

NEKA SVOJSTVA POLENSKIH DIHAPLOIDA KRIŽANCA FLUE-CURED DUHANA GV3 × NC 567

SOME CHARACTERISTICS OF THE FLUE-CURED TOBACCO HYBRID GV3 × NC567 POLEN DIHAPLOIDS

Blažica Šmalcelj

SAŽETAK

Masovna pojava PVY, koji danas ozbiljno ugrožava proizvodnju duhana, kao i sve veće štete od TMV, zbog uzgoja u monokulturi, odredili su oplemenjivački program. Potreban je kultivar otporan na PVY, TMV i peronosporu. Ocijenjeno je da križanac GV3 x NC567 ima genetski sadržaj od kojeg bi se mogao takav kultivar izvesti.

Budući da lokus za otpornost na PVY mora biti homozigotan, a kultivar zadanih svojstava treba realizirati u što kraćem roku, odabrana je metoda diploidizacije polenskih haploida. Uzgojeno je 19 dihaploida. Testirani su u poljskim pokusima na pokušalištu u Pitomači, 1994. i 1995. godine. Dihaploidi 3NDH 12 i 3N DH 15 su pokazali zadovoljavajuću otpornost na PVY i TMV. Njihov prinos je neznatno manji od prinosa roditelja, dok je prosječna cijena značajno veća. Ovi kultivari ne mogu konkurirati standardnim sortama DH 10 i Drava, no s obzirom na iskazani stupanj otpornosti na PVY i TMV mogli bi postati zamjena za GV3. U tom će se smislu obaviti dodatna provjeravanja. Dihaploidi 3N DH 17 i 3N DH 18 su imali veći prinos i od oba roditelja i od "Drave", što znači da redukcija prinosa nije imanentna metodi diploidizacije polenskih haploida.

Ključne riječi: duhan, GV3 x NC567, polenski dihaploidi, prinos, kvaliteta

ABSTRACT

The presence of the PVY on a massive scale, as well as ever increasing damage from the TMV, due to a lack of crop rotation, have defined the breeding program. A genotype resistant to PVY, TMV and peronospora is needed. It has been established that the GV3 x NC567 hybrid has genetic properties from which such a genotype could be bred.

Since PVY resistance locus must be homozygous and the genotype with given characteristics should be produced as soon as possible, a method of diploidisation of polen haploids was chosen. In the course of 1994 and 1995, dihaploids 3N DH 1 to 3N DH 19 were grown in the comparative field tests at the Tobacco Institute Zagreb experimental field in Pitomača. Dihaploids 3N DH 12 and 3N DH 15 demonstrated satisfactory resistance to PVY and TMV. Their yield was slightly smaller than the parents yield, while the price was considerably higher. These cultivars cannot compete with standard varieties DH 10 and Drava, however, considering the exhibited resistance to the PVY and TMV, 3N DH 12 and 3N DH 15 could become an alternative for GV3. To ascertain such a possibility additional investigations will be carried out.

Dihaploids 3N DH 17 and 3N DH 18 yielded more than both parents and also more than the "Drava", which means that yield reduction is not immanent in the polen dihaploids method.

Key words: tobacco, GV3 x NC567, polen dihaploids, yield, quality

UVOD

Masovna pojava PVY (Bužančić, 1986.), koji danas ozbiljno ugrožava proizvodnju duhana, kao i sve veće štete od TMV, zbog uzgoja u monokulturi, odredili su oplemenjivački program. Potreban je kultivar otporan na PVY, TMV i peronosporu. Domaća linija GV3 je osim potvrđene otpornosti na peronosporu (Gornik i sur., 1973.), pokazala i zadovoljavajuću otpornost na PVY (Šmalcelj, 1992.). Ona ima neka svojstva, koja ne doprinose kvaliteti flue-cured sirovine (Šmalcelj, 1988.), no pokazalo se mogućim odvojiti otpornost na PVY od tih nepoželjnih svojstava (Šmalcelj, 1995.). U američkim državnim sortnim pokusima (Peedin i sur., 1986., Peedin i sur., 1987.) nudile su se dvije sorte otporne na TMV; Coker 176 i NC 567. U dva je testa sorta NC 567 imala bolju kvalitetu. I u poljskim pokusima na pokušalištu Duhanskog instituta Zagreb, u Pitomači, sorta NC 567 pokazala je bolja gospodarska svojstva. U dvije sezone potvrdila je otpornost na TMV. Sorta Kutsaga 110, također opisana kao otporna na TMV (Cousins, 1987.), već je u drugoj sezoni imala neprihvatljiv broj biljaka s TMV simptomima (Šmalcelj i Kozumplik, 1984., Šmalcelj i sur., 1987., 1988.). Bili su to razlozi da se za ishodišni materijal uzme križanac GV3 x NC 567. Ovaj križanac bi mogao imati zadovoljavajuću otpornost na TMV, dok je otpornost na PVY, s obzirom na način nasljeđivanja (Lucas, 1975.) moguća samo u homozigotnim genotipovima. Potreba za uzgojem homozigotnih genotipova u razdoblju kraćem nego što omogućavaju klasične metode (Kasperbauer i Collins, 1972.), bila je poticaj da se treći put pokuša uzgojiti homozigotne genotipove diploidizacijom polenskih haploida (Čurković-Perica i Mihaljević, 1992.).

Polenski haploidi su u Duhanskom institutu Zagreb prvi put uzgojeni prije osamdesete (Veličan, 1977.) i ponovno sredinom osamdesetih (Kozumplik i Jelaska, 1986.). Bilo je to vrijeme kada se i u svijetu provjeravala upotrebljivost metode polenskih dihaploida u proizvodnji gospodarski vrijednih kultivara duhana (Arcia i sur., 1978., Burk i sur., 1979., Schnell i sur., 1980., Chaplin i Burk, 1982., Rowe i Gwynn, 1983.). I kod nas poznati kultivari NC744 (Chaplin i sur. 1980.) i Kutsaga 110 (Cousins, 1987.) proizvedeni su metodom diploidizacije polenskih haploida in vitro. Sorta Kutsaga 110 uspješno se uzgaja u Zimbabweu, a linija NC 744 može se upotrijebiti kao izvor otpornosti na Y virus krumpira (PVY, Kozumplik i sur., 1992.). Oplemenjivačke linije NC-BMR 42 i NC-BMR 90 (Rufty i sur., 1990.), sorte Virginia Biopreslavna (Dimitrova, 1990.) i Coltabaco (Cole, 1969.) također su napravljene metodom diploidizacije polenskih haploida.

MATERIJAL I METODE

Na pokušalištu Duhanskog instituta Zagreb, u Pitomači je 1991. godine uzgojena F2 populacija križanca GV3 x NC 567. Odabrane su 193 biljke: 2/1 do 2/193.

Od prvih 58 odabranih biljaka, 2/1 do 2/58 uzeti su pupovi za uzgoj polenskih dihaploida (Ćurković Perica i Mihaljević, 1992.). Uzgojeno je dihaploidno potomstvo biljaka 2/3, 2/10, 2/12, 2/16, 2/27, 2/28, 2/30, 2/32, 2/33, 2/37, 2/38 i 2/54, ukupno devetnaest. Od biljke 2/3- uzgojena su 3 haploida: 2, 3 i 4, a od svakog haploida po jedan dihaploid: 3N DH 7, 3N DH 8 i 3N DH 9. Dva su haploida uzgojena i od biljke 2/37. Od ostalih biljaka uzgojen je po jedan haploid. Od haploida 2/12-2-, 2/16-A5-, 2/28-3-, 2/54-1- uzgojena su po dva dihaploida.

Istovremeno je učinjena klasična selekcija, pedigree metodom. Iako su u F2 populaciji odabrane biljke bez simptoma PVY i TMV, od do sada testiranih 70 populacija; 2/1- do 2/70-, samo ih je 46 u F3 generaciji potvrdilo otpornost na PVY i TMV. U tim je populacijama napravljen izbor. Budući da veći broj populacija nije zadovoljio kriterije izbora, samo dihaploidi biljaka 2/12, 2/16, 2/30, 2/54 imaju analoge u F4 generaciji klasične samooplodnje. Ostale populacije su odbačene.

Sjeme prvih šest dihaploida sakupljeno je u drugoj polovici 1993., i ono je uvršteno u poljske pokuse 1994. godine. Tijekom 1994. godine prikupljeno je sjeme ostalih trinaest dihaploida, te je testirano u dva pokusa, 1995. godine. U pokuse su uključeni i odgovarajući analozi proizvedeni klasičnom samooplodnjom.

Pokusi su izvedeni na pokušalištu Duhanskog instituta Zagreb, u Pitomači. Bili su organizirani kao blok sa slučajnim rasporedom, u četiri ponavljanja. U sva tri pokusa uključene su i standardne sorte DH 10 i Drava, te roditelji GV3 i NC567. Ocijenjena je otpornost na PVY i TMV, u poljskim uvjetima (Šmalcelj, 1989.), zabilježen broj dana od sadnje do cvatnje, izmjeren prinos, izračunata prosječna cijena i ukupna vrijednost po hektaru.

REZULTATI I DISKUSIJA

Od svake je biljke bilo predviđeno uzgojiti više haploida, no zbog nepredviđenih poteškoća, u procesu uzgoja otpalo je mnogo materijala, tako da uzgojeni dihaploidi, nažalost, nisu rezultat nekog smislenog izbora, već posljedica pukog preživljavanja. Burk i sur., 1979., su imali slične poteškoće. Znajući da je zadane rekombinacije opravdano očekivati tek u dovoljno brojnoj populaciji dihaploida, uzeli su preko 2 000 antera. Kada je od toga uzgojeno više od 8 000 haploida, shvatili su da je to brojnost koja nadilazi njihove mogućnosti. Schiltz i sur., 1975. su, svjesni da uzgoj homozigotnih kultivara zadovoljavajućih gospodarskih svojstava diploidizacijom polenskih haploida štedi vrijeme, ali često nadilazi mogućnosti laboratorija, predložili dihaploidizaciju tek u F3 generaciji. Radeći tako, izborom u F3 populaciji, u polju, materijal bi bio reduciran prema selekcijskim kriterijima do broja koji je moguće obraditi u laboratoriju, a vrijeme potrebno za uzgoj homozigotnih genotipova bilo bi ipak skraćeno.

Kasperbauer i Collins, 1972., smatraju da je moguće doći do dihaploidnog sjemena za manje od 18 mjeseci. Upravo je toliko vremena između kolovoza 1991., kada su uzeti pupovi i ožujka 1993. kada je trebala biti sjetva. Gospodarske karakteristike dihaploida bilo je moguće znati već koncem 1993. godine. Zbog skromnih uvjeta rada, međutim, nije bilo moguće iskoristiti sve prednosti metode, te su dihaploidi testirani godinu, odnosno dvije kasnije.

Rezultati testiranja dihaploida u poljskim uvjetima prikazani su na tablicama 1, 2 i 3. U sva tri pokusa u populacijama NC 567 uočene su biljke s promjenama na listu kakve se smatraju znacima zaraze TMV. Biljke sa simptomima TMV u populaciji NC 567 nisu očekivane, jer osim što je opisana kao otporna, ova sorta je potvrdila otpornost na TMV u pokusima na istom polju. Budući da se nije radilo na identifikaciji virusa može se samo pretpostaviti da su uočeni simptomi mozaičnog izgleda zapravo rjeđi oblik simptoma PVY (Blanchard i sur., 1995, Verrier, 1995.), pogotovo stoga što u potomstvima 3N DH 1 do 3N DH 4 te 3N 631 (tablica 1) odnosno 3N DH 12 (tablica 2) i 3N DH 15 (tablica 3), u kojima nije bilo biljaka s tipičnim PVY simptomima (Lucas, 1975.) nije bilo niti biljaka s mozaičnim simptomima.

Tablica 1 Dihaploidi u poljskom pokusu, Pitomača, 1994.

Table 1 Dihaploids in the field test, Pitomača, 1994

| Kultivar Cultivar | Biljaka sa simptomima Plants with symptoms | | Dana do cvatnje Days to flowering | Prinos Yield kg/ha | Prosječna cijena Price K/kg | Ukupna vrijednost Value K/ha |
|-----------------------|---|-------------|--|--------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|
| | PVY 0-80 | TMV 0-80 | | | | |
| DH 10 | 0 | 0 | 58 | 1620 | 4.9 | 7900 |
| Drava | 1 | 0 | 57 | 1800 | 3.9 | 7100 |
| NC 567 | 18 | 4 | 62 | 1930 | 5.8 | 11200 |
| GV3 | 0 | 0 | 57 | 1390 | 4.4 | 6200 |
| 3N DH 1 (2/16-A5-1) | 0 | 0 | 63 | 1290 | 3.3 | 4200 |
| 3N DH 2 (2/16-A5) | 0 | 0 | 61 | 1170 | 2.9 | 3300 |
| 3N DH 3 (2/28-3-T) | 0 | 0 | 58 | 1070 | 3.6 | 3800 |
| 3N DH 4 (2/28-3-B) | 0 | 0 | 68 | 1230 | 2.9 | 3500 |
| 3N DH 5 (2/32-2-A) | 20 | 5 | 57 | — | — | — |
| 3N DH 6 (2/32-2-B) | 26 | 5 | 58 | — | — | — |
| 3N 631 (2/16-3/1-4/1) | 0 | 0 | 61 | 1130 | 5.0 | 5600 |
| 3N 632 (2/16-3/1-4/2) | 0 | 2 | 61 | 1360 | 4.4 | 5900 |
| 3N 633 (2/16-3/1-4/3) | 0 | 2 | 57 | 1340 | 4.7 | 6200 |
| GD 5% | — | — | 5 | 250 | 0.9 | 1500 |
| 1% | — | — | 7 | 330 | 1.2 | 2000 |

Prvih šest polenskih dihaploida testirano je 1994. godine (tablica 1). Prinosi standardnih sorti, DH 10 i "Drava" manji od 2 000 kg/ha, posljedica su olujnog vjetrova i grada u zadnjim danima srpnja. Bilo je razmišljanja da se nakon te oluje pokus zanemari, no iako prinosi testiranih kultivara nisu pravi pokazatelji njihovih vrijednosti, rezultati se, uspoređujući ih s vrijednostima standarda mogu iskoristiti kao orijentacijsko saznanje. Niti jedan dihaploid nije bio bolji od standardnih sorti. Prva četiri dihaploida 3N DH 1 do 3N DH 4 pokazala su zadovoljavajuću otpornost na PVY i TMV, no prinos i prosječna cijena ovih kultivara manji su od prinosa i prosječne cijene lošijeg roditelja. Linije 3N 631 do 3N 633 su potomstvo iste F2 biljke, 2/16, kao i dihaploidi 3N DH 1 i 3N DH 2. One se prinosom nisu razlikovale od dihaploida, no imale su nešto veću prosječnu cijenu. Prema broju dana do cvatnje također se nisu razlikovale od dihaploida. U slučaju 3N DH 1 i 3N DH 2 moglo bi se, prema

Blažica Šmalcelj: Neka svojstva polenskih dihaploida križanca flue-cured duhana
GV3 × NC 567

tome, govoriti o lošem ishodišnom materijalu, odnosno F2 biljci koja nije posjedovala zadovoljavajući genetski sadržaj. Ostali dihaploidi nemaju analogne linije iz klasične samooplodnje. Dihaploidi 3N DH 5 i 3N DH 6, uzgojeni od haploida 2/32 biljke F2 populacije odbačeni su zbog očite osjetljivosti na PVY, iako je haploid 2/32-2- prošao test otpornosti na PVY (Čurković Perica i Mihaljević, 1992.). Uočljiva razlika u broju dana do cvatnje između dihaploida 3N DH 3 i 3N DH 4, uzgojenih od istog haploida 2/28-3-, pokazuje da su i u postupku diploidizacije (Kasperbauer i Collins, 1972.) moguće promjene u genomu.

Tablica 2 Dihaploidi u poljskom pokusu (Komparativni pokus I), Pitomača 1995.
Table 2 Dihaploids in the field test (Comparative test I), Pitomača, 1995

| Kultivar Cultivar | Biljaka sa simptomima Plants with symptoms | | Dana do cvatnje Days to flowering | Prinos Yield kg/ha | Prosječna cijena Price K/kg | Ukupna vrijednost Value K/ha |
|-----------------------|---|-------------|--|--------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|
| | PVY 0-80 | TMV 0-80 | | | | |
| DH 10 | 0 | 0 | 58 | 2100 | 7.7 | 16000 |
| Drava | 0 | 2 | 60 | 2100 | 6.5 | 13000 |
| NC 567 | 14 | 6 | 71 | 1900 | 6.4 | 12000 |
| GV3 | 1 | 2 | 59 | 1700 | 5.9 | 10000 |
| 3N DH 7 (2/3-2-A) | 4 | 3 | 68 | 2000 | 6.4 | 12000 |
| 3N DH 8 (2/3-3-A) | 6 | 3 | 69 | 2100 | 6.4 | 14000 |
| 3N DH 9 (2/3 -4-A) | 1 | 2 | 72 | 2100 | 6.9 | 14000 |
| 3N DH 10 (2/10-2-13) | 0 | 3 | 72 | 1800 | 6.8 | 13000 |
| 3N DH 11 (2/12-2-A) | 7 | 2 | 59 | 1400 | 8.5 | 12000 |
| 3N DH 12 (2/12-2-B) | 0 | 0 | 57 | 1600 | 7.5 | 12000 |
| 3N 522 (2/12-3/1-4/1) | 5 | 1 | 66 | 1900 | 7.8 | 14000 |
| 3N 523 (2/12-3/1-4/2) | 8 | 4 | 59 | 1900 | 8.6 | 16000 |
| 3N 524 (2/12-3/1-4/3) | 4 | 2 | 65 | 2100 | 8.0 | 17000 |
| 3N 525 (2/12-3/1-4/4) | 4 | 2 | 61 | 1800 | 7.5 | 13000 |
| GD 5% | — | — | 6 | 300 | 1.2 | 2000 |
| 1% | — | — | 7 | 400 | 1.6 | 3000 |

Tablica 3 Dihaploidi u poljskom pokusu (Komparativni pokus II), Pitomača, 1995.
Table 3 Dihaploids in the field test (Comparative test II), Pitomača, 1995.

| Kultivar Cultivar | Biljaka sa simptomima Plants with symptoms | | Dana do cvatnje Days to flowering | Prinos Yield kg/ha | Prosje- čna cijena Price K/kg | Ukupna vri- jednost Value K/ha | Visina do zad.lista* Last leaf height* cm | Broj listova* Leaf number* | Deseti list* Tenth leaf* | |
|----------------------|---|---------------|--|--------------------------|---|--|---|-------------------------------------|-----------------------------|-----------------------|
| | PVY 0 - 80 | TMV 0 - 80 | | | | | | | Duljina Length cm | Sirina Width cm |
| DH 10 | 4 | 12 | 63 | 2000 | 8.5 | 17000 | 125 | 19.5 | 44 | 22 |
| Drava | 3 | 1 | 61 | 2000 | 7.4 | 15000 | 109 | 19.6 | 40 | 17 |
| NC 567 | 24 | 16 | 69 | 2000 | 6.5 | 13000 | 121 | 19.0 | 42 | 22 |
| GV3 | 3 | 6 | 58 | 2000 | 6.6 | 13000 | 109 | 18.6 | 39 | 18 |
| 3N DH 13(2/30-1-A) | 2 | 2 | 57 | 1600 | 5.4 | 9000 | 62 | 20.2 | 39 | 18 |
| 3N 714(2/30-3/1-4/1) | 8 | 14 | 63 | 2100 | 7.5 | 16000 | 113 | 20.3 | 45 | 19 |
| 3N 715(2/30-3/1-4/2) | 1 | 4 | 66 | 2000 | 7.9 | 15000 | 113 | 20.3 | 41 | 17 |
| 3N DH 30(2/33-1-B) | 43 | 14 | 64 | 1100 | 6.0 | 6000 | 100 | 18.6 | 40 | 17 |
| 3N DH 14(2/37-2-A) | 0 | 2 | 71 | 1700 | 7.2 | 12000 | 98 | 20.6 | 42 | 17 |
| 3N DH 15(2/37-T-D) | 0 | 0 | 72 | 1800 | 7.6 | 14000 | 105 | 21.9 | 42 | 13 |
| 3N DH 16(2/27-2-E) | 2 | 0 | 64 | 1700 | 6.0 | 10000 | 95 | 21.8 | 41 | 17 |
| 3N DH 17(2/54-1-D) | 3 | 0 | 62 | 2300 | 6.3 | 15000 | 127 | 19.4 | 41 | 18 |
| 3N DH 18(2/54-1-E) | 2 | 2 | 63 | 2400 | 6.0 | 15000 | 121 | 20.7 | 43 | 20 |
| 3N 864(2/54-3/1-4/1) | 0 | 2 | 56 | 1800 | 6.5 | 12000 | 102 | 16.7 | 37 | 17 |
| GD 5% | — | — | 5 | 300 | 0.9 | 3000 | 15 | 1.6 | ns | 3 |
| 1% | — | — | 7 | 400 | 1.2 | 4000 | 21 | 2.2 | ns | 5 |

* samo III i IV blok

* only III and IV blocks

Trinaest polenskih dihaploida testirano je sljedeće godine u Komparativnom pokusu I (tablica 2) i Komparativnom pokusu II (tablica 3). Prema prinosu standardnih sorti, u ova dva pokusa, očito je da su uvjeti testiranja u 1995. godini bili nešto povoljniji.

Dihaploidi 3N DH 7, 3N DH 8 i 3N DH 9 (tablica 2) su derivati tri polenska haploida iste, 2/3 biljke F2 populacije. Oni su imali prinos i prosječnu cijenu kao "Drava". Broj biljaka s PVY, odnosno TMV simptomima je manji nego u populaciji NC 567, ali veći nego u populacijama standarda. Ostala tri dihaploida, 3N DH 10, 3N DH 11 i 3N DH 12 imaju značajno manji prinos od standarda. U populaciji 3N DH 12 nije bilo biljaka sa simptomima PVY i TMV. Prosječna cijena ovog kultivara je slična prosječnoj cijeni DH 10, a značajno veća od prosječne cijene linije GV3. S obzirom na prinos 3N DH 12 nema gospodarsku vrijednost, ali iskazana obilježja opisuju ovaj kultivar kao koristan oplemenjivački materijal. Dihaploid 3N DH 11, derivat istog haploida, 2/12-2-, imao je veću prosječnu cijenu, no u njegovoj populaciji bio je neprihvatljiv broj biljaka s PVY i TMV simptomima. Razlike između ova dva kultivara nastale su, kao i razlike između 3N DH3 i 3N DH 4, u postupku diploidizacije. Linije 3N 522 do 3N 525 također su potomstvo 2/12 biljke F2 populacije, uzgojene klasičnom samooplodnjom. U odnosu na dihaploide, izvedenice iste F2 biljke, ovi kultivari imaju bolja gospodarska svojstva, ali niti oni ne zadovoljavaju kriterije za komercijalni kultivar. U njihovim je populacijama broj biljaka s PVY, odnosno TMV simptomima bio neprihvatljiv.

U Komparativnom pokusu II (tablica 3) zaraza virusima bila je nešto jača, tako da je i u populaciji standarda bilo biljaka s PVY i TMV simptomima. Dihaploid 3N DH 13 prema niti jednom kriteriju ne zavrijeđuje pažnju. Linije 3N 714 i 3N 715 potomstvo iste F2 biljke, 2/30, izvedeno pedigre metodom, imale su veći prinos i veću prosječnu cijenu. One su bolje od dihaploidnog analoga, ali nisu bolje od standardnih sorti, stoga će biti izbačene iz selekcijskog procesa. Dihaploid 3N DH 13 je cvao značajno ranije od linija 3N 714 i 3N 715. Ranija cvatnja, međutim, nije bila prednost u gospodarskom smislu. Biljke su bile niže, listovi manji.

Dihaploid 3N DH 30 je, kao i dihaploidi 3N DH 6 i 3N DH 7, brojem biljaka sa simptomima PVY nadmašio neotpornog roditelja NC 567, iako je i haploid 2/33-1- prošao test otpornosti na PVY. Zanimari li se mogućnost da su sojevi PVY bili različiti, moglo bi se zaključiti da rezultati testiranja haploida nisu pouzdani, pogotovo uzmu li se u obzir moguće promjene u procesu diploidizacije (Kasperbauer i Collins, 1972). Witherspoon i Wernsman, 1989., međutim, predlažu čak testiranje prinosa, duljine vegetacije, te sadržaja nikotina i šećera u haploidnom stanju.

U populacijama dihaploida 3N DH 14 i 3N DH 15 nije bilo biljaka sa simptomima PVY, dihaploid 3N DH 14 je imao samo dvije biljke sa simptomima TMV, a dihaploid 3N DH 15 niti jednu. U populaciji GV3 CMS uočene su 3 biljke sa simptomima PVY i 6 biljaka sa simptomima TMV. Prinos 3N DH 15 nije značajno manji od prinosa standarda, dok je prosječna cijena značajno veća od prosječne cijene linije GV3, te će i ovaj kultivar biti razmatran kao oplemenjivački materijal. Dihaploid 3N DH 16 je pokazao zadovoljavajuću otpornost na PVY i TMV, no njegov prinos je značajno manji od prinosa standarda, a prosječna cijena je niža od prosječne cijene lošijeg roditelja, GV3.

Najveći prinos u pokusu, statistički pouzdano veći od standarda imali su dihaploidi 3N DH 17 i 3N DH 18, derivati istog haploida biljke 2/54, F2 populacije. Ta je činjenica oprečna konstataciji Arcia i sur., 1978., da je metoda polenskih dihaploida neprikladna, ako je primarni cilj oplemenjivanja prinos, kao i konstataciji da je redukcija prinosa u procesu uzgoja polenskih dihaploida neizbježna (Schnell i sur., 1980., Schnell i Wernsman, 1986.). Prosječna cijena 3N DH 17 i 3N DH 18 je, međutim, manja od prosječne cijene lošijeg roditelja, stoga ni oni neće biti zadržani u oplemenjivačkom programu. Za razliku od dosadašnjih slučajeva, potomstava biljaka 2/12, 2/16 i 2/30 F2 populacije, linija 3N 864, potomstvo 2/54 biljke F2 generacije, imala je statistički pouzdano manji prinos od dihaploida 3N DH 17 i 3N DH 18, deriviranih iz jednog polenskog haploida iste biljke. Linija 3N 864 je u pokus uvrštena tek za usporedbu s dihaploidnim analogima, jer je potomstvo 2/54 biljke već u ranim generacijama, prema izgledu ocijenjeno kao loše. Ona je cvala značajno ranije od dihaploidnih analoga. Ranija cvatnja ovog kultivara, međutim, kao ni ranija cvatnja 3N DH 13 nema gospodarsku vrijednost. Linija 3N 864 je 20 cm niža od dihaploidnog analoga i ima manje listova što se očitovalo u prinosu.

Populacije 2/12, 2/16, 2/30 i 2/54 činilo je najmanje 40 biljaka, između kojih je napravljen prvi izbor. Populacije F3 generacije 2/12-3/1, 2/16-3/1, 2/30-3/1 i 2/54-3/1 također su imale najmanje po 40 biljaka, i među njima je ponovno napravljen izbor. Svaka testirana linija odabrana je prema unaprijed utvrđenim kriterijima između 80 ponuđenih. Za dihaploide je to bio prvi izbor u poljskim uvjetima, stoga veći udjel gospodarski neprihvatljivih kultivara nije neočekivan. Može se reći da je izbor prema izgledu dobro napravljen, osim u populaciji 2/54 (3N 864, tablica 3). Linije odabrane u ostalim populacijama imaju veći prinos od dihaploidnih analoga: 3N 522 do 3N 525 (tablica 2), odnosno veću prosječnu cijenu: 3N 631 do 3N 633 (tablica 1), ili oboje: 3N 714 i 3N 715 (tablica 3). Iako bolje od dihaploidnih analoga one nemaju gospodarsku vrijednost. Prema izgledu te linije nisu obećavale dobra gospo-

darska svojstva, no u pokus su uvrštene radi usporedbe s polenskim dihaploidima. Može se reći da su skromne vrijednosti dihaploida prvenstveno posljedica skromnih gospodarskih vrijednosti genetskog sadržaja F2 biljaka od kojih su izvedeni.

Upotrebljivost metode diploidizacije polenskih haploida u proizvodnji gospodarski vrijednih kultivara duhana, mogla bi se objektivno ocijeniti tek da je od svake F2 biljke bilo uzgojeno ne manje od 80 dihaploida, i da je među njima napravljen izbor. Kad ne bi bilo jedinki jednakih ili boljih od linija uzgojenih pedigree metodom, moglo bi se govoriti o nedostacima metode.

Klasični oplemenjivački postupci zahtijevaju pretraživanje populacije F2 generacije od najmanje 2 000 biljaka. Slično je i s brojem testiranih dihaploida. Da je na testiranje ponuđeno 1 718 dihaploida, koliko je bilo uzgojeno haploida (Čurković-Perica i Mihaljević, 1992.), vjerojatnost da se pojavi kultivar zadovoljavajućih svojstava bila bi gotovo sto puta veća.

Može se reći da je gospodarska vrijednost dihaploida bila određena genetskim sadržajem polena. Za razliku od Schull i sur., 1980., nije ocijenjeno da je postupak uzgoja polenskih dihaploida neprikladan za proizvodnju homozigotnih kultivara duhana.

ZAKLJUČAK

Niti jedan od 19 uzgojenih dihaploida nije bolji od standarda, te nema komercijalnu vrijednost.

Dihaploidi 3N DH 12 i 3N DH 15 nisu imali simptoma s TMV i PVY, kvalitetom i prinosom su bolji od GV3 linije. Bit će testirani kao oplemenjivačke linije.

Dihaploidi 3N DH 17 i 3N DH 18 imali su veći prinos i od oba roditelja i od "Drave", te postojeće mišljenje, da je redukcija prinosa imanentna metodi diploidizacije polenskih haploida, nije potvrđeno.

LITERATURA

- Arcia M.A., E.A. Wernsman, L.G. Burk, 1978.: Performance of Anther-Derived Dihaploids and Their Conventionally Inbred Parents as Lines, in F1 Hybrids, and in F2 Generations. *Crop Sci.* 18: 413-418.
- Blanchard D., G. Ano, B. Cailleteau, 1995.: Etude du pouvoir pathogene sur Tabac: proposition d'une classification integrant la resistance a la necrose. *Ann. Tabac, Sect. 2*, 43-50.

- Burk, L.G., J.F. Chaplin, G.V. Gooding, N.T. Powell, 1979.: Quantity production of haploids from multiple disease resistant tobacco hybrid. 1. Frequency of plants with resistance or susceptibility to TMV, potato virus Y, and root knot (RK), *Euphytica* 28: 201-208.
- Cole, J., 1996.: Data highway, World tobacco for Russia and Eastern Europe, Vol 1:79.
- Cousins L., 1987.: *Alternaria* a priori for Zimbabwe's researchers, World Tobacco, May, str. 44.
- Chaplin J.F., L.G. Burk, G.V. Gooding, N.T. Powell, 1980.: Registration of NC 744 germplasm, *Crop Sci.* 20 (677).
- Chaplin J.F., L.G. Burk, 1982.: Agronomic, chemical and smoke characteristics of flue-cured tobacco lines with different levels of total alkaloids. *Bul. Spec. CORESTA, Symposium Winston-Salem*, p. 85, abstr G03. CORESTA Infobase-CD Number 1
- Čurković-Perica M., S. Mihaljević, 1992.: Selekcija haploida duhana otpornih na Y virus krumpira, *Izvešće o znanstvenom i stručnom radu u 1991. godini* (43-47), Duhanski institut Zagreb.
- Čurković-Perica M., S. Mihaljević, 1992.: Uzgoj haploidnih biljaka u uvjetima in vitro, *Agronomski glasnik*, 3 (207-214).
- Dimitrova S.K., 1990.: Study of the consolidation of haploids derived from anthers and their importance in selection. *Bul. Spec. CORESTA, Symposium Kallithea*, p. 137, abstr. A28. CORESTA Infobase-CD Number 1
- Gornik, R., K. Devčić, P. Bukovac, 1973.: Hibridne sorte virginie uzgojene u Duhanskom institutu, Zagreb, "Tutun/Tobacco", 1-12 (17-23)
- Kasperbauer M.J., G.B. Collins, 1972.: Reconstitution of Diploids from Leaf Tissue of Anther-derived Haploids in Tobacco. *Crop Sci.* 12: 98-101.
- Kozumplik. V., S. Jelaska, 1986.: Korištenje tehnike haploida u oplemenjivačkom radu, *Izveštaj o znanstvenom i stručnom radu u 1985.* (91-92), Duhanski institut Zagreb.
- Kozumplik, V., M. Boić, I. Pejić, 1992.: Oplemenjivanje duhana tipa virdžinija na otpornost na Y virus, *Sjemenarstvo* 9 (215-224).
- Lucas, G.B., 1975.: Diseases of tobacco. BCA, Raleigh, NC, USA, str. 458.
- Peedin, G.F., W.K. Collins, W.D. Smith, 1986.: Variety information, Tobacco information. (5-6), The North Carolina Agricultural extension service.
- Peedin, G.F., W.D. Smith, W.K. Collins, 1987.: Variety information, Tobacco information (5-6), The North Carolina Agricultural extension service.
- Rowe, D.G., G.R. Gwynn, 1983.: Modeling of genetic effects with divergent selection for yield in tobacco dihaploids. *Tob. Sci.* 27:95-98.
- Rufty R.C., E.A. Wernsman, C.E. Main, G.V. Gooding, Jr., 1990.: Registration of NC-BMR 42 and NC-BMR 90 germplasm lines of tobacco. *Crop Sci.* 30:241.

- Schnell, R.J. II, E.A. Wernsman, L.G. Burk, 1980.: Efficiency of single-seed-descent vs anther-derived dihaploid breeding methods in tobacco. *Crop Sci.* 20:619-622.
- Schnell, R.J., E.A. Wernsman, 1986.: Androgenic Somaclonal Variation in Tobacco and Estimation of its Value as a Source of Novel Genetic Variability. *Crop. Sci.* 26:84-88.
- Schiltz, P., G. Hitier, F. Cazamajur, 1975.: Utilisation de l'androgenese au cours de la selection de *Nicotiana tabacum*, *Ann. Tabac.* 12, Sect. 2, 11-17.
- Šmalcelj, B., V. Kozumplik, 1984.: Proizvodna podobnost novih genotipova duhana, Izvještaj o znanstvenom i stručnom radu 1983. god., str., 26., Duhanski institut Zagreb
- Šmalcelj, B., V. Kozumplik, M. Berdin., 1988.: Oplemenjivački program, Pitomača, 1987., Izvještaj o znanstvenom i stručnom radu u 1987. god. str. 69. Duhanski institut Zagreb.
- Šmalcelj, B., 1988.: Kemijski sastav flue-cured duhana sorte Drava i linije GV3, *Agronomski glasnik* 5(19-24).
- Šmalcelj, B., D. Brozović, V. Kozumplik. 1989.: Opelemljenjivački program, Pitomača, 1988., Izvještaj o znanstvenom i stručnom radu u 1988. god., str. 25., Duhanski institut Zagreb
- Šmalcelj, B., 1989.: Observation of different tolerances of some flue-cured genotypes to PVY and TMV in the conditions of natural infection in the field. CORESTA Meet. Agro-Phyto Groups, Cesme, 1989. CORESTA B. d'Inf. 4 Abstr. No 4869.
- Šmalcelj, B., 1992.: Ocjena otpornosti linije GV3 prema PVY u uvjetima prirodne infekcije u polju, *Tutun/Tobacco Vol.* 42 (115-118).
- Šmalcelj, B., 1995.: Neka svojstva linija flue-cured duhana izdvojenih u potomstvu GV3 x NC 13, Izvješće o znanstvenom i stručnom radu u 1994. godini, Vol. 20 (93-101), Duhanski institut Zagreb
- Veličan I., 1977.: Uzgoj haploida vrste *Nicotiana tabacum* L. metodom kulture antera in vitro, magistarski rad, Centar za postdiplomski studij Sveučilišta u Zagrebu.
- Verrier, J.L. 1995.: PVY Collaborative experiment, Phytopathology group, CORESTA, ITB, Bergerac.
- Witherspoon, W. D. Jr., E.A. Wernsman. 1989.: Feasibility of Selection for Quantitative Traits among Haploid Tobacco Sporophytes. *Crop Sci.* 29: 125-129.

Adresa autora - *Author's address:*

Primljeno: 10. II 1996.

Dr. sc. Blažica Šmalcelj
Duhanski institut, Zagreb
Zagreb, Planinska 1