

A. UJEVIĆ, RUŽA STEVANOVIĆ

UPOTREBLJIVOST FLUORESCENTNOG LOLIUM TESTA

U V O D

Sjeme talijanskog ljulja (*Lolium italicum* resp. *Lolium multiflorum*) razlikuje se morfološki od sjemena engleskog ljulja (*Lolium perenne*) po tome što je obuvenac (*Palea inferior*) osat, što nije slučaj sa sjemenom engleskog ljulja (Wittmack, 1922). Doista se kasnijim zapažanjima utvrdilo da postoje tri forme talijanskog ljulja dugoosati, kratkoosati i bezosati. Tako i kod dugoosatih formi od 5 do 9 dozrelih sjemenki, najčešće 1 - 2 sjemenke na unutarnoj strani klasića (uz klasno vreteno) nemaju osje, pa prema tome oko 20 % sjemenki talijanskog ljulja praktički se ne razlikuje od engleskog ljulja često su kratkoosate što opet dovodi do zabune i poteškoća prilikom determinacije i ispitivanja čistoće sjemena. Osje talijanskog ljulja otpada u procesu dorade i time je posebno otežan rad na utvrđivanju čistoće sjemena u laboratoriju. Genter (1929), otkrio je fenomen fluoresciranja bijelog filtera papira na kome su klijale sjemenke talijanskog ljulja, ako su klice prethodno bile izložene djelovanju ultravioletnog svjetla. Naprotiv kad je sjeme engleskog ljulja podvrgao istom postupku nije došlo do pojave fluoresciranja. Izgledalo je da više nema problema s utvrđivanjem primjesa talijanskog ljulja u engleskom koji je mnogo skuplji.

Daljnja istraživanja (Mercer, S.P. i Lineham, P.A. 1931; Darph Petersen, K. 1934; Nieser, O. 1953; Dales, H. 1953; Schmidt, H. 1956) pokazala su različita iskustva i rezultate ispitivanja.

Vrijednost Lolium — testa izučavana je u Zavodu za ispitivanje sjemena i rezultati ispitivanja iskazani su tabelarno.

M A T E R I J A L I

Da bi se mogla odrediti florescentna odnosno neflorescentna svojstva ljuljeva mi smo u ispitivanje uzeli genetski čiste uzorke talijanskog i engleskog ljulja, od Instituta za oplemenjivanje i proizvodnju bilja (Zagreb) a radi komparacije rezultate ispitivanja uzimali smo uzorke trgovačkog sjemena koje je u prometu dolazilo putem »Agrariacoop« u Zagrebu. Kao genetski čist materijal imali su superelite talijanskog i engleskog ljulja. Ispitano je ukupno 40 uzoraka.

M E T O D R A D A

Tehnički postupak bazira na modificiranom Gentnerovom fluorescentnom testu (Dales H., 1953), a sastoji se u slijedećem: Na plastične ploče

Ante UJEVIĆ, dipl. inž., Ruža STEVANOVIĆ, dipl. inž., FPZ-OOUR
Institut za oplemenjivanje i proizvodnju bilja, Zavod za ispitivanje sjemena

dimenzija 49,5 x 12 cm stavi se filter papir s jedne i druge strane tako, da za 2 do 3 cm prelazi donji rub koji ulazi u vodu, kako bi se osiguralo dovoljno navlaživanje cijelog filtera papira. Na prethodno navlaženi filter papir polaže se po sredini 50 sjemenki ljujla u istoj liniji, preko kojih se položi uska traka od 2 cm filter papira, da se osigura fiksiranje sjemenki na određenom položaju. Podloga od filter papira sa sjemenkama s jedne i druge strane i trakama preko sjemenki učvršćuju se sa strane i u sredini elastikama. Položaj i poredak sjemenki omogućuje, zbog svojstva geotropizma, vertikalni rast korjenčića. Dva uloška služila su nam za jedan uzorak sjemena, prema tome smo imali repeticije 4 x 50 tj. 200 sjemenki ljujla (na 2 uloška). Ovako priređeni ulošci ulažu se u limene posude dimenzija 50 x 33 x 5 koje se napunjene vodom do 3 cm visine.

Na užim stranama ove posude nalaze se 16 koso postavljenih žljebova 2,5 cm visine u koje se stavljaju ulošci priređeni na opisan način, a čitavi ovaj uređaj stavlja se u Rodewaldov aparat iz kojega je odstranjen pijesak, gdje je osigurana intermitirajuća temperatura od 20 do 30°C. Nakon 7 dana pristupili smo prvom ocjenjivanju klica na fluorescentnost na način, da su ulošci izloženi djelovanju ultravioletnih zraka kvarcne lampe tipa Hanovia, u odsustvu dnevnog svjetla. Maksimalni intenzitet radijacija ultravioletne lampe kretao se u granicama 3.600 — 3.700 Ångstr. jed. (Å.U.).

Nakon 2 do 3 minute mogle su se zapaziti fluorescentne linije pod ko-rijenom koje smo obilježavali crvenom olovkom. Postotak neisklijalih i abnormalnih klica bilježili smo nakon 12 dana, kada se vrši konačno utvrđivanje rezultata fluorescentnih i nefluorescentnih korjenčića. Najprije smo vršili ispitivanja na genetski čistom materijalu super-elite engleskog paralelno sa superelitom talijanskog ljujla, i poslije u istoj kombinaciji ispitivali smo trgovačko sjeme talijanskog i engleskog ljujla.

REZULTATI ISPITIVANJA I DISKUSIJA

U slijedećoj tabeli prikazani su rezultati ispitivanja.

Iz rezultata dosadašnjih ispitivanja vidljivo je da genetski čisti materijal talijanskog ljujla ne pokazuje 100 % svojstvo fluorescencije. Naprotiv genetski čisti engleski ljujla gotovo 100 % ne fluorescira.

Dakle, kada bi talijanski ljujla 100% ili približno 100% fluorescirao i kada bi to svojstvo zadržao i u trgovačkoj robi (pod uvjetom da isto tako engleski ljujla zadrži 100% svojstvo nefluoresciranja), onda bi jedino bilo moguće da se na osnovu ove metode egzaktno odredi **primjesa talijanskog ljujla u engleskom ljujlu**. Po svemu izgleda da su ove pojave vezane uz biološko svojstvo dužine života engleskog odnosno talijanskog ljujla. Budući da ni kod engleskog ljujla nije isključiva mogućnost pojave fluorescentnog svojstva, to se jedino da protumačiti kao posljedica hibridizacije s talijanskim ljujlem. Odnosno, pojava nefluoresciranja kod talijanskog ljujla je uzrokovana hibridizacijom s engleskim ljujlem, tim više što naš talijanski ljujla nije čista dvogodišnja kultura, već stalno pokazuje tendenciju razvitka u višegodišnju kulturu. Dobiveni su rezultati dovoljni indikator za praktično rutinsko određivanje, te na temelju ovih rezultata možemo zaključiti slijedeće:

Red. br. uzorka	Superelita talijanski		engleski		Trgovački talijanski		ljulj engleski	
	Iskljalo %	Fluores. %	Iskljalo %	Fluores. %	Iskljalo %	Fluores. %	Iskljalo %	Fluores. %
1.	90	54	90	∅	66	44	84	∅
2.	94	56	90	∅	68	50	86	1
3.	82	52	80	∅	70	42	84	6
4.	70	54	85	∅	54	26	82	∅
5.	84	52	88	1	90	48	86	2
6.	86	50	90	1	78	48	78	2
7.	86	46	78	∅	72	14	74	∅
8.	82	44	92	∅	72	34	88	∅
9.	—	—	—	—	76	36	68	1
10.	—	—	—	—	72	38	86	2
11.	—	—	—	—	52	30	76	∅
12.	—	—	—	—	56	34	84	2
x	25	51	86,63	1,25	68,83	37	81,3	1,33

Z A K L J U Ć C I

Pojava fluorescentnosti inherentno je svojstvo talijanskog ljulja, iako to svojstvo ne pokazuje 100% u pokusima, jer npr. od 90% iskljanih sjemenki superelite talijanskog ljulja fluorescira je 54%, a od 90% iskljanih sjemenki talijanskog ljulja (trgovačkog) fluorescira je 48%, odnosno u prosjeku svih vrijednosti super-elite talijanskog ljulja od iskljanih 84,25% fluorescira je 51%, odnosno 60,5% u odnosu na 84,25% iskljanih.

Od trgovačkog sjemena od iskljanih 68,83% fluorescira je 37%, odnosno 53,76% na bazi 68,83% iskljanih.

\bar{x} super-elite engleskog ljulja iznosio je svega 0,25% fluorescentnih sjemenki što se praktički može zanemariti, a u trgovačkom sjemenu \bar{x} iznosio je 1,33%.

Prema tome fluorescentnim Lolium-testom moguće je verificirati kvalitet sjemena engleskog ljulja, jer ako bi npr. u partiji sjemena engleskog ljulja fluorescira 10% klica to bi upućivalo na to da je približno 20% sjemena talijanskog ljulja sadržano u toj partiji engleskog ljulja (Šatović, 1975).

S A Ž E T A K

Ispitano je 8 uzoraka super-elite sjemena talijanskog ljulja i 8 uzoraka super-elite sjemena engleskog ljulja. Paralelno uz ovakav genetski čist materijal ispitivani su i uzorci trgovačkog sjemena (engleskog i talijanskog ljulja po 12 uzoraka svake vrste) po fluorescentnoj Lolium-test metodi.

Rezultati ispitivanja su potvrdili svojstvo klica engleskog ljulja, da ne fluoresciraju pod određenim ultra-violetnim svjetlom, za razliku od talijanskog ljulja koji u ukupnom prosjeku super-elite fluorescira s 51% odnosno 60,5% ako se računa od 84,25% iskljanih sjemenki.

Engleski ljulj je pokazao minimalnu fluorescentnost svega 0,25% u genetski čistome materijalu, odnosno 1,33% u trgovačkom sjemenu.

Pokusi su potvrdili upotrebljivost *Lolium*-testa za zaštitu kvaliteta sjemena engleskog ljulja.

LITERATURA

1. **Brouwer W. Stählin, A. 1955.:** Handbuch der Samenkunde für Landwirtschaft, Gartenbau und Forstwirtschaft — DLG — Verlag — GMBH, Frankfurt am/Main.
2. **Dales, H. — 1953.:** Technique of the Gentner fluorescence test, a suggested modification Proceedings of the ISTA, 18 2:263-266.
3. **Dorph Peterson, 1934.:** Examination of ryegrass (*Lolium* species) on ultra-violet light, made at the Danich seed testing station. Proc. Int. Seed Test. Ass. 6 446-449.
4. **Dörtner, K. 1968.:** Das Bestimmen der Samen von Gräsern ins Schmetterlingsblutern — VEB.
5. **Gentner, G. 1929.:** Ueber die Verwendbarkeit von ultravioletter Strahlen bei der Samenprüfung. Prakt. B1 f. Pflz. bau u. Pflz. chütz VI.
6. **Hayes, Z. 1965.:** Accuracu of the Gentner fluorescence test as carried out by ISTA procedure. Proc. Int. Seed Test. Ass. (30) 617-624.
7. **Hellbo, E. 1926.:** The distinction between the seeds of talian reygrass and perennial ryegrass and betwen seeds of ryegrass and medaw fescue. Internat. Seed. Assoc. Proc. (2) : 6-16.
8. **Justice, O. L. 1946.:** Areview of literature and the use the fluorescence test for the classification of *Lolium* species and hybrids. Assoc. off. Seed Anal. Proc. (36) : 86 : 93.
9. **Nieser, O. 1953.:** Untersuchungen zu den Fluoreszenzerscheinungen Der Keimpflanzen von *Lolium* spp. im ultravioletten Licht. Proc. Int. Seed Test. Ass. (18) 2 : 256-262.
10. **Nillson. Leisner, 1951.:** Determination of variety and strain in the laboratory and in the field. Internat. Seed Test. Assoc. Proc. 16 : 350-351.
11. **Schmidt, H. H. 1956.:** Untersuchungen zu den Fluoreszenzerscheinungen der Keimpflanzen von *Lolium* im ultravioletter Der Züchter 26-3, p. 83-88.
12. **Šatović, F. 1957:** Proizvodnja travnog sjemena, Zagreb.
13. **Ujević, A. — Kovačević, J. 1972.:** Ispitivanje sjemena, Zavod za ispitivanje sjemena, Zagreb.
14. **US — Department of Agriculture 1952.:** Agriculture Handbook No. 30 Manual for Testing Agricultural and Vegetable Seeds.
15. **Witmack, Ludwig 1922.:** Landwirtschaftliche Samenkunde — Paul Parey, Berlin.