 %), s većim padom kod tretmana (29,5 %) kroz tri mjerenja.



Slika 11. Odnosi srednjih vrijednosti za vjerojatnosti da zarobljeni eksciton pomakne elektron u lanac transporta elektrona dalje od Q_A između kontrole i tretmana kroz tri mjerenja. Isprekidana linija označava jednake vrijednosti kontrole i tretmana, a pune linije uz oznaku LSD (0,05) označavaju najmanju značajnu razliku na razini $p \leq 0,05$

4.1.3 Phi_Eo

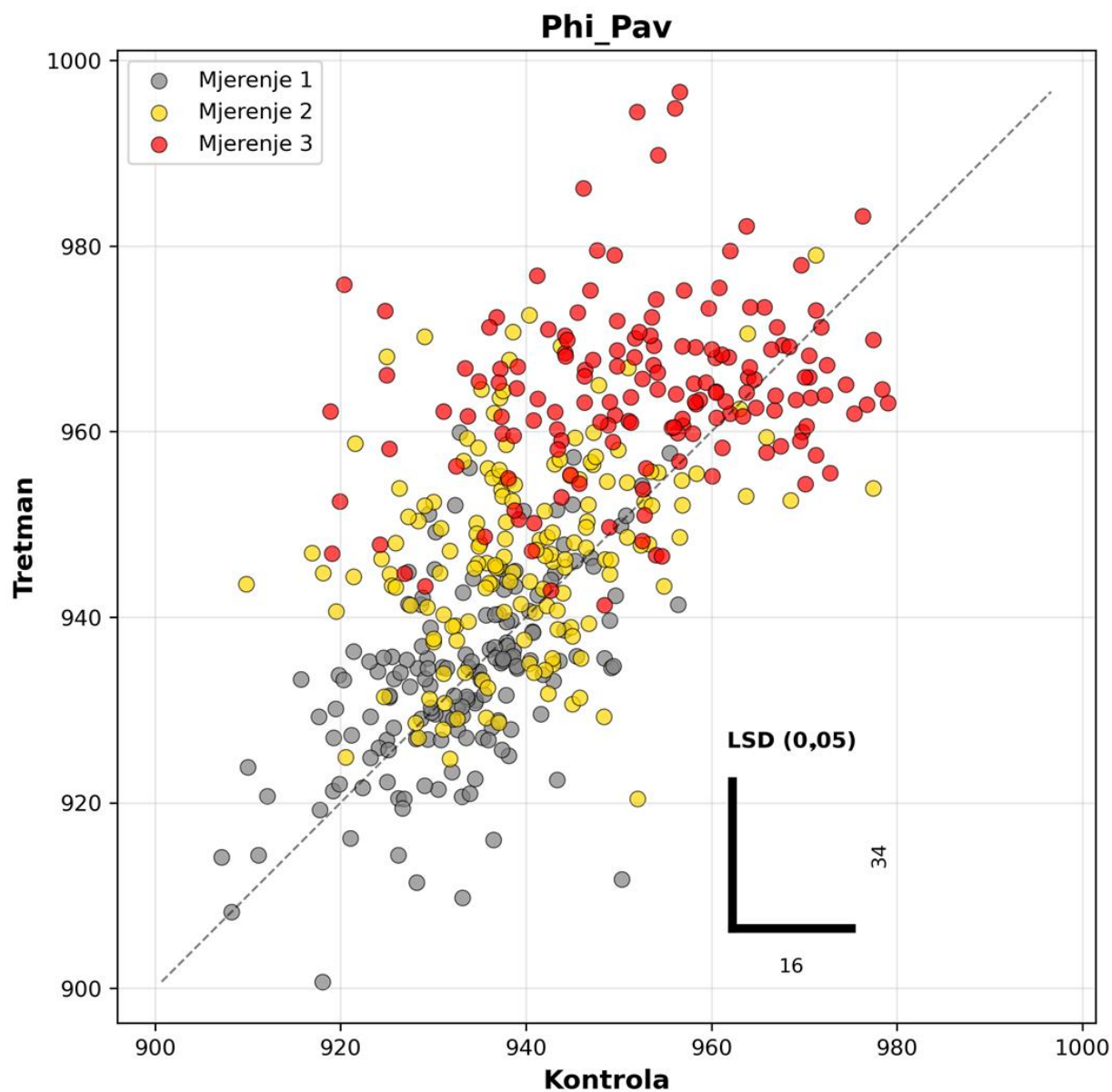
Na Slici 12 su prikazani odnosi srednjih vrijednosti kvantnog prinosa transporta elektrona između kontrole i tretmana kroz tri mjerenja (Phi_Eo). Također, kao i na prethodnom grafu, intenzifikacijom stresa suše je vidljiv progresivni pad vrijednosti. Raspon vrijednosti kontrole pri prvom mjerenju je 0,18 – 0,59 sa srednjom vrijednost od 0,49, dok je raspon vrijednosti tretmana pri prvom mjerenju 0,20 – 0,59 sa srednjom vrijednosti od 0,48. Raspon vrijednosti kontrole pri drugom mjerenju je 0,17 – 0,56 sa srednjom vrijednost od 0,44, dok je raspon vrijednosti tretmana pri drugom mjerenju -0,07 – 0,54 sa srednjom vrijednosti od 0,40. Raspon vrijednosti kontrole pri trećem mjerenju je 0,07 – 0,57 sa srednjom vrijednosti od 0,40, dok je raspon vrijednosti tretmana pri trećem mjerenju -0,07 – 0,48 sa srednjom vrijednosti od 0,25. Pri prvom mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 0,01 (2,0 %); (tretman/kontrola omjer: 0,98), pri drugom mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 0,04 (8,3 %); (tretman/kontrola omjer: 0,92), pri trećem mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 0,14 (36,2 %); (tretman/kontrola omjer: 0,54). Kontrola bilježi pad vrijednosti (18,8 %), s većim padom kod tretmana (47,2 %) kroz tri mjerenja.



Slika 12. Odnosi srednjih vrijednosti kvantnog prinosa transporta elektrona između kontrole i tretmana kroz tri mjerenja. Isprekidana linija označava jednake vrijednosti kontrole i tretmana, a pune linije uz oznaku LSD (0,05) označavaju najmanju značajnu razliku na razini $p \leq 0,05$

4.1.4 Phi_Pav

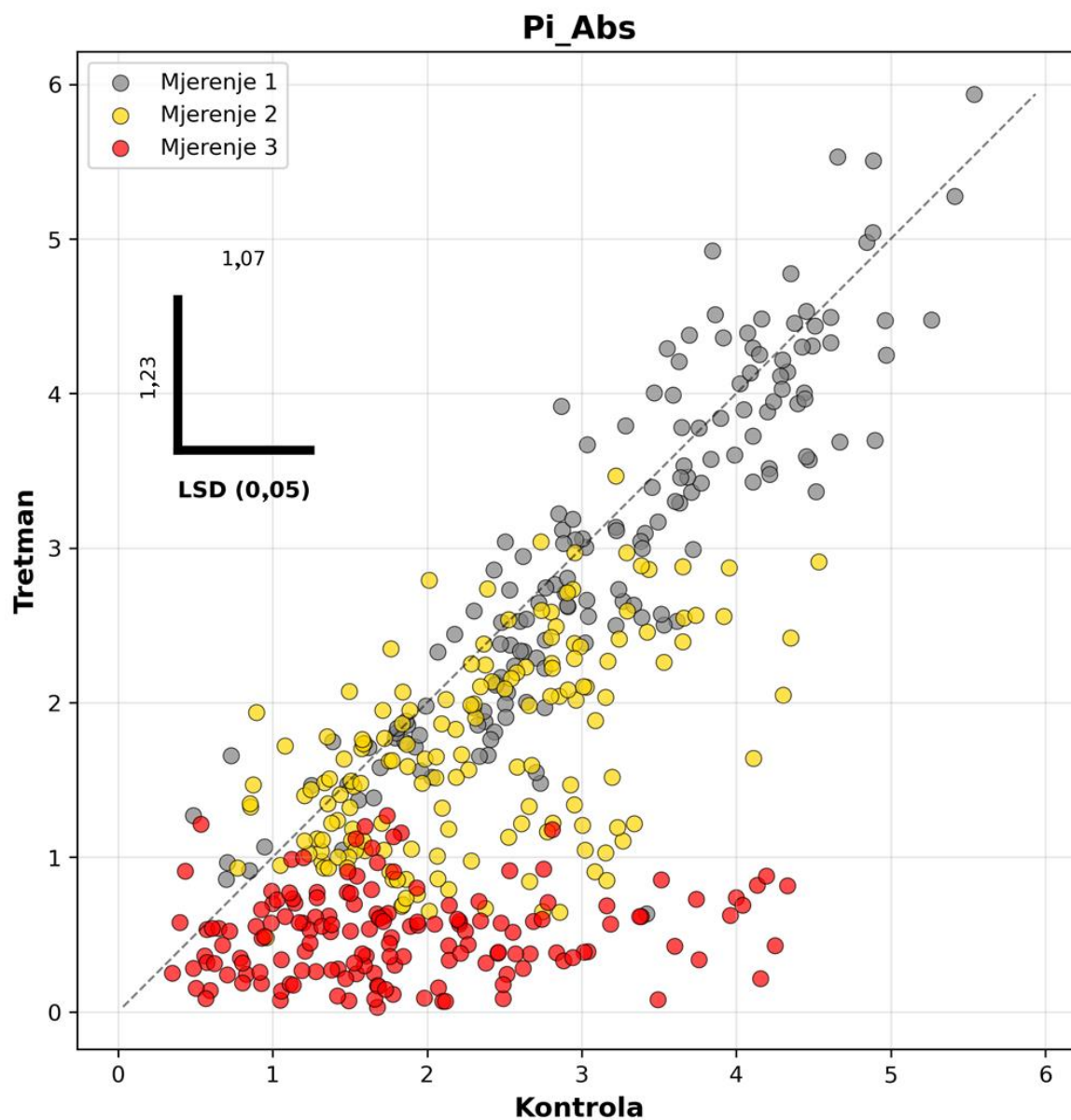
Slika 13. prikazuje odnose srednjih vrijednosti za vrijeme potrebno za postizanje maksimalne fluorescencije klorofila između kontrole i tretmana kroz tri mjerenja. I na ovom grafu je primjetno odvajanje vrijednosti pojedinih mjerenja, s porastom vrijednosti kroz mjerenja. Raspon vrijednosti kontrole pri prvom mjerenju je 881 – 979 sa srednjom vrijednost od 933, dok je raspon vrijednosti tretmana pri prvom mjerenju 885 – 981 sa srednjom vrijednosti od 933. Raspon vrijednosti kontrole pri drugom mjerenju je 895 – 992 sa srednjom vrijednost od 940, dok je raspon vrijednosti tretmana pri drugom mjerenju 894 – 1.018 sa srednjom vrijednosti od 947. Raspon vrijednosti kontrole pri trećem mjerenju je 899 – 992 sa srednjom vrijednost od 952, dok je raspon vrijednosti tretmana pri trećem mjerenju 887 – 1.024 sa srednjom vrijednosti od 964. Pri prvom mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 0,48 (0,1 %); (tretman/kontrola omjer: 1), pri drugom mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 6,96 (0,7 %); (tretman/kontrola omjer: 1,01), pri trećem mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 11,26 (1,2 %); (tretman/kontrola omjer: 1,01). Kontrola bilježi porast vrijednosti (2,1 %), tretman također bilježi porast (3,3 %) kroz tri mjerenja.



Slika 13. Odnosi srednjih vrijednosti za vrijeme potrebno za postizanje maksimalne fluorescencije klorofila između kontrole i tretmana kroz tri mjerenja. Isprekidana linija označava jednake vrijednosti kontrole i tretmana, a pune linije uz oznaku LSD (0,05) označavaju najmanju značajnu razliku na razini $p \leq 0,05$

4.1.5 Pi_Abs

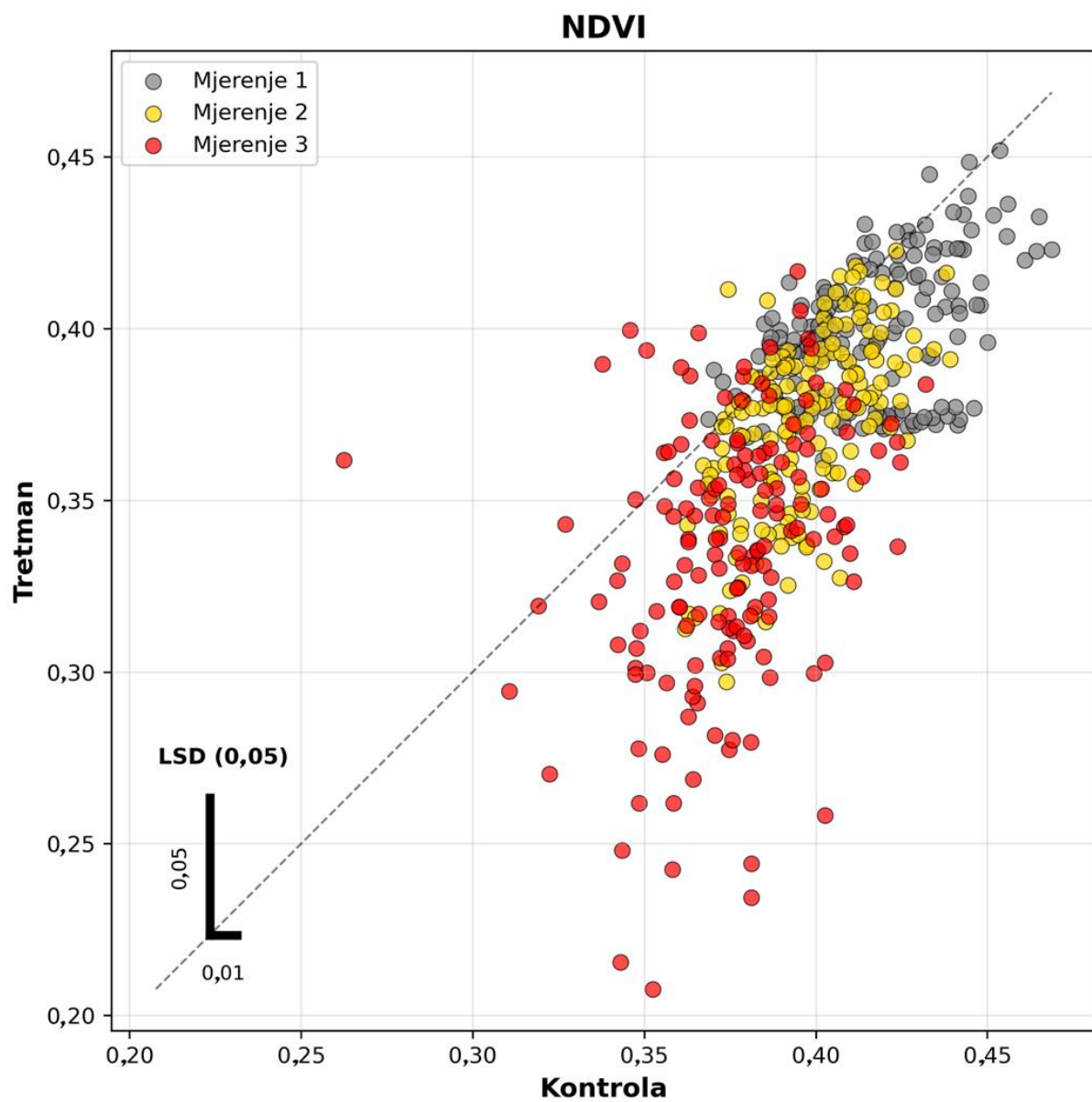
Slika 14. prikazuje odnose srednjih vrijednosti indeksa performanse između kontrole i tretmana kroz tri mjerenja. Primjetan progresivni pad vrijednosti s intenzifikacijom stresa te izraženo odvajanje vrijednosti pojedinih mjerenja. Veliko raspon vrijednosti prvog mjerenja duž dijagonalne linije sugerira veću varijabilnost genotipova detektiranu inicijalnim mjerenjem ovog parametra. Raspon vrijednosti kontrole pri prvom mjerenju je 0,33 – 6,50 sa srednjom vrijednost od 3,23, dok je raspon vrijednosti tretmana pri prvom mjerenju -0,90 – 6,79 sa srednjom vrijednosti od 3,03. Raspon vrijednosti kontrole pri drugom mjerenju je 0,08 – 5,53 sa srednjom vrijednost od 2,31, dok je raspon vrijednosti tretmana pri drugom mjerenju -0,95 – 4,58 sa srednjom vrijednosti od 1,68. Raspon vrijednosti kontrole pri trećem mjerenju je 0,00 – 5,51 sa srednjom vrijednost od 1,84 , dok je raspon vrijednosti tretmana pri trećem mjerenju -0,997 – 2,69 sa srednjom vrijednosti od 0,54. Pri prvom mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 0,20 (6,0 %); (tretman/kontrola omjer: 0,94), pri drugom mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 0,63 (27,4 %); (tretman/kontrola omjer: 0,73), pri trećem mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 1,29 (70,5 %); (tretman/kontrola omjer: 0,30). Kontrola bilježi padvrijednosti (43,1 %), tretman također bilježi pad (82,1 %) kroz tri mjerenja.



Slika 14. Odnosi srednjih vrijednosti indeksa performanse između kontrole i tretmana kroz tri mjerenja. Isprekidana linija označava jednake vrijednosti kontrole i tretmana, a pune linije uz oznaku LSD (0,05) označavaju najmanju značajnu razliku na razini $p \leq 0,05$

4.1.6 NDVI

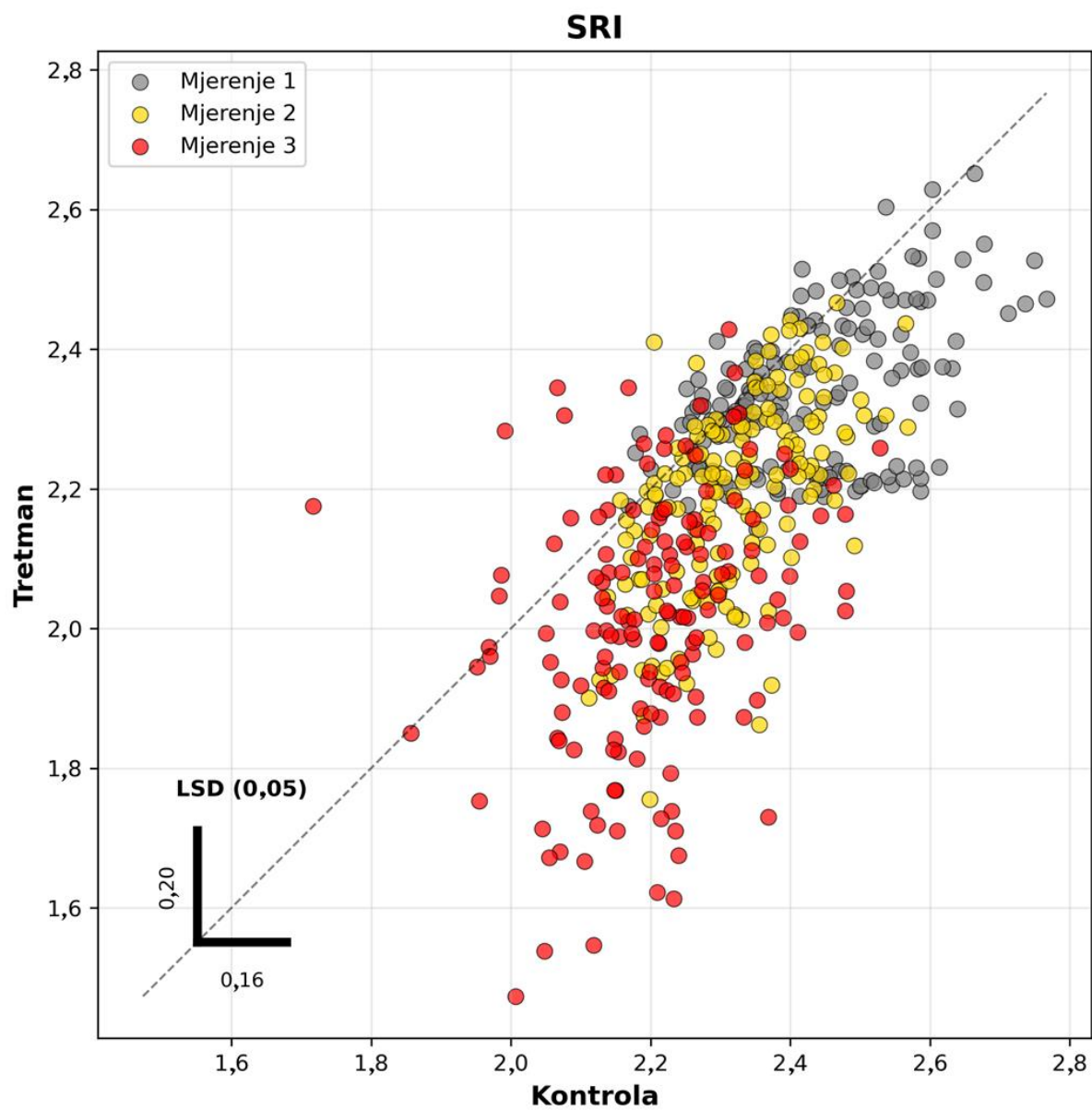
Odnosi srednjih vrijednosti NDVI indeksa između kontrole i tretmana kroz tri mjerenja su opisani na idućoj slici (Slika 15). Trend raspodjele vrijednosti je sličan onima na grafovima parametara Psi_o i Phi_Eo samo je primjetno manje raspršenje vrijednosti, osobito u vrijednostima trećeg mjerenja. Raspon vrijednosti kontrole pri prvom mjerenju je 0,12 – 0,50 sa srednjom vrijednost od 0,41, dok je raspon vrijednosti tretmana pri prvom mjerenju 0,28 – 0,47 sa srednjom vrijednosti od 0,40. Raspon vrijednosti kontrole pri drugom mjerenju je 0,19 – 0,47 sa srednjom vrijednost od 0,40, dok je raspon vrijednosti tretmana pri drugom mjerenju 0,13 – 0,49 sa srednjom vrijednosti od 0,37. Raspon vrijednosti kontrole pri trećem mjerenju je -0,06 – 0,49 sa srednjom vrijednost od 0,37, dok je raspon vrijednosti tretmana pri trećem mjerenju 0,10 – 0,46 sa srednjom vrijednosti od 0,33. Pri prvom mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 0,01 (3,5 %); (tretman/kontrola omjer: 0,97), pri drugom mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 0,60 (6,3 %); (tretman/kontrola omjer: 0,94), pri trećem mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 0,04 (10,5 %); (tretman/kontrola omjer: 0,90). Kontrola bilježi pad vrijednosti (10,0 %), tretman također bilježi pad (16,5 %) kroz tri mjerenja.



Slika 15. Odnosi srednjih vrijednosti NDVI indeksa između kontrole i tretmana kroz tri mjerenja. Isprekidana linija označava jednake vrijednosti kontrole i tretmana, a pune linije uz oznaku LSD (0,05) označavaju najmanju značajnu razliku na razini $p \leq 0,05$

4.1.7 SRI

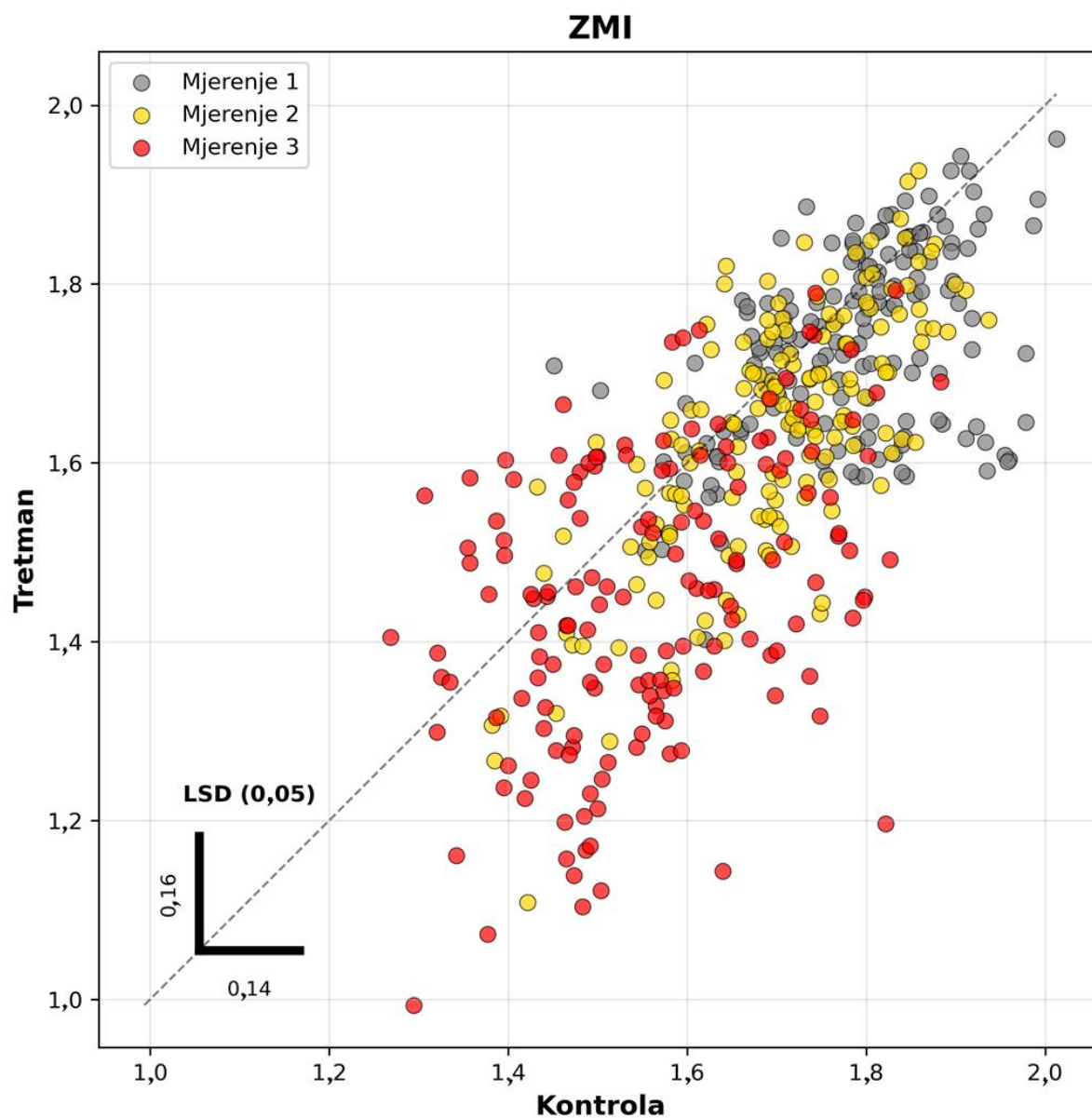
Na Slici 16su prikazani odnosi srednjih vrijednosti SRI indeksa između kontrole i tretmana kroz tri mjerenja. Kod SRI indeksa je primjetno slabije razdvajanje vrijednosti pojedinih mjerenja s dosta preklapanja tijekom progresije stresa sušom. Raspon vrijednosti kontrole pri prvom mjerenju je 1,26 – 3,04 sa srednjom vrijednost od 2,42, dok je raspon vrijednosti tretmana pri prvom mjerenju 1,73 – 2,78 sa srednjom vrijednosti od 2,34. Raspon vrijednosti kontrole pri drugom mjerenju je 1,47 – 2,77 sa srednjom vrijednost od 2,34, dok je raspon vrijednosti tretmana pri drugom mjerenju 1,29 – 2,77 sa srednjom vrijednosti od 2,18. Raspon vrijednosti kontrole pri trećem mjerenju je 0,88 – 2,82 sa srednjom vrijednost od 2,19, dok je raspon vrijednosti tretmana pri trećem mjerenju 1,08 – 2,73 sa srednjom vrijednosti od 2,01. Pri prvom mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 0,08 (3,4 %); (tretman/kontrola omjer: 0,97), pri drugom mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 0,13 (5,7 %); (tretman/kontrola omjer: 0,94), pri trećem mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 0,18 (8,4 %); (tretman/kontrola omjer: 0,94). Kontrola bilježi pad vrijednosti (9,3 %), tretman također bilježi pad (14,0 %) kroz tri mjerenja.



Slika 16. Odnosi srednjih vrijednosti SRI indeksa između kontrole i tretmana kroz tri mjerenja. Isprekidana linija označava jednake vrijednosti kontrole i tretmana, a pune linije uz oznaku LSD (0,05) označavaju najmanju značajnu razliku na razini $p \leq 0,05$

4.1.8 ZMI

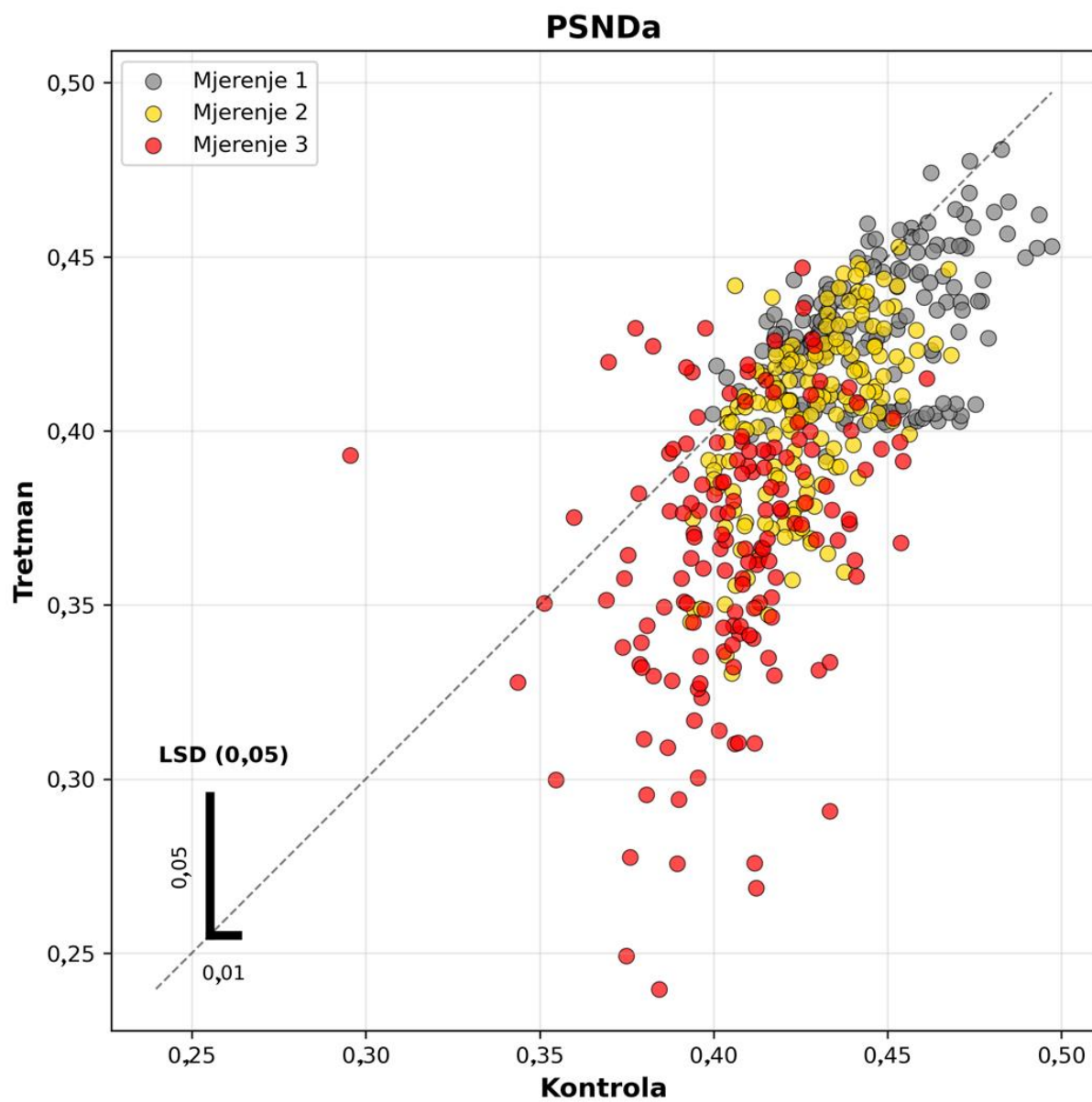
Odnosi srednjih vrijednosti ZMI indeksa između kontrole i tretmana kroz tri mjerenja prikazani su na Slici 17. ZMI indeks pokazuje progresiju pada vrijednosti kroz intenzifikaciju stresa zabilježenu i kod većine ostalih parametara od početnog. Raspon vrijednosti kontrole pri prvom mjerenju je 1,13 – 2,17 sa srednjom vrijednost od 1,78, dok je raspon vrijednosti tretmana pri prvom mjerenju 1,32 – 2,20 sa srednjom vrijednosti od 1,73. Raspon vrijednosti kontrole pri drugom mjerenju je 1,14 – 2,12 sa srednjom vrijednost od 1,69, dok je raspon vrijednosti tretmana pri drugom mjerenju 1,02 – 2,12 sa srednjom vrijednosti od 1,63. Raspon vrijednosti kontrole pri trećem mjerenju je 0,89 – 2,04 sa srednjom vrijednost od 1,56, dok je raspon vrijednosti tretmana pri trećem mjerenju 0,91 – 2,04 sa srednjom vrijednosti od 1,45. Pri prvom mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 0,05 (2,8 %); (tretman/kontrola omjer: 0,97), pri drugom mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 0,06 (3,6 %); (tretman/kontrola omjer: 0,97), pri trećem mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 0,11 (7,2 %); (tretman/kontrola omjer: 0,93). Kontrola bilježi pad vrijednosti (12,5 %), tretman također bilježi pad (16,5 %) kroz tri mjerenja.



Slika 17. Odnosi srednjih vrijednosti ZMI indeksa između kontrole i tretmana kroz tri mjerenja. Isprekidana linija označava jednake vrijednosti kontrole i tretmana, a pune linije uz oznaku LSD (0,05) označavaju najmanju značajnu razliku na razini $p \leq 0,05$

4.1.9 PSNDa

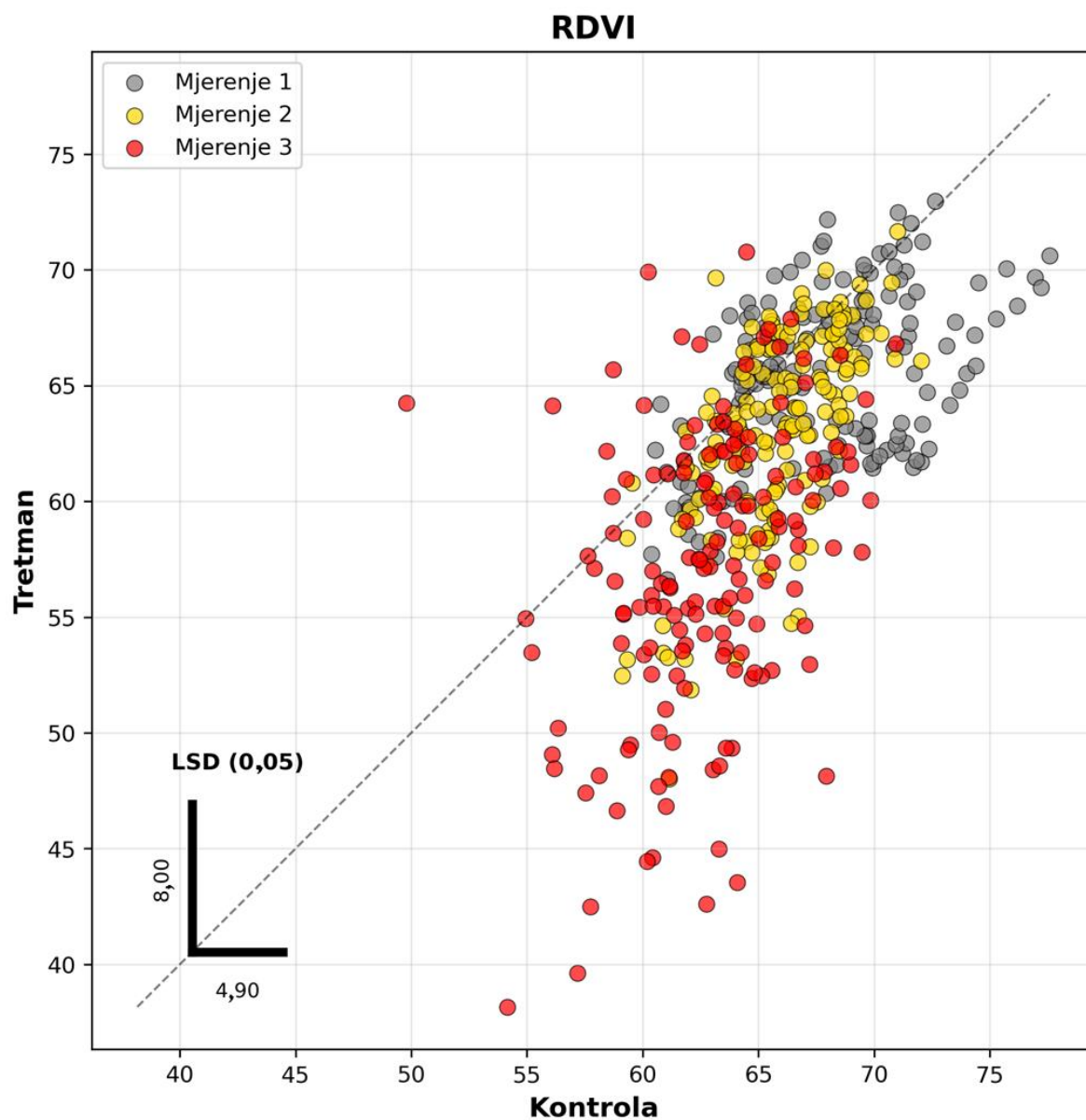
Slika 18. prikazuje odnose srednjih vrijednosti PSNDa indeksa između kontrole i tretmana kroz tri mjerenja. Raspodjela vrijednosti je vrlo slična grafu NDVI indeksa i po raspršenosti i po trendu pada vrijednosti kroz tri mjerenja. Raspon vrijednosti kontrole pri prvom mjerenju je 0,15 – 0,53 sa srednjom vrijednost od 0,44, dok je raspon vrijednosti tretmana pri prvom mjerenju 0,31 – 0,50 sa srednjom vrijednosti od 0,43. Raspon vrijednosti kontrole pri drugom mjerenju je 0,22 – 0,50 sa srednjom vrijednost od 0,43, dok je raspon vrijednosti tretmana pri drugom mjerenju 0,16 – 0,51 sa srednjom vrijednosti od 0,40. Raspon vrijednosti kontrole pri trećem mjerenju je -0,03 – 0,52 sa srednjom vrijednost od 0,40, dok je raspon vrijednosti tretmana pri trećem mjerenju 0,13 – 0,49 sa srednjom vrijednosti od 0,36. Pri prvom mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 0,01 (3,2 %); (tretman/kontrola omjer: 0,97), pri drugom mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 0,02 (5,6 %); (tretman/kontrola omjer: 0,94), pri trećem mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 0,04 (9,7 %); (tretman/kontrola omjer: 0,90). Kontrola bilježi pad vrijednosti (9,0 %), tretman također bilježi pad (15,1 %) kroz tri mjerenja.



Slika 18. Odnosi srednjih vrijednosti PSNDa indeksa između kontrole i tretmana kroz tri mjerenja. Isprekidana linija označava jednake vrijednosti kontrole i tretmana, a pune linije uz oznaku LSD (0,05) označavaju najmanju značajnu razliku na razini $p \leq 0,05$

4.1.10 RDVI

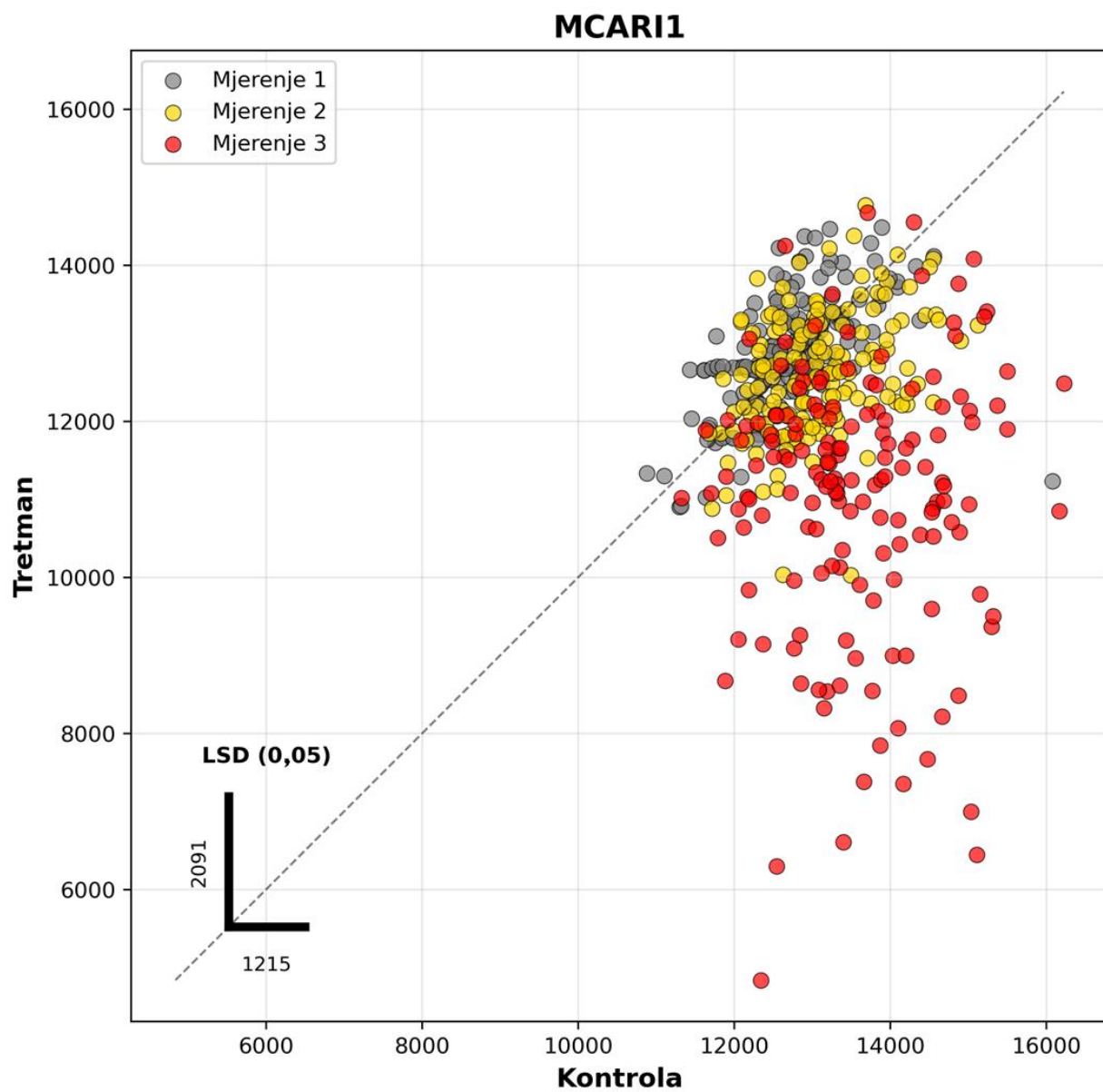
Prikaz odnosa srednjih vrijednosti RDVI indeksa između kontrole i tretmana kroz tri mjerenja se nalazi na Slici 19. Trend raspodjele vrijednosti je sličan onima na grafovima NDVI i PSNDa indeksa. Raspon vrijednosti kontrole pri prvom mjerenju je 22,4 – 86,9 sa srednjom vrijednost od 67,3, dok je raspon vrijednosti tretmana pri prvom mjerenju 44,4 – 78,0 sa srednjom vrijednosti od 65,4. Raspon vrijednosti kontrole pri drugom mjerenju je 37,2 – 76,2 sa srednjom vrijednost od 65,5, dok je raspon vrijednosti tretmana pri drugom mjerenju 24,4 – 80,6 sa srednjom vrijednosti od 62,7. Raspon vrijednosti kontrole pri trećem mjerenju je 1,2 – 82,3 sa srednjom vrijednost od 62,4, dok je raspon vrijednosti tretmana pri trećem mjerenju 20,1 – 80,8 sa srednjom vrijednosti od 56, 9. Pri prvom mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 2,0 (3,0 %); (tretman/kontrola omjer: 1,0), pri drugom mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 2,8 (4,3 %); (tretman/kontrola omjer: 1,0), pri trećem mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 5,5 (8,8 %); (tretman/kontrola omjer: 0,9). Kontrola bilježi pad vrijednosti (7,4 %), tretman također bilježi pad (13,0 %) kroz tri mjerenja.



Slika 19. Odnosi srednjih vrijednosti RDVI indeksa između kontrole i tretmana kroz tri mjerenja. Isprekidana linija označava jednake vrijednosti kontrole i tretmana, a pune linije uz oznaku LSD (0,05) označavaju najmanju značajnu razliku na razini $p \leq 0,05$

4.1.11 MCARI1

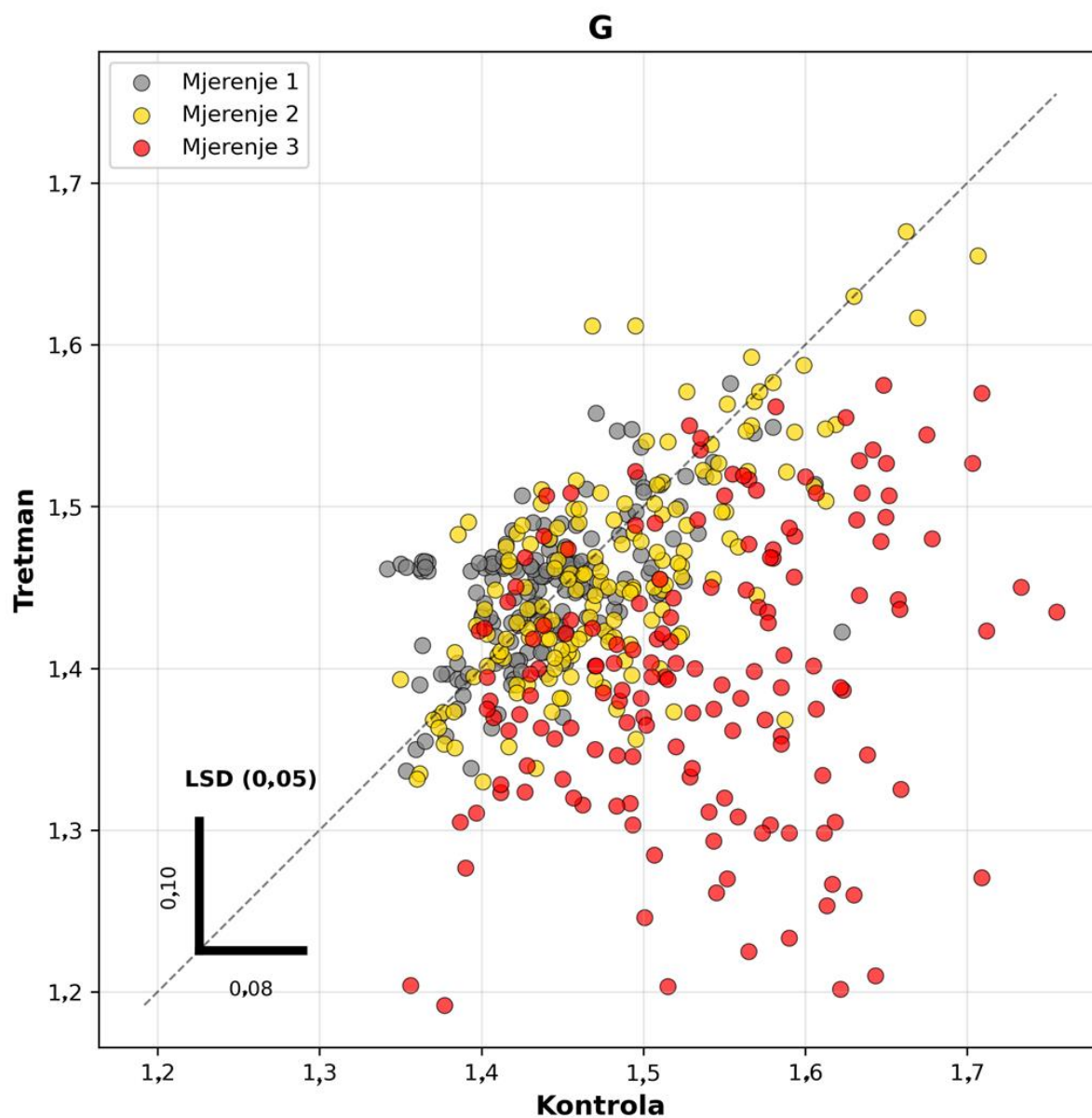
Odnosi srednjih vrijednosti MCARI1 indeksa između kontrole i tretmana kroz tri mjerenja su prikazani na Slici 20. Kod MCARI1 indeksa razdvajanje vrijednosti po mjerenjima nije izraženo kao kod prethodnih grafova, s izrazitim preklapanjem vrijednosti prvog i drugog mjerenja, dok se tek vrijednosti trećeg mjerenja bitnije odvajaju od ostalih s naglim padom. Raspon vrijednosti kontrole pri prvom mjerenju je 3.375 – 16.276 sa srednjom vrijednost od 12.668, dok je raspon vrijednosti tretmana pri prvom mjerenju 4.327 – 16.796 sa srednjom vrijednosti od 12.861. Raspon vrijednosti kontrole pri drugom mjerenju je 3.195 – 29.672 sa srednjom vrijednost od 13.069, dok je raspon vrijednosti tretmana pri drugom mjerenju -363 – 17.700 sa srednjom vrijednosti od 12.522. Raspon vrijednosti kontrole pri trećem mjerenju je 0 – 19.421 sa srednjom vrijednost od 13 519 dok je raspon vrijednosti tretmana pri trećem mjerenju 0 – 17.800 sa srednjom vrijednosti od 11.013. Pri prvom mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 194 (1,5 %); (tretman/kontrola omjer: 1), pri drugom mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 547 (4,2 %); (tretman/kontrola omjer: 1), pri trećem mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 2.506 (8,8 %); (tretman/kontrola omjer: 0,8). Kontrola bilježi pad vrijednosti (6,7 %), tretman također bilježi pad (14,4 %) kroz tri mjerenja.



Slika 20. Odnosi srednjih vrijednosti MCARI1 indeksa između kontrole i tretmana kroz tri mjerenja. Isprekidana linija označava jednake vrijednosti kontrole i tretmana, a pune linije uz oznaku LSD (0,05) označavaju najmanju značajnu razliku na razini $p \leq 0,05$

4.1.12 Greenness (G)

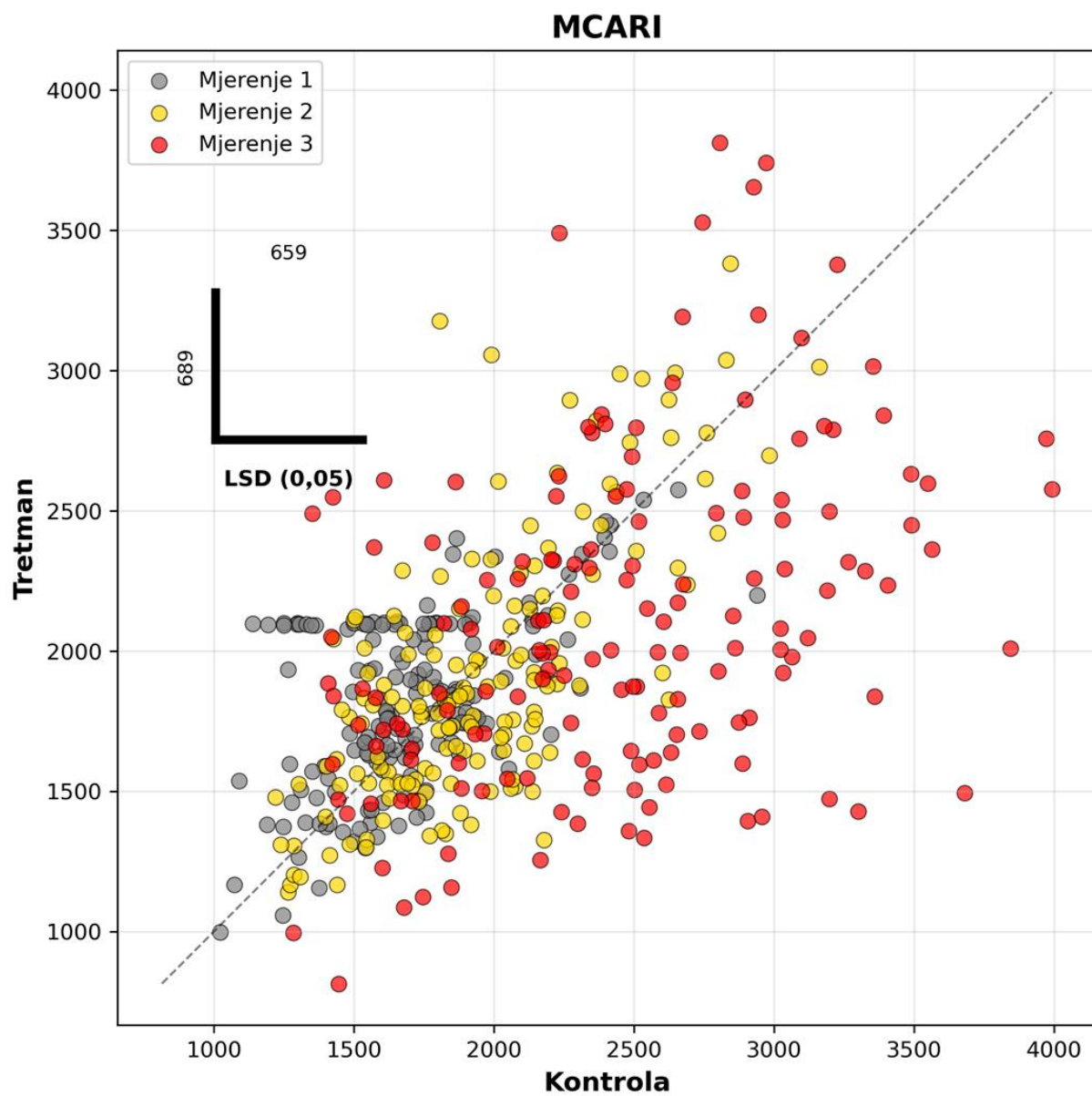
Slika 21. prikazuje odnose srednjih vrijednosti G indeksa između kontrole i tretmana kroz tri mjerenja. Također G indeks pokazuje preklapanje vrijednosti prvog i drugog mjerenja pokazujući stabilnost pri ranom i umjerenom stresu sušom. Raspon vrijednosti kontrole pri prvom mjerenju je 1,14 – 1,79 sa srednjom vrijednost od 1,44, dok je raspon vrijednosti tretmana pri prvom mjerenju 1,21 – 1,73 sa srednjom vrijednosti od 1,45. Raspon vrijednosti kontrole pri drugom mjerenju je 1,20 – 1,83 sa srednjom vrijednost od 1,48, dok je raspon vrijednosti tretmana pri drugom mjerenju 1,10 – 1,87 sa srednjom vrijednosti od 1,46. Raspon vrijednosti kontrole pri trećem mjerenju je 1,22 – 1,91 sa srednjom vrijednost od 1,54, dok je raspon vrijednosti tretmana pri trećem mjerenju 1,05 – 1,74 sa srednjom vrijednosti od 1,40. Pri prvom mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 0,01 (0,8 %); (tretman/kontrola omjer: 1,01), pri drugom mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 0,02 (1,3 %); (tretman/kontrola omjer: 0,99), pri trećem mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 0,14 (8,9 %); (tretman/kontrola omjer: 0,91). Kontrola bilježi rast vrijednosti (6,7 %), tretman bilježi pad (3,6 %) kroz tri mjerenja.



Slika 21. Odnosi srednjih vrijednosti G indeksa između kontrole i tretmana kroz tri mjerenja. Isprekidana linija označava jednake vrijednosti kontrole i tretmana, a pune linije uz oznaku LSD (0,05) označavaju najmanju značajnu razliku na razini $p \leq 0,05$

4.1.13 MCARI

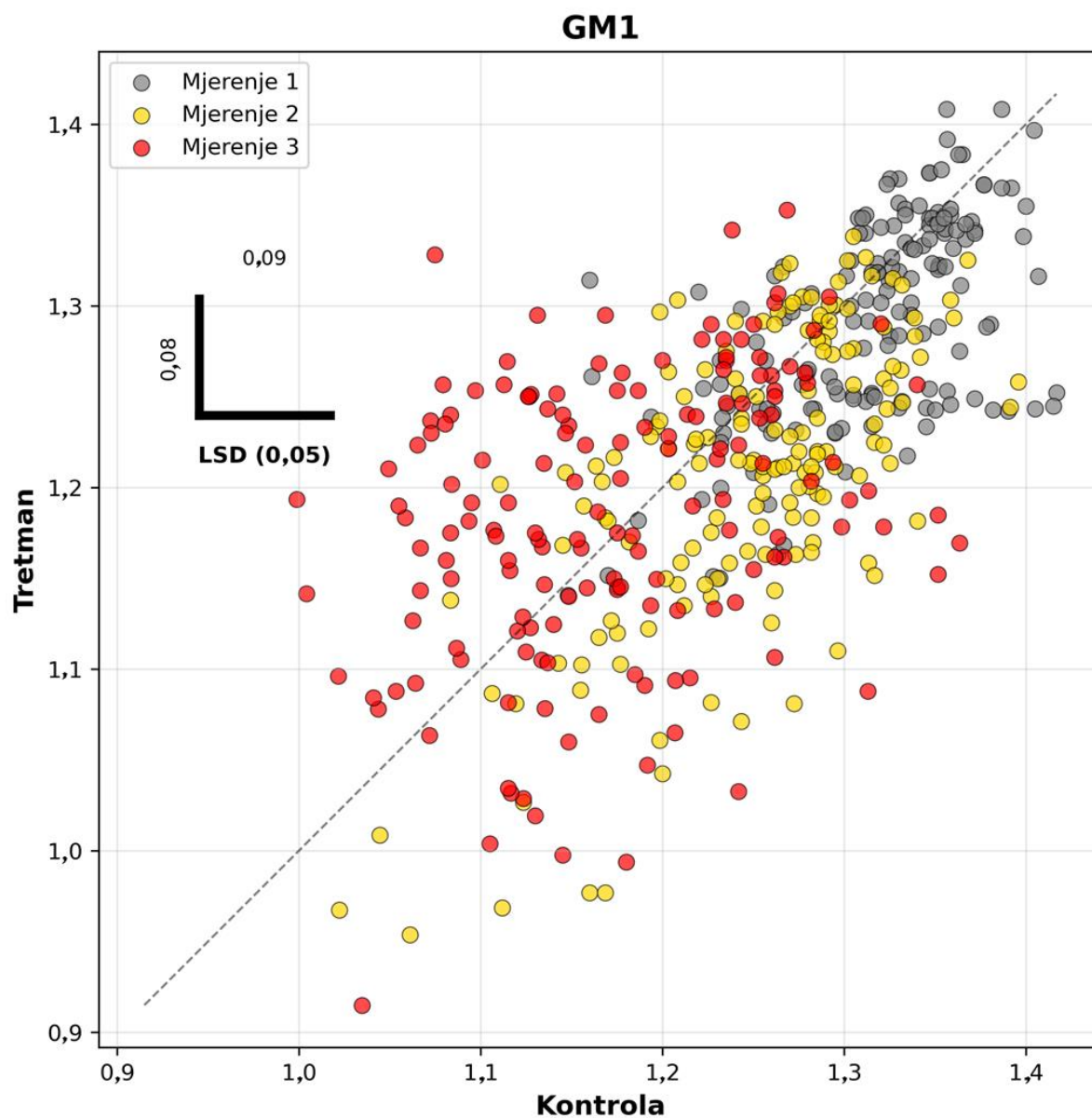
Odnosi srednjih vrijednosti između kontrole i tretmana MCARI indeksa kroz tri mjerenja su prikazani na Slici 22. Na grafu je vidljivo preklapanje vrijednosti, ali također i tendencija rasta vrijednosti kroz trajanje pokusa. Raspon vrijednosti kontrole pri prvom mjerenju je -558 – 5.288 sa srednjom vrijednost od 1.710, dok je raspon vrijednosti tretmana pri prvom mjerenju 518 – 4.028 sa srednjom vrijednosti od 1.844. Raspon vrijednosti kontrole pri drugom mjerenju je 486 – 4.694 sa srednjom vrijednost od 1.972, dok je raspon vrijednosti tretmana pri drugom mjerenju -33 – 5.820 sa srednjom vrijednosti od 1.972. Raspon vrijednosti kontrole pri trećem mjerenju je 330 – 6.626 sa srednjom vrijednosti od 2.489, dok je raspon vrijednosti tretmana pri trećem mjerenju -941 – 6.414 sa srednjom vrijednosti od 2.137. Pri prvom mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 134 (7,8 %); (tretman/kontrola omjer: 1, pri drugom mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 0,54 (0,0 %); (tretman/kontrola omjer: 1), pri trećem mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 351,68 (14,1 %); (tretman/kontrola omjer: 1). Kontrola bilježi porast vrijednosti (45,5 %), tretman također bilježi porast (15,9 %) kroz tri mjerenja.



Slika 22. Odnosi srednjih vrijednosti MCARI indeksa između kontrole i tretmana kroz tri mjerenja. Isprekidana linija označava jednake vrijednosti kontrole i tretmana, a pune linije uz oznaku LSD (0,05) označavaju najmanju značajnu razliku na razini $p \leq 0,05$

4.1.14 GM1

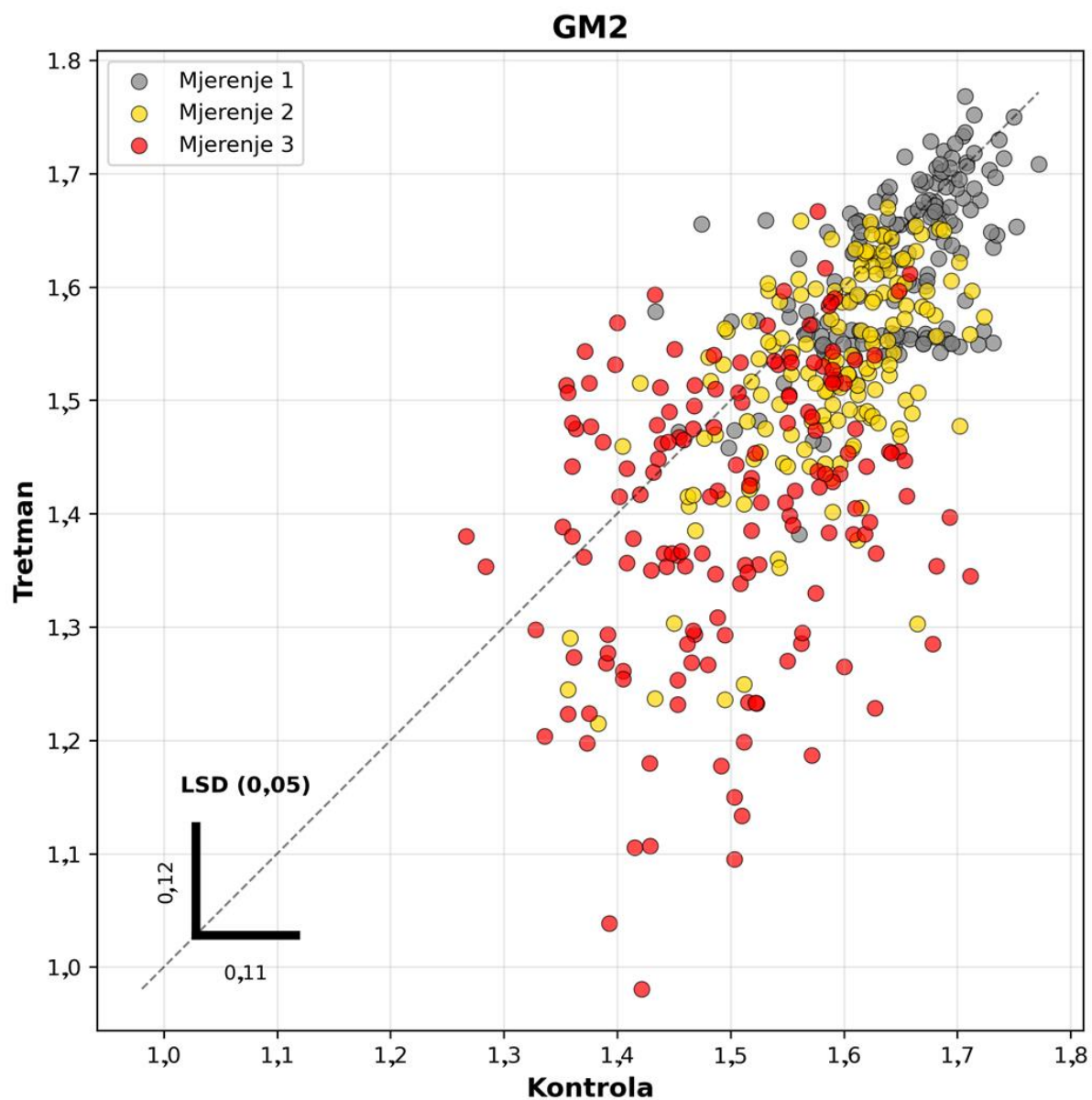
Odnosi srednjih vrijednosti GM1 indeksa između kontrole i tretmana kroz tri mjerenja su prikazani na Slici 23. Graf prikazuje sličan, inverzan trend onome prisutnom kod MCARI indeksa s preklapanjem vrijednosti pojedinih mjerenja, ali s primjetnim trendom pada vrijednosti s progresijom sušnog stresa. Raspon vrijednosti kontrole pri prvom mjerenju je 0,97 – 1,50 sa srednjom vrijednost od 1,31, dok je raspon vrijednosti tretmana pri prvom mjerenju 0,95 – 1,48 sa srednjom vrijednosti od 1,29. Raspon vrijednosti kontrole pri drugom mjerenju je 0,93 – 1,56 sa srednjom vrijednost od 1,25, dok je raspon vrijednosti tretmana pri drugom mjerenju 0,82 – 1,47 sa srednjom vrijednosti od 1,21. Raspon vrijednosti kontrole pri trećem mjerenju je 0,75 – 1,47 sa srednjom vrijednosti od 1,17, dok je raspon vrijednosti tretmana pri trećem mjerenju 0,82 – 1,49 sa srednjom vrijednosti od 1,18. Pri prvom mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 0,02 (1,7 %); (tretman/kontrola omjer: 0,98), pri drugom mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 0,04 (3,1 %); (tretman/kontrola omjer: 0,97), pri trećem mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 0,01 (0,9 %); (tretman/kontrola omjer: 1,01). Kontrola bilježi pad vrijednosti (10,8 %), tretman također bilježi pad (8,4 %) kroz tri mjerenja.



Slika 23. Odnosi srednjih vrijednosti GM1 indeksa između kontrole i tretmana kroz tri mjerenja. Isprekidana linija označava jednake vrijednosti kontrole i tretmana, a pune linije uz oznaku LSD (0,05) označavaju najmanju značajnu razliku na razini $p \leq 0,05$

4.1.15 GM2

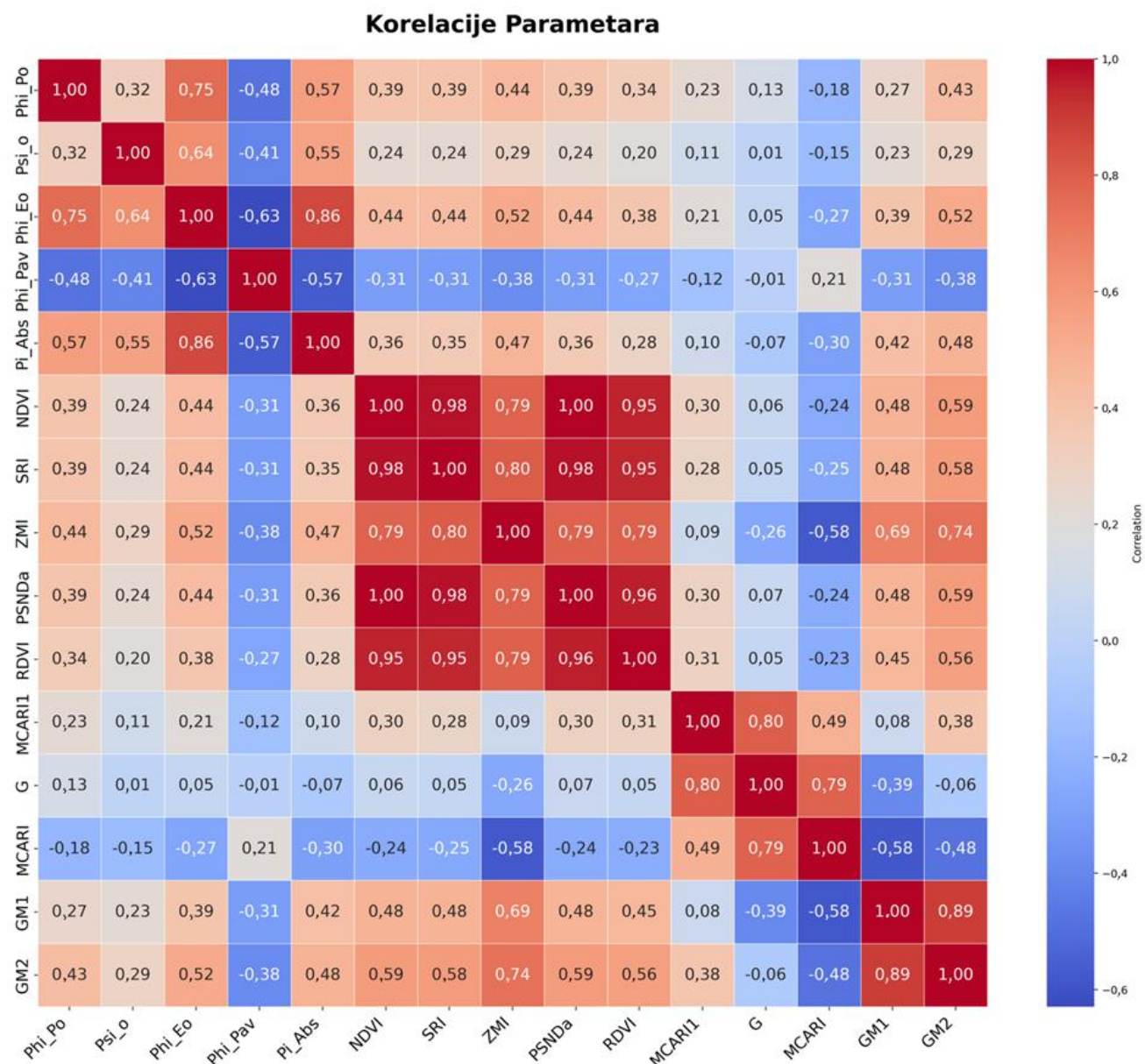
Slika 24. prikazuje odnose srednjih vrijednosti GM2 indeksa između kontrole i tretmana kroz tri mjerenja. Graf prikazuje sličan trend raspodjele vrijednosti kao i graf GM1. Raspon vrijednosti kontrole pri prvom mjerenju je 1,17 – 1,86 sa srednjom vrijednost od 1,65, dok je raspon vrijednosti tretmana pri prvom mjerenju 1,12 – 1,84 sa srednjom vrijednosti od 1,62. Raspon vrijednosti kontrole pri drugom mjerenju je 1,09 – 1,96 sa srednjom vrijednost od 1,58, dok je raspon vrijednosti tretmana pri drugom mjerenju 0,90 – 1,85 sa srednjom vrijednosti od 1,52. Raspon vrijednosti kontrole pri trećem mjerenju je 0,85 – 1,81 sa srednjom vrijednost od 1,50, dok je raspon vrijednosti tretmana pri trećem mjerenju 0,90 – 1,85 sa srednjom vrijednosti od 1,40. Pri prvom mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 0,03 (1,6 %); (tretman/kontrola omjer: 0,98), pri drugom mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 0,06 (3,9 %); (tretman/kontrola omjer: 0,96), pri trećem mjerenju razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 0,10 (6,6 %); (tretman/kontrola omjer: 0,93). Kontrola bilježi pad vrijednosti (9,0 %), tretman također bilježi pad (13,6 %) kroz tri mjerenja.



Slika 24. Odnosi srednjih vrijednosti GM2 indeksa između kontrole i tretmana kroz tri mjerenja. Isprekidana linija označava jednake vrijednosti kontrole i tretmana, a pune linije uz oznaku LSD (0,05) označavaju najmanju značajnu razliku na razini $p \leq 0,05$

4.1.16 Korelacije među indeksima

Toplinska karta (*heatmap*) korelacije odabranih parametara je prikazana na Slici 25 gdje je vidljivo kako je većina ChlF parametara pokazala jake međusobne korelacije, s iznimkom Phi_Pav parametra. Općenito, ChlF, NIR i UV/VIS indeksi pokazali su jake korelacije unutar svojih odgovarajućih skupina. Parametri Psi_o, Phi_Eo i Pi_Abs formirali su usko korelirani klaster, a Phi_Po također je pokazivao umjerene do jake korelacije s ovom skupinom. Drugi klaster sastojao se od NIR hiperspektralnih indeksa - NDVI, SRI, ZMI, PSNDa i RDVI - koji su bili potpuno korelirani (u rasponu od 0,95 do 1,00). PSNDa i NDVI činili su se gotovo identičnima, što ukazuje na to da sadržavaju vrlo sličnih informacija. Treću skupinu sačinjavali su MCARI, MCARI1 i G indeks, pri čemu su MCARI i MCARI1 pokazali nešto slabiju pozitivnu korelaciju ($r = 0,49$). Posljednja dva UV/VIS indeksa, GM1 i GM2, bili su snažno pozitivno korelirani jedan s drugim i također su pokazali umjerene do visoke korelacije sa ZMI iz druge skupine. Što se tiče negativnih korelacija, Phi_Pav je dosljedno pokazivao umjerene do jake negativne korelacije s Phi_Po, Psi_o, Phi_Eo i Pi_Abs. Nadalje, MCARI je bio negativno koreliran sa ZMI, GM1 i GM2. G indeks je pokazao minimalnu korelaciju s većinom varijabli izvan vlastite skupine, što ukazuje na relativno neovisno ponašanje.

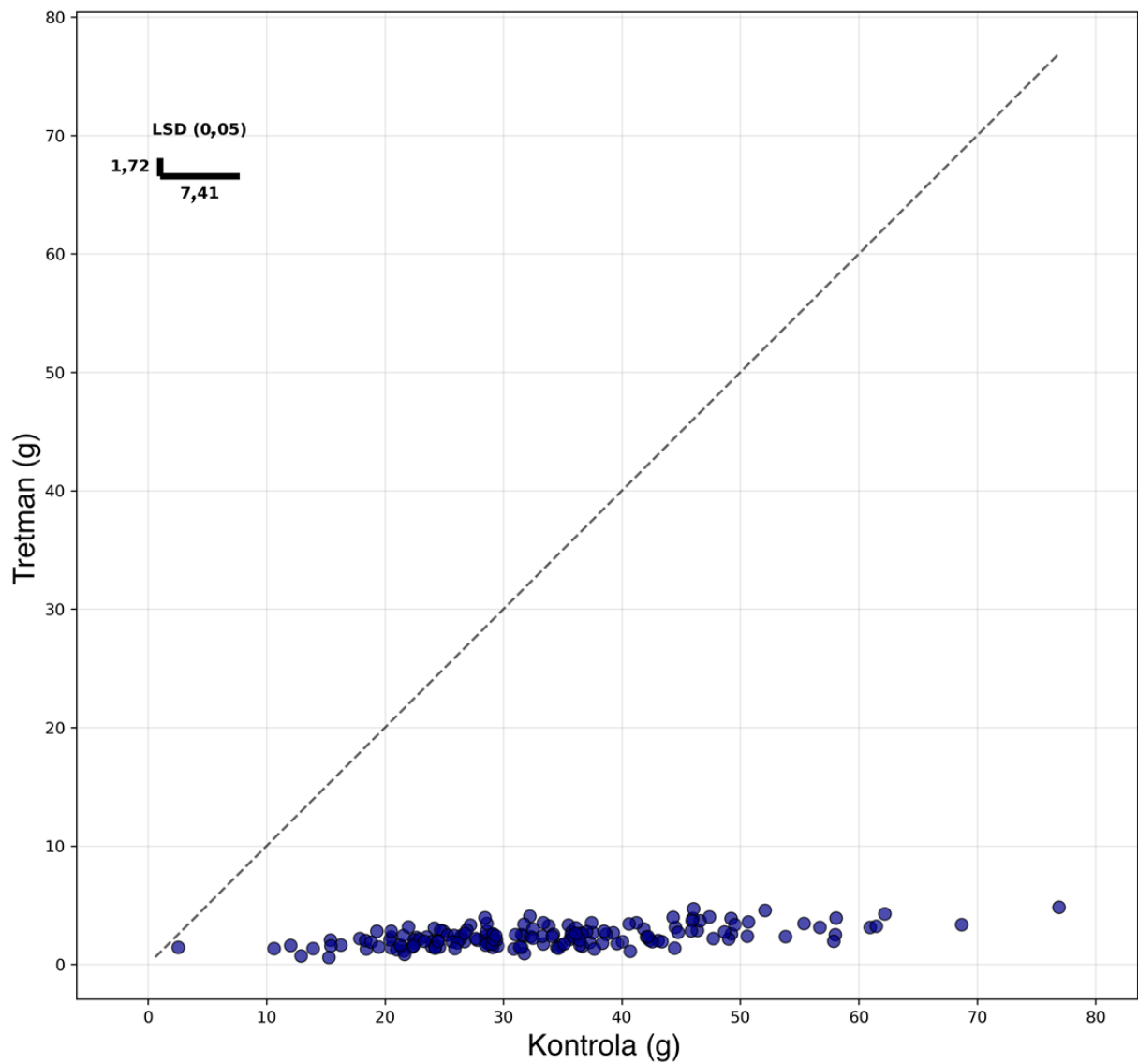


Slika 25. Toplinska karta (*heatmap*) korelacije odabranih parametara (Prilagođeno prema: Vukadinović i sur. 2025.)

4.1.17 Mase svježe i suhe tvari

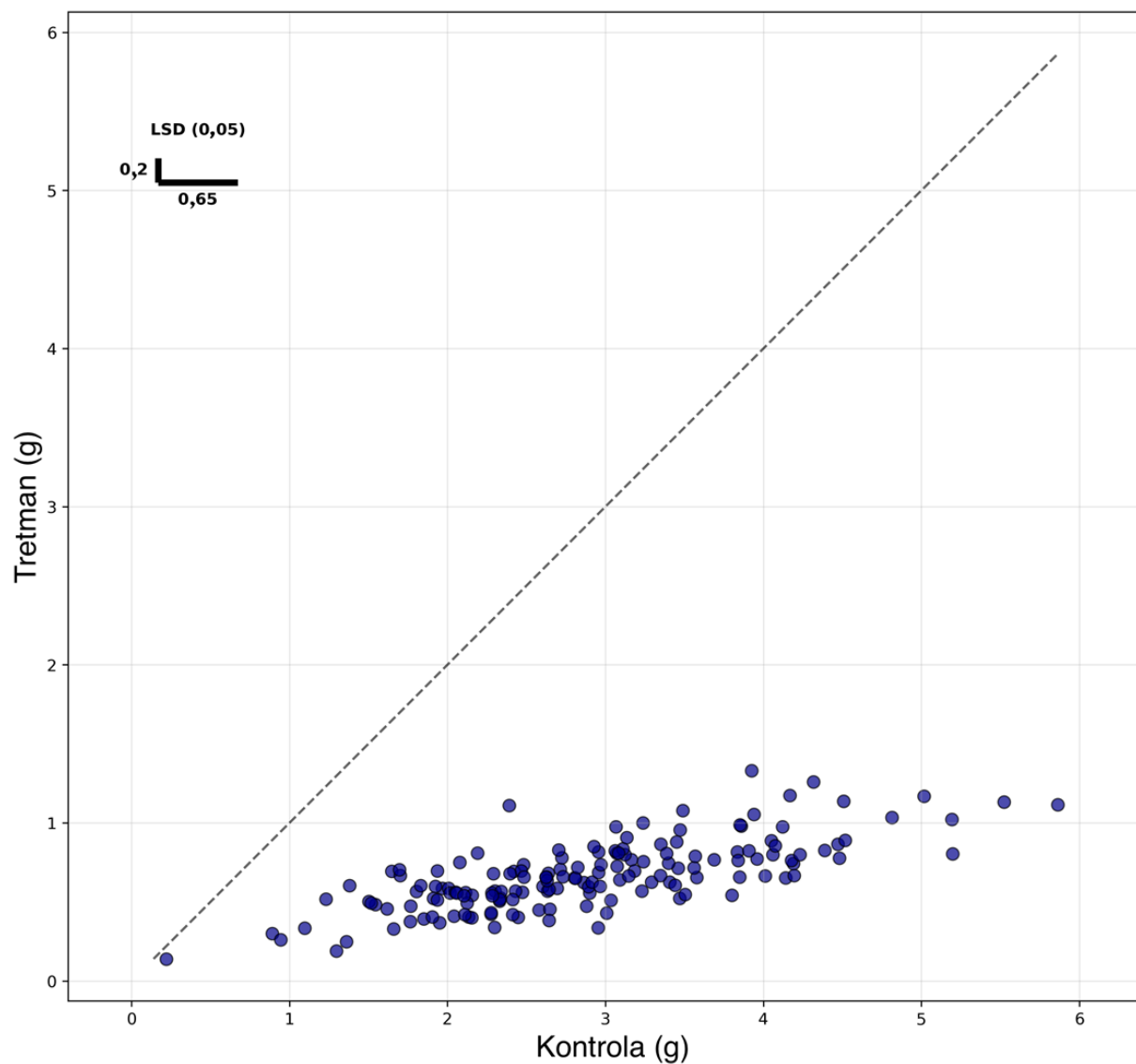
Odnosi srednjih vrijednosti biomase (svježe i suhe tvari) prikazani su na Slikama 26 i 27. Rezultati pokazuju da je varijabilnost među genotipovima u tretmanu za suhu tvar bila znatno manja nego u kontroli, ali ipak nešto veća u odnosu na varijabilnost za masu svježe tvari. Masa svježe tvari (Slika 26) pokazuje znatni učinak tretmana, pri čemu većina biljaka pokazuje smanjenje svježe težine s kontrolnih vrijednosti od 20 – 60 grama na vrijednosti tretmana od samo 0-10 grama. Općenito, varijabilnost među genotipovima je bila znatno veća u kontroli nego u tretmanu. To predstavlja smanjenje svježe biomase od 70 – 90 %, što ukazuje na to da tretirane biljke ozbiljno zaostaju u rastu ili umiru. Raspon vrijednosti kontrole je 0,26 – 87,52 sa srednjom vrijednosti od 34,50 i standardnom devijacijom od $\pm 14,31$, dok je raspon vrijednosti tretmana 0,26 – 8,64 sa srednjom vrijednosti od 2,49 i standardnom devijacijom od $\pm 1,23$. Razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 32,01; (tretman/kontrola omjer: 0,07). Masa suhe tvari također (Slika 27) pokazuje drastičan utjecaj stresa suše na akumulaciju biljne biomase. Gotovo sve točke padaju znatno ispod dijagonalne linije jednakosti, pri čemu većina biljaka pokazuje kontrolnu masu suhe tvari u rasponu od 2-4 grama, ali masa suhe tvari tretmana smanjena je na samo 0,5 – 1,5 grama. To predstavlja smanjenje ukupne proizvodnje suhe biomase od 50 – 75 % potvrđujući značajnu degradaciju fotosinteze zabilježenu prethodnim mjerenjima. Raspon vrijednosti kontrole je 0,1 – 7,38 sa srednjom vrijednosti od 2,96 i standardnom devijacijom od $\pm 1,17$, dok je raspon vrijednosti tretmana 0,10 – 2,90 sa srednjom vrijednosti od 0,69 i standardnom devijacijom od $\pm 0,28$. Razlika srednjih vrijednosti kontrole i tretmana je 2,26; (tretman/kontrola omjer: 0,24).

Masa svježe tvari (FW)



Slika 26. Odnosi srednjih vrijednosti mase svježe tvari između kontrole i tretmana. Isprekidana linija označava jednake vrijednosti kontrole i tretmana, a pune linije uz oznaku LSD (0,05) označavaju najmanju značajnu razliku na razini $p \leq 0,05$

Masa suhe tvari (DW)



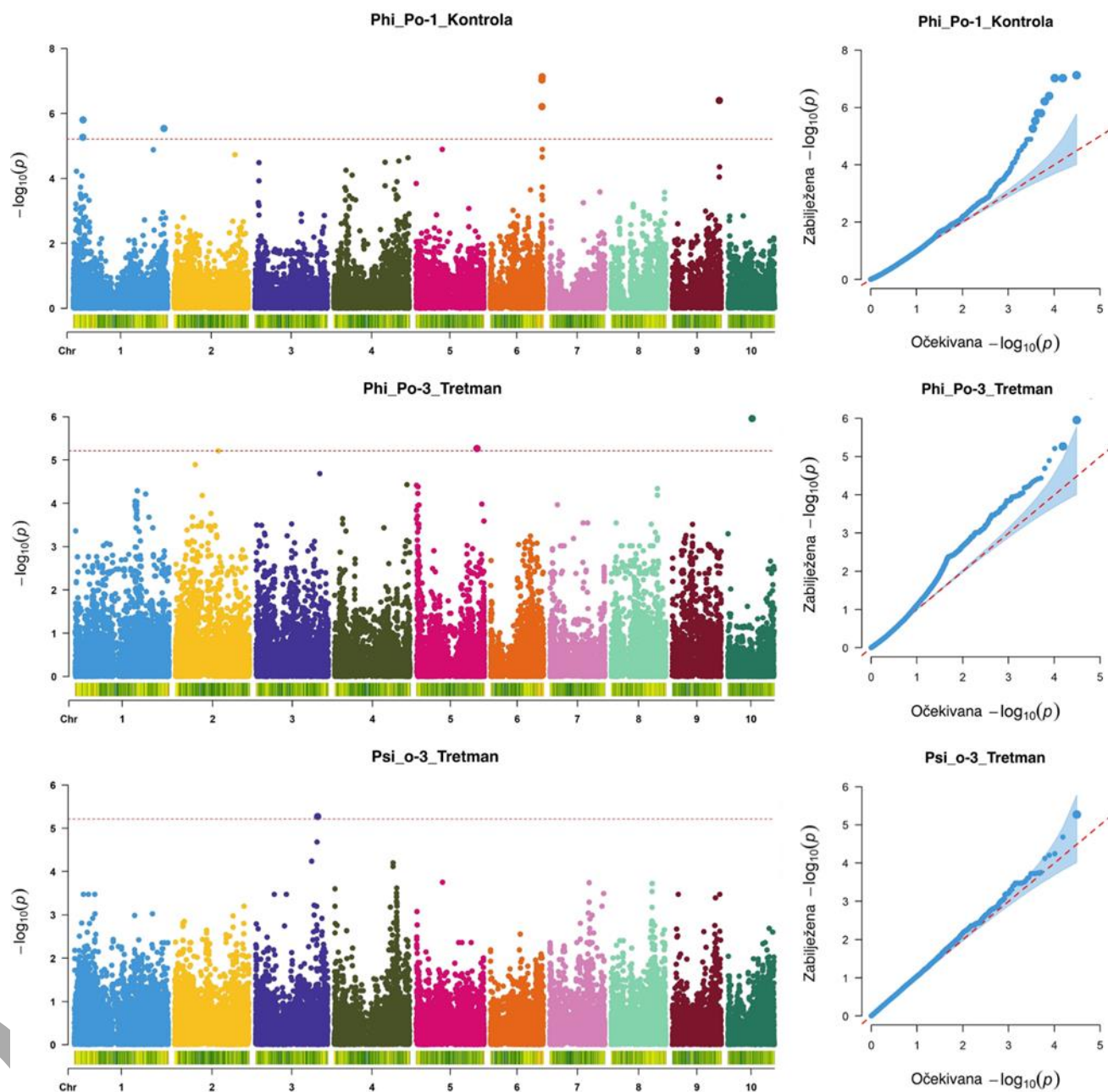
Slika 27. Odnosi srednjih vrijednosti mase suhe tvari između kontrole i tretmana. Isprekidana linija označava jednake vrijednosti kontrole i tretmana, a pune linije uz oznaku LSD (0,05) označavaju najmanju značajnu razliku na razini $p \leq 0,05$

4.2 Cjelogenomska analiza pridruživanja (GWAS)

Na Slici 28 prikazani su Manhattan i QQ dijagrami GWAS-a za dva parametra ChlF (Phi_Po, Psi_o) za tri kombinacije Indeks-Mjerenje-Tretman. Isprekidane linije označavaju prag značajnosti za cijeli genom – $-\log(p)$ vrijednost od 5,214 ($\alpha = 0,05$). Kod Phi_Po parametra fluorescencije klorofila prvog mjerenja u kontroli zabilježene su značajne asocijacije četiri SNP-a na prvom kromosomu (SYN6732, SYN11901, SYN5905, PZE-101206617), dva SNP-a na šestom kromosomu (SYN4313, SYN4302) te jedan na devetom kromosomu (PZE-109108465). Odvajanje vrijednosti od linije jednakosti, izvan intervala pouzdanosti pri većim vrijednostima $-\log_{10}(p)$ na QQ dijagramu pokazuje značajnost zabilježenih asocijacija dok usko grupiranje vrijednosti oko linije jednakosti pri nižim vrijednostima $-\log_{10}(p)$ potvrđuje dobru kalibriranost analitičkog okvira.

Značajne asocijacije u tretmanu trećeg mjerenja kod Phi_Po parametra su zabilježene na petom kromosomu s dva SNP-a (PZE-105011679, SYN14962) i jednim na desetom kromosomu (PZE-110000531). Pripadajući QQ dijagram također pokazuje odvajanje vrijednosti od linije jednakosti, izvan intervala pouzdanosti pri većim vrijednostima $-\log_{10}(p)$ s nešto ranijim odvajanjem vrijednosti od linije jednakosti.

Kod Psi_o parametra u trećem mjerenju tretmana, značajna zabilježena asocijacija nalazi se samo na trećem kromosomu s jednim SNP-om (PZE-103162732). Vrijednosti na pripadajućem QQ dijagramu usko prate liniju jednakosti i interval pouzdanosti dok je značajno odvajanje primjetno samo s jednom vrijednosti.

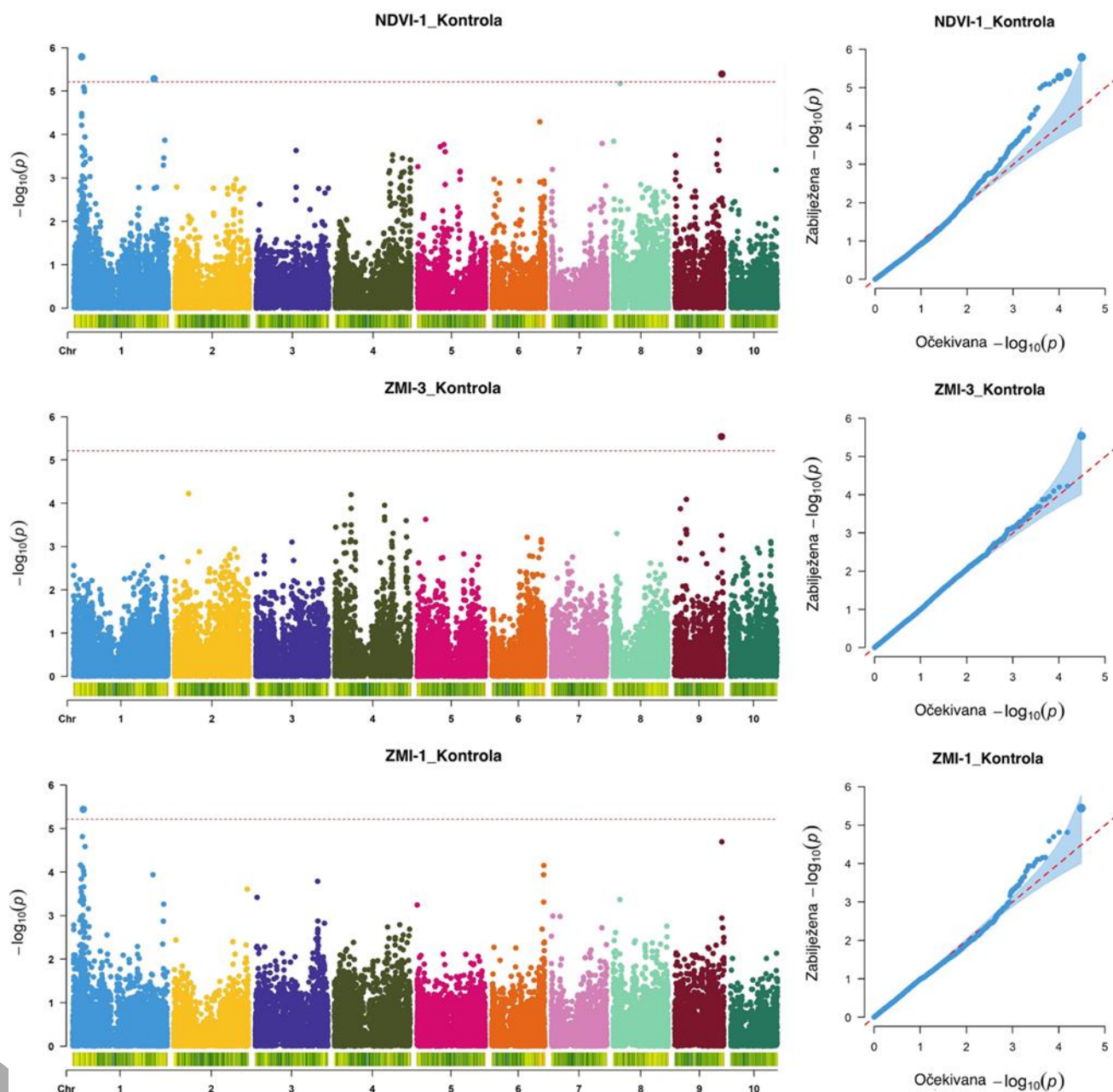


Slika 28. Manhattan i QQ dijagrami GWAS-a za dva ChlF indeksa (Phi_Po, Psi_o) kod 165 genotipova kukuruza u tri kombinacije Indeks-Mjerenje_Tretman. Isprekidane linije označavaju prag značajnosti za cijeli genom $-\log(p)$ vrijednost od 5,214 ($\alpha = 0,05$).

Slika 29 prikazuje Manhattan i QQ dijagrame GWAS-a dva HS indeksa (NDVI i ZMI) mladih biljaka kukuruza za tri kombinacije Indeks-MjerenjeTretman. Isprekidane linije označavaju prag značajnosti za cijeli genom – $-\log(p)$ vrijednost od 5,214 ($\alpha = 0,05$). Značajne asocijacije u prvom mjerenju kontrole kod NDVI indeksa su zabilježene na prvom kromosomu s četiri SNP-a (PZE-101206972, PZE-101213333, SYN30053, SYN30050) te devetom s jednim SNP-om (PZE-109108465). Pripadajući QQ dijagram pokazuje usko grupiranje vrijednosti i linije jednakosti pri manjim vrijednostima $-\log_{10}(p)$ s odvajanjem pri većim.

Kod ZMI indeksa u trećem mjerenju kontrole, značajna zabilježena asocijacija nalazi se samo na devetom kromosomu s jednim SNP-om (PZE-109031829). Vrijednosti na pripadajućem QQ dijagramu usko prate liniju jednakosti i interval pouzdanosti sa samo jednom vrijednosti s primjetnim značajnim odvajanjem.

Za prvo mjerenje kontrole ZMI indeksa zabilježena je samo jedna značajna asocijacija, na prvom kromosomu s jednim SNP-om (PZE-101206617). QQ dijagram za prvo mjerenje kontrole ZMI indeksa pokazuje usku grupaciju vrijednosti duž linije jednakosti i intervala pouzdanosti s malim odvajanjem pri većim vrijednostima $-\log_{10}(p)$ i jednom istaknutom značajnom vrijednosti.

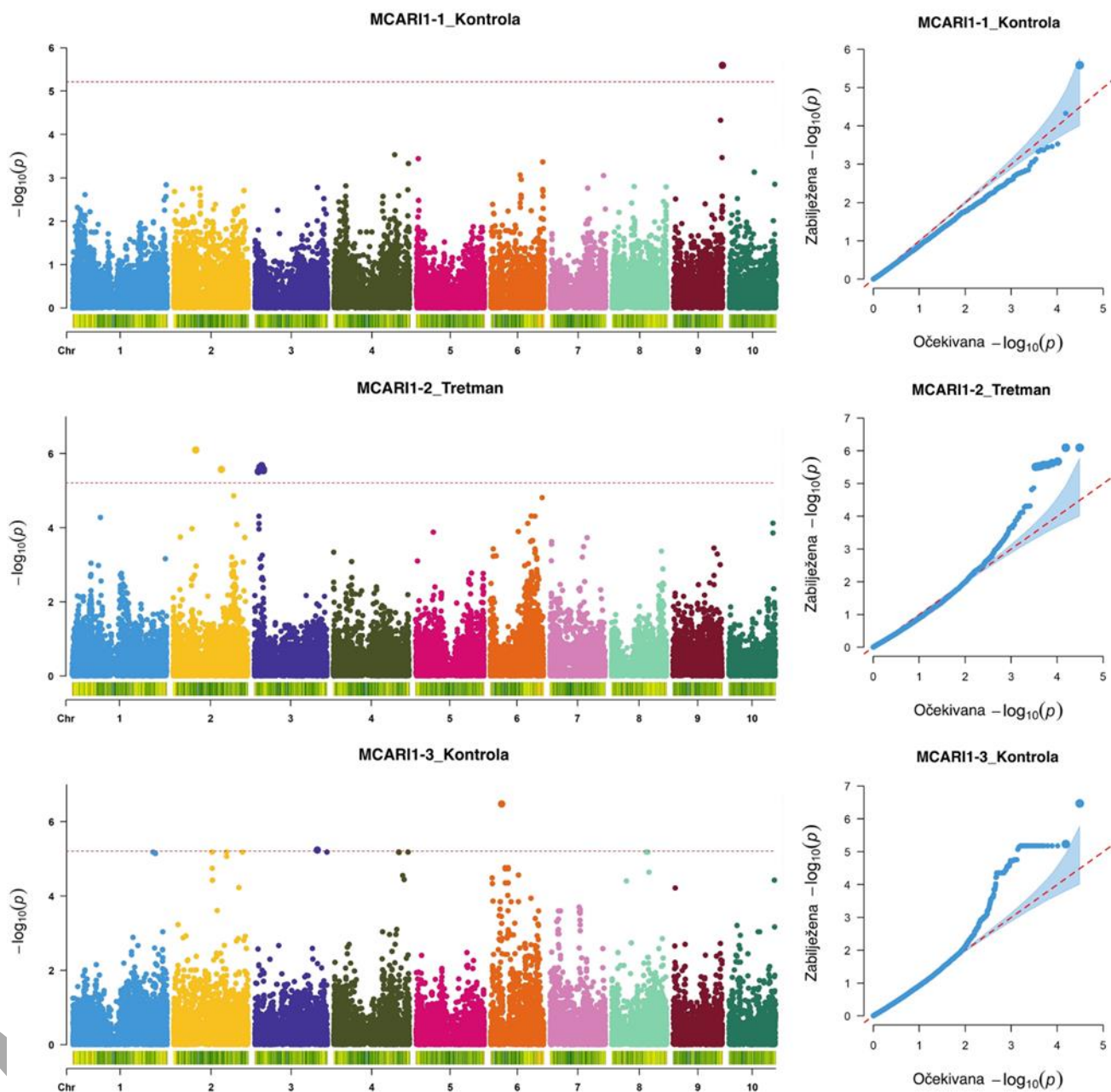


Slika 29. Manhattan i QQ dijagrami GWAS-a za dva HS indeksa (NDVI i ZMI) kod 165 genotipova kukuruza u tri kombinacije Indeks-Mjerenje_Tretman. Isprekidane linije označavaju prag značajnosti za cijeli genom $-\log(p)$ vrijednost od 5,214 ($\alpha = 0,05$).

Manhattan i QQ dijagrami GWAS-a MCARI1 HS indeksa mladih biljaka kukuruza za tri kombinacije Indeks-Mjerenje-Tretman su prikazani na Slici 30. Isprekidane linije označavaju prag značajnosti za cijeli genom – $-\log(p)$ vrijednost od 5,214 ($\alpha = 0,05$). Kod MCARI1 indeksa u prvom mjerenju kontrole, značajna zabilježena asocijacija nalazi se samo na devetom kromosomu s jednim SNP-om (PZE-109108465). Vrijednosti na pripadajućem QQ dijagramu prate liniju jednakosti i interval pouzdanosti s blagim odstupanjem (očekivane vrijednosti manje od zabilježenih) te samo jednom vrijednosti s primjetnim značajnim odvajanjem.

Značajne asocijacije u drugom mjerenju tretmana kod MCARI1 indeksa su zabilježene na drugom kromosomu s jednim SNP-om (PZE-102083803) i trećem sa šest SNP-ova (SYN37731, SYN37721, PZE-103025670, PZE-103031625, SYN571, SYN572). Pripadajući QQ dijagram pokazuje usko grupiranje vrijednosti oko linije jednakosti i intervala pouzdanosti pri manjim vrijednostima $-\log_{10}(p)$ dok je pri većim vrijednostima vidljivo značajno odvajanje.

Kod MCARI1 indeksa u trećem mjerenju kontrole, značajne zabilježene asocijacije nalaze se na trećem kromosomu s jednim SNP-om (PZE-103145413) i šestom s također jednim SNP-om (SYN26542). Vrijednosti na pripadajućem QQ dijagramu također prate liniju jednakosti i interval pouzdanosti s bržim odvajanjem pri sredini raspona vrijednosti.

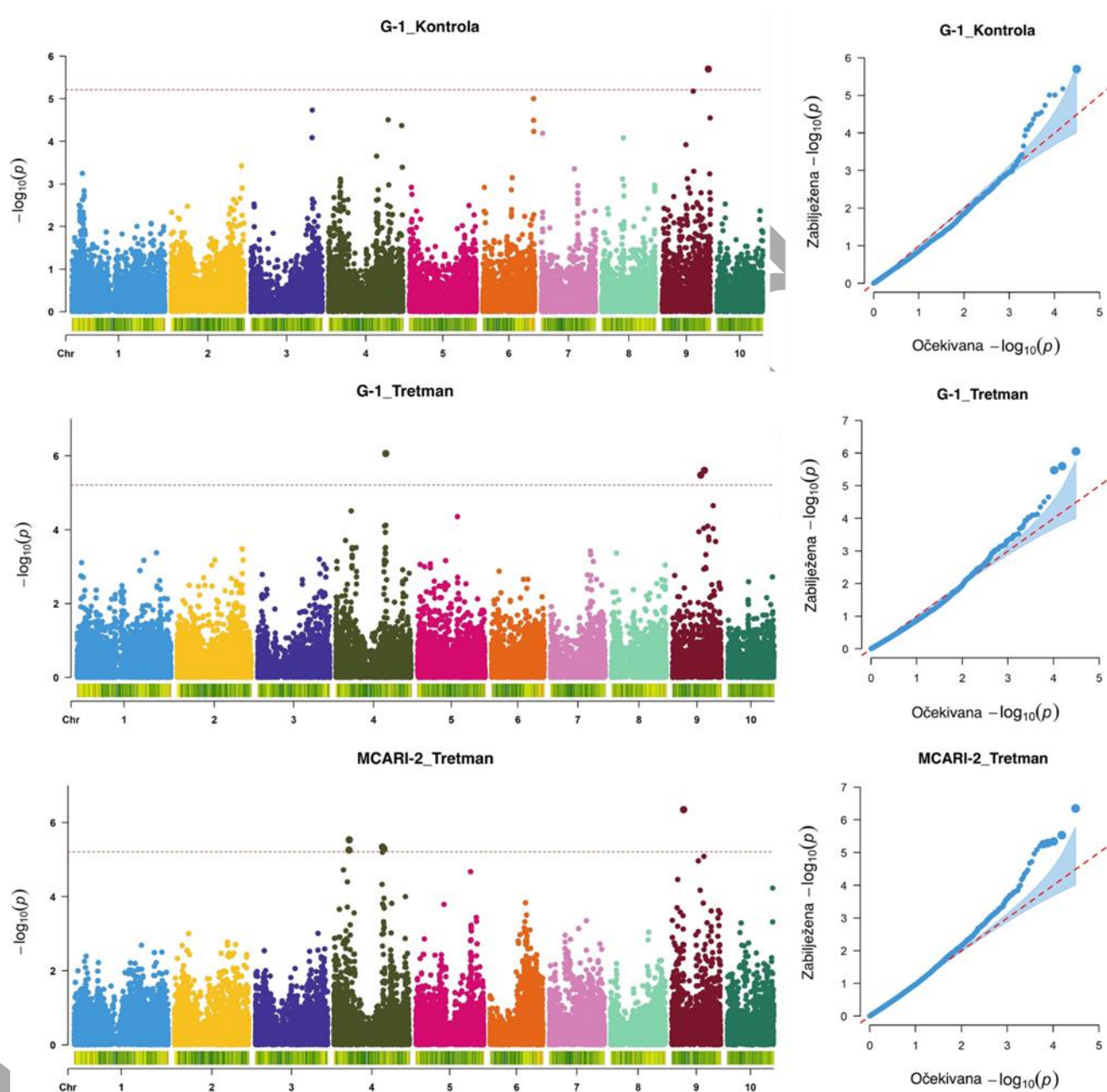


Slika 30. Manhattan i QQ dijagrami GWAS-a za MCARI1 indeks kod 165 genotipova kukuruza u pet kombinacija Indeks-Mjerenje_Tretman. Isprekidane linije označavaju prag značajnosti za cijeli genom $-\log(p)$ vrijednost od 5,214 ($\alpha = 0,05$).

Slika 31 prikazuje Manhattan i QQ dijagrame GWAS-a dva HS indeksa (G i MCARI) mladih biljaka kukuruza za tri kombinacije Indeks-Mjerenje-Tretman. Isprekidane linije označavaju prag značajnosti za cijeli genom – $-\log(p)$ vrijednost od 5,214 ($\alpha = 0,05$). Za prvo mjerenje kontrole G indeksa zabilježena je samo jedna značajna asocijacija, na devetom kromosomu s jednim SNP-om (PZE-109108465). QQ dijagram za prvo mjerenje kontrole G indeksa pokazuje usku grupaciju vrijednosti duž linije jednakosti i intervala pouzdanosti s malim odvajanjem pri većim vrijednostima $-\log_{10}(p)$ i jednom istaknutom značajnom vrijednosti.

Značajne asocijacije u prvom mjerenju tretmana kod G indeksa su zabilježene na četvrtom kromosomu s jednim SNP-om (PZE-104137089) i devetom s dva SNP-a (PZE-109060136, PZE-109091063). Pripadajući QQ dijagram pokazuje slično, usko grupiranje vrijednosti oko linije jednakosti i intervala pouzdanosti pri manjim vrijednostima $-\log_{10}(p)$ dok je pri većim vrijednostima vidljivo značajno odvajanje s tri istaknute vrijednosti.

Kod MCARI indeksa u drugom mjerenju tretmana, značajne zabilježene asocijacije nalaze se na četvrtom kromosomu s dva SNP-a (PZE-104005660, PZE-104080257) i devetom s jednim SNP-om (PZE-109031829). Vrijednosti na pripadajućem QQ dijagramu također prate liniju jednakosti i interval pouzdanosti s odvajanjem pri sredini raspona vrijednosti.

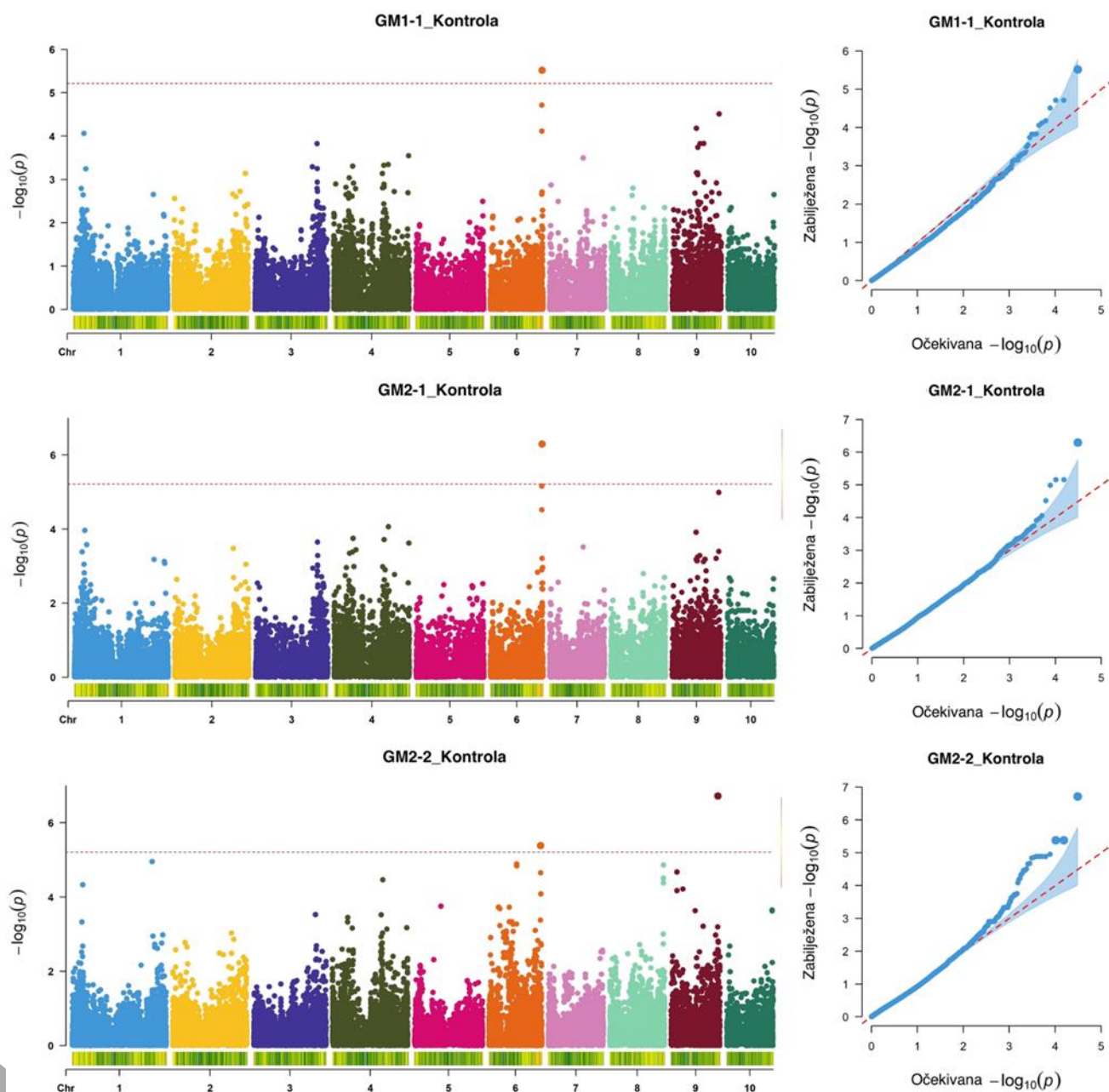


Slika 31. Manhattan i QQ dijagrami GWAS-a za dva HS indeksa (G i MCARI) kod 165 genotipova kukuruza u tri kombinacije Indeks-Mjerenje_Tretman. Isprekidane linije označavaju prag značajnosti za cijeli genom – $\log(p)$ vrijednost od 5,214 ($\alpha = 0,05$).

Na Slici 32su prikazani Manhattan i QQ dijagrami GWAS-a dva HS indeksa (GM1 i GM2) mladih biljaka kukuruza za tri kombinacije Indeks-Mjerenje-Tretman. Isprekidane linije označavaju prag značajnosti za cijeli genom – $-\log(p)$ vrijednost od 5,214 ($\alpha = 0,05$). Značajna asocijacija u prvom mjerenju kontrole kod GM1 indeksa je zabilježena jedino na šestom kromosomu s jednim SNP-om (SYN4313). Vrijednosti na pripadajućem QQ dijagramu usko prate liniju jednakosti i interval pouzdanosti sa samo jednom vrijednosti s primjetnim značajnim odvajanjem.

Za prvo mjerenje kontrole GM2 indeksa zabilježena je samo jedna značajna asocijacija, na šestom kromosomu s jednim SNP-om (SYN4314). QQ dijagram za prvo mjerenje kontrole GM2 indeksa pokazuje usku grupaciju vrijednosti duž linije jednakosti i intervala pouzdanosti s malim odvajanjem pri većim vrijednostima $-\log_{10}(p)$ i jednom istaknutom značajnom vrijednosti.

Kod GM2 indeksa u drugom mjerenju kontrole, značajne zabilježene asocijacije nalaze se na šestom kromosomu s jednim SNP-om (SYN11972) i devetom s jednim SNP-om (PZE-109108465). Vrijednosti na pripadajućem QQ dijagramu također prate liniju jednakosti i interval pouzdanosti s jačim odvajanjem pri većim vrijednostima s tri istaknute značajne vrijednosti.

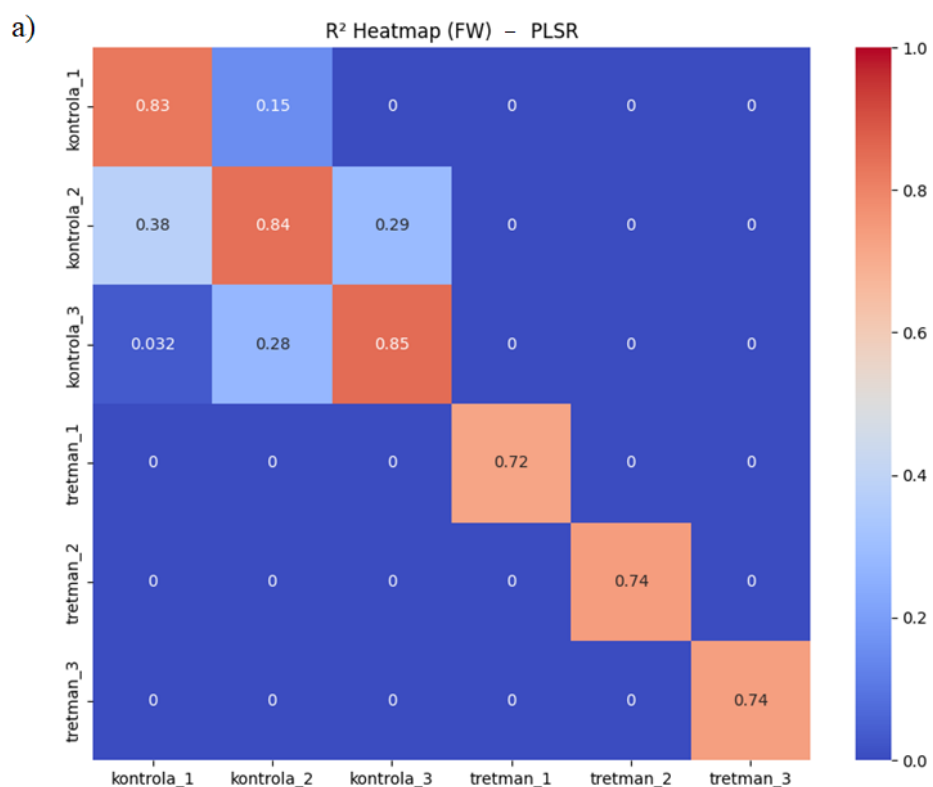


Slika 32. Manhattan i QQ dijagrami GWAS-a za dva HS indeksa (GM1 i GM2) kod 165 genotipova kukuruza u tri kombinacije Indeks-Mjerenje_Tretman. Isprekidane linije označavaju prag značajnosti za cijeli genom $-\log(p)$ vrijednost od 5,214 ($\alpha = 0,05$).

4.3 Modeliranje i strojno učenje

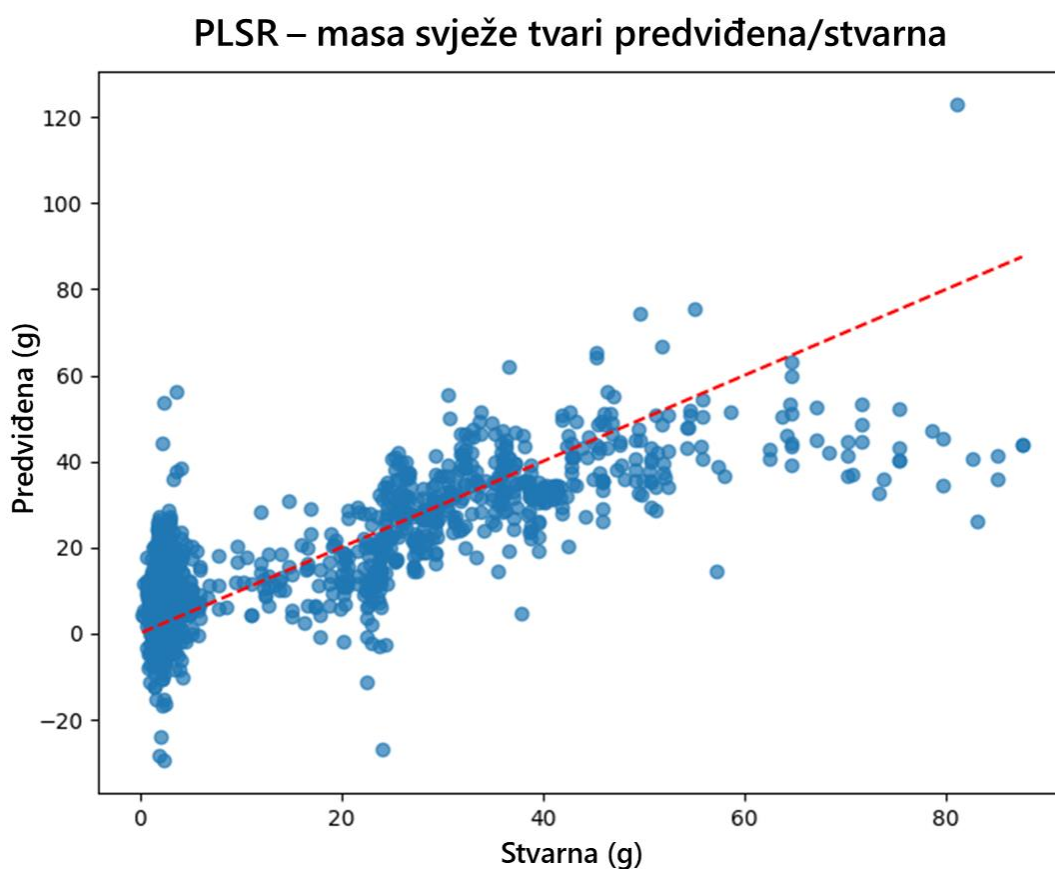
4.3.1 PLSR

Slika 33 prikazuje toplinsku kartu (*heatmap*) R^2 vrijednosti između predviđenih i stvarnih vrijednosti za a) masu svježe tvari (FW) i b) masu suhe tvari (DW) prema PLSR modelu. U prvom slučaju, vidljive su visoke R^2 vrijednosti (0,72 – 0,85) za iste kombinacije tretman – mjerenje pri čemu su veće vrijednosti zabilježene u kontroli. U kontrolnom bloku su vidljive blago veće R^2 vrijednosti (0 – 0,38) između različitih mjerenja s padom vrijednosti u vremenski udaljenijim mjerenjima (kontrola_1 i kontrola_3). R^2 vrijednosti između kontrole i tretmana, kao i kod različitih mjerenja u bloku tretmana jednake su 0. Kod mase suhe tvari također vidljive više R^2 vrijednosti (0,62 – 0,81) za iste kombinacije tretman – mjerenje s većim vrijednostima u kontroli. Blago veće R^2 vrijednosti (0 – 0,19) između različitih mjerenja su primjetne i u ovom kontrolnom bloku, no manje nego kod mase svježe tvari. R^2 vrijednosti između kontrole i tretmana, kao i kod različitih mjerenja u bloku tretmana su i u ovom slučaju jednake 0.



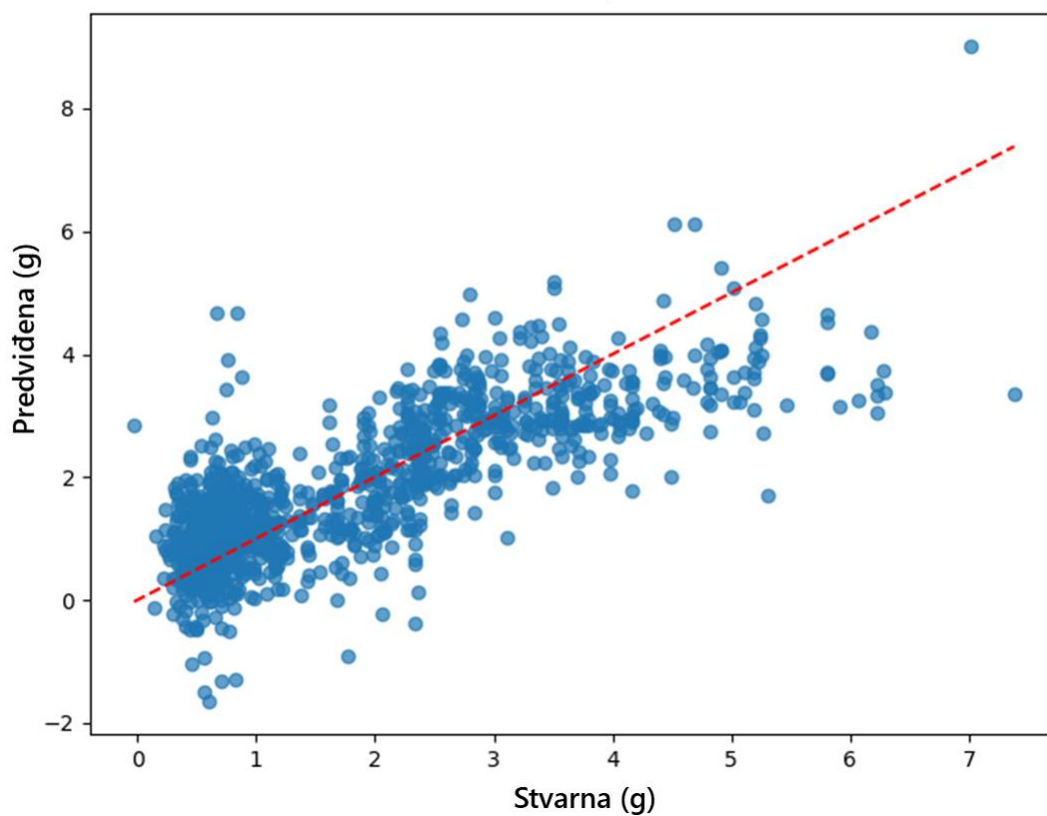
Slika 33. Toplinska karta R² vrijednosti između predviđenih i stvarnih vrijednosti za a) masu svježeg tvari (FW) i b) masu suhe tvari (DW) prema PLSR modelu

Slike 34 i 35 prikazuju predviđanja vrijednosti masa svježe i suhe tvari nasuprot stvarne vrijednosti uporabom PLSR modela strojnog učenja koji uključuje sve podatke kroz sve genotipove, tretmane i mjerenja. Ovaj model je pokazao relativno usko grupiranje oko dijagonalne linije za vrijednosti biomase srednjeg raspona, ali je pokazao veće odstupanje pri ekstremnim vrijednostima. Otklon od linije jednakosti pri većim vrijednostima je prisutan i kod biljaka tretmana i kod kontrolnih biljaka. Gušća grupiranost vrijednosti je primjetna na Slika 33. (svježa tvar).



Slika 34. Odnos predviđene i stvarne mase svježe tvari prema PLSR modelu koji uključuje sve podatke kroz sve genotipove, tretmane i mjerenja. Crvena isprekidana linija označava jednake vrijednosti predviđene i stvarne mase svježe tvari.

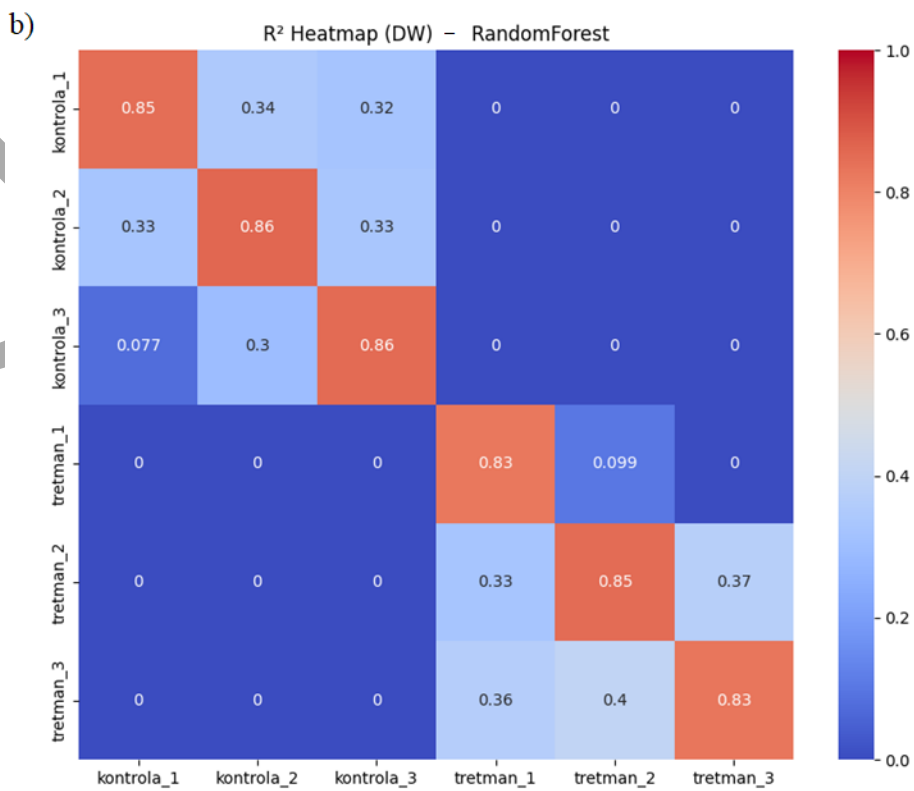
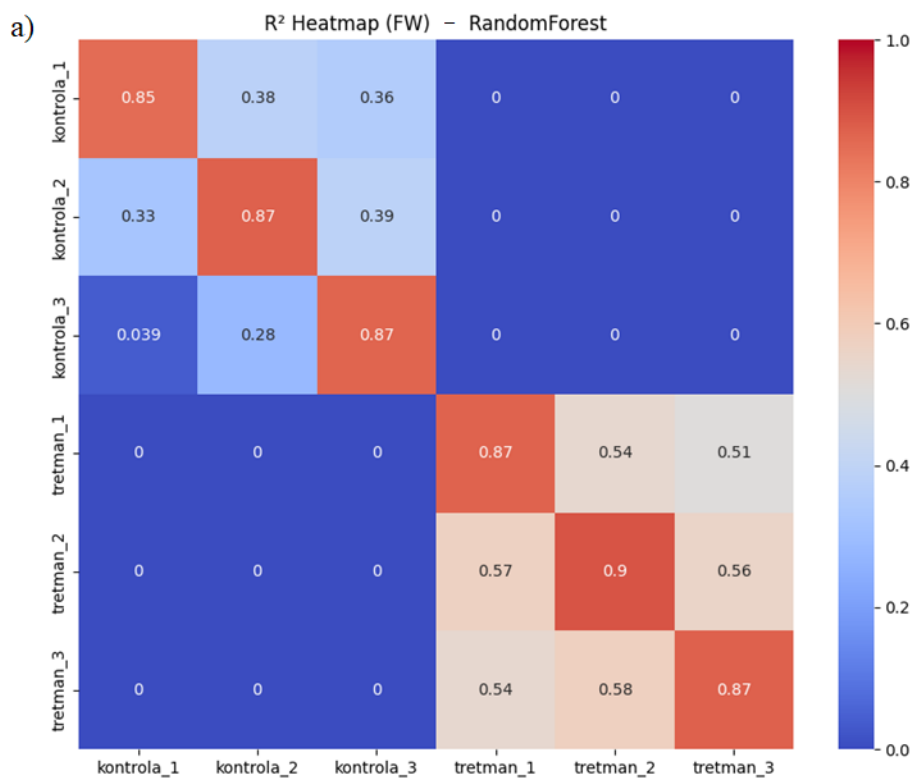
PLSR – masa suhe tvari predviđena/stvarna



Slika 35. Odnos predviđene i stvarne mase suhe tvari prema PLSR modelu koji uključuje sve podatke kroz sve genotipove, tretmane i mjerenja. Crvena isprekidana linija označava jednake vrijednosti predviđene i stvarne mase suhe tvari.

4.3.2 Random forest

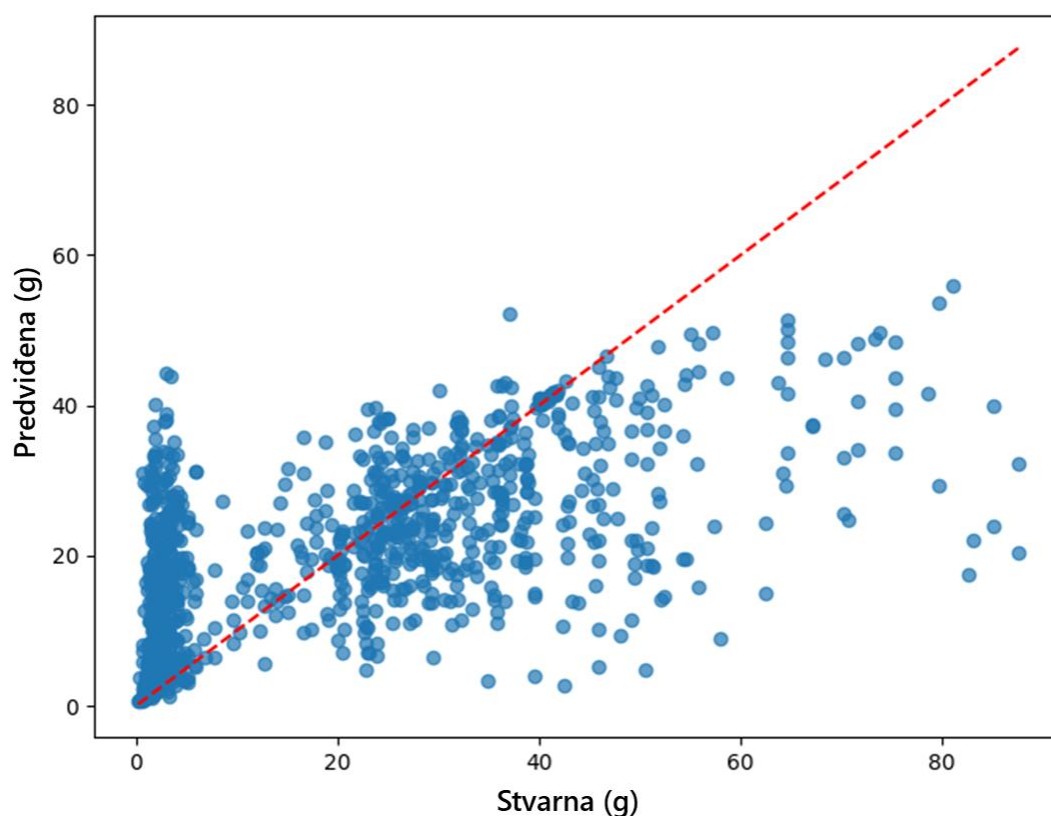
Na Slici 36 prikazana je toplinska karta R^2 vrijednosti između predviđenih i stvarnih vrijednosti za a) masu svježe tvari (FW) i b) masu suhe tvari (DW) prema Random Forest modelu. Za masu svježe tvari, vidljive su visoke R^2 vrijednosti (0,85 – 0,90) za iste kombinacije tretman – mjerenje pri čemu su veće vrijednosti zabilježene u tretmanu. U kontrolnom bloku su vidljive blago veće R^2 vrijednosti (0,04 – 0,39) između različitih mjerenja s padom vrijednosti u vremenski udaljenijim mjerenjima (kontrola_1 i kontrola_3). U bloku tretmana su vidljive znatno veće R^2 vrijednosti (0,51 – 0,58) između različitih mjerenja, dok su R^2 vrijednosti između kontrole i tretmana jednake su 0. Za masu suhe tvari također su vidljive više R^2 vrijednosti (0,83 – 0,86) za iste kombinacije tretman – mjerenje s većim vrijednostima u kontroli. Blago veće R^2 vrijednosti (0,08 – 0,34) između različitih mjerenja su primjetne i u ovom kontrolnom bloku, no manje nego masu svježe tvari. Također, u bloku tretmana su vidljive blago veće R^2 vrijednosti (0 – 0,40) s padom vrijednosti u vremenski udaljenijim mjerenjima. R^2 vrijednosti između kontrole i tretmana su i u ovom slučaju jednake 0.



Slika 36. Toplinska karta R^2 vrijednosti između predviđenih i stvarnih vrijednosti za a) masu svježeg tvari (FW) i b) masu suhe tvari (DW) prema Random Forest modelu

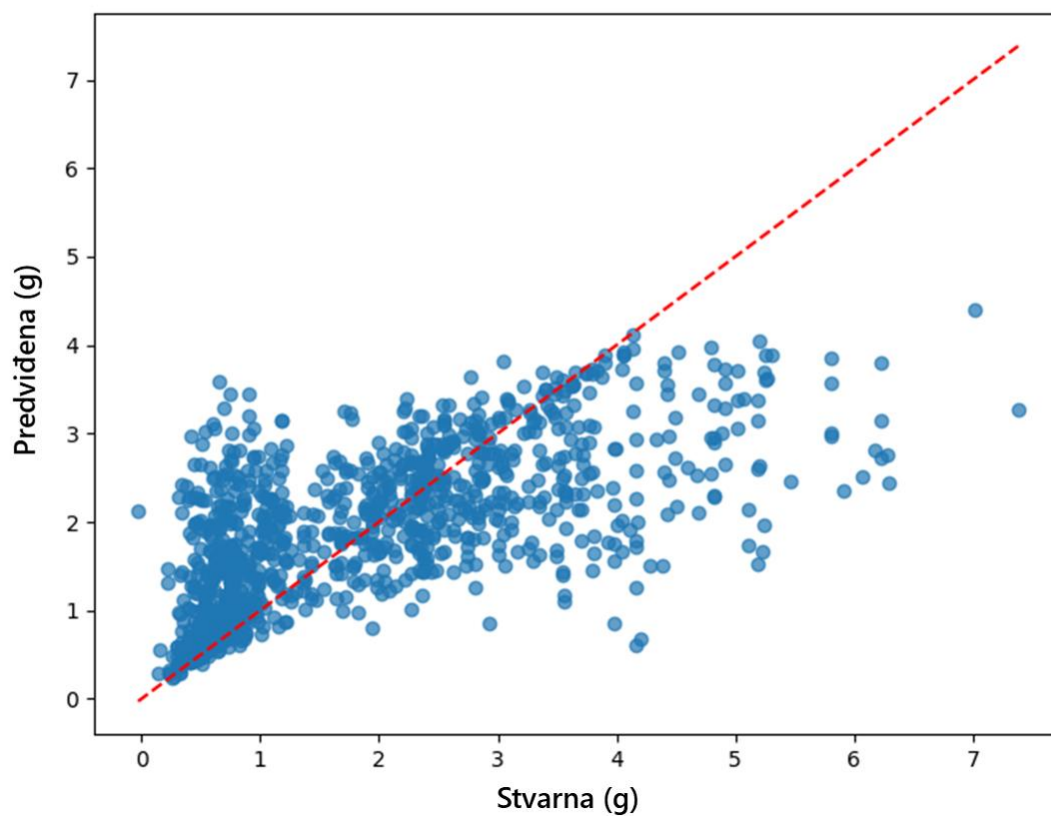
Predviđanje vrijednosti masa svježe i suhe tvari nasuprot stvarne vrijednosti uporabom Random Forest modela strojnog učenja prikazane su na Slikama 37 i 38. Za razliku od PLSR modela, na grafovima Random Forest modela vidimo znatno veće raspršenje vrijednosti od linije jednakosti s primjetnom sustavnom pristranošću gdje model dosljedno podcjenjuje masu biljaka s višim stvarnim vrijednostima biomase. Random Forest pokazuje jasnije uzorke s masom suhe tvari no razlika je manje izražena nego kod prethodnog, linearnog modela. Slika 38 (suha tvar) pokazuje nešto uže grupiranje oko nižih vrijednosti biomase, dok predviđanja svježe mase ostaju prilično raspršena u cijelom rasponu.

Random Forest – masa svježe tvari predviđena/stvarna



Slika 37. Odnos predviđene i stvarne mase svježe tvari prema modelu Random Forest koji uključuje sve podatke kroz sve genotipove, tretmane i mjerenja. Crvena isprekidana linija označava jednake vrijednosti predviđene i stvarne mase svježe tvari.

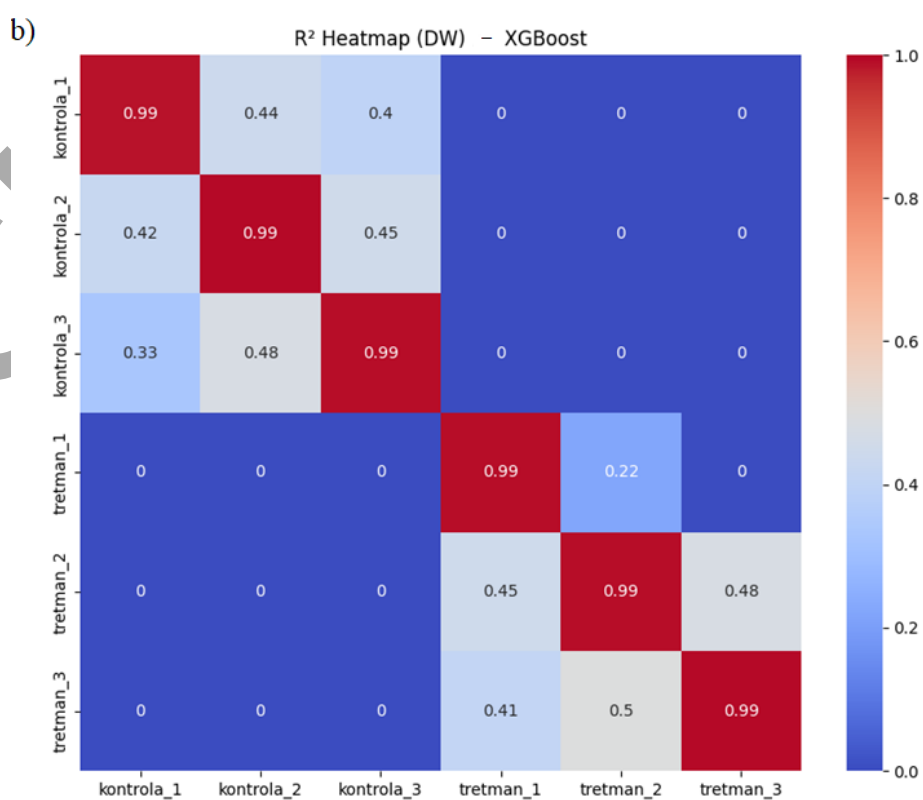
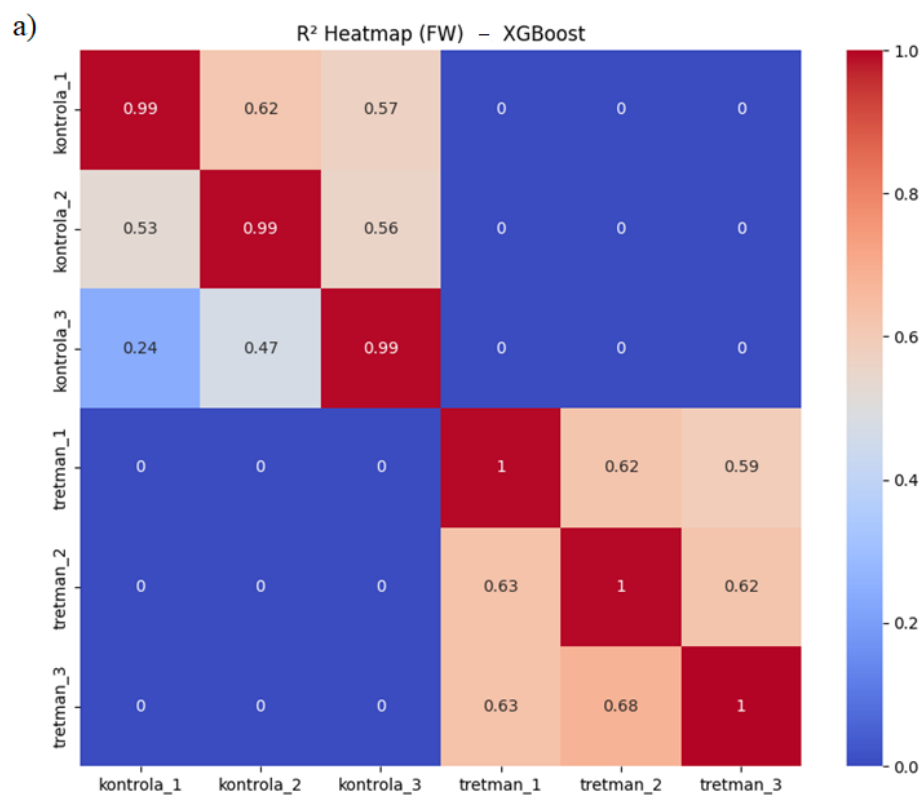
Random Forest – masa suhe tvari predviđena/stvarna



Slika 38. Odnos predviđene i stvarne mase suhe tvari prema modelu Random Forest koji uključuje sve podatke kroz sve genotipove, tretmane i mjerenja. Crvena isprekidana linija označava jednake vrijednosti predviđene i stvarne mase suhe tvari

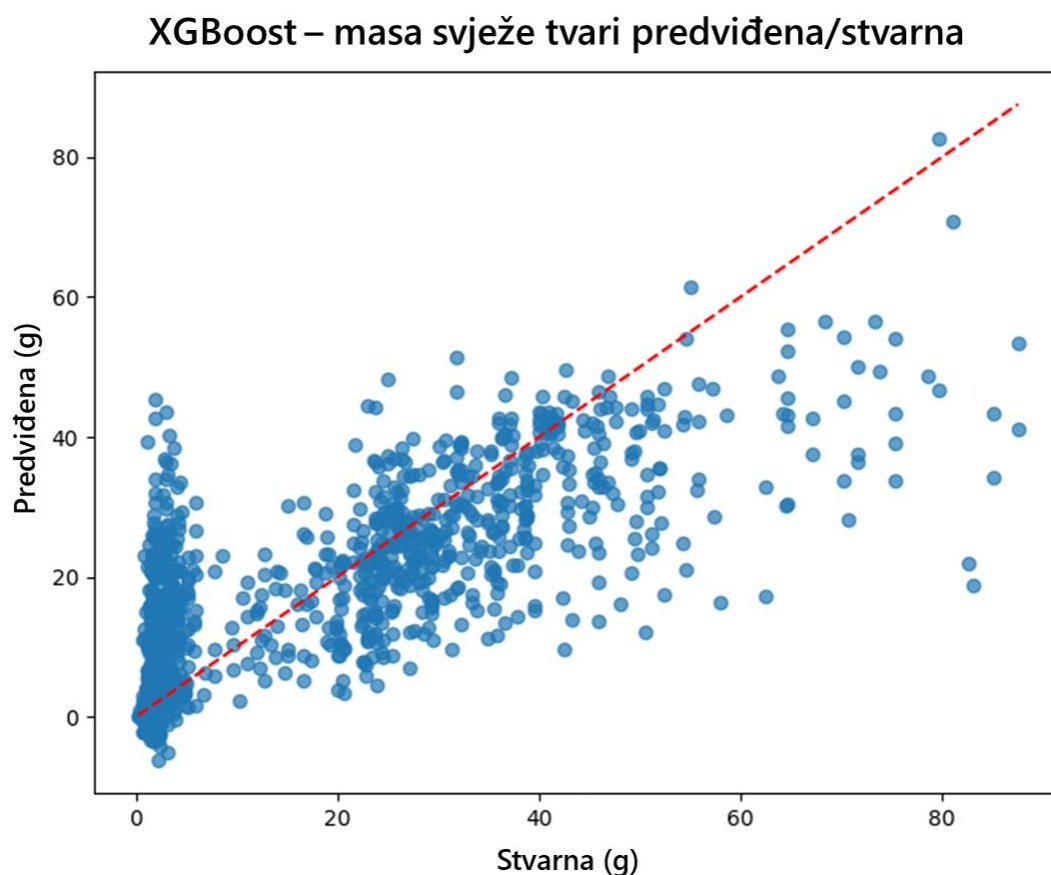
4.3.3 XGBoost

Slika 39 prikazuje toplisku kartu R^2 vrijednosti između predviđenih i stvarnih vrijednosti za a) masu svježe tvari (FW) i b) masu suhe tvari (DW) prema XGBoost modelu. Za masu svježe tvari, vidljive su izrazito visoke R^2 vrijednosti (0,99 – 1) za iste kombinacije tretman – mjerenje pri čemu su veće vrijednosti zabilježene u tretmanu. U kontroli su vidljive veće R^2 vrijednosti (0,24 – 0,62) između različitih mjerenja s padom vrijednosti u vremenski udaljenijim mjerenjima (kontrola_1 i kontrola_3). U bloku tretmana su vidljive visoke R^2 vrijednosti (0,59 – 0,68) između različitih mjerenja, veće nego u kontrolnom bloku. R^2 vrijednosti između kontrole i tretmana jednake su 0. Za masu suhe tvari također su vidljive visoke R^2 vrijednosti (0,99) za iste kombinacije tretman – mjerenje, podjednake i u kontroli i u tretmanu. Blago veće R^2 vrijednosti (0,33 – 0,48) između različitih mjerenja s padom vrijednosti u vremenski udaljenijim mjerenjima su primjetne u kontrolnom bloku, manje nego za masu svježe tvari. U bloku tretmana su također primjetne blago veće R^2 vrijednosti (0 – 0,5) između različitih mjerenja sa sličnim trendom padom vrijednosti. R^2 vrijednosti između kontrole i tretmana su jednake 0.



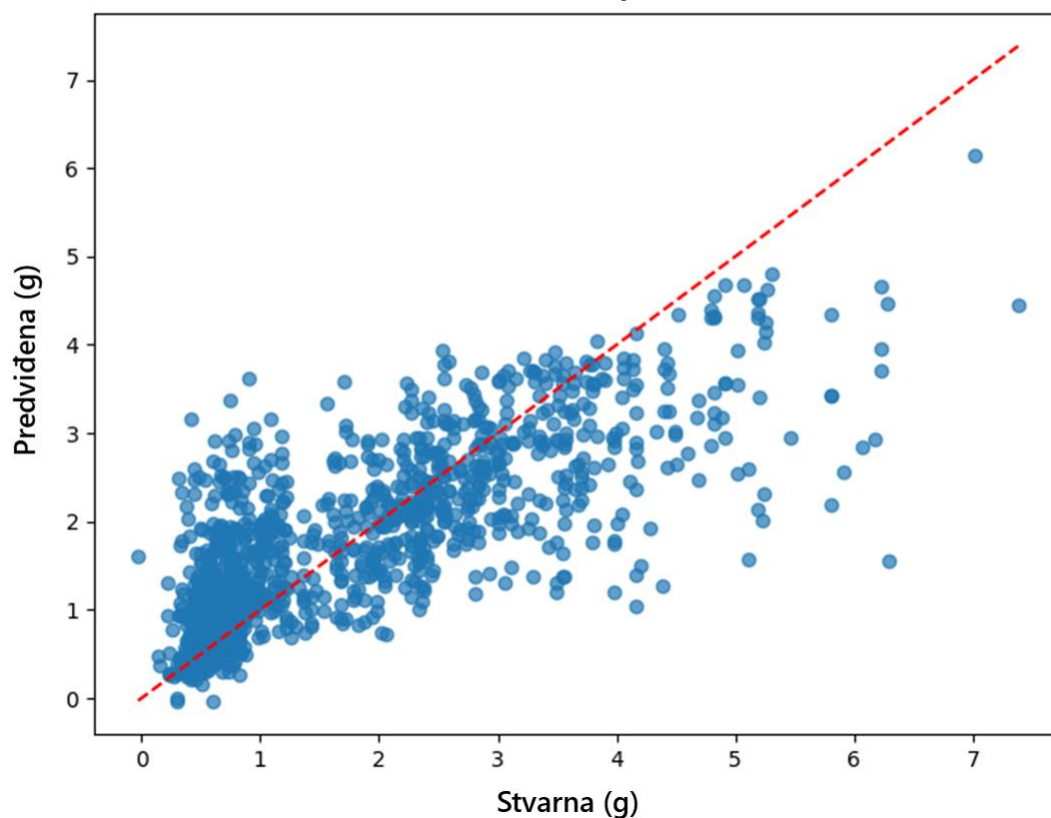
Slika 39. Toplinska karta R^2 vrijednosti između predviđenih i stvarnih vrijednosti za a) masu svježe tvari (FW) i b) masu suhe tvari (DW) prema XGBoost modelu.

Slike 40 i 41 prikazuju predviđanje vrijednosti masa svježe i suhe tvari nasuprot stvarne vrijednosti uporabom XGBoost modela strojnog učenja. Na navedenim grafovima vidljiv je sličan obrazac kao i kod prethodnog modela s boljim predviđanjem kod mase suhe tvari naspram mase svježe tvari. U usporedbi s grafovima Random Forest modela vidljivo je smanjenje sustavne pristranosti podcjenjivanja vrijednosti te su vrijednosti uže grupirane uz liniju jednakosti.



Slika 40. Odnos predviđene i stvarne mase svježe tvari prema modelu XGBoost koji uključuje sve podatke kroz sve genotipove, tretmane i mjerenja. Crvena isprekidana linija označava jednake vrijednosti predviđene i stvarne mase svježe tvari.

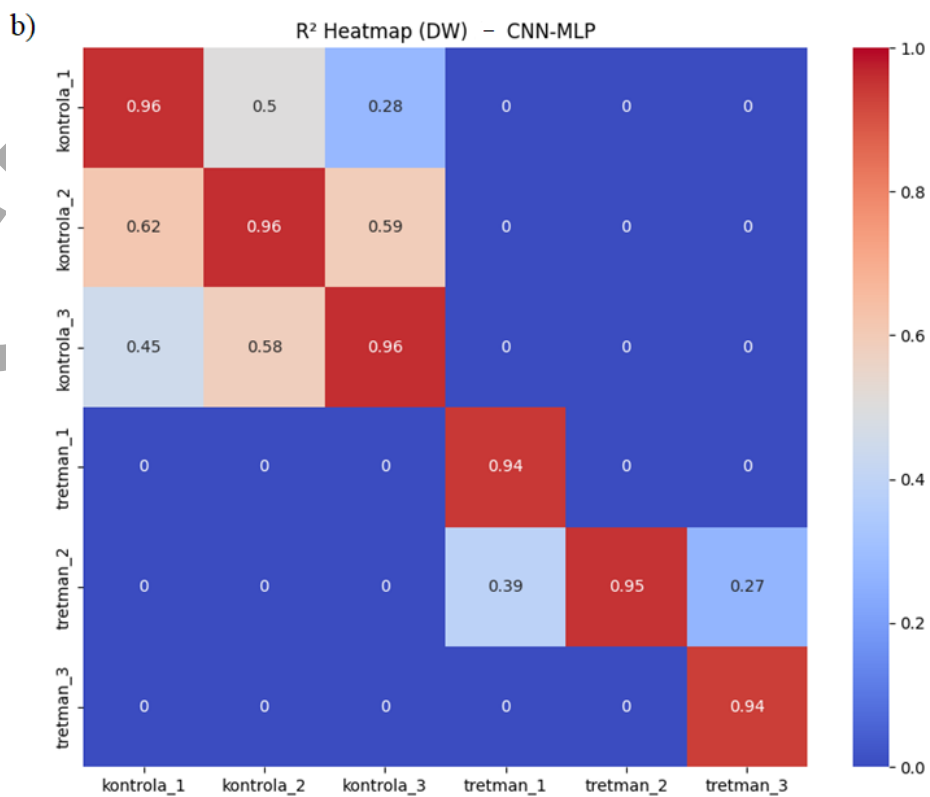
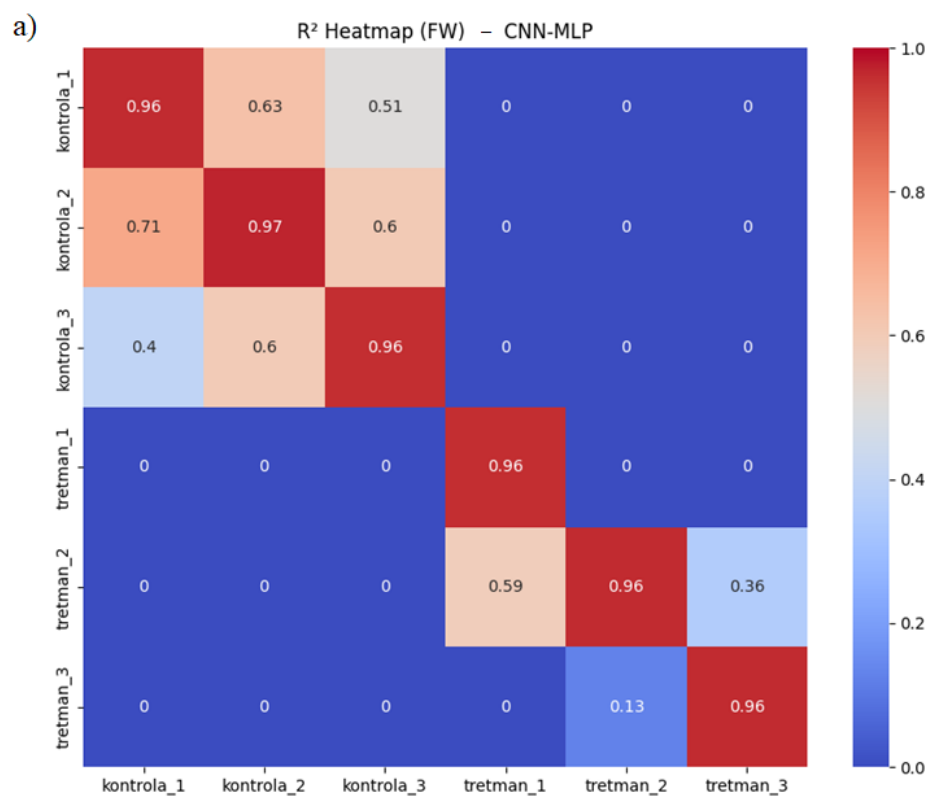
XGBoost – masa suhe tvari predviđena/stvarna



Slika 41. Odnos predviđene i stvarne mase suhe tvari prema modelu XGBoost koji uključuje sve podatke kroz sve genotipove, tretmane i mjerenja. Crvena isprekidana linija označava jednake vrijednosti predviđene i stvarne mase suhe tvari.

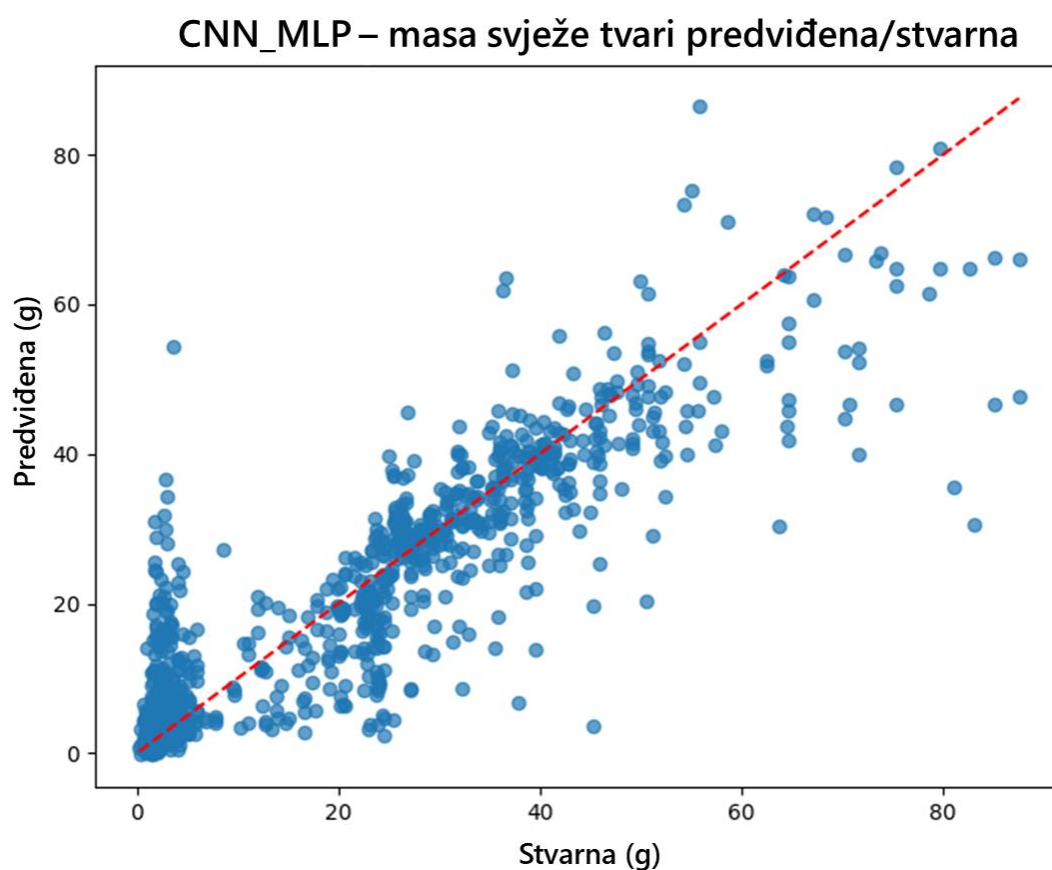
4.3.4 CNN_MLP

Na Slici 42 prikazana je toplinska karta R^2 vrijednosti između predviđenih i stvarnih vrijednosti za a) masu svježe tvari (FW) i b) masu suhe tvari (DW) prema CNN-MLP modelu. U slučaju mase svježe tvari, vidljive su visoke R^2 vrijednosti (0,96 – 0,97) za iste kombinacije tretman – mjerenje. U kontrolnom bloku su vidljive veće R^2 vrijednosti (0,40 – 0,71) između različitih mjerenja s padom vrijednosti u vremenski udaljenijim mjerenjima (kontrola_1 i kontrola_3). U bloku tretmana su vidljive manje R^2 vrijednosti (0 – 0,59) između različitih mjerenja, dok su R^2 vrijednosti između kontrole i tretmana te kombinacije tretman_1 – tretman_2; tretman_3 i tretman_3 – tretman_1 u bloku tretmana jednake 0. Za masu suhe tvari također su vidljive više R^2 vrijednosti (0,94 – 0,96) za iste kombinacije tretman – mjerenje s većim vrijednostima u kontroli. Veće R^2 vrijednosti (0,28 – 0,62) između različitih mjerenja su primjetne u kontrolnom bloku, no manje nego kod mase svježe tvari. Također, u bloku tretmana su vidljive blago veće R^2 vrijednosti (0 – 0,59) pri čemu kombinacije tretman_1 – tretman_2; tretman_3, kao i tretman_3 – tretman_1; tretman_2 imaju R^2 vrijednosti jednake 0. R^2 vrijednosti između kontrole i tretmana su i u ovom slučaju 0.



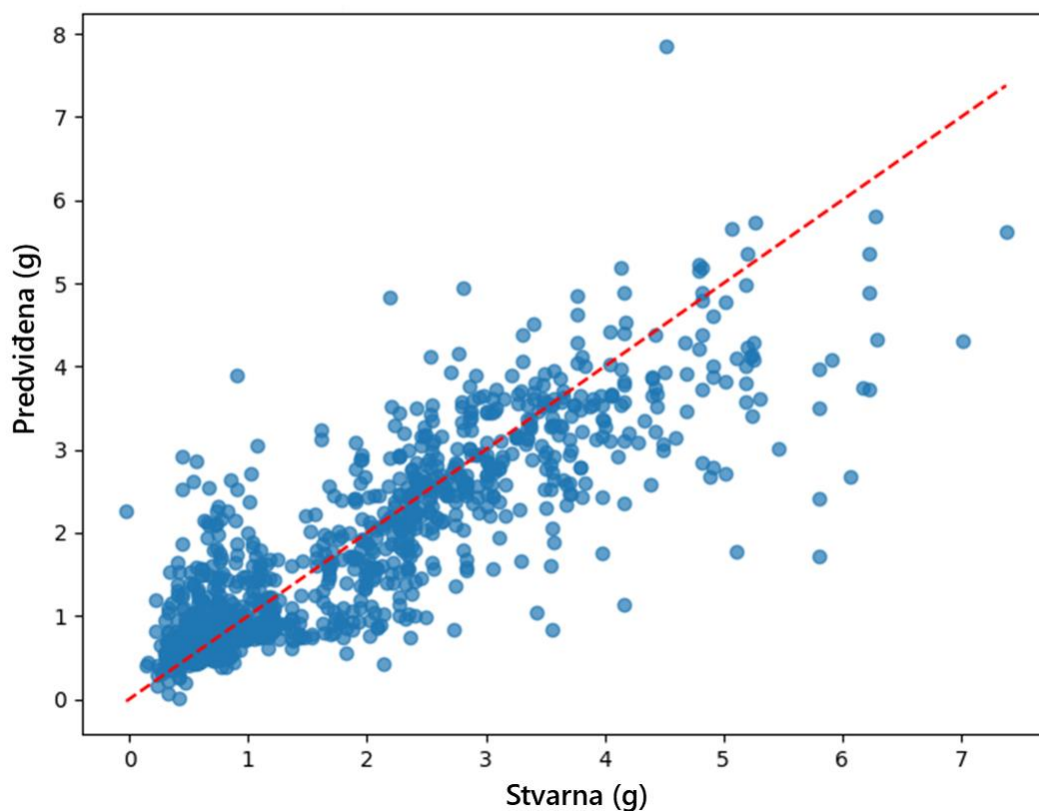
Slika 42. Toplinska karta R² vrijednosti između predviđenih i stvarnih vrijednosti za a) masu svježe tvari (FW) i b) masu suhe tvari (DW) prema CNN-MLP modelu

Slike 43 i 44 prikazuju predviđanje vrijednosti masa svježe i suhe tvari nasuprot stvarne vrijednosti uporabom CNN_MLP modela strojnog učenja. Model je pokazao relativno usko grupiranje oko dijagonalne linije te kao i kod PLSR modela gušća grupiranost vrijednosti je primjetna na Slici 43. (svježa tvar).



Slika 43. Odnos predviđene i stvarne mase svježe tvari prema CNN_MLP modelu koji uključuje sve podatke kroz sve genotipove, tretmane i mjerenja. Crvena isprekidana linija označava jednake vrijednosti predviđene i stvarne mase svježe tvari.

CNN_MLP – masa suhe tvari predviđena/stvarna



Slika 44. Odnos predviđene i stvarne mase suhe tvari prema CNN_MLP modelu koji uključuje sve podatke kroz sve genotipove, tretmane i mjerenja. Crvena isprekidana linija označava jednake vrijednosti predviđene i stvarne mase suhe tvari.

Tablica 6 prikazuje usporedbu MSE i R^2 vrijednosti svakog modela za masu svježe i suhe tvari. Najmanje MSE vrijednosti i za masu svježe tvari i za masu suhe tvari imao je model CNN_MLP od 0,49, odnosno 66,72.. Random Forest i XGBoost modeli su pokazali blago veći koeficijent determinacije za masu suhe tvari s $R^2 = 0,46$ (Random Forest) i $R^2 = 0,58$ (XGBoost) s pripadajućim MSE za masu suhe tvari od 1,01 i 0,79, dok su PLSR i CNN-MLP modeli pokazali veći koeficijent determinacije za masu svježe tvari s $R^2 = 0,64$ (PLSR) i $R^2 = 0,81$ (CNN_MLP) pripadajućim MSE za masu svježe tvari od 128,30 i 66,72. Općenito, vrijednosti MSE i kod svježe tvari i kod suhe tvari prate R^2 vrijednosti pojedinog modela pri čemu modeli viših R^2 vrijednosti imaju manju vrijednost MSE.

Tablica 6. MSE i R^2 vrijednosti svakog modela za masu svježe tvari (FW) i za masu suhe tvari (DW)

Model	DW_MSE*	DW_R2	FW_MSE	FW_R2
PLSR	0,73	0,61	128,30	0,64
RandomForest	1,01	0,46	196,14	0,45
XGBoost	0,79	0,58	152,98	0,57
CNN_MLP	0,49	0,74	66,72	0,81

Podobljeni brojevi označavaju najmanje MSE, odnosno najveće R^2 vrijednosti

5. Rasprava

Ispitivanje stanja kukuruza pri stresu sušom, uporabom 15 parametara (pet parametara fluorescencije klorofila i 10 hiperspektralnih) pokazalo je konzistentni temporalni uzorak od inicijalne stabilnosti do značajnog pogoršanja fiziološkog stanja kroz trodnevnu intenzifikaciju stresa. Phi_Po parametar pokazuje gusto grupiranje vrijednosti oko linije jednakosti u prva dva mjerenja, dok je u trećem mjerenju primjetan znatan pad vrijednosti tretmana. Pad vrijednosti ovog parametra podrazumjeva smanjenje učinkovitosti PSII. Općenito, s porastom intenziteta stresa manje je dostupnih reakcijskih centara te zabilježene vrijednosti ovog parametra opadaju (Badr i Brüggemann, 2020.). Teixeira i sur. (2021.) također navode kasniji začajni pad ovog parametra kod kultivara kukuruza uzgajanog u sušnim uvjetima te navode otpornost ovog parametra na uvjete sušnog stresa. U uvjetima jačeg stresa sušom, što je vidljivo iz značajnog raspršenja vrijednosti unutar zadnjeg mjerenja, ovaj parametar dobro diferencira pojedine genotipove. Psi_o parametar također pokazuje temporalni trend opadanja vrijednosti kroz progresiju stresa sušom te veće raspršenje vrijednosti unutar mjerenja od prethodnog parametra ukazujući kako integritet transportnog lanca elektrona između fotosustava kao specifična karakteristika dobro diferencira odgovore različitih genotipova na postupno jači stres sušom. Usporedba parametara fluorescencije klorofila kod različitih genotipova u uvjetima suše pokazala je sličnu osjetljivost ovog parametra (Jia i sur., 2020.; Liu i sur., 2020.; Mihaljević i sur., 2021.) Parametar Phi_Eo pokazuje vrlo sličnu distribuciju vrijednosti kao kod Psi_o s većim raspršenjem vrijednosti unutar mjerenja no s nešto strmijim opadanjem vrijednosti kod jačeg stresa. Ovakva raspodjela vrijednosti je očekivana i vidljiva iz matematičke izvedbe ovog parametra gdje Phi_Eo predstavlja umnožak parametara Phi_Po i Psi_o (Strasser i sur., 2004.), bilježeći promjene u oba parametra. Phi_Pav parametar pokazuje obrnutu raspodjelu vrijednosti u odnosu na ostale ChlF parametre s primjetnim porastom vrijednosti kroz intenzifikaciju stresa. Razdvajanje vrijednosti kod ovoga parametra je uočljivo unutar pojedinih mjerenja s porastom raspršenja vrijednosti u uvjetima jačeg stresa (Mjerenje 3). Zong i sur. (2014.) su pokazali sličnu dinamiku ovog parametra u istraživanju efekata povećane koncentracije CO₂ i suše na fotosintetski kapacitet i funkcioniranje PSII kod kukuruza. Parametar Pi_Abs pokazuje najveće raspršenje vrijednosti već od prvog mjerenja (blagi stres) ukazujući na osjetljivost ovoga parametra. Zhou i sur. (2024.) i navode kako je Pi_Abs najosjetljiviji parametar između parametara ChlF te ima sposobnost precizne procjene statusa fotosintetskog aparata. Pad vrijednosti Pi_Abs, u usporedbi s prethodnim parametrima (Phi_Po i Psi_o) rezultat je pada učinkovitosti/vjerojatnosti da elektron bude prenesen iza Q_A⁻, te je i

matematički objašnjen pošto su Φ_{Po} i Ψ_o korištene varijable u izračunu Π_{Abs} (Strasser i sur., 2004.; Galić i sur., 2019.). U usporedbi s Φ_{Po} parametrom, koji se još zapisuje i kao F_v/F_m , a iskorištava samo ekstremne vrijednosti fluorescencije (minimalna i maksimalna), za izračun Π_{Abs} potrebno je precizno mjerenje tranzijenta između ta dva ekstrema što ga čini vrlo pogodnim i osjetljivim parametrom za ispitivanje općeg stanja usjeva u uvjetima stresa (Lepeduš i sur., 2012.). Usporedba Φ_{Po} i Π_{Abs} u uvjetima kombiniranog stresa (visoka temperatura i suša) je također pokazala veću osjetljivost Π_{Abs} pri primjeni abiotskog stresa i kod kelja (*Brassica oleracea* var. *acephala*) (Vidaković-Cifrek i Tkalec, 2023.). Kod kukuruza uzgajanog u solno-lužnato stresnim uvjetima također je pokazana veća osjetljivost Π_{Abs} u odnosu na Φ_{Po} , ali i druge parametre JIP testa (Deng i sur., 2010). Zuo i sur. (2025.) također navode kako je parametar Φ_{Po} relativno stabilan pri umjerenom stresu sušom sa značajnim promjenama tek prilikom duže izloženosti stresu ili jakom intenzitetu suše dok nasuprot njemu Π_{Abs} reagira puno brže sa značajnim promjenama već u inicijalnim stadijima dehidracije. Također navode integriranje više dimenzija funkcionalnosti PSII kao razlog njegove velike osjetljivosti. Liu i sur. (2018.) navode kako umjereni stres suše kod kukuruza rezultira smanjenjem aktivnosti PSII od Q_A do PQH_2 dok fotokemijska aktivnost PSI biva nepogođena, a u uvjetima jake suše cijeli transportni lanac elektrona od donorske strane PSII do PSI krajnjeg elektron akceptora biva inhibiran.

Kod ChlF parametara, svi ostali parametri (Φ_{Po} , Ψ_o , Φ_{Eo} i Φ_{Pav}) pokazuju odgovor nalik *threshold* odgovoru (stabilnost do praga naglog pada vrijednosti). Ta relativna stabilnost vrijednosti fotosintetskih parametara u trenutku ranih mjerenja ukazuje na održavanje učinkovitosti fotosintetske aktivnosti uslijed slabijeg intenziteta stresa koji je biljkama bio podnošljiv. Drugi tjedan mjerenja je pokazao veću varijabilnost između odgovora genotipova na stres sušom. Vukadinović i sur., (2025.) su pokazali kako ChlF parametri pri umjerenom stresu (Mjerenje 2) postaju iznimno važni za objašnjavanje sekundarne varijacije interakcija genotip $\times$ okolina. Također navode kako se pri umjerenom stresu genotipovi primarno razlikuju po vlastitoj fotosintetskoj funkcionalnosti indicirano visokom korelacijom između BLUPova fotosintetskih parametara s drugom glavnom komponentom (eng. “*principal component*”; PC) (PC2) u analizi glavnih komponenata pri drugom mjerenju.

NDVI indeks pokazuje djelomično preklapanje vrijednosti različitih mjerenja s primjetnim padom vrijednosti kroz progresiju stresa suše i većim raspršenjem vrijednosti unutar pojedinih mjerenja što je izraženije u uvjetima jačeg stresa. Ovakav raspored vrijednosti s ranim raspršenjem vrijednosti pokazuje osjetljivost ovog parametra na odgovore različitih genotipova

već u uvjetima blagog stresa. Adebayo i sur. (2014.) navode kako se za genotipove kukuruza s visokim vrijednostima NDVI-a u razvojnoj fazi klijanca u uvjetima suše očekuje veći prinos zrna, dok Tamás i sur. (2023.) navode kako je dinamika ovog indeksa prikladan indikator procjene različitih tretmana na razvoj biljaka i predviđanje prinosa. Preklapanje vrijednosti mjerenja s padom kroz progresiju stresa te većim raspršenjem vrijednosti unutar mjerenja primjetno je i kod SRI indeksa. Zhang i sur. (2021.) u istraživanju procjene osjetljivosti kukuruza u uvjetima suše uporabom vegetacijskih indeksa navode osjetljivost SRI (ujedno i NDVI-a) na sušni stres kod kukuruza. Kod procjene indeksa zelene površine lista (*green leaf area index*; gLAI) kod kukuruza, Nguy-Robertson i sur. (2012.) navode kombinaciju NDVI i SRI indeksa kao najbolji odabir kod senzora sa spektralnim pojasima u crvenoj i NIR regiji elektromagnetskog spektra, no navedeni indeks je specifičan za vrstu. ZMI indeks također pokazuje djelomično preklapanje vrijednosti različitih mjerenja s padom vrijednosti kroz intenzifikaciju stresa, s većim raspršenjem vrijednosti unutar pojedinih mjerenja što je osobito izraženo u Mjerenju 3 (jaki stres). Zarco-Tejada i sur. (2001.) navode kako *red edge* (uski raspon elektromagnetskog spektra koji se nalazi između crvenog i NIR spektra bez preklapanja s ijednim) optički indeksi poput ZMI imaju bolju učinkovitost procjene sadržaja klorofila nego korištenje svih pojedinih kanala spektralne refleksije. Kod PSNDa indeksa je također vidljivo svojstveno preklapanje vrijednosti različitih mjerenja s većim raspršenjem vrijednosti unutar mjerenja, izraženijom pri zadnjem mjerenju. U istraživanju Zhanga i sur. (2011.) praćenja fluorescencije klorofila korištenjem spektralnih indeksa kod riže pokazali su značajnu korelaciju ovog indeksa s parametrima fluorescencije (F_o , F_m , F_v/F_m i F_v/F_o). PSNDa indeks nije često zastupljen i naveden kao takav u literaturi, vjerojatno iz razloga što puno zastupljeniji NDVI indeks koristi vrlo bliske valne duljine i jednak matematički izračun (Blackburn, 1998.; Robles-Zazueta i sur., 2021.; Asgari i sur., 2023.).

RDVI indeks pokazuje preklapanje vrijednosti pojedinih mjerenja s trendom pada vrijednosti kroz intenzifikaciju suše s također primjetnim raspršenjem vrijednosti unutar pojedinih mjerenja već od prvog mjerenja s najprimjetnijim odvajanjem pri zadnjem mjerenju. Zhang i sur. (2019.) navode korisnost i učinkovitost ovog indeksa za praćenje vodnog statusa kukuruza u različitim intenzitetima vodnog deficita te navode bolju učinkovitost omjera indeksa TCARI s RDVI indeksom u odnosu na omjer drugog korištenog indeksa (*soil-adjusted vegetation index*; SAVI). Kod MCARI1 indeksa vidljivo je značajno preklapanje vrijednosti osobito kod prva dva mjerenja s većim odvajanjem tek u trećem mjerenju. Raspršenje vrijednosti je vidljiva unutar mjerenja, a najizraženija je u posljednjem mjerenju. Uporaba ovog indeksa nije vrlo

zastupljena u literaturi sušnog stresa kod kukuruza, no korišten je u daljinskom očitavanju (*remote sensing*) kod biotskog stresa zaraženosti gljivičnim patogenima (*Phyllachora maydis* i *Monographella maydis*) (Loladze i sur., 2019.) te procjeni sadržaja dušika i klorofila (Bagheri i sur., 2024.) kod kukuruza sa zabilježenim dobrim performansama praćenja stanja klorofila. G indeks također pokazuje preklapanje vrijednosti različitih mjerenja s nešto većim raspršenjem vrijednosti unutar mjerenja od drugog mjerenja (umjerenog stresa), s najizraženijom u trećem mjerenju. (Zarco-Tejada i sur., 2005.) navode korištenje ovog indeksa kao i drugih normaliziranih indeksa kao indikatora indeksa površine lista (*leaf area index*; LAI). Kod MCARI indeksa je primjetno povećanje vrijednosti kroz progresiju stresa suše te značajno preklapanje vrijednosti različitih mjerenja s velikim raspršenjem vrijednosti unutar mjerenja, osobito u Mjerenjima 2 i 3 gdje pokazuje bolju diferencijaciju odgovora genotipova. Perry i Davenport, (2007.) navode kako je ovaj indeks razvijen s ciljem visoke osjetljivosti na razine klorofila u biljci dok rezultati Colovic i sur. (2022.) pokazuju blago negativnu korelaciju s fiziološkim varijablama u istraživanju procjene vodnog statusa i statusa dušika kod kukuruza s navođenjem sličnih rezultata kod Zhanga i sur. (2019.). GM1 indeks pokazuje bolje razdvajanje vrijednosti pojedinih mjerenja uz prisutno primjetno raspršenje vrijednosti unutar mjerenja, izraženije u kasnijim mjerenjima. GM2 indeks pokazuje gušću raspodjelu vrijednosti unutar mjerenja s porastom raspršenja vrijednosti kroz progresiju stresa sušom te primjetno razdvajanje pojedinih mjerenja. GM1 i GM2 indeksi su korišteni u ranoj identifikaciji sušnog stresa kod biljaka rajčice s pokazanom dobrom izvedbom i ranom detekcijom stresa (Rosa i sur., 2023.), kao i u detekciji odgovora na stres hladnoćom kod kukuruza i soje (Mazur i sur., 2024.).

Rezultati ukazuju da su parametri imali različitu dinamiku detekcije vodnoga deficita. Prema prikazanim grafovima, šest od deset HS indeksa (NDVI, SRI, ZMI, PSNDa, RDVI i MCARI) pokazuju veće rano raspršenje vrijednosti dok od ChlF parametara samo Pi_Abs pokazuje isto rano raspršenje. Ostala četiri HS indeksa (G, GM1, GM2 i MCARI) pokazuju mali inicijalni odgovor koji tek u uvjetima jačeg stresa pokazuju značajan odgovor.

Hiperspektralni vegetacijski indeksi su pružili neovisnu potvrdu učinaka tretmana, istovremeno otkrivajući širinu fizioloških promjena. Parametri posebno dizajnirani za ispitivanje sadržaja klorofila, zdravlja vegetacije i promjene pigmenata pokazali su karakteristične obrasce promjene vrijednosti. Temporalni trend promjene vrijednosti pojedinih indeksa je uglavnom zastupljen, no djelomično različit u odnosu na parametre fluorescencije sa značajnim preklapanjima vrijednosti pogotovo u prva dva mjerenja (G, MCARI, MCARI1). Vrlo sličan

trend raspodjele vrijednosti na pojedinim grafovima hiperspektralnih indeksa je očekivan i dodatno potkrijepljen korelacijskom toplinskom kartom. Iako je uporaba hiperspektralnih mjerenja i indeksa široko zastupljena u istraživanjima praćenja stanja usjeva i kod kukuruza, uporaba indeksa navedenih u ovome radu na način na koji je provedena, nije zastupljena u literaturi.

Vidljiva je temporalna dinamika učinkovitosti pojedinih parametara za detekciju stresa kod različitih genotipova ističući komplementarnost upotrijebljenih metoda fenotipizacije (ChlF i HS) za cjelovitu sliku utjecaja stresa suše, te samim time se daje uvid u potencijalni odabir specifičnih parametara za uporabu u pojedinom stadiju stresa što izravno utječe na poboljšanje oplemenjivačkog procesa. Na temelju rezultata Zombori i sur. (2025.) koji su pratili rane odgovore klijanaca kukuruza uporabom nekoliko parametara fluorescencije, navode kako sami ChlF parametri imaju ograničenu korisnost kao fenotipizacijski alat u odabiru oplemenjivačkog materijala kod kukuruza te kako je ključna integracija više parametara za učinkovitu procjenu genotipova.

Ovo istraživanje također naglašava važnost longitudinalnih mjerenja jer mjerenje samo u jednoj vremenskoj točki daje nepotpunu sliku strukture odnosa genotip $\times$ tretman. Genotip biljke, vrsta te trajanje i jačina stresa u kombinaciji s vremenom nastupanja stresa (tijekom specifičnih faza rasta i razvoja biljke), igraju ulogu u sposobnosti i mehanizmu biljke korištenom za ublažavanje štetnih učinaka stresa, koji se mijenjaju tijekom vremena. de Leon i sur. (2016.) navode kako u kontekstu oplemenjivanja biljaka, istraživanja ističu kompleksnost fenomena genotip $\times$ okolina ($G \times E$) jer su mogućnosti ove interakcije kroz životni ciklus biljke neograničene. Za pojedina longitudinalna svojstva biljaka, podatci dobiveni metodama visokopropusne fenotipizacije zahtijevaju prikladne tehnike obrade podataka i statističke metode kako bi se procijenili fenotipski zapisi kroz vrijeme što dovodi do mogućnosti iskorištavanja informacija o funkcioniranju biljaka i aktivacije gena, te također i interakcije skupa gena u različitim fazama razvoja biljaka i u ovisnosti o okolišnim stimulansima (Moreira i sur., 2020.).

Genotipovi nisu imali jedinstveni, linearni odgovor za stres sušom zbog aktivacije specifičnih fizioloških mehanizama u specifičnim trenucima tokom stresa. Prilagodba biljaka suši podrazumijeva složen niz molekularnih promjena, kao što su promjene u ekspresiji gena, privremeno povišenje razine abscisinske kiseline (ABA), nakupljanje zaštitnih tvari te inhibiciju energetskih putova (Salekdeh i sur., 2009.). Sveobuhvatno istraživanje koje je

uspoređivalo kukuruz zuban (*Zea mays indentata*), kokičar (*Zea mays everta*) i kukuruz šećerac (*Zea mays saccharata*) pokazalo je razlike u njihovim fiziološkim, biokemijskim, enzimskim i molekularnim mehanizmima odgovora na sušu (Eskikoy i Kutlu, 2024.). U navedenom istraživanju kukuruz zuban je pokazao značajno niži relativni udio vode (*relative water content*; RWC) u odnosu na kokičar i šećerac, manje smanjenje sadržaja topivih proteina (*soluble protein*; SPR) i najnižu koncentraciju H_2O_2 , dok je šećerac pokazao najveću pogođenost stresom suše sa značajnim oštećenjem membrana, gubitkom vode i turgora, povećanom enzimskom aktivnošću i ekspresijom HSP90 gena potaknutom povećanjem koncentracije malondialdehida i H_2O_2 . Kod materijala korištenog u ovom istraživanju, stabilnost kukuruza šećerca bila je veća nego što bi se očekivalo iz rezultata rada Eskikoya i Kutlua (2024.) potencijalno zbog samog odabira genotipova i faze razvoja u kojoj je stres nastupio. De Araujo Rufino i sur. (2018.) navode kako su informacije o efektu stresa nedostatka vode u ranijim stadijima vegetativnog razvoja i njegovog utjecaja na prinos kod kukuruza još uvijek vrlo ograničene, dok su Mi i sur. (2018.) u istraživanju procjene efekta progresivne suše na prinos kod kukuruza pokazali kako progresivna suša u kasnijoj fazi razvoja rezultira značajno većim smanjenjem prinosa (41,6 – 44,6 %) u odnosu na progresivnu sušu u u ranijoj vegetativnoj fazi (18,6 – 26,2 %). Podatci su u većini slučajeva pokazali značajne promjene u fotosintetskim parametrima u drugoj vremenskoj točki za gotovo sve populacije kukuruza. Populacija Ohio, s druge strane, pokazala je značajne promjene u trećoj vremenskoj točki. Inbred linije iz miješane skupine (nerazvrstano) pokazale su iste promjene u trećoj vremenskoj točki, gdje je preko 70% njih imalo visok udio populacije Ohio. Genotipovi Lancaster populacije su imali nešto veću masu svježeg tvari u tretmanu (ali s manjom masom suhe tvari) sugerirajući drugačiji mehanizam obrane od suše.

Prethodno istraživanje pokazalo je da postoji značajna varijabilnost unutar panela raznolikosti za 15 ChlF i HS indeksa (Vukadinović i sur., 2025.). Međutim, za neke od njih nisu otkrivene značajne povezanosti sa SNP-ovima. To se posebno odnosi na indeks fotosintetske učinkovitosti na temelju apsorpcije (P_i_Abs) kao istaknuti ChlF indeks za koji je prethodno otkriveno nekoliko QTL-ova u različitim populacijama kukuruza (Galić i sur., 2019.; Šimić i sur., 2014.). S druge strane, pronađeno je nekoliko značajnih povezanosti za maksimalni kvantni prinos primarne fotokemije lista prilagođenog tami (Φ_{Po} ili F_v/F_m) na kromosomima 1, 5, 6, 9 i 10. Za ovaj parametar, prethodno je otkriven značajan QTL na normalnoj temperaturi rasta (kontrola) na 25°C također na kromosomu 6 procjenom hladnog stresa (Fracheboud i sur., 2004), ali i nekoliko QTL-ova na nekoliko kromosoma (Yang i sur.,

2017.) kada su analizirani QTL-ove za parametre povezane sa *stay-green* svojstvom (*leaf stay-green-associated parameters*). GWAS signali povezani s varijacijama u broju prostorno korigiranih fotosintetskih parametara, uključujući Phi_Po, identificirani su u poljskom okruženju bez specifičnog stresa (Ali i sur., 2025.). GWAS je identificirao 205 značajnih asocijacija marker-svojstvo za brojne parametre fluorescencije klorofila, uključujući Phi_Po, u pšenici uzgojenoj u različitim uvjetima sjetve (Gudi i sur., 2023.). Zanimljivo je da skupina indeksa NIR dijela spektra nije imala značajne asocijacije, dok je svih pet HS indeksa temeljenih na UV/VIS dijelu spektra bilo povezano s brojnim SNP-ovima otkrivenim ili u kontrolnom okruženju ili u okruženju gdje je primijenjen tretman zasušivanjem. U deset kombinacija otkrivene su značajne povezanosti s SNP-ovima u kontroli, dok je u polovini njih (5) povezanost otkrivena u tretmanu. Ukupno je u kontroli otkriveno 20 značajnih SNP-ova povezanih s genima koji kodiraju proteine, dok je samo 12 otkriveno u tretmanu (rezultati nisu prikazani). NDVI je korišten u istraživanju u kojem je proveden sveobuhvatni GWAS za genetsku analizu sezonske dinamike putem visokopropuse fenotipizacije iz zraka u poljskim okruženjima bez specifičnog stresa (Wang i sur., 2021.). GWAS i analiza kandidatskih gena kod durum pšenice uzgojenoj pod stresom uzrokovanim toplinom i sušom pokazala je značajne SNP asocijacije s MCARI i NDVI indeksima (Mérida-García i sur., 2024.), ali i zajedničke fizičke pozicije za asocijacije za nekoliko HS indeksa. Isto vrijedi i za ovo istraživanje, gdje su SNP-ovi PZE-101206617, SYN4313 i PZE-109031829 na kromosomima 1, 6 i 9 bili povezani s dva ChlF i/ili HS indeksa. Štoviše, PZE-109108465 bio je povezan s pet indeksa, tj. jednim ChlF indeksom (Phi_Po) i četiri HS indeksa temeljena na ultraljubičastom i vidljivom spektru (Greenness, GM2, MCARI1, NDVI) izmjerenim u kontroli.

Korištenje ChlF i HS radiometrije kao visokopropusnih fenotipskih alata za dobivanje agronomski relevantnih indeksa u mapiranju asocijacija otvara mogućnost korištenja indeksa za dopunjavanje ili zamjenu drugih, zahtjevnijih mjerenja u programima oplemenjivanja.. Nakon analize kandidatnih gena, ovi rezultati mogu doprinijeti boljem razumijevanju genetičkog raščlanjivanja (*genetic dissection*) procijenjenih ChlF i HS indeksa, što je izravno ili neizravno povezano s fiziološkim procesima u kukuruzu. Međutim, GWAS rezultati se trebaju uzeti s manjom rezervom zbog relativno malog uzorka za ovakav tip istraživanja.

Četiri modela strojnog učenja su procijenjena za predviđanje mase svježe tvari i mase suhe tvari i iz hiperspektralnih podataka i podataka o fluorescenciji klorofila: Parcijalna regresija najmanjih kvadrata (PLSR), XGBoost, Random Forest i Konvolucijska neuronska mreža s višeslojnim perceptronom (CNN-MLP).

Na temelju toplinske karte R^2 vrijednosti između predviđenih i stvarnih vrijednosti za masu svježe (i suhe tvari PLSR modela vidimo visoke R^2 vrijednosti u istim kombinacijama tretman – mjerenje u oba slučaja (svježa i suha tvar) potvrđujući temeljni odnos između spektralnih mjerenja i biomase. Također je vidljivo potpuno razdvajanje kontrole i tretmana s R^2 vrijednostima jednakim nuli ukazujući na potpuni izostanak sposobnosti predviđanja između te dvije skupine. Primjetne su vrlo niske R^2 vrijednosti između različitih mjerenja unutar kontrole i kod mase svježe tvari i kod mase suhe tvari s malo većim vrijednostima kod mase svježe tvari što ukazuje na značajnu promjenu odnosa spektralnih mjerenja i biomase kroz progresiju pokusa. PLSR je postigao umjerene, ali dosljedne rezultate u obje mjere biomase, s R^2 vrijednostima od 0,61 za masu suhe tvari i 0,64 za masu svježe tvari. Usprkos nemogućim negativnim predviđanjima PLSR modela, njegova izvedba sugerira postojanje linearnih odnosa između spektralnih odziva i konačne akumulacije biomase. Ipak, pretpostavka modela o konzistentno linearnim odnosima ne vrijedi u uvjetima jakog stresa gdje fiziološki odgovori postaju sve nelinearniji. Ma i sur. (2020.) također navode kako najzastupljeniji linearni modeli ne mogu s velikom preciznošću uhvatiti pojedine nelinearne odnose između hiperspektralnih podataka i predviđanja fenoma.

Bolje predviđanje mase svježe tvari naspram mase suhe tvari odražava izravnu vezu između spektralnih mjerenja i statusa vode u biljci. Masa svježe tvari, koja integrira i strukturnu biomasu i sadržaj vode, pruža potpuniju sliku fiziološkog stanja biljke koja se poklapa s onim što detektiraju mjerni uređaji. Bolje predviđanje kod mase svježe tvari u odnosu na masu suhe tvari je također pokazana u predviđanju biomase nadzemnog dijela biljke kod riže korištenjem hiperspektralnih podataka iz vidljivog i NIR dijela spektra u dva različita stadija rasta i razvoja (Feng i sur., 2013.). Le i sur. (2023.) i navode jakost reflektancije valnih duljina NIR spektra od strane unutarnjih struktura i sadržaja vode biljnih stanica.

Iz R^2 vrijednosti između predviđenih i stvarnih vrijednosti za masu svježe tvari i masu suhe tvari Random Forest modela prikazanih na toplinskim kartama ovog modela također vidimo visoke R^2 vrijednosti u istim kombinacijama tretman – mjerenje u oba slučaja (svježa i suha tvar). Potpuno razdvajanje kontrole i tretmana s R^2 vrijednostima jednakim nuli je prisutno i kod ovog modela u oba slučaja, dok su R^2 vrijednosti između različitih mjerenja unutar tretman i kontrole veće s najvećim vrijednostima u bloku tretmana kod svježe tvari. Veće R^2 vrijednosti unutar pojedinog bloka ukazuju na sposobnost sklopa ovog modela za obuhvat nelinearnih odnosa s mogućnosti identifikacije spektralnih karakteristika koje ostaju predviđajno bitne kroz uvjete suše. Usprkos tome, Random Forest je postigao najniže rezultate među svim testiranim

modelima, s R^2 vrijednostima od 0,46 za masu suhe tvari i 0,45 za masu svježe tvari pokazujući kako samo povećanje složenosti modela ne jamči poboljšanu točnost biološkog predviđanja. Random Forest se ističe kao koristan alat u klasifikacijskim i zadacima procjene (Wang i sur., 2016.; Yang i sur., 2021.), no u predviđanju prinosa u specifičnim uvjetima poput uvjeta stresa zaostaje iza drugih složenijih modela (Liu i sur., 2021.). Pristup skupa (*ensemble approach*) ovog algoritma, iako robustan protiv *overfitting*-a, može imati poteškoća u obuhvatu suptilnih, dosljednih uzoraka u spektralnim podacima koji zahtijevaju finiji pristup nego što to pruža jednostavno većinsko glasovanje među stablima odlučivanja..

Toplinske karta R^2 vrijednosti između predviđenih i stvarnih vrijednosti za masu svježe tvari i masu suhe tvari XGBoost modela u istim kombinacijama tretman – mjerenje u oba slučaja (svježa i suha tvar) pokazuje izrazito visoke R^2 vrijednosti s primjeto većim R^2 vrijednostima unutar bloka kontrole i tretmana i kod svježe i kod suhe tvari. Veće R^2 vrijednosti unutar bloka tretmana su zabilježene kod svježe tvari pokazujući učinkovitost modeliranja tokom progresije sušom pogođenih biljaka kroz različita mjerenja. Također, i kod ovoga modela je zabilježeno potpuno odvajanje kontrole i tretmana s R^2 vrijednostima jednakim nuli. XGBoost je postigao umjerene rezultate s R^2 vrijednostima od 0,58 za masu suhe tvari i 0,57 za masu svježe tvari, što predstavlja značajno poboljšanje u odnosu na Random Forest, no zaostaje iza performansi PLSR-a i CNN-MLP-a. Sekvencijalni pristup učenju koji koristi XGBoost, gdje svaki novi model posebno adresira pogreške prethodnih omogućuje modelu da razvije sofisticiranije razumijevanje o tome kako različite spektralne značajke međusobno djeluju kako bi predvidjele ishode tolerancije na sušu. Ali i sur. (2024.) navode kako je ovaj algoritam često korišten zbog svoje brzine, skalabilnosti, i tehnika regularizacije te navode kako u nekim domenama, poput klasifikacije biljnog stresa kada su dostupni podatci malog obima ili nebalansirani, ovaj model može postići bolje rezultate od metoda dubokog učenja. Ističu praktičnost, interpretabilnost i specifičnost podatkovne strukture kao glavne odrednice za upotrebu ovog algoritma.

Kod toplinske karte CNN_MLP modela s R^2 vrijednostima između predviđenih i stvarnih vrijednosti za masu svježe tvari i masu suhe tvari, vidljive su visoke R^2 vrijednosti u istim kombinacijama tretman – mjerenje u oba slučaja (svježa i suha tvar). R^2 vrijednosti između različitih mjerenja unutar kontrole su veće nego u bloku tretmana i kod svježe i kod suhe tvari te je također primjetno potpuno razdvajanje kontrole i tretmana s R^2 vrijednostima jednakim nuli u oba slučaja (svježa i suha tvar). Karakteristične su R^2 vrijednosti jednake nuli u bloku tretmana u oba slučaja što ukazuje na učenje vrlo specifičnih spektralnih odlika za određeni period razvoja stresa da bi ostale korisne za predikcije kroz više vremenskih točaka.

Rezultati su sortirali navedene algoritme u hijerarhiju po sposobnosti predviđanja (CNN-MLP > PLSR > XGBoost > Random Forest) što izravno odražava kapacitet pojedinog modela za zabilježbu biološke kompleksnosti. Značajno bolja izvedba CNN-MLP proizlazi iz njegove sposobnosti usvajanja hijerarhijskih odlika i nelinearnih interakcija između spektralnih odziva, oponašajući međudjelovanje više fizioloških procesa kako bi odredili biomasu pod stresom. Oikonomidis i sur. (2023.) navode kako je upravo CNN algoritam najčešće upotrebljavan algoritam dubokog učenja u istraživanjima predviđanja prinosa usjeva, s najboljom izvedbom po mjerilu RMSE-a; dok visokodimenzionalni podatci poput spektralnih podataka predstavljaju idealan input za CNN modele (Alabboud, 2022.). Spišić i sur. (2022.) su pri usporedbi četiri modela strojnoga učenja za predviđanje uvijanja lista pri kombiniranom stresu nastalog zbog suše i visokih temperatura također pokazali dobru sposobnost predviđanja CNN modela. Međutim, u tome radu su bila uključena ostala tri modela koja nisu korištena u ovom doktorskom radu.

Protekla desetljeća su pokazala izuzetnu korisnost i primjenjivost novih tehnologija i modernijih pristupa u ostvarivanju bržeg napretka već ustaljenih znanstvenih, oplemenjivačkih i proizvodnih procesa. Araújo i sur. (2021.) navode kako su ulaganja u tehnološka istraživačka rješenja ključna za razvoj održivih praksi u sektoru poljoprivrede s napretkom u IoT (*Internet of Things*) tehnologiji, senzorima i mrežama senzora, robotici, umjetnoj inteligenciji, podatkovnoj znanosti (*data science*), računalnoj obradi podataka u oblaku (*cloud computing*) potpomažu prijelaz u novu *Agriculture 4.0* eru digitalizacije (Maffezzoli i sur., 2022.). Rozenstein i sur. (2024.) navode kako se održivost u poljoprivredno-prehrambenim sustavima ne može postići bez iskorištavanja svog znanja, tehnologije i dostupnih resursa, uključujući tehnologija poljoprivrede temeljene na podacima (*data-driven agriculture*) i metoda precizne poljoprivrede. Također navode kako principi ovakvog pristupa omogućavaju usvajanje prediktivnog i preskriptivnog upravljanja s većom kompleksnosti i preciznosti od heurističkog donošenja odluka. U kontekstu ovih istraživanja i napora istraživača za unapređenje metodologije i brže akumulacije relevantnih znanja, ovaj rad se uklapa u trenutne trendove integracije i razvoja navedenih metoda. Uporaba više izvora raznorodnih podataka prikupljenih aktualnim metodama i obrađenih modernim tehničkim mogućnostima obrade, pokazala se kao vrlo koristan alat u oplemenjivačkom procesu. Niazian i Niedbała (2020.) također navode kako su klasične statističke metode slabo učinkovite za analiziranje podataka iz biljnih istraživanja pošto genotip, okolina i njihova interakcija ($G \times E$) rezultira nedeterminističkom i nelinearnom prirodom biljnih karakteristika. Kako bi se rezultati tog odnosa mogli učinkovito interpretirati,

potrebno je analizirati podatke velikih razmjera iz područja fenomike, genomike, metabolomike ili općenito uporabom velike količine podataka (*big data*) omogućeno upravo upotrebom modela strojnog učenja. Carbajal-Friedrich i Burgess (2024.) navode kako koncept ideotipa usprkos svojim potencijalnim ograničenjima i dalje ima ulogu u oplemenjivanju usjeva, no kako se koncept treba proširiti s udruživanjem spoznaja genetskih i okolišnih interakcija koje utječu na biljnu fiziologiju. Također navode kako sam ideotip nije statičan, a upravljanje utjecajima varijabli koje na njega utječu je uvelike olakšano brojnim napretcima u računalnom modeliranju, genetičkim i biokemijskim metodama.

5. Zaključci

Istraživanje je pokazalo varijabilnost odgovora odabranih svojstava kod klijanaca inbred linija kukuruza uzgojenih u uvjetima sušnog stresa te istaknulo temporalni trend kretanja vrijednosti pojedinih parametara i važnost longitudinalnih mjerenja. Parametri fluorescencije klorofila (JIP-testa) su održavali vrijednosti tokom rane faze stresa dok su u uvjetima jačeg stresa pokazali veću varijabilnost genotipova. Njihova važnost i informativnost se istakla i pokazala znatnom upravo u toj intenzifikaciji stresa. Hiperspektralni parametri su pokazali vlastiti temporalni trend promjene vrijednosti s većom disperzijom u ranoj fazi stresa kod pojedinih indeksa (NDVI, SRI, ZMI, PSNDa, RDVI i MCARI). Rana detekcija stresa i stabilnost hiperspektralnih indeksa je potvrdila korisnost ovakvog pristupa u fenotipizaciji pri uvjetima suše, a objedinjenje s podacima fluorescencije klorofila tijekom perioda trajanja tog stresa pokazala je komplementarnost ovih metoda i znatne prednosti ovakvog pristupa.

Korelacijska struktura odabranih svojstava je pokazala jake korelacije ChlF, NIR i UV/VIS indeksa unutar svojih odgovarajućih skupina pri čemu su najveće korelacije bile među hiperspektralnim indeksima NIR dijela spektra s rasponom od 0,95 do 1,00. MCARI, MCARI1 i G te GM1 i GM2 su formirali vlastite korelacijske skupine dok je Phi_Pav pokazao umjerene do jake negativne korelacije s ostalim parametrima fluorescencije klorofila.

Od ispitanih genotipova, genotipovi Ohio populacije pokazali su bolju stabilnost mjerenjih parametara sa značajnijim promjenama tek u trećem mjerenju dok su inbred linije iz miješane skupine (nerazvrstano) koje su također pokazale iste promjene u trećoj vremenskoj točki, imale visok udio populacije Ohio (>70% linija). Masa svježe tvari u tretmanu je bila nešto veća kod genotipova Lancaster populacije (ali s manjom masom suhe tvari) sugerirajući drugačiji mehanizam obrane od suše.

GWAS je pokazao 37 SNPova značajno povezanih s mjerenim parametrima u kontroli i tretmanu u različitim fazama (mjerenjima) pri čemu NIR skupina indeksa nije imala značajnih asocijacija dok je UV/VIS skupina imala više značajnih asocijacija i u kontroli i u tretmanu. Ovi rezultati doprinose boljem razumijevanju genetske disekcije korištenih ChlF i HS indeksa, što je izravno ili neizravno povezano s fiziološkim procesima u kukuruzu.

Uporaba složenog CNN-MLP modela je pokazala najbolje predviđanje i mase svježe tvari i mase suhe tvari. Za cilj usvajanja ideotipa u zadanim uvjetima suše, integracija CNN-MLP predviđanja i zapaženih karakteristika prinosa ispitanih genotipova nude moguć odgovor u vidu

oplemenjivačkog plana: fenotipizacija opisanim metodama te odabir 30 % najboljih genotipova temeljem predviđanja mase suhe tvari uporabom CNN-MLP modela te konačni odabir temeljiti na održanju mase suhe tvari.

Koncept ideotipa nije statičan i ovisi o više bitnih faktora, njihovoj kombinaciji i interakciji što u brojnim slučajevima može rezultirati s ekspresijom karakteristika koje nisu dio ideotipa. Prema zadanim postavkama pokusa i iz dobivenih podataka i analiza, genetski ciljevi stvaranja genomskog ideotipa u uvjetima suše bili bi povećan udio Ohio populacije i smanjenje udjela B73 populacije.

6. Literatura

- Acharya, U. K., Subedi, P. P., Walsh, K. B., i McGlasson, W. B. (2016.). Estimation of fruit maturation and ripening using spectral indices. *Acta Horticulturae*, 1119, 265–272. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2016.1119.37>
- Adak, S., Bandyopadhyay, K. K., Sahoo, R. N., Mridha, N., Shrivastava, M., i Purakayastha, T. J. (2021.). Prediction of wheat yield using spectral reflectance indices under different tillage, residue and nitrogen management practices. *Current Science*, 121(3), 402–413.
- Adam—PyTorch 2.8 documentation. Dostupno online: <https://docs.pytorch.org/docs/stable/generated/torch.optim.Adam.html>, /generated/torch.optim.Adam.html (Preuzeto 18. rujan 2025.)
- Adebayo, M., Menkir, A., i Hearne, S. (2014.). Relationships between normalized difference vegetation index (NDVI) and other traits of tropical testcross maize (*Zea mays* L.) hybrids under drought and wellwatered conditions. *Journal of Applied Agricultural Research*, (6)2: 173–180.
- Agrama, H. A. S., i Moussa, M. E. (1996.). Mapping QTLs in breeding for drought tolerance in maize (*Zea mays* L.). *Euphytica*, 91(1), 89–97. <https://doi.org/10.1007/BF00035278>
- Alabboud, M. (2022.). Deep learning in plant science: A mini-review. *DYSONA - Life Science*, 3(1), 7–15. <https://doi.org/10.30493/dls.2022.329268>
- Alexander, D. H., i Lange, K. (2011.). Enhancements to the ADMIXTURE algorithm for individual ancestry estimation. *BMC Bioinformatics*, 12(1), 246. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-12-246>
- Ali, T., Rehman, S. U., Ali, S., Mahmood, K., Obregon, S. A., Iglesias, R. C., Khurshaid, T., i Ashraf, I. (2024.). Smart agriculture: Utilizing machine learning and deep learning for drought stress identification in crops. *Scientific Reports*, 14, 30062. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-74127-8>
- Ali, W., Grzybowski, M., Torres-Rodríguez, J. V., Li, F., Shrestha, N., Mathivanan, R. K., de Bernardeaux, G., Hoang, K., Mural, R. V., Roston, R. L., Schnable, J. C., i Sahay, S. (2025.). Quantitative genetics of photosynthetic trait variation in maize. *Journal of Experimental Botany*, eraf198. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraf198>

- An, J., Li, W., Li, M., Cui, S., i Yue, H. (2019.). Identification and Classification of Maize Drought Stress Using Deep Convolutional Neural Network. *Symmetry*, 11(2), 256. <https://doi.org/10.3390/sym11020256>
- Araújo, S. O., Peres, R. S., Barata, J., Lidon, F., i Ramalho, J. C. (2021.). Characterising the Agriculture 4.0 Landscape—Emerging Trends, Challenges and Opportunities. *Agronomy*, 11(4), 667. <https://doi.org/10.3390/agronomy11040667>
- Ardıç, M., Işık, G., Sezer, O., Zeybek, Ş., Gökçen, Ü., Şahin, M. S., i Erkara, İ. P. (2021.). Determination of ecophysiological responses to temperature shock in different wheat genotypes. *International Journal of Natural and Engineering Sciences*, 15(1), 36–42.
- Arief, M. A. A., Kim, H., Kurniawan, H., Nugroho, A. P., Kim, T., i Cho, B.-K. (2023.). Chlorophyll Fluorescence Imaging for Early Detection of Drought and Heat Stress in Strawberry Plants. *Plants*, 12(6), Article 6. <https://doi.org/10.3390/plants12061387>
- Asaari, M. S. M., Mertens, S., Dhondt, S., Inzé, D., Wuyts, N., i Scheunders, P. (2019.). Analysis of hyperspectral images for detection of drought stress and recovery in maize plants in a high-throughput phenotyping platform. *Computers and Electronics in Agriculture*, 162, 749–758. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2019.05.018>
- Asgari, A., Hooshmand, A., Broumand-Nasab, S., i Zivdar, S. (2023).. Potential application of spectral indices for olive water status assessment in (semi-)arid regions: A case study in Khuzestan Province, Iran. *Plant Direct*, 7(6), e494. <https://doi.org/10.1002/pld3.494>
- Aslam, M., Maqbool, M. A., i Cengiz, R. (2015).. *Drought Stress in Maize (Zea mays L.)*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-25442-5>
- Azrai, M., Aqil, M., Andayani, N. N., Efendi, R., Suarni, Suwardi, Jihad, M., Zainuddin, B., Salim, Bahtiar, Muliadi, A., Yasin, M., Hamman, M. F. I., Rahman, i Syam, A. (2024.). Optimizing ensembles machine learning, genetic algorithms, and multivariate modeling for enhanced prediction of maize yield and stress tolerance index. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 8. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2024.1334421>
- Badr, A., i Brüggemann, W. (2020.). Special issue in honour of Prof. Reto J. Strasser – Comparative analysis of drought stress response of maize genotypes using chlorophyll fluorescence measurements and leaf relative water content. *Photosynthetica*, 58(SPECIAL ISSUE), 638–645. <https://doi.org/10.32615/ps.2020.014>
- Bagheri, N., Jaber Aghdam, M., i Ebrahimi, H. (2024.). Estimating Nitrogen and Chlorophyll Content in Corn Using Spectral Vegetation Indices Derived From UAV

- Multispectral Imagery. *Biomechanism and Bioenergy Research*, 3(1), 81–93.
<https://doi.org/10.22103/bbr.2024.23234.1082>
- Baio, F. H. R., Santana, D. C., Teodoro, L. P. R., Oliveira, I. C. de, Gava, R., de Oliveira, J. L. G., Silva Junior, C. A. da, Teodoro, P. E., i Shiratsuchi, L. S. (2023.). Maize Yield Prediction with Machine Learning, Spectral Variables and Irrigation Management. *Remote Sensing*, 15(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/rs15010079>
- Baker, N. R., i Rosenqvist, E. (2004.). Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: An examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany*, 55(403), 1607–1621. <https://doi.org/10.1093/jxb/erh196>
- Bernardo, R. (2021.). Predictive breeding in maize during the last 90 years. *Crop Science*, 61(5), 2872–2881. <https://doi.org/10.1002/csc2.20529>
- Bhargava, A., Sachdeva, A., Sharma, K., Alsharif, M. H., Uthansakul, P., i Uthansakul, M. (2024.). Hyperspectral imaging and its applications: A review. *Heliyon*, 10(12), e33208. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e33208>
- Blackburn, G. A. (1998.). Spectral indices for estimating photosynthetic pigment concentrations: A test using senescent tree leaves. *International Journal of Remote Sensing*, 19(4), 657–675. <https://doi.org/10.1080/014311698215919>
- Blackburn, G. A. (2007.). Hyperspectral remote sensing of plant pigments. *Journal of Experimental Botany*, 58(4), 855–867. <https://doi.org/10.1093/jxb/erl123>
- Bolhar-Nordenkamp, H. R., Long, S. P., Baker, N. R., Oquist, G., Schreiber, U., i Lechner, E. G. (1989.). Chlorophyll Fluorescence as a Probe of the Photosynthetic Competence of Leaves in the Field: A Review of Current Instrumentation. *Functional Ecology*, 3(4), 497. <https://doi.org/10.2307/2389624>
- Bradbury, P. J., Zhang, Z., Kroon, D. E., Casstevens, T. M., Ramdoss, Y., i Buckler, E. S. (2007.). TASSEL: Software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 23(19), 2633–2635.
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm308>
- Breiman, L. (2001.). Random Forests. *Machine Learning*, 45(1), 5–32.
<https://doi.org/10.1023/A:1010933404324>
- Brestic, M., i Zivcak, M. (2013.). PSII Fluorescence Techniques for Measurement of Drought and High Temperature Stress Signal in Crop Plants: Protocols and Applications. U G. R. Rout i A. B. Das (Ur.), *Molecular Stress Physiology of Plants* (str. 87–131). Springer India. https://doi.org/10.1007/978-81-322-0807-5_4

- Camardo Leggieri, M., Mazzoni, M., i Battilani, P. (2021.). Machine Learning for Predicting Mycotoxin Occurrence in Maize. *Frontiers in Microbiology*, 12.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.661132>
- Camps-Valls, G., Fernández-Torres, M.-Á., Cohrs, K.-H., Höhl, A., Castelletti, A., Pacal, A., Robin, C., Martinuzzi, F., Papoutsis, I., Prapas, I., Pérez-Aracil, J., Weigel, K., Gonzalez-Calabuig, M., Reichstein, M., Rabel, M., Giuliani, M., Mahecha, M. D., Popescu, O.-I., Pellicer-Valero, O. J., Ouala, S., Salcedo-Sanz, S., Sippel, S., Kondylatos, S., Happé, T., Williams, T. (2025.). Artificial intelligence for modeling and understanding extreme weather and climate events. *Nature Communications*, 16(1), 1919. <https://doi.org/10.1038/s41467-025-56573-8>
- Carbajal-Friedrich, A. A. J., i Burgess, A. J. (2024.). The role of the ideotype in future agricultural production. *Frontiers in Plant Physiology*, 2.
<https://doi.org/10.3389/fphgy.2024.1341617>
- Castleberry, R. M., Crum, C. W., i Krull, C. F. (1984.). Genetic Yield Improvement of U.S. Maize Cultivars under Varying Fertility and Climatic Environments. *Crop Science*, 24(1), cropsi1984.0011183X002400010008x.
<https://doi.org/10.2135/cropsi1984.0011183X002400010008x>
- Chambers, J. M., i Hastie, T. J. (1992.). Statistical Models. U *Statistical Models in S*. Routledge.
- Chang, Y., Latham, J., Licht, M., i Wang, L. (2023.). A data-driven crop model for maize yield prediction. *Communications Biology*, 6(1), 439. <https://doi.org/10.1038/s42003-023-04833-y>
- Chen, T., i Guestrin, C. (2016.). XGBoost: A Scalable Tree Boosting System. *Proceedings of the 22nd ACM SIGKDD International Conference on Knowledge Discovery and Data Mining*, 785–794. <https://doi.org/10.1145/2939672.2939785>
- Choi, R. Y., Coyner, A. S., Kalpathy-Cramer, J., Chiang, M. F., i Campbell, J. P. (2020.). Introduction to Machine Learning, Neural Networks, and Deep Learning. *Translational Vision Science & Technology*, 9(2), 14.
<https://doi.org/10.1167/tvst.9.2.14>
- Chuine, I., i Régnière, J. (2017.). Process-Based Models of Phenology for Plants and Animals. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 48(Volume 48, 2017), 159–182. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110316-022706>

- Claassen, M. M., i Shaw, R. H. (1970.). Water Deficit Effects on Corn. II. Grain Components. *Agronomy Journal*, 62(5), 652–655.
<https://doi.org/10.2134/agronj1970.00021962006200050032x>
- Clark, R. D., i Hind, G. (1983.). Isolation of a five-polypeptide cytochrome b-f complex from spinach chloroplasts. *The Journal of Biological Chemistry*, 258(17), 10348–10354.
- Colovic, M., Yu, K., Todorovic, M., Cantore, V., Hamze, M., Albrizio, R., i Stellacci, A. M. (2022.). Hyperspectral Vegetation Indices to Assess Water and Nitrogen Status of Sweet Maize Crop. *Agronomy*, 12(9), 2181.
<https://doi.org/10.3390/agronomy12092181>
- Cooper, G. M. (2000.). Photosynthesis. U *The Cell: A Molecular Approach. 2nd edition*. Sinauer Associates. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9861/>
- Croci, M., Impollonia, G., Meroni, M., i Amaducci, S. (2023.). Dynamic Maize Yield Predictions Using Machine Learning on Multi-Source Data. *Remote Sensing*, 15(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/rs15010100>
- Crossa, J., Martini, J. W. R., Vitale, P., Pérez-Rodríguez, P., Costa-Neto, G., Fritsche-Neto, R., Runcie, D., Cuevas, J., Toledo, F., Li, H., De Vita, P., Gerard, G., Dreisigacker, S., Crespo-Herrera, L., Saint Pierre, C., Bentley, A., Lillemo, M., Ortiz, R., Montesinos-López, O. A., i Montesinos-López, A. (2025.). Expanding genomic prediction in plant breeding: Harnessing big data, machine learning, and advanced software. *Trends in Plant Science*, 30(7), 756–774.
<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2024.12.009>
- Cruz de Carvalho, R., Cunha, A., i Marques da Silva, J. (2011.). Photosynthesis by six Portuguese maize cultivars during drought stress and recovery. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33(2), 359–374. <https://doi.org/10.1007/s11738-010-0555-1>
- Cui, Z., Luo, J., Qi, C., Ruan, Y., Li, J., Zhang, A., Yang, X., i He, Y. (2016.). Genome-wide association study (GWAS) reveals the genetic architecture of four husk traits in maize. *BMC Genomics*, 17(1), 946. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-3229-6>
- da Silva, A. J., do Nascimento, C. W. A., da Silva Gouveia-Neto, A., i da Silva-Jr, E. A. (2012.). LED-Induced Chlorophyll Fluorescence Spectral Analysis for the Early Detection and Monitoring of Cadmium Toxicity in Maize Plants. *Water, Air, & Soil Pollution*, 223(6), 3527–3533. <https://doi.org/10.1007/s11270-012-1130-8>
- Dao, P. D., He, Y., i Proctor, C. (2021.). Plant drought impact detection using ultra-high spatial resolution hyperspectral images and machine learning. *International Journal of*

- Applied Earth Observation and Geoinformation*, 102, 102364.
<https://doi.org/10.1016/j.jag.2021.102364>
- Darra, N., Psomiadis, E., Kasimati, A., Anastasiou, A., Anastasiou, E., i Fountas, S. (2021.). Remote and Proximal Sensing-Derived Spectral Indices and Biophysical Variables for Spatial Variation Determination in Vineyards. *Agronomy*, 11(4), Article 4.
<https://doi.org/10.3390/agronomy11040741>
- Daughtry, C. S. T., Walthall, C. L., Kim, M. S., de Colstoun, E. B., i McMurtrey, J. E. (2000.). Estimating Corn Leaf Chlorophyll Concentration from Leaf and Canopy Reflectance. *Remote Sensing of Environment*, 74(2), 229–239.
[https://doi.org/10.1016/S0034-4257\(00\)00113-9](https://doi.org/10.1016/S0034-4257(00)00113-9)
- De Araujo Rufino, C., Fernandes-Vieira, J., Martín-Gil, J., Abreu Júnior, J. D. S., Tavares, L. C., Fernandes-Correa, M., i Martín-Ramos, P. (2018.). Water Stress Influence on The Vegetative Period Yield Components of Different Maize Genotypes. *Agronomy*, 8(8), 151. <https://doi.org/10.3390/agronomy8080151>
- de Leon, N., Jannink, J.-L., Edwards, J. W., i Kaeppler, S. M. (2016.). Introduction to a Special Issue on Genotype by Environment Interaction. *Crop Science*, 56(5), 2081–2089. <https://doi.org/10.2135/cropsci2016.07.0002in>
- Del Fiore, A., Reverberi, M., Ricelli, A., Pinzari, F., Serranti, S., Fabbri, A. A., Bonifazi, G., i Fanelli, C. (2010.). Early detection of toxigenic fungi on maize by hyperspectral imaging analysis. *International Journal of Food Microbiology*, 144(1), 64–71.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.08.001>
- Demilie, W. B. (2024.). Plant disease detection and classification techniques: A comparative study of the performances. *Journal of Big Data*, 11(1), 5.
<https://doi.org/10.1186/s40537-023-00863-9>
- Deng, C. N., Zhang, G. X., Pan, X. L., i Zhao, K. Y. (2010.). *Chlorophyll Fluorescence and Gas Exchange Responses of Maize Seedlings to Saline-Alkaline Stress*. 16(1), 49–58.
- Dijk, A. D. J. van, Kootstra, G., Kruijer, W., i Ridder, D. de. (2021.). Machine learning in plant science and plant breeding. *iScience*, 24(1).
<https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101890>
- Doğru, A. (2021.). Effects of heat stress on photosystem II activity and antioxidant enzymes in two maize cultivars. *Planta*, 253(4), 85. <https://doi.org/10.1007/s00425-021-03611-6>

- Duysen, L. N. M., i Sweers, H. E. (1963.). Mechanism of the two photochemical reactions in algae as studied by means of fluorescence, *Studies on Microalgae and Photosynthetic Bacteria. University of Tokyo Press*, 353–372.
- Earl, H. J., i Tollenaar, M. (1998.). Relationship between thylakoid electron transport and photosynthetic CO₂ uptake in leaves of three maize (*Zea mays* L.) hybrids. *Photosynthesis Research*, 58(3), 245–257. <https://doi.org/10.1023/A:1006198821912>
- Eddy, P. R., Smith, A. M., Hill, B. D., Peddle, D. R., Coburn, C. A., i Blackshaw, R. E. (2008.). Hybrid Segmentation – Artificial Neural Network Classification of High Resolution Hyperspectral Imagery for Site-Specific Herbicide Management in Agriculture. *Photogrammetric Engineering & Remote Sensing*, 74(10), 1249–1257. <https://doi.org/10.14358/PERS.74.10.1249>
- Erenstein, O., Jaleta, M., Sonder, K., Mottaleb, K., i Prasanna, B. M. (2022.). Global maize production, consumption and trade: Trends and R&D implications. *Food Security*, 14(5), 1295–1319. <https://doi.org/10.1007/s12571-022-01288-7>
- Eskikoy, G., i Kutlu, I. (2024.). Inter-subspecies diversity of maize to drought stress with physio-biochemical, enzymatic and molecular responses. *PeerJ*, 12, e17931. <https://doi.org/10.7717/peerj.17931>
- Farooq, M. A., Gao, S., Hassan, M. A., Huang, Z., Rasheed, A., Hearne, S., Prasanna, B., Li, X., i Li, H. (2024.). Artificial intelligence in plant breeding. *Trends in Genetics*, 40(10), 891–908. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2024.07.001>
- Feng, H., Jiang, N., Huang, C., Fang, W., Yang, W., Chen, G., Xiong, L., i Liu, Q. (2013.). A hyperspectral imaging system for an accurate prediction of the above-ground biomass of individual rice plants. *Review of Scientific Instruments*, 84(9), 095107. <https://doi.org/10.1063/1.4818918>
- Fracheboud, Y., Haldimann, P., Leipner, J., i Stamp, P. (1999.). Chlorophyll fluorescence as a selection tool for cold tolerance of photosynthesis in maize (*Zea mays* L.). *Journal of Experimental Botany*, 50(338), 1533–1540. <https://doi.org/10.1093/jxb/50.338.1533>
- Fracheboud, Y., Jompuk, C., Ribaut, J. M., Stamp, P., i Leipner, J. (2004.). Genetic analysis of cold-tolerance of photosynthesis in maize. *Plant Molecular Biology*, 56(2), 241–253. <https://doi.org/10.1007/s11103-004-3353-6>
- Franić, M., Jambrović, A., Zdunić, Z., Šimić, D., i Galić, V. (2020.). Photosynthetic properties of maize hybrids under different environmental conditions probed by the chlorophyll a fluorescence. *Maydica*, 64, M25.

- Fu, P., Meacham-Hensold, K., Guan, K., Wu, J., i Bernacchi, C. (2020.). Estimating photosynthetic traits from reflectance spectra: A synthesis of spectral indices, numerical inversion, and partial least square regression. *Plant, Cell & Environment*, 43(5), 1241–1258. <https://doi.org/10.1111/pce.13718>
- Fukushima, K. (1980.). Neocognitron: A self-organizing neural network model for a mechanism of pattern recognition unaffected by shift in position. *Biological Cybernetics*, 36(4), 193–202. <https://doi.org/10.1007/BF00344251>
- Galic, V., Franic, M., Jambrovic, A., Ledencan, T., Brkic, A., Zdunic, Z., i Simic, D. (2019.). Genetic Correlations Between Photosynthetic and Yield Performance in Maize Are Different Under Two Heat Scenarios During Flowering. *Frontiers in Plant Science*, 10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00566>
- Galić, V., Mazur, M., Šimić, D., Zdunić, Z., i Franić, M. (2019.). Plant biomass in salt-stressed young maize plants can be modelled with photosynthetic performance. *Photosynthetica*, 58, 194–204. <https://doi.org/10.32615/ps.2019.131>
- Galić, V., Mlinarić, S., Marelja, M., Zdunić, Z., Brkić, A., Mazur, M., Begović, L., i Šimić, D. (2022.). Contrasting Water Withholding Responses of Young Maize Plants Reveal Link Between Lipid Peroxidation and Osmotic Regulation Corroborated by Genetic Analysis. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2022.804630>
- Ganal, M. W., Durstewitz, G., Polley, A., Bérard, A., Buckler, E. S., Charcosset, A., Clarke, J. D., Graner, E.-M., Hansen, M., Joets, J., Paslier, M.-C. L., McMullen, M. D., Montalent, P., Rose, M., Schön, C.-C., Sun, Q., Walter, H., Martin, O. C., i Falque, M. (2011.). A Large Maize (*Zea mays* L.) SNP Genotyping Array: Development and Germplasm Genotyping, and Genetic Mapping to Compare with the B73 Reference Genome. *PLOS ONE*, 6(12), e28334. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028334>
- Gao, X., Becker, L. C., Becker, D. M., Starmer, J. D., i Province, M. A. (2010.). Avoiding the high Bonferroni penalty in genome-wide association studies. *Genetic Epidemiology*, 34(1), 100–105. <https://doi.org/10.1002/gepi.20430>
- Gao, X., Starmer, J., i Martin, E. R. (2008.). A multiple testing correction method for genetic association studies using correlated single nucleotide polymorphisms. *Genetic Epidemiology*, 32(4), 361–369. <https://doi.org/10.1002/gepi.20310>
- García-Vera, Y. E., Polochè-Arango, A., Mendivelso-Fajardo, C. A., i Gutiérrez-Bernal, F. J. (2024.). Hyperspectral Image Analysis and Machine Learning Techniques for Crop

- Disease Detection and Identification: A Review. *Sustainability*, 16(14), Article 14.
<https://doi.org/10.3390/su16146064>
- Gates, D. M. (1965.). Energy, Plants, and Ecology. *Ecology*, 46(1–2), 1–13.
<https://doi.org/10.2307/1935252>
- Gavasso-Rita, Y. L., Papalexiou, S. M., Li, Y., Elshorbagy, A., Li, Z., i Schuster-Wallace, C. (2024.). Crop models and their use in assessing crop production and food security: A review. *Food and Energy Security*, 13(1), e503. <https://doi.org/10.1002/fes3.503>
- Ge, Y., Bai, G., Stoerger, V., i Schnable, J. C. (2016.). Temporal dynamics of maize plant growth, water use, and leaf water content using automated high throughput RGB and hyperspectral imaging. *Computers and Electronics in Agriculture*, 127, 625–632.
<https://doi.org/10.1016/j.compag.2016.07.028>
- Geladi, P., i Kowalski, B. R. (1986.). Partial least-squares regression: A tutorial. *Analytica Chimica Acta*, 185, 1–17. [https://doi.org/10.1016/0003-2670\(86\)80028-9](https://doi.org/10.1016/0003-2670(86)80028-9)
- Genty, B., Briantais, J.-M., i Baker, N. R. (1989.). The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 990(1), 87–92.
[https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(89\)80016-9](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(89)80016-9)
- Gholamin, R., i Khayatnezhad, M. (2011.). The effect of end season drought stress on the chlorophyll content, chlorophyll fluorescence parameters and yield in maize cultivars. *Sci. Res. Essays*, 6, 5351–5357. <https://doi.org/10.5897/SRE11.914>
- Gitelson, A. A., i and Merzlyak, M. N. (1997.). Remote estimation of chlorophyll content in higher plant leaves. *International Journal of Remote Sensing*, 18(12), 2691–2697.
<https://doi.org/10.1080/014311697217558>
- Goetz, A. F. H. (2009.). Three decades of hyperspectral remote sensing of the Earth: A personal view. *Remote Sensing of Environment*, 113, S5–S16.
<https://doi.org/10.1016/j.rse.2007.12.014>
- Goetz, A. F., Vane, G., Solomon, J. E., i Rock, B. N. (1985.). Imaging spectrometry for Earth remote sensing. *Science (New York, N.Y.)*, 228(4704), 1147–1153.
<https://doi.org/10.1126/science.228.4704.1147>
- Guan, H., Lu, Y., Li, X., Liu, B., Li, Y., Zhang, D., Liu, X., He, G., Li, Y., Wang, H., Wang, T., i Li, C. (2024.). Development of a MaizeGerm50K array and application to maize genetic studies and breeding. *The Crop Journal*, 12(6), 1686–1696.
<https://doi.org/10.1016/j.cj.2024.09.014>

- Gudi, S., Saini, D. K., Halladakeri, P., Singh, G., Singh, S., Kaur, S., Goyal, P., Srivastava, P., Mavi, G. S., i Sharma, A. (2023.). Genome-wide association study unravels genomic regions associated with chlorophyll fluorescence parameters in wheat (*Triticum aestivum* L.) under different sowing conditions. *Plant Cell Reports*, 42(9), 1453–1472. <https://doi.org/10.1007/s00299-023-03041-6>
- Haboudane, D., Miller, J. R., Pattey, E., Zarco-Tejada, P. J., i Strachan, I. B. (2004.). Hyperspectral vegetation indices and novel algorithms for predicting green LAI of crop canopies: Modeling and validation in the context of precision agriculture. *Remote Sensing of Environment*, 90(3), 337–352. <https://doi.org/10.1016/j.rse.2003.12.013>
- Hallauer, A. R., i Carena, M. J. (2009.). Maize. U M. J. Carena (Ur.), *Cereals* (str. 3–98). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-0-387-72297-9_1
- Han, L., Yang, G., Dai, H., Xu, B., Yang, H., Feng, H., Li, Z., i Yang, X. (2019.). Modeling maize above-ground biomass based on machine learning approaches using UAV remote-sensing data. *Plant Methods*, 15(1), 10. <https://doi.org/10.1186/s13007-019-0394-z>
- He, J., Zhang, N., Su, X., Lu, J., Yao, X., Cheng, T., Zhu, Y., Cao, W., i Tian, Y. (2019.). Estimating Leaf Area Index with a New Vegetation Index Considering the Influence of Rice Panicles. *Remote Sensing*, 11(15), Article 15. <https://doi.org/10.3390/rs11151809>
- Hubel, D. H., i Wiesel, T. N. (1968.). Receptive fields and functional architecture of monkey striate cortex. *The Journal of Physiology*, 195(1), 215–243. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1968.sp008455>
- Ihuoma, S. O., i Madramootoo, C. A. (2017.). Recent advances in crop water stress detection. *Computers and Electronics in Agriculture*, 141, 267–275. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2017.07.026>
- Jan, M. F., Li, M., Liaqat, W., Altaf, M. T., Liu, C., Ahmad, H., Khan, E. H., Ali, Z., Barutçular, C., i Mohamed, H. I. (2024.). Chlorophyll fluorescence: A smart tool for maize improvement. *Cereal Research Communications*. <https://doi.org/10.1007/s42976-024-00573-9>
- Jensen, J. R. (2007.). *Remote Sensing of The Environment—An Earth Resource Perspective*- Pearson Education Limited (2nd izd.). Upper Saddle River, NJ: Pearson Prentice Hall.

- Jia, Y., Xiao, W., Ye, Y., Wang, X., Liu, X., Wang, G., Li, G., i Wang, Y. (2020.). Response of Photosynthetic Performance to Drought Duration and Re-Watering in Maize. *Agronomy*, 10(4), 533. <https://doi.org/10.3390/agronomy10040533>
- Jiang, Y., i Li, C. (2020.). Convolutional Neural Networks for Image-Based High-Throughput Plant Phenotyping: A Review. *Plant Phenomics*, 2020. <https://doi.org/10.34133/2020/4152816>
- Jin, Y., Li, D., Liu, M., Cui, Z., Sun, D., Li, C., Zhang, A., Cao, H., i Ruan, Y. (2023.). Genome-Wide Association Study Identified Novel SNPs Associated with Chlorophyll Content in Maize. *Genes*, 14(5), 1010. <https://doi.org/10.3390/genes14051010>
- Jingyong, W., Mingzhen, Z., Huarong, L., Ziting, W., i Jingyao, G. a. I. (2023.). A Hyperspectral Image-Based Method for Estimating Water and Chlorophyll Contents in Maize Leaves under Drought Stress. *Smart Agriculture*, 5(3), 142. <https://doi.org/10.12133/j.smartag.SA202308018>
- Jordan, C. F. (1969.). Derivation of Leaf-Area Index from Quality of Light on the Forest Floor. *Ecology*, 50(4), 663–666. <https://doi.org/10.2307/1936256>
- Jöreskog, K. G., i Wold, H. O. A. (1982). *Systems Under Indirect Observation: Causality, Structure, Prediction*. North-Holland.
- Joshi, M. K., i Mohanty, P. (2004.). Chlorophyll a Fluorescence as a Probe of Heavy Metal Ion Toxicity in Plants. U G. C. Papageorgiou i Govindjee (Ur.), *Chlorophyll a Fluorescence: A Signature of Photosynthesis* (str. 637–661). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-3218-9_25
- Ju, S., Lim, H., Ma, J. W., Kim, S., Lee, K., Zhao, S., i Heo, J. (2021.). Optimal county-level crop yield prediction using MODIS-based variables and weather data: A comparative study on machine learning models. *Agricultural and Forest Meteorology*, 307, 108530. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2021.108530>
- Kalaji, H. M., Schansker, G., Ladle, R. J., Goltsev, V., Bosa, K., Allakhverdiev, S. I., Brestic, M., Bussotti, F., Calatayud, A., Dąbrowski, P., Elsheery, N. I., Ferroni, L., Guidi, L., Hogewoning, S. W., Jajoo, A., Misra, A. N., Nebauer, S. G., Pancaldi, S., Penella, C., ... Zivcak, M. (2014.). Frequently asked questions about in vivo chlorophyll fluorescence: Practical issues. *Photosynthesis Research*, 122(2), 121–158. <https://doi.org/10.1007/s11120-014-0024-6>
- Kan, X., Ren, J., Chen, T., Cui, M., Li, C., Zhou, R., Zhang, Y., Liu, H., Deng, D., i Yin, Z. (2017.). Effects of salinity on photosynthesis in maize probed by prompt fluorescence,

- delayed fluorescence and P700 signals. *Environmental and Experimental Botany*, 140, 56–64. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.05.019>
- Kauth, R., i Thomas, G. (1976.). The Tasselled Cap—A Graphic Description of the Spectral-Temporal Development of Agricultural Crops as Seen by LANDSAT. *LARS Symposia*. https://docs.lib.purdue.edu/lars_symp/159
- Kautsky, H., i Hirsch, A. (1931.). Neue Versuche zur Kohlensäureassimilation. *Die Naturwissenschaften*, 19(48), 964–964. <https://doi.org/10.1007/BF01516164>
- Khanal, S., Kc, K., Fulton, J. P., Shearer, S., i Ozkan, E. (2020). Remote Sensing in Agriculture—Accomplishments, Limitations, and Opportunities. *Remote Sensing*, 12(22), Article 22. <https://doi.org/10.3390/rs12223783>
- Killi, D., Raschi, A., i Bussotti, F. (2020.). Lipid Peroxidation and Chlorophyll Fluorescence of Photosystem II Performance during Drought and Heat Stress is Associated with the Antioxidant Capacities of C3 Sunflower and C4 Maize Varieties. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(14), Article 14. <https://doi.org/10.3390/ijms21144846>
- Kim, K.-H., i Lee, B.-M. (2023.). Effects of Climate Change and Drought Tolerance on Maize Growth. *Plants*, 12(20), 3548. <https://doi.org/10.3390/plants12203548>
- Kingma, D. P., i Ba, J. (2017). *Adam: A Method for Stochastic Optimization* (arXiv:1412.6980). arXiv. <https://doi.org/10.48550/arXiv.1412.6980>
- Kothari, S., Beauchamp-Rioux, R., Blanchard, F., Crofts, A. L., Girard, A., Guilbeault-Mayers, X., Hacker, P. W., Pardo, J., Schweiger, A. K., Demers-Thibeault, S., Bruneau, A., Coops, N. C., Kalacska, M., Vellend, M., i Laliberté, E. (2023.). Predicting leaf traits across functional groups using reflectance spectroscopy. *New Phytologist*, 238(2), 549–566. <https://doi.org/10.1111/nph.18713>
- Krause, G. H. (1988.). Photoinhibition of photosynthesis. An evaluation of damaging and protective mechanisms. *Physiologia Plantarum*, 74(3), 566–574. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1988.tb02020.x>
- Krause, G. H., i Weis, E. (1991.). Chlorophyll Fluorescence and Photosynthesis: The Basics. *Annual Review of Plant Biology*, 42(Volume 42, 1991), 313–349. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.42.060191.001525>
- Le, T. S., Harper, R., i Dell, B. (2023.). Application of Remote Sensing in Detecting and Monitoring Water Stress in Forests. *Remote Sensing*, 15(13), Article 13. <https://doi.org/10.3390/rs15133360>

- Lebreton, C., Lazić-Jančić, V., Steed, A., Pekić, S., i Quarrie, S. A. (1995.). Identification of QTL for drought responses in maize and their use in testing causal relationships between traits. *Journal of Experimental Botany*, 46(7), 853–865.
<https://doi.org/10.1093/jxb/46.7.853>
- LeCun, Y., Bengio, Y., i Hinton, G. (2015.). Deep learning. *Nature*, 521(7553), 436–444.
<https://doi.org/10.1038/nature14539>
- Lee, S. H., Chan, C. S., Wilkin, P., i Remagnino, P. (2015.). Deep-plant: Plant identification with convolutional neural networks. *2015 IEEE International Conference on Image Processing (ICIP)*, 452–456. <https://doi.org/10.1109/ICIP.2015.7350839>
- Lepeduš, H., Brkić, I., Cesar, V., Antunović, J., Jambrović, A., Brkić, J., i Šimić, D. (2012.). Chlorophyll fluorescence analysis of photosynthetic performance in seven maize inbred lines under water-limited conditions. *Periodicum biologorum*, 114(1).
- Li, H., Thrash, A., Tang, J. D., He, L., Yan, J., i Warburton, M. L. (2019.). Leveraging GWAS data to identify metabolic pathways and networks involved in maize lipid biosynthesis. *The Plant Journal*, 98(5), 853–863. <https://doi.org/10.1111/tpj.14282>
- Li, K., Pan, J., Xiong, W., Xie, W., i Ali, T. (2022.). The impact of 1.5 °C and 2.0 °C global warming on global maize production and trade. *Scientific Reports*, 12(1), 17268.
<https://doi.org/10.1038/s41598-022-22228-7>
- Li, R., Wang, Y., Li, D., Guo, Y., Zhou, Z., Zhang, M., Zhang, Y., Würschum, T., i Liu, W. (2024.). Meta-Quantitative Trait Loci Analysis and Candidate Gene Mining for Drought Tolerance-Associated Traits in Maize (*Zea mays* L.). *International Journal of Molecular Sciences*, 25(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/ijms25084295>
- Liang, F., Zhan, W., Hu, G., Liu, H., Xing, Y., Li, Z., i Han, Z. (2022.). Five plants per RIL for phenotyping traits of high or moderate heritability ensure the power of QTL mapping in a rice MAGIC population. *Molecular Breeding : New Strategies in Plant Improvement*, 42(5), 28. <https://doi.org/10.1007/s11032-022-01299-4>
- Lichtenthaler, H. K. (1987.). [34] Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. U *Methods in Enzymology* (Sv. 148, str. 350–382). Elsevier.
[https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)
- Lichtenthaler, H. K., i Rinderle, U. (1988.). The Role of Chlorophyll Fluorescence in The Detection of Stress Conditions in Plants. *C R C Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 19(sup1), S29–S85. <https://doi.org/10.1080/15476510.1988.10401466>

- Liu, J., Guo, Y. Y., Bai, Y. W., Camberato, J. J., Xue, J. Q., i Zhang, R. H. (2018.). Effects of Drought Stress on the Photosynthesis in Maize. *Russian Journal of Plant Physiology*, 65(6), 849–856. <https://doi.org/10.1134/S1021443718060092>
- Liu, J., Li, H. J., Guo, Y. Y., Wang, G. X., Zhang, H. J., Zhang, R. H., i Xu, W. H. (2020.). Responses of Photosynthetic Electron Transport to Drought and Re-watering in Two Maize Genotypes. *Russian Journal of Plant Physiology*, 67(5), 912–922. <https://doi.org/10.1134/S1021443720050088>
- Liu, N., Xue, Y., Guo, Z., Li, W., i Tang, J. (2016.). Genome-Wide Association Study Identifies Candidate Genes for Starch Content Regulation in Maize Kernels. *Frontiers in Plant Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01046>
- Liu, P., Xiang, C., Liu, K., Yu, H., Liao, Z., Shen, Y., Liu, L., i Ma, L. (2024.). Genome-wide association study reveals genetic basis and candidate genes for chlorophyll content of leaves in maize (*Zea mays* L.). *PeerJ*, 12, e18278. <https://doi.org/10.7717/peerj.18278>
- Liu, S., i Qin, F. (2021.). Genetic dissection of maize drought tolerance for trait improvement. *Molecular Breeding*, 41(2), 8. <https://doi.org/10.1007/s11032-020-01194-w>
- Liu, W., Li, Y., Liu, J., i Jiang, J. (2021.). Estimation of Plant Height and Aboveground Biomass of *Toona sinensis* under Drought Stress Using RGB-D Imaging. *Forests*, 12(12), 1747. <https://doi.org/10.3390/f12121747>
- Loladze, A., Rodrigues, F. A., Toledo, F., San Vicente, F., Gérard, B., i Boddupalli, M. P. (2019.). Application of Remote Sensing for Phenotyping Tar Spot Complex Resistance in Maize. *Frontiers in Plant Science*, 10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00552>
- Lu, Y., Hao, Z., Xie, C., Crossa, J., Araus, J.-L., Gao, S., Vivek, B. S., Magorokosho, C., Mugo, S., Makumbi, D., Taba, S., Pan, G., Li, X., Rong, T., Zhang, S., i Xu, Y. (2011.). Large-scale screening for maize drought resistance using multiple selection criteria evaluated under water-stressed and well-watered environments. *Field Crops Research*, 124(1), 37–45. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2011.06.003>
- Ma, D., Maki, H., Neeno, S., Zhang, L., Wang, L., i Jin, J. (2020.). Application of non-linear partial least squares analysis on prediction of biomass of maize plants using hyperspectral images. *Biosystems Engineering*, 200, 40–54. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2020.09.002>
- Ma, J., Sun, D.-W., Pu, H., Cheng, J.-H., i Wei, Q. (2019.). Advanced Techniques for Hyperspectral Imaging in the Food Industry: Principles and Recent Applications.

- Annual Review of Food Science and Technology*, 10(Volume 10, 2019), 197–220.
<https://doi.org/10.1146/annurev-food-032818-121155>
- Maffezzoli, F., Ardolino, M., Bacchetti, A., Perona, M., i Renga, F. (2022.). Agriculture 4.0: A systematic literature review on the paradigm, technologies and benefits. *Futures*, 142, 102998. <https://doi.org/10.1016/j.futures.2022.102998>
- Mateen, M., Wen, J., -, N., i Azeem, M. (2018.). The Role of Hyperspectral Imaging: A Literature Review. *International Journal of Advanced Computer Science and Applications*, 9(8). <https://doi.org/10.14569/IJACSA.2018.090808>
- Mateos-Aparicio, G. (2011.). Partial Least Squares (PLS) Methods: Origins, Evolution, and Application to Social Sciences. *Communications in Statistics - Theory and Methods*, 40(13), 2305–2317. <https://doi.org/10.1080/03610921003778225>
- Matsubara, S., Chen, Y.-C., Caliandro, R., Govindjee, null, i Clegg, R. M. (2011.). Photosystem II fluorescence lifetime imaging in avocado leaves: Contributions of the lutein-epoxide and violaxanthin cycles to fluorescence quenching. *Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology*, 104(1–2), 271–284.
<https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2011.01.003>
- Mazur, M., Matoša Kočar, M., Jambrović, A., Sudarić, A., Volenik, M., Duvnjak, T., i Zdunić, Z. (2024.). Crop-Specific Responses to Cold Stress and Priming: Insights from Chlorophyll Fluorescence and Spectral Reflectance Analysis in Maize and Soybean. *Plants*, 13(9), 1204. <https://doi.org/10.3390/plants13091204>
- McMillen, M. S., Mahama, A. A., Sibiya, J., Lübberstedt, T., i Suza, W. P. (2022.). Improving drought tolerance in maize: Tools and techniques. *Frontiers in Genetics*, 13. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.1001001>
- Meiyan, S., Qizhou, D., ShuaiPeng, F., Xiaohong, Y., Jinyu, Z., Lei, M., Baoguo, L., i Yuntao, M. (2022.). Improved estimation of canopy water status in maize using UAV-based digital and hyperspectral images. *Computers and Electronics in Agriculture*, 197, 106982. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2022.106982>
- Mérida-García, R., Gálvez, S., Solís, I., Martínez-Moreno, F., Camino, C., Soriano, J. M., Sansaloni, C., Ammar, K., Bentley, A. R., Gonzalez-Dugo, V., Zarco-Tejada, P. J., i Hernandez, P. (2024.). High-throughput phenotyping using hyperspectral indicators supports the genetic dissection of yield in durum wheat grown under heat and drought stress. *Frontiers in Plant Science*, 15. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1470520>
- Mertens, S., Verbraeken, L., Sprenger, H., Demuynck, K., Maleux, K., Cannoot, B., De Block, J., Maere, S., Nelissen, H., Bonaventure, G., Crafts-Brandner, S. J., Vogel, J.

- T., Bruce, W., Inzé, D., i Wuyts, N. (2021.). Proximal Hyperspectral Imaging Detects Diurnal and Drought-Induced Changes in Maize Physiology. *Frontiers in Plant Science*, 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.640914>
- Messmer, R., Fracheboud, Y., Bänziger, M., Vargas, M., Stamp, P., i Ribaut, J.-M. (2009). Drought stress and tropical maize: QTL-by-environment interactions and stability of QTLs across environments for yield components and secondary traits. *Theoretical and Applied Genetics*, 119(5), 913–930. <https://doi.org/10.1007/s00122-009-1099-x>
- Mi, N., Cai, F., Zhang, Y., Ji, R., Zhang, S., i Wang, Y. (2018.). Differential responses of maize yield to drought at vegetative and reproductive stages. *Plant, Soil and Environment*, 64(6), 260–267. <https://doi.org/10.17221/141/2018-PSE>
- Mihaljević, I., Viljevac Vuletić, M., Tomaš, V., Horvat, D., Zdunić, Z., i Vuković, D. (2021.). PSII photochemistry responses to drought stress in autochthonous and modern sweet cherry cultivars. *Photosynthetica*, 59(4), 517–528. <https://doi.org/10.32615/ps.2021.045>
- Mir, R. R., Reynolds, M., Pinto, F., Khan, M. A., i Bhat, M. A. (2019.). High-throughput phenotyping for crop improvement in the genomics era. *Plant Science*, 282, 60–72. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.01.007>
- Misra, A. N., Misra, A. N., Misra, M., i Singh, R. (2012.). Biophysics. U *Biophysics*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/1877>
- Mohd Asaari, M. S., Mertens, S., Verbraeken, L., Dhondt, S., Inzé, D., Bikram, K., i Scheunders, P. (2022.). Non-destructive analysis of plant physiological traits using hyperspectral imaging: A case study on drought stress. *Computers and Electronics in Agriculture*, 195, 106806. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2022.106806>
- Money, D., Gardner, K., Migicovsky, Z., Schwaninger, H., Zhong, G.-Y., i Myles, S. (2015.). LinkImpute: Fast and Accurate Genotype Imputation for Nonmodel Organisms. *G3 Genes|Genomes|Genetics*, 5(11), 2383–2390. <https://doi.org/10.1534/g3.115.021667>
- Monier, B., Casstevens, T. M., Bradbury, P. J., i Buckler, E. S. (2022.). rTASSEL: An R interface to TASSEL for analyzing genomic diversity. *Journal of Open Source Software*, 7(76), 4530. <https://doi.org/10.21105/joss.04530>
- Moorthy, I., Miller, J. R., Noland, T. L., Nielsen, U., i Zarco-Tejada, P. J. (2003.). Chlorophyll content estimation of Boreal conifers using hyperspectral remote sensing. *IGARSS 2003. 2003 IEEE International Geoscience and Remote Sensing Symposium. Proceedings (IEEE Cat. No.03CH37477)*, 4, 2568–2570. IGARSS 2003. 2003 IEEE

- International Geoscience and Remote Sensing Symposium.
<https://doi.org/10.1109/IGARSS.2003.1294511>
- Moreira, F. F., Oliveira, H. R., Volenec, J. J., Rainey, K. M., i Brito, L. F. (2020.). Integrating High-Throughput Phenotyping and Statistical Genomic Methods to Genetically Improve Longitudinal Traits in Crops. *Frontiers in Plant Science*, 11, 681.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00681>
- Moustaka, J., i Moustakas, M. (2023.). Early-Stage Detection of Biotic and Abiotic Stress on Plants by Chlorophyll Fluorescence Imaging Analysis. *Biosensors*, 13(8), Article 8.
<https://doi.org/10.3390/bios13080796>
- Mukherjee, S., Mishra, A., i Trenberth, K. E. (2018.). Climate Change and Drought: A Perspective on Drought Indices. *Current Climate Change Reports*, 4(2), 145–163.
<https://doi.org/10.1007/s40641-018-0098-x>
- Nazari, L., Zinati, Z., i Bagnaresi, P. (2023.). Identification of biomarker genes from multiple studies for abiotic stress in maize through machine learning. *Journal of Biosciences*, 49(1), 1. <https://doi.org/10.1007/s12038-023-00392-w>
- Nguy-Robertson, A., Gitelson, A., Peng, Y., Viña, A., Arkebauer, T., i Rundquist, D. (2012.). Green Leaf Area Index Estimation in Maize and Soybean: Combining Vegetation Indices to Achieve Maximal Sensitivity. *Agronomy Journal*, 104(5), 1336–1347.
<https://doi.org/10.2134/agronj2012.0065>
- Niazian, M., i Niedbała, G. (2020.). Machine Learning for Plant Breeding and Biotechnology. *Agriculture*, 10(10), 436. <https://doi.org/10.3390/agriculture10100436>
- Niu, Y., Han, W., Zhang, H., Zhang, L., i Chen, H. (2021.). Estimating fractional vegetation cover of maize under water stress from UAV multispectral imagery using machine learning algorithms. *Computers and Electronics in Agriculture*, 189, 106414.
<https://doi.org/10.1016/j.compag.2021.106414>
- Nyéki, A., Kerepesi, C., Daróczy, B., Benczúr, A., Milics, G., Nagy, J., Harsányi, E., Kovács, A. J., i Neményi, M. (2021.). Application of spatio-temporal data in site-specific maize yield prediction with machine learning methods. *Precision Agriculture*, 22(5), 1397–1415. <https://doi.org/10.1007/s11119-021-09833-8>
- Oikonomidis, A., Catal, C., i Kassahun, A. (2023.). Deep learning for crop yield prediction: A systematic literature review. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 51(1), 1–26. <https://doi.org/10.1080/01140671.2022.2032213>
- Okyere, F. G., Cudjoe, D. K., Virlet, N., Castle, M., Riche, A. B., Greche, L., Mohareb, F., Simms, D., Mhada, M., i Hawkesford, M. J. (2024.). Hyperspectral Imaging for

- Phenotyping Plant Drought Stress and Nitrogen Interactions Using Multivariate Modeling and Machine Learning Techniques in Wheat. *Remote Sensing*, 16(18), Article 18. <https://doi.org/10.3390/rs16183446>
- O'Neill, P. M., Shanahan, J. F., i Schepers, J. S. (2006.). Use of Chlorophyll Fluorescence Assessments to Differentiate Corn Hybrid Response To Variable Water Conditions. *Crop Science*, 46(2), 681–687. <https://doi.org/10.2135/cropsci2005.06-0170>
- Ornella, L., Cervigni, G., i Tapia, E. (2012.). Applications of Machine Learning in Breeding for Stress Tolerance in Maize. U *Crop Stress and its Management: Perspectives and Strategies* (str. 163–192). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-2220-0_5
- Panahi, B., Hamid, R., i Mohammad Zadeh Jalaly, H. (2025.). Deciphering plant transcriptomes: Leveraging machine learning for deeper insights. *Current Plant Biology*, 41, 100432. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2024.100432>
- Pandey, P., Ge, Y., Stoerger, V., i Schnable, J. C. (2017.). High Throughput In vivo Analysis of Plant Leaf Chemical Properties Using Hyperspectral Imaging. *Frontiers in Plant Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01348>
- Panigrahi, K. P., Das, H., Sahoo, A. K., i Moharana, S. C. (2020.). Maize Leaf Disease Detection and Classification Using Machine Learning Algorithms. U H. Das, P. K. Pattnaik, S. S. Rautaray, i K.-C. Li (Ur.), *Progress in Computing, Analytics and Networking* (str. 659–669). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-15-2414-1_66
- Pejić, I., i Šatović, Z. (Ur.). (2022.). *Molekularno oplemenjivanje bilja*. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet.
- Perry, E. M., i Davenport, J. R. (2007.). Spectral and spatial differences in response of vegetation indices to nitrogen treatments on apple. *Computers and Electronics in Agriculture*, 59(1–2), 56–65. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2007.05.002>
- PolyPen | Handheld Devices*. Dostupno online: <https://handheld.psi.cz/products/polypen/#accessories> (Preuzeto 17. travanj 2025.)
- Ram, B. G., Oduor, P., Igathinathane, C., Howatt, K., i Sun, X. (2024.). A systematic review of hyperspectral imaging in precision agriculture: Analysis of its current state and future prospects. *Computers and Electronics in Agriculture*, 222, 109037. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2024.109037>
- Rasheed, A., Jie, H., Ali, B., He, P., Zhao, L., Ma, Y., Xing, H., Qari, S. H., Hassan, M. U., Hamid, M. R., i Jie, Y. (2023.). Breeding Drought-Tolerant Maize (*Zea mays*) Using

- Molecular Breeding Tools: Recent Advancements and Future Prospective. *Agronomy*, 13(6), Article 6. <https://doi.org/10.3390/agronomy13061459>
- Opperman, A. (2023.). *What Is Deep Learning and How Does It Work?* Built In. [Internet], <raspoloživo na: <https://builtin.com/machine-learning/deep-learning>> [14.07.2025.]
- Rebetzke, G. J., Jimenez-Berni, J., Fischer, R. A., Deery, D. M., i Smith, D. J. (2019.). Review: High-throughput phenotyping to enhance the use of crop genetic resources. *Plant Science*, 282, 40–48. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2018.06.017>
- Ribaut, J.-M., Betran, J., Monneveux, P., i Setter, T. (2009.). Drought Tolerance in Maize. U J. L. Bennetzen i S. C. Hake (Ur.), *Handbook of Maize: Its Biology* (str. 311–344). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-0-387-79418-1_16
- Robles-Zazueta, C. A., Molero, G., Pinto, F., Foulkes, M. J., Reynolds, M. P., i Murchie, E. H. (2021.). Field-based remote sensing models predict radiation use efficiency in wheat. *Journal of Experimental Botany*, 72(10), 3756–3773. <https://doi.org/10.1093/jxb/erab115>
- Römer, C., Wahabzada, M., Ballvora, A., Pinto, F., Rossini, M., Panigada, C., Behmann, J., Léon, J., Thureau, C., Bauckhage, C., Kersting, K., Rascher, U., i Plümer, L. (2012.). Early drought stress detection in cereals: Simplex volume maximisation for hyperspectral image analysis. *Functional Plant Biology*, 39(11), 878–890. <https://doi.org/10.1071/FP12060>
- Rosa, A. P., Barão, L., Chambel, L., Cruz, C., i Santana, M. M. (2023.). Early Identification of Plant Drought Stress Responses: Changes in Leaf Reflectance and Plant Growth Promoting Rhizobacteria Selection-The Case Study of Tomato Plants. *Agronomy*, 13(1), 183. <https://doi.org/10.3390/agronomy13010183>
- Roujean, J.-L., i Breon, F.-M. (1995.). Estimating PAR absorbed by vegetation from bidirectional reflectance measurements. *Remote Sensing of Environment*, 51(3), 375–384. [https://doi.org/10.1016/0034-4257\(94\)00114-3](https://doi.org/10.1016/0034-4257(94)00114-3)
- Rouse, J. W., Haas, R. H., Schell, J. A., i Deering, D. W. (1974.). *Monitoring vegetation systems in the Great Plains with ERTS*. <https://ntrs.nasa.gov/citations/19740022614>
- Rozenstein, O., Cohen, Y., Alchanatis, V., Behrendt, K., Bonfil, D. J., Eshel, G., Harari, A., Harris, W. E., Klapp, I., Laor, Y., Linker, R., Paz-Kagan, T., Peets, S., Rutter, S. M., Salzer, Y., i Lowenberg-DeBoer, J. (2024.). Data-driven agriculture and sustainable farming: Friends or foes? *Precision Agriculture*, 25(1), 520–531. <https://doi.org/10.1007/s11119-023-10061-5>

- Sahito, J. H., Zhang, H., Gishkori, Z. G. N., Ma, C., Wang, Z., Ding, D., Zhang, X., i Tang, J. (2024). Advancements and Prospects of Genome-Wide Association Studies (GWAS) in Maize. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/ijms25031918>
- Salekdeh, G. H., Reynolds, M., Bennett, J., i Boyer, J. (2009.). Conceptual framework for drought phenotyping during molecular breeding. *Trends in Plant Science*, 14(9), 488–496. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.07.007>
- Sartor, R. C., Noshay, J., Springer, N. M., i Briggs, S. P. (2019.). Identification of the expressome by machine learning on omics data. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(36), 18119–18125. <https://doi.org/10.1073/pnas.1813645116>
- Setiawan, W., Rochman, E. M. S., Satoto, B. D., i Rachmad, A. (2022.). Machine Learning and Deep Learning for Maize Leaf Disease Classification: A Review. *Journal of Physics: Conference Series*, 2406(1), 012019. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/2406/1/012019>
- Setter, T. L., Yan, J., Warburton, M., Ribaut, J.-M., Xu, Y., Sawkins, M., Buckler, E. S., Zhang, Z., i Gore, M. A. (2011.). Genetic association mapping identifies single nucleotide polymorphisms in genes that affect abscisic acid levels in maize floral tissues during drought. *Journal of Experimental Botany*, 62(2), 701–716. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq308>
- Shabala, S. N., Shabala, S. I., Martynenko, A. I., Babourina, O., i Newman, I. A. (1998.). Salinity effect on bioelectric activity, growth, Na⁺ accumulation and chlorophyll fluorescence of maize leaves: A comparative survey and prospects for screening. *Functional Plant Biology*, 25(5), 609–616. <https://doi.org/10.1071/pp97146>
- Shahhosseini, M., Martinez-Feria, R. A., Hu, G., i Archontoulis, S. V. (2019.). Maize yield and nitrate loss prediction with machine learning algorithms. *Environmental Research Letters*, 14(12), 124026. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/ab5268>
- Shawon, S. M., Ema, F. B., Mahi, A. K., Niha, F. L., i Zubair, H. T. (2025.). Crop yield prediction using machine learning: An extensive and systematic literature review. *Smart Agricultural Technology*, 10, 100718. <https://doi.org/10.1016/j.atech.2024.100718>
- Sheoran, S., Kaur, Y., Kumar, S., Shukla, S., Rakshit, S., i Kumar, R. (2022.). Recent Advances for Drought Stress Tolerance in Maize (*Zea mays* L.): Present Status and Future Prospects. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.872566>

- Shrestha, V., Awale, M., i Karn, A. (2019.). Genome Wide Association Study (GWAS) on Disease Resistance in Maize. U S. H. Wani (Ur.), *Disease Resistance in Crop Plants: Molecular, Genetic and Genomic Perspectives* (str. 113–130). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-20728-1_6
- Shuaibu, S. M., Ogbodo, J. A., Wasige, E., i Mashi, S. A. (2016.). Assessing the impact of agricultural drought on maize prices in Kenya with the approach of the SPOT-VEGETATION NDVI remote sensing. *Future of Food: Journal on Food, Agriculture and Society*. <https://www.semanticscholar.org/paper/Assessing-the-impact-of-agricultural-drought-on-in-Shuaibu-Ogbodo/489f156cc361dd28909e9203ce0763f08aa17418>
- Sinsawat, V., Leipner, J., Stamp, P., i Fracheboud, Y. (2004.). Effect of heat stress on the photosynthetic apparatus in maize (*Zea mays* L.) grown at control or high temperature. *Environmental and Experimental Botany*, 52(2), 123–129. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2004.01.010>
- Smillie, R. M., i Gibbons, G. C. (1981.). Heat tolerance and heat hardening in crop plants measured by chlorophyll fluorescence. *Carlsberg Research Communications*, 46(6), 395. <https://doi.org/10.1007/BF02907961>
- Spišić, J., Šimić, D., Balen, J., Jambrović, A., i Galić, V. (2022.). Machine Learning in the Analysis of Multispectral Reads in Maize Canopies Responding to Increased Temperatures and Water Deficit. *Remote Sensing*, 14(11), Article 11. <https://doi.org/10.3390/rs14112596>
- Strasser, R. J., Tsimilli-Michael, M., i Srivastava, A. (2004.). Analysis of the Chlorophyll a Fluorescence Transient. U G. C. Papageorgiou i Govindjee (Ur.), *Chlorophyll a Fluorescence* (Sv. 19, str. 321–362). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-3218-9_12
- Strasser, R., Srivastava, A., i Tsimilli-Michael, M. (2000.). The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. U *Probing photosynthesis: Mechanism, regulation and adaptation* (str. 445). Taylor & Francis. <https://archive-ouverte.unige.ch/unige:177144>
- Sun, D., Robbins, K., Morales, N., Shu, Q., i Cen, H. (2022.). Advances in optical phenotyping of cereal crops. *Trends in Plant Science*, 27(2), 191–208. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2021.07.015>
- Susmitha, P., Kumar, P., Yadav, P., Sahoo, S., Kaur, G., Pandey, M. K., Singh, V., Tseng, T. M., i Gangurde, S. S. (2023.). Genome-wide association study as a powerful tool for

- dissecting competitive traits in legumes. *Frontiers in Plant Science*, 14.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1123631>
- Sutaji, D., i Rosyid, H. (2022.). Convolutional Neural Network (CNN) Models for Crop Diseases Classification. *Kinetik: Game Technology, Information System, Computer Network, Computing, Electronics, and Control*.
<https://doi.org/10.22219/kinetik.v7i2.1443>
- Swetha, L., Vinodhini, K., i G. S., S. P. (2025.). *Quantitative Genetics and Trait Analysis* (str. 29–70). <https://doi.org/10.69973/TP/2025/60>
- Šimić, D., Lepeduš, H., Jurković, V., Antunović, J., i Cesar, V. (2014.). Quantitative genetic analysis of chlorophyll a fluorescence parameters in maize in the field environments. *Journal of Integrative Plant Biology*, 56(7), 695–708.
<https://doi.org/10.1111/jipb.12179>
- Tamás, A., Kovács, E., Horváth, É., Juhász, C., Radócz, L., Rátónyi, T., i Ragán, P. (2023.). Assessment of NDVI Dynamics of Maize (*Zea mays* L.) and Its Relation to Grain Yield in a Polyfactorial Experiment Based on Remote Sensing. *Agriculture*, 13(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/agriculture13030689>
- Tenaillon, M. I., i Charcosset, A. (2011.). A European perspective on maize history. *Comptes Rendus. Biologies*, 334(3), 221–228. <https://doi.org/10.1016/j.crvi.2010.12.015>
- Thomas, S., Kuska, M. T., Bohnenkamp, D., Brugger, A., Alisaac, E., Wahabzada, M., Behmann, J., i Mahlein, A.-K. (2018.). Benefits of hyperspectral imaging for plant disease detection and plant protection: A technical perspective. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 125(1), 5–20. <https://doi.org/10.1007/s41348-017-0124-6>
- Tian, F., Bradbury, P. J., Brown, P. J., Hung, H., Sun, Q., Flint-Garcia, S., Rocheford, T. R., McMullen, M. D., Holland, J. B., i Buckler, E. S. (2011.). Genome-wide association study of leaf architecture in the maize nested association mapping population. *Nature Genetics*, 43(2), 159–162. <https://doi.org/10.1038/ng.746>
- TUBEROSA, R., SALVI, S., SANGUINETI, M. C., LANDI, P., MACCAFERRI, M., i CONTI, S. (2002.). Mapping QTLs Regulating Morpho-physiological Traits and Yield: Case Studies, Shortcomings and Perspectives in Drought-stressed Maize. *Annals of Botany*, 89(7), 941–963. <https://doi.org/10.1093/aob/mcf134>
- Ustin, S. L., i Gamon, J. A. (2010.). Remote sensing of plant functional types. *New Phytologist*, 186(4), 795–816. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03284.x>
- Verma, B., Prasad, R., Srivastava, P. K., i Singh, P. (2022.). Retrieval of Leaf Area Index Using Inversion Algorithm. *2022 12th Workshop on Hyperspectral Imaging and*

- Signal Processing: Evolution in Remote Sensing (WHISPERS)*, 1–4. 2022 12th Workshop on Hyperspectral Imaging and Signal Processing: Evolution in Remote Sensing (WHISPERS). <https://doi.org/10.1109/WHISPERS56178.2022.9955056>
- Vidaković-Cifrek, Ž., i Tkalec, M. (2023.). *Chlorophyll a Fluorescence Measurements in Croatia – First Twenty Years Monograph of Agricultural Institute Osijek 19 Chlorophyll a Fluorescence in Evaluation of Plant Responses to Environmental Signals* (H. Lepeduš, M. Viljevac Vuletić, & Z. Zdunić, Ur.). Agricultural Institute Osijek.
- Vitrack-Tamam, S., Holtzman, L., Dagan, R., Levi, S., Tadmor, Y., Azizi, T., Rabinovitz, O., Naor, A., i Liran, O. (2020.). Random Forest Algorithm Improves Detection of Physiological Activity Embedded within Reflectance Spectra Using Stomatal Conductance as a Test Case. *Remote Sensing*, 12(14), 2213. <https://doi.org/10.3390/rs12142213>
- Vukadinović, L., Galić, V., Brkić, A., Jambrović, A., i Šimić, D. (2025.). Comparing Chlorophyll Fluorescence and Hyperspectral Indices in Drought-Stressed Young Plants in a Maize Diversity Panel. *Agronomy*, 15(7), Article 7. <https://doi.org/10.3390/agronomy15071604>
- Wang, J., Li, X., Guo, T., Dzievit, M. J., Yu, X., Liu, P., Price, K. P., i Yu, J. (2021.). Genetic dissection of seasonal vegetation index dynamics in maize through aerial based high-throughput phenotyping. *The Plant Genome*, 14(3), e20155. <https://doi.org/10.1002/tpg2.20155>
- Wang, L., Zhou, X., Zhu, X., Dong, Z., i Guo, W. (2016.). Estimation of biomass in wheat using random forest regression algorithm and remote sensing data. *The Crop Journal*, 4(3), 212–219. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2016.01.008>
- Wang, M., Yan, J., Zhao, J., Song, W., Zhang, X., Xiao, Y., i Zheng, Y. (2012.). Genome-wide association study (GWAS) of resistance to head smut in maize. *Plant Science*, 196, 125–131. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2012.08.004>
- Wang, N., Wang, Z., Liang, X., Weng, J., Lv, X., Zhang, D., Yang, J., Yong, H., Li, M., Li, F., Jiang, L., Zhang, S., Hao, Z., i Li, X. (2016.). Identification of loci contributing to maize drought tolerance in a genome-wide association study. *Euphytica*, 210(2), 165–179. <https://doi.org/10.1007/s10681-016-1688-0>
- Wang, X., Wang, H., Liu, S., Ferjani, A., Li, J., Yan, J., Yang, X., i Qin, F. (2016.). Genetic variation in ZmVPP1 contributes to drought tolerance in maize seedlings. *Nature Genetics*, 48(10), 1233–1241. <https://doi.org/10.1038/ng.3636>

- Washburn, J. D., Burch, M. B., i Franco, J. A. V. (2020.). Predictive breeding for maize: Making use of molecular phenotypes, machine learning, and physiological crop models. *Crop Science*, 60(2), 622–638. <https://doi.org/10.1002/csc2.20052>
- Weis, E., i Berry, J. A. (1987.). Quantum efficiency of Photosystem II in relation to ‘energy’-dependent quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 894(2), 198–208. [https://doi.org/10.1016/0005-2728\(87\)90190-3](https://doi.org/10.1016/0005-2728(87)90190-3)
- Westgate, M. E., i Boyer, J. S. (1986.). Reproduction at Low and Pollen Water Potentials in Maize. *Crop Science*, 26(5), crops1986.0011183X002600050023x. <https://doi.org/10.2135/crops1986.0011183X002600050023x>
- Wu, C., Niu, Z., Tang, Q., i Huang, W. (2008.). Estimating chlorophyll content from hyperspectral vegetation indices: Modeling and validation. *Agricultural and Forest Meteorology*, 148(8), 1230–1241. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2008.03.005>
- Wu, D., Li, X., Tanaka, R., Wood, J. C., Tibbs-Cortes, L. E., Magallanes-Lundback, M., Bornowski, N., Hamilton, J. P., Vaillancourt, B., Diepenbrock, C. H., Li, X., Deason, N. T., Schoenbaum, G. R., Yu, J., Buell, C. R., DellaPenna, D., i Gore, M. A. (2022.). Combining GWAS and TWAS to identify candidate causal genes for tocochromanol levels in maize grain. *Genetics*, 221(4), iyac091. <https://doi.org/10.1093/genetics/iyac091>
- Xu, K., i Ye, H. (2023.). Light scattering in stacked mesophyll cells results in similarity characteristic of solar spectral reflectance and transmittance of natural leaves. *Scientific Reports*, 13(1), 4694. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-31718-1>
- Xu, Y., Skinner, D. J., Wu, H., Palacios-Rojas, N., Araus, J. L., Yan, J., Gao, S., Warburton, M. L., i Crouch, J. H. (2009.). Advances in Maize Genomics and Their Value for Enhancing Genetic Gains from Breeding. *International Journal of Plant Genomics*, 2009, 957602. <https://doi.org/10.1155/2009/957602>
- Yalcin, H., i Razavi, S. (2016.). Plant classification using convolutional neural networks. *2016 Fifth International Conference on Agro-Geoinformatics (Agro-Geoinformatics)*, 1–5. <https://doi.org/10.1109/Agro-Geoinformatics.2016.7577698>
- Yan Lu, H. X., i Tong, S. (2018.). Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on photosynthesis and chlorophyll fluorescence of maize seedlings under salt stress. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 199. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2018.v30.i3.1642>

- Yang, H., Li, F., Wang, W., i Yu, K. (2021.). Estimating Above-Ground Biomass of Potato Using Random Forest and Optimized Hyperspectral Indices. *Remote Sensing*, 13(12), 2339. <https://doi.org/10.3390/rs13122339>
- Yang, L., Li, T., Tian, X., Yang, B., Lao, Y., Wang, Y., Zhang, X., Xue, J., i Xu, S. (2020.). Genome-wide association study (GWAS) reveals genetic basis of ear-related traits in maize. *Euphytica*, 216(11), 172. <https://doi.org/10.1007/s10681-020-02707-6>
- Yang, W., Nigon, T., Hao, Z., Dias Paiao, G., Fernández, F. G., Mulla, D., i Yang, C. (2021.). Estimation of corn yield based on hyperspectral imagery and convolutional neural network. *Computers and Electronics in Agriculture*, 184, 106092. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2021.106092>
- Yang, Z., Li, X., Zhang, N., Wang, X., Zhang, Y., Ding, Y., Kuai, B., Huang, X., i Tuberosa, R. (2017.). Mapping and validation of the quantitative trait loci for leaf stay-green-associated parameters in maize. *Plant Breeding*, 136, 188–196. <https://doi.org/10.1111/pbr.12451>
- Yendrek, C. R., Tomaz, T., Montes, C. M., Cao, Y., Morse, A. M., Brown, P. J., McIntyre, L. M., Leakey, A. D. B., i Ainsworth, E. A. (2017.). High-Throughput Phenotyping of Maize Leaf Physiological and Biochemical Traits Using Hyperspectral Reflectance. *Plant Physiology*, 173(1), 614–626. <https://doi.org/10.1104/pp.16.01447>
- Yoon, H. I., Lee, H., Yang, J.-S., Choi, J.-H., Jung, D.-H., Park, Y. J., Park, J.-E., Kim, S. M., i Park, S. H. (2023.). Predicting Models for Plant Metabolites Based on PLSR, AdaBoost, XGBoost, and LightGBM Algorithms Using Hyperspectral Imaging of *Brassica juncea*. *Agriculture*, 13(8), 1477. <https://doi.org/10.3390/agriculture13081477>
- Yu, S., Jia, S., i Xu, C. (2017.). Convolutional neural networks for hyperspectral image classification. *Neurocomputing*, 219, 88–98. <https://doi.org/10.1016/j.neucom.2016.09.010>
- Zarco-Tejada, P. J., Miller, J. R., Noland, T. L., Mohammed, G. H., i Sampson, P. H. (2001.). Scaling-up and model inversion methods with narrowband optical indices for chlorophyll content estimation in closed forest canopies with hyperspectral data. *IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing*, 39(7), 1491–1507. IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing. <https://doi.org/10.1109/36.934080>
- Zarco-Tejada, P. J., Ustin, S. L., i Whiting, M. L. (2005.). Temporal and Spatial Relationships between Within-Field Yield Variability in Cotton and High-Spatial

- Hyperspectral Remote Sensing Imagery. *Agronomy Journal*, 97(3), 641–653.
<https://doi.org/10.2134/agronj2003.0257>
- Zdrazil, J., Kong, L., Klimeš, P., Jasso-Robles, F. I., Saiz-Fernández, I., Güder, F., Spíchal, L., Snášel, V., i De Diego, N. (2025.). Next-generation high-throughput phenotyping with trait prediction through adaptable multi-task computational intelligence. *Computers and Electronics in Agriculture*, 235, 110390.
<https://doi.org/10.1016/j.compag.2025.110390>
- Zegada-Lizarazu, W., Zatta, A., i Monti, A. (2012.). Water uptake efficiency and above- and belowground biomass development of sweet sorghum and maize under different water regimes. *Plant and Soil*, 351(1), 47–60. <https://doi.org/10.1007/s11104-011-0928-2>
- Zeng, Z.-B. (2001.). QTL Mapping. U S. Maloy i K. Hughes (Ur.), *Brenner's Encyclopedia of Genetics (Second Edition)* (str. 8–12). Academic Press.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374984-0.01248-1>
- Zhang, C., Ren, H., Dai, X., Qin, Q., Li, J., Zhang, T., i Sun, Y. (2019.). Spectral characteristics of copper-stressed vegetation leaves and further understanding of the copper stress vegetation index. *International Journal of Remote Sensing*, 40(12), 4473–4488. <https://doi.org/10.1080/01431161.2018.1563842>
- Zhang, F., i Zhou, G. (2015.). Estimation of Canopy Water Content by Means of Hyperspectral Indices Based on Drought Stress Gradient Experiments of Maize in the North Plain China. *Remote Sensing*, 7(11), Article 11.
<https://doi.org/10.3390/rs71115203>
- Zhang, H., Zhu, L., Hu, H., Zheng, K., i Jin, Q. (2011.). Monitoring Leaf Chlorophyll Fluorescence with Spectral Reflectance in Rice (*Oryza sativa* L.). *Procedia Engineering*, 15, 4403–4408. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2011.08.827>
- Zhang, L., Han, W., Niu, Y., Chávez, J. L., Shao, G., i Zhang, H. (2021.). Evaluating the sensitivity of water stressed maize chlorophyll and structure based on UAV derived vegetation indices. *Computers and Electronics in Agriculture*, 185, 106174.
<https://doi.org/10.1016/j.compag.2021.106174>
- Zhang, L., Zhang, F., Du, W., Hu, M., Hao, Y., Ding, S., Tian, H., i Zhang, D. (2025.). Machine Learning Analysis of Maize Seedling Traits Under Drought Stress. *Biology*, 14(7), 787. <https://doi.org/10.3390/biology14070787>
- Zhang, L., Zhang, H., Niu, Y., i Han, W. (2019.). Mapping Maize Water Stress Based on UAV Multispectral Remote Sensing. *Remote Sensing*, 11(6), Article 6.
<https://doi.org/10.3390/rs11060605>

- Zhang, X., Warburton, M. L., Setter, T., Liu, H., Xue, Y., Yang, N., Yan, J., i Xiao, Y. (2016.). Genome-wide association studies of drought-related metabolic changes in maize using an enlarged SNP panel. *Theoretical and Applied Genetics*, 129(8), 1449–1463. <https://doi.org/10.1007/s00122-016-2716-0>
- Zhang, Y., Han, W., Niu, X., i Li, G. (2019.). Maize Crop Coefficient Estimated from UAV-Measured Multispectral Vegetation Indices. *Sensors*, 19(23), 5250. <https://doi.org/10.3390/s19235250>
- Zhao, J., Chen, X., Japper, G., Chang, H., Ma, Z., i Duan, Y. (2007.). *Hyperspectral indices for leaf and pixel chlorophyll estimation in open-canopy tree* (W. Ju & S. Zhao, Ur.; str. 675222). <https://doi.org/10.1117/12.760752>
- Zhou, L., Zhou, L., Wu, H., Jing, T., Li, T., Li, J., Kong, L., i Zhu, F. (2024.). Application of Chlorophyll Fluorescence Analysis Technique in Studying the Response of Lettuce (*Lactuca sativa* L.) to Cadmium Stress. *Sensors*, 24(5), 1501. <https://doi.org/10.3390/s24051501>
- Zinselmeier, C., Lauer, M. J., i Boyer, J. S. (1995.). Reversing Drought-Induced Losses in Grain Yield: Sucrose Maintains Embryo Growth in Maize. *Crop Science*, 35(5), crops1995.0011183X003500050022x. <https://doi.org/10.2135/crops1995.0011183X003500050022x>
- Zinselmeier, C., Westgate, M. E., Schussler, J. R., i Jones, R. J. (1995.). Low Water Potential Disrupts Carbohydrate Metabolism in Maize (*Zea mays* L.) Ovaries. *Plant Physiology*, 107(2), 385–391. <https://doi.org/10.1104/pp.107.2.385>
- Ziyomo, C., i Bernardo, R. (2013.). Drought Tolerance in Maize: Indirect Selection through Secondary Traits versus Genomewide Selection. *Crop Science*, 53(4), 1269–1275. <https://doi.org/10.2135/crops1995.0011183X003500050022x>
- Zombori, Z., Hóvári, M., Sass, L., Rádi, F., i Dudits, D. (2025.). Monitoring early drought responses of maize plants by quantification of biomass and digital imaging of shoot and root growth for selection of hybrids in pre-breeding. *Cereal Research Communications*. <https://doi.org/10.1007/s42976-025-00706-8>
- Zong, Y. Z., Wang, W. F., Xue, Q. W., i Shangguan, Z. P. (2014.). Interactive effects of elevated CO₂ and drought on photosynthetic capacity and PSII performance in maize. *Photosynthetica*, 52(1), 63–70. <https://doi.org/10.1007/s11099-014-0009-x>
- Zubler, A. V., i Yoon, J.-Y. (2020.). Proximal Methods for Plant Stress Detection Using Optical Sensors and Machine Learning. *Biosensors*, 10(12), Article 12. <https://doi.org/10.3390/bios10120193>

Zuo, G., Feng, N., i Zheng, D. (2025.). Enhancing Early Drought Detection in Plants: The Consideration of Organ Sensitivity, Parameter Selection, and Measurement Timing. *Plants*, 14(11), 1571. <https://doi.org/10.3390/plants14111571>

Ocjena rada
u tileku

7. Sažetak

Suša predstavlja jedan od najznačajnijih abiotičkih stresova koji ograničavaju globalnu proizvodnju kukuruza, a sve češće incidencije suše, i suše jačeg intenziteta ugrožavaju sigurnost hrane diljem svijeta.

Napredne, visokopropusne precizne fenotipizacijske tehnologije nude obećavajuća rješenja za ubrzavanje programa oplemenjivanja tolerancije na sušu, rješavajući trenutno usko grlo takvog napretka. Fluorescencija klorofila i hiperspektralno snimanje bili su odabrani pristupi fenotipizaciji u ovom istraživanju. Parametri fluorescencije klorofila pokazali su konzistentne vremenske obrasce, s relativnom stabilnošću pri slabim stresom, a ozbiljnim promjenama u kasnijoj fazi progresije stresa. Podatci hiperspektralnog snimanja pokazali su jedinstvene obrasce pod stresom suše u usporedbi s parametrima ChlF i međusobno, pri čemu su neki pokazali ranu disperziju, dok je nekoliko pokazalo slab početni odgovor koji je postao izraženiji kod jakog stresa suše. Korelacija odabranih parametara također je potvrdila slične obrasce prikazane u koreliranim indeksima.

Kombiniranjem detaljnih fizioloških mjerenja s podacima molekularnih markera mogu se identificirati lokusi kvantitativnih svojstava povezani s tolerancijom na sušu i razviti točniji alati za selekciju za programe oplemenjivanja. Utvrđeno je nekoliko značajnih povezanosti; Phi_Po na kromosomima 1, 5, 6, 9 i 10. Zanimljivo je da indeksi iz NIR dijela spektra nisu imali značajne povezanosti, dok je svih pet HS indeksa iz UV/VIS dijela spektra bilo povezano s brojnim SNP-ovima i u kontroli i u tretmanu.

Algoritmi strojnog učenja pokazuju značajan potencijal za analizu velikih, višedimenzionalnih skupova podataka generiranih kombiniranim pristupima fenotipizacije i genotipizacije. Komparativna analiza metoda strojnog učenja za predviđanje biomase pod stresom suše otkriva jasnu hijerarhiju performansi, s konvolucijskim neuronskim mrežama (CNN) koje postižu najveću točnost, nakon čega slijede parcijalna regresija najmanjih kvadrata (PLSR), ekstremno pojačavanje gradijenta (XGBoost) i na kraju algoritmi slučajne šume (Random Forest).

Ova konvergencija naprednih tehnologija fenotipizacije, genomskih alata i metoda strojnog učenja predstavlja transformativni pristup oplemenjivanju kukuruza na toleranciju na sušu, nudeći potencijal za razvoj otpornih sorti sposobnih za održavanje produktivnosti u sve izazovnijim klimatskim uvjetima.

8. Summary

Drought represents one of the most significant abiotic stresses limiting global maize production, with increasingly frequent and severe drought events threatening food security worldwide.

Advanced, high-throughput precise phenotyping technologies offer promising solutions for accelerating drought tolerance breeding programs, addressing the current bottleneck of such advancements. Chlorophyll fluorescence and hyperspectral imaging were the phenotyping approaches selected in this research. Chlorophyll fluorescence parameters showed consistent temporal patterns, with relative stability under low stress and severe changes in later phase of stress progression. Hyperspectral imaging data showed unique patterns under drought stress compared to ChlF parameters and among each other, with some exhibiting early dissipation while few showed small initial response that became more pronounced in severe drought stress. Correlation of selected parameters also corroborated the similar patterns showed in correlated indices.

By combining detailed physiological measurements with molecular marker data quantitative trait loci associated with drought tolerance can be identified and a more accurate selection tools for breeding programs can be developed. Several significant associations were made; Phi_Po on chromosomes 1, 5, 6, 9 and 10. Interestingly, indices grouped in NIR part of spectrum had no significant associations while all five HS indices grouped in UV/VIS part of spectrum were associated with numerous SNPs in both control and treatment.

Machine learning algorithms demonstrate significant potential for analyzing the large, multidimensional datasets generated through combined phenotyping and genotyping approaches. Comparative analysis of machine learning methods for biomass prediction under drought stress reveals a clear performance hierarchy, with convolutional neural networks (CNN) achieving superior accuracy, followed by partial least squares regression (PLSR), extreme gradient boosting (XGBoost), and lastly random forest algorithms.

This convergence of advanced phenotyping technologies, genomic tools, and machine learning methodologies represents a transformative approach to drought tolerance breeding in maize, offering the potential to develop resilient varieties capable of maintaining productivity under increasingly challenging climatic conditions.

9. Životopis

Lovro Vukadinović, mag. prot. nat. et amb., rođen je 05.09.1996. u Osijeku. Završio je matematičku gimnaziju i srednju glazbenu školu Franje Kuhača u Osijeku 2015. godine nakon čega upisuje preddiplomski studij biologije na Odjelu za biologiju Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku. 2018. godine završava preddiplomski studij te upisuje diplomski studij Zaštita prirode i okoliša, također na Odjelu za biologiju u Osijeku gdje je diplomirao 2020. godine. Po završetku diplomskog studija, 2021. godine upisuje interdisciplinarni poslijediplomski sveučilišni doktorski studij Molekularne bioznanosti Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku te počinje raditi na Poljoprivrednom institutu Osijek kao asistent/doktorand na Odjelu za oplemenjivanje i genetiku kukuruza. Autor je i koautor četiri znanstvena rada, jednog poglavlja u knjizi, te je kao član organizacijskog odbora sudjelovao u organizaciji međunarodnog znanstvenog kongresa PhotosynthOS održanog u Osijeku 24. i 25.04.2023. Sudjelovao je također i na međunarodnim simpozijima agronoma od 2022. do 2025. godine usmenim izlaganjima i kao koautor postera. Tijekom poslijediplomskog studija, 2024. godine sudjelovao je u ERASMUS+ projektu mobilnosti završavanjem programa treniranja studenata na Sveučilištu u Calabriji u Italiji.

Popis publikacija:

- Malenica, N., Dunić, J. A., Vukadinović, L., Cesar, V., i Šimić, D. (2021.). Genetic Approaches to Enhance Multiple Stress Tolerance in Maize. *Genes*, 12(11), 1760. <https://doi.org/10.3390/genes12111760>
- Matoša Kočar, M., Sudarić, A., Duvnjak, T., Brkić, A., Vukadinović, L., i Mazur, M. (2024.). C3 and C4 photosynthetic performance in cold stress. *Journal of Central European Agriculture*, 25(3), 819–832. <https://doi.org/10.5513/JCEA01/25.3.4302>
- Mazur, M., Vukadinović, L., Jambrović, A., Galić, V., i Šimić, D. (2023.). *Chlorophyll a Fluorescence Measurements in Croatia – First Twenty Years Monograph of Agricultural Institute Osijek 19 Chlorophyll a Fluorescence in Evaluation of Plant Responses to Environmental Signals* (H. Lepeduš, M. Viljevac Vuletić, & Z. Zdunić, Ur.). Agricultural Institute Osijek.
- Vukadinović, L., Galić, V., Brkić, A., Jambrović, A., i Šimić, D. (2025.). Comparing Chlorophyll Fluorescence and Hyperspectral Indices in Drought-Stressed Young Plants in a Maize Diversity Panel. *Agronomy*, 15(7), 1604. <https://doi.org/10.3390/agronomy15071604>

- Vukadinović, L., Galić, V., Mazur, M., Jambrović, A., i Šimić, D. (2025.). Genome-Wide Association Study of Chlorophyll Fluorescence and Hyperspectral Indices in Drought-Stressed Young Plants in Maize. *Genes*, 16(9), 1068. <https://doi.org/10.3390/genes16091068>

Ocjena rada
u tisku