

PROUČAVANJE SVOJSTAVA KAKVOĆE LOKALNIH POPULACIJA LUCERNE

T. ČUPIĆ, Marijana TUCAK, S. POPOVIĆ i L. ANDRIĆ

Poljoprivredni institut Osijek
Agricultural Institute Osijek

SAŽETAK

Prinosi suhe tvari i bjelančevina važan su čimbenik u stvaranju novih kultivara krmnih kultura. Kroz dugi niz godina oplemenjivanja postignut je mali genetski napredak u povećanju kakvoće lucerne. Stoga smo istraživali mogućnost korištenja lokalnih populacija lucerne u svrhu povećanja kakvoće direktnom i indirektnom selekcijom. Dobiven je jak i opravdan utjecaj genotipa i okoline na svojstva prinosa suhe tvari i odnos list/stabljika kao i njihove interakcije na razini značajnosti $P < 0,01$. Najveći koeficijent varijabilnosti je zabilježen kod prinosa vlakana (51,89%), a najmanji kod odnosa list/stabljika (11,74%). Za svojstvo odnos list/stabljika po biljci utvrđen je veliki udio varijance genotipa u ukupnoj varijanci, kao i visoka heritabilnost.

Ključne riječi: lucerna, lokalna populacija, kakvoća, heritabilnost, genetska dobit

UVOD

Lucerna je po posijanim površinama u Republici Hrvatskoj najraširenija krmna leguminoza (Statistički ljetopis, 2001) i uzgaja se nešto više od 42 tisuće hektara. Spada u višegodišnje krmne kulture, koje se koriste 4 do 5 godina, dajući svake godine 4 do 6 otkosa u našem agroekološkom području uz prosječni godišnji prinos zelene mase od 86,16 t/ha (Stjepanović i sur., 1999) te bjelančevina od 2490 do 3030 kg/ha (Tucak i sur., 2008). Zbog važnosti u ishrani stoke stalno se radi na stvaranju novih kultivara lucerne boljih gospodarskih svojstava. U oplemenjivačkim programima nastoji se izdvojiti superiorne individue u agronomski važnim svojstvima (Fehr, 1987). Uspjeh oplemenjivanja bilja ovisi uglavnom o genetskoj varijabilnosti u izvorima i metodi selekcije koja se primjenjuje radi ostvarenja što veće genetske dobiti (Poehlman i Sleper, 1995; Prospero i sur., 1999; Woodfield i Brummer, 2000; Irwin i sur., 2001; Volenec i sur., 2002). Genetski napredak populacije nije moguće postići preko granica koje su utvrđene genima u populaciji, te je izbor germplazme koja će biti uključena u oplemenjivanje vrlo osjetljiva faza oplemenjivanja (Rumbaugh i sur.,

1988). Kod lucerne su važni izbor roditeljske germplazme, veličina populacije i intenzitet selekcije kako bi se odredio očekivani napredak.

Pri selekciji na kakvoću ne mogu se odvojeno promatrati sadržaj i prinos bjelančevina, jer krajnji cilj oplemenjivanja na kakvoću je povećanje bjelančevina po jedinici površine. Prinos bjelančevina je kompleksno svojstvo na čiju ekspresiju utječe više komponenti: kemijske komponente (sadržaj bjelančevina u listu, stabljici i ostalim dijelovima te sadržaj suhe tvari), morfološke komponente (odnos lista i stabljike, debljina stabljike, broj internodija, visina, šupljikavost stabljike i višelisnatost) i agrotehničke komponente (faza i ritam košnje, zaštita od bolesti i štetnika te navodnjavanje). Proučavajući probleme u selekciji lucerne na svojstva kakvoće Rotili i sur. (1991) su utvrdili malu varijabilnost sadržaja bjelančevina. Stoga autori navode da direktno oplemenjivanje na sadržaj bjelančevina nije izvodivo, te ukazuju na mogućnost indirektnog unapređenja spomenutog svojstva kroz oplemenjivanje na otpornost na ranu košnju, odgodu venuća listova te otpornost na bolesti i insekte. Isti autori (2001) ističu da je kakvoća (sadržaj bjelančevina i vlakana) u lucerni uglavnom pod utjecajem odnosa lista i stabljike.

Unatoč višegodišnjem oplemenjivačkom radu, mali su pomaci u gospodarski važnim svojstvima te se nameće potreba ispitivanja raspoložive oplemenjivačke germplazme. Cilj ovoga rada bio je utvrditi varijabilnost i stupanj nasljednosti gospodarski značajnih svojstava kakvoće lokalnih populacija lucerne u svrhu stvaranja novih kultivara.

MATERIJAL I METODE

Materijal istraživanja predstavljale su populacije lucerne iz gen kolekcije Poljoprivrednog instituta Osijek. Populacije su prikupljene i dobivene iz zemalja Panonske regije (Hrvatska, Srbija, Bosna i Hercegovina, Mađarska, Češka, Slovačka, Rumunija) od 1965. do 1999. godine. Sjeme je posijano u izolacijama te je ostavljeno da se slobodno oprašuje kroz nekoliko generacija. Pri izboru materijala za ovo istraživanje nastojali smo obuhvatiti materijale šire genetske varijabilnosti, sukladno ciljevima istraživanja.

Deset populacija bilo je uključeno u istraživanje na Poljoprivrednom institutu u Osijeku tijekom dvogodišnjeg razdoblja. Po 100 zdravih i dobro razvijenih biljaka od svake populacije izabrano je iz etabliranih izolacija. Od svake biljke rezanjem su dobivene 4 biljke koje su uzgajane u kontroliranim uvjetima. Mjesec dana kasnije biljke su presađene u pokusno polje na eutrični kambisol na međuredni razmak između biljaka od 25 cm u oba smjera. Pokus je izveden po slučajnom blok rasporedu u četiri ponavljanja. Blok je sadržavao 10 populacija sa 100 biljaka po populaciji. Pokus je analiziran u 2. i 3. vegetacijskoj sezoni nakon presađivanja. Tijekom dvije godine istraživanja ukupno je dobiveno 8 otkosa (4 po godini).

U svim otkosima biljke su košene u fazi pupanja početak cvjetanja, a analizirana su sljedeća svojstva: 1. Odnos list/stabljika (L/S) - na svakoj biljci u svakom otkosu

ručno je odvojen list (liske, peteljka, zalistak, pup) od stabljike (stabljika, grane). L/S je izračunat iz odnosa mase lista i stabljike, 2. Prinos suhe tvari (PST) – dobiven je izračunom kao produkt sadržaja suhe tvari (utvrđen iz prosječnog uzorka slučajno izabranih biljaka iz svakog ponavljanja u svim otkosima) i prinosa zelene mase. Zbrajanjem prinosa suhe tvari otkosa izračunat je ukupni godišnji prinos suhe tvari po biljci u gramima, 3. i 4. Prinos bjelančevina (PB) i vlakana (PV) – određen je u drugom otkosu obje godine istraživanja. Kemijska analiza provedena je po Weendeu (Kjeltec autosampler 1035-Tecator i Fibertec-Tecator aparati). PB i PV su izračunati iz umnoška prinosa suhe tvari drugog otkosa i udjela bjelančevina, odnosno, udjela vlakana u apsolutno suhoj tvari. Prinosi su izraženi u gramima po biljci te prikazani kao prosječni prinos biljke drugog otkosa.

Dobiveni podaci po biljkama su svedeni na prosječnu biljku po populaciji za sva istraživana svojstva. Sistemizirani podaci su obrađeni analizom varijance gdje je populacija i populacija x godina uzeta kao random utjecaj, a blok kao fiksni utjecaj. Statistička obrada podataka provedena je pomoću SAS 9.1 programa (SAS Institute Inc., 2002). Očekivana genetska dobit od selekcije izračunata je po Allardu (1960) uz intenzitet selekcije od 15% ($k=1,554$).

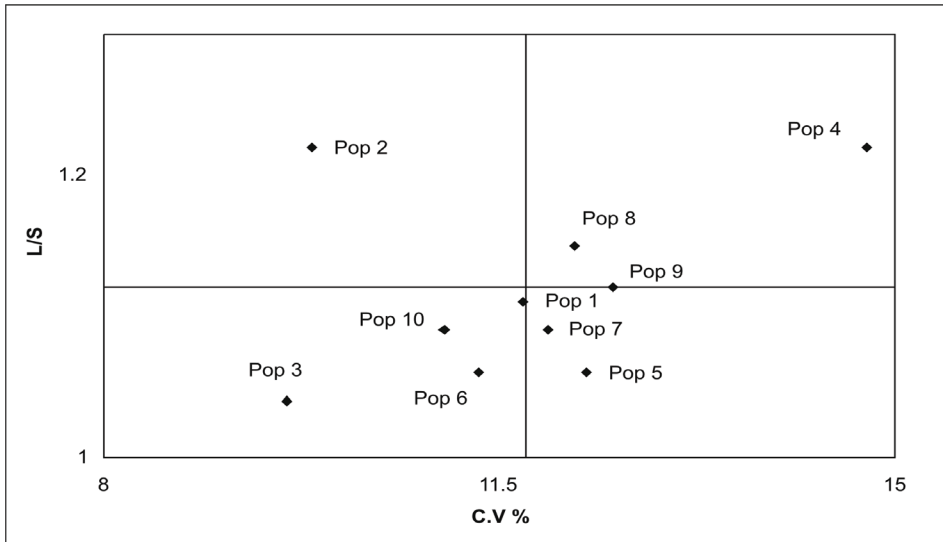
REZULTATI I RASPRAVA

U istraživanju je utvrđen jak i opravdan utjecaj genotipa i okoline te njihove interakcije na svojstva prinosa suhe tvari i odnos list/stabljika na razini značajnosti $P<0,01$, dok je svojstvo prinosa vlakana bilo na razini značajnosti $P<0,05$. Na svojstvo prinosa bjelančevina nije bilo opravdanog utjecaja genotipa, okoline i interakcije. Odnos list/stabljika po biljci kao jedno od svojstava najčešće povezivanih s kakvoćom, u prosjeku je iznosio 1,12, uz relativno nizak koeficijent varijabilnosti od 11,74%. Samo su biljke iz populacije Pop 4 i 2 imale značajno višu vrijednost odnosa L/S (1,22) (Grafikon 1). PST po biljci varirao je od 152,95 g u populaciji Pop 2 do 182,19 g za Pop 1 (Grafikon 2). Populacije su u prosjeku ostvarile 171,52 g suhe tvari po biljci, dok je koeficijent varijabilnosti u prosjeku iznosio 47,98%. PB po biljci varirao je od 7,29 g (Pop 7) do 9,16 g (Pop 5), dok je prosječan prinos bjelančevina po biljci u dvije godine istraživanja iznosio 8,30 g, uz koeficijent varijabilnosti 51,45%. Koeficijent varijabilnosti za svojstvo PB lucerne kretao se od 44,03% za populaciju Pop 6 do 60,07% za populaciju Pop 8 (Grafikon 3). Samo biljke iz populacija Pop 5 i 6 su znatnije odskakale po prinosu bjelančevina (9,16 i 9,04 g/biljka). Populacija Pop 6 je bolji izbor od Pop 5 u pogledu ovoga svojstva jer ima znatno niži koeficijent varijabilnosti uz neznatno manji prinos bjelančevina po biljci. Prinos vlakana po biljci varirao je od 10,61 (Pop 2) do 13,93 g (Pop 6), dok su populacije u prosjeku imale 12,11 g, a koeficijent varijabilnosti iznosio je 51,89% (Grafikon 4).

Dobiveni podaci daju nam informacije o ispitivanom materijalu i njegovom daljnjem korištenju kod stvaranja novih kultivara bolje kakvoće. Svojstvo kakvoće

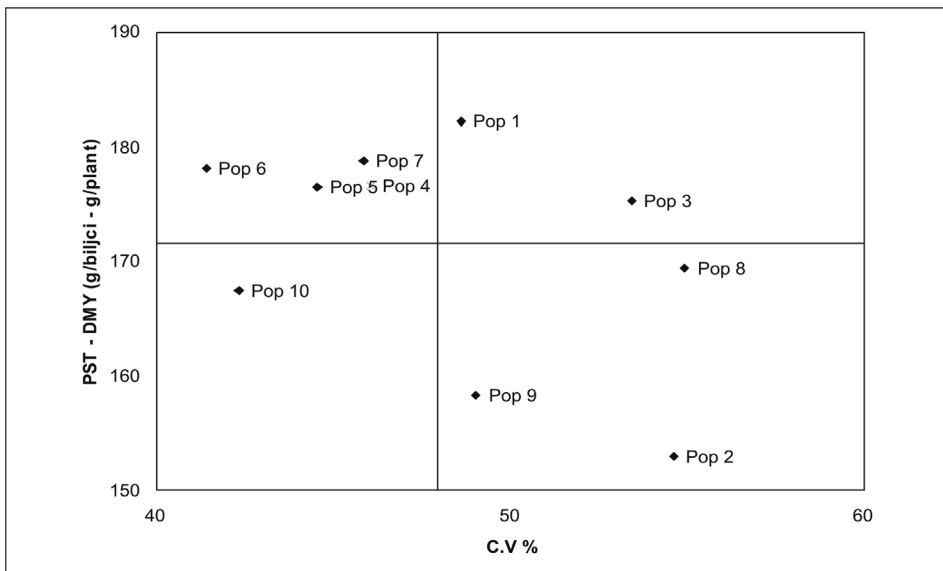
Grafikon 1. Prosječni odnos list/stabljika po biljci i koeficijent varijabilnosti

Figure 1. Means leaf/stem ratio (L/S) per plant against coefficient of variability



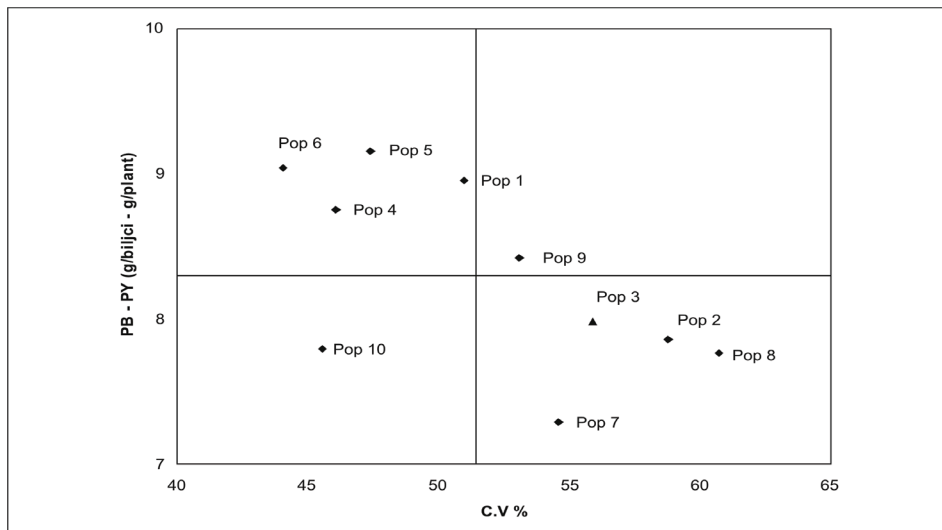
Grafikon 2. Prosječni prinos suhe tvari po biljci i koeficijent varijabilnosti

Figure 2. Means dry matter yield (DMY) per plant against coefficient of variability



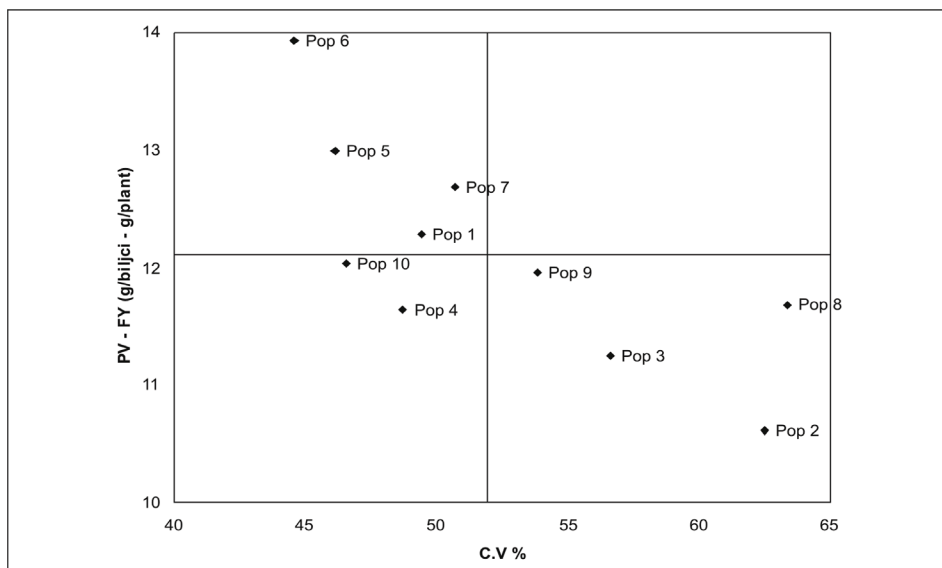
Grafikon 3. Prosječni prinos bjelančevina po biljci i koeficijent varijabilnosti

Figure 3. Means protein yield (PY) per plant against coefficient of variability



Grafikon 4. Prosječni prinos vlakana po biljci i koeficijent varijabilnosti

Figure 4. Means fiber yield (FY) per plant against coefficient of variability



T. Čupić i sur.: Proučavanje svojstava kakvoće lokalnih populacija lucerne

Tablica 1. Prosjek, procijenjene varijance i heritabilnost između 10 populacija lucerne
Table 1. Means, estimates of variance and heritability among 10 alfalfa populations

Prosijek – Means		L/S - L/S	PST - DMY	PB - PY	PV - FY
		1,12	171,5 g	8,30 g	12,11 g
Varianca populacije <i>Population variance</i>		0,004	81,7	0,41	0,83
Varianca greške <i>Error variance</i>		0,003	123,9	1,78	3,15
Varianca interakcije <i>Interaction variance</i>		0,003	67,9	0,11	0,45
H ²		0,47	0,18	0,19	0,30
CV _E (%)		4,85	6,5	16,07	14,66
DOBIT <i>Gain</i>	Očekivana <i>Expectid</i>	0,07	7,7g	0,64g	0,62g
	Relativna (%) <i>Relative</i>	6,3	4,4	7,7	5,1

(prinos bjelančevina) neposredno daje uvid u hranidbenu vrijednost selekcijskog materijala te je najčešće korišteno mjerilo u selekciji. Kada govorimo o kakvoći tada moramo uzeti u obzir da i vlakna utječu na kakvoću. Bocsa i sur. (1975) i Julier i sur. 1999 utvrdili su negativnu korelaciju između sadržaja bjelančevina i vlakana, te ističu važnost odnosa lista i stabljike kao glavnog pokazatelj sadržaja bjelančevina. U skladu s tim utvrđena velika varijabilnost unutar populacija na svojstvo prinosa bjelančevina u provedenom istraživanju daje nam mogućnost predselekcije i biranja idealnog tipa biljke prema Rotili i sur. (1999).

Zbog postojanja male genetske varijance i niske heritabilnosti svojstava prinosa suhe tvari, bjelančevina i vlakana, možemo zaključiti da je ekspresija svojstava kakvoće pod većim utjecajem okolinskih faktora, što je sukladno navodima Hansen i sur. (1990), Lorenzetti (1992), Guines i sur. (2000) i Julier i sur. (1999 i 2000). Analiza varijance pokazala je malo variranje između 10 istraživanih populacija (Tablica 1). Na osnovi rezultata dobivenih analizom varijance za svojstvo L/S vidljiv je znatan udio genetske varijance u ukupnoj varijanci za navedeno svojstvo. Koeficijent varijabilnosti okoline bio je najmanji za svojstvo odnos list/stabljika. Najveća heritabilnost u širem smislu utvrđena je za svojstvo odnos list/stabljika, što ukazuje na mogućnost njegova korištenja kao kriterija u selekciji na povećanje kakvoće biljke. Relativna dobit od selekcije je mala, što je rezultat malog intenziteta selekcije, koja je uvjetovana samom biologijom vrste (samoinkompatibilnost i inbreeding depresija). Izborom 15% najboljih biljaka relativna genetska dobit od selekcije najveća bi bila za svojstvo prinos bjelančevina (7,7%) i odnos list/stabljika (6,3%). Mala relativna dobit za svojstvo odnos L/S nije iznenađujuća jer su samo populacije Pop 4, 2 i 8 imale iznad prosječne vrijednosti u odnosu na ostale materijale. Dobiveni rezultat provedenog istraživanja pokazuje da je bolje raditi direktnu selekciju na odnos list/stabljika po biljci, zbog najviše procijenjene heritabilnosti, nego na prinos bjelančevina jer se ostvaruje

jednaka relativna dobit izborom 15% najboljih biljaka. Također, izbor genotipova visokog odnosa L/S, zbog postojanja pozitivne korelacijske veze odnosa L/S s prinosom bjelančevina te negativne s prinosom vlakana, zasigurno će pridonijeti povećanju ukupne kakvoće lucerne.

ZAKLJUČAK

Na osnovi provedenog istraživanja tijekom dvogodišnjeg razdoblja možemo zaključiti sljedeće:

1. U proučanim populacijama lucerne utvrđena je velika varijabilnost za svojstva prinosa suhe tvari, bjelančevina i vlakana.
2. Populacije Pop 4 i 2 imale su najveće prosječne vrijednosti za odnos list/stabljika.
3. Najveću nasljednost u širem smislu imalo je svojstvo odnos list/stabljika, dok su prinosi suhe tvari i bjelančevina pokazali najmanju nasljednost.
4. Izborom 15% najboljih biljaka istraživanih populacija ostvarili bi smo najveću genetsku dobit od selekcije za svojstvo prinos bjelančevina. Izborom genotipova s najboljim odnosom list/stabljika ostvario bi se najveći napredak u poboljšanju ukupne kvalitete lucerne.

STUDY OF QUALITY TRAITS IN ALFALFA LANDRACES

SUMMARY

Yields of dry matter and protein are important factors in selection of fodder crop cultivars. During the long time of fodder crops breeding for quality alfalfa a small genetic gain was achieved. Therefore we investigated possibility of using local populations of alfalfa to increase quality with direct and indirect selection. Strong and significant influence of genotypes and environments was recorded for yield of dry matter and leaf/stem ratio examined traits and their interactions at the level $p < 0.01$. The highest variation was recorded for fiber yield 51,89 %, while the lowest variation was for leaf/stem ratio 11,74%. For the traits leaf/stem ratio high heritability and high share of genotype variance in total variance were recorded.

Key words: alfalfa, landraces, quality, heritability, genetic gain

LITERATURA-REFERENCES

1. Allard, R. W. (1960): Principles of plant breeding, John Wiley & Sons, New York.
2. Bocsa, I., Buglos, J., Majko, Z. (1975): Breeding for qualitative factors in Lucerne. Breeding of lucerne and development of its production. Institute for Crop Growing and Soil Conservation, Kompolt, 141-148.
3. Fehr, R. W. (1987): Principles of cultivar development, Macmillan Publishing Company, New York, USA, vol. 1: 80 -105.
4. Guines, F., Julier, B., Huyghe, C. (2000): Inheritance of Digestibility and Fiber Content in Alfalfa. The 37th North American Alfalfa Improvement Conference July 16 – 19. Madison, WI, <http://www.naaic.org/Meetings/National/2000meeting/abstracts/guines26.2/guines26.html>.

T. Čupić i sur.: Proučavanje svojstava kakvoće lokalnih
populacija lucerne

5. Hansen, J. L., Viands, D. R., Steffens, J. C., Sniffen, C. J. (1990): Heritability and feasibility of breeding for higher soluble protein concentration in wilted Alfalfa. Relation to forage quality. Report of the Thirty-Second North American Alfalfa Improvement Conf., August 19-24. Pasco, Washington, 79.
6. Irwin, J. A. G., Lloyd, D. L., Lowe, K. F. (2001): Lucerne biology and genetic improvement – an analysis of past activities and future goals in Australia. Australian Journal of Agricultural Research, 52 (7): 699-712.
7. Julier, B., Huyghe, C., Ecalle, C. (1999): Genetic variation and variety x environment interaction for digestibility, forage yield and protein content in alfalfa. Proc. XIII Eucarpia *Medicago ssp.* Group, Perugia, Italy, 359–364.
8. Julier, B., Huyghe, C., Ecalle, C. (2000): Within and among-cultivar genetic variance for digestibility and forage yield in alfalfa. Crop Science, 40 (2): 365-369.
9. Lorenzetti, F. (1992): Methods and procedures in variety constitutions. Proc. of the X International Conf. of the EUCARPIA *Medicago* Group Lodi, 494-498.
10. Poehlman, J. M., Sleper, D. A. (1995): Breeding field crops, Fourth edition. Iowa State Un. Press, 71-75.
11. Prosperi, J. M., Ronfort, J., Genier, G. (1999): Constraints to the introduction of Medics in French Mediterranean farming's systems. Proc. XIII Eucarpia *Medicago ssp.* Group, Perugia, Italy, 154-161.
12. Rotili, P., Gnocchi, G., Scotti, C., Zannone, L. (1991): Some problems in the alfalfa breeding for quality: protein content. Proceeding of the Eucarpia *Medicago* group Kompolt, Agricultural research Institute, 5-33.
13. Rotili, P., Gnocchi, G., Scotti, C., Zannone, L. (1999): Some aspects of breeding methodology in alfalfa. "The Alfalfa Genome" Symposium held August 01.–04. 1999 in Madison, Wisconsin. <http://www.naaic.org/TAG/TAGpapers/rotili/rotili.html>.
14. Rotili, P., Gnocchi, G., Scotti, C., Kertikova, D. (2001): Breeding of the alfalfa plant morphology for quality. Proceeding of the XIV Eucarpia *Medicago ssp.* Group Meeting, Instituto Agronomico Mediterraneo de Zaragoza, 25-27.
15. Rumbaugh, M. D., Caddel, J. L., Rowe, D. E. (1988): Breeding and quantitative genetics, Alfalfa and Alfalfa Improvement (Monography 29). American Society of Agronomy, Inc, Madison, Wisconsin, USA, 777-794.
16. SAS Institute Inc. (2002): SAS/STAT Software, Version 9.1, SAS Institute, Cary, NC, USA.
17. Statistički ljetopis (2001): Republika Hrvatska, Državni zavod za statistiku, Zagreb.
18. Stjepanović, M., Popović, S., Grljušić, S., Čupić, T., Bukvić, G., Tucak, M. (1999): Gentska varijabilnost kultivara lucerne dobivena višegodišnjim izborom. Poljoprivreda, 5 (2): 37-46.
19. Tucak, M., Popović, S., Grljušić, S., Čupić, T., Kozumplik, V., Šimić, B. (2008): Variability and relationships of important alfalfa germplasm agronomic traits. Periodicum Biologorum, (u tisku).
20. Volenec, J. J., Cunningham, S. M., Haagenson, D. M., Berg, W. K., Joern, B. C., Wiersma, D. W. (2002): Physiological genetics of alfalfa improvement: past failures, future prospects. Field Crop Research, 75 (2-3): 97-110.
21. Woodfield, D. R., Brummer, E. C. (2000): Integrating Molecular techniques to maximise the genetic potential of forage legumes. Proceedings of the 2nd International Symposium, Molecular Breeding of Forage Crops, Lorne and Hamilton, November 19-24, Victoria, Australia, 51-65.

Adresa autora - Author's address:

Dr. sc. Tihomir Čupić
Dr. sc. Marijana Tucak
Dr. sc. Svetislav Popović
Dr. sc. Luka Andrić
Poljoprivredni institut Osijek
Južno predgrade 17
31 000 Osijek
E-mail: tihomir.cupic@poljin.hr

Primljeno – Received:

21. 11. 2008.