

Priježetveno prokljavanje kod različitih kultivara pšenice

Preharvest Germination in Different Wheat Cultivars

Orkić, V., Grubišić – Šestan, S., Ravnjak, B., Rebekić, A., Petrović, S., Vila, S., Kiš, D., Guberac, V., Jović, J., Kujundžić, S.

Poljoprivreda / Agriculture

ISSN: 1848-8080 (Online)

ISSN: 1330-7142 (Print)

<https://doi.org/10.18047/poljo.30.1.3>



Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Poljoprivredni institut Osijek

Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, Agricultural Institute Osijek

PRIJEŽETVENO PROKLIVAVANJE KOD RAZLIČITIH KULTIVARA PŠENICE

Orkić, V., Grubišić–Šestan, S., Ravnjak, B., Rebekić, A., Petrović, S., Vila, S., Kiš, D., Guberac, V., Jović, J., Kujundžić, S.

Izvorni znanstveni članak

Original scientific paper

SAŽETAK

Pšenica je jedna od osnovnih poljoprivrednih kultura za prehranu čovjeka te se koristi u mlinarstvu, prehrambenoj i farmaceutskoj industriji. U poljoprivrednoj proizvodnji postoje razni čimbenici koji utječu na visinu prinosa, a samim time i financijsku dobit, pa je stoga jedan od najvećih čimbenika koji stvaraju velike probleme priježetveno proklivavanje (PHS – preharvest sprouting). Stete koje nastaju uslijed PHS-a u svijetu iznose oko 1 bilijun dolara. Ciljevi istraživanja bili su sljedeći: ispitati proklivavanje na klasu nakon žetve te procijeniti varijabilnost svojstva proklivavanja na klasu uz pomoć molekularnoga markera (Vp1B3). Utvrđene su statistički značajne razlike između ispitivanih kultivara pšenice za svojstvo proklivavanja na klasu. Kod većine kultivara s nižom ocjenom proklivavanja na klasu utvrđena je prisutnost alela od 569 bp (tolerantnost na PHS), a kod većine kultivara s visokom ocjenom proklivavanja na klasu utvrđena je prisutnost alela od 652 bp (osjetljivost na PHS) na Vp1B3 lokusu.

ključne riječi: pšenica, priježetveno proklivavanje (PHS), molekularni marker

UVOD

U poljoprivrednoj proizvodnji, mnogi čimbenici imaju značajan utjecaj na visinu prinosa i financijsku dobit. Jedan od ključnih faktora koji može negativno utjecati na proizvodnju jest priježetveno proklivavanje (PHS – Preharvest Sprouting). Prema definiciji Thomasona i sur. (2019.), PHS se odnosi na prijevremeno klijanje pšeničnoga sjemena prije žetve, što rezultira klijanjem klice na nepožnjevenim klasovima na polju. Vidljivi znakovi PHS-a uključuju bubrenje sjemena, promjene boje klice, odvajanje sjemenoga omotača od jezgre te pojavu korijena i izdanka. Nonogaki i Nonogaki (2017.) ističu da PHS dovodi do smanjenja kvalitete sjemena i financijskih gubitaka za poljoprivrednike te predstavlja velik izazov za sigurnost hrane. Black i sur. (2006.) procjenjuju da globalni gubici uzrokovani PHS-om dosežu oko bilijun dolara godišnje. Ti gubici nastaju ako dođe do povećane količine oborina prije ili tijekom žetve, što rezultira produženjem vlažnih uvjeta i odgađanjem žetve. Sorrels i Sherman (2007.) naglašavaju da intenzitet i distribucija PHS-a varira svake godine ovisno o vremenskim prilikama. Još jedan problem koji proizlazi iz PHS-a jest stvaranje slobodnoga asparagina, koji pridonosi stvaranju kancerogenoga akrilamida tijekom visokih temperatura, poput pečenja kruha i drugih pekarskih proizvoda (Simsek i sur., 2014.). Nakon žetve važno je fizički i fiziološki utjecati na kvalitetu sjemena. Preuranjena ili prekasna žetva, kao i drugi čimbenici, mogu rezultirati većim gubitcima u kvaliteti tijekom skladištenja

(Deliberali i sur., 2010.). Dormantnost sjemena također igra važnu ulogu u PHS-u. Prema Yamasakiju i sur. (2019.), dormantnost sjemena je prilagodljiva karakteristika koja značajno utječe na učestalost PHS-a, to jest klijanje pšeničnih klasova prije žetve. S obzirom na značajne gubitke u prinosu i kvaliteti uzrokovane klijanjem prije žetve, razumijevanje molekularnih mehanizama koji reguliraju dormantnost sjemena ključno je za razvoj sorata pšenice koje su otporne na PHS. Molekularni markeri su se pokazali korisnima u procjeni PHS-a u pšenici. Identificirani su QTL-ovi koji su povezani s PHS-om, što pruža mogućnost boljšega razumijevanja genetske osnove ove osobine i potencijalno omogućuje selekciju biljaka s poboljšanom otpornošću na ovu pojavu (Fofana i sur., 2008.).

Cilj ovog istraživanja bio je ispitati proklivavanje na klasu te procijeniti varijabilnost svojstva proklivavanja na klasu s pomoću molekularnoga markera.

MATERIJAL I METODE

Istraživanje je provedeno na 50 kultivara ožime pšenice iz pet hrvatskih oplemenjivačkih kuća priznatih u razdoblju od 1947. do 2010. godine (Tablica 1.).

Dr. sc. Vedran Orkić (vorkic@fazos.hr), dr. sc. Sanja Grubišić–Šestan, dr. sc. Boris Ravnjak, prof. dr. sc. Andrijana Rebekić, prof. dr. sc. Sonja Petrović, prof. dr. sc. Sonja Vila, prof. dr. sc. Darko Kiš, prof. dr. sc. Vlado Guberac, doc. dr. sc. Jurica Jović, doc. dr. sc. Sunčica Kujundžić, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Vladimira Preloga 1, 31000 Osijek, Hrvatska

Tablica 1. Podrijetlo i godina priznavanja ispitivanih kultivara pšenice*Table 1. The origin and year of recognition of the tested wheat cultivars*

Kultivar / Cultivar	Godina / Year	Oplemenjivačka kuća / Breeding company
BANICA	1947.	Agronomski fakultet u Zagrebu
MURA	1967.	Agrigenetics d.o.o.
ZLATNA DOLINA	1971.	BC Institut d.d.
TENA	1973.	Poljoprivredni institut Osijek
SANA	1982.	BC Institut d.d.
ŽITARKA	1985.	Poljoprivredni institut Osijek
ADRIANA	1988.	BC Institut d.d.
ANA	1988.	Poljoprivredni institut Osijek
MARIJA	1988.	BC Institut d.d.
SRPANJKA	1989.	Poljoprivredni institut Osijek
SNAŠA	1993.	Poljoprivredni institut Osijek
CERERA	1993.	Jošt sjeme d.o.o
BC PATRIA	1994.	BC Institut d.d.
DIVANA	1995.	Jošt sjeme d.o.o.
KUNA	1995.	Agronomski fakultet u Zagrebu
MIHELCA	1996.	BC Institut d.d.
KATA	1997.	Poljoprivredni institut Osijek
KRUNA	1997.	Agrigenetics d.o.o.
FIESTA	1998.	Agrigenetics d.o.o.
KOLEDA	1998.	Jošt sjeme d.o.o.
JASNA	1999.	Poljoprivredni institut Osijek
GABI	1999.	Agrigenetics d.o.o.
LUCIJA	2001.	Poljoprivredni institut Osijek
PRIMA	2001.	BC Institut d.d.
PANONIJA	2002.	Poljoprivredni institut Osijek
BC ELVIRA	2002.	BC Institut d.d.
ALKA	2003.	Poljoprivredni institut Osijek
MARTA	2003.	Poljoprivredni institut Osijek
BELA	2003.	Agrigenetics d.o.o.
TONKA	2004.	Poljoprivredni institut Osijek
TALIA	2004.	Jošt sjeme d.o.o.
MATEA	2005.	Agrigenetics d.o.o.
KALISTA	2005.	Agrigenetics d.o.o.
HELIA	2005.	Agrigenetics d.o.o.
RENATA	2006.	Poljoprivredni institut Osijek
PIPI	2006.	Poljoprivredni institut Osijek
ILIRIJA	2006.	Poljoprivredni institut Osijek
KATARINA	2006.	Poljoprivredni institut Osijek
SEKA	2006.	Poljoprivredni institut Osijek
DONNA	2007.	Agrigenetics d.o.o.
FELIX	2008.	Poljoprivredni institut Osijek
NEVENA	2009.	Agrigenetics d.o.o.
MIA	2009.	Agrigenetics d.o.o.
UNA	2009.	Agrigenetics d.o.o.
DEA	2009.	Agrigenetics d.o.o.
NOVA ŽITARKA	2010.	Poljoprivredni institut Osijek
EMA	2010.	Poljoprivredni institut Osijek
BIANCA	2010.	Agrigenetics d.o.o.
AFZG KARLA	2010.	Agronomski fakultet u Zagrebu
AFZG KAJA	2010.	Agronomski fakultet u Zagrebu

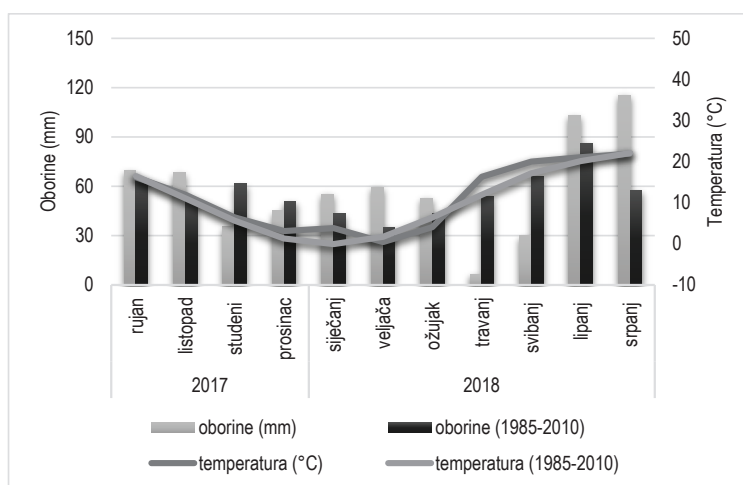
Poljski pokus

Poljski pokus postavljen je u dvjema vegetacijskim godinama (2017./2018. i 2018./2019.) na lokaciji Klisa (Osijek). Pokus je postavljen na parcelama veličine 6,25 m² dimenzija 5 m × 1,25 m. Prve vegetacijske godine kao pretkultura bila je posijana uljana repica. Osnovna obrada tla temeljila se na oranju do 35 cm te dva puta tanjuranje i rotodrljača. Gnojidba je odrađena na temelju agrokemijske analize tla te je zaorano 40 kg ha⁻¹ uree. Provedene su dvije prihrane (150kg ha⁻¹ KAN-a). Od herbicida je korišten Sekator 0,1 l/ha sredinom ožujka, a u travnju i svibnju korišteni su fungicidi (Amistar Opti 2,5 l/ha i Artea Plus 0,5 l/ha) i insekticidi (Karate Zeon 0,15 l/ha i Nurelle D 0,5 l/ha). U drugoj vegetacijskoj godini (2018./2019.) pretkultura je bila soja. Osnovnu obradu tla čini oranje do 35 cm te korištenje rotodrljače u dva navrata. Gnojidba je odrađena na temelju analize tla te

je zaorano 500 kg ha⁻¹ NPK 7:20:30 i 100 kg ha⁻¹ uree. Dvaput je provedena prihrana, prvi put sa 120 kg ha⁻¹ KAN-a, a drugi put sa 150 kg ha⁻¹ KAN-a. Sredinom ožujka korišteni su herbicidi (Sekator 0,1/ha). Primijenjeni su fungicidi Comrade 2,5 l/ha, Artea Plus 0,5 l/ha i Amistar Opti 1,5 l/ha te insekticidi Direkt 0,18 l/ha, Nurelle D 0,5 l/ha i Lamdex 0,6 l/ha. Datum žetve u prvoj vegetacijskoj godini bio je 16. srpnja, a u drugoj vegetacijskoj godini bio je 15. srpnja.

Klimatološki podatci

U prvoj vegetacijskoj godini srednja mjesečna temperatura zraka bila je viša od višegodišnjega prosjeka, posebno u siječnju, travnju i svibnju 2018. Manja količina oborina zabilježena je u travnju i svibnju, a u srpnju iste godine ukupna količina oborina bila je znatno veća od višegodišnjega prosjeka (Grafikon 1.).

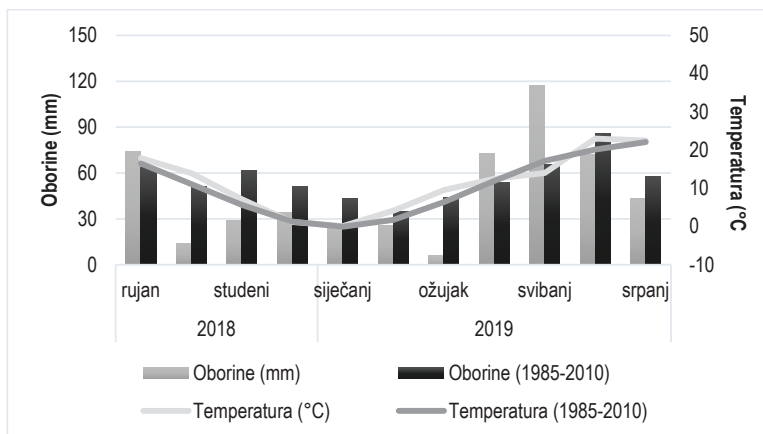


Grafikon 1. Walterov klimatski dijagram za 2017./2018. godinu (1. vegetacijska godina)

Figure 1. Walter's climate diagram for the year 2017–18 (1st vegetation year)

U drugoj vegetacijskoj godini srednja mjesečna temperatura zraka u 2018. godini bila je viša u odnosu na višegodišnji prosjek. Jedino je u svibnju 2019. godine temperatura zraka bila niža od prosjeka, te je navedena razlika iznosila približno 3 °C. Veća količina oborina u

odnosu na višegodišnji prosjek zabilježena je u rujnu 2018. godine, a zatim se količina oborina smanjila sve do travnja iduće godine, kada je zabilježen blagi porast te značajno povećanje količine oborina u svibnju iste godine (Grafikon 2.).



Grafikon 2. Walterov klimatski dijagram za 2018./2019. godinu (2. vegetacijska godina)

Figure 2. Walter's climate diagram for the year 2018–19 (2nd vegetation year)

Laboratorijski pokus

U svrhu ispitivanja prokljavanja na klasu nakon žetve odabrano je 10 klasova svakoga kultivara, odnosno po pet klasova za jedno i pet klasova za drugo ponavljanje. Neposredno prije žetve označene su papirnatim vrećicama s imenom kultivara, sjetvenim brojem i brojem ponavljanja, u koje su stavljeni klasovi. Po dolasku u laboratorij klasovi su postavljeni u aluminijske posude (27 × 21 × 5 cm), što je vidljivo na Slici 4., te su prekriveni vlažnim pijeskom koji je zalijevan 14 dana. Posude su postavljene u prostoriju s temperaturom zraka 20 – 22 °C tijekom 14 dana. Nakon 14 dana zabilježeni su podatci o prokljavanju na klasu te su ocijenjeni na temelju skale u rasponu 1 – 7 (Arif 2012; Vetch i sur. 2018). Ocjena 1 predstavlja izostanak prokljavanja, a ocjena 7 označuje da je prokljao cijeli klas. Ocjenjivanje je obavljeno za svaki klas posebno.

Molekularna analiza

Biljno tkivo za izolaciju DNK dobiveno je naklijavanjem nekoliko sjemenaka svakoga kultivara. Po dvije do tri sjemenke stavljene su u tresetne peletice i zalijevane 14 dana, nakon čega je slijedila izolacija genomske DNK iz tkiva lista. Izolacija DNK provedena je s pomoću metode s cetil-trimetil-amonij-bromidom (CTAB) (Doyle i Doyle 1987), modificirane prema Grlišić (2003). PCR analiza provedena je na uređaju Applied Biosystems Veriti® Thermal Cycler. Za PCR analizu korišten je Vp1B3 par početnica (povezan sa svojstvom prokljavanja na klasu) prema literaturnim navodima Yanga i sur. (2007.) i Eujayla i sur. (2002.). Sekvence navedenih početnica prikazane su u Tablici 2. Koncentracije i volumeni reakcijskih smjesa za amplifikaciju Vp1B3 početnica prikazane su u Tablici 3., a korišteni PCR program za amplifikaciju Vp1B3 početnica prikazan je u Tablici 4.

Tablica 2. Sekvence početnica korištenih za PCR analizu

Table 2. Sequences of primers used for PCR analysis

Lokus / Locus	Sekvence početnica / Sequences of primers (5'-3')	Očekivani fragmenti / Expected fragments (bp)
Vp1B3	F: TGCTCCTTCCCAATTGG	652, 845, 569
	R: ACCCTCCTGCAGCTCATT G	

Tablica 3. Koncentracije i volumeni reakcijskih smjesa za amplifikaciju Vp1B3 početnica

Table 3. Concentrations and volumes of reaction mixtures for amplification of Vp1B3 primers

Reakcijska smjesa / Reaction mixture	Koncentracija / Concentration		Volumen po reakciji / Volume after reaction
	Ishodišna / Initial	Radna / Operational	
PCR pufer	10 x	1 x	1 µl
MgCl ₂	25 mM	1.5 mM	0.6 µl
dNTP mix	2.5 mM	0.125 mM	0.5 µl
F – početnica / primer	10 µM	0.16 µM	0.16 µl
R – početnica / primer	10 µM	0.16 µM	0.16 µl
Taq polimeraza / polymerase	5 U/µl	0.04 U/µl	0.08 µl
Genomska DNA / Genomic DNA		50 - 100 ng/µl	1.5 µl
d.d. H ₂ O			6 µl
Ukupno / Total			10 µl

Tablica 4. Korišteni PCR program za amplifikaciju Vp1B3 početnica

Table 4. PCR program used for amplification of Vp1B3 primers

PCR program:		
1.	Korak / Step	94 °C 5 min
2.	Korak / Step	94 °C 1 min
		61 °C 1 min
		72 °C 1 min
3.	Korak / Step	72 °C 10 min

Statistička obrada podataka

Svi podatci obrađeni su u programu SAS Enterprise Guide 7.1, a za ispitivano svojstvo prokljavanja na klasu izračunane su mjere opisne statistike — aritmetička sredina (AS) i standardna devijacija (SD) — dok su vrijednosti po godinama uspoređene t-testom za dva uzorka na razini značajnosti od 99 %.

REZULTATI I RASPRAVA

Za svojstvo prokljavanja na klasu proveden je t-test za dva uzorka (2017./2018. i 2018./2019.) te su utvrđene statistički značajne razlike između godina za ispitivano svojstvo. Vrijednost t-testa iznosi 11,66. Svi rezultati prikazani su u Tablici 5.

U prvoj godini istraživanja (2017./2018.) najveća ocjena prokljavanja na klasu utvrđena je kod kultivara

Bc Elvira (7,00), *Helia* (7,00) i *Talia* (7,00), što je ujedno i maksimalno utvrđeno proklivavanje. Najmanja ocjena proklivavanja na klasu utvrđena je kod kultivara *Tena* (2,30). Aritmetička sredina za svojstvo proklivavanja na klasu u prvoj godini iznosila je 4,98. U rasponu ocjena 1,0 – 3,0 nalaze se četiri kultivara, odnosno njih 8 %, u rasponu 3,1 – 5,0 nalazi se 21 kultivar (42 %), a ostatak kultivara, odnosno njih 25 (50 %), nalazi se u rasponu ocjena 5,1 – 7,0.

U drugoj godini istraživanja (2018./2019.) najveća ocjena proklivavanja na klasu utvrđena je kod kultivara *Emma* (5,50), a najmanja kod kultivara *Nevena* (1,00). Aritmetička sredina za svojstvo proklivavanja na klasu u drugoj godini istraživanja iznosila je 2,95. Vidljiva je razlika i u rasponima ocjena u odnosu na prvu godinu istraživanja. U rasponu ocjena 1,0 – 3,0 bilo je 27 kultivara, odnosno njih 54 %, u rasponu 3,1 – 5,0 nalazilo se 22 kultivara (44 %), a samo jedan kultivar (2 %) imao je ocjenu proklivavanja koja se nalazila u rasponu 5,1 – 7,0.

Iz navedenoga je vidljivo da je u prosjeku proklivavanje na klasu (ocjene 1 do 7) bilo znatno veće u prvoj vegetacijskoj godini (4,98) u odnosu na drugu vegetacijsku godinu (2,95). Također, utvrđene su značajne razlike između ispitivanih kultivara u pogledu ispitivanoga svojstva proklivavanja na klasu. Razlike između godina mogu se objasniti vremenskim prilikama tijekom prve vegetacijske godine i količine oborina u periodu oko vremena žetve.

U prvoj godini zabilježene su visoke količine oborina za mjesec lipanj (> 103 mm) i srpanj (> 115 mm) u odnosu na drugu vegetacijsku godinu, u kojoj je u mjesecu lipnju količina oborina bila oko 72 mm, dok su količine oborina u srpnju bile 43 mm. Negativan utjecaj klimatskih prilika potvrđuju Black i sur. (2006.) i tvrde da gubitci nastaju ako prije ili tijekom žetvene zriobe dođe do povećane količine kiše, odnosno kada vlažni vremenski uvjeti prolongiraju žetvu, te procjenjuju da ukupni gubitci uzrokovani PHS-om iznose oko bilijun dolara godišnje diljem svijeta. Jedan od mogućih razloga su vremenske prilike tijekom vegetacijske godine, naročito u periodu naliježavanja i sazrijevanja sjemena. Prema navodima više autora (Petrenko 2014.; Mäkinen i sur., 2018.), vremenske prilike tijekom formiranja sjemena mogu imati značajan utjecaj na njegov prinos, ali i na njegovu životnu sposobnost, odnosno klijavost.

S obzirom na utvrđene razlike u prvoj godini istraživanja, može se zaključiti da su PHS i dormantnost sjemena usko povezani. Nedostatak odgovarajuće razine dormantnosti čini sjeme osjetljivim na PHS, a visok stupanj mirovanja negativno utječe na brzinu i ujednačenost klijanja sjemena (Tuan i sur., 2019.). Wang i sur. (2019.) ističu da je otpornost na PHS jedan od glavnih ciljeva programa oplemenjivanja pšenice. Međutim, složena priroda ovoga svojstva predstavlja izazove u oplemenjivanju kultivara za otpornost na PHS.

Tablica 5. Razlika između kultivara za svojstvo proklivavanja na klasu u dvije vegetacijske godine

Table 5. The difference between the cultivars for the trait of preharvest sprouting in two growing years

Kultivar / Cultivar	2017./2018.	2018./2019.
	AS ± SD	AS ± SD
ADRIANA	5,50 ± 0,00	4,50 ± 0,99
AFZG KAJA	5,50 ± 0,14	2,10 ± 0,14
AFZG KARLA	6,00 ± 0,00	1,90 ± 0,42
ALKA	3,40 ± 0,00	3,80 ± 0,85
ANA	5,00 ± 0,00	4,40 ± 0,00
BANICA	4,60 ± 1,41	1,90 ± 0,42
BC ELVIRA	7,00 ± 0,00	3,20 ± 0,85
BC PATRIA	5,90 ± 0,14	2,80 ± 1,13
BELA	6,00 ± 0,00	4,20 ± 0,85
BIANCA	6,00 ± 0,00	2,00 ± 0,28
CERERA	3,70 ± 0,14	1,60 ± 0,28
DEA	5,00 ± 0,28	2,80 ± 0,57
DIVANA	4,30 ± 0,14	2,00 ± 1,41
DONNA	5,00 ± 0,00	2,50 ± 0,42
EMA	6,00 ± 0,00	5,50 ± 0,42
FELIX	3,90 ± 0,42	3,10 ± 0,14
FIESTA	6,90 ± 0,14	3,40 ± 2,26
GABI	6,00 ± 0,00	2,10 ± 0,14
HELIA	7,00 ± 0,00	3,70 ± 0,42
ILIRIJA	3,40 ± 0,28	2,30 ± 0,42
JASNA	5,00 ± 0,00	4,10 ± 0,71
KALISTA	6,00 ± 0,00	1,40 ± 0,00
KATA	4,10 ± 0,71	2,80 ± 0,28
KATARINA	6,50 ± 0,71	4,20 ± 0,00
KOLEDA	5,80 ± 0,85	1,40 ± 0,28
KRUNA	5,50 ± 0,71	2,80 ± 0,85
KUNA	3,20 ± 0,85	2,20 ± 0,00

Kultivar / Cultivar	2017./2018.	2018./2019.
	AS ± SD	AS ± SD
LUCIJA	5,20 ± 1,13	4,30 ± 1,56
MARIJA	5,80 ± 0,28	3,30 ± 0,42
MARTA	6,00 ± 0,00	4,30 ± 0,42
MATEA	4,60 ± 0,57	2,70 ± 0,14
MIA	4,30 ± 0,42	1,20 ± 0,00
MIHELCA	3,90 ± 0,42	1,50 ± 0,42
MURA	5,10 ± 0,14	2,20 ± 1,70
NEVENA	2,70 ± 0,14	1,00 ± 0,00
NOVA ŽITARKA	4,30 ± 0,71	2,40 ± 0,00
PANONIJA	4,80 ± 0,28	4,20 ± 0,28
PIPI	3,20 ± 0,00	3,00 ± 0,28
PRIMA	6,00 ± 0,00	1,60 ± 0,85
RENATA	4,50 ± 0,14	4,30 ± 0,14
SANA	5,70 ± 0,14	4,30 ± 0,14
SEKA	5,90 ± 0,14	3,40 ± 1,14
SNAŠA	2,40 ± 0,28	2,50 ± 0,14
SRPANJKA	4,50 ± 0,14	4,80 ± 0,28
TALIA	7,00 ± 0,00	3,90 ± 0,42
TENA	2,30 ± 0,42	3,30 ± 0,99
TONKA	4,00 ± 0,28	3,80 ± 0,57
UNA	5,80 ± 0,28	1,80 ± 0,00
ZLATNA DOLINA	5,80 ± 0,28	2,90 ± 0,42
ŽITARKA	3,00 ± 0,00	1,90 ± 0,14
AS ± SD	4,98 ± 1,23	2,95 ± 1,10

---Vrijednosti koje su za jednu standardnu devijaciju veće od aritmetičke sredine / Values that are by one standard deviation greater than the mean

---Vrijednosti koje su za jednu standardnu devijaciju manje od aritmetičke sredine / Values that are by one standard deviation less than the mean

Na temelju dobivenih rezultata PCR analize izračunana je distribucija alela na ispitivanome Vp1B3 lokusu pšenice. Analizom je utvrđeno da je na lokusu Vp1B3 kod 42 % kultivara bio prisutan alel 569 bp (tolerantnost na PHS), a kod 58 % ispitivanih kultivara bio je prisutan alel 652bp (osjetljivost na PHS).

Kod 67 % kultivara koji su imali ocjenu PHS u rasponu 1,0 – 3,0 na Vp1B3 lokusu utvrđen je alel od 569 bp (tolerantnost na PHS). Također, kod 65 % kultivara koji su imali ocjenu PHS u rasponu 3,1 – 5,0 na Vp1B3 lokusu

utvrđen je alel od 569 bp (tolerantnost na PHS). Za razliku od njih, kod većine kultivara (70 %) koji su imali ocjenu PHS u rasponu 5,1 – 7,0 na Vp1B3 lokusu utvrđen je alel od 652 bp (osjetljivost na PHS). Iz navedenoga je vidljiv trend smanjenja učestalosti alela od 569 bp s povećanjem ocjene PHS, kao i povećanje učestalosti alela od 652 bp s povećanjem ocjene PHS-a. Distribucija alela na Vp1B3 lokusu s obzirom na ocjenu PHS-a prikazana je u Tablici 6.

Tablica 6. Distribucija alela na Vp1B3 lokusu s obzirom na ocjenu PHS-a

Table 6. The distribution of alleles at the Vp1B3 locus with regard to the PHS score

PHS ocjena / PHS scale	Broj kultivara / Number of cultivar	569 bp	652 bp
1,0 - 3,0	9	67 %	33 %
3,1 - 5,0	31	65 %	35 %
5,1 - 7,0	10	30 %	70 %

Veći je broj istraživanja koji analiziraju svojstvo prokljavanja na klasu s pomoću molekularnih markera. Rezultati se razlikuju ovisno o broju uključenih genotipova, kao i o njihovu podrijetlu. Vetch i sur. (2018.) proveli su istraživanje za svojstvo prokljavanja na klasu na 21 kultivaru pšenice te je analizom utvrđeno da je na lokusu Vp1B3 kod devet kultivara bio prisutan alel koji se povezuje s osjetljivošću pšenice na PHS, dok je kod 12 kultivara bio prisutan alel koji se povezuje s otpornošću biljaka na PHS. Yang i sur. (2007.) analizirali su 89 kineskih kultivara pšenice s pomoću markera Vp1B3. Alel od 569 bp bio je prisutan kod 80 % kultivara koji su bili tolerantni na PHS, a alel od 652 bp kod 90 % kultivara osjetljivih na PHS. Četiri kultivara s fragmentom 652 bp pokazala su fenotipsku tolerantnost na PHS, što može biti posljedica prisutnosti različitih okolišnih čimbenika te dormantnosti koja utječe na PHS. Analizom je utvrđeno da je Vp1B3 snažno povezan s tolerantnošću na PHS kod ispitivane grupe kineskih kultivara, što ukazuje na mogućnost korištenja Vp1B3 kao kodominantnoga markera u oplemenjivanju budućih PHS tolerantnih kultivara.

ZAKLJUČAK

Temeljem provedenoga istraživanja kultivara pšenice na svojstvo prokljavanja na klasu u skladu s postavljenim ciljevima može se zaključiti sljedeće: (a) utvrđene su statistički značajne razlike između ispitivanih kultivara pšenice za svojstvo prokljavanja na klasu, (b) kod većine kultivara s nižom ocjenom prokljavanja na klasu utvrđena je prisutnost alela od 569 bp (tolerantnost na PHS), a kod većine kultivara s visokom ocjenom prokljavanja na klasu utvrđena je prisutnost alela od 652 bp (osjetljivost na PHS) na Vp1B3 lokusu. S obzirom na veće količine oborina u lipnju i srpnju u prvoj vegetacijskoj godini, može se utvrditi razlog većega postotka prokljavanja na klasu u odnosu na drugu ispitivanu godinu. Razumijevanje genetske osnove PHS-a i identifikacija molekularnih markera mogu doprinijeti efikasnijemu oplemenjivanju pšenice i razvoju sorata koje su otporne na nepovoljne uvjete koji potiču klijanje prije žetve.

LITERATURA

1. Arif, M. A. R. (2012). *Seed longevity and dormancy in wheat (Triticum aestivum L.)-phenotypic variation and genetic mapping* (Doctoral dissertation, Universitäts-und Landesbibliothek Sachsen-Anhalt).
2. Bewley, J. D., Black, M., & Halmer, P. (Eds.). (2006). *The encyclopedia of seeds: science, technology and uses*. Cabi.
3. Deliberali, J., Oliveira, M., Durigon, A., Dias, A. R. G., Gutkoski, L. C., & Elias, M. C. (2010). Efeitos de processo de secagem e tempo de armazenamento na qualidade tecnológica de trigo. *Ciência e Agrotecnologia*, 34, 1285-1292. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542010000500029>
4. Doyle, J. J., & Doyle, J. L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical bulletin*.
5. Eujayl, I., Sorrells, M. E., Baum, M., Wolters, P., & Powell, W. (2002). Isolation of EST-derived microsatellite markers for genotyping the A and B genomes of wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 104, 399-407.
6. Fofana, B., Humphreys, G., Rasul, G., Cloutier, S., & Somers, D. (2008). Assessment of molecular diversity at QTLs for preharvest sprouting resistance in wheat using microsatellite markers. *Genome*, 51(5), 375-386.
7. Grljušić, S. (2003). *Genetska varijabilnost kultivara crvene djeteline (Trifolium pratense L.) nakon selekcije u brdsko-planinskim uvjetima* (Doctoral dissertation, Agronomski fakultet).
8. Mäkinen, H., Kaseva, J., Trnka, M., Balek, J., Kersebaum, K. C., Nendel, C., ... & Kahiluoto, H. (2018). Sensitivity of European wheat to extreme weather. *Field Crops Research*, 222, 209-217.
9. Nonogaki, M., & Nonogaki, H. (2017). Prevention of preharvest sprouting through hormone engineering and germination recovery by chemical biology. *Frontiers in plant science*, 8, 243983. doi: 10.3389/fpls.2017.00090
10. Petrenko, V. (2014). Influence of storage conditions on germination of winter wheat seeds (Triticum aestivum L.) in relation to agriculture systems. *Žemės ūkio mokslai*, 21(3).

11. Simsek, S., Ohm, J. B., Lu, H., Rugg, M., Berzonsky, W., Alamri, M. S., & Mergoum, M. (2014). Effect of pre-harvest sprouting on physicochemical changes of proteins in wheat. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(2), 205-212. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6229>
12. Sorrels, M., Sherman, J. (2007.) Pre-harvest sprouting. (<https://maswheat.ucdavis.edu/Education/PDF/facts/PHS.pdf>)
13. Thomason, W. E., Hughes, K. R., Griffey, C. A., Parrish, D. J., & Barbeau, W. E. (2019). Understanding pre-harvest sprouting of wheat.
14. Tuan, P. A., Yamasaki, Y., Kanno, Y., Seo, M., & Ayele, B. T. (2019). Transcriptomics of cytokinin and auxin metabolism and signaling genes during seed maturation in dormant and non-dormant wheat genotypes. *Scientific reports*, 9(1), 3983.
15. Vetch, J. M., Stougaard, R. N., Martin, J. M., & Giroux, M. (2019). Allelic impacts of TaPHS1, TaMKK3, and Vp1B3 on preharvest sprouting of northern great plains winter wheats. *Crop Science*, 59(1), 140-150. <https://doi.org/10.2135/cropsci2018.05.0341>
16. Wang, X., Liu, H., Liu, G., Mia, M. S., Siddique, K. H., & Yan, G. (2019). Phenotypic and genotypic characterization of near-isogenic lines targeting a major 4BL QTL responsible for pre-harvest sprouting in wheat. *BMC plant biology*, 19, 1-10. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1961-1>
17. Yamasaki, Y., Jordan, M. C., & Ayele, B. T. (2019). Transcriptomic data during seed maturation in dormant and non-dormant genotypes of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Data in brief*, 25, 104254. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2019.104254>
18. Yang, Y., Zhao, X. L., Xia, L. Q., Chen, X. M., Xia, X. C., Yu, Z., ... & Röder, M. (2007). Development and validation of a Viviparous-1 STS marker for pre-harvest sprouting tolerance in Chinese wheats. *Theoretical and Applied Genetics*, 115, 971-980. DOI10.1007/s00122-007-0624-z

PREHARVEST GERMINATION IN DIFFERENT WHEAT CULTIVARS

SUMMARY

Wheat is one of the primary crops for human nutrition and is used in milling, food, and pharmaceutical industries. In agricultural production, there are various factors that affect the yield and hence financial gain. Therefore, one of the major factors causing significant issues is the preharvest sprouting (PHS). Damages due to the PHS worldwide amount to approximately 1 trillion dollars. The research objectives were as follows: to examine sprouting on spikes after harvest (rated from 1 – 7) and to assess the variability of sprouting traits on spikes using a molecular marker (Vp1B3). Statistically significant differences were detected between the tested wheat cultivars for the sprouting trait on spikes. For most cultivars with a lower sprouting rating on spikes, the presence of the 569 bp allele (PHS tolerance) was detected, while for most cultivars with a high sprouting rating on spikes, the presence of the 652 bp allele (PHS sensitivity) at the Vp1B3 locus was identified.

Keywords: wheat, preharvest sprouting (PHS), molecular marker

(Primljeno 6. ožujka 2024.; prihvaćeno 29. travnja 2024. – Received on March 6, 2024; accepted on April 29, 2024)