

## PROUČAVANJE LOKALNIH POPULACIJA LUCERNE U SVRHU STVARANJA NOVE OPLEMENJIVAČKE GERMPLAZME

*T. Čupić, Marijana Tucak, S. Popović*

Izvorni znanstveni članak  
Original scientific paper

### SAŽETAK

*Prinosi suhe tvari i zelene mase važan su čimbenik u stvaranju novih sorti krmnih kultura. Kroz dugi niz godina oplemenjivanja postignut je mali genetski napredak povećanja prinosa. Stoga smo istraživali mogućnosti korištenja lokalnih populacija lucerne u svrhu povećanja prinosa direktnom i indirektnom selekcijom. Dobiven je jak i opravdan utjecaj genotipa i okoline na sva istraživana svojstva, kao i njihove interakcije na nivou značajnosti  $P < 0,01$ . Najveći koeficijent varijabilnosti zabilježen je kod prinosa zelene mase 48,21%, a najmanji kod visine 13,18%. Za svojstva broj stabljika i visinu biljaka utvrđen je veliki udio varijance genotipa u ukupnoj varijanci, kao i visoka heritabilnost.*

*Ključne riječi: lucerna, lokalna populacija, prinos, heritabilnost, genetska dobit*

### UVOD

Rod *Medicago* L. vrlo je raširen i sadrži više od 60 jednogodišnjih i višegodišnjih vrsta (Quiros i Bauchan, 1988.). Ishodišni centar roda smatra se Mala Azija, Zakavkazje, Iran i visoravni Turkmenistana (Bolton, 1962.). Kroz povijest lucerna je bila najvažnija i najrasprostranjenija krmna kultura, tako Ivanov (1980.) navodi da je bila poznata već prije 8000 godina.

Po površinama na kojima se uzgaja u Republici Hrvatskoj lucerna je najraširenija krmna leguminoza te do danas zauzima nešto više od 42 tisuće hektara (Statistički ljetopis, 2000.). 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.). Bogata je bjelančevinama (2000 do 2400 kg/ha) s povoljnim aminokiselinskim sastavom (Stjepanović, 1998.). Zbog važnosti u ishrani stoke stalno se radi na kreiranju novih sorti lucerne boljih gospodarskih svojstava. U oplemenjivačkim programima nastoji se izdvojiti superiorne individue u gospodarski važnim svojstvima (Fehr, 1987.). Uspjeh oplemenjivanja ovisi uglavnom o genetskoj varijabilnosti prisutnoj u izvorima i metodi selekcije, koja se primjenjuje zbog 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 prisutnim genima u populaciji te je izbor germplazme koja će biti uključena u oplemenjivanje vrlo osjetljiva faza oplemenjivanja (Rumbaugh i sur., 1988.). Kod lucerne je važan izbor roditeljske germplazme, veličina populacije i intenzitet selekcije, kako bi se odredio očekivani napredak. Mnogi autori (Castro-Acero i sur., 1996.; Vaitsis, 1999.; Prospero i sur., 2006.) navode veću oplemenjivačku vrijednost lokalno adaptiranih populacija u odnosu na materijale iz drugih geografskih područja.

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 lokalnih populacija lucerne.

### MATERIJAL I METODE

---

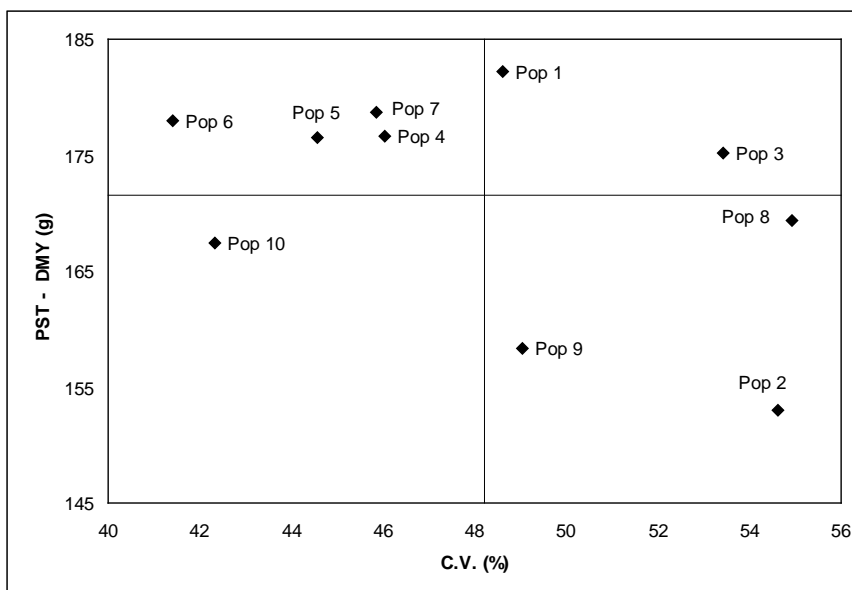
*Dr.sc. Tihomir Čupić, dr.sc. Marijana Tucak i dr.sc. Svetislav Popović – Poljoprivredni institut Osijek, Južno predgrađe 17, 31 000 Osijek*

U istraživanju su korištene populacije lucerne iz gen kolekcije Poljoprivrednoga instituta Osijek. Populacije su prikupljene i dobivene iz zemalja Panonske regije (Hrvatska, Srbija, Bosna i Hercegovina, Mađarska, Češka, Slovačka, Rumunjska) 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 široke genetske varijabilnosti, sukladno ciljevima istraživanja.

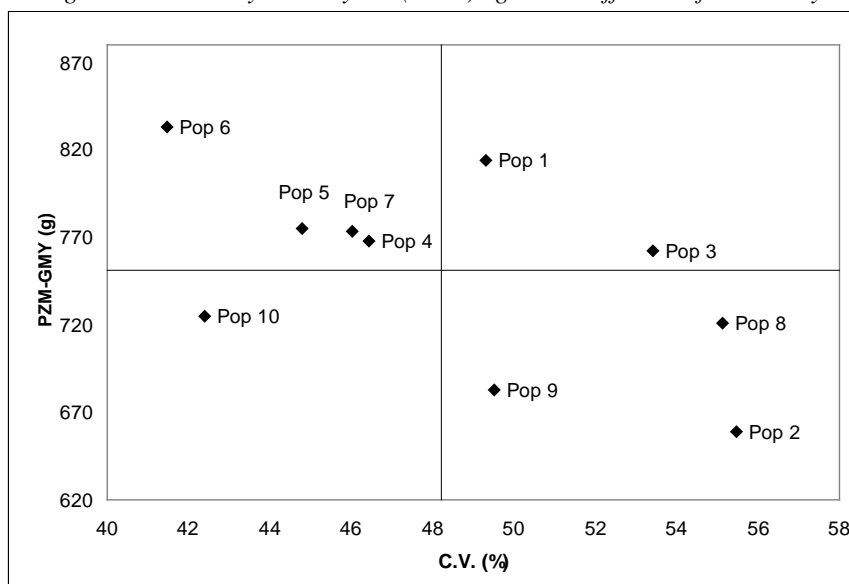
Deset populacija bilo je uključeno u istraživanje na Poljoprivrednome Institutu u Osijeku tijekom dvije godine, čime je obuhvaćen dio germplazme lucerne s područja Panonske regije. Po 100 zdravih i dobro razvijenih biljaka od svake populacije izabrano je iz etabliranih izolacija. Od svake biljke rezanjem su dobivene 4 biljke, koje su bile 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 bio izveden po slučajnome bloknome rasporedu u četiri ponavljanja. Blok je sadržavao 10 populacija sa 100 biljaka po populaciji. Pokus je analiziran u drugoj i trećoj vegetacijskoj godini. Tijekom dvije godine istraživanja ukupno je dobiveno 8 otkosa (4 po godini). Sve su biljke bile košene u fazi pupanje početak cvjetanja, a analizirana su sljedeća svojstva: prinos suhe tvari (PST) (g/biljci), prinos zelene mase (PZM) (g/biljci), visina biljke (V) (cm) i broj stabljika po biljci (BS). Prinosi suhe tvari i zelene mase izražene su u gramima po biljci te zbrojene u ukupni godišnji prinos svih otkosa po biljci u populacijama. Visina biljke izmjerena je neposredno pred košnju na svim biljkama svake populacije u svim otkosima te je izražena kao prosječna visina biljke. Broj stabljika po biljci utvrđen je brojanjem stabljika nakon košnje svake biljke svake populacije u svim otkosima te je izražen kao prosječni broj stabljika po biljci. Dobiveni podaci po biljkama svedeni su na prosječnu biljku po populaciji za sva istraživana svojstva. Sistematizirani podaci obrađeni su 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.). Za prepoznavanje stabilnosti svojstava populacija i grafičkoga prikaza istih korištena je metoda grupiranja po Francis i Kannenbergu (1978.). Standardna pogreška (SE) procjene heritabilnosti metodom po Singhu (1993.) omogućuje određivanje pouzdanosti procjene temeljem podataka u jednoj ili u nekoliko godina istraživanja. Očekivana genetska dobit od selekcije izračunata je po Allardu (1960.), uz intenzitet selekcije 15% ( $k=1,554$ ).

## REZULTATI I RASPRAVA

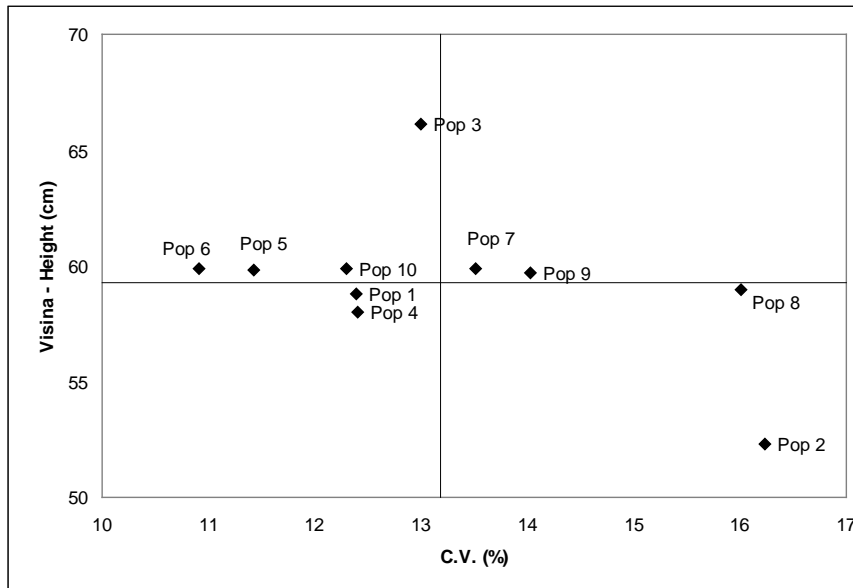
U istraživanju je utvrđen jak i opravdani utjecaj genotipa i okolina na sva istraživana svojstva na nivou značajnosti  $P < 0,01$ . Utvrđen je i opravdani utjecaj interakcije na sva svojstva na istome nivou opravdanosti. PST po biljkama varirao je od 152,95 g u populaciji Pop 2 do 182,19 g za populaciju Pop 1 (Grafikon 1.). Populacije su, u prosjeku, ostvarile 171,52 g suhe tvari po biljci, dok je koeficijent varijabilnosti u prosjeku iznosio 47,98%. PZM po biljkama varirao je od 658,88 g (Pop 2) do 832,75 g (Pop 6), dok je prosječan prinos biljke u dvije godine istraživanja iznosio 751,35 g, uz prosječan koeficijent varijabilnosti od 48,21%. Koeficijent varijabilnosti za svojstvo PZM lucerne kretao se od 41,47% za populaciju Pop 6 do 55,47% za populaciju Pop 2 (Grafikon 2.). Visina biljaka, kao jedno od najčešće povezanoga svojstva s prinosima, u prosjeku je iznosila 59,30 cm, uz relativno nizak koeficijent varijabilnosti 13,18%. Samo biljke iz populacije Pop 3 znatno su odskakale po visini (prosječno 66,1 cm) (Grafikon 3.). Broj stabljika u istraživanim populacijama lucerne kretao se od 27,75 stabljika po biljci (Pop 2) do 37,75 stabljika po biljci (Pop 8), odnosno prosjek za svojstvo iznosio je 32,85 stabljika po biljci, uz prosječni koeficijent varijabilnosti 37,97% (Grafikon 4.). Populacija Pop 6 bolji je izbor od Pop 8 u pogledu toga svojstva, jer ima znatno manji koeficijent varijabilnosti, uz neznatno manji broj stabljika po biljci.



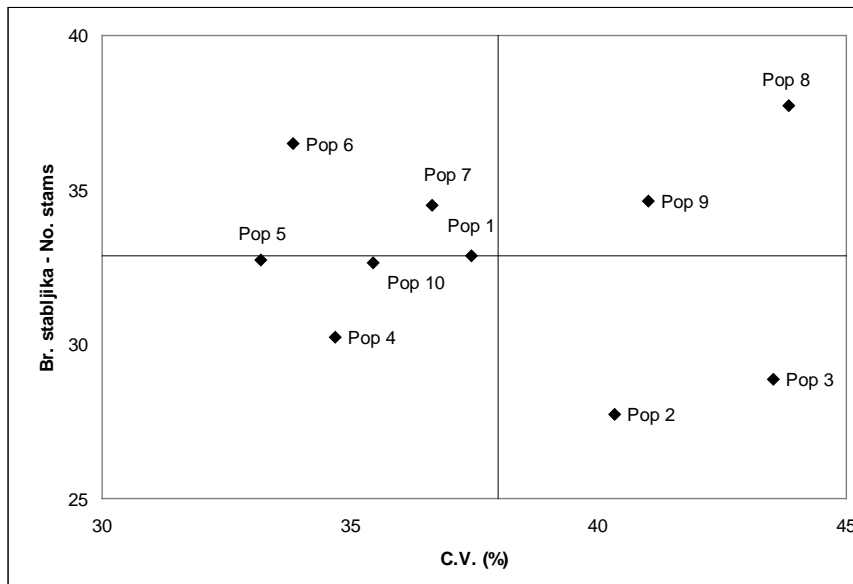
**Grafikon 1. Prosječni prinos suhe tvari i koeficijent varijabilnosti**  
*Figure 1. Means dry matter yield (DMY) against coefficient of variability*



**Graf 2. Prosječni prinos zelene mase i koeficijent varijabilnosti**  
*Figure 2. Means green mass yield (GMY) against coefficient of variability*



**Grafikon 3. Prosječna visina biljaka i koeficijent varijabilnosti**  
*Figure 3. Means height plants (H) against coefficient of variability*



**Grafikon 4. Prosječni broj stabljika i koeficijent varijabilnosti**  
*Figure 4. Means number of stams (NS) against coefficient of variability*

Dobiveni podaci daju nam informacije o ispitivanome materijalu i njegovome daljnjem korištenju kod stvaranja nove oplemenjivačke germplazme. Svojstva prinosa neposredno daju uvid u vrijednost selekcijskoga materijala te su najčešće korišteno mjerilo u selekciji (Fick i sur., 1988.). Prinos suhe tvari kompleksno je svojstvo, na čiju ekspresiju utječe i fenološka faza biljke u vrijeme košnje (Lamb i sur., 2003.). Stoga direktna selekcija na PST nije učinkovita, a unapređenje istoga moguće je postići indirektno preko svojstava s kojima je u jakoj vezi. Visoku varijabilnost za svojstvo PZM možemo jednim dijelom pripisati životnome ciklusu lucerne (višegodišnja kultura), na čiju varijabilnost ne utječe samo intenzitet okoline nego i starosna dob lucerne, dio dana u vrijeme košnje i drugi čimbenici. Navedene činjenice potvrđuju istraživanja Tabagliou i Ligabuea (1999.), koji su utvrdili najveće prinose lucerne u drugoj i trećoj godini (30% i 36% od sveukupnoga korištenja). Svojstvo visina biljaka je kvantitativno svojstvo koje utječe na prinos zelene mase, a jedan je od kriterija pri izboru superiornih genotipova u procesu selekcije. Razlika u visini biljaka može biti genetski uvjetovana, ali i posljedica reakcije proučavanoga materijala na zemljišne i klimatske uvjete toga geografskoga prostora. Drobna i sur. (1999.) testirali su veliki broj lucerni iz raznih geografskih

područja te karakteriziraju hrvatske lucerne kao niže biljke, sporije regeneracije te srednje težine. Koeficijent varijabilnosti visine biljaka nije bio velik unutar istraživanih populacija pa možemo reći da je izbor ograničen na populaciju Pop 3. Svojstvo visine biljaka lucerne, kao komponente prinosa, ovisi o genotipu, vegetacijskome ciklusu i uvjetima okoline. Kod lucerne svojstvo visine biljaka može služiti kao mjerilo za određivanje otpornosti na stres i adaptabilnost (Užik, 1992.). Broj stabljika po biljci, kao i visina, u pozitivnoj je korelaciji s masom biljke, a samim tim i prinosom. Koeficijent varijabilnosti broja stabljika po biljci istraživao je Martura (1998.) te utvrdio veću varijabilnost od dobivene u provedenom istraživanju (od 21,85% do 34,2%), što je rezultat većega međurednoga razmaka između biljaka kod navedenoga autora.

Zbog postojanja male genetske varijance i niske heritabilnosti svojstava prinos zelene mase i suhe tvari, možemo zaključiti da je ekspresija svojstava prinosa pod većim utjecajem okolinskih faktora, a što potvrđuju Djukić (1988.), Lorenzetti (1992.) i Julie i sur. (1999. i 2000.) u svojim istraživanjima. Visoka nasljednost svojstva visine biljaka i broja stabljika ukazuje na mogućnost korištenja istih kao kriterija u selekciji na povećanje prinosa biljke. Analiza varijance pokazala je veliko variranje između 10 istraživanih populacija (Tablica 1.). Na osnovi rezultata dobivenih analizom varijance za ostala svojstva vidljiv je znatan udio genetske varijance u ukupnoj varijanci za svojstva visina biljaka i broj stabljika po biljci, dok je kod prinosa zelene mase bio podjednak udio genetske i okolinske varijance. Najveća heritabilnost u širem smislu utvrđena je za svojstva visina biljaka i broja stabljika po biljci. Visoka nasljednost navedenih svojstava ukazuje na mogućnost korištenja istih u selekciji. Koeficijent varijabilnosti okoline bio je podjednak za sva istraživana svojstva. 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 broj stabljika po biljci i iznosila bi 12,1%. Mala relativna dobit za svojstvo visine i nije iznenađujuća jer samo biljke iz populacija Pop 3 imale su znatno više stabljike, što upućuje da je bolje raditi direktnu selekciju na PZM po biljci u istraživanim populacijama, nego indirektno, preko svojstva visine.

Rezultati istraživanja ukazuju da je selekcijom na svojstvo PST pa i svojstvo PZM zbog maloga udjela genetske komponente teže ostvariti povećanje. Stoga je uputnije vršiti indirektnu selekciju preko svojstva BS, koje ima visoku heritabilnost, a u pozitivnoj je korelaciji s prinosom zelene mase i suhe tvari biljke.

**Tablica 1. Prosjek, procjenjene varijance i heritabilnost između 10 populacija lucerne**

*Table 1. Means, estimates of variance and heritability among 10 alfalfa populations*

	PZM-GMY	V-H	BS-NS	PST-DMY	
Prosijek-Means	751,4	59,3	32,9	171,5	
Varijanca populacije-Population variance	2886,2	10,8	10,0	81,7	
Varijanca greške- Error variance	2934,4	3,0	3,6	123,9	
Varijanca interakcije- Interaction variance	763,4	1,2	1,5	67,9	
$h^2 \pm (SE (h^2))$	0,44 $\pm$ 0,20	0,72 $\pm$ 0,14	0,66 $\pm$ 0,16	0,30 $\pm$ 0,24	
CV <sub>E</sub> (%)	7,2	2,9	5,8	6,5	
Dobit- Gain	Očekivana <sub>(g)</sub> - <i>Expectid</i>	55,5	4,3	4,0	7,7
	Relativna <sub>(%)</sub> - <i>Relative</i>	7,4	7,4	12,1	4,4

## ZAKLJUČAK

Na osnovi provedenoga istraživanja tijekom dvogodišnjeg razdoblja, u populacijama lucerne utvrđena je velika varijabilnost za sljedeća svojstva: prinos zelene mase, broj stabljika po biljci, prinosi suhe tvari. Populacija Pop 6 imala je najveće prosječne vrijednosti za prinos zelene mase te visoke vrijednosti za prinos suhe tvari po biljci, što je rezultat iznadprosječnih vrijednosti visine i broja stabljika po biljci. Navedena je populacija pokazala malo variranje za sva promatrana svojstva te predstavlja najvrijedniji materijal za stvaranje nove oplemenjivačke germplazme. Najveću nasljednost, u širem smislu, imala su svojstva broj stabljika i visina po biljci, dok su prinosi pokazali najmanju nasljednost. Izborom 15% najboljih biljaka istraživanih populacija, ostvarili bismo najveću genetsku dobit od selekcije za svojstvo broja stabljika. Unutar lokalnih populacija izborom biljaka s velikim

brojem stabljika po biljci ostvarilo bi se najveći napredak, a time bismo, indirektno, unaprijedili svojstva prinosa suhe tvar i zelene mase.

## LITERATURA

1. Allard, R.W.(1960): Principles of plant breeding. John Willey & Sons, New York.
2. Bolton, J.L. (1962): Alfalfa, botany, cultivation and utilization. Leonard Hill (Books) Ltd., London, 1-8.
3. Castro-Acero, L., Marquez-Ortiz, J.J., Santamaria-Cesar, J. (1996): Alfalfa diversity in Mexico. Report of the Thirty-fifth North American Alfalfa Improvement Conference, July 16-20, Oklahoma City, USA, 22.
4. Djukić, D. (1988.): Kvantitativna svojstva nekih genotipova lucerke uključenih u program oplemenjivanja. VI Jugoslavenski simpozij o krmnom bilju, Osijek, 48.–56.
5. Drobna, J., Zakova, M., Hauptvogel, P., Sedlakova, E. (1999.): Evaluation of alfalfa genetic resources using cluster analysis based on the morphological and agronomic characteristics. Lucerne and Medics for the XXI Century, Proceedings of the XIII EUCARPIA *Medicago* spp. Group Meeting, Istituto di Miglioramento Genetico Vegetale, Perugia, Italy, 219-227.
6. Fehr, R.W. (1987.): Principles of cultivar development. Macmillan Publishing Company, New York, USA, vol. 1: 80-105.
7. Fick, G.W., Holt, D.A., Lugg, D.G. (1988.): Environmental physiology and crop growth. Alfalfa and Alfalfa Improvement (Monography 29). American Society of Agronomy, Inc, Madison, Wisconsin, USA, 163–194.
8. Francis, T.R., Kannenberg, L.W. (1978.): Yield Stability study in Short – season Maize. I. A describe method for grouping genotypes. Can. Jour. of Plant Science 58: 1029 – 1034.
9. 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. Aust. J. Agric. Res. 52: 699-712.
10. Ivanov, A.I. (1980.): Lucerna, Kolos, Moskov, 350.
11. Julier, B., Huyghe, C., Ecalle, C. (1999.): Genetic variation and variety x environment interaction for digestibility, forage yield and protein content in alfalfa. Lucerne and Medics for the XXI Century, Proceedings of the XIII EUCARPIA *Medicago* spp. Group Meeting, Istituto di Miglioramento Genetico Vegetale, Perugia, Italy, 359-364.
12. Julier, B., Huyghe, C., Ecalle, C. (2000.): Within and among-cultivar genetic variance for digestibility and forage yield in alfalfa. Crop science 40: 365–369.
13. Lamb, J.F.S., Sheaffer, C.C., Samac, D.A. (2003.): Population density and harvest maturity effects on leaf and stem yield in alfalfa. Agronomy journal 95: 635-641.
14. Lorenzetti, F. (1992.): Methods and procedures in variety constitutions. Proceedings of the X International Conference of the EUCARPIA *Medicago* spp. Group Lodi, Istituto Sperimentale per le Colture Foraggere, 494-498.
15. Martura, T. (1998.): Morphological characteristics of several multifoliolate self – pollinated alfalfa lines. Probleme de genetica teoretica si aplicata (1-2): 83–90.
16. Poehlman, J.M., Sleper, D.A. (1995.): Breeding field crops, Fourth edition. Iowa State Un. Press, 71-75.
17. Prospero, J.M., Ronfort, J., Genier, G. (1999.): Constraints to the introduction of Medics in French Mediterranean farming's systems. Proceedings of the XIII EUCARPIA *Medicago* spp. Group Meeting, Istituto di Miglioramento Genetico Vegetale, Perugia, Italy, 154–161.
18. Prospero, J.M., Jenczewski, E., Angevain, M., Ronfort, J. (2006.): Morphologic and agronomic diversity of wild genetic resources of *Medicago sativa* L. collected in Spain. Genetic Resources and Crop Evolution 00: 1-14.
19. Quiros, C.F., Bauchan, G.R. (1988.): The Genus *Medicago* and the origin of the *Medicago sativa* complex. Alfalfa and Alfalfa Improvement (Monography 29). American Society of Agronomy Inc., Madison Wisconsin, SAD, 93-95.
20. 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.
21. SAS Institute (2002.): SAS/STAT Users guide version 9.1 SAS Institute Inc., Cary, Nc.

22. Singh, M., Ceccarelli, S., Hamblin, J. (1993.): Estimation Of Heritability From Varietal Trials Data. *Theor. Appl. Genet.* 86: 437- 441.
23. Statistički ljetopis (2000.): Republika Hrvatska, Državni zavod za statistiku, Zagreb.
24. Stjepanović, M. (1998.): *Lucerna. Nova zemlja*, Osijek, 26-44.
25. 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.
26. Tabaglio, V., Ligabue, M. (1999.): Adaptation of new lucerne cultivars to different environments in the region emilia romagna. *Proceedings of the XIII EUCARPIA Medicago spp. Group Meeting*, Istituto di Miglioramento Genetico Vegetale, Perugia, Italy, 239–248.
27. Užik, M. (1992.): The effect of water stress on the vegetative growth of lucerne varieties. *Proceedings of the X International Conference of the EUCARPIA Medicago spp. Group Lodi*, Istituto Sperimentale per le Colture Foraggere, 340-345.
28. Vaitsis, T. (1999.): Collecting and Breeding *Medicago* Perennial Species in Greece. *Proceedings of the XIII EUCARPIA Medicago spp. Group Meeting*, Istituto di Miglioramento Genetico Vegetale, Perugia, Italy, 19-27.
29. Volenec, J.J., Cunningham, S.M., Haagensohn, D.M., Berg, W.K., Joern, B.C., Wiersma, D.W. (2002.): Physiological genetics of alfalfa improvement: past failures, future prospects. *Field Crop Res.* 75: 97-110.
30. 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.

## **INVESTIGATION OF ALFALFA LOCAL POPULATIONS FOR CREATION OF NEW BREEDING GERMPLOASM**

### **SUMMARY**

*Yield of dry matter and green mass are important factors in selection of fodder crop cultivars. Low genetic gain was achieved during the long time of fodder crops breeding for yield. Therefore we investigated possibility of using local populations of alfalfa for yield increase with direct and indirect selection. Strong and significant influence of genotypes and environments was recorded for all examined traits and their interactions at the level  $p < 0.01$ . The highest variability was recorded for green mass yield 48.21%, while the lowest variation was for height 13.18%. High share of genotype variance as well as high heritability were recorded in total variance for the traits number of stem and plant height.*

**Key- words:** alfalfa, local population, yield, heritability, genetic gain

(Primljeno 09. listopada 2008.; prihvaćeno 2. prosinca 2008. - Received on 9 October 2008; accepted on 2 December 2008)