

Dr Nevenko Fazinić,
Institut za VVVV, Poljoprivrednog fakulteta, Zagreb

UTJECAJ RADIOAKTIVNOG ZRAČENJA I MUTAGENIH SUPSTANCI NA VEGETATIVNI POTENCIJAL LOZNIH CIJEPOVA

UVOD

Primjena radioaktivnih zračenja i mutagenih supstanci u selekciji dugogodišnjih kultura kratkog je vijeka, prema tome su i rezultati dobiveni na tom području prilično skromni i oskudni. Osnovni cilj tretiranja pojedinih biljnih organa radioaktivnim zračenjima ili mutagenim supstancama, sastoji se u induciranju mutacija sa ciljem da dođe do izmjene nasljednih svojstava koja se mogu manifestirati u većoj rodnosti, boljoj kvaliteti proizvoda, većoj otpornosti prema smrzavicama gljivičnim bolestima ili prema izmjeni nekog drugog svojstva koje može biti od privrednog značaja.

Radioaktivnim zračenjima i tretiranjem mutagenim supstancama mogu nastati promjene u tom smislu da dobiveni mutanti predstavljaju **novostvorene sorte** sa boljim biološkim i privredno-tehnološkim svojstvima.

Ako se uzme u obzir, da su pojave prirodnih mutacija kod vinove loze dosta rijetke, onda nije teško uočiti od kolikog bi značaja bilo u oplemenjivanju vinove loze doći do načina i metoda koje bi osiguravale veću pojavu mutacija.

Tetraploidne forme spontanijih mutacija kod vinove loze poznate su već dugo vremena. Spomenimo **Muškat Cannon Hall, Chasselas gros Coulard, Sultaninu Gigas** pa **Eaton** kao tetraploidne forme **Muškata Aleksandrijskog, Plemenke bijele, Sultanine bijele** i **Concorda**. Poznate su i mutacije kod sorata: **Carignan, Cabernet Sauvignon (Olmo), Rizling rajnski, Silvanac, Muller-Thurgau (Wagner)** i dr. kao i poliploidne pojave kod nekih sorata vinove loze izazvane tretiranjem pupova kolhicinom (Lelakis).

Boubals je u Montpellieru zračio sjeme sorte **Clairette bij.** gama zrakama i jednako tako tretirao ga nekim mutagenim supstancama. **Pouget i Rives** u **Bordeauxu** su to isto radili, ali ne sa sjemenkama već s reznicama najinteresantnijih sorata vinove loze područja **Bordeauxa**, stojeći na stanovištu da je većina sorata vinove loze izrazito heterocigotna, pa će i prenašanje svojstava, kako morfološkog tako i fiziološkog karaktera, biti sigurnije i vjernije ako se tretiraju pupovi a ne sjemenke.

Cilj našeg rada sastojao se u tome da ispitamo utjecaj gama zraka i nekih mutagenih supstanci na pojave mutacija kod sorte **Graševina bijela** imajući u vidu ogroman privredni značaj eventualnog poboljšanja svojstava kod ove sorte kao nosioca sortimenta sjeverne Hrvatske.

U prvoj fazi rada ispitali smo utjecaj radioaktivnih zračenja i mutagenih supstanci na vegetativni potencijal loznih cijepova **Graševine bijele**.

U narednoj fazi, koja je otpočela sadnjom zračenih odnosno mutagenim supstancama tretiranih cijepova **Graševine bijele** u novopodignutom nasadu, ispitivanja će se nastaviti i proširiti. U toj fazi ispitivanja će dobiti znatno veći značaj, jer će biti usmjerena u pravcu otkrivanja mutacija, ispitivanja njihovog karaktera kao i determiniranja njihovog značaja, naročito ako se bude radilo o promjenama koje mogu imati privredno-tehnološki značaj.

MATERIJAL I METOD RADA

Kao osnovni materijal poslužili su jednogodišnji cijepovi sorte **Graševina bijela** na podlozi **Berlandieri x Riparia 5BB** proizvedeni u rasadniku »Plješivica« u Jastrebarskom.

Oni su podvrgnuti dvojakom tretiranju:

- a) **zračenju** gama zrakama iz izvora Cobalt 60 različitih doza;
- b) **tretiranju mutagenim** supstancama.

Zračenje je obavljeno 17. III 1964. god. u Institutu za nuklearne nauke »Boris Kidrič« u Vinči sa slijedećim dozama: 1500, 2000, 2500, 3000 i 3500 rad-a uz brzinu doze 685 rad/h. Kod svake doze je zračeno po 100 kom. cijepova. Neposredno prije zračenja cijepovi su bili pripremljeni na uobičajeni način kao prije sadnje.

Tretiranje mutagenim supstancama je izvršeno u Institutu za VVVV, Polj. fakulteta u Zagrebu ovako: etil-metan sulfanatom (MSE) 1 i 2‰. Prijašnjih godina smo ispitivali i utjecaj dietil-sulfata, no kako tretiranje s ovom mutagenom supstancom nije na cijepovima izazvalo nikakve morfološke promjene koje bi nagovještavale mutacije, to smo u ovim ispitivanjima isključili tretiranje dietil-sulfatom. Obje mutagene supstance izrađene su u istraživačkom Institutu »Pliva« Zagreb. Lozni cijepovi su prethodno pripremljeni na uobičajeni način kao prije sadnje i umakani su u spomenutu koncentraciju mutagenih supstanci u trajanju od 24 h na temperaturi od 22°C. Kod svake doze tretirano je po 225 kom. cijepova.

Nakon zračenja, odnosno tretiranja mutagenim supstancama, svi lozni cijepovi, uključivo 100 kom netretiranih koji su poslužili kao kontrola, posađeni su u prporištu gdje su im pod istim uvjetima pružene sve mjere agrotehnike.

U toku vegetacije vršena su motrenja pojava anomalija na pojedinim organima.

Nakon vađenja cijepova iz prporišta vršena su na njima slijedeća ispitivanja:

- 1) utvrđivanje utjecaja doze zračenja i mutagenih supstanci na prijem loznih cijepova;
- 2) utvrđivanje utjecaja doze zračenja i mutagenih supstanci na težinu loznih cijepova;
- 3) utvrđivanje utjecaja doze zračenja i mutagenih supstanci na duljinu i težinu korijenja;
- 4) utvrđivanje utjecaja doze zračenja i mutagenih supstanci na duljinu i težinu mladica.

Metodika ispitivanja pojedinih svojstava prikazana je u poglavlju rezultata ispitivanja.

REZULTATI ISPITIVANJA

1. Utvrđivanje utjecaja doze zračenja i mutagenih supstanci na prijem loznih cijepova

Podaci na tabeli br. 1 pokazuju da su različite doze zračenja gama zrakama, odnosno tretiranja mutagenim supstancama imale vidan utjecaj na prijem loznih cijepova.

Zračenje gama zrakama, odnosno tretiranje mutagenim supstancama djelovalo je ovisno o dozama negativno na postotak prijema loznih cijepova u odnosu na kontrolu bez tretiranja.

Tabela br. 1

Doza	Tretirano komada	Posađeno komada	Primljeno		Uginulo	
			kom	%	kom	%
1500 rad-a	100	100	77	77	23	23
2000 rad-a	100	100	76	76	24	24
2500 rad-a	100	100	56	56	44	44
3000 rad-a	100	100	47	47	53	53
3500 rad-a	100	100	34	34	66	66
MSE 1 ‰	225	225	204	90,6	21	9,4
MSE 2 ‰	225	225	199	88,4	26	11,6
Kontrola	100	100	98	98	2	2

Znači, da ni jedna doza ne samo da nije stimulatивно djelovala na prijem, nego se nije ni približila kontroli.

Postotak uginuća loznih cijepova rastao je povećanjem doze zračenja, pa je kod 1500 rad-a iznosio 23%, kod 2500 rad-a 44%, a kod 3500 rad-a čak 66%.

Postotak uginuća loznih cijepova pri tretiranju mutagenim supstancama bio je znatno manji i iznosio je 9,4% kod tretiranja MSE 1 ‰, a 11,6% kod MSE 2 ‰.

Kod kontrole je postotak uginuća iznosio svega 2% što se može smatrati u granicama normale iz čega se moglo zaključiti da je upotrebljeni sadni materijal bio kvalitetan.

2. Utvrđivanje utjecaja doze zračenja i mutagenih supstanci na težinu loznih cijepova

Težina loznih cijepova varirala je ovisno o dozi zračenja odnosno o tretiranju mutagenim supstancama. Pri tome su najveću prosječnu težinu imali lozni cijepovi kontrole, dok se kod zračenih varijanata povećanjem doze zračenja pravilno umanjivala prosječna težina loznog cijepa. Ovo umanjenje težine posljedica je slabljenja habitusa loznog cijepa, koje se manifestiralo u slabijem rastu i razvitku mladica i korijenovog sistema. U kojoj mjeri se to slabljenje manifestiralo bit će vidljivo kasnije iz podataka mjerenja ovih pojava.

Tretiranje etil-metan-sulfanatom u koncentraciji od 1 ‰ nije dalo nikakve promjene koje se odnose na prosječnu težinu cijepa, dok je koncentracija od 2 ‰ imala za posljedicu neznatno smanjenje prosječne težine loznih cijepova.

Iz tabele broj 2 proizlazi da je najveću prosječnu težinu jednog cijepa imala kontrolna varijanta u vrijednosti od 4,1 dkg. Jednaku vrijednost je imala varijanta MSE 1 ‰. Varijanta MSE 2 ‰ je imala jednaku vrijednost, tj. 3,8 dkg kao i varijanta zračenja sa 1500 rad-a. Najmanja prosječna težina cijepa je ustanovljena kod varijante od 3500 rad-a. (3,1 dkg).

Tabela br. 2

Doza	Analizirano		Ukupna težina u dkg	Ø težina jednog cijepa u dkg
	kom.	%		
1500 rad-a	77	77	292	3,8
2000 rad-a	76	76	281	3,7
2500 rad-a	56	56	190	3,4
3000 rad-a	47	47	165	3,5
3500 rad-a	34	34	105	3,1
MSE 1 ‰	204	90,6	401	4,1
MSE 2 ‰	199	88,4	836	3,8
Kontrola	98	98	401	4,1

3. Utvrđivanje utjecaja doze zračenja i mutagenih supstanci na dužinu i težinu korijenja

Već smo naglasili, da je umanjeње prosječne težine zračenih cijepova u odnosu na kontrolu posljedica slabijeg rasta i razvitka korijenovog sistema i mladica kod zračenih varijanata. Podaci na tabeli broj 3 bolje će objasniti tu pojavu.

Tabela br. 3.

Doza	Ø težina jednog cijepa dkg	Ø dužina postranog korijenja cm	Ø težina odbačenog dijela korijenja u g
1500 rad-a	3,8	18,0	0,52
2000 rad-a	3,7	13,2	0,43
2500 rad-a	3,4	11,8	0,28
3000 rad-a	3,5	7,6	0,27
3500 rad-a	3,1	6,8	0,28
MSE 1 ‰	4,1	25,8	1,45
MSE 2 ‰	3,8	23,8	1,20
Kontrola	4,1	18,8	0,94

Dakle, podaci pokazuju da je prosječna duljina postranog korijenja, kao i težina odbačenog dijela korijenja, bila to manja što je doza zračenja bila veća. Pri tome vrijednosti ni jedne varijante zračenja nisu dosegle vrijednost kontrolne varijante. Kod kontrolne varijante prosječna je vrijednost duljine postranog korijenja iznosila 18,8 cm, a težina odbačenog dijela korijenja 0,94 g po loznom cijepu pripremljenom za sadnju. Međutim, iste vrijednosti iznosile su kod varijante od 1500 rad-a. 18,0 cm, odnosno 0,52 g, opadajući postepeno povećanjem doze zračenja da bi kod maksimalne doze od 3500 rad-a iznosile samo 6,8 cm odnosno 0,28 grama. Pri tome se moglo konstatirati da su kod varijanata zračenja 2000, 2500, 3000 i 3500 rad-a uočene pojave sušenja postranog korijenja koje se razvilo u prethodnoj godini. Čim je doza zračenja bila veća, tim su bile uočljivije i pojave vrlo slabog rasta i razvitka novog postranog korijenja.

Međutim, kod tretiranja etil-metan-sulfonatom (MSE) moglo se ustanoviti da je ova mutagena supstanca pokazala stimulatívno djelovanje na rast i razvitak korijenovog sistema u odnosu na kontrolnu varijantu. Kod tretiranja

MSE u koncentraciji od 1‰ prosječna duljina postranog korijenja dosegla je 25,8 cm a težina odbačenog, tj. orezanog korijenja, 1,45 g, što je za 37% više od kontrolne varijante za dužinu postranog korijenja odnosno za 54% više za težinu odbačenog korijenja. Kod koncentracije od 2‰ ove su varijante bile nešto niže, tj. 23,8 cm i 1,20 grama.

4. Utvrđivanje utjecaja doze zračenja i mutagenih supstanci na dužinu i težinu mladica

Pored duljine i težine postranog korijenja, dužina i težina mladica je drugi osnovni faktor na temelju kojeg se može ocijeniti vegetativni potencijal loznog cijepa. Ispitivanje ovih vrijednosti je pokazalo da je, kako dužina mladica tako i težina odbačenog dijela mladica, nakon rezidbe kao pripreme za sadnju bila tim manja, što je doza zračenja bila veća.

Doza	Ø dužina mladica cm	Ø težina odbačenog dijela mladica u g
1500 rad-a	31,8	3,20
2000 rad-a	24,6	2,89
2500 rad-a	19,5	2,14
3000 rad-a	18,8	2,02
3500 rad-a	14,4	2,02
MSE 1‰	39,1	4,52
MSE 2‰	38,7	4,42
Kontrola	40,8	5,62

Dužina mladica je bila najveća kod kontrolne varijante i iznosila je prosječno 40,8 cm. Kod tretiranja mutagenim supstancama ove su se vrijednosti nešto umanjile. Međutim, kod zračenih varijanata je došlo do znatnog umanjenja dužine mladica. U odnosu na kontrolnu varijantu umanjenje dužine mladica je iznosilo 23% kod doze od 1500 rad-a, 54% kod doze od 2000 rad-a, a 65% kod 3500 rad-a.

Isto je tako težina orezanog dijela mladica pred ponovnu sadnju bila tim manja, što je doza zračenja bila veća.

5. Pojava anomalija na pojedinim organima

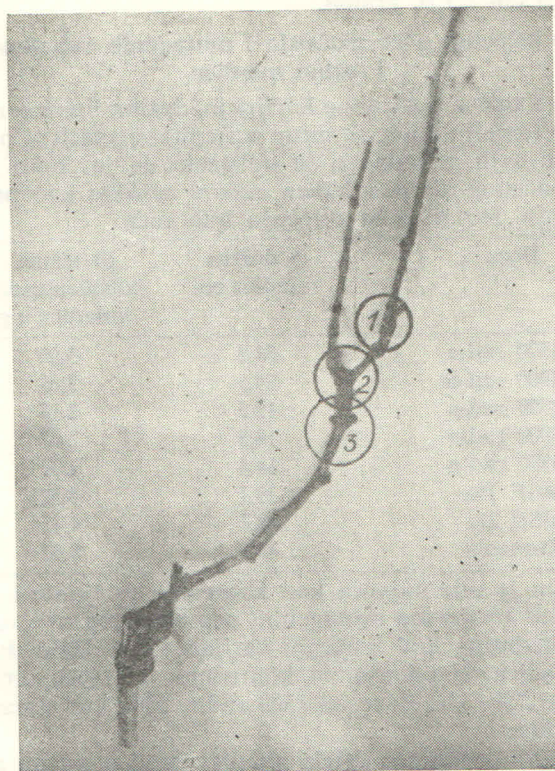
U toku vegetacije, kao i nakon vađenja cijepova iz prporišta, vršena su promatranja koja se odnose na pojave anomalija kod pojedinog organa kao posljedice zračenja, odnosno tretiranja mutagenim supstancama.

Ove anomalije su se manifestirale u morfologiji lišća i mladica. Kod lišća su zapažene promjene oblika plojke koja je mjestimično postala vrlo nepravilnog oblika, a k tome i manja, zatim u pojavama asimetričnosti plojke i pojave mosaika. Kod mladica smo uočili pojave mjestimičnog zadebljanja u obliku prstena i bifurkacije mladica.

Prema mišljenju nekih autora (Domergues, Rives, Pouget) ove i slične morfološke promjene redovno prate mutacije, što je Domergues i dokazao kod zračenja odnosno tretiranja mutagenim supstancama sadnica krušaka.

Mogli smo ustanoviti da su ovakve pojave bile predstavljene u najvećoj mjeri kod varijante zračenja od 2500 rad-a i koncentracije etil-metan-sulfonata od 2‰.

Iako ove pojave nisu imale neko posebno značenje u ocjeni utjecaja doze zračenja odnosno tretiranja mutagenim supstancama na rast i razvitak loz-
nih cijepova, ipak smo njihovo evidentiranje smatrali korisnim kao eventualni indikator pojava mutacija do kojih bi moglo doći u narednim godinama.



Sl. 1 — Pojava anomalija
1 — prstenasto zaдебljanje mladice
2 — bifurkacija mladica
3 — izbijanje više pupova iz jednog nodija

ZAKLJUČAK

Ispitivanje utjecaja različitih doza zračenja loz-
nih cijepova gama zraka-
ma iz izvora Cobalt 60 kao i tretiranja etil-metan-sulfonatom ($\text{CH}_3\text{SO}_2\text{OC}_2\text{H}_5$)
kao mutagenom supstancom pokazuju:

1. Postotak prijema zračenih loz-
nih cijepova bio je tim manji, što je doza
zračenja bila veća. To isto vrijedi i za tretirane lozne cijepove etil-metan-sul-
fonatom. Pri dozi zračenja od 1500 rad-a postotak uginuća je iznosio 23% dok
se kod doze od 3500 rad-a povisio na 66%. Kod tretiranja etil-metan-sulfonatom
u koncentraciji 1% uginuće je iznosilo 9,4%, a kod koncentracije od 2% 11,6%.

Kontrolna varijanta bez zračenja odnosno tretiranja mutagenim supstan-
cama imala je 2% uginuća.

2. Težina zračenih loz-
nih cijepova bila je to manja što je doza zračenja
bila veća. Jedino tretiranje etil-metan-sulfonatom u koncentraciji od 1% dalo

je jednake vrijednosti težine kao kontrola (4,1 dkg) dok su sve ostale varijante bile slabije od kontrolne. Najmanja težina je ustanovljena kod doza zračenja od 3500 rad-a (3,1 dkg).

3. Dužina i težina korijenja zračenih loznih cijepova bila je to manja što je doza zračenja bila veća.

Međutim, kod tretiranja etil-metan-sulfonatom u obje koncentracije (1 i 2‰) moglo se ustanoviti stimulatívno djelovanje koje se manifestiralo u većoj dužini i težini korijenja u odnosu na kontrolu. Kod koncentracije od 1‰ povećanje dužine korijenja je iznosilo 37‰, a povećanje težine korijenja čak 54‰ u odnosu na netretiranu kontrolnu varijantu.

4. Dužina i težina mladica zračenih loznih cijepova bila je to manja što je doza zračenja bila veća.

U usporedbi s kontrolnom varijantom, vrijednosti dužine i težine mladica cijepova tretiranih etil-metan-sulfonatom bile su tek nešto manje, dok je dužina mladica kod zračenih varijanata bila za 23‰ manja kod doze od 1500 rad-a, za 54‰ manja kod doze od 2500 rad-a i za 65‰ manja kod doze od 3500 rad-a. U sličnim odnosima stoje i vrijednosti koje se odnose na težinu mladica.

5. Posljedice zračenja odnosno tretiranja mutagenim supstancama manifestirale su se u anomalijama morfološke prirode na lišću i mladicama. Na lišću su zapažene pojave asimetričnosti plojke i pojave mozaika, a na mladicama pojave mjestimičnog prstenastog zadebljanja i bifurkacije.

Najveći broj ovih pojava je zapažen kod varijante zračenja od 2500 rad-a i koncentracije od 2‰ etil-metan-sulfonata.

6. Zračenje gama zrakama loznih cijepova **Graševine bijele** doza od 1500 do 3000 rad-a nije dalo pozitivne rezultate odnoseći se na rast i razvitak, tj. vegetativni potencijal loznih cijepova spomenute sorte, pa se sa toga stanovišta u određenim uvjetima ispitivanja (Graševina bijela) ova mjera ne može preporučiti.

Pozitivno djelovanje je uočeno jedino kod tretiranja etil-metan-sulfonata na rast i razvitak korijenovog sistema. Stimulatívno djelovanje ove mutagene supstance bit će provjereno u narednim ispitivanjima.

Ispitivanjem utjecaja radioaktivnih zračenja i mutagenih supstanci na vegetativni potencijal loznih cijepova i na neke pojave anomalija na pojedinim organima završena je prva faza rada.

Početak druge faze je označen sadnjom svih sposobnih cijepova na stalno mjesto na objektu »Reka« rasadnika »Plješivica« u Jastrebarskom, gdje će u toku narednih vegetacija biti podvrgnuti proširenim ispitivanjima u smislu otkrivanja mutacijskih promjena na pojedinim organima, što će doći naročito do izražaja kod dobivanja prvog uroda.

L'ACTION DES RAYONNEMENTS ET DES SUPSTANCES MUTAGÈNES SUR LE POTENTIEL VÉGÉTATIF DES GREFFÉS — SOUDÉS

Dr Nevenko Fazinić

RESUMÉ

Au cours de années 1964 et 1965 nous avons effectué à l'Institut d'arboriculture fruitière, viticulture et d'oenologie à Zagreb des recherches ayant pour but d'examiner l'action des rayonnement et des supstances mutagènes sur le potentiel végétatif des greffés — soudés de la variété Riesling italien blanc.

En deuxième fase qui commencera avec la transplantation des greffés — soudés en plein champ les recherches seront élargies en examination des mutations et d'observations détaillées.

Nous avons choisi la variété Riesling italien blanc parce que au point de vue cultural et technologique elle présente la variété la plus intéressante aux vignobles de Croatie du Nord et chaque mutation positive chez cette variété pourrait avoir une importance économique.

Greffés — soudés de la variété Riesling italien blanc sur porte greffe Berlandieri x Riparia 5BB étaient traités en deux manières:

a) rayonnement gamma du Cobalt 60 en doses: 1500, 2000, 2500, 3000 et 3500 rad.

b) Immersion pendant 24 heures en 22°C dans la solution du méthane sulfonate d'éthyle 1 et 2‰.

En résumant les résultats obtenus on pouvait conclure:

1. Le pourcentage de greffés — soudés réussis après l'irradiation était tant plus petits, que la dose d'irradiation augmentait. Cela correspondait en même manière pour les greffés — soudés traités avec méthane sulfonate d'éthyle. La dose de 1500 rad a donné 23% des greffés — soudés non réussis, tandis que la dose de 3500 rad donné 66%.

Le traitement avec méthane sulfonate d'éthyle en concentration de 1‰ a donné 9,4% de greffés — soudés non réussis, la concentration de 2‰ 11,6%, tandis que le témoin avait seulement 2%.

2. Le poids des greffés — soudés irradiés était tant plus petits que la dose d'irradiation augmentait. Seulement le traitement avec méthane sulfonate d'éthyle en concentration de 1‰ a donné les mêmes résultats comme le témoin (4,1 dkg), tandis que toutes les autres variantes étaient plus faibles que le témoin.

3. La longueur et le poids de racines des greffés — soudés irradiés étaient tant plus petits que la dose d'irradiation était plus grande. Cependant chez le traitement avec méthane sulfonate d'éthyle en concentration de 1 et 2‰ on pouvait constater une action stimulante qui a donné augmentation des poids des racines de 37 jusqu'à 54% en comparaison avec le témoin.

4. La longueur des pousses et le poids du sarment des greffés soudés irradiés étaient tant plus petits que la dose d'irradiation était plus grande.

En comparaison avec le témoin la longueur des pousses était chez la dose d'irradiation 1500 rad pour 23% plus petit, chez 2500 rad pour 54% et chez 3500 rad 65% plus petit.

5. Chez les greffés — soudés irradiés, même chez les greffés soudés traités avec substances mutagènes on pouvait observer les anomalies dans la morphologie des feuilles et des rameaux. Sur les feuilles on a trouvé disymétrie du limbe et les mosaïques et sur les rameaux apparitions des épaississements et bifurcation.

Le plus grand nombre de ces apparitions ont été remarqué chez l'irradiation de 2500 rad, même chez le traitement avec méthane sulfonate d'éthyle en concentration de 2‰.

En continuant les recherches, tous les greffés — soudés réussis sont plantés dans la nouvelle plantation au domaine »Plješivica« Jastrebarsko ou ils seront l'objet des recherches élargies pendant les végétations suivantes, spécialement à reconnaître les mutations produites.