

# FENOTIPSKA VARIJABILNOST OPLEMENJIVAČKIH POPULACIJA LUCERNE

Marijana Tucak, T. Čupić, S. Popović

Izvorni znanstveni članak  
Original scientific paper

## SAŽETAK

*Cilj je istraživanja bio procijeniti varijabilnost 10 fenotipskih svojstava unutar i između 21 oplemenjivačke populacije lucerne te izabrati najzanimljivije populacije, s obzirom na visoke vrijednosti značajnih agronomskih svojstava, u svrhu razvoja novih sintetičkih kultivara. Istraživanje je provedeno na selekcijskome polju Poljoprivrednoga instituta Osijek tijekom dvije godine (2008.-2009.). Poljski je pokus postavljen po shemi randomiziranoga bloka u tri ponavljanja. Proučavane oplemenjivačke populacije lucerne značajno su se razlikovale u prinosu zelene mase i suhe tvari, broju stabljika, visini i regeneraciji biljaka, broju i dužini internodija, debljini stabljike te širini srednjega listića. Statističkom analizom također je utvrđena značajna varijabilnost u svim proučavanim svojstvima unutar i između populacija lucerne, osim za dužinu srednjega listića. Oplemenjivačkim populacijama OPL-10, 12, 14, 15, 17, 20 i 21 ostvarene su visoke vrijednosti prinosa i najvažnijih komponenti prinosa (broj stabljika, visina i regeneracija biljaka) te poželjne vrijednosti ostalih ispitivanih svojstava. Utvrđene superiorne biljke unutar najboljih populacija predstavljaju potencijalne roditeljske komponente za razvoj novih sintetičkih kultivara.*

**Ključne riječi:** lucerna, oplemenjivačka populacija, fenotipska svojstva, varijabilnost

## UVOD

Cilj većine oplemenjivačkih programa lucerne je stvaranje kultivara povećanoga prinosa biomase i poboljšane nutritivne vrijednosti, tolerantnih na biotske i abiotičke stresove te prilagođenih različitim agroekološkim uvjetima proizvodnje (Volenec i sur., 2002., Riday i Brummer, 2002., Flajoulot i sur., 2005., Schitea i sur., 2007.). Razvoj novih kultivara je dugotrajan i vrlo zahtjevan proces. Prvenstveno zbog kompleksnosti genetske strukture lucerne na individualnome i populacijskome stupnju te niza specifičnosti vrste (izrazita stranoplodnja, višegodišnjost, samoinkompatibilnost, visoka inbreeding depresija), što ima za posljedicu drugačiju reakciju te kulture na primjenjene selekcijske metode u odnosu na brojne biljne vrste. Tijekom oplemenjivačkoga procesa uglavnom se proučava ukupno raspoloživa gen kolekcija domaće i introducirane germplazme u selekcijskome rasadniku (sjetva individualnih biljaka u redove na određeni razmak) u nekoliko ciklusa, pri čemu jedan selekcijski ciklus traje i do pet godina. Fenotipska rekurentna selekcija najčešće je primjenjivana metoda

u oplemenjivanju lucerne, a kultivari su u najvećem broju slučajeva sintetičke populacije nastale slobodnom oplodnjom velikoga broja superiornih roditeljskih komponenti te multipliciranjem sjemena kroz nekoliko generacija (Brummer, 1999., Julier i sur., 2000., Musial i sur., 2006., Maureira-Butler i sur., 2007.). Učinkovitost selekcije ovisna je o postojanju genetske varijabilnosti unutar svojstva/svojstava koja se žele poboljšati, veličini populacije, metodi izbora i načinu ispitivanja izabranih genotipova. Saznanja o stupnju genetske varijabilnosti, distribuciji divergentnosti i međusobnim odnosima između elitnih materijala tijekom selekcijskoga procesa temelj su oplemenjivanja bilja (Musial i sur., 2002.).

Cilj ovog istraživanja bio je (1) procijeniti varijabilnost fenotipskih svojstava unutar i između oplemenjivačkih populacija lucerne, (2) te izabrati najzanimljivije populacije, s obzirom na visoke vrijednosti značajnih agronomskih svojstava, u svrhu razvoja novih sintetičkih kultivara.

*Dr.sc. Marijana Tucak (marijana.tucak@poljinos.hr), dr.sc. Tihomir Čupić, dr.sc. Svetislav Popović – Poljoprivredni institut Osijek, Južno predgrađe 17, 31000 Osijek*

## MATERIJAL I METODE

**Razvoj populacija:** Proučavana je 21 oplemenjivačka populacija lucerne stvorena u razdoblju od 2003.-2007. godine na Odjelu za oplemenjivanje i genetiku krmnoga bilja Poljoprivrednoga instituta Osijek. Kao izvorni materijal za stvaranje populacija korištena je introducirana (francuska-FRA, talijanska-ITA, mađarska-HUN, australska-AUS, argentinska-ARG, američka-USA, poljska-POL, srpska-SRB) i domaća germplaz-

ma (HRV). Populacije su nastale fenotipskim izborom superiornih biljaka (tolerantnih na okolinske stresove i visokoga prinosa) iz navedenih germplazmi tijekom nekoliko ciklusa selekcije, koje su, zatim, međusobno križane u različitim kombinacijama. Dobiveno sjeme je posijano na izoliranim parcelama i umnožavano kroz nekoliko generacija slobodnoga oprašivanja. U Tablici 1. prikazana su imena proučavanih populacija i porijeklo izvornoga materijala.

**Tablica 1. Proučavane populacije lucerne i porijeklo izvornoga materijala**

*Table 1. Investigated populations of alfalfa and the origin of the source material*

Ime/ Name	Porijeklo izvornoga materijala/kultivara, lokalne populacije <i>Origin of the source material/cultivars, local populations</i>	Zemlja porijekla/ Country of origin
OPL-1	Victoria, KM-Norbert	ARG, HUN
OPL-2	Polycross PCP, LP (Rs-04-53/I-5)	HRV
OPL-3	Trifecta, NS Mediana ZMS, LP (Rs-04-64/I-3)	AUS, SRB, HRV
OPL-4	LP (Rs-04-28/I-8), PL-90	HRV, AUS
OPL-5	DK 134, Monarca, Orca	USA, ARG, FRA
OPL-6	NS Mediana ZMS, LP (Rs-03-136/I-22)	SRB, HRV
OPL-7	Flairdale, KM-Agro	AUS, HUN
OPL-8	Genesis, OS-93	AUS, HRV
OPL-9	LP (Rs-04-62/II-11), Radius	HRV, POL
OPL-10	Genesis, Vuka, Magnum V-Wet	AUS, HRV, USA
OPL-11	Barbara, Verneuil	ARG, FRA
OPL-12	OS-66, Aurora, LP (Rs-04-63/I-1), Barbara	HRV, AUS, ARG
OPL-13	LP (Rs-04-60/I-4)	HRV
OPL-14	Prime, Polycross PCP	AUS, HRV
OPL-15	Polycross PCP, LP (Rs-04-53/I-2)	HRV
OPL-16	LP (Rs-04-64/I-3), Radius	HRV, POL
OPL-17	LP (Rs-04-59/III-8), Du Puits, Classe	HRV, FRA, ITA
OPL-18	Alfagrazze, Magali	USA, FRA
OPL-19	Maron, Genesis	FRA, AUS
OPL-20	Slavonka, Prime, Magnum V-Wet	HRV, AUS, USA
OPL-21	LP- (Rs-04-24/II-5)	HRV

Zabilježka: LP označava lokalne populacije/Note: LP indicates local populations

**Poljski pokus i procjena fenotipskih svojstava:** Sjetva populacija obavljena je 17. ožujka 2008. godine na selekcijskome polju Poljoprivrednoga instituta Osijek po shemi randomiziranoga bloka u tri ponavljanja. Svaka osnovna parcela (0,80 x 5,5 m) svih populacija sadržavala je 24 ručno posijane biljke u dva reda, s razmakom biljaka unutar reda od 0,50 m te između redova od 0,40 m. Tijekom dvogodišnjeg istraživanja (2008.-2009.) analizirano je ukupno 10 fenotipskih svojstava kroz 7 otkosa (3 u godini sjetve 12.08., 10.09. i 3.11., 4 u drugoj vegetacijskoj godini 12.05., 10.06., 08.07. i 13.08.). U svakom otkosu obje godine istraživanja na svim individualnim biljkama u polju su obavljena mjerenja sljedećih svojstava: prinos zelene mase (PZM, g biljka<sup>-1</sup>), prinos suhe tvari (PST, g biljka<sup>-1</sup>), broj stabljika (BS, biljka<sup>-1</sup>), visina i regeneracija biljaka (VB i RB, cm). U drugom otkosu druge godine istraživanja, u fazi pupanje-početak

cvatnje, na uzorku najviše stabljike 21 slučajno izabrane biljke svake populacije prikupljeni su podatci za sljedeća svojstva: broj internodija (BI, stabljika<sup>-1</sup>), dužina internodija (DI, mm stabljika<sup>-1</sup>), debljina stabljike (DS, mm), dužina i širina srednjega listića u trolistu (DSL i ŠSL, mm). Opažanja na listu i stabljici izvedena su sukladno preporukama UPOV-a (1988.) DUS vodiča za lucernu. Sistematizirani podatci proučavanih svojstava obrađeni su po proceduri PROC GLM pomoću SAS 9.1 računalnoga programa (SAS Institute Inc, 2002.-2003.). Analiza je obuhvatila deskriptivne statističke parametre: srednju vrijednost, rang, koeficijent varijabilnosti. Provedena je analiza varijance (ANOVA) te Bonferronijev test višestrukih usporedbi, kako bi se utvrdile značajnosti razlika između populacija i njihovo rangiranje za razinu vjerojatnosti  $P < 0,01$ .

## REZULTATI I RASPRAVA

Analizom varijance utvrđene su statistički značajne razlike između godina za svojstva proučavana tijekom dvogodišnjega razdoblja. Razlike između populacija te biljaka unutar populacija bile su statistički opravdane kod razine vjerojatnosti  $P < 0,01$  za sva svojstva, osim za svojstvo dužina srednjega listića (Tablica 2.). Prinos zelene mase, tj. težina individualne biljke, najčešće je

korišteno svojstvo u oplemenjivanju lucerne, jer neposredno daje uvid u gospodarsku vrijednost selekcijskoga materijala. Prinos je složeno kvantitativno svojstvo kontrolirano većim brojem gena, na čiju ekspresiju, pored genotipske vrijednosti, značajno utječu negenetski čimbenici (fenološka faza biljke u vrijeme košnje, vegetacijska godina, agroekološki uvjeti rasta i razvoja).

**Tablica 2. Analiza varijance istraživanih fenotipskih svojstava**

Table 2. Analysis of variance of the investigated phenotypic traits

Izvor /Source	SS/DF	PZM/GMY	PST/DMY	BS/NS	VB/PH	RB/PR
Godina/Year	1	**	**	**	**	**
Ponavljanje/Repetition	2	ns	ns	ns	ns	ns
Populacija/Population	20	**	**	**	**	**
Biljka (populacija)/ Plant (population)	483	**	**	**	**	**
Izvor/Source	SS/DF	BI/NI	DI/LI	DS/ST	DSL/LCL	ŠSL/WCL
Ponavljanje/Repetition	2	ns	ns	ns	ns	ns
Populacija/Population	20	**	**	**	ns	**
Biljka (populacija)/ Plant (population)	126	**	**	**	ns	**

\*\* = značajno na  $P < 0,01$     \*\*significant at  $P < 0,01$     ns = nije značajno    ns = not significant

Zabilješka/Note: SS-stupnjevi slobode/DF-degrees of freedom, DSL-dužina srednjega listića/LCL-length of central leaflet, Za opis ostalih svojstava pogledati naslove Tablica 3., 4. i 5./For other traits description see to the titles of Table 3, 4 and 5

Oplemenjivačkom populacijom OPL-12 ostvaren je značajno najveći prinos zelene mase i suhe tvari (1643 i 343 g biljka<sup>-1</sup>, Tablica 3.). Navedeni prinosi bili su za 47,7%, odnosno 45,3% veći u odnosu na prosječan prinos svih populacija (1112 i 236 g biljka<sup>-1</sup>). Unutar te populacije utvrđen je i najveći broj biljaka s visokim prinosom, a kretao se od 245-4443 g biljka<sup>-1</sup> za prinos zelene mase te od 57-897 g biljka<sup>-1</sup> za prinos suhe tvari. Visoki prinosi zelene mase i suhe tvari dobiveni su i populacijama OPL-20, 10, 15, 17, 14 i 21, unutar kojih je zabilježen veliki broj pojedinačnih biljaka s visokim vrijednostima. Populacijama OPL-3 i 19 postignut je opravdano najniži prinos, što je u skladu s variranjem najnižih i najviših vrijednosti prinosa individualnih biljaka unutar tih populacija. Najniži koeficijent varijabilnosti prinosa zelene mase i suhe tvari utvrđen je kod populacije OPL-9 (52,8 i 43,1%), dok je najvišu vrijednost koeficijenta imala populacija OPL-5 (63,2 i 61,3%). Dobiveni rezultati u skladu su s vrijednostima koje navode Čupić i sur. (2008.), Julier i sur. (2000.) te Campbell i Xia (2002.). Velika unutarpopulacijska varijabilnost najvjerojatnije je posljedica niza specifičnosti lucerne, kao što su višegodišnjost, prirodna stranooplodnost i samoinkompatibilnost te populacije predstavljaju heterogene smjese heterozigotnih individua s različitim rasponom varijabilnosti svojstava. Najveći broj stabljika po biljci imala je OPL-12 (93 biljka<sup>-1</sup>), a svojstvo je unutar populacije variralo od

53-191 stabljike po biljci. Veliki broj stabljika zabilježen je i kod populacija OPL-14, 15, 20 i 21, dok je značajno najmanju vrijednost za to svojstvo imala OPL-5 (Tablica 3.). Koeficijent varijabilnosti broja stabljika po biljci kretao se od 27,1% (OPL-16) do 48,4% (OPL-10). Broj stabljika po biljci, uz visinu biljaka, najvažnija je komponenta prinosa koja određuje težinu čitave biljke te se može koristiti kao kriterij za izbor biljaka u oplemenjivanju na veći prinos. Opravdano, najvišu visinu biljaka postigla je populacija OPL-10 (78,4 cm), a najbolju regeneraciju biljaka nakon otkosa imala je OPL-14 (26,5 cm). Unutar tih populacija utvrđeno je i najveći broj individualnih biljaka s visokim vrijednostima opisanih svojstava, koji se kretao od 56-96 cm za visinu (OPL-10), odnosno od 19-43 cm za regeneraciju (OPL-14) (Tablica 4.). Najviši koeficijent varijabilnosti za visinu biljaka utvrđen je kod OPL-7 (29,7%), a za regeneraciju kod OPL-18 (40,1%). Postojanje jake pozitivne korelacijske veze visine i regeneracije biljaka s prinosom potvrdila su istraživanja brojnih autora (Annicchiarico, 2006., Basbag i sur., 2009., Basafa i Taherian, 2009., Tucak i sur., 2008.). Navedena spoznaja značajna je za oplemenjivače, jer, izborom superiornih biljaka za svojstva visine i regeneracije, vjerojatno je moguće indirektno poboljšati i najvažnije gospodarsko svojstvo. Broj internodija po stabljici varirao je od 9,7 (OPL-2 i 13) do 12,1 (OPL-18). Prosječno variranje broja internodija svih populacija

iznosio je 10,8, a raspon koeficijenta varijabilnosti svojstva kretao se od 6,4% kod OPL-6 do 16,5% kod OPL-17 (Tablica 4.). Najveću dužinu internodija imala je populacija OPL-14 (61,6 mm stabljika<sup>-1</sup>), a najmanju OPL-16 (43,4 mm stabljika<sup>-1</sup>). Koeficijent varijabilnosti kretao se od 13,4% (OPL-7) do 32,7% (OPL-9), dok je prosječno variranje dužine internodija po stabljici iznosilo 22,1% (Tablica 5.). Prema navodima Varge i sur. (1994.) i Rotilia i sur. (2001.), veći broj kraćih internodija mogao bi dovesti do povećanja lisne mase, tj. indirektno do povećanja kvalitete lucerne. S obzirom na poznatu činjenicu o postojanju negativne korelacije između prinosa i kvalitete populacije OPL-10 i 20, zbog visokih prinosa i zadovoljavajuće kombinacije odnosa između broja (10,2) i dužine internodija (46,5 i 47,8 mm) u odnosu na ostale proučavane populacije, predstavljaju interesantan materijal za naš oplemenjivački program. Populacija OPL-6 imala je značajno najdeblje stabljike (3,03 mm), a svojstvo je unutar populacije variralo od 2,2-4,2 mm (Tablica 5.). Najtanje stabljike utvrđene su kod OPL-21 (1,91 mm), s variranjem

svojstva unutar populacije od 1,4-2,7 mm. Koeficijent varijabilnosti svojstva kretao se od 7,7% (OPL-14) do 28,5% (OPL-2). Populacije s većim brojem debljih stabljika vjerojatno imaju veći prinos, ali i slabiju kvalitetu (više vlakana manje bjelančevina), što ukazuje na složenost u oplemenjivanju isključivo na svojstva kvalitete. U ovom istraživanju obje su populacije (OPL-6 i 21) pokazale podjednak genetski potencijal za prinos, ali OPL-21 je zanimljivija za daljnji oplemenjivački rad zbog većega broja tanjih stabljika, a samim tim i bolje kvalitete, utvrđenih u toj populaciji. Populacija OPL-15 imala je najveću širinu srednjega listića (13,5 mm), a svojstvo je unutar populacije variralo od 9,8-18,5 mm. Koeficijent varijabilnosti kretao se od 15,6% (OPL-21) do 28,4% (OPL-1), dok je prosječno variranje širine srednjega listića svih populacija iznosilo 21,4%. Kod OPL-15 utvrđena je i najveća dužina srednjega listića (31,8 mm), što nije bilo opravdano veće u odnosu na druge populacije te to svojstvo nije prikazano u Tablici. Najmanje vrijednosti za širinu i dužinu srednjega listića zabilježene su kod OPL-8 (7,8 i 24,4 mm).

**Tablica 3. Prosječne i rang vrijednosti te koeficijent varijabilnosti (CV, %) za prinos zelene mase i suhe tvari (PZM, PST, g biljka<sup>-1</sup>) te broj stabljika (BS, biljka<sup>-1</sup>)**

Table 3. Mean values, range values and coefficient of variability (CV, %) for yields of green mass and dry matter (GMV, DMV, g plant<sup>-1</sup>) and number of stems (NS, stem<sup>-1</sup>)

Populacija/ Population	2008.-2009. godina/year (8 otkosa/cuts)								
	PZM/GMV			PST/DMV			BS/NS		
	Prosjeak/ Mean	Rang/ Range	CV	Prosjeak/ Mean	Rang/ Range	CV	Prosjeak/ Mean	Rang/ Range	CV
OPL-1	1004 <sup>bcd</sup>	173-2842	54,9	204 <sup>cde</sup>	36-561	56,6	67 <sup>a-d</sup>	34-129	41,9
OPL-2	1139 <sup>bcd</sup>	146-2476	53,1	224 <sup>b-e</sup>	43-481	45,1	68 <sup>a-d</sup>	38-113	30,6
OPL-3	850 <sup>d</sup>	161-2400	55,6	168 <sup>e</sup>	21-468	57,6	54 <sup>bcd</sup>	37-99	38,6
OPL-4	987 <sup>bcd</sup>	177-2699	58,7	207 <sup>cde</sup>	36-582	60,2	54 <sup>bcd</sup>	33-85	33,2
OPL-5	886 <sup>cd</sup>	140-2782	63,2	191 <sup>cde</sup>	38-542	61,3	49 <sup>d</sup>	32-96	41,1
OPL-6	1108 <sup>bcd</sup>	148-2880	59,5	245 <sup>b-e</sup>	41-623	54,2	52 <sup>cd</sup>	23-96	44,5
OPL-7	982 <sup>bcd</sup>	131-2780	60,4	221 <sup>b-e</sup>	41-572	59,1	59 <sup>a-d</sup>	28-92	41,3
OPL-8	1142 <sup>bcd</sup>	147-3476	56,7	233 <sup>b-e</sup>	31-553	47,2	66 <sup>a-d</sup>	40-105	37,8
OPL-9	1106 <sup>bcd</sup>	130-2237	52,8	232 <sup>b-e</sup>	28-465	43,1	67 <sup>a-d</sup>	37-129	30,1
OPL-10	1347 <sup>ab</sup>	226-3663	55,4	283 <sup>abc</sup>	47-813	48,5	69 <sup>a-d</sup>	46-139	48,4
OPL-11	1069 <sup>bcd</sup>	141-3003	62,1	227 <sup>b-e</sup>	33-570	46,4	66 <sup>a-d</sup>	30-92	35,5
OPL-12	1643 <sup>a</sup>	245-4443	57,4	343 <sup>a</sup>	57-897	48,2	93 <sup>a</sup>	53-191	34,3
OPL-13	1103 <sup>bcd</sup>	121-2498	53,3	225 <sup>b-e</sup>	34-488	50,6	63 <sup>a-d</sup>	42-122	41,2
OPL-14	1198 <sup>a-d</sup>	167-2811	54,9	254 <sup>a-e</sup>	41-766	51,3	83 <sup>a-d</sup>	37-100	28,8
OPL-15	1324 <sup>abc</sup>	213-3469	53,8	268 <sup>a-d</sup>	46-745	47,1	85 <sup>abc</sup>	45-160	42,8
OPL-16	1102 <sup>bcd</sup>	165-2752	56,1	239 <sup>b-e</sup>	34-596	49,3	64 <sup>a-d</sup>	48-123	27,1
OPL-17	1224 <sup>a-d</sup>	201-3500	55,2	263 <sup>a-d</sup>	45-726	52,2	74 <sup>a-d</sup>	51-135	28,9
OPL-18	958 <sup>bcd</sup>	131-2298	57,1	203 <sup>cde</sup>	26-475	54,9	64 <sup>a-d</sup>	30-100	36,1
OPL-19	812 <sup>d</sup>	112-2039	59,4	185 <sup>de</sup>	22-512	58,4	60 <sup>a-d</sup>	28-88	37,9
OPL-20	1395 <sup>ab</sup>	225-3828	56,5	309 <sup>ab</sup>	51-786	53,7	89 <sup>ab</sup>	43-141	31,8
OPL-21	1092 <sup>bcd</sup>	141-2367	52,9	251 <sup>b-e</sup>	39-659	47,3	83 <sup>a-d</sup>	39-108	27,5
Prosjeak/Mean	1112		56,6	236		52,1			36,1

Srednje vrijednosti označene istim slovima ne razlikuju se statistički na razini  $P < 0,01$  (Bonferronijev višestruki rang test)

Mean values designated by the same letters are not significantly different at  $P < 0.01$  (Bonferroni's Multiple Range Test)

**Tablica 4. Prosječne i rang vrijednosti te koeficijent varijabilnosti (CV, %) za visinu i regeneraciju biljaka (VB, RB, cm) te broj internodija (BI, stabljika<sup>-1</sup>)**

*Table 4. Mean values, range values and coefficient of variability (CV, %) for plant height, regeneration of plants (PH, PR, cm) and number of internodes (NI, stem<sup>-1</sup>)*

Populacija/ Population	2008.-2009. godina/year (8 otkosa/cuts)						II. otkos 2009./ II cut of 2009		
	VB/PH Prosjeak/ Mean	Rang/ Range	CV	RB/PR Prosjeak/ Mean	Rang/ Range	CV	BI/NI Prosjeak/ Mean	Rang/ Range	CV
OPL-1	67,2 <sup>d-g</sup>	37-82	15,4	16,5 <sup>f</sup>	12-27	26,9	10,9 <sup>ab</sup>	9-12	10,9
OPL-2	71,1 <sup>a-f</sup>	49-88	14,5	17,9 <sup>def</sup>	14-33	26,5	9,7 <sup>b</sup>	8-11	10,9
OPL-3	71,0 <sup>a-f</sup>	36-92	17,6	17,0 <sup>def</sup>	12-29	24,3	10,3 <sup>ab</sup>	8-12	11,3
OPL-4	65,1 <sup>efg</sup>	44-86	20,5	17,3 <sup>def</sup>	11-29	32,3	10,9 <sup>ab</sup>	9-13	11,0
OPL-5	65,5 <sup>d-g</sup>	30-85	24,7	17,0 <sup>def</sup>	10-27	27,6	10,0 <sup>ab</sup>	9-12	9,4
OPL-6	70,1 <sup>a-f</sup>	32-91	31,1	19,7 <sup>c-f</sup>	15-31	34,7	9,8 <sup>ab</sup>	9-11	6,4
OPL-7	60,1 <sup>g</sup>	29-79	29,7	19,6 <sup>c-f</sup>	13-32	35,8	10,6 <sup>ab</sup>	9-12	10,1
OPL-8	72,6 <sup>a-f</sup>	56-90	13,3	21,6 <sup>a-f</sup>	17-35	31,6	10,7 <sup>ab</sup>	9-13	11,6
OPL-9	72,1 <sup>a-f</sup>	28-89	17,1	18,8 <sup>def</sup>	18-32	34,3	10,8 <sup>ab</sup>	9-14	14,9
OPL-10	78,4 <sup>a</sup>	56-96	13,4	26,2 <sup>a</sup>	20-42	29,2	10,2 <sup>ab</sup>	8-12	8,4
OPL-11	69,2 <sup>a-g</sup>	33-93	29,1	19,7 <sup>c-f</sup>	14-33	33,1	11,4 <sup>ab</sup>	10-13	12,9
OPL-12	77,3 <sup>abc</sup>	42-96	15,5	25,5 <sup>ab</sup>	21-41	32,5	11,2 <sup>ab</sup>	9-13	12,4
OPL-13	68,8 <sup>b-g</sup>	35-86	19,1	19,2 <sup>def</sup>	19-38	26,8	9,7 <sup>b</sup>	8-11	10,9
OPL-14	78,2 <sup>ab</sup>	45-95	17,6	26,5 <sup>a</sup>	19-43	36,3	11,2 <sup>ab</sup>	10-12	6,6
OPL-15	74,8 <sup>a-d</sup>	53-92	13,2	22,3 <sup>a-e</sup>	21-37	28,9	11,2 <sup>ab</sup>	9-13	11,7
OPL-16	64,1 <sup>efg</sup>	36-82	18,6	19,9 <sup>c-f</sup>	13-31	23,2	10,8 <sup>ab</sup>	9-12	10,5
OPL-17	72,8 <sup>a-f</sup>	38-92	15,7	20,5 <sup>c-f</sup>	19-38	34,7	10,7 <sup>ab</sup>	8-13	16,5
OPL-18	63,5 <sup>fg</sup>	34-86	21,4	16,8 <sup>ef</sup>	16-31	40,1	12,1 <sup>a</sup>	11-14	9,1
OPL-19	60,3 <sup>g</sup>	29-87	26,9	19,5 <sup>c-f</sup>	13-30	33,5	11,9 <sup>ab</sup>	9-14	11,5
OPL-20	73,5 <sup>a-e</sup>	51-98	13,8	22,5 <sup>a-d</sup>	23-42	30,4	10,2 <sup>ab</sup>	8-11	10,9
OPL-21	67,9 <sup>c-g</sup>	32-90	18,2	25,0 <sup>abc</sup>	19-40	34,0	11,6 <sup>ab</sup>	10-14	9,0
Prosjeak/Mean	69,7		19,3	20,4		31,2	10,7		10,8

Srednje vrijednosti označene istim slovima ne razlikuju se statistički na razini P<0,01 (Bonferronijev višestruki rang test)  
 Mean values designated by the same letters are not significantly different at P<0.01 (Bonferroni's Multiple Range Test)

**Tablica 5. Prosječne i rang vrijednosti te koeficijent varijabilnosti (CV, %) za dužinu internodija (DI, mm stabljika<sup>-1</sup>), debljinu stabljike (DS, mm) te širinu srednjega listića (SSL, mm)**

*Table 5. Mean values, range values and coefficient of variability (CV, %) for length of internodes (LI, mm stem<sup>-1</sup>), stem thickness (ST, mm) and width of central leaflet (WCL, mm)*

Populacija/ Population	II. otkos 2009. godine/II cut of 2009 year								
	DI/LI			DS/ST			SSL/WCL		
	Prosjeak/ Mean	Rang/ Range	CV	Prosjeak/ Mean	Rang/ Range	CV	Prosjeak/ Mean	Rang/ Range	CV
OPL-1	50,3 <sup>ab</sup>	31-75	26,7	2,23 <sup>bc</sup>	1,2-3,1	24,2	12,4 <sup>abc</sup>	6,1-17,2	28,4
OPL-2	49,3 <sup>ab</sup>	33-66	19,8	2,44 <sup>abc</sup>	1,1-3,4	28,5	13,1 <sup>ab</sup>	10,3-17,4	19,8
OPL-3	46,3 <sup>b</sup>	32-63	21,3	2,41 <sup>abc</sup>	2,1-3,2	16,4	11,2 <sup>a-d</sup>	9,4-15,2	17,3
OPL-4	53,1 <sup>ab</sup>	40-80	25,0	2,83 <sup>ab</sup>	2,3-3,6	15,4	10,6 <sup>a-d</sup>	8,3-14,4	16,6
OPL-5	52,4 <sup>ab</sup>	29-67	24,6	2,60 <sup>abc</sup>	1,8-3,5	18,3	11,5 <sup>a-d</sup>	8,5-17,6	23,3
OPL-6	51,6 <sup>ab</sup>	41-62	13,6	3,03 <sup>a</sup>	2,2-4,2	17,9	12,3 <sup>abc</sup>	8,1-17,2	21,6
OPL-7	50,0 <sup>ab</sup>	40-61	13,4	2,54 <sup>abc</sup>	2,3-3,1	15,1	10,5 <sup>a-d</sup>	8,4-14,3	24,3
OPL-8	55,9 <sup>ab</sup>	38-74	22,1	2,45 <sup>abc</sup>	1,9-3,0	14,6	7,8 <sup>d</sup>	6,6-13,2	24,7
OPL-9	49,5 <sup>ab</sup>	30-76	32,7	2,64 <sup>abc</sup>	1,5-3,7	25,9	10,2 <sup>a-d</sup>	6,3-15,2	28,0
OPL-10	46,5 <sup>b</sup>	32-70	22,9	2,52 <sup>abc</sup>	1,9-3,2	15,4	9,6 <sup>a-d</sup>	8,7-14,1	20,9
OPL-11	53,4 <sup>ab</sup>	40-71	17,6	2,51 <sup>abc</sup>	1,8-3,1	17,9	11,2 <sup>a-d</sup>	8,3-16,5	22,5
OPL-12	46,4 <sup>b</sup>	33-63	22,6	2,79 <sup>ab</sup>	2,5-3,3	9,2	10,8 <sup>a-d</sup>	7,2-14,1	22,2
OPL-13	56,1 <sup>ab</sup>	44-72	16,4	2,62 <sup>abc</sup>	2,2-3,3	12,2	11,8 <sup>a-d</sup>	7,4-16,1	21,4
OPL-14	61,6 <sup>a</sup>	46-75	17,8	2,82 <sup>ab</sup>	2,4-3,1	7,7	11,9 <sup>a-d</sup>	9,5-14,2	15,8
OPL-15	47,6 <sup>b</sup>	38-65	19,3	2,65 <sup>abc</sup>	2,3-3,2	10,1	13,5 <sup>a</sup>	9,8-18,5	20,4
OPL-16	43,4 <sup>b</sup>	25-77	28,9	2,56 <sup>abc</sup>	2,1-2,9	9,9	9,0 <sup>bcd</sup>	5,5-10,2	18,1
OPL-17	50,4 <sup>ab</sup>	40-68	16,7	2,68 <sup>abc</sup>	2,1-3,7	16,7	10,9 <sup>a-d</sup>	8,0-14,1	18,1
OPL-18	48,9 <sup>ab</sup>	22-73	30,1	2,77 <sup>ab</sup>	2,4-3,1	11,0	8,2 <sup>cd</sup>	4,1-13,0	28,2
OPL-19	53,7 <sup>ab</sup>	39-76	23,7	2,39 <sup>abc</sup>	1,8-3,3	16,4	8,3 <sup>cd</sup>	5,2-10,1	22,4
OPL-20	47,8 <sup>b</sup>	33-72	27,7	2,58 <sup>abc</sup>	2,2-3,1	18,8	11,7 <sup>a-d</sup>	8,3-15,4	21,3
OPL-21	52,5 <sup>ab</sup>	38-69	20,1	1,91 <sup>c</sup>	1,4-2,7	22,7	10,0 <sup>a-d</sup>	8,2-12,0	15,6
Prosjeak/Mean	50,7		22,1	2,57		16,3	10,7		21,4

Srednje vrijednosti označene istim slovima ne razlikuju se statistički na razini P<0,01 (Bonferronijev višestruki rang test)  
 Mean values designated by the same letters are not significantly different at P<0.01 (Bonferroni's Multiple Range Test)

## ZAKLJUČAK

Na osnovi postavljenih ciljeva, provedenog istraživanja i dobivenih rezultata, može se zaključiti da se proučavane oplemenjivačke populacije lucerne značajno razlikuju u prinosu zelene mase i suhe tvari, broju stabljika, visini i regeneraciji biljaka, broju i dužini internodija, debljini stabljike te širini srednjega listića. Statističkom analizom također je utvrđena značajna varijabilnost u svim proučavanim svojstvima unutar i između populacija lucerne, osim za dužinu srednjega listića. Oplemenjivačkim populacijama OPL-10, 12, 14, 15, 17, 20 i 21 ostvarene su visoke vrijednosti prinosa i najvažnijih komponenti prinosa (broj stabljika, visina i regeneracija biljaka) te poželjne vrijednosti ostalih ispitivanih svojstava. Utvrđene superiorne biljke unutar najboljih populacija predstavljaju potencijalne roditeljske komponente za razvoj novih sintetičkih kultivara.

## ZAHVALA

Prikazani rezultati istraživanja proizašli su iz znanstvenoga projekta „Procjena oplemenjivačke vrijednosti germplazme lucerne (*Medicago spp.*)“ (šifra projekta: 073-0000000-3535), koji se provodi uz financijsku potporu Ministarstva znanosti, obrazovanja i športa Republike Hrvatske.

## LITERATURA

- Annicchiarico, P. (2006): Diversity, genetic structure, distinctness and agronomic value of Italian lucerne (*Medicago sativa* L.) landraces. *Euphytica*, 148(3): 269-282.
- Basafa, M., Taherian, M. (2009): A study of agronomic and morphological variations in certain alfalfa (*Medicago sativa* L.) ecotypes of the cold region of Iran. *Asian Journal of Plant Sciences*, 8(4): 293-300.
- Basbag, M., Demirel, R., Avci, M. (2009): Determination of some agronomical and quality properties of wild alfalfa (*Medicago sativa* L.) clones in Turkey. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 7(2): 357-359.
- Brummer, E.C. (1999): Capturing Heterosis in Forage Crop Cultivar Development. *Crop Science*, 39(4): 943-954.
- Campbell, T.A., Xia, Z.L. (2002): Agronomic evaluations of grass and legume forage species collected in the Xinjiang Autonomous Region of the People's Republic of China and Mongolia. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 49(3): 295-303.
- Čupić, T., Tucak, M., Popović, S. (2008.): Proučavanje lokalnih populacija lucerne u svrhu stvaranja nove oplemenjivačke germplazme. *Poljoprivreda*, 14(2): 46-51.
- Flajoulot, S., Ronfort, J., Baudouin, P., Barre, P., Huguet, T., Huyghe, C., Julier, B. (2005): Genetic diversity among alfalfa (*Medicago sativa*) cultivars coming from a breeding program, using SSR markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 111(7): 1420-1429.
- Julier, B., Huyghe, C., Ecalle, C. (2000): Within- and Among-Cultivar Genetic Variation in Alfalfa: Forage Quality, Morphology, and Yield. *Crop Science*, 40(2): 365-369.
- Maureira-Butler, I.J., Udall, J.A., Osborn, T.C. (2007): Analyses of a multi-parent population derived from two diverse alfalfa germplasms: testcross evaluations and phenotype-DNA associations. *Theoretical and Applied Genetics*, 115(6): 859-867.
- Musial, J.M., Basford, K.E., Irwin, J.A.G. (2002): Analysis of genetic diversity within Australian lucerne cultivars and implications for future genetic improvement. *Australian Journal of Agricultural Research*, 53(6): 629-636.
- Musial, J.M., Lowe, K.F., Mackie, J.M., Aitken, K.S., Irwin, J.A.G. (2006): DNA markers linked to yield, yield components, and morphological traits in autotetraploid lucerne (*Medicago sativa* L.). *Australian Journal of Agricultural Research*, 57(7): 801-810.
- Riday, H., Brummer, E.C. (2002): Forage Yield Heterosis in Alfalfa. *Crop Science*, 42(3): 716-723.
- Rotili, P., Gnocchi, G., Scotti, C., Kertikova, D. (2001): Breeding of the alfalfa plant morphology for quality. Quality in lucerne and medics for animal production, Proceedings of the XIV EUCARPIA *Medicago spp.* Group Meeting, Instituto Agronomico Mediterraneo de Zaragoza, Spain, 25-27.
- SAS Institute Inc. (2002-2003): SAS/STAT Software, Version 9.1, SAS Institute, Cary, NC.
- Schitea, M., Varga, P., Martura, T., Petcu, E., Dihoru, A. (2007): New Romanian cultivars of alfalfa developed at Nardi Fundulea. *Romanian Agricultural Research*, 24: 47-50.
- Tucak, M., Popović, S., Grljušić, S., Čupić, T., Kozumplik, V., Šimić, B. (2008): Variability and relationships of important alfalfa germplasm agronomic traits. *Periodicum biologorum*, 110(4): 311-315.
- UPOV/TG/6/4 (1988): Guidelines for the conduct of tests for distinctness, homogeneity and stability of lucerne (*Medicago sativa* L.). International Union for the Protection of New Varieties of Plants, Geneva, Switzerland.

18. Varga, P., Dihoru, A., Schitea, M., Martura, T. (1994): International Field Trials With Alfalfa Cultivars at Fundulea Institute. Management and Breeding of Perennial Lucerne for Diversified Purposes, Proceedings of Meeting Organized by INRA in Lusignan 4-8 September, FAO Rome, 212-217.
19. 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.

---

## PHENOTYPIC VARIABILITY OF ALFALFA BREEDING POPULATION

---

### SUMMARY

*The objectives of this research were to assess the variability of 10 phenotypic traits within and among of 21 alfalfa breeding populations, and to select the most promising populations regarding high values of important agronomic traits in order to develop new synthetic cultivars. The investigation was conducted at the experimental field of the Agricultural Institute Osijek. Field trial was arranged according to the randomized block design in three replications in two consecutive years (2008-2009). Studied alfalfa breeding populations were significantly different in yields of green mass and dry matter, number of stems, height and regeneration of plants, number and length of internodes, stem thickness and width of central leaflet. Significant variability was determined within and among populations for all observed traits, except for length of central leaflet. High yields and major yield components (number of stems, height and plant regeneration), as well as favorable values for other studied traits were found for breeding populations OPL-10, 12, 14, 15, 17, 20 and 21. Determined superior plants within the best populations are potential parental components for a new synthetic cultivars development.*

**Key-words:** alfalfa, breeding population, phenotypic traits, variability

(Primljeno 01. travnja 2010.; prihvaćeno 12. svibnja 2010. - Received on 1 April 2010; accepted on 12 May 2010)