



ACTA
AGRICULTURAE
SLOVENICA

99•3
2012

Biotehniška fakulteta Univerze v Ljubljani
Biotechnical Faculty University of Ljubljana

Acta agriculturae Slovenica • ISSN 1581-9175 • 99 – 3 • Ljubljana, december 2012

Zgodovinski pomen zbiranja in hranjenja rastlinskega materiala kmetijskih rastlin je v Sloveniji povezan z veliko biotsko pestrostjo, kar izpostavljata in povezujeta avtorja predgovora in avtorji prispevkov tematske številke *Acta agriculturae Slovenica* z naslovom: Slovenska rastlinska genska banka.

PREDGOVOR

Slovenska genska banka je bila kot nacionalna inštitucija ustanovljena leta 1996. Vendar so bili prvi začetki genskih zbirk pri nas, torej neuradne genske banke, v začetku dvajsetih let 20. stoletja, ko je Fran Jesenko po prihodu z Univerze v Zagrebu prišel na novo ustanovljeno Univerzo v Ljubljani in prevzel profesuro iz botanike. V Botaničnem vrtu v Ljubljani so vzdrževali zbirko genotipov pšenice ter njenih bližnjih in bolj oddaljenih sorodnikov. Ukvarjal se je s poskusi medvrstnega križanja, ni pa znano, če so nastali tudi fertilni ali vsaj delno fertilni potomci. Križanci, ki jih je dobil na Dunaju so bili v času Jesenkovih selitev in vojnih dogodkov očitno izgubljeni. Nekaj genotipov žit je razmnoževal in preizkušal v Beltincih, kjer je imel Franc Mikuž tudi svojo zbirko žit, ajde in drugih rastlin. V tem času je bila obsežna zbirka sadnih rastlin, zlasti jabolk, v Mariboru, kjer je za to zbirko skrbel Josip Priol.

Po drugi svetovni vojni so se začeli še bolj zavedati pomena zbiranja in ohranjanja genskih virov in so nastale zanimive kolekcije rastlin. V začetku petdesetih in v drugi polovici sedemdesetih let prejšnjega stoletja se je začelo zbiranje genotipov tudi za shranjevanje v improvizirani genski banki Biotehniške fakultete, ki je bila najprej v Ljubljani, nato v hladilnicah v Mariboru in potem po nekaj letih ponovno v Ljubljani. Postopoma so se genske banke širile v različnih inštitucijah in v različnih krajih v Sloveniji, začela pa se je tudi izmenjava s tujino. Značilnost mnogih zbirk je, da se jih ne more več dopolnjevati z domačimi populacijami, ker jih pridelovalci več ne pridelujejo in jih na terenu ni možno nabrati. Kar pa se še najde na terenu izvirnega, je treba čim prej nabrati in shraniti za naslednje generacije.

Tematska številka revije *Acta agriculturae Slovenica* daje zanimiv pregled zbirk in dejavnosti povezanih s shranjevanjem genskih virov v Sloveniji. Tu gre tako za identifikacijo zbranih genskih virov, kot tudi za vrednotenje uporabne vrednosti rastlin. Zbrani so dragoceni podatki, ki so uporabni tudi za žlahtnjenje rastlin.

Ivan Kreft

PREDGOVOR

Slovenija je zaradi svoje geografske lege in z njo povezanimi dejavniki nežive in žive narave dežela velike biotske pestrosti. Kmetijstvo je dejavnost, ki od vseh gospodarskih panog najdalj časa posega v naravo, zato je tudi vpliv na biotsko raznovrstnost velik. Po eni strani kmetijska dejavnost spreminja naravne ekosisteme in s tem zmanjšuje biotsko raznovrstnost, vendar hkrati ustvarja nove habitate in vzgaja nove sorte gojenih rastlin in s tem povečuje raznovrstnost. Ali je povečanje ali zmanjšanje biotske raznovrstnosti večje ali manjše, je odvisno predvsem od vrste kmetovanja, ki ga poleg naravnih pedoklimatskih razmer pogojujejo predvsem socioekonomski dejavniki. V splošnem velja, da velika intenzivnost zmanjšuje biotsko raznovrstnost, ekstenzivna kmetijska dejavnost pa jo povečuje. Intenzivna kmetijska pridelava, povezana z močno kemizacijo okolja in z željo po čim večjih pridelkih se je marsikje izkazala okoljsko nesprejemljiva, čeprav se je treba zavedati, da je hkrati omogočila rast prebivalstva na Zemlji. Zaradi naravnih danosti, delno pa tudi z njimi povezanimi načini kmetovanja kot tudi zaradi politično-ekonomskih razlogov, je intenzivnost kmetijstva v Sloveniji z izjemo nižin in površin pod intenzivnimi sadovnjaki in vinogradi relativno majhna v primerjavi z razvitimi državami Evropske unije. To se na več področjih odraža tudi na stanju biotske raznovrstnosti, ki je v Sloveniji kljub majhnosti države velika.

Elementi biotske raznovrstnosti, ki neposredno sodijo v kmetijstvo so:

- raznovrstnost sort gojenih rastlin, pasem domačih živali in sevov organizmov, ki se uporabljajo v predelavi živil (predvsem glive in bakterije),
- raznovrstnost s kmetijstvom nastalih habitatov in organizmov, ki spremljajo kmetijsko proizvodnjo: pleveli, delno ruderalna vegetacija, škodljivci (živali, glive, bakterije, virusi), živi svet travišč (travnikov, pašnikov, košenic, zelenic), obmejkov, sadovnjakov, vinogradov, pašno-gozdni sistemi, itd.
- krajinska pestrost povezana s kmetijstvom.

V tematski številki, ki je pred vami je zbran večji del informacij o prizadevanjih v Sloveniji za ohranitev avtohtonih populacij in udomačenih sort kmetijskih rastlin in njihovih divjih sorodnikov, s katerimi se ukvarja Slovenska rastlinska genska banka. Iz prispevkov se vidi, da vse skupine gojenih rastlin niso enakomerno obravnavane in da tudi njihov pomen ni enak. Številne vrste so v Sloveniji zastopane samo s populacijami in pomembne sorte še manjkajo in upamo, da bo ta vrzel v bodoče odpravljena, vsekakor pa daje nabor prispevkov dober vpogled v stanje na tem področju.

Urednik AAS
Franc Batič

VSEBINA / CONTENTS

- 289 Borut BOHANEČ
Genske banke kot kulturna dediščina človeštva
Genebanks as cultural heritage of mankind
- 295 Primož GRIZON
Izvajanje Mednarodne pogodbe o rastlinskih genskih virih za prehrano in kmetijstvo v Sloveniji
Implementation of the International Treaty on Plant Genetic Resources for Food and Agriculture in Slovenia
- 301 Zlata LUTHAR, Ludvik ROZMAN, Gregor OSTERC, Jure ČOP
Genska banka Oddelka za agronomijo Biotehniške fakultete v Ljubljani
Genebank of the agronomy department of the Biotechnical faculty in Ljubljana
- 307 Zlata LUTHAR
Genska banka ajde - vir slovenske genetske variabilnosti
Buckwheat genebank - a source of Slovenian genetic variability
- 317 Ludvik ROZMAN
Genska banka koruze v Sloveniji
The Slovenian maize gene bank
- 329 Gregor OSTERC, Franci ŠTAMPAR
Genska banka sadnih rastlin: naravna zbirka različnih sladkorjev in kislin v jabolkih
Gene bank of fruit plants: a natural collection of different sugars and acids in apples
- 339 Jure ČOP
Genska banka trpežne ljujke in črne detelje v Sloveniji
Gene bank of perennial ryegrass and red clover in Slovenia
- 347 Nataša FERANT, Andreja ČERENAK
Genska banka hmelja ter zdravilnih in aromatičnih rastlin na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije
Gene bank of hop and medical and aromatic plants at the Slovenian Institute of hop research and brewing
- 355 Andreja ČERENAK, Jernej JAKŠE, Nataša ŠTAJNER, Branka JAVORNIK
Vrednotenje genskih virov hmelja z molekulskimi markerji
Evaluation of hop genetic resources with molecular markers
- 363 Dea BARIČEVIČ, Petra RATAJC, Marko ZUPAN, Boris TURK, Branko VREŠ, Andrej SELIŠKAR, Tomaž SELIŠKAR
Ohranjanje in vrednotenje genskih virov zdravilnih rastlin
Conservation and evaluation of genetic resources of medicinal plants
- 373 Metka ŠIŠKO, Anton IVANČIČ
Genska banka Fakultete za kmetijstvo in biosistemske vede (FKBV) Univerze v Mariboru
Gene bank of the Faculty of Agriculture and Life Sciences, University of Maribor
- 377 Peter DOLNIČAR, Katarina RUDOLF PILIH
Genska banka in žlahtnjenje krompirja v Sloveniji
Gene bank and potato breeding in Slovenia
- 387 Katarina RUDOLF PILIH, Borut BOHANEČ, Jelka ŠUŠTAR VOZLIČ
Genska banka zelja in žlahtnjenje hibridnih sort (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L. f. *alba*)
Cabbage genebank and breeding of hybrid varieties (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L. f. *alba*)

- Barbara PIPAN, Jelka ŠUŠTAR-VOZLIČ, Vladimir MEGLIČ
393 Zbiranje genskih virov oljne ogrščice (*Brassica napus* ssp. *napus* L.) iz različnih habitatov v Sloveniji
Acquirement of genetic resources of (*Brassica napus* ssp. *napus* L.) from different habitats in Slovenia
- Jelka ŠUŠTAR-VOZLIČ, Marko MARAS, Alenka MUNDA, Tanja ZADRAŽNIK, Vladimir MEGLIČ
399 Raznolikost fižola v zbirki Kmetijskega inštituta Slovenije
Variability of common bean accessions in the gene bank of agricultural institute of Slovenia
- Jelka ŠUŠTAR-VOZLIČ, Kristina UGRINOVIČ, Marko MARAS, Vladimir MEGLIČ
413 Raznolikost genskih virov vrtno solate v slovenski rastlinski genski banki
Variability of lettuce genetic resources in the slovene plant gene bank
- Janko VERBIČ, Vladimir MEGLIČ
423 Genska banka krmnih rastlin na Kmetijskem inštitutu Slovenije
Gene bank of forage plants in Agricultural institute of Slovenia
- Radojko PELENGIČ, Boris KORUZA
429 Slovenska genska banka žlahtne vinske trte
Slovenian grapevine germplasm
- Radojko PELENGIČ, Barbara PIPAN, Vladimir MEGLIČ, Denis RUSJAN
433 Ovrednotenje genskih virov belih sort žlahtne vinske trte (*Vitis vinifera* L.)
Evaluation of genetic resources of white grapevine varieties (*Vitis vinifera* L.)
- Darinka KORON
439 Genska banka jagodičja
Small fruit gene bank
- Kristina UGRINOVIČ, Mojca ŠKOF
445 Zbirka samoniklih virov rukole v Slovenski rastlinski genski banki
Collection of autochthonous germplasm of rocket in the Slovene Plant Gene Bank
- Tomaž BARTOL, Karmen STOPAR
451 Content analysis of the papers in the Acta agriculturae Slovenica
Vsebinska obdelava prispevkov v Acta agriculturae Slovenica let. 99 št. 3
- 455 Navodila avtorjem
Notes for authors

Agrovoc descriptors: gene banks, collections, genetic resources, natural resources, data collection, natural resources, biodiversity, value systems, cultural values, agricultural development, legislation, international cooperation

Agris category code: F30

Genske banke kot kulturna dediščina človeštva

Borut BOHANEČ¹

Received November 05, 2012; accepted November 28, 2012.
Delo je prispelo 05. novembra 2012, sprejeto 28. novembra 2012.

IZVLEČEK

V sestavku je kratko opisan pomen genskih bank od ustanovitve prvih nacionalnih ustanov do trenutnega stanja na tem področju. Poudarjen je tako pomen ohranjanja genskih virov za napredek kmetijstva kot tudi pomen genskih virov kot kulturne dediščine človeštva. Kratko je predstavljen pogled na zakonodajo, ki je nastala z uveljavitvijo mednarodne pogodbe o genskih virih.

Ključne besede: pomen genskih bank, načini ohranjanja, ogroženost akcesij

ABSTRACT

GENEBANKS AS CULTURAL HERITAGE OF MANKIND

The article briefly describes the importance of genebanks from setting up the first national institutions to the current situation in this area. The importance of conserving genetic resources is addressed for the future progress of agriculture, as well as the importance of genetic resources as cultural heritage of mankind. Views related to adaptation of the legislation related to the implementation of the International Treaty on Plant Genetic Resources for Food and Agriculture is discussed

Key words: role of genebanks, preservation management, genetic erosion of accessions

1 USTANOVITEV GENSKIH BANK

Delovanje kmetijskih genskih bank, velikih inštitucij mednarodnega pomena, nekateri primerjajo z Noetovo barko, kajti njihov pomen je enak pomenu te biblijske zgodbe. Osnovni cilj genskih bank je namreč zbiranje, ovrednotenje, shranjevanje in razpošiljanje vzorcev različnih kmetijskih vrst in njihovih bližnjih sorodnikov.

Začetnik sistematičnega zbiranja genskega materiala po vsem svetu je bil sovjetski znanstvenik N. I. Vavilov (1887-1943). Sistematično je raziskoval zlasti tista območja, kjer je zaznal veliko gensko raznolikost. Na odpravah, ki jih je vodil v obdobju 1916-1943

je prepotoval velika svetovna območja in naredil osnovni popis kulturnih rastlinskih vrst ter njihovih divjih sorodnikov, med njimi so številne primitivne vrste. S svojim pristopom k zbiranju, opisovanju, analiziranju in hranjenju je utemeljil načela, ki še danes veljajo pri delu genskih bank in so pomembna tudi za žlahtnjenje. Kljub temu, da je sam Vavilov postal žrtev Stalinovih čistk in je bila zbirka semen ogrožena v obleganem Leningradu je pomen njegovega dela ostal. Po pionirskem delu sovjetskih znanstvenikov so po drugi svetovni vojni pričeli ustanavljati genske banke na nacionalni in mednarodni ravni. Združenje žlahtniteljev EUCARPIA

¹ prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za agronomijo, Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

(European Association for Plant Breeding Research) ustanovljeno leta 1956 in FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) ustanovljeno 1945 so bili med prvimi, ki so zaznali nevarnost genske erozije in pričeli ukrepati. FAO je leta 1974 ustanovil Komisijo za genetske vire IBPGR (International Board for Plant Genetic Resources), ustanova pa se je dvakrat preimenovala in sicer leta 1991 v IPGRI (International Plant Genetic Resources Institute) in leta 2006 v Bioversity International. O stanju dejavnosti obstoja več poročil, med pomembnejšimi je zadnje poročilo iz leta 2010. Drugo poročilo o stanju rastlinskih genskih virov za hrano in kmetijstvo po svetu (FAO, 2010).

FAO navaja oceno, da genske banke po svetu hranijo skupno skoraj 7 milijonov akcesij, od

tega od 1 do 2 milijona "različnih" v 1400 genskih bankah. Po številu med skupinami kulturnih rastlin prevladujejo žita s 3.157.578 akcesijami, sledijo stročnice z 1.069.897, krmne rastline s 651.024, zelenjadnice s 502.889, sadne vrste z oreški s 423.401, korenovke in gomoljnice z 204.408, oljnice s 181.752, predivnice s 169.969, zdravilne in aromatične rastline s 160.050, industrijske in okrasne rastline s 152.325 ter sladkorne vrste s 63.474 akcesijami.

Omeniti velja, da so v tem sklopu pod okriljem FAO tudi centri CGIAR (Consultative Group on International Agricultural Research), to so decentralizirane postaje za pospeševanje kmetijstva z močnim žlahtniteljskim karakterjem ter funkcijo ohranjanja genskih virov.

2 KAJ JE PRIMERNO OHRANJEVATI V GENSKIH BANKAH?

Osnovni razlogi ohranjanja genskih virov izhajajo iz potreb žlahtnjenja rastlin. Po tem se ločijo zbirke genskih bank in botaničnih vrtov, slednji nimajo le kmetijskega pomena. V večini držav obstoja tako imenovan "zgodovinski sklad", ki izvira največkrat iz preteklih zbiranj, vezanih na žlahtnjenje določenih vrst. Zbrane akcesije so različnega porekla. Po podatkih FAO (2010) je po poreklu med njimi 44 % krajevnih populacij, 21 % žlahtniteljskih linij, 18 % divjih sorodnikov in 17 % sodobnih kultivarjev. Omeniti velja, da dostopnost slednjih ni nujno

neomejena. Sodobni kultivarji bolj dopolnjujejo zbirke v smislu bodoče uporabe, namen pa je ohraniti le tiste, ki se po genetski sestavi razlikujejo. V državah z dobro razvitim žlahtnjenjem skupine strokovnjakov odločajo, katere nove sorte so z vidika genetske pestrosti pomembne za ohranjanje.

Poseben problem genskih bank je nenamerno podvajanje vzorcev - zaradi večkratnega zbiranja na terenu ali zaradi nepopolnega opisa. Uporaba sodobnih genskih testiranj postopno to težavo odpravlja.

3 KAKO OPISATI IN OHRANJATI AKCESIJE

Opisi akcesij potekajo po mednarodno poenotenih kriterijih. Prej omenjena institucija Bioversity International izdaja deskriptorje za posamezne kmetijske vrste (teh je trenutno 153), dodatno pa tudi svetuje pri skupnih deskriptorjih za osnovno karakterizacijo

akcesij (potni list), deskripcijo ob pomoči genskih markerjev in drugem. Osnovni ter dodatni opis sta v pomoč žlahtniteljem pri odbiri vzorcev z želenimi lastnostimi, molekulska karakterizacija pa pripomore k prepoznavnosti genske raznolikosti.

Pri ohranjanju ločimo *ex situ* in *in situ* ohranjanje, s tem da prevladuje shranjevanje *ex situ*. Ohranjanje v naravnem okolju, praviloma na mestu, kjer je bila akcesija locirana, je omejeno na redke izbrane vrste, denimo vrste krmnih rastlin (trave, detelje), zdravilnih rastlin ali dišavnic. Del teh aktivnosti se povezuje z aktivnostmi naravnih rezervatov.

Pri shranjevanju *ex situ* ločimo shranjevanje delovnih kolekcij, ki jih večinoma ohranjamo v obliki semen pri temperaturah okoli 4 °C ter shranjevanje bazičnih kolekcij, ki jih v obliki semena hranimo v zmrzovalnicah pri temperaturi okoli -20 °C.

Načini shranjevanja *ex situ* so odvisni od načina razmnoževanja vrste kmetijskih rastlin. Prevladujejo vrste, ki jih razmnožujemo s semeni, ker je te tudi lažje ohranjati. Izjema so neortodoksna semena tropskih vrst, ki jih v hladilnicah ni mogoče shranjevati. Enako oziroma težje je tudi ohranjanje vegetativno množjenih rastlin, kjer imamo na voljo

standardne možnosti ohranjanja s kolekcijo na polju ali s pomočjo biotehnoških metod. Med slednjimi sta v uporabi počasna *in vitro* rast v obliki kultur poganjkov ali shranjevanje v obliki krioprezerviranih vzorcev. Obe metodi sta že vrsto let tudi v uporabi, ki poleg primernejšega načina shranjevanja onemogočata tudi nevarnost introdukcije škodljivcev oziroma medsebojnega okuževanja akcesij z novimi vrstami ali biotipi rastlinskih bolezní.

Poleg lastnih akcesij genske banke hranijo tudi duplikate prejete iz drugih genskih bank z namenom večje zanesljivosti ohranitve. Izključno v ta namen je bila zgrajena tudi posebna genska banka duplikatov akcesij v Svalbardu (Svalbard Global Seed Vault), ki deluje v razmerah trajno zmrznjenih tal v okviru Nordijske genske banke in je zamišljena kot depozitorij, ki bi deloval tudi v primeru svetovne kataklizme. Pričakujemo lahko, da se bo njenim aktivnostim pridružila tudi Slovenija.

4 KAJ OGROŽA DELOVANJE GENSKIH BANK?

Genske banke so dolgoročna aktivnost človeštva in zato mnogokrat izpostavljene trenutnim "kriznim" razmeram večinoma finančne narave (primer Ruska genska banka v obdobju razpada Sovjetske zveze). Med mednarodno izpostavljene kriterije ogrožanja sodi tudi kvaliteta vodenja in upravljanja genskih bank ter naravne nesreče, vojne, in drugo. Vsi ti dejavniki lahko ogrozijo obstoj posameznih ustanov ali tudi popolno izgubo akcesij.

Pogosto se postavlja vprašanje, koliko vrednih akcesij je že izgubljenih? Točnih števil ni možno podati. Nekaj podatkov imamo denimo

za sadne vrste, tako v ZDA navajajo izgubo 6800 genotipov jablan od nekdanjih 7100. (<http://cms.herbalgram.org/herbalgram/issue75/article3129.html>)

Za Slovenijo lahko ocenimo, da smo ob prehodu v intenzivno kmetijstvo od 50. let dalje izgubili zlasti številne lokalne populacije in stare sorte poljščin in vrtnin. V genski banki tako po naključju hranimo akcesije starih populacij žit, prejetih iz jugozahodnega Balkana, ne pa tudi lastnih starih sort, ki jih v času usmerjenega kolekcioniranja v 80. letih ni več bilo. Starejše populacije smo ohranili zlasti pri tistih vrstah, za katere je v določenem obdobju potekalo žlahtniteljsko delo.

5 MEDNARODNA PRAVILA NEKOČ IN DANES

Osnovni namen genskih bank je zbrati, ohraniti in opisati genske vire, da so na voljo vsem zainteresiranim žlahtniteljem po svetu. Ustanove torej hranijo vzorce z namenom morebitne kasnejše uporabe v žlahtnjenju rastlin. Dejansko so bile številne akcesije tudi uporabljene za vnos številnih lastnosti v sodobne sorte. Praviloma so duplikati, manjša količina osnovnih akcesij iz genskih bank brezplačno dostopni zainteresiranim uporabnikom.

Večjo novost pri dosegljivosti mednarodnih genskih virov predstavlja Mednarodna pogodba o rastlinskih genskih virih za prehrano in kmetijstvo, ki je bila tudi v Sloveniji ratificirana leta 2005 (http://zakonodaja.gov.si/rpsi/r06/predpis_ZA_KO3966.html).

Mednarodna pogodba je stopila v veljavo 31. marca 2004. Nekaj pomembnih posledic:

- **Obveza držav** za vzpostavitev učinkovitih genskih bank (člen 9) za shranjevanje genskih virov na svojem teritoriju.
- Genski viri so proglašeni za “**dediščino človeštva**”, ohranjanje njihove variabilnosti pa ni več le tehnološka potreba z namenom žlahtnjenja temveč tudi kulturna obveza posameznih držav.

Omejevanje dostopnosti:

- Člen 13 pogodbe opredeljuje, da so vsi genski viri znotraj teritorija države

nacionalna lastnina. Člen 15 določa, da je dostopnost genskih virov v pristojnosti posameznih vlad držav.

- V praksi je pogodba povzročila nastanek vrste nacionalnih zakonodaj, ki raje ovirajo kot spodbujajo pretok genskih virov in še prav posebej močno omejujejo organiziranje zbirateljskih misij.

V sklopu tovrstnih aktivnosti so ostala številna sporna določila povsem nedorečena. Zlasti združenja žlahtniteljev opozarjajo vlade, da izvedba omejitvenih določil v praksi ali ni izvedljiva ali ni dorečena. Denimo, v Mednarodni pogodbi o rastlinskih genskih virih za prehrano in kmetijstvo (UL RS, 2005) je v členu 13 točka d (ii), določba, ki obvezuje prejemnika rastlinskega genskega vira k plačilu ustreznega deleža koristi od prodaje komercializiranega proizvoda (nove sorte). Procesi žlahtnjenja pa so dejansko kompleksni in tudi medsebojno prepleteni. Denimo v državah podpisnicah pravil UPOV (International Union for the Protection of New Varieties of Plants) je uzakonjena »žlahtniteljska izjema« (pravica žlahtnitelja da lahko uporabi v križanjih tudi zaščitene sorte), kar še dodatno zaplete gensko poreklo dednine, ki vstopa v proces žlahtnjenja. Nejasno je tudi, kdo naj bi bil prejemnik eventualnih licenčnin. Očitno je, da bo potrebno pravila dopolniti ali pa sporne člene spremeniti.

6 POVEZANOST AKTIVNOSTI GENSKIH BANK S PROGRAMI ŽLAHTNENJA

Naraščanje števila prebivalstva po svetu in s tem povezane potrebe po hrani je mogoče pokriti le z odločnimi ukrepi na področju kmetijstva in še zlasti žlahtnjenja rastlin (Gregory in George, 2011). Slovenija je tipičen primer države, kjer so programi

žlahtnjenja rastlin v javnih zavodih močno zapostavljeni. Pozivi mednarodnih organizacij in posameznih skupin (Brummer in sod., 2011) k ponovni oživitvi žlahtnjenja v javnih ustanovah pri nas ne dosežejo vladnih inštitucij. Nekateri tudi opozarjajo na stalno

potrebo po žlahtnjenju zaradi pojavljanja novih bolezni in spreminjanja podnebja (Ceccarelli in sod., 2010). Ne kaže spregledati, da je aktivnost genskih bank v luči zapostavljanja žlahtnjenja rastlin vse težje opravičiti.

Posebna oblika koristnikov akcesij genskih bank so tako pri nas kot v tujini vse bolj pogosta tudi ljubiteljska ali polprofesionalna

gibanja, ki promovirajo lokalno in tradicionalno pridelavo hrane in se ukvarjajo z netržnim semenarstvom ali neprofesionalnim žlahtnjenjem. Te skupine pričakujejo bolj preproste informacije o poreklu akcesij v genskih bankah in njihovih lastnostih, denimo njihov slikovni opis. Verjetno bo potrebno v tej luči vsaj del promocijskih aktivnosti genskih bank dopolniti.

7 LITERATURA

- FAO (2010) The Second Report on the state of the world's plant genetic resources for food and agriculture. Commission of Genetic Resources for Food and Agriculture Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome
<http://www.fao.org/docrep/013/i1500e/i1500e.pdf>
- Brummer CE, Barber WT, Collier SM, Cox TS, Johnson R, Murray SC, Olsen RT, Pratt RC, Thro AM (2011) Plant breeding for harmony between agriculture and the environment *Frontiers in Ecology and the Environment* 9: 561-568
- Ceccarelli S, Grando S, Maatougui M, Michael M., Slash M, Haghparast R, Rahmadian M, Taheri A, Al-yassin A, Benbelkacem A, Labdi M, Mimoun H, Nachit M (2010): Plant breeding and climate changes. *Journal of Agricultural Science* 148: 627-637
- Gregory PJ, George TS (2011) Feeding nine billion: the challenge to sustainable crop production: *Journal of Experimental Botany* 62: 5233-5239
- Uradni list RS, št. 100/2005 z den 10. 11. 2005: Zakon o ratifikaciji Mednarodne pogodbe o rastlinskih genskih virih za prehrano in kmetijstvo (MPRGV)

Agrovoc descriptors: gene banks, collections, biodiversity, genetic resources, natural resources, data collection, international cooperation

Agris category code: F30

Izvajanje Mednarodne pogodbe o rastlinskih genskih virih za prehrano in kmetijstvo v Sloveniji

Primož GRIZON¹

Received November 30, 2012; accepted December 10, 2012.
Delo je prispelo 30. novembra 2012, sprejeto 10. decembra 2012.

IZVLEČEK

Mednarodna pogodba o rastlinskih genskih virih za prehrano in kmetijstvo (ITPGRFA) predstavlja mednarodno dogovorjen okvir za ohranjanje in trajnostno rabo rastlinskih genskih virov za prehrano in kmetijstvo. ITPGRFA je bila sprejeta v okviru FAO, Komisije za genske vire za prehrano in kmetijstvo leta 2001 in je skladna s Konvencijo o biološki raznovrstnosti (CBD). Cilji ITPGRFA so usmerjeni v vzpostavitev globalnega sistema za izmenjavo rastlinskih genskih virov ter delitev koristi, ki so posledica uporabe teh virov. Slovenija je ratificirala ITPGRFA jeseni 2005 in postala pogodbenica leta 2006. Implementacija tega mednarodno zavezujočega sporazuma v Sloveniji se je pričela z vzpostavitvijo večstranskega sistema za izmenjavo rastlinskega materiala, ki vključuje 64 najpomembnejših rodov kmetijskih rastlin iz priloge I ITPGRFA. V ta sistem bodo vključene akcesije iz javnih zbirk, ki se vzdržujejo v okviru Slovenske rastlinske genske banke (SRGB) kot tudi akcesije zasebnih zbirateljev. Za centralno izmenjavo akcesij je pristojen Kmetijski inštitut Slovenije. Izmenjava akcesij poteka ob uporabi tipskega sporazuma o prenosu materiala (SMTA), ki določa pogoje za uporabo in plačevanje prispevka od uporabe teh akcesij v določenih okoliščinah. V prvi fazi vzpostavitve večstranskega sistema poteka s strani skrbnikov vrst revizija osnovnih podatkov skladno z mednarodno dogovorjenimi deskriptorji pri vseh akcesijah iz javnih zbirk in vnos manjkajočih podatkov v podatkovno bazo SRGB. Trenutno (15. september 2010) je v podatkovni bazi SRGB zbranih nekaj več kot 2.500 osnovnih podatkov o akcesijah, ki pripadajo 66 rastlinskim rodovom. Izmed teh rodov jih 22 sodi v večstranski sistem.

Ključne besede: rastlinski genski viri, Mednarodna pogodba o rastlinskih genskih virih za prehrano in kmetijstvo, večstranski sistem, implementacija, Slovenija

ABSTRACT

IMPLEMENTATION OF THE INTERNATIONAL TREATY ON PLANT GENETIC RESOURCES FOR FOOD AND AGRICULTURE IN SLOVENIA

The International Treaty on Plant Genetic Resources for Food and Agriculture (ITPGRFA) represents an internationally agreed framework for the conservation and sustainable use of plant genetic resources for food and agriculture. ITPGRFA was adopted within the framework of Food and agriculture organization (FAO), Commission on genetic resources for food and agriculture in 2001 and is in line with the Convention on Biological Diversity (CBD). ITPGRFA objectives are to establish a global system for the exchange of plant genetic resources and ensure sharing of benefits arising from the use of these resources. Slovenia has ratified ITPGRFA in autumn of 2005 and became a contracting party in the beginning of 2006. The implementation of an internationally binding agreement in Slovenia began with the establishment of a multilateral system for the exchange of plant material, which includes 64 of the most important genera of crops from Annex I of the ITPGRFA. This system will include accessions from public collections maintained in the Slovenian plant gene bank as well as private collections. Exchange of accessions is coordinated by the Agricultural Institute of Slovenia and includes the use of standard material transfer agreement (SMTA), which lays down the conditions for the use and payment of the contribution under certain circumstances. The first phase of establishment of a multilateral system conducted by the curators of a certain species include a review of the main data according to internationally agreed descriptors of all accessions from public collections and complete data gaps in the appropriate database. Currently (15th September 2010), the database collected a little more than 2.500 main data on accessions belonging to 66 plant genera, 22 of them belongs to the multilateral system.

Key words: plant genetic resources, International Treaty on Plant Genetic Resources for Food and Agriculture, multilateral system, implementation, Slovenia

¹ Mag., Ministrstvo za kmetijstvo in okolje, Fitosanitarna uprava Republike Slovenije, Dunajska 22, 1000 Ljubljana; primoz.grizon@gov.si

1 NASTANEK IN POMEN MEDNARODNE POGODBE O RASTLINSKIH GENSKIH VIRIH

Ohranjanje lastnih genskih virov je skrb vsake države podpisnice Konvencije o biološki raznovrstnosti (CBD). S priznavanjem suverenosti nad naravnimi viri, ki izvirajo iz ozemlja določene države, lahko le-te določajo dostop do genskih virov (Zakon o ratifikaciji konvencije..., 1996). V okviru prizadevanj za zagotavljanje prehranske varnosti ob koncu 20. stoletja je bila leta 2001 sprejeta Mednarodna pogodba o rastlinskih genskih virih za prehrano in kmetijstvo (International Treaty of Plant Genetic Resources for Food and Agriculture – ITPGRFA), ki je bila usklajena s tedaj že veljavnimi načeli in cilji CBD. ITPGRFA je bila dogovorjena in sprejeta v okviru Komisije za genske vire za prehrano in kmetijstvo pri Organizaciji Združenih narodov za prehrano in kmetijstvo (FAO) (Commission on Genetic Resources..., 2010). ITPGRFA je stopila v veljavo leta 2004. Namen ITPGRFA je ohranjanje in trajnostna raba rastlinskih genskih virov ter pravična in enakopravna delitev koristi, ki se nanašajo na uporabo le teh. Pogodba določa naslednje cilje: (I) priznati pomen kmetov pri ohranjanju raznovrstnosti gojenih rastlin, pomembnih za prehrano; (II) vzpostavitev globalnega sistema za dostop do genskega materiala in (III) delitev koristi, ki izhajajo iz uporabe rastlinskih genskih virov (RGV), zlasti z državami, iz katerih RGV izvirajo (Text of the Treaty, 2010). Slovenija je ITPGRFA ratificirala s sprejetjem Zakona o ratifikaciji Mednarodne pogodbe o rastlinskih genskih virih za prehrano in kmetijstvo jeseni 2005; januarja 2006 je postala polnopravna članica ITPGRFA, s čimer se je zavezala k

izpolnjevanju vseh obveznosti iz pogodbe (Zakon o ratifikaciji Mednarodne pogodbe..., 2005). Učinkovitost izvajanja pogodbe je odvisna od implementacije posameznih načel v nacionalne zakonodaje držav članic ITPGRFA. Pogodba vključuje vse vrste rastlin za prehrano in kmetijstvo. Osrednji mehanizem, ki ga ITPGRFA uvaja z namenom zagotavljanja olajšanega dostopa in pravične delitve koristi iz uporabe RGV, predstavlja večstranski sistem. Večstranski sistem za dostop do RGV zajema 64 rodov kmetijskih rastlin, ki so opredeljeni v prilogi 1 ITPGRFA. Med te so vključene najpomembnejše kmetijske rastline za pridelavo hrane in krme (npr. pšenica, riž, koruza, ječmen, oves, pesa, krompir, jabolana, detelje, korenje). Akcesije drugih rodov, ki niso vključeni v prilogo 1 ITPGRFA, se v večstranski sistem ne morejo vključiti, lahko pa se opredelijo enake zahteve za uporabo teh virov, kot veljajo tudi za RGV iz večstranskega sistema. Genski viri iz večstranskega sistema se smejo uporabljati le za raziskave, žlahtnjenje ali za izobraževalne namene (Text of the Treaty, 2010). Pogoji za dostop in uporabo akcesij iz večstranskega sistema so podrobneje določeni v Tipškem sporazumu o prenosu materiala (Standard Material Transfere Agreement – SMTA), ki dejansko pomeni pogodbo med donorjem (npr. gensko banko) in prejemnikom (npr. žlahtnitelj, raziskovalna ustanova, kmet). SMTA je namenjen tudi sledljivosti akcesij, določa pa tudi pogoje in način za plačilo ustreznega prihodkovnega deleža v primeru trženja produktov (npr. sort), ki so nastali z uporabo teh akcesij (What is SMTA?, 2010).

2 IMPLEMENTACIJA ITPGRFA

V večstranski sistem se vključijo vse akcesije iz javnih (državnih) zbirk ter zasebnih zbirk, pri katerih se lastniki zbirk za vključitev

akcesij prostovoljno odločijo. Akcesije v razvijanju (npr. linije, križanci, ipd.), ki se uporabljajo pri žlahtnjenju sort, selekciji ali

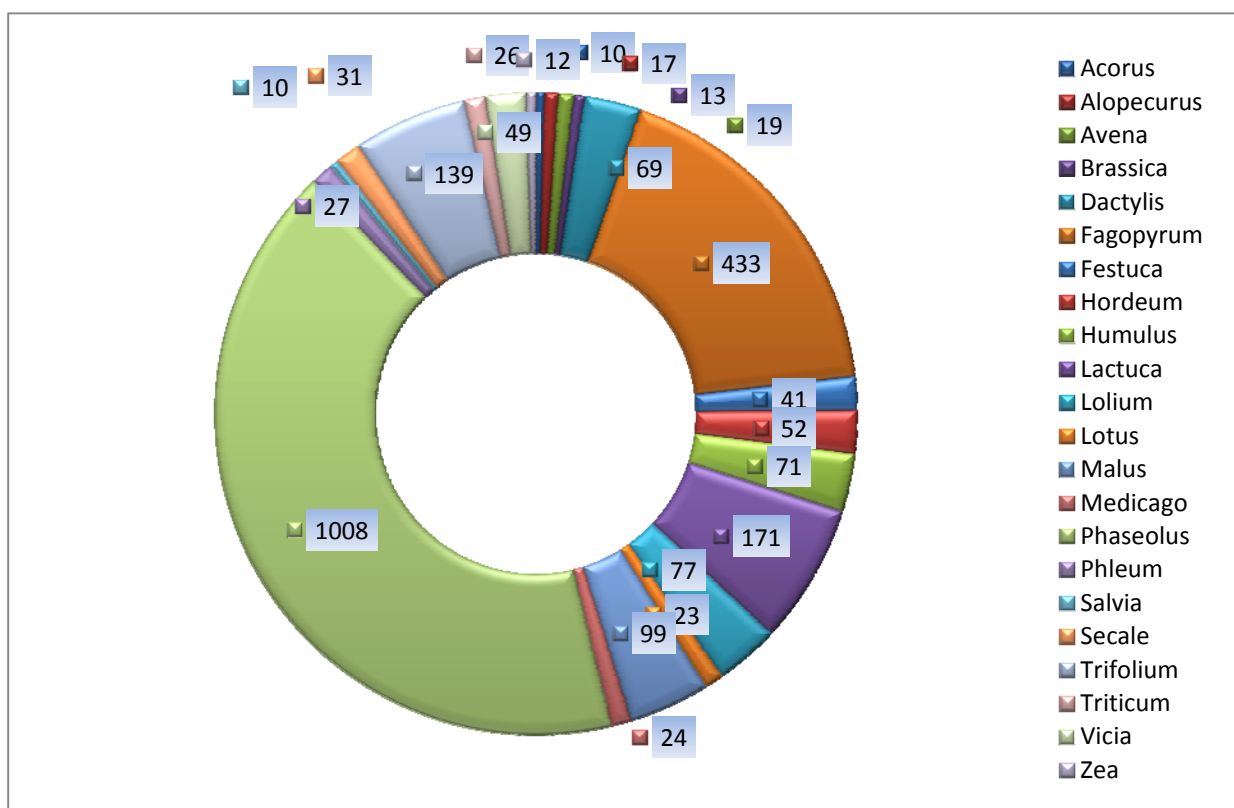
ostalnih raziskavah, se v večstranski sistem vključijo po presoji in odločitvi tistega, ki te akcesije razvija. ITPGRFA nalaga državam podpisnicam, da morajo o vključitvi akcesij v večstranski sistem uradno obvestiti sekretariat ITPGRFA (The Multilateral System, 2010). Trenutno v Sloveniji potekajo aktivnosti za vključitev akcesij v večstranski sistem za izmenjavo RGV. V letu 2010 je bila nadgrajena aplikacija Slovenska rastlinska genska banka (SRGB), ki je del fitosanitarnega informacijskega sistema, v katero so vključeni mednarodno sprejeti osnovni podatki (deskriptorji) o akcesijah iz javno dostopnih zbirk SRGB. To so zlasti podatki o taksonomski razvrstitvi akcesije, poimenovanju, izvoru, darovalcu, zbiratelju, načinu shranjevanja, datumu zbiranja in

shranjevanja in razpoložljivosti semenskega materiala za izmenjavo (Descriptors for uploading..., 2012). Podatki o akcesijah dopolnjujejo podatkovno bazo evropskega spletnega kataloga EURISCO za kolekcije genskih bank. Od vseh 5.327 akcesij, ki se ohranjajo v okviru programa SRGB, je v podatkovno bazo trenutno vključenih 2.564 akcesij. Podatki za ostale akcesije so zbrani pri kuratorjih za posamezne rastlinske vrste. Vnos osnovnih podatkov poteka preko oddaljenega dostopa, ki ga je z upoštevanjem varnostnih standardov kuratorjem dodelila Fitosanitarna uprava Republike Slovenije. Ta je v okviru Ministrstva za kmetijstvo in okolje zadolžena za koordinacijo institucij, ki sodelujejo v SRGB.

3 STANJE IN NALOGE INFORMACIJSKEGA SISTEMA SRGB

Akcesije, ki so že vključene v podatkovno bazo SRGB, predstavljajo 67 različnih rastlinskih rodov. Več kot 60 % akcesij je bilo pridobljenih pred letom 2000. Glavnina (90 %) trenutno vnesenih akcesij izvira iz območja Slovenije. Izmed vseh vključenih akcesij v

podatkovni bazi je najštevilčnejši rod *Phaseolus*, za katerega predvidevamo, da je v zbirkah SRGB zbrana domala vsa slovenska genska variabilnost. Na sliki 1 so prikazani rastlinski rodovi z največjim številom akcesij.



Slika1: Najštevilčnejši rastlinski rodovi v podatkovni bazi SRGB v letu 2010.

Genetsko najbolj pestra je skupina trav in metuljnic, kjer je 551 akcesij razdeljenih med 42 različnimi rastlinskimi rodovi. Veliko število akcesij predstavljajo žita (580) in sadne rastline (100). Izmed vseh rodov, ki so trenutno zastopani v podatkovni bazi SRGB jih 22 (33 %) sodi v večstranski sistem ITPGRFA. Glede na skupno število akcesij, ki se ohranjajo v okviru SRGB (5327 akcesij), je ena od prioritet vnos manjkajočih akcesij (zlasti za sadne rastline - jagodičje, koščičarji; poljščine - krompir, trave in metuljnice; vinsko trto ter zdravilne in aromatične rastline) v informacijski sistem SRGB. Z vnosom podatkov o vseh akcesijah v podatkovno bazo SRGB bo dana možnost, da se uradno obvesti sekretariat ITPGRFA o vključitvi slovenskih akcesij v večstranski sistem. Ob dopolnitvi podatkovne baze bo tudi v celoti razvidna genska pestrost akcesij, ki jih v Sloveniji ohranjamo v javnih (državnih) zbirkah za potrebe kmetijstva in prehranske varnosti.

Vključitev zasebnih zbirk akcesij RGV v večstranski sistem je odvisna od odločitve posameznega lastnika zbirke, pri čemer je potrebno zagotoviti večjo informiranost javnosti o pomenu vključitve RGV v večstranski sistem.

Pri vseh akcesijah, ki so že vnesene v aplikacijo SRGB je potrebno določiti status vključitve v večstranski sistem z ozirom na vrste, ki so navedene v prilogi 1 ITPGRFA. Kuratorji nato za posamezno akcesijo na osnovi datuma pridobitve opredelijo razpolaganje z akcesijo, ki je povezana z uveljavitvijo CBD (datum uveljavitve je 1. 1. 1994). Tudi za akcesije, ki so bile pridobljene pred tem datumom, se za izmenjavo RGV uporablja SMTA, vendar najdlje do sprejetja sporazuma o dostopu in delitvi koristi v okviru CBD.

Za potrebe izmenjave akcesij, ki poteka centralno, bo potrebno nadgraditi trenutno aplikacijo z ustreznimi orodji, ki bodo olajšali sistem izmenjave akcesij. Na ta način bodo tudi v Sloveniji dani pogoji za večjo uporabo

RGV v raziskavah in žlahtnjenju rastlin, s čimer lahko zagotovimo nove, odpornejše sorte kmetijskih rastlin in s tem prispevamo k lastni prehranski varnosti.

4 VIRI

Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture - Plants. Rome, FAO
<http://www.fao.org/nr/cgrfa/en/> (10. sept. 2010)

Descriptors for uploading information from National Inventories to EURISCO. Rome, Bioversity International
http://eurisco.ecpgr.org/fileadmin/www.eurisco.org/documents/MCPD_EURISCO_Descriptors_May-updated2012__01.pdf (3. dec. 2012)

Text of the Treaty: Official versions. Rome, FAO, International Treaty of Plant Genetic Resources for Food and Agriculture
<http://www.planttreaty.org/> (10. sept. 2010)

The Multilateral System. Rome, FAO, International Treaty of Plant Genetic Resources for Food and Agriculture
<http://www.planttreaty.org/> (10. sept. 2010)

What is SMTA?. Rome, FAO, International Treaty of Plant Genetic Resources for Food and Agriculture
<http://www.planttreaty.org/content/what-smta> (10. sept. 2010)

Zakon o ratifikaciji konvencije o biološki raznovrstnosti. 1996. Uradni list RS, št. 7/96

Zakon o ratifikaciji Mednarodne pogodbe o rastlinskih genskih virih za prehrano in kmetijstvo. 2005. Uradni list RS, št. 100/05

Agrovoc descriptors: *fagopyrum, lolium, dactylis, trifolium, triticum, zea, mays, malus, pyrus, juglans* legumes, leguminosae, grasses, gramineae, gene banks, collections, biodiversity, genetic resources, natural resources, data collection, storage, international cooperation

Agris category code: F30

Genska banka Oddelka za agronomijo Biotehniške fakultete v Ljubljani

Zlata LUTHAR, Ludvik ROZMAN, Gregor OSTERC, Jure ČOP¹

Received November 05, 2012; accepted November 19, 2012.

Delo je prispelo 05. novembra 2012, sprejeto 19. novembra 2012.

IZVLEČEK

Skrb za ohranjanje narave, v ožjem smislu tudi genskih virov, ne sme biti prepuščena posameznikom ali posameznim ustanovam, ampak je potrebno ta problem reševati na regionalni, nacionalni in mednarodni ravni. S tem namenom je bila ustanovljena leta 1974 organizacija IBPGR (sedaj Bioversity International), ki je samostojna inštitucija, povezana s FAO ter podobnimi organizacijami po celem svetu in skrbi za ohranjanje svetovnih genskih virov. Pod njenim okriljem so bili za posamezne vrste izdelani tudi deskriptorji, po katerih se genski material opisuje in vrednoti. To je eden od razlogov, da so se leta 1996 v Sloveniji posamezne zbirke, ki hranijo kmetijske rastline združile in dobile status nacionalnega pomena z imenom Slovenska rastlinska genska banka. Del tega je tudi Genska banka kmetijskih rastlin Oddelka za agronomijo Biotehniške fakultete, ki jo sestavljajo štiri genske banke povečini domačih vzorcev ajde (navadna in tatarska), koruze (populacije in iz njih vzgojene linije), sadnih rastlin (jablane, hruške in orehi) ter trav in metuljnic (rod *Lolium*, *Dactylis* in *Trifolium*). Kljub temu, da se skrbi za različne rastlinske vrste, ima genska banka nekaj skupnih organizacijskih značilnosti. Način in razmere hranjenja so podobne, ne glede na rastlinsko vrsto. Tako se vzorci semen hranijo *ex situ* - izven naravnega okolja v hladilnikih. Sadne vrste se hranijo *ex situ* v obliki nasadov. Delo genske banke je osredotočeno na pravilno hranjenje vzorcev, zbiranje (kolekcioniranje) vzorcev, obnavljanje in razmnoževanje semen, vzdrževanje in zasaditev novih nasadov sadnih rastlin. Med glavnimi nalogami je tudi zbiranje osnovnih (pasport) podatkov o vzorcih, opisovanje in vrednotenje zbranih podatkov po mednarodnih deskriptorjih, sodelovanje med genskimi bankami ter dosegljivost zbirke oz. vzorcev. Razlogi za zbiranje vzorcev in ustanavljanje genske banke ter aktivnosti imajo nekaj skupnih značilnosti, predvsem rešiti genski material pred propadom, vsaka zbirka pa ima specifičnosti, po katerih je tudi razpoznavna.

Ključne besede: genska banka, ajda, pšenica, koruza, jablane, hruške, orehi, trave, detelje

ABSTRACT

GENEBANK OF THE AGRONOMY DEPARTMENT OF THE BIOTECHNICAL FACULTY IN LJUBLJANA

Caring for nature conservation in the strict sense of genetic resources cannot be left to individuals or individual institutions, this issue must be tackled at regional, national and international levels. The organization IBPGR (now Bioversity International), an independent institution founded for this purpose in 1974, is associated with the FAO and similar organizations worldwide and is responsible for organizing conservation of the world's genetic resources. Under its auspices, descriptors for individual species have been produced by which genetic material is described and evaluated. This is one of the reasons why individual collections in Slovenia responsible for storing agricultural plants, merged in 1996 and became a body of national importance called the Slovenian Plant Genebank. It includes also the genebank of agricultural plants of the Department of Agronomy of the Biotechnical Faculty, consisting of four genebanks containing primarily samples of domestic buckwheat (*Fagopyrum esculentum* and *Fagopyrum tataricum*), maize (populations and lines grown from them), fruit plants (apple, pear and walnut trees) and grasses and legumes (genuses *Lolium*, *Dactylis* and *Trifolium*). Despite preserving a variety of plant species, the genebank has some common organizational characteristics. The method and conditions of storage, irrespective of plant species are similar. Seed samples are thus stored *ex situ* – outside of the natural environment in a refrigerator. Fruit species are stored *ex situ* in the form of plantations. Genebank work focuses on the proper storage of samples, collection of samples, regeneration and multiplication of seeds, maintaining and planting new crops of fruit plants. The main tasks also include the collection of basic (passport) data on samples, characterization and evaluation of data collected by international descriptors, cooperation among genebanks and the availability of collections and samples. Grounds for collecting samples and the creation of the genebank and activities have some common characteristics, mainly preserving genetic material from decay. Each collection has specificities by which it is also recognizable.

Key words: genebank, buckwheat, wheat, maize, apple, pear, walnut, grasses, legumes

¹ Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana

1 NAMEN ZBIRANJA IN HRANJENJA RASTLINSKEGA MATERIALA

V zadnjih desetletjih je prišlo z uporabo moderne tehnologije, z zamenjavo domačih populacij in sort z uvoženimi, z ustanovitvijo velikih posesti ter s spremembo načina pridelave, do velikega zmanjšanja rastlinske raznolikosti t.i. rastlinske genske erozije. Ta je trenutno hitrejša kot živalska genska erozija in je prizadela vse tiste vrste, ki so posredno ali neposredno povezane s kmetijsko uporabo. Erozija genskih virov lahko vodi tudi do izginotja tistega vrednega genskega materiala,

ki še ni bil uporabljen. Če bi želeli še povečati pridelavo in hkrati izboljšati kvaliteto hrane, bi morali zavarovati in učinkovito uporabljati genske vire, ki so za razvoj kmetijstva odločilnega pomena. Ker se ljudje že dolgo zavedajo navedene pomembnosti genskih virov, ki bi bili podvrženi izumrtju oz. bi izumrli, če ne bi bili shranjeni, so začeli razvijati sisteme za ohranjanje in pridobivanje različnega genskega materiala.

2 POMEN IN NALOGA RASTLINSKIH GENSKIH BANK

Rastlinske genske banke so ustanove, kjer se hranijo rastlinski genski viri, običajno domači (avtohton) material, največkrat v obliki semen ali posajenih rastlin. Hranijo se gojene rastline ali divje vrste, predniki ali sorodniki kulturnih rastlin, populacije rastlin, ki se dalj časa v istem kraju pridelujejo ali žlahtniteljski material s čim širšo gensko raznolikostjo. S tem ko je material hranjen je varen pred izumrtjem. Domače populacije je potrebno ohranjati, ker so sestavni del skupne genske raznolikosti in so pomembne za lokalno kmetijsko pridelavo, zaradi njihove prilagojenosti talnim in podnebnim razmeram. Če je ruski znanstvenik N. I. Vavilov (1887-1943) pred 85-timi leti menil, da je svetovni genski sklad neizčrpen (Vavilov, 1926), postaja danes čedalje bolj jasno, da se po vsem svetu ta slika močno spreminja ter da je tudi v odročnih predelih sveta mogoče opaziti velike spremembe v kmetijski pridelavi. To še posebej velja za avtohtone populacije, ki jih v Evropi skoraj nikjer več ne pridelujejo, z izjemo manj pomembnih poljščin. Razmere niso veliko boljše v svetovnem merilu, saj je od 5000 gojenih vrst pomembnih le okrog 100 in da v nerazvitem svetu uvožene sorte izpodrivajo domače populacije.

Glavne naloge genskih bank so vzdrževanje hranjenih akcesij ali vzorcev in sistematično zbiranje novih, predvsem tistih, ki so trenutno ogrožene. Ko genska banka dobi vzorec, ga oceni in čim bolj natančno opiše njegove botanične in agronomsko pomembne lastnosti. Tak opis je namenjen ne le sedanjim, temveč tudi prihodnjim žlahtniteljskim potrebam in tudi pridelovalcem. Poleg tega je potrebno tudi razmnoževanje in obnavljanje hranjenih akcesij ter opisovanje njihovih lastnosti po mednarodnih opisih (deskriptorjih). Genska banka mora imeti tudi kvaliteten dokumentacijski sistem, katerega informacije so dostopne širši javnosti. Inštitucije in posamezniki lahko na ta način pregledajo material, shranjen v posamezni genski banki, izberejo za njih zanimive akcesije in pridobijo vzorčne količine semen oz. vegetativnih delov rastlin. V ta namen mora imeti vsaka genska banka na razpolago določeno število manjših vzorcev. To nalogo v precejšnji meri izpolnjuje tudi naša genska banka. Vzorci do sedaj niso služili samo za naše raziskovalne potrebe, veliko teh smo že poslali interesentom doma in po svetu.

3 NASTANEK IN UMESTITEV GENSKÉ BANKE ODDELKA ZA AGRONOMIJO V SLOVENSKI PROSTOR

Genska banka Oddelka za agronomijo je bila v današnji obliki ustanovljena leta 1996, ko so se v Sloveniji posamezne zbirke, ki hranijo kmetijske rastline združile pod imenom Slovenska rastlinska genska banka (SRGB) in dobile status nacionalnega pomena po vzoru mednarodnih zbirk. To pa ne pomeni, da se je šele takrat začel zbirati rastlinski genski material. Večina zbranega materiala je bila nabrana veliko prej. Gensko banko Oddelka za agronomijo sestavljajo štiri zbirke povečini domačih vzorcev ajde, koruze, sadnih rastlin ter trav in detelj. V Zbirki ajde se hranijo od leta 1977 semena navadne in tatarske ajde ter od leta 1983 populacije pšenice iz Črne gore, Bosne in Hercegovine in iz okolice Dubrovnika. Zbirka koruze hrani prve domače populacije in iz njih vzrojene linije. Zbiranje se je začelo v zgodnjih 50. letih 20. stoletja. Zbirka trav in detelj hrani od leta 1988 semena trav iz rodu *Lolium* in *Dactylis* ter detelj iz rodu *Trofolium*. Zbirka sadnih rastlin hrani v obliki nasada od leta 1994 pri nas gojene lokalne populacije in stare sorte jablan, hrušk in orehov.

3.1 Naloge in razmere hranjenja rastlinskega materiala

Naloge oz. delo genske banke je osredotočeno na dolgoročno hranjenje vzorcev, zbiranje (kolekcioniranje) vzorcev, obnavljanje semenskih vzorcev z razmnoževanjem, vzdrževanje in zasaditev novih nasadov sadnih rastlin. Posebna skrb je namenjena zbiranju osnovnih (pasport) podatkov o vzorcih, opisovanju in vrednotenju zbranih podatkov po mednarodnih deskriptorjih, sodelovanju med genskimi bankami ter dosegljivosti zbirke oz. vzorcev za druge inštitucije.

Način in razmere hranjenja so ne glede na rastlinsko vrsto podobne. Tako se trenutno akcesije poljščin in krmnih rastlin hranijo v obliki semena *ex situ* – izven naravnega okolja

v hladilnih omarah, prostornine 650 in 1450 l, zapakirane v steklenih oz. plastičnih kozarcih ali v papirnatih in plastičnih vrečkah. Vsak vzorec je opremljen s silikagelom – indikatorjem vlage. Pri povečani vlagi v vzorcu se barva silikagela spremeni, kar pomeni, da je potrebno vzorec dosušiti. Semenski vzorci so pred hranjenjem dosušeni do te mere, da vsebujejo manj kot 10 % vlage. Hranijo se pri temperaturi 4 °C. Takšne razmere omogočajo srednje- do dolgoročno hranjenje, t.j. običajno 10 do 20 let, pri nekaterih rastlinskih vrstah tudi več kot 50 let. Akcesije sadnih vrst se hranijo v obliki nasadov v Kartuzijanskem samostanu Pleterje. Genska banka Oddelka za agronomijo je v letu 2011 pridobila nov hlajen prostor in strojno opremo za pakiranje semena, kar ji bo v prihodnje omogočalo urejeno in sodobno delovanje.

3.2 Zbirke genske banke

Genska banka Oddelka za agronomijo ima štiri zbirke, ki vključujejo poljščine, njivske in travniške krmne rastline ter sadne vrste. Vsaka zbirka ima specifičnosti, po katerih je tudi razpoznavna.

3.2.1 Genska banka ajde in pšenice

Pred 40 in več leti se je pridelovanje ajde v Sloveniji začelo opuščati. Do tedaj so kmetje pridelovali svoje seme (botanično je zaprti plod – orešek in v agronomiji se imenuje seme), ki so ga iz leta v leto obnavljali. Tako so nastale izboljšane populacije, ki so bile prilagojene določenim talnim in podnebnim razmeram. Zaradi pomanjkanja semenskega materiala se je Slovenija odločila za uvoz tujih sort in populacij, katerih seme je bilo na razpolago v zadostni količini pridelovalcem. Ker je ajda tujeprašna rastlina – žužkocvetka so bile domače populacije v nevarnosti, da se skrižajo s tujim uvoženim materialom ali z

novimi slovenskimi sortami. Zato se je zečelo zbiranje in reševanje starih slovenskih populacij ajde, ki so zelo primeren izvorni material za žlahtnjenje predvsem zaradi okoljske prilagojenosti in velike genetske raznolikosti. To so bili glavni razlogi za zbiranje in reševanje genskega fonda oz. sklada genov ajde. Glede na dosedanje opise bi lahko v grobem razdelili zbrani material v 2 skupini (Engels in Arora, 1994). V prvi skupini so populacije navadne ajde s sivimi semeni, ki imajo drobna siva semena (od svetlo do temnosivih, pri katerih so pogoste temnejše priže) in bele cvetove, le pri nekaterih populacija se pojavljajo posamične rastline z rahlo roza cvetovi. Prilagojene so nižinskim in gričevnatim talnim in podnebnim razmeram Dolenjske in okolice, Primorske ter legam brez pogostih zgodnjih jesenskih slan in megle. V drugi skupini so populacije z nekoliko debelejšimi temnimi semeni (od svetlo do temnorjavih, pogosto so v osnovni barvi semen prisotne temne priže), osnovna barva cvetov je svetlo do temno roza, lahko se pojavijo posamične rastline z rahlo rdečimi cvetovi. Primerne so za višinske, hribovite lege Gorenjske in Koroške s 7 do 10 dni krajšo rastno dobo. Konec septembra so primerne za žetev, saj jim v ugodnih vremenskih razmerah do takrat že odpade listje. Pri sivih populacijah pa listje odpade šele po prvih jesenskih slanh. Poleg navadne ajde, se hrani še nekaj vzorcev tatarske ajde, ki so bili nabrani v letih 1976 do 1981. Tatarska ajda je samoprašna rastlina. Hranjeni vzorci se razlikujejo po velikosti in barvi semen. Razen ajde se v tej genski banki od leta 1983 hranijo še populacije pšenice iz Črne Gore, Bosne in Hercegovine in okolice Dubrovnika, ki jih je okrog leta 1970 zbral akademik prof. dr. Ljubo Pavičević. Po opravljenih morfoloških opisih in analizi gliadinov je zbrani material zelo variabilen (Trpin in Javornik, 1984; Descriptors for wheat, 1985; Trpin in sod., 1987). Značilnost te zbirke je, da se je več ne dopolnjuje z domačimi populacijami, ker jih na terenu ni

možno več dobiti oz. jih pridelovalci več ne pridelujejo.

3.2.2 Genska banka koruze

Slovenska polja so bila do začetka 50. let posejana samo z domačimi populacijami oz. sortami koruze, ki so bile izredne kakovosti s trdim zrnjem, zgodnejše in dobro prilagojene razmeram. V 50. letih se je začelo širjenje tujih, predvsem ameriških hibridov, ki so bili večina tipa zobank, poznejši in neprilagojeni slovenskim rastnim razmeram. Da se domači material ne bi skrižal s tujim se je začelo zbiranje domačih populacij po Sloveniji. Ta material je skoraj ves ohranjen in shranjen v genski banki. Zbrani izvorni oz. originalni avtohtoni genski material se je ves čas dopolnjeval, preučeval in požlahtnjeval. Ta material predstavlja neprecenljiv vir genov za žlahtnjenje zgodnjih in kakovostnih genotipov, saj so iz njih vzgojene številne domače linije trdinke, ki se odlikujejo po zgodnosti (zrelostni razred FAO 100 in 200), kakovosti (vsebujejo do 7 % olja in do 16,5 % beljakovin) (Rozman, 1996) in odpornosti na najpomembnejše bolezni in škodljivce koruze. Za ohranjanje tega genskega materiala je potrebno kontinuirano in sistematično obnavljanje semen v zaprti ročni izolaciji (izolacija z vrečkami) z umetnim oprahčevanjem. Vzoredno z obnavljanjem semen se rastline opisuje po mednarodnih deskriptorjih, istočasno pa se ugotavlja še odpornost oz. tolerantnost na koruzno progavost, fuzarioze ter druge bolezni in škodljivce. Po organiziranem temeljitem pregledu odročnih izoliranih predelov, ki je bilo opravljeno v okviru projekta SEEDNet v letih 2009 in 2010, smo nanovo nabrali še 66 domačih populacij in tako dopolnili že obstoječo zbirko.

3.2.3 Genska banka sadnih rastlin

V 19. stoletju je bilo v Sloveniji nekaj tisoč sort jabolk in nekaj sto sort hrušk. Sortiment se

je proti koncu 19. stoletju precej skrčil, saj so se odbirale in sadile le boljše in okusnejše sorte. Občutno zožitev sortimenta je povzročila tudi novejša pridelava sadja za prodajo na trgu, kajti trgovci so zahtevali velike količine ene sorte. Travniški nasadi oz. kmečki sadovnjaki na sejancu, kot predhodna oblika plantažne pridelave sadja, so dosegli proizvodni vrhunec med obema vojnama. V tem obdobju se je izvažalo največ sadja, letno tudi do 50.000 ton. Pozneje so ti nasadi izgubljali na pomenu, k čemur so pripomogli ameriški kapar in novo nastajajoče plantaže v državnem sektorju in kmetijska politika, ki je deželo sadja in vina načrtno spremenila v živinorejsko. Stari travniški nasadi so v zdajšnjem času na koncu življenjske dobe in so v fazi odmiranja tudi zaradi neoskrbe. Z namenom, da se ta ogroženi genetski material ohrani v čim večji meri, je Genska banka Oddelka za agronomijo začela z načrtnim zbiranjem in hranjenjem starih sadnih sort. Med opisi, ki jih izvaja genska banka, so najpomembnejši: opis bujnosti vegetativne rasti, zgodnost cvetenja, ki je pomembna zaradi odpornosti proti spomladanski pozebi, obilnost rodnega nastavka, zunanje in notranje lastnosti plodov ter odpornost oz. tolerantnost na bolezni in škodljivce. Pri tem se uporabljajo mednarodno sprejeti deskriptorji s prilagoditvami na naše podnebne razmere. Posebnost te zbirke je, da so cepiči vzeti s starih dreves pogosto okuženi z virusi ali drugimi bolezenskimi povzročitelji, zato je potrebno drevesa prej zamenjati z novimi, kot v običajnih nasadih.

3.2.4 Genska banka trav in metuljnic

Organizirano zbiranje ekotipov trav in metuljnic se je v Sloveniji začelo v 50. in 60. letih 20. stoletja zaradi žlahtniteljskih razlogov. Od tega zbranega materiala je ostalo zelo malo, v glavnem samo pozitivne odbranke za vzdrževalno selekcijo. Prizadevanja za vzpostavitev nacionalne genske banke krmnih rastlin pa segajo v 80. leta 20. stoletja, ko je takratna Jugoslavija v

sodelovanju z Združenimi državami Amerike začela z zbiranjem populacij pomembnih vrst trav in metuljnic. Koordinatorstvo posameznih rodov in vrst je porazdelila po njenih republikah. Oddelku za agronomijo Biotehniške fakultete je bilo dodeljeno vodenje dela na rodu *Trifolium*. V tistem času je bilo zbranih veliko ekotipov in selekcijskega materiala za črno deteljo in lucerno. Od leta 1997 poteka tudi delo na trpežni in mnogocvetni ljujki ter drugih pomembnih travniških vrstah. Ob pomoči območnih kmetijskih svetovalnih služb je bil zbran material z Dolenjske, Štajerske, Koroške in Prekmurja. Posebnost te zbirke je, da se zbrani ekotipi še vedno nahajajo v travni ruši naravnih travnikov, kar omogoča dopolnjevanje semenskih vzorcev, t.i. *in situ* razmnoževanje. Delo na zbirki je poleg osnovnih opisov in vrednotenja usmerjeno tudi na proučevanje morfološkega razvoja in hranilne vrednosti zelinja. Odgovorni za zbirko že od začetka sodelujejo s Kmetijskim inštitutom Slovenije, kar pomeni, da skupaj pripravljajo navodila za delo na tej genski banki in obrazce za vpisovanje podatkov, prav tako se sproti dogovarjajo, katere vrste se bodo kolekcionirale na posamezni ustanovi. Zbirka trav in metuljnic je ena redkih, pri kateri so možnosti za kolekcioniranje ekotipov še vedno velike zaradi raznolikosti slovenskega travinja. Zato je njena prioriteta v zbiranju materiala tistih gospodarsko pomembnih vrst, za katere se predvideva, da bodo v prihodnosti postale ogrožene. Torej vrst, ki bodo začele iz travne ruše izginjati bodisi zaradi opuščanja rabe slabšega ali zaradi intenzivnejše rabe boljšega travinja.

3.3 Uporabnost hranjenega rastlinskega materiala

Genski viri predstavljajo izhodiščni material, iz katerega lahko nastanejo nove sorte kmetijskih rastlin in je hkrati nepogrešljiv in nezamenljiv vir lastnosti, kot so prilagojenost na dane rastne razmere, zgodnost, odpornost na bolezni in škodljivce, izboljššan pridelek,

prisotnost kemijskih snovi, ki imajo zdravilne učinke itd. Ti geni se nahajajo v lokalnih sortah in v naravnih populacijah, katere so kmetje gojili skozi tisočletja ali same rastejo v naravi. Rastlinski genski viri so neizmerljiva

vrednost ne glede na to ali se jih uporablja za kreiranje novih lastnosti z genetskim kombiniranjem ali za izboljšanje že obstoječih lastnosti s klasičnim žlahtnjenjem ali z genskim inženiringom.

4 ZAHVALA

Sodelavci Genske banke Oddelka za agronomijo Biotehniške fakultete v Ljubljani se najlepše zahvaljujemo Fitosanitarni upravi

Ministrstva za kmetijstvo in okolje RS za večletno kontinuirano financiranje omenjene zbirke.

5 LITERATURA

- Engels J.M.M., Arora R.K. 1994. Descriptors for buckwheat (*Fagopyrum* spp.). International Plant Genetic Resources Institute, Rome: 48 str.
- IBPGR. 1985. Descriptors for wheat (*Triticum* spp.). International Board for Plant Genetic Resources, Rome: 12 str.
- IBPGR. 1991. Descriptors for maize. International maize and wheat improvement Center. Mexico City, Rome, International Board for Plant Genetic Resources: 88 str.
- Rozman L. 1996. Izboljšanje sortimenta koruze v Sloveniji z intenzivnejšim izkoriščanjem domačega genskega materiala. V: Žlahtnjenje rastlin in semenarstvo v Sloveniji. Strokovno posvetovanje, Cankarjev dom, 7. marec 1996. Bohanec B., Zor T., Luthar Z (ur.). Ljubljana: 49-55
- Trpin Š., Javornik B. 1984. Morfološki opis in elektroforetska analiza gliadinov vzorcev domačih populacij pšenice (*Triticum* sp.). Zbornik Biotehniške fakultete UL, 43: 25-35
- Trpin Š., Javornik B., Kreft I. 1987. Elektroforetska analiza gliadina uzoraka domačih populacija pšenice sa različitim stepenom ploidnosti. Poljoprivreda in šumarstvo, 23: 3-12
- Vavilov N.I. 1926. Studies on the Origin of Cultivated Plants. Bull. of Applied Botany, 2: 16

Genska banka ajde - vir slovenske genetske variabilnosti

Zlata LUTHAR¹

Received November 05, 2012; accepted November 19, 2012.
Delo je prispelo 05. novembra 2012, sprejeto 19. novembra 2012.

IZVLEČEK

Osnovni razlogi za zbiranje domačih vzorcev ajde po Sloveniji so bili predvsem v opuščanju pridelovanja domačih populacij in nadomestitev s tujimi uvoženimi sortami in populacijami, katerih seme je bilo na razpolago v zadostni količini pridelovalcem. Drug razlog je bil v nevarnosti, da se domače populacije skrižajo s tujim uvoženim materialom ali z novimi slovenskimi sortami in kot tretji razlog zbran material je nudil veliko variabilnost in možnost izbire ter uporabe kot vir genov za žlahtniteljsko delo. Pogosto so tam, kjer so se oz. se z žlahtnjenjem še ukvarjajo, kot potreba nastajale zbirke posameznih rastlinskih vrst. To so bili glavni razlogi pred 30 in več leti za zbiranje in reševanje gen fonda. Glede na dosedanje opise, bi lahko v grobem razdelili zbrani material v 2 skupini. Vzorce s sivimi semeni, ki imajo drobna siva semena in bele cvetove, le pri nekaterih populacijah se pojavljajo posamične rastline z rahlo roza cvetovi. Prilagojene so nižinskim in gričevnatim talnim in podnebnim razmeram, legam brez pogostih zgodnjih jesenskih slan in megla. V drugi skupini so populacije z nekoliko debelejšimi, temnimi - rjavimi semeni, osnovna barva cvetov je svetlo do temno roza, lahko se pojavijo posamične rastline z rahlo rdečimi cvetovi. Primerne so za višinske, hribovite lege s 7 do 10 dni krajšo rastno dobo. Konec septembra so primerne za žetev, saj jim v ugodnih klimatskih razmerah do takrat že odpade listje. Pri sivih populacijah pa listje odpade šele po prvih jesenskih slanih. Vzorca iz genske banke v preteklosti niso služili samo kot izhodiščni material za žlahtniteljsko delo (slovenske sorte ajde), ampak se je proučevala vitalnost semen, vsebnost polifenolov (tanina) v posameznih delih semen, genetska variabilnost in identifikacija vzorcev na nivoju DNA ter regeneracijska sposobnost *in vitro* razmerah. Značilnost te zbirke je, da se je več ne dopolnjuje z domačimi populacijami, ker jih pridelovalci ne pridelujejo in jih na terenu ni možno več nabrati oz. dobiti.

Ključne besede: ajda, genska banka, populacija, genetska variabilnost

ABSTRACT

BUCKWHEAT GENE BANK - A SOURCE OF SLOVENIAN GENETIC VARIABILITY

The primary reason for collecting domestic samples of buckwheat in Slovenia is the abandonment of growing domestic populations and their replacement with foreign, imported species and populations, whose seed is available in sufficient quantity to growers. Another reason is the threat that domestic populations will cross with foreign imported material or with new Slovenian varieties. A third reason is that the collected material provides a lot of variability and the possibility of choice and use as a source of genes for breeding work. Breeding has often been accompanied with the collection of selected plant species that were required and used during the breeding process. More than 30 years ago, therefore, a buckwheat gene fund was created. Based on existing descriptions, the collected material can be roughly divided into two groups. Samples with small gray seeds mainly have white flowers, although individual plants with slightly pink flowers emerge in some populations. They are adapted to lowland and hilly soil and climatic conditions, as well positions without frequent or early autumn hoarfrosts and mist. The second group includes populations with slightly thicker dark - brown seeds; the basic color of the flowers is light to dark pink, although individual plants with slightly red flowers may emerge. They are suitable for higher altitude, mountainous locations with a 7 to 10 days shorter growth period. They are suitable for harvest at the end of September because, with good weather conditions, the leaves have already fallen off by then. In the case of grey populations, the leaves do not fall until the first autumn hoarfrosts. Samples from the gene bank have not only served as starting material for breeding work in the past (Slovenian buckwheat varieties) but also for investigation of the seed viability, of the seed content of polyphenols (tannins) in individual parts of seeds, genetic variability, identification of samples on the level of DNA and regeneration capacity under *in vitro* conditions. A characteristic of this collection is that it is no longer being supplemented by local populations because these are no longer to be found in the natural environment.

Key words: buckwheat, genebank, population, genetic variability

¹ izr. prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za agronomijo, Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

1 RAZLOGI ZA ZBIRANJE SLOVENSКИH POPULACIJ NAVADNE AJDE IN NALOGE GENСКE BANKE

Analiza zmanjševanja pridelovanja navadne ajde je pokazala, da se je površina 31.715 ha posejane z ajdo na območju Slovenije pred 2. svetovno vojno od leta 1939 zmanjšala v letu 1997 na 405 ha. Pred 30 in več leti, ko je bila zbrana in skladiščena večina vzorcev, se je ajdo pridelovalo na približno 1.300 ha (Statistični letopis RS, več letnikov). V tem obdobju se niso samo občutno zmanjšale površine avtohtonih populacij, ampak so jih začele izpodrivati požlahtnjene domače sorte Siva, Darja in v Slovensko sortno listo vpisana tetraploidna sorta Bednja 4n ter tudi druge uvožene tuje sorte. Opuščanje pridelovanja domačih populacij in nadomestitev s tujimi uvoženimi sortami in populacijami, katerih seme je bilo na razpolago v zadostni količini pridelovalcem ter nevarnost, da se domače

populacije skrižajo s tujim uvoženim materialom ali z novimi slovenskimi sortami so bili osnovni razlogi za zbiranje domačih populacij ajde po letu 1975. Zbran material je nudil veliko variabilnost in možnost izbire ter uporabe kot vir genov za žlahtnjenje in proučevanje njihovih lastnosti.

Naloge oz. delo genske banke je osredotočeno na pravilno dolgoročno hranjenje vzorcev, obnavljanje in razmnoževanje semen. Zbiranje osnovnih (passport) podatkov o vzorcih (vzgojna stopnja semen, vrsta, rod, družina, izvor, zbiratelj, čas, lokacija in način zbiranja ter prostor in čas skladiščenja), opisovanje in vrednotenje zbranih podatkov po mednarodnih deskriptorjih, sodelovanje med genskimi bankami ter dosegljivost zbirke oz. vzorcev.

2 RAZMERE HRANJENJA VZORCEV

Semena navadne ajde se hranijo *ex situ* - izven naravnega okolja v hladilnikih, prostornine 650 in 1450 l, zapakirani v steklenih kozarcih ali v papirnatih in plastičnih vrečkah. Vsak vzorec je opremljen s silikagelom - indikatorjem vlage. Pri povišani vlagi v vzorcu se barva silikagela spremeni in to je opozorilo, da je potrebno vzorec dosušiti, mu dodati suh silikagel, ga ponovno zapakirati in čimprej vrniti v hladilnik. Vzorci so pred hranjenjem očiščeni, odstranjeni so morebitni škodljivci in dosušeni na 8 % vlage. Hranijo se pri

temperaturi 4 °C in to je srednjeročno hranjenje, običajno 10 do 20 let. Ajda ohrani v teh razmerah dobro kalivost tudi do 30 in več let, kar je že dolgoročno hranjenje. Po tem, priporočljivo je že prej in tudi potrebno, da se vzorce obnovi oz. razmnoži. V ta namen, da se čim bolj ohrani vzorce in zmanjša stroške hranjenja, je bil v letu 2011 prenovljen in opremljen hlajen prostor in vzorci bodo v bližnji prihodnosti po potrebi dosušeni, prepakirani v boljšo embalažo in preseljeni.

3 NAČIN RAZMNOŽEVANJA VZORCEV

Navadna ajda (*Fagopyrum esculentum* Moench.) je tujeprašna rastlina, ki jo opašujejo žuželke, predvsem čebele. Za preprečitev neželjenega opráševanja med vzorci in zagotovitvi identičnosti obnovljenega semena z originalnim vzorcem je potrebno razmnoževati akcesije v izolaciji. To lahko

zagotovimo s prostorsko izolacijo s primerno razdaljo 1 km in več, odvisno od razgibanosti terena in naravnih pregrad, lahko pa znotraj večjega posevka tetraploidne (4n) ajde razmnožujemo v primerni razdalji več manjših diploidnih (2n) vzorcev. Zadnji način

razmnoževanja uporabljamo za obnavljanje hranjenih vzorcev od leta 1997.

Diploidne vzorce navadne ajde v velikosti parcel do 4 m² se razmnožuje znotraj večjega posevka tetraploidne ajde. Diploidna ajda s 16 kromosomi in tetraploidna ajda z 32 kromosomi se med saboj ne križata. Razdalja med posameznimi parcelami naj bi bila 12 in več metrov (Adhikari in Campbell, 1998). To je razdalja oz. pas tetraploidne izolacije, da insekti, med njimi so glavni oprasovalci čebele, naj ne bi prenašali pelod med diploidnimi vzorci.

Pri ajdi je, zaradi relativno visokega koeficienta razmnožitve, velikost parcel približno 4 m² zelo primerna. Za to površino se porabi zelo malo osnovnega oz. originalnega semena in manj časa, saj se v ugodnih klimatskih razmerah lahko pridela zadostno količino semena za obnovo bazične kolekcije in do 10 manjših vzorcev po 50 semen, za izmenjavo uporabnikom.

Semena se poseje v pet vrst v razdalji 40 cm. Ta razdalja je nekoliko večja kot jo zahteva optimalna agrotehnika. Za večjo medvrstno razdaljo je več razlogov: rastline imajo več prostora za rast in razvoj, zagotovljena je večja preglednost pri opisih in vzorčenju, ki se jih opravlja na polju in manj se poškoduje rastline. Za tako velike parcele potrebujemo minimalno razdaljo 10–12 m, željeno je tudi več. To metodo so uvedli ruski raziskovalci, in če dodamo znano dejstvo racionalnega obnašanja čebel, je ta metoda zelo primerna za razmnoževanje večjega števila različnih vzorcev istočasno na isti lokaciji. S tem si olajšamo in pocenimo delo ter prihranimo na času, kot če bi imeli več raztresenih izolacij v razdalji 1 km in več. Ugotovitve Adhikari in Campbell (1998) potrjujejo primernost te metode in navajajo 4,8 % neželjene (tuje) oprasitve pri razdalji 12 m. Da bi ugotovili primernost metode v naših razmerah z razdaljo 12 m in nekoliko več, smo v letih 1997 in 1998, ko smo začeli z načrtnim

razmnoževanjem vzorcev iz genske banke, izvedli poskus medsebojnega križanja. Znotraj 1 ha 4n posevka smo posejali 40 parcel velikosti 4 m² z diploidnimi vzorci. Na 37 parcelah so bili posejani vzorci iz genske banke, na eni standardna sorta Darja in na dveh determinantna sorta Darina, ki je bila uporabljena za testiranje morebitne tujeprašnosti med rastlinami posameznih parcel.

Na izražanje determinantne oblike rasti vpliva recisivni gen oz. alel (*d*). Pri 2n rastlinah sta za determinantno obliko rasti oz. habitus potrebna dva recisivna gena oz. alela (*dd*). Vzorci iz genske banke, ki so bili vključeni v poskus, so pretežno nedeterminantne oblike rasti. Včasih se med populacijami ajde s sivimi semeni, ki so bile tudi vključene v poskus, pojavljajo posamezne rastline z determinantno rastjo in ker se ta lastnost deduje dominantno/recesivno v razmerju 3:1 je takih rastlin zelo malo. Genotip nedeterminantnih rastlin je lahko homozigoten (*DD*) oz. heterozigoten (*Dd*), v razmerju 1:2. Fenotip enih in drugih je enak – nedeterminantna oblika rasti. V primeru, če se determinantna rastlina skriža z nedeterminantno, se to že naslednje leto odraža na fenotipu potomcev - obliki rasti. Potomci skrižanih rastlin ne bodo več determinantni, ampak nedeterminantni. Del semena pridelanega v letu 1997 smo v letu 1998 naključno posejali na dve parceli znotraj 4n posevka. Po preštetju fenotipov znotraj vsake parcele smo ugotovili, da je odstotek nedeterminantnih rastlin oz. takih, ki so nastale po križanju z nedeterminantnimi rastlinami s parcel, kjer so se razmnoževali vzorci iz genske banke zelo majhen, v povprečju 3,5%. Tudi, če vzamemo v obzir možnost pojavljanja majhnega odstotka determinantnih rastlin na parcelah, kjer so se razmnoževali vzorci, pri katerih se občasno pojavlja recisivni gen - *d* (v letu 1997 so bili 4 taki vzorci) in možnost križanja teh determinantnih rastlin z Darino, bi nastanek determinantnih rastlin, ki so rezultat tega križanja lahko zmanjšal dobljen odstotek. Vendar so ta naključja zanemarljivo majhna,

možna pa so. Ker je 3,5 % tujeprašnosti zelo malo, smo se na podlagi tega poskusa odločili za tak način razmnoževanja semena, ker ohranja zadovoljivo identičnost z osnovnim, hranjenim vzorcem. Istočasno pa omogoča razmnoževanje večjega števila vzorcev v istem letu z manj stroški v primerjavi z razmnoževanjem na različnih lokacijah.

Tatarska ajda (*Fagopyrum esculentum* (L.) Gaertner) je samoprašna rastlina in ne potrebuje izolacije. Razmnoževanje je tehnično manj zahtevno ima pa nekoliko daljšo rastno dobo kot navadna ajda oz. semena dozorevajo zelo neenakomerno, še bolj kot pri navadni ajdi. Za razmnoževanje teh vzorcev so dobrodošla leta brez zgodnjih jesenskih slani in v času zorenja obdobje s čim manj dežja oz. vlage.

4 OPISOVANJE HRANJENIH VZORCEV

Med rastno dobo se vzorce opisuje po 43 priporočenih mednarodnih deskriptorjih (Engels in Arora, 1994). Obdobje spremljanja oz. opisovanja se začne s fazo kalitve oz. vznika in se zaključi s polno zrelostjo oz. žetvijo rastlin. To obdobje je tudi pokazatelj ranosti. Med tem se opisuje vegetativni del rastline - steblo in liste ter generativni del - cvet in seme, ki je v bistvu zaprt plod (orešek) in se v agronomiji imenuje seme. Steblo se opisuje oz. spremlja z desetimi deskriptorji: način rasti - habitus, determinantnost, višina rastlin, razrast rastlin, število internodijev, dolžina, barva in premer glavnega poganjka, debelina steblovega tkiva in občutljivost na poleganje. Liste se opisuje z enajstimi deskriptorji: barva lista, listnega roba, listnih

žil in listnega peclja, število listov na glavnem poganjku, dolžina listnega peclja, dolžina, širina in oblika listne ploskve, teža svežih listov in zračno suhih listov. Cvet oz. socvetje se opisuje z desetimi deskriptorji: število dni od vznika do cvetenja, število socvetij, kompaktnost oz. zbitost socvetja, dolžina socvetja, razrast socvetja, barva socvetnega peclja, število cvetov v grozdu in vršnem pakobulu, barva cvetov, morfologija oz. oblika cveta in zakrnelost cvetov. Seme (plod - orešek) se opisuje z desetimi deskriptorji: število semen v grozdu in vršnem pakobulu, barva semen, teste in luske, oblika semen, površina oz. videz semen, dolžina in širina semen, povprečni pridelek na rastlino in teža 1000 semen.

5 VREDNOTENJE ZBRANIH PODATKOV O VZORCIH

Na primeru 10 obnovljenih in opisanih vzorcev in standardni sorti Darja z agronomsko pomembnimi deskriptorji, ki vplivajo na višino pridelka semen, so prikazane razlike in podobnosti med vzorci (preglednica 1). V grobem izhaja prvih 5 vzorcev iz skupine s svetlimi semeni - svetlo siva brez priž in temnejše siva s temnimi prižami. Ostalih 5 vzorcev je iz skupine z rjavimi semeni - svetlo in temno rjava s temnejšimi prižami. Statistično značilne razlike in enakosti znotraj in med obema skupinama so bile izračunane

ter testirane z analizo variance in Duncanovim testom pri tveganju ($p = 0,05$) in so prikazane s črkami, ki sledijo povprečjem in odstotkom za vsak vzorec. Vrednosti označene z različnimi črkami se statistično značilno razlikujejo, z enakimi pa se statistično značilno ne razlikujejo (preglednica 1).

Navadna ajda se lahko močno ali slabo razrašča in običajno vsak stranski poganjek oblikuje socvetje in v ugodnih razmerah tudi seme. Intezivnost razrasti je odvisna od

genotipa in gostote posevka. Celotno socvetje enega poganjka se imenuje sestavljeno mešano socvetje, katerega osnova je grozdasta in končuje se pakobulasto. Znotraj sestavljenega

grozda je pri nedeterminantnih ajdah več socvetnih vejic. Pri determinantnih ajdah pa je eden oz. sta največ dva grozda, ki se končujeta s končnim pakobulom.

Preglednica 1: Povprečne vrednosti in odstotki za lastnosti, ki vplivajo na velikost pridelka pri 10 vzorcih ajde in sorti Darja. Povprečja in odstotki označeni z različnimi črkami se statistično značilno razlikujejo med vzorci, testirano z Duncanovim testom pri tveganju ($p = 0,05$).

Oznaka vzorca	Št. cvetov v grozdu in vršnem pakobulu	% semen v grozdu in vršnem pakobulu	% lusk v grozdu in vršnem pakobulu	Dolžina semen (mm)	Širina semen (mm)	Teža semen na rastlino (g)	Teža 1000 semen (g)
Svetla semena – svetlo in temno siva s prižami							
114	21,7 abcd	24,6 a	23,3 ab	5,7 d	3,3 c	0,6 c	20,7 gh
119	23,5 abcd	7,5 d	21,4 ab	6,0 abc	3,6 b	0,1 f	21,7 efg
134	24,7 ab	7,3 d	29,4 a	5,4 ef	3,0 d	0,1 f	21,2 fgh
149	23,3 abcd	18,5 ab	19,5 ab	5,3 f	3,3 c	0,3 d	22,3 def
152	19,5 bcd	14,5 bcd	27,2 a	5,6 de	3,2 cd	0,2 e	20,3 h
Temna semena – svetlo in temno rjava s prižami							
113	25,3 a	9,5 bcd	15,9 b	5,9 bc	3,5 b	0,9 b	21,4 efgh
135	24,4 ab	15,2 bcd	23,0 ab	6,1 ab	3,8 a	0,7 bc	23,9 c
150	18,6 d	17,6 abc	20,5 ab	5,2 f	3,1 cd	0,5 cd	22,6 cde
151	18,8 cd	14,0 bcd	23,1 ab	5,8 cd	3,8 a	0,6 c	25,6 b
157	23,5 abcd	8,6 cd	18,8 ab	6,2 a	3,9 a	0,6 c	23,1 cd
Kontrola							
Darja	26,1 a	10,4 bcd	23,5 ab	5,8 cd	3,8 a	1,6 a	27,2 a

Iz preglednice 1 je razvidno, da so vključeni vzorci v obnovo nastavili sorazmerno veliko število cvetov. V povprečju je bilo v vsaki socvetni vejici oz. grozdu s pripadajočim vršnim pakobulom od 19–26 cvetov, odvisno v katerem poganjku se je nahajal (na glavnem ali stranskih prvega ali več redov). To je kar veliko, če vzamemo v obzir, da je bila dolžina grozda v povprečju 0,5–2,5 cm, odvisno od razraščенosti socvetja in kje na rastlini se je nahajal. Samo 7,3–24,6 % cvetov je po cvetenju oblikovalo semena. V povprečju je bilo 15,9–29,4 % praznih lusk oz. gluhih semen. Vsaj polovica oz. več kot polovica cvetov (46–77 %) je abortirala oz. propadla v prvih dneh po oploditvi oz. v prvi fazi oblikovanja semen. Vzroki so lahko v slabi oprasitvi oz. oploditvi, večji problem je verjetno v nepravilnem oblikovanju zasnove

semen in dotoku asimilatov v formirajoča semena, saj veliko teh nežnih form propade, ne da bi opazili. Proučevani vzorci se glede števila cvetov bistveno niso razlikovali, razen vzorcev z oznako 113, 134 in 135, ki so izstopali v povprečju s 24,8 cvetovi v grozdu s pripadajočim pakobulom. Ajde z rjavimi semeni (plodovi - oreški) so imele nekoliko večje že zasnove - luske semen, kar se pri pravilnem dotoku asimilatov pozna tudi na končni teži semen. Pri teh je verjetno dotok in napolnjevanje semen z asimilati boljše in intenzivnejše (preglednica 1). Kljub temu, da vzorci z rjavimi semeni za polno seme potrebujejo več asimilatov, pa ti vzorci niso oblikovali več praznih semen, glede na sive populacije. V odstotku praznih semen med skupinami sivih in rjavih vzorcev ni bilo bistvenih razlik. Izoblikovale so se tri skupine. Največ 29,4 % praznih semen v grozdu s

pripadajočim pakobulom je bilo pri vzorcu z oznako 134 in v isti skupini s 27,2 % praznih semen je bil vzorec 152, oba iz skupine s sivimi semeni. Vse ostale vrednosti se prekrivajo, oz. med njimi ni značilnih razlik, razen vzorca z oznako 113 iz skupine temnih - rjavih semen, ki je imel najmanj 15,9 % praznih semen. Teža semen na rastlino je bila večja pri vzorcih z rjavimi semeni, nihala je od 0,5–0,9 g, medtem ko so imeli vzorci s sivimi semeni manjšo povprečno težo, od 0,1–0,6 g na rastlino. Sorta Darja je imela največjo povprečno težo semen 1,6 g na rastlino. Štirje od 5 vzorcev z rjavimi semeni so imeli težo 1000 semen večjo od 22,6 g, medtem ko je imel samo 1 vzorec iz skupine s sivimi semeni 22,3 g, ostali 4 so imeli manjšo težo. Napolnjena rjava semena so bila tudi večja kot siva. Trije vzorci z oznako 135, 151, 157 in Darja so imeli najširša in najdaljša, trikotna semena. Pri vzorcih 113, 135 in 150 so se pojavljala trikotna in jajčasta semena. Vzorci s sivimi semeni so imeli nekoliko krajša semena, 3 vzorci od 5 so imeli najkrajša in najožja in prevladovala je jajčasta oblika. Pri vzorcih 114 in 149 pa sta se pojavljali jajčasti in stožčasti obliki. Nasplošno imajo vzorci s sivimi semeni krajša in ožja, stožčasta oz.

ovalna semena, vzorci z rjavimi semeni pa imajo daljša in širša, trikotna semena.

Sorta Darja, ki je bila vključena v opise kot kontrola, se je v nekaterih lastnostih, in to predvsem v tistih, ki vplivajo na velikost pridelka, bistveno razlikovala od testiranih populacij. Žlahtniteljsko delo pri Darji se, razen drugih izboljšanih lastnosti, odraža predvsem na teži semen, ki je bila statistično značilno večja (27,2 g teža 1000 semen) od teže semen ostalih vzorcev. Prav tako je bila teža semen pridelana na rastlino 1,6 g značilno večja od ostalih vzorcev. Po številu cvetov je bila v skupini z najbujnejšim cvetenjem, napolnila je 10,4 % semen, praznih semen je bilo 23,5 %, kar jo je uvrstilo v srednji razred. Kljub tem pomanjkljivostim, ki v času žlahtnjenja niso bile odpravljene, je pridelek stabilnejši in zadovoljivejši kot pri vzorcih. V povprečju doseže 0,8 t/ha, v ugodnih rastnih razmerah tudi 1,0 do 1,2 t/ha. Opisovanje vzorcev iz genske banke je pomembno, saj samo na tak način dobimo temeljite informacije, kaj se hrani in katere vzorci oz. njihove lastnosti so zanimive za žlahtnjenje boljših genotipov – sort.

6 RAZNOLIKOST HRANJENEGA MATERIALA IN UPORABNOST

Zbrani material lahko razdelimo v dve skupini: navadna ajda (*Fagopyrum esculentum* Monch) in tatarska ajda (*Fagopyrum tataricum* Gerth.). Navadna ajda je tujeprašna (žužkocvetka) heterostilna rastlina z dvema oblikama cvetov pin (*ss*) in thrum (*Ss*). Cvetovi se navzkrižno oprašujejo. Tatarska ajda je samoprašna rastlina.

Velika večina vzorcev navadne ajde je diploidnih (2n), nekaj jih je tetraploidnih (4n). Populacije tetraploidnih se ločijo od diploidnih po tem, da imajo večje liste z valovitim listnim robom, nekoliko večje cvetove z večjimi zaobljenimi cvetnimi listi in večja temna semena. Ena populacija ima siva semena.

Zbrane diploidne vzorce bi lahko glede na dosedanje opise v grobem razdelili v dve skupini. Vzorce s sivimi semeni, ki imajo drobna siva semena, od svetlo- do temno sivih, pri katerih so pogoste temnejše priže in beli cvetovi, le pri nekaterih populacijah se pojavljajo posamične rastline z rahlo roza cvetovi. Pri nekaterih rastlinah znotraj teh populacij se pojavlja recesivni gen *d* za determinantno obliko rasti. Prilagojene so nižinskim in gričevnatim talnim in podnebnim razmeram Dolenjske in okolice, Primorske ter legam brez pogostih zgodnjih jesenskih slan in megla. V drugi skupini so populacije z nekoliko debelejšimi temnimi semeni od

svetlo - do temno rjavih, pogosto so v osnovni barvi semen prisotne temne priže, osnovna barva cvetov je svetlo do temno roza, lahko se pojavijo posamične rastline z rahlo rdečimi cvetovi. Primerne so za višinske, hribovite lege Gorenjske in Koroške s 7 do 10 dni krajšo rastno dobo. Konec septembra so primerne za žetev, saj jim v ugodnih klimatskih razmerah do takrat že odpade listje. Pri sivih populacijah pa listje odpade šele po prvih jesenskih slaneh. Kombajniranje lahko olajšamo in pridobimo na čistosti pridelka, če takoj po slani, še preden sonce omehta rastline, kombajniramo zmrznjene rastline (Luthar, 1998).

Vzorci iz genske banke v preteklosti niso služili samo kot izhodiščni material za

žlahtnjenje (slovenske sorte ajde Siva, Darja, Rana 60 in Darina), ampak se je proučevala vitalnost semena, vsebnost polifenolov (tanina) v posameznih delih semen, genetska variabilnost in identifikacija vzorcev na nivoju DNA ter regeneracijska sposobnost v *in vitro* razmerah.

6.1 Vsebnost in razporeditev tanina ter vitalnost semen

Vsebnost tanina v semenih naključno izbranih vzorcev ajde iz genske banke je bila od 0,5 do 4,5 %. Pri tetraploidnih vzorcih so bile dobljene manjše vrednosti (preglednica 2).

Preglednica 2: Vsebnost tanina v semenih ajde hranjenih v genski banki

Ajda	% tanina			Št. vzorcev
	minimalna vrednost	maksimalna vrednost	povprečje	
Diploidna 2n = 16	0,50	4,50	2,46	63
Tetraploidna 4n = 32	1,06	3,18	2,08	4
Tatarska 2n = 16	0,71	3,12	1,86	12

To je lahko posledica manjšega števila analiziranih vzorcev, s katero nismo zajeli celotne variabilnosti, na razpolago smo imeli samo 4 vzorce. Tetraploidne populacije oz. sorte so redke in manj razširjene kot diploidne.

Pri tatarski ajdi so bile določene manjše vsebnosti tanina, kot pri navadni ajdi.

Ugotovili smo tudi, da so imeli starejši vzorci stari 10 in več let, manj tanina kot novo razmnoženi. Isti vzorci razmnoženi na različnih lokacijah so vsebovali različno količino tanina. Sinteza in nalaganje tanina kot sekundarnega metabolita, je močno odvisno od okolja, predvsem od temperature.

Preglednica 3: Odstotek tanina v suhi masi luske in teste pri 4 vzorcih ajde hranjenih v genski banki

Ajda	% tanina v	
	luski	testi
Siva 2n	2,82	8,35
Darja 2n	2,94	9,06
Petra 4n	2,35	7,06
Bednja 4n	2,93	6,35

V katerih delih semena (plod - orešek) se nalaga tanin, smo proučevali pri dveh diploidnih sortah Siva in Darja ter pri tetraploidnem vzorcu Petra in sorti Bednja 4n. Ugotovljeno je bilo, da se tanin nahaja samo v plodni ovojnici - luski in semenski ovojnici - testi. V luski je od 2,35 do 2,94 % tanina, v testi pa od 6,35 do 9,06 % (preglednica 3). Največ ga je v testi in to od 68,35 do 75,50 % vsega tanina v semenu ajde. Delež teste, glede na celotno seme, je najmanjši in znaša 3,44 do 3,67 % odvisno od vzorca. V luski je od 24,50 do 31,65 % vsega tanina. Delež luske je od 21,67 do 25,19 %. Osrednji deli semena: endosperm in kalček s kotiledoni ne vsebujejo tanin.

S kalilnimi poskusi smo ugotovili, da ajda pri trenutnih razmerah hranjenja, približno 6–8 % vlagi v semenih in pri 4 °C, relativno dolgo ohrani visok odstotek kalivosti. To lahko pripišemo tudi taninu in njegovim lastnostim. To, da je sestavina zunanjih delov semena (luska v povprečju vsebuje 27,1 % tanina in testa 72,9 %), je zelo pozitivno, glede na njegovo antioksidativno dejavnost, saj preprečuje vstop kisiku v osrednje dele semena. Kot naravni konzervans ima tako pomembno vlogo pri procesih staranja, obstojnosti in kvarjenja semena. Pri starejših vzorcih, starih 10 in več let, smo ugotovili visok odstotek kalivih semen in manjše vsebnosti tanina kot v novo razmnoženih vzorcih. To je verjetno posledica tega, da oksidirane tanina, ki nima več pravih lastnosti tanina, je pa prisoten, ne moremo dokazati z metodami za kvantitativno določanje (Luthar, 1992). Vsebnost tanina v zunanjih delih semen je verjetno eden od razlogov za dobro ohranjanje kalivosti.

6.2 Genetska variabilnost beljakovin – globulinov

Populacije s sivimi in rjavimi semeni so bile vključene v križanja z namenom ugotoviti genetsko variabilnost globulinov. Med njimi je bilo 22 heterozigotnih in 6 homozigotnih staršev. Na podlagi SDS-PAGE elektroforetske analize vključenih staršev v križanja in njihovih potomcev je bil določen beljakovinski multipli *Glob-1* lokus z 12 aleli, ki se kodominantno izražajo oz. dedujejo (Luthar in sod., 2008).

6.3 Regeneracijska sposobnost v *in vitro* razmerah

Regeneracija poganjkov iz kotiledonskih izsečkov ajde je bila testirana pri 33 diploidnih in 4 tetraploidnih vzorcih. Po 60 dneh inokulacije na gojišče je samo 4 % vzorcev formiralo poganjke. Frekvenca regeneracije je bila zelo majhna in ni preseгла 5 %, pogosto se je gibala od 1 do 2 %. Kljub temu smo ugotovili, da sta vitalnost inokuliranih kotiledonskih izsečkov in regeneracija poganjkov močno odvisni od vzorca in njegove vitalnosti, ki smo jo našli med in znotraj populacij ajde. Zato smo selekcionirali ajdo z namenom izboljšati regeneracijo v primerjavi z osnovnim vzorcem. Regenerante sorte Darina z izhodiščno 1,56 % regeneracijo smo aklimatizirali. Uspešno aklimatizirane rastline smo pustili v medsebojni oprahitvi in pri testiranju regeneracije F1 semen ugotovili, da se je odstotek regeneracije bistveno dvignil. Nihal je v razponu od 5,2 do 24,4 %, odvisno od rastline (genotipa) s katere so bila pobrana semena (preglednica 4) (Luthar in Marchetti, 1994; Luthar, 1996).

Preglednica 4: Odstotek regeneracije iz kotiledonskih izsečkov po medsebojnem opraševanju regenerantov sorte Darina. Odstotki označeni z različnimi črkami se statistično značilno razlikujejo ($p = 0,05$), obdelano s *hi*-kvadrat testom.

Oznaka regeneranta	Št. semen uporabljenih za izsečke	% izsečkov s poganjki
1	18	24,4 a
2	10	23,9 a
3	17	22,7 a
4	13	13,6 b
5	11	13,6 b
6	10	12,5 b
7	8	11,9 bc
8	16	9,1 bc
9	18	8,5 bc
10	10	7,4 c
11	16	6,8 c
12	9	5,2 c

6.4 Genska erozija rjavih in sivih populacij ajde

Genska erozija rjavih ajd oz. populacij na območju Koroške in Gorenjske ter sivih ajd na območju Dolenjske in Primorske, kjer je bilo med leti 1978 do 1985 zbranih največ vzorcev ajde je bila potrjena z ogledi in poizvedbami na terenu v letih 1999 in 2000.

Rezultati študije na terenu na območju Koroške so pokazali, da redki kmetje še gojijo ajdo, ampak na zelo majhnih površinah. Večina kmetov oz. njihovih potomcev, ki so v preteklosti gojili ajdo, se več ne ukvarja s pridelovanjem ajde oz. so popolnoma opustili kmetovanje. Kljub temu je bil v letu 1999 najden vzorec originalne rjave ajde, na hribu blizu Holmca.

Rezultati obiskov na Gorenjskem so pokazali popolnoma različno situacijo glede na Koroško. Ajda raste na številnih poljih, predvsem v nižinah, kljub temu ni bila najdena tipična rjava populacija. Kmetje povečini pridelujejo nove sorte ali mešanice s starimi populacijami. Nekaj kmetov je povedalo, da so zmešali kupljene sorte z domačimi in potem čez nekaj let je ta isti kmet prodal drugemu za setev kot domačo. Če se pogovarjaš s slednjim je prepričan, da goji domačo ajdo. Po

pogovoru s prejšnjim, ki je ajdo prodal, pa se da razvozlati izvor in običajno se ugotovi, da gre v takih primerih za zmešano oz. skrižano seme. Takih primerov je trenutno največ na Gorenjskem.

V letu 2000 je bila narejena podobna študija genske erozije sivih populacij na območju Dolenjske in Primorske. Preliminarne ugotovitve so kazale na to, da številni vzorci, ki se hranijo v genski banki, niso več prisotni *in situ* na terenu, kjer so bili zbrani. V nekaterih zelo redkih primerih ajdo na isti lokaciji sicer še pridelujejo, predvsem na Vrhtrebnjem in okolici, vendar se je v preteklosti pri naključnih obiskih in pogovorih na terenu velikokrat pokazalo, da gre za pridelavo sodobnih požlahtnjenih domačih oz. tujih sort in ne več avtohtonih populacij. Pred 30 in več leti se je na teh območjih največ pridelovalo populacije s sivimi semeni in belimi do rahlo roza cvetovi, ki so bile nekoliko višje od populacij z rjavimi semeni, ki so se pridelovale na Koroškem in Gorenjskem.

Rezultati na terenu so pokazali, da na območju Primorske pridelujejo zelo malo ajde in da se ne prideluje ajda s starim poreklom, ampak se sive populacije pridelujejo šele približno 30 let. Prej so na območjih Primorske pridelovali

večinoma rjavo ajdo, ki pa je ni bilo več že v času zbiranja vzorcev za gensko banko. Zato so bile zbrane po Primorskem večinoma sive populacije. Kljub temu je bil najden vzorec, ki

ga ista kmetija prideluje že 40 let, po pripovedovanju pridelovalca tega vzorca, v tem obdobju niso menjali seme.

7 SKLEP

Na podlagi statističnih raziskav zmanjševanja pridelave ajde in po množičnem pojavljanju na slovenskih njivah požlahtnjenih domačih in tujih sort ter populacij predvsem po letu 1975 je bila odločitev, da se zbere obstoječe populacije, ki so se pridelovale po Sloveniji, pravilna. Namen tega dela je bil tudi prikazati pomembnost zbiranja in ohranjanja vzorcev v sklopu aktivnosti genskih bank. Ajda ni

samo v Sloveniji, ampak je bila tudi po mnenju IPGRI (International Plant Genetic Resources Institute), sedaj Bioversity International uvrščena med najbolj ogrožene rastlinske vrste, za katere je IPGRI leta 1993 predlagal da se jo obravnava v skupini rastlin, ki imajo odločilno prednost pri zbiranju in hranjenju (IPGRI, Annual Report, 1993).

8 ZAHVALA

Najlepše se zahvaljujem sodelavcem prof. dr. Ivanu Kreftu, prof. dr. Branki Javornik in prof. dr. Borutu Bohancu, da so pravilno presodili in zbrali slovenske populacije ajde ter

Fitosanitarni upravi Ministrstva za kmetijstvo in okolje RS za večletno kontinuirano financiranje genske banke, ki je prispevalo k ohranitvi tega materiala.

9 LITERATURA

Adhikari, K.N., Campbell, C.G. 1998. Natural outcrossing in common buckwheat. *Euphytica*, 102: 233-237

Engels, J.M.M., Arora, R.K. 1994. Descriptors for buckwheat (*Fagopyrum* spp.). International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy, 48 s.

International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI), Annual Report 1993, Rome: 47

Luthar, Z. 1992. Tanin v semenih navadne in tatarske ajde (*Fagopyrum esculentum* Moench in *F. tataricum* Gaertn.). *Zb. Bioteh. fak. Univ. Ljublj., Kmet.*, 59: 55-62

Luthar, Z., Marchetti, S. 1994. Plant regeneration from mature cotyledons in a buckwheat (*Fagopyrum*

esculentum Moench) germplasm collection. *Fagopyrum* (Ljublj.), 14: 65-69

Luthar, Z. 1996. Improvement of regeneration of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) cv. Darina. *Zb. Bioteh. fak. Univ. Ljublj., Kmet.*, 67: 79-84

Luthar, Z. (1998). Genska banka ajde. *Sodobno kmetijstvo* 31(2): 67-70

Luthar, Z., Rogl, S., Kump, B., Javornik, B. 2008. 38-48 kDa subunits of buckwheat 13S globulins are controlled by a single locus. *Plant breeding*, 127: 322-324

Statistični letopis RS, več letnikov

Agrovoc descriptors: zea mays, gene banks, collections, biodiversity, genetic resources, natural resources, data collection, genetic markers, pollination, plant breeding, disease resistance, pest resistance, varieties, land varieties, storage, quality, genotypes, inbreeding

Agris category code: F30

Genska banka koruze v Sloveniji

Ludvik ROZMAN¹

Received November 30, 2012; accepted November 19, 2012.

Delo je prispelo 30. novembra 2012, sprejeto 19. novembra 2012.

IZVLEČEK

Genska banka koruze na Oddelku za agronomijo Biotehniške fakultete v Ljubljani je ena od najstarejših in najboljšežnejših genskih bank kmetijskih rastlin v Sloveniji. Prve populacije, ki jih hranimo so bile nabrane že v začetku 50. let. Trenutno hranimo v genski banki skupno 587 genotipov koruze, od katerih je največ domačih populacij trdink ter iz njih vzgojenih samooplodnih linij z različno stopnjo homozigotnosti. Njen glavni namen je ohraniti živost oz. kalivost hranjenega genskega materiala. Ker ga hranimo na srednjeročni način (pri temp. 4-6 °C, z do 8 % vlage v zrnju), ki zagotavlja ustrežno kalivost približno 20 let, je za dolgoročno ohranjanje živosti genskega materiala, le-tega potrebno kontinuirano obnavljati in razmnoževati na selekcijskem polju z ročno izolacijo in opravevanjem. Z obnavljanjem genotipov poteka istočasno tudi opis in vrednotenje po deskriptorjih IPGRI ter v sklopu drugih projektov še dodatno proučevanje na druge gospodarske lastnosti, pomembne za velik in kakovosten pridelek. Rezultati vrednotenja in proučevanja dokazujejo, da hranimo vreden material, ki bi ga v bodoče bilo potrebno intenzivneje vključiti v žlahtnjenje novih kultivarjev.

Ključne besede: korusa, genska banka, deskriptorji IPGRI, *Hbr* markerji, populacije, linije, tolerantnost na koruzno progavost

ABSTRACT

THE SLOVENIAN MAIZE GENE BANK

The maize gene bank at the Agronomy Department of the Biotechnical Faculty in Ljubljana is one of the oldest and the most comprehensive plant gene banks in Slovenia. The first maize populations were collected in early 1950s. Presently, in our gene bank, there are 587 maize genotypes. Most of the materials represent domestic flint landraces of maize and selected inbreds with different levels of homozygosity. The main objective of our activity is preservation and maintenance of the accessions. The moisture of the stored material (kernels) is 8 % and the storage temperature is 4-6 °C. In order to maintain viability and sufficient amount of seeds, we are permanently multiplying genotypes in our breeding nursery, based on hand isolation and pollination. At the same time, we are also characterising and evaluation the materials according to the IPGRI descriptors. Evaluation of these traits is taking place every year. For the stored gene bank materials it is also important to have data about agronomic and breeding traits, such as yield, kernel quality, and resistance against diseases and pests. Results indicate that our accessions may represent a very useful genetic material for further breeding as well as for direct use.

Key words: maize, gene bank, IPGRI descriptors, *Hbr* markers, populations, inbreds, tolerance to *Exserohilum turcicum*

1 ZAČETKI GENSKÉ BANKE KORUZE

Za lažje razumevanje pomena in začetka osnovanja genske banke koruze na Oddelku za agronomijo Biotehniške fakultete v Ljubljani, moramo poznati določena dejstva glede

začetka gojenja koruze, tako pri nas v Sloveniji, kot drugje po Evropi. Kot mnoge druge kmetijske rastline, katerih gencetri izvirajo iz Amerike, je bila tudi korusa

¹ doc. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za agronomijo, Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

prinešena v Evropo in kasneje v Slovenijo šele po odkritju Amerike leta 1492. Ker izvira iz tropskih krajev srednje Amerike se je zaradi hladnejše klime v Evropi najprej razširila po južnih delih Evrope in severne Afrike, v severnejše dele Evrope pa se je le počasi širila. Tudi v Sloveniji so prve populacije, ki so imele daljšo rastno dobo le redkokdaj pravočasno dozorele. Ker je v Slovenijo kuzuza verjetno prišla po dveh različnih poteh in sicer iz Italije in Turčije (Mikuž, 1961) in se potem širila v hladnejša severnejša in višinska območja, so se s pomočjo naravne selekcije in odbire človeka, predvsem najranejših rastlin, izoblikovale številne domače populacije, prilagojene na dane rastne razmere. Ker je kuzuza izrazita tujeprašnica, ki se oprahuje z vetrom, je selekcija potekala počasneje in selekcijski napredek ni bil tako učinkovit zaradi oprahujevanja odbranih rastlin s cvetnim prahom neodbranih (neželjenih) rastlin. V času uvajanja in širjenja kuzuze po Sloveniji so bili kmetje, ki so sejali kuzuzo, z namenom, da se kuzuza čimprej razširi po ostali Sloveniji, celo oproščeni plačila desetine. V Bleiweisovih "Novicah" so priporočali sejati zrnje storžev, ki najprej dozori in da naj take storže odberejo že v jeseni na njivi. Da bi ljudje spoznali različne tipe kuzuze, je bil leta 1848 na kmetijski razstavi v Ljubljani razstavljen bogat sortiment najrazličnejših kuzoz z

različno dolgo rastno dobo. Razstavljene so bile debelozrnate in drobnozrnate kuzuze različnih oblik in barv zrnja, od "bele, rumene, rdeče, škrlatne, začrnele in pikaste" (Mikuž, 1961). Torej je bilo v Sloveniji že takrat precej različnih kuzoznih tipov, ki so se verjetno razvile iz genetsko zelo različnih populacij. Zaradi te genetske raznolikosti so se bile sposobne prilagoditi našim različnim in manj ugodnim rastnim razmeram.

Začetki zbiranja in proučevanja domačih populacij kuzuze so se začeli v začetku 50. let prejšnjega stoletja, kmalu po ustanovitvi Biotehniške fakultete (takrat Agronomske fakultete v Ljubljani) leta 1947, ko je prof. Mikuž s svojo ekipo začel zbirati in proučevati domače populacije kuzuze. Glavni namen zbiranja je bil, da se domače populacije ohrani in zavaruje pred skrižanjem s tujimi hibridi kuzuze. Takrat so se namreč začeli v Sloveniji širiti prvi hibridi kuzuze, predvsem poznejše ameriške zobanke. Če se takrat domače populacije ne bi zavarovale in shranile v genski banki, bi se skrižale s tujimi hibridi in izgubile svoje prvotne lastnosti, kot sta ranost, kakovost in prilagodljivost na domače rastne razmere, ki so jih z več stoletnim uvajanjem in prilagajanjem našim rastnim razmeram pridobile po vnosu kuzuze v Slovenijo.

2 DELO NA GENSKI BANKI KORUZE

Glavni namen dela na genski banki kuzuze je ohranjanje živosti oz. kalivosti semena vseh hranjenih vzorcev. Vsa dela in naloge potekajo v skladu z dolgoročnim programom dela na genski banki kuzuze, ki obsega pet glavnih aktivnosti:

- vzdrževanje in ohranjanje že obstoječe zbirke;
- vsakoletno postopno in sistematično obnavljanje in razmnoževanje hranjenih vzorcev;

- opisi in vrednotenje vzorcev po deskriptorjih IPGRI;
- sprotno dopolnjevanje že obstoječe zbirke z novimi vzorci, pridobljenimi na terenu;
- proučevanje genskega materiala na najpomembnejše gospodarske lastnosti.

2.1 Vzdrževanje in ohranjanje že obstoječe zbirke

Ves genski material kuzuze je v skladu s priporočili IPGRI-ja shranjen na način, ki omogoča srednjeročno shranjevanje semena

pri temperaturi 4–6 °C, neprodušno zaprt z dodatkom dehidrogela, z do 8 % vlage v zrnju. Trenutno imamo genski material koruze shranjen v hladilnih omarah, v letu 2012 pa načrtujemo premestitev vsega genskega materiala v zato namenjen hladilni prostor. Razmere, kjer je genski material hranjen, ves čas kontroliramo glede temperature, vlage v zrnju, po potrebi menjamo dehidrogel in seme vzorcev dosušujemo ter kontroliramo kalivost semena, ki nam je potem, poleg količine semena, osnova za vsakoletno obnavljanje semena.

2.2 Vsakoletno obnavljanje in razmnoževanje hranjenih vzorcev

Za vzdrževanje kalivosti semena oz. živosti genskega materiala je potrebno kontinuirano in sistematično vsakoletno obnavljanje semena. Ker vzorce koruze hranimo na srednjeročni način hranjenja, ki naj bi zagotavljal zadovoljivo kalivost do 20 let, planiramo, da vsako leto obnovimo približno 5 % vseh hranjenih genotipov v genski banki koruze. Ker je ohranjanje živosti genskega materiala najvažnejši cilj vsake genske banke, ima ta aktivnost vsako leto prednost pred vsemi drugimi.

Razmnoževanje genskega materiala v naravni izolaciji je praktično nemogoče zaradi velikega števila genotipov v genski banki koruze in glede na specifičnost opravevanja. Korusa je namreč izrazita tujeprašnica, za katero je potrebna naravna izolacija vsaj 200 m. Zato potekata razmnoževanje in obnavljanje semena z umetno ročno izolacijo in opravevanjem na selekcijskem polju, kar je povezano z velikimi finančnimi stroški. Razmnoževanje poteka na selekcijskem polju Biotehniške fakultete v Jablah pri Trzinu (Slika 1). Zaradi specifičnosti materiala, ki se deli na populacije oz. sorte in na samooplodne

linije, moramo vsak del materiala razmnoževati na drugačen način. Pri populacijah koruze, ki so sestavljene iz več različnih genotipov in imajo širšo genetsko strukturo, je potrebno z razmnoževanjem preko več generacij to strukturo obdržati. To bi bilo najzanesljivejše v naravni izolaciji, kjer se vse rastline (genotipi) med seboj po naključju prosto oprašijo. Ker se to zaradi velikega števila vzorcev v genski banki in velikih površin, ki so potrebne za tak način razmnoževanja, običajno ne izvaja, se moramo naravni oplodnji čimbolj približati z ročnim opravevanjem. Zato je potrebno za razmnoževanje populacij za medsebojno oplodnjo vzeti mešanico cvetnega prahu z najmanj 50 rastlin ene populacije in z njim oprašiti vse rastline te populacije, ki smo jim pred tem izolirali ženske cvetove. Čim manjše število rastlin za opravevanje ali izvor cvetnega prahu imamo na voljo, večja je verjetnost, da se zoži genetska struktura, da pride do izgube določenih genov ali se spremenijo bistvene lastnosti določene populacije.

Drugačen način obnavljanja semena poteka pri samooplodnih linijah. Ker je korusa enodomna rastlina z ločenimi moškimi (♂) in ženskimi (♀) cvetovi, je za samooplodnjo potrebno izolirati vsak cvet posebej. Da preprečimo kakršnokoli tujo oz. nezaželjeno opravevanje moramo svilo oz. storž (♀ cvet) izolirati preden izbije svila iz ličja storža (Slika 2). Metlico (♂ cvet) pa izoliramo 24 ur pred opravevanjem s tem cvetnim prahom. Cvetni prah koruze je v naravnih razmerah namreč kaljiv 24 ur, tako da v tem času kalivost letga propade. Vsako tako izolirano rastlino potem ročno oprašimo z lastnim cvetnim prahom, tako da prenesemo cvetni prah z metlice na svilo iste rastline (Sliki 3 in 4).



Slika 1: Razmnoževanje genotipov korusze na selekcijskem polju v Jablah.



Slika 2: Izoliranje ♀ cveta – pravočasno, preden se svila pojavi iz ličja.



Slika 3: Ročno opraševanje predhodno izoliranega cveta korusze.



Slika 4: Oprašen in izoliran cvet.

2.3 Opisi in vrednotenje genskega materiala korusze

Vzporedno z razmnoževanjem in obnavljanjem semena posejanih genotipov vsa leta izvajamo tudi opise po deskriptorjih IPGRI – International Plant Genetic Resources Institute (IBPGR, 1991). To so mednarodni deskriptorji, ki so enotni zaradi primerjave in izmenjave genskega materiala, predlagani že leta 1991 s strani CIMMYT-a (El Centro Internacional de Mejoramiento del Maíz y del Trigo, Mexico City) in IBPGR-ja (International Board for Plant Genetic Resources, Rim). To je poleg razmnoževanja druga najpomembnejša aktivnost pri genski banki korusze, saj nam le opisani

genotipi dajo informacijo o vrednosti hranjenega genskega materiala. Poleg osnovnih »passport« podatkov, ki poleg imena, datuma in kraja nabiranja zajemajo še druge osnovne informacije o genotipih, v času rastle dobe ter po sprvilu v laboratoriju pridobivamo še podatke za preliminarne (osnovne) opise ter za nadaljnje (podrobnejše) opise oz. vrednotenje. Pri vsakem genotipu je potrebno opise in meritve izvesti na 20 rastlinah oz. storžih. Vsi ti opisi in meritve zahtevajo ogromno dodatnega dela, saj je samo pri osnovnih opisih potrebno ovrednotiti 20 morfoloških lastnosti rastlin oz. storžev. Pri podrobnejših opisih (nadaljnja karakterizacija in evalvacija) pa je potrebno dodatno opisati še 35 lastnosti. Če pri osnovnih opisih zadostuje npr.

samo višina rastline, je pri nadaljnjem vrednotenju potrebno izmeriti še dolžino metlice, dolžino peclja in razrast metlice, določiti število primarnih, sekundarnih in terciarnih stranskih metlic; ali npr. pri storžih, za osnovne opise zadostuje samo barva zrnja, pri nadaljnjih opisih pa je poleg barve zrnja potrebno določiti še barvo perikarpa, alevrona in endosperma, od katerih je odvisna barva zrnja ter dimenzije zrna (dolžina, širina in debelina). Celoten seznam vseh deskriptorjev je naveden v brošuri *Descriptors for maize* (IBPGR, 1991 – original v angleškem jeziku) in v diplomski nalogi (Rogelj, 2004 – v slovenskem jeziku). Čeprav to zahteva ogromno dodatnega dela ter dodatna sredstva, saj dosedanje financiranje zadostuje le za normalno vzdrževanje in obnavljanje genskega materiala koruze, nam je do sedaj uspelo po deskriptorjih IPGRI opisati in izvrednotiti skoraj 380 genotipov koruze, predvsem zaradi tega, da nam samo za opise in vrednotenje ne bi bilo potrebno ponovno sejati tega genskega materiala. Opravljena dela na genski banki koruze so prikazana v vsakoletnih poročilih (Luthar in sod., 1996–2010; Luthar in sod., 2011; Rozman in sod., 1993–95).

2.4 Dopolnjevanje – kolekcioniranje novih populacij koruze

Obstoječo gensko banko vsa leta tudi dopolnjujemo z zbiranjem še razširjenih domačih populacij koruze po vsej Sloveniji. Ker dodatnega namenskega financiranja za ta namen v okviru genske banke ni bilo, smo kolekcioniranje domačih sort organizirali na razne druge načine. V letih 1980-81 smo s pomočjo študentov v okviru dveh diplomskih nalog (Koželj, 1982; Košir, 1982) na območju Primorske pridobili 25 novih populacij koruze, tako v višinskih (okolica Bovca in Tolmina) kot v nižinskih predelih (Vipava, Ajdovščina). V letu 1982 smo kot rezultat udeležbe na kongresu in osebne dogovora (3. kolokvij iz

genetike in žlahtnjenja rastlin, Ljubljana, 1980) iz Črne gore pridobili 26 zelo ranih in kakovostnih (trdink) domačih črnogorskih populacij. Po dosedanjih informacij teh populacij sedaj v Črni gori ni več. V letu 1983–84 smo s pomočjo dijakov na takratni Srednji mlekarski in kmetijski šoli v Čirčah (Kranj) iz okolice Kranja pridobili še 12 novih populacij. V obdobju 1986–88 smo v okviru občinske raziskovalne naloge »Načrtno zbiranje in ovrednotenje domačih sort koruze na področju občin Radovljica in Jesenice ter uvajanje izboljšanih sort za pridelovanje zrnja in silažne koruze« (financiranje občinskih raziskovalnih skupnosti) na območju Gorenjske, predvsem Bohinja, pridobili 40 novih populacij. Z ožjega območja Štajerske (okolica Vojnika in Laškega) smo v obdobju 1989–90 s prizadevnostjo študenta agronomije g. Oprčkal Petra pridobili dodatnih 14 populacij. Zadnje večje organizirano kolekcioniranje smo izvedli v letih 2009–10 v okviru mednarodnega projekta SEEDNet »Collecting local landraces of maize and cereals (wheat, barley, rye, oat, millet and buckwheat) in South Eastern Europe (2009–2010)«, ki je bil financiran s strani Švedske genske banke in koordiniran pod vodstvom Eve Thörn. V tem času smo iz različnih območij Slovenije, tudi iz Prekmurja, kjer naj bi bilo intenzivno kmetijstvo brez domačih sort, pridobili skupno še 71 različnih domačih populacij. Tako imamo trenutno v genski banki shranjeno skupno 587 genotipov koruze (Pregl. 1), od tega je največ domačih populacij in linij; tuji genotipi, ki smo jih, razen črnogorskih, pridobili pred več kot 45 leti, pa so iz Romunije, bivše Jugoslavije, Nemčije, Italije in ZDA. Zbirka se še vedno stalno dopolnjuje s priložnostnim nabiranjem in pridobivanjem novih populacij (Rozman, 2009a).

Preglednica 1: Število genotipov koruze, ki so hranjeni v genski banki koruze na Oddelku za agronomijo Biotehniške fakultete v Ljubljani.

Vrsta genotipa	Izvor		Skupaj
	Domače	Tuje	
Populacije	270	71	341
Linije	155	91	246
Skupaj	425	162	587

3 PROUČEVANJE NA GOSPODARSKO NAJPOMEMBNEJŠE LASTNOSTI

Za hranjen genski material je izrednega pomena tudi, da ga poznamo oz. proučimo tudi na druge gospodarsko pomembne lastnosti. Poleg samega vzdrževanja in ohranjanja genskega materiala je cilj tudi, da ga koristno uporabimo v žlahtnjenju rastlin za vzgojo novih in boljših kultivarjev kmetijskih rastlin. Zato se naš genski material stalno tudi proučuje z namenom vključevanja v žlahtnjenje. Proučevanje genskega materiala se je začelo že ob samem začetku osnovanja genske banke koruze s proučevanjem domačih populacij, tudi z njihovim medsebojnim križanjem (Mikuž, 1961), njihovimi morfološkimi opisi (Petrič, 1973) in nadaljevalo z vzgojo samooplodnih linij v smeri ranosti, kakovosti, prilagodljivosti in odpornosti na najpomembnejše bolezni in škodljivce. Predvsem na začetku je bil poudarek na ranosti in kakovosti (trdinke), saj so nekatere populacije bile izredno kakovostne glede vsebnosti beljakovin in olja (Pregl. 2), iz katerih so bile kasneje s samooplodnjo vzgojene številne domače linije, ki se

odlikujejo po kakovostnem zrnju (trdinke), ranosti ter vsebnosti beljakovin in olja (Pregl. 3; Rozman, 1996). Sledilo je preizkušanje kombinacijskih vrednosti oz. kombinacijskih sposobnosti vzgojenih linij na pridelek (Krivic in Matičič, 1967; Matičič, 1974) ter proučevanje odpornosti na fuzarioze na storžih z umetnim okuževanjem (Milevoj in Matičič, 1980). S proučevanjem v sklopu doktorske disertacije (Matičič, 1974) so ugotovili, da ima linija L-10 od vseh proučevanih linij najboljšo kombinacijsko sposobnost za pridelek, kar se potrjuje še danes.

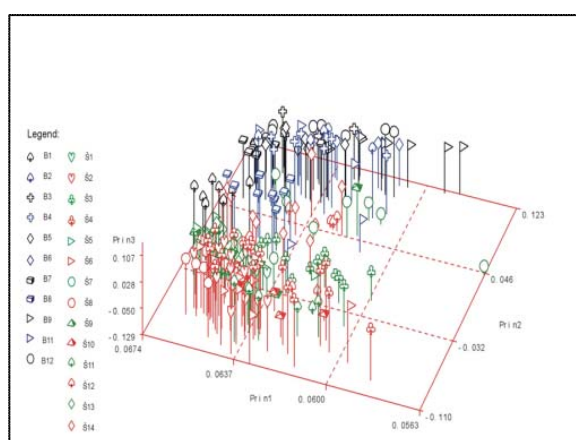
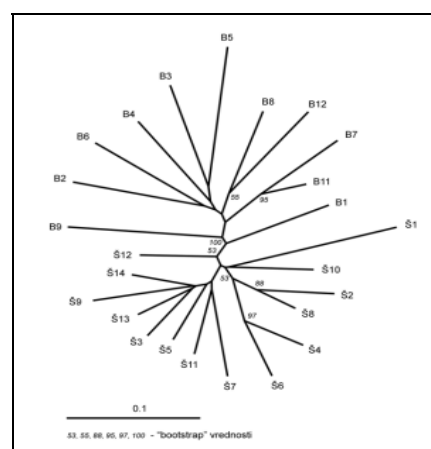
Z namenom proučiti genetsko raznolikost med različnimi skupinami populacij smo v proučevanje, poleg morfoloških lastnosti, vključili še molekulske markerje *Hbr* (Rozman in sod., 2007; Kavar in sod., 2007a; Kavar in sod., 2007b). Na podlagi obeh kriterijev smo ugotovili, da se populacije nabrane v Bohinju bistveno razlikujejo od populacij, nabranih na Štajerskem (Sliki 5 in 6).

Preglednica 2: Vsebnost olja in beljakovin v nekaterih populacijah v genski banki koruze.

Populacija	% olja	% beljakovin
SP-1	5,23	12,54
SP-2	4,10	12,07
SP-3	5,36	10,55
SP-4	4,71	11,93
SP-5	4,31	13,66
SP-6	5,04	12,50
SP-7	5,03	12,53
SP-8	5,70	12,50
SP-9	4,74	9,92
SP-10	5,62	9,18

Preglednica 3: Ranost in kakovostne lastnosti zrnja nekaterih linij v genski banki koruze.

Linija	Tip zrna	Število dni od vznika do		% olja	% beljakovin
		50 %			
		metliččenja	zrelosti		
Lj-1	T	38	100	5,3	14,2
Lj-2	T	44	100	5,6	13,7
Lj-3	T	46	100	5,1	12,0
Lj-4	T	50	110	7,0	12,2
Lj-5	T	52	112	5,1	11,5
Lj-6	T	54	112	5,5	11,2
Lj-7	PT	55	113	5,0	13,0
Lj-8	PT	56	114	6,0	16,5
Lj-9	T	56	117	6,4	15,5
Lj-10	T	57	118	5,0	14,8
Lj-11	T	57	120	5,0	11,5
Lj-12	Z	59	120	5,0	12,2

**Slika 5:** Porazdelitev populacij glede na izvor na osnovi morfoloških lastnosti (B – Bohinj Š – Štajerska).**Slika 6:** Porazdelitev populacij glede na izvor na osnovi *Hbr* markerjev (B – Bohinj; Š – Štajerska).

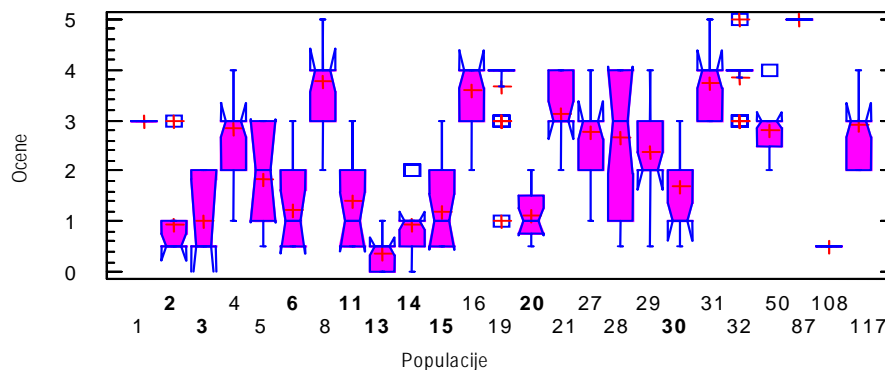
V sklopu temeljnega raziskovalnega projekta pri MZT »Tolerantnost domačega genskega materiala koruze na nekatere patogene« v letih 1997–99 ter programske skupine v letih 2000–2004 smo del genskega materiala koruze sistematično proučevali na tolerantnost na fuzariozo (*Fusarium subglutinans* /Wollenweb. et Reink./ PE Nelson, TA Toussoun et Marasas, *FS*) in koruzno progavost (*Exserohilum turcicum* /Pass./ KJ Leonard et EG Suggs, *ET*) z umetno okužbo v naravnih poljskih razmerah. Ugotovili smo, da se v genski banki nahajajo določeni genotipi, ki vsebujejo gene za odpornost tako na glivo *FS* kot na *ET*. Rezultati raziskav so bili objavljeni v letnih poročilih (Rozman in sod.,

1998a, 1999a, 1999b), na simpozijih (Rozman, 2001, 2003a, 2003b, 2003c, 2004, 2007, 2009b; Rozman in sod., 1998b, 1998c, 2000, 2001) ter v člankih (Rozman, 1998; Modic in Rozman, 2002; Rozman in Kragl, 2003). Na slikah 7 in 8 je prikazan del populacij in del linij, ki so bile umetno okužene z glivo *ET*. Pri obeh skupinah genotipov se odraža velika genetska variabilnost glede tolerantnosti na omenjeno glivo (Modic in Rozman, 2002; Rozman in Kragl, 2003).

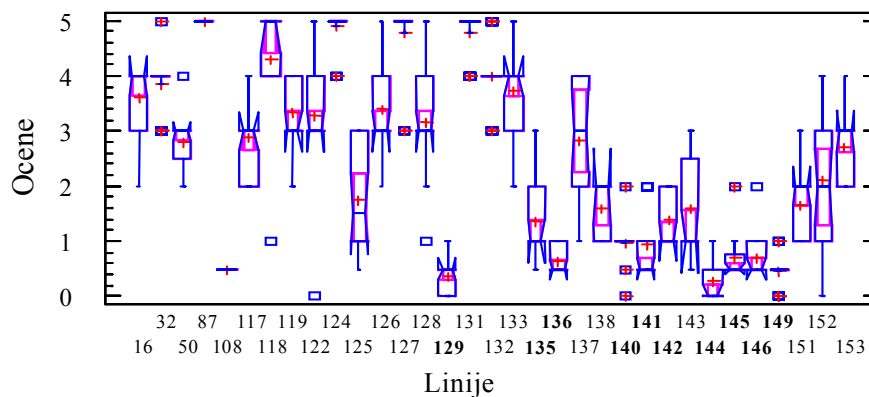
Na osnovi teh rezultatov smo naredili nekaj novih križancev med linijami, tolerantnimi na to glivo in občutljivimi, a z dobrimi drugimi agronomskimi lastnostmi. Z večletno

samooplodnjo, umetno okužbo in selekcijo tolerantnih genotipov smo samo iz enega križanca po F6 (S5) generacijah v letu 2004 vzgojili 52 različnih družin s precejšnjo

stopnjo homozigotnosti (nad 95 %) z najmanj eno rastlino, ki je vsebovala gen *Ht* za odpornost proti *ET* (Pregl. 4).



Slika 7: Odpornost nekaterih populacij koruze iz genske banke na koruzno progavost, prikazana z okvirji z ročaji s Kruskal-Wallisovim testom (Modic in Rozman, 2002).



Slika 8: Odpornost nekaterih linij koruze iz genske banke na koruzno progavost, prikazana z okvirji z ročaji s Kruskal-Wallisovim testom (Rozman in Kragl, 2003).

Preglednica 4: Število samooplojenih družin z najmanj eno rastlino, ki vsebuje gen za odpornost na glivo *Exserohilum turcicum* po F6 (S5) generaciji.

Leto	Generacija	Skupno število proučevanih družin	Število družin z R/RS rastlinami	Skupno število samooplojenih družin	Število samooplojenih R/RS družin
2000	F2 (S1)	100	64	91	64
2001	F3 (S2)	273	188	91	74
2002	F4 (S3)	88	56	57	40
2003	F5 (S4)	60	34	58	29
2004	F6 (S5)	76	59	74	52

V letu 2004 smo po metodiki nepopolnega dialelnega križanja z načrtnim križanjem

tolerantnejših linij na fuzarioze storžev vzgojili 50 novih križancev. Žal smo, zaradi

prenehanja dotoka sredstev iz programske skupine te raziskave leta 2004, na tej stopnji morali zaključiti. Del tega programa nadaljujemo v sklopu dvoletnega CRP projekta V4-1072 »Kombinacijske sposobnosti genotipov koruze iz genske banke na gospodarsko pomembne lastnosti«, kjer

proučujemo kombinacijske sposobnosti 50 novih križancev, vzgojenih v letu 2004 na gospodarsko najpomembnejše lastnosti, kot so pridelek, ranost in kakovost, s poudarkom na tolerantnosti na fuzarioze na storžih ter fotosintetske lastnosti.

4 PRAKTIČNI REZULTATI DELA NA GENSKI BANKI IN ŽLAHTNJENJU KORUZE

Poleg tega, da je v genski banki ohranjen skoraj ves genski material, nabran tudi že pred več kot 50. leti, smo kljub temu, da v zadnjih 20 letih ni bilo nobenega financiranja za namene žlahtnjenja oz. vzgoje novih kultivarjev koruze iz domačega genskega materiala, vzgojili nekaj novih domačih hibridov koruze z oznako Lj-.

Že leta 1973 je bil vzgojen in vpisan v sortno listo prvi slovenski hibrid Lj-275t, vzgojen iz štirih domačih linij trdink. Hibrid je zelo kakovostna čista trdinka, je na seznamu avtohtonih sort, ga še razmnožujemo in je v prodaji. Drugi slovenski hibrid Lj-280 je bil potrjen leta 1976, je poltrdinka, za katerega vzdržujemo vse štiri starševske linije in oba starševska enojna križanca. V letu 1997 je bil na podlagi rezultatov večletnega preizkušanja

v poskusih na Gorenjskem (Raziskovalna naloga financirana s strani občin Bled in Jesenice) vpisan v sortno listo hibrid Lj-180, ranjša poltrdinka. Tudi ta hibrid je na seznamu avtohtonih sort, ki je tudi v prodaji. V letu 2008 je bil vpisan v sortno listo hibrid sladke koruze »Zarja«, zelo okusen hibrid za uporabo v mlečni zrelosti. Zadnji hibrid vpisan v sortno listo leta 2011 je hibrid z zelo kakovostnim poltrdim belim zrnjem, namenjen predvsem za ljudsko prehrano.

Prizadevanja v tej smeri se nadaljujejo, v postopku vpisa v sortno listo je nov hibrid koruze pokovke. O rezultatih dvoletnega preizkušanja 50 novih križancev v okviru projekta CRP pa bomo poročali po zaključku projekta v končnem poročilu in v objavljenih člankih.

5 SKLEPI

Najnужnejše aktivnosti na genski banki koruze potekajo v skladu z dolgoročnim programom dela. Genski material se hrani in obnavlja na način, ki zagotavlja dolgoročno kontinuirano živost genskega materiala. Po potrebi se seme razmnožuje oz. obnavlja, ter v okviru materialnih sredstev opisuje in vrednoti po deskriptorjih IPGRI. Na druge lastnosti, pomembne za žlahtnjenje novih kultivarjev, je

proučen le del genskega materiala. Rezultati proučevanja so vzpodbudni, saj nakazujejo, da se v genskem materialu nahajajo določeni genotipi koruze z nekaterimi pomembnimi lastnostmi za vzgojo novih kultivarjev. Proučevanja v tej smeri bi bilo nujno potrebno sistematično nadaljevati, primerne genotipe pa intenzivneje izkoriščati za nadaljnje žlahtniteljske namene.

6 ZAHVALA

Zahvaljujem se Fitosanitarni upravi MKGP-a RS za namensko dolgoletno financiranje že od leta 1993, ko še formalno ni bila ustanovljena Slovenska nacionalna zbirka kmetijskih rastlin; MZVT za financiranje projekta J4-8624 v letih 1997-99; Občinskim raziskovalnim skupnostim takratnih občin Bled in Jesenice za financiranje projekta v letih 1986-89; univ. dipl. ing. agr. Koželj Janezu in univ. dipl. ing. agr. Košir Janezu, ki sta v okviru svojih diplomskih nalog takrat nabrala domače populacije po Primorski; univ. dipl. ing. agr. Oprčkal Petru, ki je v letih 1989-90 poskrbel za domače populacije v okolici Vojnika in Laškega; financerjem projekta SEEDNet iz Švedske v letih 2009-10, da sem lahko poskrbel za nabiranje, upam da ne, še zadnjih populacij koruze po Sloveniji; vsem,

ki so kakorkoli pomagali ali sodelovali pri aktivnostih genske banke koruze, predvsem pa številnim študentom, ki so vsako leto v sklopu svojih diplomskih nalog, prakse ali preko študentskega servisa zavzeto in z zanimanjem sodelovali pri križanju in raziskavah genskega materiala koruze.

Genske banke koruze na Oddelku za agronomijo BF pa vsekakor ne bi bilo, če vzorcev, ki jih hranimo v genski banki koruze, ne bi dobili pri lastnikih oz. pridelovalcih domačih sort, zato gre posebna zahvala vsem številnim neimenovanim pridelovalcem, ki s svojim dolgoletnim pridelovanjem in vzdrževanjem skrbijo, da se ta material ne izgubi in so bili pripravljeni odstopiti del svojega pridelka za hrambo v genski banki.

7 VIRI

- IBPGR 1991. Descriptors for maize. International Maize and Wheat Improvement Center, Mexico City/International Board for Plant Genetic Resources, Rome, 88 s.
- Kavar T., Meglič V., Rozman L. 2007a. Diversity of Slovenian maize (*Zea mays* L.) populations by *Hbr* (MITE) markers and morphological traits. *Russ. j. genet.*, 43, 9: 989-995.
- Kavar T., Rozman L., Meglič V. 2007b. Diversity of Slovene maize landraces. Konferencija o izvornim pasminama i sortama kao dijelu prirodne i kulturne baštine - pod pokroviteljstvom Vlade Republike Hrvatske, knjiga sažetaka, Šibenik, November 13th-16th 2007, Zagreb, 126-127.
- Košir J. 1982. Prispevek k proučevanju zbranih sortnih populacij domače koruze na Primorskem. Diplomatska naloga, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Ljubljana, 76 s.
- Koželj J. 1982. Prispevek k zbiranju in proučevanju še razširjenih domačih sort in populacij koruze na Primorskem. Diplomatska naloga, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Ljubljana, 110 s.
- Krivic T., Matičič A. 1967. Vrednost inbridiranih linij domače koruze za žlahtnjenje hibridov. Zbornik BF Univ. Ljubljana, Kmet., 14: 193-202.
- Luthar Z., Rozman L., Osterc G., Čop J. 2011. Nacionalni program "Slovenska rastlinska genska banka". Končno poročilo o delu in finančno ovrednotenje za leto 2011. Ljubljana, Biotehniška fakulteta Oddelek za agronomijo.
- Luthar Z., Rozman L., Štampar F., Čop J. 1996-2010. Nacionalni program "Slovenska rastlinska genska banka". Končna poročila o delu in finančno ovrednotenje za leta 1996-2010. Ljubljana, Biotehniška fakulteta Oddelek za agronomijo.
- Matičič A. 1974. Ugotavljanje testerjev za izvrednotenje kombinacijske vrednosti zgodnejših linij trdink (*Zea mays* convar. *vulgaris* Koer. syn. *Zea mays indurata* Sturt.). Dokt. disert., Biotehniška fakulteta, Ljubljana, 119 s.
- Mikuž F. 1961. Koruza v Sloveniji in njeni hibridi. ČZP Ljudska pravica, Ljubljana, 100 s.
- Milevoj L., Matičič A. 1980. Preučevanje odpornosti domačih Lj-linij in hibridov trde ter poltrde koruze na fuzarioze. *Sod. kmetijstvo*, 13, 11: 427-429.
- Modic T., Rozman L. 2002. Proučevanje odpornosti domačih populacij koruze (*Zea mays* L.) na koruzno progavost (*Exserohilum turcicum*/Pass./K.J. Leonard et E.G. Suggs). *Zb. Bioteh. fak. Univ. Ljubl., Kmet.*, 79, 1: 143-158.

- Petrič M. 1973. Razvojne in morfološke značilnosti slovenskih sort koruze trdinke (*Zea mays* conv. *vulgaris* Koern., Grebensc.), Zbornik BF Univ. v Ljubljani, 21: 101-118.
- Rogelj A. 2004. Opis nekaterih domačih populacij koruze (*Zea mays* L.) v skladu z deskriptorji IPGRI. Diplomsko delo, univerzitetni študij. Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Ljubljana, 71 s.
- Rozman L. 1996. Izboljšanje sortimenta koruze v Sloveniji z intenzivnejšim izkoriščanjem domačega genskega materiala. Zbornik predavanj »Žlahtnjenje rastlin in semenarstvo v Sloveniji«, strokovno posvetovanje, 7. marec 1996, Cankarjev dom, Ljubljana, 49-55.
- Rozman L. 1998. Genska banka koruze. *Sodob. kmet.*, 31, 2, 71-73.
- Rozman L. 2001. Precise evaluation of the maize gene bank material and the possibilities of its use - the Slovenian example. Proceeding of XVIth EUCARPIA Section Genetic Resources Workshop: Broad variation and precise characterization - limitation for the future, Poznań, Poland, May 16-20 2001, 262-263.
- Rozman L. 2003a. Genetic improvement of resistance against northern corn leaf blight (*Exserohilum turcicum*). XIX EUCARPIA International conference on maize and sorghum, Genomics and breeding, Barcelona, Spain, June 4-7 2003, 70.
- Rozman L. 2003b. Možnosti in pomen žlahtnjenja rastlin na odpornost proti boleznim (primer koruzne progavosti /*Exserohilum turcicum*/). Zbornik predavanj in referatov 6. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Zreče, 4.-6. marec 2003, Ljubljana, 457-462.
- Rozman L. 2003c. Žlahtnjenje koruze v Sloveniji. Zbornik posveta »Ohranjanje slovenskih in avtohtonih sort kmetijskih rastlin v pridelavi ter možnosti ekološkega semenarstva«, Gornja Radgona, 26. avgust 2003, Ljubljana, 22-24.
- Rozman L. 2004. The use of indigenous germplasm in maize breeding. Proceedings of the 17th EUCARPIA General Congress: Genetic variation for plant breeding, 8-11 September 2004, Tulln – Austria, Vienna, 399-402.
- Rozman L. 2007. Rezultati večletnega proučevanja genskega materiala koruze na odpornost proti glivičnim boleznim ter možnosti njegove uporabe v žlahtnjenju rastlin. Zbornik predavanj in referatov 8. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Radenci, 6.-7. marec 2007, Ljubljana, 285-290.
- Rozman L. 2009a. Domače sorte in vloga genskih bank. *Kmečki glas*, 2009, 66, 47: 8.
- Rozman L. 2009b. The description of some domestic maize (*Zea mays* L.) populations from Primorska region using IPGRI descriptors. 19th EUCARPIA Conference, Genetic Resources Section, May 26th–29th 2009, Ljubljana, Slovenia, Book of abstracts. Ljubljana, 81.
- Rozman L., Kavarič T., Meglič V. 2007. Ocena dveh različnih skupin slovenskih populacij koruze s pomočjo morfoloških lastnosti in *Hbr* (MITE) markerjev. *Acta agric. Slov.* 89, 1, 233-243.
- Rozman L., Kragl M. 2003. Proučevanje odpornosti domačih linij koruze (*Zea mays* L.) na koruzno progavost (*Exserohilum turcicum* /Pass./K.J. Leonard et E.G. Suggs). *Zb. Bioteh. fak. Univ. Ljubl., Kmet.* (1990), 81, 1, 25-38.
- Rozman L., Matičič A., Spanring J. 1993-1995. Genska banka koruze. Poročila o delu za leta 1993-1995. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo.
- Rozman L., Milevoj L., Celar F.A. 1998b. Tolerance of domestic maize gene material to some pathogens. XV EUCARPIA General Congress: Genetics and breeding for crop quality and resistance, Abstract book, September 20-25 1998, Viterbo, Italy, 13.
- Rozman L., Milevoj L., Celar F.A., Valič N. 1998c. Proučevanje odpornosti domačih linij in populacij koruze na glivične bolezni. Zbornik simpozija "Novi izzivi v poljedelstvu", Dobrna, 3.-4. dec. 1998, 219-224.
- Rozman L., Milevoj L., Celar F.A., Valič N. 2000. Tolerance of Lj-lines and Lj-populations of maize to stalk and ear rot disease. 3rd International Crop Science Congress 2000, Hamburg, 17-22 August 2000, Book of abstracts, Hamburg, 101.
- Rozman L., Milevoj L., Celar F.A., Valič N., Kocjan Ačko D. 1998a. Tolerantnost domačega genskega materiala koruze na nekatere patogene. Letno poročilo o rezultatih raziskovalnega projekta v letu 1997. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, 1 zv.
- Rozman L., Milevoj L., Celar F.A., Valič N., Kocjan Ačko D. 1999a. Tolerantnost domačega genskega materiala koruze na nekatere patogene. Letno poročilo o rezultatih raziskovalnega projekta v letu 1998. Ljubljana, Biotehniška fak., Odd. za agronomijo, 1 zv.
- Rozman L., Milevoj L., Celar F.A., Valič N., Kocjan Ačko D. 1999b. Tolerantnost domačega genskega materiala koruze na nekatere patogene. Zaključno poročilo o rezultatih raziskovalnega projekta v letu 1999. Ljubljana, Biotehniška fak., Odd. za agronomijo, 1 zv.

Ludvik ROZMAN

Rozman L., Palaveršič B., Milevoj L., Vragolović A., Valič N. 2001. Tolerantnost domačih kultivarjev koruze na stebelno trohnobo. Zbornik predavanj in

referatov 5. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Čatež ob Savi, 6.-8. marec 2001, Ljubljana, 451-457.

Agrovoc descriptors: malus, pyrus, gene banks, collections, biodiversity, genetic resources, natural resources, rootstocks, data collection, varieties, organic acids, metabolites, sugars, proximate composition, disease resistance, pest resistance

Agris category code: F30

Genska banka sadnih rastlin: naravna zbirka različnih sladkorjev in kislin v jabolkih

Gregor OSTERC¹ in Franci ŠTAMPAR¹

Received November 05, 2012; accepted November 30, 2012.

Delo je prispelo 05. novembra 2012, sprejeto 30. novembra 2012.

IZVLEČEK

V okviru "Nacionalnega programa genske banke kulturnih rastlin" smo v Kartuziji Pleterje zasadili sadovnjak, kjer zbiramo različne stare sorte jablan in hrušk. Z zasajanjem sadovnjaka smo začeli leta 1994, trenutno raste v sadovnjaku 119 različnih sort jablan ter 44 različnih sort hrušk. Drevesa so cepljena na ustrezne podlage in pri vsaki sorti je posajenih pet dreves skupaj. Varstvo pred boleznimi in škodljivci poteka v zadnjih letih po programu biološkega varstva rastlin, tako da je mogoče zelo hitro oceniti občutljivost posameznih sort za okužbo z različnimi boleznimi in škodljivci. V članku smo zbrali podatke za 100 različnih sort jablan. Vsebnost sladkorjev v jabolkih je tesno povezana s časom zorenja jablan. V zgodnjih sortah jablan smo tako izmerili največ fruktoze, 64 g/kg plodu, vsebnost ostalih sladkorjev je bila precej manjša. Pri srednje zgodnjih sortah se je vsebnost saharoze povečala iz 24,6 g/kg, kolikor je znašala pri zgodnjih sortah, na 38,5 g/kg ter srednje poznih sortah na 37,6 g/kg. Pri poznih sortah pa je spet prevladovala fruktoza s 70,3 g/kg plodov. Od kislin je v plodovih ne glede na čas obiranja prevladovala jabolčna kislina. Največ, 4 g/kg plodov, smo je izmerili v plodovih zgodaj zorečih sort jablan, 3 g/kg pa v pozno zorečih sortah. V plodovih srednje zgodaj zorečih ter srednje pozno zorečih sort smo namerili manj kot 3 g jabolčne kisline/kg plodov.

Ključne besede: *Malus × domestica*, organske kisline, sladkorji, primarni metaboliti

ABSTRACT

GENE BANK OF FRUIT PLANTS: A NATURAL COLLECTION OF DIFFERENT SUGARS AND ACIDS IN APPLES

The fruit plantation was made in monastery Karthusia Pleterje financed by the "National program of the gene bank of cultivated plants". Different apple and pear cultivars were brought together in this plantation. The plantation was started in 1994, 119 different apple cultivars and 44 different pear cultivars are growing there at the moment. Trees were grafted on the proper rootstocks and five trees were planted together for each cultivar. The sensitivity of different cultivars against diseases and pests can be observed due the biological protection against pests and diseases, which is carried out in the plantation. The data, which are demonstrated in this manuscript were collected for 100 different apple cultivars. The sugar concentrations in apples tightly corresponded with the ripening time. The concentration of fructose was with 64 g/kg fruit the highest in early ripening cultivars, the content of other sugars was lower. The middle-early ripening cultivars showed an increase of the sucrose content from 24.6 g/kg, which was the sucrose content in early ripening cultivars to 38.5 g/kg, the concentration in middle-late ripening cultivars was 37.6 g/kg. The fructose was with 70.3 g/kg the most present sugar again in late ripening cultivars. The most present organic acid in apple fruits was regardless the ripening time the malic acid. The highest concentration, 4 g/kg of malic acid, was analysed in early ripening cultivars, followed with late ripening cultivars with 3 g/kg malic acid. In both groups of middle-time ripening cultivars less than 3 g/kg malic acid was detected.

Key words: *Malus × domestica*, organic acids, sugars, primar metabolites

¹ Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Katedra za sadjarstvo, vinogradništvo in vrtnarstvo, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana

1 UVOD

Genske banke kmetijskih rastlin so zbirke različnih genotipov pri različnih vrstah rastlin, ki jih uporabljamo v kmetijske namene. Rastline hranimo v zbirkah v obliki različnih rastlinskih organov, pri čemer so uporabni tisti organi, s katerimi lahko ohranimo genotip čim dlje vitalen. Največkrat se v te namene uporabljajo semena, pogosto pa hranimo v genskih bankah tudi cele rastline. Zadnje je tudi najobičajnejši način shranjevanja

genotipov pri sadnih rastlinah. V Sloveniji smo nasad genske banke za sadne rastline posadili v okviru "Nacionalnega programa genske banke kulturnih rastlin". V nasad smo zaenkrat posadili jabolane, hruške in orehe. Redno spremljamo različne parametre vegetativne rasti dreves (moč rasti) ter njihov generativni razvoj. V povezavi z rodnostjo spremljamo tudi kakovost plodov, natančneje vsebnost sladkorjev in kislin v plodovih.

2 MATERIAL IN METODE DELA

2.1 Rastlinski material

Nasad genske banke sadnih rastlin se nahaja v Kartuziji Pleterje. Jablane so bile v ta nasad sajene leta 1994, cepljene so na podlago 'MM111'. Pri vsaki sorti smo posadili pet dreves, ki rastejo skupaj. Drevesa gojimo z gojitveno obliko sončna os. Glede varstva pred boleznimi in škodljivci so v prvih letih v nasadu sledili smernicam integriranega varstva, v zadnjih letih pa prevladuje biološko varstvo pred boleznimi in škodljivci.

Sadovnjak je zatravljen, zato je potrebno vsakoletno mulčenje.

V nasadu je posajenih 119 različnih sort jablan. Pri vsaki sorti imamo posajenih pet dreves. V tem članku predstavljamo rezultate zbrane na 100 sortah. Sorte se med seboj razlikujejo po času zorenja. Glede časa zorenja lahko sorte združimo v štiri različne skupine. V skupino zgodnjih sort uvrščamo vse sorte, ki zorijo zgodaj v poletnih mesecih, nekako do konca julija (preglednica 1) (Lauche, 1882; Müller in sod., 1900a; Müller in sod., 1900b).

Preglednica 1: Zgodnje sorte jablan posajene v nasadu genske banke, Kartuzija Pleterje

Sorta	Osnovne značilnosti
'Akane'	japonska sorta, sladko-srednje kisli okus, ugodna aroma
'Beličnik'	naključni sejanec, litvanskega porekla, osvežilno kiselkastega okusa
'Jamba'	nemška sorta, osvežilno kiselkastega okusa
'Meča'	ni podatka
'Roter Astrachan' (Lenart)	iz okolice Astrahana, sladko-kislega okusa
'Roter Astrachan' (Resje)	iz okolice Astrahana, sladko-kislega okusa
'Red Transparent'	ameriška sorta
'Vista Bella'	ameriška sorta, sladko-kislega okusa

V skupino srednje zgodnjih sort jablan, ki zorijo meseca avgusta smo uvrstili 21 sort

(preglednica 2) (Lauche, 1882; Müller in sod., 1900a; Müller in sod., 1900b).

Preglednica 2: Srednje zgodnje sorte jablan posajene v nasadu genske banke, Kartuzija Pleterje

Sorta	Osnovne značilnosti
'55185- Pesnica'	mariborski križanec
'Alkmene'	nemška sorta, sladko-kislega okusa
'Arlet'	švicarska sorta, sladkega okusa, aromatična
'Burgundy'	ameriška sorta, rahlo kisel okus, spominja na jonatan
'Dancinger Kantapfel'	neznanega izvora, vinsko kislega okusa
'Gravensteiner'	iz SZ Evrope, vinsko kislega okusa, aromatično
'Jakob Lebel'	francoska sorta, rahlo kisel okus, zelo sočna
'Jonathan'	ameriška sorta, sladko-kislega okusa, skladen
'Lobo'	kanadska sorta, sladko-kislega okusa
'Medenček'	avtohton kultivar
'Mollies Delicious'	ameriška sorta
'Odin'	nizozemska sorta, sladko-kisel skladen okus, zelo sočno
'Ozark gold'	ameriška sorta, blag kiselkast okus, sočna
'Gestraftes Kardinal'	nemška sorta, vinsko kislega okusa
'Priam'	ameriška sorta, nežno kislega okusa, blaga aroma
'Prima'	ameriška sorta, osvežilno kiselkastega okusa
'Rubin'	češka sorta, sladkega okusa, močna aroma
'Tydeman'	ameriška sorta, sladkog do srednje kisli okus
'Zap. št. 33'	mariborski križanec
'Zgodnja Kavčič'	domača avtohtona sorta
'Zgodnja Kavčič T4'	domača avtohtona sorta

Sorte, ki zorijo septembra smo združili v (Lauche, 1882; Müller in sod., 1900a; Müller skupino srednje poznih sort (preglednica 3) in sod., 1900b).

Preglednica 3: Srednje pozne sorte jablan posajene v nasadu genske banke, Kartuzija Pleterje

Sorta	Osnovne značilnosti
'Ananasrenette'	nizozemska sorta, vinsko kislega okusa, ananasova aroma
'Aurora'	sovjetskega izvora
'Baumanns Renette'	belgijska sorta, sladko-kislega okusa
'Weisser Winterkalvill'	francoska sorta, blago kislega okusa, izjemne arome
'Blauacher Wädenswill'	sovjetskega izvora
'Goldrenette aus Blenheim'	angleška sorta, zelo bogat okus, 'renetna' aroma
'Borodobna'	sovjetskega izvora
'Schöner aus Boskoop'	nizozemska sorta, osvežujoče kislega okusa, značilna aroma
'Kronprinz Rudolf'	izvira iz Štajerske, ugodnega sladko-kislega okusa
'Charden'	francoska sorta, sladkast okus, blaga aroma
'Damason Renette'	francoska sorta, ugodno sladko-kislega okusa, značilna aroma
'Debela vahna'	slovenska avtohtona sorta
'Ducat'	češka sorta, sladkega okusa, aromatično
'Eurika'	sovjetskega izvora
'Fantazja'	poljska sorta, ugodno sladko-kislega okusa, prijetna aroma
'Francoski kosmač'	ni podatka
'Glockenapfel'	švicarska sorta, izrazito kisel okus
'Gloria Mundi'	praznega okusa, brez arome, primerna za kuho
'Goldjon'	križanec jonatana
'Harberts Renette'	nemška sorta, prijetno kiselkastega okusa, aromatično
'Imperial McIntosh'	ameriška sorta, milega, sladko-kislega okusa, značilna aroma
'Ingol'	nemška sorta, kiselkastega okusa, neizrazita aroma
'James Grieve New'	angleška sorta, osvežilno kiselkastega okusa, prijetna aroma

'Kanada Renette'	izvorno francoskega porekla, sladko-kislega okusa, žlahtna aroma
'Karla'	ni podatkov
'Karmeliter Renette'	francoska sorta, vinsko kisel do sladek okus
'Karmijn'	nizozemska sorta, osvežilen sladko-kisel okus
'Cox' Orange	angleška sorta, harmonično sladko-kislega okusa, odlična aroma
'Gelber Bellefleur'	ameriška sorta, prijeten renetni okus, zelo slabo aromatična
'Lonjon'	križanec prof. Priola, skladno sladko-kislega okusa, odlična sorta
'Lord Lambourne'	angleška sorta, sladko-kislega okusa
'Macfree'	kanadska sorta, sladko-kisel do kisel okus, značilna aroma
'Melrose'	ameriška sorta, sladko-kisel okus, prijetna aroma
'Merton Worcester'	ameriška sorta
'Mutsu'	japonska sorta, sladek okus, posebna aroma
'Nova Easygrow'	kanadska sorta, sladko-kisel okus, slabo izražena aroma
'Nova mac'	ni podatka
'NY 6134512'	ni podatka
'Obilnaja'	sovjetskega izvora
'Priscilla'	ameriška sorta, sladek okus, 'Delišes' aroma
'Puhovka'	avtohton kultivar
'Quinte'	kanadska sorta, srednje kisel okus, aromatičen
'Red Stayman'	ameriška sorta
'Red Winston'	ameriška sorta
'Salgirska'	sovjetskega izvora
'Saljut'	sovjetskega izvora
'Solnečna'	sovjetskega izvora
'Spartan'	kanadska sorta, sladek okus, aromatična
'Šampion'	češka sorta, sladko-kisel do sladek okus, aromatična
'Štajerski mošancelj'	izvira iz Štajerske, vinsko kisel okus, značilna aroma
'Tavira'	sovjetskega izvora
'Zeleno zimsko jabolko'	avtohton kultivar
'Zgodnja zimska Kavčič'	avtohton kultivar
'Rheinischer Winterrambour'	verjetno izvira iz držav Beneluxa, kiselkast okus, srednja aroma
'Goldparmäne'	francoska sorta, skladno razmerje med sladkorjem in kislino, 'orehova' aroma
'Goldparmäne' T6	francoska sorta, skladno razmerje med sladkorjem in kislino, 'orehova' aroma

Med pozne sorte jablan smo uvrstili vse tiste, 1882; Müller in sod., 1900a; Müller in sod., ki zorijo oktobra (preglednica 4) (Lauche, 1900b).

Preglednica 4: Pozne sorte jablan posajene v nasadu genske banke, Kartuzija Pleterje

Sorta	Osnovne značilnosti
'Bohnapfel'	nemška sorta, sprva trpkega okusa, ki postane harmoničen šele kasneje
'Boikenapfel'	nemška sorta, vinsko kisel okus
'Bordon'	sovjetskega izvora
'Dolenjska voščenska'	slovenska sorta neznanega izvora, sladko-kiselkast okus, aromatično
'Jerseyred'	ameriška sorta, kakovosten okus
'Jonadel'	ameriška sorta, sladko-kisel okus, blaga aroma
'Rheinischer Krummstiel'	nemška sorta, osvežilno kisel okus, brez posebne arome
'MB 94937'	mariborki križanec
'MB 9563'	mariborski križanec
'NJ 327289'	ni podatka
'Ontario'	verjetno kanadskega izvora, sladko-kisel okus, šibka aroma
'Paradox'	ni podatka
'Rosmarinar'	madžarska ali slovaška sorta, sladko-kisel okus, brez arome
'Sevastopolska'	sovjetskega izvora
'Champagnerrenette'	francoska sorta, osvežilno kisel okus, blaga aroma, nekoliko trpek
'Smitbergerjeva reneta'	'renetna' skupina

2.5 Analize sladkorjev in kislin

Iz jabolk s petih dreves vsake sorte smo za analizo notranje kakovosti jabolk nabrali povprečen vzorec 10 plodov. Jabolka smo po širini dvakrat prerezali tako, da smo dobili središče plodu. Nato smo izdoblili peščiče ter preostanek mesa v središču zamrznili do časa nadaljnje analize.

Za ekstrakcijo sladkorjev in kislin smo zamrznjene vzorce odtopili, jih narezali na koščke in jih s paličnim mešalnikom zmleli v kašo. V čašo smo odtehtali 10 g sadne kaše in dopolnili do 60 ml bidestilirane vode.

Raztopino smo pustili stati 1h. Vzorce smo vmes večkrat premešali in nato prelili v centrifugirke. Nato smo vzorce centrifugirali 10 min pri 4000 vrtljajih/min. Po centrifugiranju smo vsebino vzorca previdno odvzeli z injekcijo in ga prefiltrirali skozi filter (Sartorius 0,45 µm). Tako pripravljene vzorce smo uporabili za HPLC analizo.

Sladkorje (saharozo, glukozo, fruktozo in sorbitol) in kisline (jabolčno, šikimsko in fumarno kislino) v vzorcih jabolk smo določali po uveljavljeni HPLC-metodi (Dolenc in Štampar, 1997). Rezultate predstavljamo s slikami v obliki ročajev z okvirji.

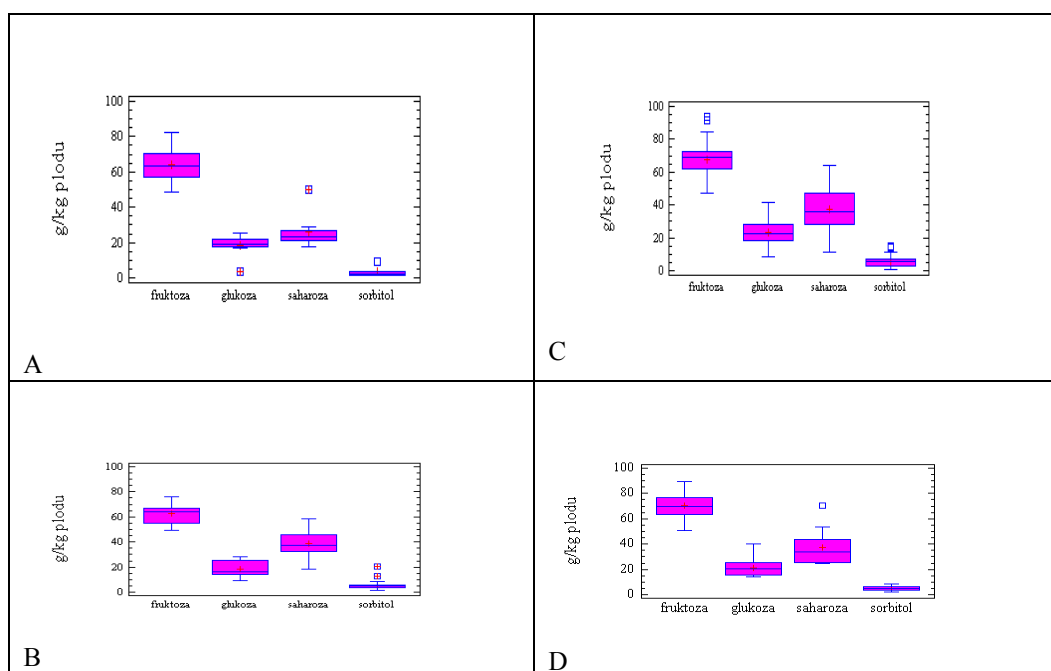
3 REZULTATI Z DISKUSIJO

Spremljanje vsebnosti sladkorjev v različnih sortah je močno povezano s časom zorenja pri teh sortah. Pri zgodnjih sortah jabolk je s 64 g snovi/kg plodu značilno največ fruktoze, vsebnost ostalih sladkorjev, vključno s saharozo (26,4 g/kg plodu) je precej manjša. Kasneje se delež saharoze v plodovih poveča in doseže največje povprečne vrednosti 38,6 g/kg pri srednje zgodnjih sortah jablan, nekaj manj 37,5 g/kg pri srednje poznih sortah jablan ter 37,3 g/kg pri poznih sortah jablan. Pozne sorte jablan so s 70,3 g/kg v povprečju

dosegle največje koncentracije fruktoze (slika 1, preglednica 5). To je povsem normalen potek sprememb v koncentracijah posameznih primarnih metabolitov, kar so potrdili tudi drugi avtorji (Šturm in Štampar, 1999). Vrednost saharoze v jabolkih proti koncu zorenja vedno naraste, ne glede na druge dejavnike, npr. gostoto sajenja (Šturm in Štampar, 1999). Še posebej pri saharozi so opazne tudi največje razlike v vsebnosti v plodovih med posameznimi sortami v srednje pozni skupini zorenja. Te razlike so pogosto

lahko zelo velike, saj se pojavljajo značilne razlike v vsebnosti posameznih sladkorjev

lahko celo že med posameznimi kloni neke sorte (Šturm in sod., 2003).



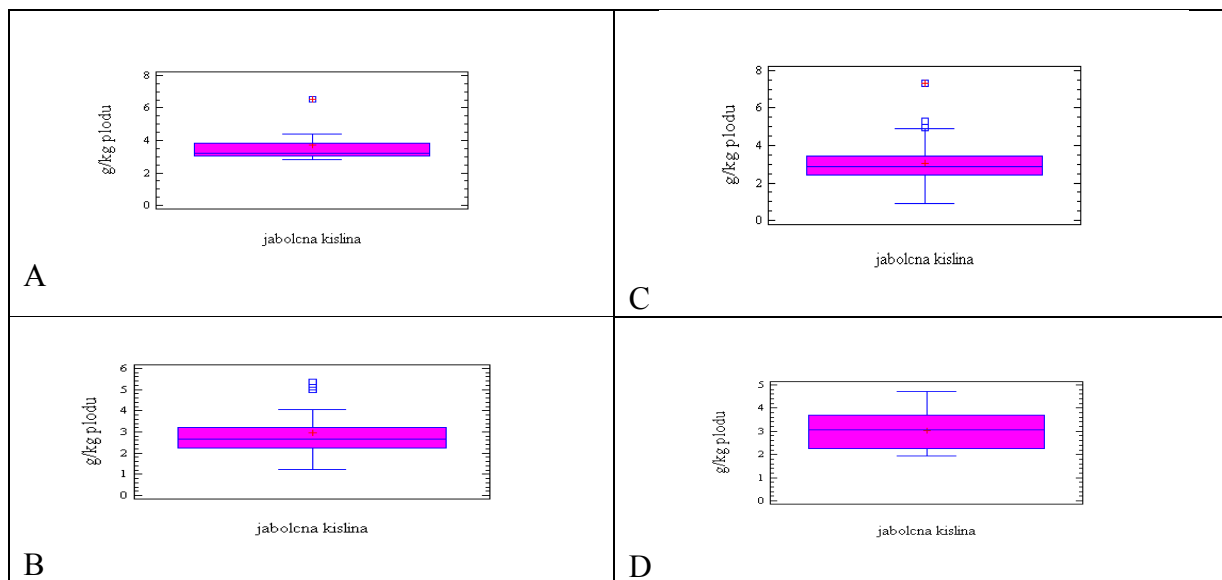
Slika 1: Vsebnost sladkorjev v jabolkih različnih sort jablan (A. zgodnje sorte, B. srednje zgodne sorte, C. srednje pozne sorte, D. pozne sorte)

Preglednica 5: Mere osnovne statistike za vsebnost različnih sladkorjev v jabolkih glede na čas zorenja

Čas zorenja sort	Vrednost	Fruktoza (g/kg)	Glukoza (g/kg)	Saharoza (g/kg)	Sorbitol (g/kg)
Zgodnje sorte	povprečje	64,18	18,29	26,39	3,26
	minimum	48,64	3,54	17,71	1,32
	maximum	82,0	25,74	50,33	8,96
	standardna deviacija	10,36	6,56	10,20	2,49
Srednje zgodnje sorte	povprečje	62,88	18,64	38,57	5,55
	minimum	49,06	9,18	18,06	1,36
	maximum	76,31	28,02	58,59	20,30
	standardna deviacija	7,78	6,51	11,01	4,34
Srednje pozne sorte	povprečje	67,87	23,58	37,54	5,73
	minimum	47,34	8,84	11,13	0,82
	maximum	93,48	41,70	64,26	14,96
	standardna deviacija	9,90	7,06	11,68	3,35
Pozne sorte	povprečje	70,30	21,48	37,32	4,96
	minimum	50,82	14,10	24,86	2,04
	maximum	89,44	39,81	70,62	8,17
	standardna deviacija	10,78	6,82	12,59	1,69

Od organskih kislin smo v jabolkih določali jabolčno, fumarno in šikimsko kislino. Jabolka so vsebovala največ jabolčne kisline. Vrednosti jabolčne kisline, v povprečju s skoraj 4 g/kg plodov so bile največje v

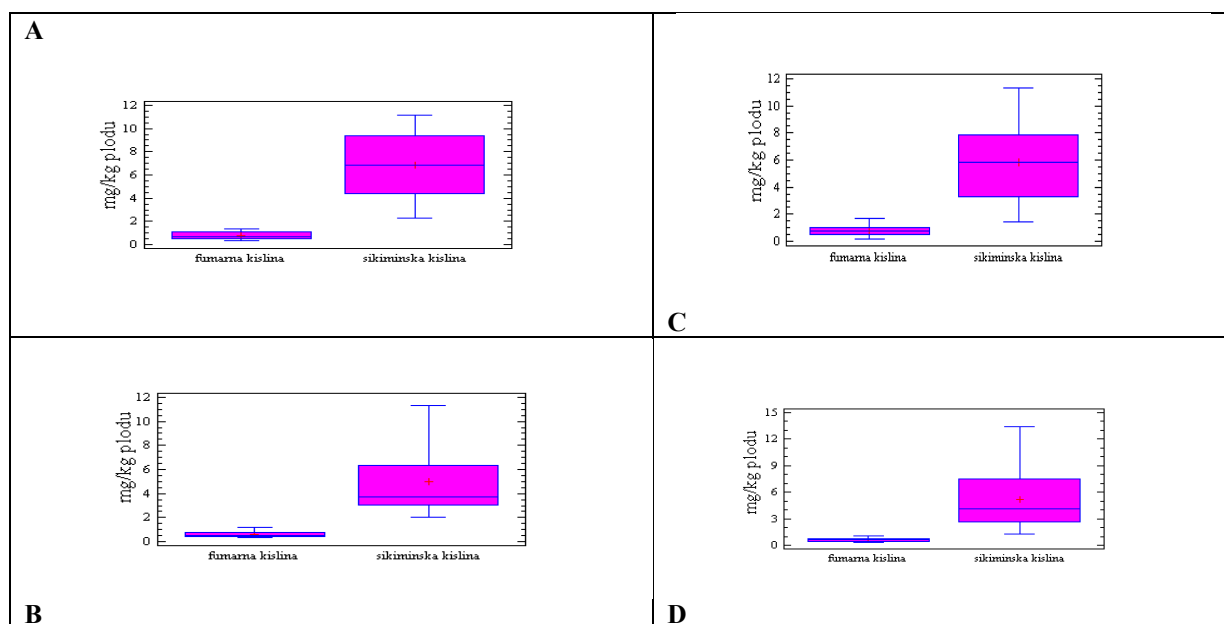
zgodnjih sortah jablan, s 3 g/kg plodov so sledile pozne sorte jablan, v srednje zgodnjih in srednje poznih sortah pa smo v povprečju izmerili manj kot 3 g kisline/kg plodu (slika 2, preglednica 6).



Slika 2: Vsebnost jabolčne kisline v različnih sortah jablan (A. zgodnje sorte, B. srednje zgodne sorte, C. srednje pozne sorte, D. pozne sorte)

Največje vrednosti jabolčne kisline pri zgodnjih sortah jablan sovpadajo z različnimi sezonskimi opazovanji, ki ugotavljajo, da se pri posamezni sorti vrednost jabolčne kisline zmanjšuje v času od poletja proti jeseni (Jakopič in sod., 2007). Vrednosti fumarne kisline v plodovih so bile podobne, ne glede na čas zorenja plodov in niso presegle

maksimalne vrednosti 1,67 mg/kg plodov. Povprečne vrednosti šikimske kisline, skoraj 5 mg/kg plodu so bile najmanjše v srednje zgodnjih sortah jablan, večje pa v poznih in srednje poznih ter največje, v povprečju 6,82 mg/kg plodu, v zgodnjih sortah jablan (slika 3, preglednica 6).



Slika 3: Vsebnost fumarne in šikimske kisline v različnih sortah jablan (A. zgodnje sorte, B. srednje zgodne sorte, C. srednje pozne sorte, D. pozne sorte)

Preglednica 6: Mere osnovne statistike za vsebnost različnih kislin v jabolkih glede na čas zorenja

Čas zorenja sort	Vrednost	Jabolčna kislina (g/kg)	Fumarna kislina (mg/kg)	Šikimska kislina (mg/kg)
Zgodnje sorte	povprečje	3,70	0,76	6,82
	minimum	2,83	0,38	2,29
	maximum	6,53	1,36	11,12
	standardna deviacija	1,24	0,35	3,12
Srednje zgodnje sorte	povprečje	2,95	0,63	4,98
	minimum	1,23	0,35	2,06
	maximum	5,37	1,21	11,33
	standardna deviacija	1,11	0,25	2,90
Srednje pozne sorte	povprečje	3,03	0,80	5,84
	minimum	0,92	0,22	1,43
	maximum	7,34	1,67	11,35
	standardna deviacija	1,10	0,33	2,77
Pozne sorte	povprečje	3,01	0,63	5,22
	minimum	1,93	0,31	1,32
	maximum	4,73	1,04	13,40
	standardna deviacija	0,86	0,20	3,47

6 REFERENCES

- Dolenc, K., Štampar, F. (1997): An investigation of the application and conduction of analyses of HPLC methods for determining sugars and organic acids in fruits. *Zb. Bioteh. fak. Univ. Ljubl., Kmet., št. 69*, str. 99-106.
- Gliha, R. (1978): Sorte jabuka u savremenoj proizvodnji. *Radničko sveučilište "Moša pijade"*, Zagreb, 245 s.
- Hartmann, W. (2003): *Farbatlas alte Obstsorten*. Eugen Ulmer Verlag.
- Jakopič, J., Veberič, R., Zupančič, K., Štampar, F. (2007): Influence of nitrogen on the contents of carbohydrates and organic acids in apples (*Malus domestica* Borkh.) cv. 'Golden Delicious'. *European journal of horticultural science*, vol. 72, no. 2, str. 66-72.
- Lauche W. (1882): *Deutsche Pomologie. Teil Apfel*, Nr. 1 – 50. Verlag von Paul Parey, Berlin.
- Müller D., Bissmann G., Poenicke K., Rosenthal, R., Schindler P. (1900a): *Deutschlands Obstsorten*, Eckstein & Stähle Hofkunstanstalt Stuttgart, Nr. 10 – 11, s. 131.
- Müller D., Bissmann G., Poenicke K., Rosenthal, R., Schindler P. (1900b): *Deutschlands Obstsorten*, Eckstein & Stähle Hofkunstanstalt Stuttgart, Nr. 19 - 20, s. 182.
- Šturm, K., Štampar, F. (1999): Seasonal variation of sugars and organic acids in apple (*Malus domestica* Borkh.) in different growing systems. *Phyton (Horn)*, vol. 39, fasc. 3 Special issue, str. 91-96.
- Šturm, K., Hudina, M., Solar, A., Viršček Marn, M., Štampar, F. (2003): Fruit quality of different 'Gala' clones. *European journal of horticultural science*, vol. 68, no. 4, str. 169-175.
- Viršček Marn M., Stopar M. (1998): Sorte jabolk. Založba Kmečki glas, Ljubljana.

Agrovoc descriptors: *liolium perenne*, *trifolium pratense*, legumes, leguminosae, grasses, gramineae, feed crops, gene banks, collections, biodiversity, genetic resources, natural resources, data collection, pollinators, *bombus terrestris*, varieties, genetic variation, ecotypes

Agris category code: F30

Genska banka trpežne ljujke in črne detelje v Sloveniji

Jure ČOP¹

Received November 05, 2012; accepted November 14, 2012.

Delo je prispelo 05. novembra 2012, sprejeto 14. novembra 2012.

IZVLEČEK

V slovensko rastlinsko gensko banko sta poleg drugih kulturnih rastlin vključeni tudi trpežna ljujka in črna detelja. V prispevku so prikazani: kratka zgodovina genske banke trav in metuljnic na Biotehniški fakulteti v Ljubljani, *ex situ* zbirka ekotipov trpežne ljujke in črne detelje, delo in izbrani rezultati karakterizacije in evalvacije. Organizirano delo pri genski banki trpežne ljujke in črne detelje poteka od leta 1989. Zbranih je 71 ekotipov trpežne ljujke in 104 ekotipi črne detelje. Zaradi tradicionalne in lokalno pogojene rabe naravnega travinja in različnih ekoloških razmer obstaja še precej možnosti za nadaljnje zbiranje ekotipov teh dveh vrst. Nabirajo se semena z manjših travnih površin, začasno izločenih iz pridelave krme. Pri ekstenzivni rabi ta izločitev ni potrebna. Razmnoževanje obeh vrst poteka ob ustrezni izolaciji populacij pred tujim cvetnim prahom. Pri črni detelji je potrebna tudi uporaba čmrljev. Ekotipi trpežne ljujke in črne detelje se med seboj in od sort značilno razlikujejo v morfoloških in agronomskih lastnostih. V teh lastnostih so enkrat bolj, drugič pa manj izenačeni od sort. Po kakovosti glede merjenih agronomskih lastnostih le nekateri ekotipi dosega standardne sorte.

Ključne besede: genska banka, trpežna ljujka, črna detelja, Slovenija

ABSTRACT

GENE BANK OF PERENNIAL RYEGRASS AND RED CLOVER IN SLOVENIA

Among other plant species, Slovenian gene bank also includes perennial ryegrass and red clover. This paper briefly presents the history of gene bank of herbage grasses and legumes and *ex situ* collection of ecotype populations of perennial ryegrass and red clover kept at Biotechnical Faculty in Ljubljana. It also describes specific work activities on this gene bank and gives selected results obtained at characterisation and evaluation of the ecotype populations of the two species. At Biotechnical Faculty, organized gene bank work on perennial ryegrass and red clover species has functioned since 1989. This gene bank is comprised of 71 accessions of perennial ryegrass ecotypes and 104 accessions of red clover ecotypes. Due to traditional and locally related management of semi-natural grasslands and diverse environmental conditions present in Slovenia there are quite a lot of possibilities to continue with ecotype collecting of these two species. Ecotypes have been collected as seed from smaller grassland areas, temporarily excluded from forage production. Such exclusion is not needed in the case of extensive production systems. Multiplication of each ecotype requires isolation against outer pollen for both species whereas the use of bumblebees' colonies as pollinators for red clover is additionally required. In the estimated traits, ecotypes of both species differed among themselves and from the cultivars. On average, intra-ecotype variability is higher in some cases and lower in others compared to the intra-cultivar one. Agronomic value of the ecotypes, based on measured traits, is lower in most cases than that of cultivars.

Key words: gene bank, perennial ryegrass, red clover, Slovenia

¹ doc. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana

1 KRATKA ZGODOVINA GENSKÉ BANKE TRAV IN METULJNIC

Načrtno zbiranje negojenih populacij oziroma ekotipov in lokalnih sort (engl. landraces) trav in metuljnic, namenjenih za pridelovanje voluminozne krme, se je v Sloveniji začelo med 2. svetovno vojno in v povečanem obsegu nadaljevalo v poznih 50-ih letih prejšnjega stoletja (Zbornik..., 1998). Potekalo je na Kmetijskem inštitutu Slovenije, kjer so zbran rastlinski material ovrednotili glede na njegove agronomske lastnosti in ga uporabili za vzgojo novih sort. V 60-ih letih so tako nastale v Sloveniji prve sorte trav, med njimi tudi sorta trpežne ljuljke (*Lolium perenne* L.) 'Jabeljska' in iz nje požlahtnjena sorta 'Ilirka'. V 70-ih letih je bila na isti inštituciji vzgojena tudi sorta črne detelje (*Trifolium pratense* L.) 'Poljanka'.

Ker se ti ekotipi in lokalne sorte niso ohranili, zbiranje novega materiala pa je bilo po nastanku novih sort sporadično, lahko rečemo,

da se je genska banka trav in metuljnic začela z namenskim financiranjem, več kot 30 oziroma 40 let kasneje. Za gensko banko trav in metuljnic je bil pomemben ameriško-jugoslovanski projekt (Project (USDA) JF 875-11), ki je potekal med leti 1989-91. V okviru tega projekta se je začel zbirati avtohton rastlinski material iz rodov *Trifolium*, *Medicago*, *Lotus*, *Festuca* in *Dactylis*. Kot slovenski partner je v projektu sodelovala Biotehniška fakulteta v Ljubljani, ki je tudi koordinirala delo, povezano z rodom *Trifolium*. Ključnega pomena za razvoj genske banke trav in metuljnic kot tudi drugih kultur je bila ustanovitev nacionalnega programa za rastlinske genske vire v letu 1996. S to ustanovitvijo je prišlo do inštitucionalne razmejitve kultur, vključenih v gensko banko in do izboljšanja dela pri zbiranju in ohranjanju akcesij ter njihovi karakterizaciji in evalvaciji.

2 EX SITU ZBIRKA EKOTIPOV TRPEŽNE LJULJKE IN ČRNE DETELJE

Genska banka trpežne ljuljke in črne detelje poteka pretežno na Oddelku za agronomijo Biotehniške fakultete v Ljubljani. Od leta 1989 smo zbrali 71 ekotipov trpežne ljuljke in 104 ekotipe črne detelje. V nacionalni informacijski sistem za rastlinske genske vire niso vnešeni podatki vseh akcesij, temveč samo za tiste, katerih količina semena znaša vsaj 2 g ali približno 1300 zrn na akcesijo pri trpežni ljuljki in vsaj 1 g ali približno 800 semen na akcesijo pri črni detelji. Teh je bilo pri trpežni ljuljki 53, pri črni detelji pa 47. Ta kriterij smo postavili zato, da ne bi kasneje v

informacijskem sistemu imeli akcesij, ki jih ne bomo uspeli ohraniti. Vendar pa to ne pomeni, da v prihodnje akcesije s premajhno količino semena ne bodo uvrščene v informacijski sistem, če jih bomo uspeli razmnožiti. Vanj bodo uvrščeni tudi vsi na novo zbrani ekotipi teh dveh vrst. Za semena akcesij v genski banki trpežne ljuljke in črne detelje je zagotovljeno srednjeročno ohranjanje, ki se doseže s sušenjem semena na 3-7 % vlage ter hranjenjem pri temperaturi 3 °C in zmanjšani zračni vlazi. analyses.

3 DELO PRI GENSKI BANKI TRPEŽNE LJULJKE IN ČRNE DETELJE

Genska banka trpežne ljuljke in črne detelje je po nekaterih aktivnostih in razmerah v slovenskem travništvu specifična. Z razliko od netravniških kultur je v Sloveniji pri teh dveh

vrstah še veliko možnosti za zbiranje ekotipov. Ni pa praktično več lokalnih populacij črne detelje, ki so jih kmetje gojili na njivah še v 50-ih in 60-ih letih prejšnjega stoletja.

Razmere glede zadnjega so podobne kot pri večini drugih njivskih kulturah.

Trpežna ljuljka in črna detelja sta manjši rastlini od večino njivskih kultur, od njih se ločita tudi po tem, da uspevata v mešanih in gostih sestojih. Zaradi tega je gojenje posamezno sajenih rastlin v poljskih razmerah, namenjenih za karakterizacijo in evalvacijo ekotipov ali za njihovo razmnoževanje, zelo zahtevno.

3.1 Nastanek, razvoj in zbiranje ekotipov

Različne okoljske in kulturne razmere v Sloveniji so skozi zgodovino omogočile razvoj ekotipov travniških rastlin, med katere sodita tudi trpežna ljuljka in črna detelja. Nastali so na prostorsko dovolj homogenih lokacijah s specifičnimi ravnimi razmerami. Te lokacije so bile med seboj tudi prostorsko izolirane, da se je zmanjšala možnost izmenjave genskega materiala. Poleg tega je bil za nastanek ekotipov potreben časovno dovolj dolg usmerjen selekcijski pritisk, ki je bil zagotovljen z več stoletno tradicionalno rabo polnaravnega travinja. Vendar je hkrati treba reči, da se ekotipi travniških rastlin skupaj z zunanjimi razmerami tudi spreminjajo, v najslabših primerih lahko posamezni ekotipi tudi v celoti izumrejo.

Če vzamemo obdobje zadnjih tridesetih let, potem lahko ugotovimo, da razmere v zvezi z ekotipi trpežne ljuljke in črne detelje kot tudi drugimi ekotipi travniških rastlin niso ugodne. V tem obdobju sta se za razvoj ekotipov travniških rastlin zgodili dve slabi stvari: prišlo je do občutnega zmanjšanja obsega kmetijskih zemljišč (Statistični letopis, 1979, 2009) in povečane homogenizacije travniške pridelave. Posledica tega je zmanjšana raznolikost ravnih razmer in zato zmanjšana ekotipska pestrost. Slabši travniki in pašniki, ki so bili pomemben vir pestrosti travne ruše v Sloveniji, so se zarastli z lesno vegetacijo in se spreminjajo v gozd. Na boljših travnatih zemljiščih pa se

zmanjšujejo razlike v gnojenju in rabi, torej v dveh ključnih tehnoloških dejavnikih pestrosti travne ruše tako na ravni združb kot tudi na ravni ekotipov.

Zbiranje ekotipov trpežne ljuljke in črne detelje ima dva delno različna pristopa, ki sta v glavnem posledica različnih ekoloških lastnosti teh dveh vrst. Čeprav obe vrsti sodita med konkurenčne rastline, je prva tipični specialist, ki uspeva samo v ugodnih razmerah, druga pa uspeva tudi v slabših razmerah. Za zbiranje ekotipov je razlika v ekoloških lastnostih zelo pomembna. Seme trpežne ljuljke lahko nabiramo samo na srednje intenzivno in intenzivno gojenih travnikih in pašnikih, kjer je potrebno površino, namenjeno za semenitev, označiti ali ograditi in jo pustiti do takrat, da rastline dozori. Ko je seme pobrano, pa je ta del travniške površine zopet lahko vključen v pridelavo. Semenitev črne detelje na intenzivno gojenih travnikih in pašnikih poteka enako kot pri trpežni ljuljki, na ekstenzivnih pa po vsej površini, pri čemer običajna pridelava ni motena.

3.2 Gojenje rastlin v poljskih razmerah

Gojenje rastlin trpežne ljuljke in črne detelje se začne sredi zime v rastlinjaku. Semena se poseje v gojitvene plošče, dve do tri na eno celico, zato da zanesljivo zraste zadostno število rastlin. Odvečne rastline populimo. Za uspeh pri gojenju rastlin v poljskih razmerah je zelo pomembna sestava substrata, v katerem gojimo rastline. Ker so substrati na osnovi šote preveč rahli in povečujejo stres rastlin po presajanju, je šotne substrate potrebno zmešati z vrtno ali njivsko prstjo in kremenčevim peskom v tretjinskem razmerju. Posebno težavo pri gojenju posameznih rastlin trpežne ljuljke in črne detelje predstavljajo bolezn, škodljivci in pleveli. Čeprav se travno rušo praviloma ne tretira proti tem biotičnim povzročiteljem škod na rastlinah, je v nasadih s posamezno sajenimi rastlinami včasih to neizbežno. Za daljše trajanje trpežne ljuljke v nasadih s posamezno sajenimi rastlinami je

priporočeno tretiranje proti glivičnim boleznim (npr. ovsovi in rumeni rji – *Puccinia coronata* Corda in *P. striiformis* Westend). Pri črni detelji je včasih potrebno tretiranje proti škodljivcem (npr. grahovem obrobkarju – *Sitona lineatus* L.) in proti glivičnim boleznim (npr. pepelovki črne detelje – *Erysiphe polygoni* D. C. en Salm.). Pri gojenju črne detelje se tudi ne obnese uporaba protiplevelnih pregrinj, narejenih iz plastičnega pletiva, ker se pod njo radi zadržujejo glodalci (npr. poljska voluharica – *Microtus arvalis* Pallas). V zimskem času se ti glodalci prehranjujejo s koreninami črne detelje, zaradi česar pride do velikih poškodb in odmiranja rastlin.

3.3 Razmnoževanje populacij

Generativno razmnoževanje ekotipov trpežne ljuljke in črne detelje je zelo zahtevno. Ker sta obe vrsti tujeprašni – prva je vetrocvetka druga pa žuškocvetka, je pri razmnoževanju treba zagotoviti izolacijo populacij od rastlin istih vrst iz okolice. Običajno so te prisotne v travni ruši. Pri trpežni ljuljki se zadostno izolacijo doseže z ograditvijo cele parcele z gosto belo tkanino do višine 2,5 m. Od zgoraj parcela ni pokrita zaradi zagotavljanja primernih okoljskih razmer, tj. primerne osvetlitve, dostopa padavin in mikro lokacijske regulacije temperature in zračne vlage. Posamezne ekotipe trpežne ljuljke je možno razmnoževati tudi brez ograjevanja s tkanino, če je dosežena

zadostna prostorska ali časovna izolacija od rastlin, ki uspevajo v travni ruši ali v posevkih. Razmnoževanje črne detelje je vezano na čmrlje, ki so med žuželkami najuspešnejši oprasovalci te vrste. Zaradi njih je treba rastline, ki jih želimo razmnožiti v medsebojni oprasitvi, v celoti pokriti z mrežo, ki prepušča dež, omogoča zadostno osvetlitev in izmenjavo zraka, hkrati pa preprečuje prosto naletavanje čmrljev in drugih potencialnih oprasovalcev. Po naših izkušnjah so primerne bele plastične mreže z velikostjo odprtin 2,5 mm × 4,0 mm in manj elastičnimi nitmi. V nasprotnem primeru se čmrljem lahko uspe zriniti skozi mrežo. K vsakemu pokritemu ekotipu se namesti en panj čmrljev, ker so ti iz kartona, jih je potrebno dodatno zavarovati pred dežjem in talno vlago. Čeprav ponudba čmrljev na trgu ni velika, se da dobiti takšne, ki so primerno nameščeni in oskrbljeni s hrano, da lahko opravljajo nekaj mesečno oprasovanje v pokritih prostorih.

Poleg preprečevanja onesnaženja rastlin v populacijah s tujim cvetnim prahom je zelo pomembna tudi ohranitev populacijske variabilnosti ekotipov. Po dogovoru, doseženem v okviru delovne skupine za krmne rastline pri Evropskem kooperativnem programu za rastlinske genske vire, je 30 rastlin na ekotip minimalno število, ki zagotavlja primerno gensko reprezentativnost, priporočeno pa 100 (Boller *et al.*, 2007).

4 KARAKTERIZACIJA IN EVALVACIJA POPULACIJ

Ker so krmne trave in metuljnice tujeprašnice, obstaja znotraj populacij in tudi sort velika variabilnost v lastnostih, zlasti pri tistih, ki so povezane z več geni. Zato karakterizacija in evalvacija populacij in sort poteka na več rastlinah, tj. vzorcu, ki naj bi odražal variabilnost populacije. V našem primeru so vzorci vsebovali po 20 rastlin pri trpežni ljuljki in po 60 rastlin pri črni detelji. Kot za

razmnoževanje je tudi tu potrebno rastline gojiti v gojitvenih ploščah in jih nato presaditi na polje. Rastlin v poskusu ne tretiramo s pesticidi razen v primerih velike obolelosti ali ob velikem napadu škodljivcev, ko je obstoj sestojja ogrožen. Pri karakterizaciji in evalvaciji trav in metuljnic se pogosto uporabljajo standardne sorte, s pomočjo katerih se ocenjuje lastnosti populacij. To so

sorte, ki jih uporabljajo pri RIN testih novih sort in so določene s strani 'International union for the protection of new varieties of plants' ali pa tudi druge sorte, katerih podatki o fenotipskih opisih so na voljo.

Rezultati karakterizacije in evalvacije (preglednici 1 in 2) kažejo, da so preučevane populacije trpežne ljujke in črne detelje zelo različne. Hkrati pa tudi kažejo, da na splošno obstoja velika znotrajpopulacijska variabilnost, ki je za nekatere lastnosti večja pri populacijah za druge pa pri sortah. Slednje je presenetljivo, ker so po definiciji sorte tujeprašnic kulturnih rastlin populacijsko bolj homogene in imajo boljše agronomske lastnosti od divjih populacij.

4.1 Trpežna ljujka (*Lolium perenne* L.)

Večina populacij in sort trpežne ljujke je bolj pokončne kot ležeče rasti. Izstopajo populacije Lp 10/00, Lp 11/00 in Lp 51/97 z izrazito pokončno rastjo in Lp 11/02 z izrazito ležečo rastjo. Variabilnost te lastnosti je bila razmeroma majhna, vendar opazno večja pri populacijah (KV % = 20,0) kot pri sortah (KV % = 16,3). Smer rasti poganjkov je bila pri sortah 'Talbot' in 'Condesa' povsem izenačena. Delež generativnih poganjkov, ugotavljan spomladi, je bil na splošno srednje velik. Ta je bil največji pri populaciji Lp 2/98 in najmanjši pri sorti 'Meltra'. Variabilnost populacij in sort je bila glede te lastnosti srednje velika. Odpornost populacij in sort proti ovsovi rji, ugotavljana v poljskih razmerah, je bila prav dobra. Izkazali sta se populaciji Lp 3/02 in Lp 11/02 ter sorta

'Meltra' (vse s povprečno oceno 1 in KV % = 0). Trpežnost populacij in sort, ugotavljana v tretjem letu rasti, je bila srednja. Najboljšo trpežnost so imele populacije Lp 8/02, Lp 8/00 in Lp 2/02 (90 ali 100 %) ter sorta 'Condesa' (100 %).

4.2 Črna detelja (*Trifolium pratense* L. subsp. *pratense* in subsp. *sativum*)

Populacije in sorte črne detelje so glede na višino rastlin zelo različne. Povprečna višina najnižje populacije (Trf 0067) je znašala 8,4 cm, najvišje (Trf 0058) pa 58,7 cm. Sorte so bile v povprečju višje od populacij. Dolžina poganjkov pri najvišji sorti (K-39) je znašala 65,2 cm. Sorte so bile glede te lastnosti tudi izrazito bolj homogene kot populacije (KV% = 14,4 proti 29,4). Populacije in sorte se zelo razlikujejo tudi v rastnem tipu. Sorta 'Reichersberger' je izrazito pokončne rasti, populacija Trf 0025 pa izrazito ležeče rasti, ki je bila po tej lastnosti tudi povsem izenačena. Variabilnost v tipu rasti je bila večja pri populacijah kot sortah (KV % = 15,9 proti 26,0). Odpornost populacij in sort proti pepelasti plesni črne detelje, ugotavljana v poljskih razmerah, je razmeroma dobra, a se je hkrati tudi zelo razlikovala med rastlinami znotraj populacij oziroma sort (KV % = 40,4 za sorte in 41,7 za populacije). Listna pega je v povprečju srednje izražena, izstopala je le populacija Trf 0044 z izrazito listno pego (ocena 4,1). Variabilnost izraženosti listne pege med rastlinami znotraj populacij oziroma sort je majhna in zelo podobna, ko primerjamo eno in drugo skupino (KV % = 21,2 proti 21,6).

Preglednica 1: Povprečna ocena in koeficient variacije (KV %) za rastni tip, spomladansko nagnjenost k tvorbi generativnih poganjkov in napadenost listov z ovsovo rjo (*Puccinia coronata* Corda) ter trpežnost, merjena kot odstotek živih rastlin v 3. letu rasti, slovenskih populacij in standardnih sort trpežne ljujke (*Lolium perenne* L.). Opazovanja in meritve so bile narejene na 20 rastlinah zavsako populacijo oziroma sorto v telih 2005 in 2006.

Table 1: Ecotype populations and standard varieties of perennial ray-grass (*Lolium perenne* L.): mean estimate and coefficient of variation (KV%) for growth habit, spring tendency to form inflorescences, susceptibility to infection with crown rust (*Puccinia coronata* Corda) and longevity, measured as the proportion of live plants in the 3rd growing year. Estimates and measurements were done on 20 plants for each population or variety in 2005 and 2006.

Populacija/ sorta Population/ variety	Rastni tip Growth habit		Generativni po- panjki Generative tillers		<i>Puccinia coronata</i> – napadenost/ infection		Trpež- nost/Lon- gevity (%)
	\bar{X}	KV %	\bar{X}	KV %	\bar{X}	KV %	
Barvestra	3,2	13,5	3,0	31,2	1,2	35,4	80
Lp 1/97	3,2	17,1	1,7	47,0	1,1	23,5	70
Lp 15/97	3,7	18,8	4,7	16,9	1,5	34,4	60
Lp 16/97	4,1	26,3	4,4	17,1	2,0	0,0	70
Lp 18/97	3,3	27,0	1,4	35,9	3,2	26,9	60
Tivoli	3,6	13,8	1,6	32,8	1,1	23,5	75
Lp 20/97	3,5	14,8	1,3	36,3	2,4	41,6	65
Lp 24/97	3,9	17,3	4,8	11,0	1,9	12,9	70
Lp 51/97	4,4	19,8	3,2	38,9	2,4	29,5	60
Lp 1/98	3,9	8,8	4,8	12,2	1,9	12,9	80
Talbot	3,0	0,0	2,3	29,4	1,9	11,8	55
Lp 1/90	3,9	8,6	2,4	36,1	1,9	17,6	20
Lp 8/00	3,3	17,8	3,3	47,7	2,1	15,3	90
Lp 9/00	3,4	14,8	3,8	28,6	2,2	23,2	95
Lp 10/00	4,6	10,9	3,1	51,2	2,1	14,7	75
Condesa	3,0	0,0	2,8	57,6	1,3	62,9	100
Lp 11/00	4,6	10,9	3,0	48,5	2,0	16,2	85
Lp 13/00	2,6	23,5	2,5	52,5	2,1	11,2	60
Lp 1/02	3,8	15,8	3,5	41,0	2,5	27,0	55
Lp 2/02	3,8	13,1	3,3	30,4	3,5	20,1	90
Vigor	2,0	31,6	1,3	53,0	1,1	29,7	80
Lp 3/02	2,6	19,7	1,4	42,7	1,0	0,0	75
Lp 4/02	2,8	39,5	1,1	30,4	1,2	58,3	75
Lp 5/02	2,7	40,8	1,6	54,8	1,1	22,9	80
Lp 6/02	2,3	35,0	1,2	35,0	3,0	29,8	60
Lp 7/02	2,3	36,3	2,3	53,9	2,6	39,7	80
Gremie	3,7	16,8	3,4	33,0	2,2	24,9	60
Lp 8/02	2,8	22,6	1,5	47,1	2,0	0,0	100
Lp 9/02	3,4	17,7	1,1	21,8	2,1	15,0	80
Lp 10/02	3,2	20,5	1,1	23,5	1,4	71,1	30
Lp 11/02	1,6	32,9	1,3	44,0	1,0	0,0	60
Lp 27/02	2,9	23,2	2,1	64,1	2,7	39,4	50
Lp 2/98	3,9	6,6	4,9	7,0	2,0	0,0	55
Lp 1/99	3,9	7,4	4,2	28,6	2,2	18,0	60
Lp 2/99	3,7	12,3	3,5	38,4	3,0	50,4	50
Meltra	2,2	38,5	1,0	0,0	1,0	0,0	35

Note: Comma is used as a decimal separator.

Lestvica/Scale:

- rastni tip/growth habit 1 (*prostratum*) do 5 (*erectum*)
- generativni poganjki/generative tillers (gp) 1 (< 20 % gp) do/to 5 (80-100 % gp)
- *Puccinia coronata* 1 (najmanjša napadenost/very low infection) do/to 9 (največja/very high)

Razlike v ocenah prvih treh karakteristik med populacijami in sortami so statistično značilne ($p < 0.001$).

Differences in estimates for each of the first three characteristics are statistically significant between entries (populations, varieties; $p < 0.001$).

Uporabljene sorte/Included varieties: 'Barvestra' (Barenbrug Holland BV, Nizozemska), 'Tivoli' (DLF Trifolium, Danska), 'Talbot' (Van der Have, Nizozemska), 'Condesa' (Mommersteeg International BV, Nizozemska), 'Vigor' (SPBI, Belgija), 'Gremie' (Zelder B. V., Nizozemska), 'Meltra' (SPBI, Belgija)

Preglednica 2: Povprečna ocena in koeficient variacije (KV %) za višino rastlin, rastni tip, izraženost listne pege in napadenost listov s pepelovko črne detelje (*Erysiphe polygoni* D. C. en Salm.) 26 populacij in 10 sort črne detelje (*Trifolium pratense* L. subsp. *pratense* in subsp. *sativum*). Opazovanja in meritve so bile narejene na 60 rastlinah za vsako populacijo oziroma sorto v letu 2010. Populacije v poskusu izvirajo iz Slovenije, Bosne in Hercegovine in Srbije.

Table 2: Ecotype populations (26) and standard varieties (10) of red clover (*Trifolium pratense* L. subsp. *pratense* and subsp. *sativum*): mean estimate and coefficient of variation (KV%) for plant height, growth habit, intensity of white mark and susceptibility to infection with powdery mildew (*Erysiphe polygoni* D. C. en Salm.). Estimates and measurements were done on 60 plants of each population or variety in 2010. Included populations originate from Slovenia, Bosnia and Herzegovina and Serbia.

Populacija/ sorta Population/ variety	Višina rastlin Plant height (cm)		Rastni tip Growth habit		<i>Erysiphe polygoni</i> – napadenost/ infection		Izraženost listne pege/White mark intensity	
	\bar{X}	KV %	\bar{X}	KV %	\bar{X}	KV %	\bar{X}	KV %
trf 0061	34,0	19,7	3,0	13,5	1,6	56,4	3,3	20,8
Pavo	33,3	24,5	1,8	36,3	1,3	44,3	3,2	26,3
trf 0029	14,6	43,1	4,8	9,0	1,2	45,6	2,9	27,3
Reichersberger Neu	53,3	12,2	1,3	38,3	1,5	50,9	3,7	17,8
trf 0048	26,8	42,4	3,9	22,5	2,2	54,8	3,1	24,3
trf 0043	46,5	19,4	2,3	29,6	1,5	44,6	2,6	30,5
trf 0082	29,0	19,3	3,3	22,1	1,2	34,5	2,9	23,2
trf 0093	20,8	29,1	4,6	16,3	1,6	56,0	3,0	22,4
trf 0051	25,6	42,6	3,0	16,3	1,2	40,6	3,0	26,3
trf 0063	36,6	19,1	3,2	17,5	1,3	41,7	2,9	21,1
trf 0084	20,9	48,0	3,7	19,6	1,7	52,5	2,5	29,6
Slavoj	40,6	17,3	2,0	29,8	1,3	38,3	2,6	33,2
trf 0044	51,8	11,6	2,9	20,4	1,8	39,9	4,1	16,9
trf 0028	14,8	42,5	4,8	9,7	1,9	46,5	3,2	20,8
trf 0025	9,4	43,0	5,0	0,0	1,7	48,7	2,7	24,8
Merviot	41,5	16,5	2,3	23,5	1,6	45,4	3,8	19,0
Milvus	38,4	19,0	2,5	24,1	1,5	47,1	3,2	21,9
Živa	56,1	11,4	2,1	19,4	1,9	36,4	3,4	22,6
trf 0077	34,5	13,0	3,3	16,9	1,7	43,4	2,9	21,1
trf 0067	8,4	57,1	4,8	8,3	1,2	33,2	2,9	23,4
trf 0046	35,1	16,5	3,7	18,8	1,2	33,5	3,4	16,6
trf 0058	58,7	9,2	2,5	26,6	2,2	26,8	3,5	21,2
trf 0094	21,9	44,0	4,0	18,6	2,0	38,9	3,1	17,3
trf 0027	33,4	15,1	4,0	8,3	1,5	39,6	3,5	16,5
K-17	60,1	9,6	2,5	27,1	1,4	41,3	3,5	14,5

Nadaljevanje preglednice 1/Continuation of Table 1

trf 0060	27,5	17,8	3,1	18,7	1,2	38,6	3,2	18,1
Suez	60,9	13,2	2,5	23,1	1,2	34,8	3,0	20,0
trf 0053	30,2	18,7	3,6	14,9	1,4	47,3	3,3	19,4
trf 0030	12,9	46,5	4,8	12,6	1,5	43,1	3,1	18,8
trf 0092	32,5	15,7	3,5	14,2	1,3	38,4	2,9	17,5
Poljanka	51,4	12,5	2,6	19,7	2,4	32,0	3,0	24,7
trf 0042	48,1	20,0	3,3	15,0	1,5	39,6	3,1	16,7
trf 0054	16,4	48,9	3,6	13,3	1,3	35,6	3,1	18,8
trf 0059	21,6	27,1	3,5	14,5	2,6	30,7	3,1	19,8
trf 0062	15,9	35,8	3,7	16,3	2,2	34,4	3,0	17,6
K-39	65,2	7,3	3,2	18,3	1,5	33,2	3,2	15,6

Note: Comma is used as a decimal separator.

Lestvica/Scale:

- rastni tip/growth habit 1 (*erectum*) do/to 5 (*prostratum*)
- *Erysiphe polygoni* 1 (najmanjša napadenost/very low infection) do/to 5 (največja/very high)
- listna pega/white mark 1 (slabo izražena/absent or very weak) do/to 5 (močno izražena/ very strong)

Razlike med populacijami in sortami so statistično značilne ($p < 0.001$ za vse ocene).

Differences in estimates for each of the four characteristics are statistically significant between entries (populations, varieties; $p < 0.001$).

Uporabljene sorte/Included varieties: 'Pavo' in/and 'Milvus' (Agroscope, Švica), 'Reichersberger' (Saatbau Linz, Avstrija), 'Slavoj' in 'Suez' (Agrogen, Češka), 'Merviot' (Institute for Agricultural and Fisheries Research (ILVO), Belgija), 'Živa' in 'Poljanka' (KIS, Slovenija), 'K-17 in K-39 (Institut za krmno bilje Kruševac, Srbija)

5 ZAHVALA

Slovensko rastlinsko gensko banko, v katero sodi tudi genska banka obravnavanih krmnih kultur, financira R Slovenija, Ministrstvo za kmetijstvo in okolje.

6 LITERATURA

- Boller B., Willner E., Marum P., Maggioni L. 2007. Report of a Working Group on Forages. Ninth Meeting, 23-25 October 2007, Piešťany, Slovakia, http://www.ecpgr.cgiar.org/Workgroups/forages/Forages9_draft.pdf
- Project (USDA) JF 875-11 »Improvement of forage plants for livestock production«: Sub-project »Collecting and investigating wild species of Trifolium, Medicago, Lotus, Festuca and Dactylis for improvement of Yugoslav selection genetic base«. 1991. Banja Luka, Agricultural Institute Banja Luka.
- Statistični letopis Republike Slovenije. 1979. Ljubljana, Statistični urad Republike Slovenije.
- Statistični letopis Republike Slovenije. 2009. Ljubljana, Statistični urad Republike Slovenije, <http://www.stat.si/letopis/>
- Zbornik ob 100-letnici Kmetijskega inštituta Slovenije (ur.: S. Gliha, I. Kmetič, B. Koruza, L. Marinček in T. Volk). 1998. Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije.

Agrovoc descriptors: humulus lupulus, hops, gene banks, collections, biodiversity, genetic resources, natural resources, data collection, varieties, drug plants, essential oil crops, wild plants, land varieties, germplasm

Agris category code: F30

Genska banka hmelja ter zdravilnih in aromatičnih rastlin na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije

Nataša FERANT¹, Andreja ČERENAK²

Received November 30, 2011; accepted December 05, 2012.

Delo je prispelo 30. novembra 2012, sprejeto 05. decembra 2012.

IZVLEČEK

Genska banka hmelja (*Humulus lupulus* L.) je del Inštituta za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije (IHPS) že 60 let, medtem ko je bila genska banka zdravilnih in aromatičnih rastlin ustanovljena leta 1976. Prva vključuje 16 sort hmelja (14 slovenskih in 2 nemški, vpisani v Slovensko sortno listo) ter 59 divjih ženskih in 52 moških akcesij, ki so bile pridobljene na območju Slovenije, nekdanje Jugoslavije, Altaja in Kavkaza. Vzdržujejo se v trajnih nasadih, izbrane tudi v *in vitro* razmerah. Njihova dednina je uspešno vključena v naše najpomembnejše sorte hmelja.

Danes je v genski banki 237 avtohtonih in pridobljenih akcesij zdravilnih in aromatičnih rastlin z območja Slovenije, bivše Jugoslavije in Evrope. Ves čas potekajo raziskave zlasti pri avtohtonih akcesijah vrst pravega kolmeža (*Acorus calamus* L.), navadne arnike (*Arnica montana* L.), navadne kumine (*Carum carvi* L.), zdravilne špajke (*Valeriana officinalis* L.) in žajblja (*Salvia officinalis* L.), kot tudi pri ostalih. Akcesije vzdržujemo v *ex situ* razmerah, izbrane vrste pa hranimo tudi v *in vitro* razmerah.

Vse akcesije iz genske banke na IHPS so vpisane v EURISCO podatkovno bazo.

Ključne besede: genska banka rastlin, hmelj, zdravilne rastline, aromatične rastline

ABSTRACT

GENE BANK OF HOP AND MEDICAL AND AROMATIC PLANTS AT THE SLOVENIAN INSTITUTE OF HOP RESEARCH AND BREWING

Gene bank of hop (*Humulus lupulus* L.) is a part of Slovenian Institute of Hop Research and Brewing for 60 years, while gene bank of medicinal and aromatic plants was established in 1976. The first one includes 16 hop varieties (14 Slovenian and 2 German, registered on the Slovenian variety list) and 59 wild female and 52 male accessions which were obtained in Slovenia, former Yugoslavia, on Altai and Caucasus. They are maintained as permanent crops while selected accessions are kept also under *in vitro* conditions. Their germplasm is successfully included in our most important hop varieties.

Today, the gene bank consists of 237 native and obtained accessions of medicinal and aromatic plants from the areas of Slovenia, former Yugoslavia and Europe. The ongoing research is particularly oriented in autochthonous accessions of sweet flag (*Acorus calamus* L.), mountain arnica (*Arnica montana* L.), caraway (*Carum carvi* L.), valerian (*Valeriana officinalis* L.) and common sage (*Salvia officinalis* L.), as well as the others. Accessions are maintained in *ex situ* conditions, while selected species are kept *in vitro* as well.

All accessions from the gene bank are entered in the EURISCO database.

Key words: plant gene bank, hops, medicinal plants, aromatic plants

¹ Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Žalskega tabora 2, 3310 Žalec, nataša.ferant@ihps.si

² Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Žalskega tabora 2, 3310 Žalec, andreja.cerenak@ihps.si

1 UVOD

Genska banka na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije (IHPS) je del Slovenske rastlinske genske banke od njene ustanovitve naprej, to je od leta 1996. Razdeljena je v dva dela - genska banka hmelja ter genska banka zdravilnih in aromatičnih rastlin. Prvi del predstavlja zbirko hmeljnih rastlin, nabranih na naravnih rastiščih na območju Slovenije in bivše Jugoslavije, na Altaju in Kavkazu, ter slovenske sorte hmelja. Celotna zbirka se ohranja in dopolnjuje od začetka ustanovitve IHPS, torej že 60 let. Vključuje 16 sort (14 slovenskih in 2 nemški, ki sta vpisani v Slovensko sortno listo) ter 59 divjih ženskih in 52 moških akcesij, ki jih vzdržujemo v trajnih nasadih. Petinštirideset akcesij, vzgojenih v letu 2012, je še v rastlinjaku. V kolekciji avtohtonega hmelja ženskih rastlin, ki so bile nabrane v začetku sedemdesetih let na območju bivše Jugoslavije, imamo na IHPS zbranih 25 različnih akcesij hmelja. V preteklih letih se je zbirka skoraj vsakoletno dopolnjevala z novimi nabranimi materiali iz Slovenije. Genski viri se vzdržujejo v *ex situ* ter izbrani genotipi tudi v *in vitro* razmerah.

Drugi del genske banke na IHPS predstavlja genska banka zdravilnih in aromatičnih rastlin,

ki jo poleg inštitutske zbirke sestavlja še genska banka MEDPLANT na Biotehniški fakulteti v Ljubljani. Njuno delo je koordinirano in usklajeno z medsebojnim dogovorom in dolgoročnim programom sodelovanja. Genska banka zdravilnih in aromatičnih rastlin na IHPS se nahaja v Vrtu zdravilnih in aromatičnih rastlin, ki je bil ustanovljen 1976 z namenom proučevanja in izbora zdravilnih in aromatičnih rastlin, kot alternative intenzivni kmetijski proizvodnji hmelja in drugih kultur. Z leti se je vrt razvil v gensko banko z okoli 250 pridobljenimi in avtohtonimi vrstami zdravilnih in aromatičnih rastlin. Ves čas njegovega obstoja potekajo raziskave avtohtonih zdravilnih in aromatičnih rastlin, ki so osredotočene zlasti na vrste *Acorus calamus* L., *Arnica montana* L., *Carum carvi* L., *Valeriana officinalis* L. in *Salvia officinalis* L., proučevanje njihovih habitatov, ekoloških značilnosti in kemijskih lastnosti. Z vsakoletnim nabiranjem semen in prenosom rastlin v *ex situ* razmere proučujemo in ohranjamo rastline ter s tem preprečujemo posledice krčnitve naravnih rastišč. Izbrane vrste hranimo tudi v *in vitro* razmerah.

2 RAZVOJ GENSKÉ BANKE HMELJA NA INŠTITUTU ZA HMELJARSTVO IN PIVOVARSTVO SLOVENIJE

Začetki genske banke hmelja na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije (IHPS) v Žalcu segajo v leto 1952, ko je bil inštitut ustanovljen. Takratni raziskovalci na področju žlahtnjenja so zbirali različne akcesije hmelja iz Slovenije in bivše Jugoslavije, jih vrednotili

in tudi gojili na polju. Te akcesije so bile osnova v procesu žlahtnjenja. Od takrat pa vse do danes se zbiranje avtohtonih akcesij nadaljuje, ravno tako vrednotenje in ohranjanje.



Slika 1: Genska banka hmelja v hmeljišču (foto: A. Čerenak).

Od začetnega zbiranja rastlin iz območja Slovenije se je zbiranje nadaljevalo v večjem obsegu. Tako se je osnovala kolekcija divjega hmelja, kjer hranimo akcesije ženskih in moških rastlin. Ves čas je bil nasad moških rastlin prostorsko ločen od pridelovalnih nasadov, zaradi preprečevanja oprašitve le-teh. Kolekcija se je bistveno povečala med leti 1970 in 1980, ko je inštitut sodeloval v mednarodnem projektu Slovenije in ZDA ter so bile pridobljene avtohtone akcesije s področja bivše Jugoslavije. Zbranih je bilo 485 različnih ženskih in moških rastlin, izmed katerih se danes ohranja 40 najbolj zanimivih genotipov. Leta 1989 so se raziskovalci udeležili mednarodne ekspedicije zbiranja divjega hmelja na Kavkazu in Altaju. Prinesenih je bilo 55 različnih ženskih in

moških rastlin, od katerih danes ohranjamo še 10 akcesij.

Genska banka hmelja torej danes vključuje ženske in moške rastline iz območja Slovenije, bivše Jugoslavije, Kavkaza in Altaja. Nekatere izmed njih, zlasti moške rastline, so starševske generacije danes uspešnih slovenskih sort hmelja.

Rastlinski material v okviru genske banke hmelja se vzdržuje na dveh poskusnih poljih. Eden je v bližini IHPS, medtem ko je nasad z moškimi rastlinami postavljen na prostorsko izolirani lokaciji več kilometrov stran od komercialnih nasadov. Najbolj zanimive rastline se ohranjajo tudi v tkivni kulturi (*in vitro*) v laboratoriju IHPS.



Slika 2: Genska banka hmelja *in vitro* (foto: A. Čerenak).

3 RAZVOJ GENSKE BANKE ZDRAVILNIH IN AROMATIČNIH RASTLIN NA INŠTITUTU ZA HMELJARSTVO IN PIVOVARSTVO SLOVENIJE V ŽALCU

Leta 1976 je bil zasajen Vrt zdravilnih in aromatičnih rastlin na IHPS s 40 različnimi vrstami tradicionalnih slovenskih zdravilnih in aromatičnih rastlin. Glavni namen za zasaditev take zbirke je bil ponuditi kmetom, zlasti hmeljarjem, alternativno rastlino ali rastline za pridelavo, zlasti v času, ko je hmeljišče v premeni. Ker imajo hmeljarji obilo znanja pri pridelavi hmelja, stroje in potrebne objekte (sušilnice, skladišča), so zdravilne in aromatične rastline primerne kot alternativna pridelava.

Od vsega začetka je glavni namen Vrta raziskovalno, svetovalno in izobraževalno delo. Zbirka se je z leti večala od začetnih 40 različnih vrst na okoli 250 različnih avtohtonih in prinesenih vrst ter sort. Obseg števila vrst je omejen zaradi prostora in finančnih sredstev. Večina rastlinskih vrst je prišla v vrt z izmenjavo s sorodnimi inštitucijami s celega sveta, nekaj materiala pa je bilo pridobljenega z zbiranjem v naravi. Genska banka obsega rastline posajene v nasadu, kolekcijo semen, nekatere vrste pa hranimo v laboratoriju *in vitro*.



Slika 3: Vrt zdravilnih in aromatičnih rastlin na IHPS, ki vključuje tudi gensko banko (foto: N. Ferant).

V letih od začetka dejavnosti na področju zdravilnih in aromatičnih rastlin na IHPS pa do danes smo sistematično zbirali, ohranjali in evidentirali zdravilne in aromatične rastline na območju Slovenije v skladu z danimi možnostmi, tako prostorskimi, kadrovskimi in finančnimi.

Trenutno raste je v nasadu genske banke zdravilnih in aromatičnih rastlin na IHPS: pravi kolmež (*Acorus calamus* L.) - 11 akcesij, zdravilna špajka (*Valeriana officinalis* L.) - 5 akcesij, navadna arnika (*Arnica montana* L.) - 4 akcesije, žajbelj (*Salvia officinalis* L.) - 2 akcesiji, navadna kumina (*Carum carvi* L.) - 5 akcesij in riček (*Camelina sativa* Crantz. - 7 akcesij).



Slika 4: Del zbirke kolmežev v genski banki zdravilnih in aromatičnih rastlin na IHPS (Foto: N. Ferant)

Poleg pridobivanja avtohtonih akcesij smo evidentirali akcesije zdravilnih rastlin 'on farm' in sicer rastline pehtrana (*Artemisia dracunculus* L.), navadne kumine (*Carum*

carvi L.), navadne melise (*Melisa officinalis* L.), žajblja (*Salvia officinalis* L.) in navadne milnice (*Saponaria officinalis* L.). Vsako leto preverimo njihova rastišča.

4 DOLGOROČNI PROGRAM DELA GENSKÉ BANKE

Leta 1996 se je pripravil tudi dolgoročni program dela Slovenske rastlinske genske banke v okviru katerega deluje tudi genska banka hmelja in zdravilnih in aromatičnih rastlin še danes.

Glavne naloge so:

- vzdrževanje obstoječega genskega materiala na IHPS,
- ohranjanje genskih virov *ex situ*,
- identifikacija in mapiranje naravnih populacij *in situ*,
- vzdrževanje in razmnoževanje *in vitro*,
- vnos podatkov v EURISCO podatkovno bazo,
- pridobivanje genotipov avtohtonih rastlin hmelja in zdravilnih in

aromatičnih rastlin s poudarkom na ogroženih vrstah,

- ohranjanje raziskovalno in ekonomsko zanimivih rastlinah,
- kemijsko vrednotenje genotipov,
- mapiranje avtohtonih populacij zdravilnih in aromatičnih rastlin, obdelava podatkov s pomočjo korelacijske baze Medplant na Biotehniški fakulteti,
- priprava passport podatkov za akcesije po mednarodnih standardih,
- sodelovanje z mednarodnimi združenji in inštitucijami ter vključevanje v mednarodne projekte.

5 POMEN GENSKÉ BANKE HMELJA TER ZDRAVILNIH IN AROMATIČNIH RASTLIN ZA KMETIJSTVO

Genska banka hmelja ter zdravilnih in aromatičnih rastlin na IHPS je za kmetijstvo velikega pomena. Z vzdrževanjem in poznavanjem širšega genfonda hmelja predstavlja zanimiv objekt za raziskovalno delo ter vir genetskega materiala za žlahtnjenje zanimivih sort hmelja. Rezultati več raziskav, ki vključujejo podatke zbrane v genski banki hmelja, so bili objavljeni v različnih znanstvenih revijah ter v strokovnih publikacijah. Neposreden prenos genskih virov v prakso pa so slovenske sorte hmelja, vzgojene z uporabo akcesij iz genske banke (hmeljnih rastlin nabranih na naravnih rastiščih) pri križanjih. Sorte hmelja, ki so nastale s križanjem tujih sort in domače dednine (npr. najbolj razširjena Aurora), še

danés uspevajo v več kot 90 % slovenskih hmeljišč.

Genska banka zdravilnih in aromatičnih rastlin s svojo širino nudi strokovno podporo pri uvajanju pridelovanja zdravilnih in aromatičnih rastlin kot alternativnih poljščin. Daje možnost proučevanja, pridobitve in razmnoževanja avtohtonega semenskega materiala prilagojenega našemu okolju. Nabiralništvo v naravi in kmetijska pridelava pospešujeta biodiverzitetu rastlin. Genska banka rastlin daje možnost reintrodukcije rastlin na naravna rastišča in predstavlja bazo za selekcijo in žlahtnjenje za pridelavo na večjih površinah.

6 ZAHVALA

Za večletno neprekinjeno financiranje genske rastlin na IHPS se zahvaljujemo Fitosanitarni banke hmelja in zdravilnih ter aromatičnih upravi Ministrstva za kmetijstvo in okolje RS.

7 LITERATURA

- Baričevič, D., Rode, J., Zupančič, A., Eržen-Vodenik, M. 2000. Nacionalna zbirka zdravilnih in aromatičnih rastlin. Herbika, julij/avgust, p. 24-29.
- Rode, J. 2002. Study of autochthon *Camelina sativa* (L.) Crantz in Slovenia. Breeding research on aromatic and medicinal plants. Haworth Herbal Press, 9, p. 313-318.
- Wagner. T., 1975. Divji hmelj – *Humulus lupulus* L. v Jugoslaviji. Doktorska disertacija, Ljubljana, Biotehniška fakulteta, 195 p.

Agrovoc descriptors: hops, humulus lupulus, land varieties, varieties, gene banks, collections, plant breeding, biodiversity, genetic resources, natural resources, data collection, natural resources, genotypes, genetic markers, wild plants, international cooperation, plant breeding, varieties

Agris category code: F30

Vrednotenje genskih virov hmelja z molekulskimi markerji

Andreja ČERENAK¹, Jernej JAKŠE², Nataša ŠTAJNER², Branka JAVORNIK²

Received November 30, 2012; accepted December 05, 2012.

Delo je prispejlo 30. novembra 2012, sprejeto 05. decembra 2012.

IZVLEČEK

Genska banka hmelja zagotavlja dolgoročno gensko pestrost in ohranitev biotske raznovrstnosti v kmetijstvu. Na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije predstavlja genska banka hmelja zbirko akcesij hmelja, nabranih na naravnih rastiščih hmelja v Sloveniji in na območju bivše Jugoslavije, ter slovenske sorte hmelja. V kolekciji avtohtonega hmelja ženskih rastlin, ki je bila nabrana v začetku sedemdesetih let na območju bivše Jugoslavije, imamo zbranih 25 različnih akcesij hmelja. Zbirko genskih virov hmelja vsako leto povečujemo z novo nabranim materialom. Pri žlahtnjenju novih sort hmelja je takšna kolekcija avtohtonega, genetsko raznolikega materiala izrednega pomena. V članku so predstavljeni rezultati vrednotenja divjih genotipov, pridobljeni z molekulskimi pristopi.

Ključne besede: hmelj, genska banka, molekulski markerji

ABSTRACT

EVALUATION OF HOP GENETIC RESOURCES WITH MOLECULAR MARKERS

Hop gene bank provides long lasting preservation of genetic and biotic diversity in agriculture. At the Slovenian Institute of Hop Research and Brewing genetic bank presents collection of hop accessions gathered on natural sites in Slovenia and ex-Yugoslavia, and Slovenian varieties as well. In the hop collection of female autochthonous plants we have 25 different accessions which were gathered in the early seventies on territory of ex-Yugoslavia. The hop gene bank is increasing every year with new collected material. In hop breeding program is such collection of autochthonous and genetically diverse material very important. The article presents results of evaluation of wild genotypes with molecular approaches.

Key words: hop, gene bank, molecular markers

1 UVOD

Navadni hmelj (*Humulus lupulus* L.) je dvodomna trajnica iz družine konopljevok (Cannabaceae) in je znotraj družine edina rastlinska vrsta, pomembna v pivovarski industriji. Komercialno pomembna so le zrela ženska socvetja (storžki), zato v hmeljiščih gojimo le ženske rastline. Lupulin, ki nastaja v lupulinskih žlezah storžka, vsebuje različna eterična olja in hmeljne smole, ki dajejo grenkobo in aromo pivu.

V Sloveniji se hmelj prideluje že desetletja in pridelovanje je izrazito izvozno usmerjeno. Svetovni trg, kamor izvozimo preko 90 % slovenskega pridelka hmelja, narekuje vedno nove zahteve po kvaliteti hmelja. Potrebe po novih sortah so na trgu stalno prisotne, kar je posledica spremenjenih potreb po določenem tipu hmelja (hmelj z visokim odstotkom alfa-kislin, aromatični hmelj) ali spremenjene tehnologije pridelovanja oz. pojava novih boleznih in škodljivcev. Pri hmelju enostavna introdukcija iz drugih hmeljarskih območij

¹ Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Žalskega tabora 2, 3310 Žalec

² Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana

dostikrat ni mogoča, zato na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije (IHPS) poteka žlahtnjenje hmelja že od leta 1952. Večina pridelovalnih površin hmelja (95 %) je v Sloveniji tako posajenih s sortami, ki so bile v tem času vzgojene pri nas. Dosedanje delo na področju žlahtnjenja hmelja v Sloveniji lahko razdelimo na več časovnih obdobj. Rezultat prvega žlahtniteljskega obdobja so štiri 'A sorte': 'Aurora', 'Ahil', 'Atlas' in 'Apolon' (Kralj in Wagner, 1971), ki se odlikujejo po večji količini smol, večjem pridelku in primernosti za strojno obiranje. Dobro se je uveljavila sorta 'Aurora', ki je posajena na okoli 60 % hmeljišč. V letu 1979 so bile priznane tri nove aromatične sorte hmelja serije 'B': 'Bobek', triploidni 'Blisk' in 'Buket' (Kralj in Wagner, 1980). Triploidne sorte hmelja: 'Celeia', 'Cerera', 'Cekin' in 'Cicero', so bile priznane 1990. leta, kot rezultat žlahtnjenja na kakovost Savinjskega goldinga. Vse štiri so pozne, imajo lastnosti aromatičnega hmelja in velik pridelek (Kralj, 1990). Zadnja sorta 'Dana', edina visoko

grenčična sorta, je bila vpisana v slovensko sortno listo leta 2009. V letu 2011 zaključuje 5 novih križancev preizkušanje vrednosti za pridelavo in uporabo v okviru vpisa na sortno listo.

Z razvojem molekularskih metod so se v žlahtnjenju rastlin uveljavili različni molekularski markerji, ki dopolnjujejo dosedanje žlahtniteljsko delo zaradi njihove velike informacijske vrednosti o genetskih lastnostih rastlin. Klasični postopki identifikacije rastlin temeljijo na različnih morfoloških, fenoloških in agronomskih markerjih, vendar je njihova slabost delovna in časovna dolgotrajnost.

Molekularske markerje smo učinkovito uporabili pri dveh raziskavah - določitvi mej v nasadu avtohtonih ženskih rastlin, ki so se v več letih zabrisale in pri določanju genetske strukture divjega hmelja, vzdrževanega v genski banki v Žalcu.

2 MATERIAL IN METODE DELA

2.1 Identifikacija divjih akcesij hmelja

V kolekciji avtohtonega hmelja ženskih rastlin, ki je bila nabrana v začetku sedemdesetih let na območju bivše Jugoslavije, imamo na IHPS zbranih 25 različnih akcesij hmelja. Zaradi objektivnih dejavnikov so se meje med posameznimi akcesijami zabrisale oz. jih na osnovi večletnega fenotipskega opazovanja ni možno določiti. Za natančno razmejitev genotipskih razlik med zbranimi akcesijami smo zato izvedli molekularsko analizo 51. rastlin.

2.1.1 Molekularska analiza

Za identifikacijo 25. divjih akcesij hmelja smo v analizo vključili 51 rastlin. Celokupno genomsko DNA smo ekstrahirali s CTAB metodo po Kump s sod. (1992). RAPD metodo smo izvedli po protokolu Šuštar-Vozlič in

Javornik (1999), pri čemer smo uporabili 9 različnih začetnih oligonukleotidov, namnožene fragmente DNA pa smo analizirali z agarozno elektroforezo. Rastline smo analizirali tudi s pomočjo štirih lokusno specifičnih mikrosatelitov (Brady s sod., 1996) namnoženih v PCR reakciji in ločenih z denaturacijsko poliakrilamidno elektroforezo (Jakše, 2000).

Polimorfne RAPD fragmente in mikrosatelitne alelne polimorfizme smo vnesli v binomsko matriko in izračunali Jaccardov koeficient podobnosti, na podlagi katerega smo s pomočjo UPGMA metode razvrstili genotipe v skupine. Izračuni so bili opravljeni s programskim paketom NTSYS-pc (Rohlf, 1998).

2.2 Genetska struktura divjega hmelja

V analizo genotipizacije in genetske strukture divjega hmelja smo vključili 67 akcesij hmelja. Rastline smo pridobili iz genske banke hmelja v Žalcu, nabrane pa so bile na območju Bosne in Hercegovine (2 genotipa), Hrvaške (4 genotipi), Makedonije (2 genotipa), Srbije (3 genotipi), Slovenije (6 genotipov), Rusije - Altaj (6 genotipov), Japonske (2 genotipa) in Gruzije (5 genotipov).

Celokupno genomsko DNA smo ekstrahirali iz svežih, mladih listov hmelja z modificirano CTAB metodo (Kump in Javornik, 1996). Koncentracijo celokupne genomske DNA proučevanih vzorcev smo izmerili s pomočjo DNA fluorometra DyNA Quant™ 200 (Amersham Bioscience).

2.2.1 Analiza mikrosatelitov

Namnoževanje mikrosatelitskih lokusov v PCR z že znanimi začetnimi oligonukleotidi je bilo izvedeno na osnovi protokolov objavljenih v Jakše s sod. (2004) in Štajner s sod. (2005).

PCR vzorce mikrosatelitskih lokusov smo ločevali v poliakrilamidnem denuracijskem gelu (ReproGel High Resolution, Amersham Biosciences) (Štajner, 2003).

Za natančno določanje dolžine mikrosatelitskih alelov smo uporabili dolžinski standard (50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 500 bp Amersham Biosciences). Ker med elektroforezo pride do odklona potovanja v različnih delih gela smo za poravnavo fragmentov enake dolžine uporabili notranje standarde. Pri elektroforezi posameznega mikrosatelitskega lokusa smo vedno uporabili 2 interna standarda, krajšega in daljšega od pričakovane dolžine mikrosatelitskih alelov.

Elektroforeza PCR reakcije je potekala na avtomatski laserski napravi ALFexpress II (DNA Analysis System, Amersham Biosciences) in sicer od 200 do 350 min

(odvisno od pričakovane dolžine lokusa), pri temperaturi 55 °C in toku 15 W. Katodni in anodni pufer smo pripravili z 0,5 × koncentriranim TBE.

2.2.2 Določanje dolžine alelov

Rezultat dela po zgoraj opisanih metodah so bili številni geli, ki smo jih analizirali s programsko opremo AlleleLocator 1.03 (Amersham Biosciences). Pri vrednotenju polimorfizma smo najprej določili dolžinski standard in na osnovi tega pridobili informacijo o dolžinah vseh namnoženih fragmentov in preverili dolžine notranjih standardov. Mikrosatelitske alele smo določali v programski opciji, ki v pogledu prikaže krivulje, saj smo tako na osnovi velikosti krivulje lahko bolj zagotovo od alelov ločili tiste namnožitve, ki nastanejo zaradi zdrsa Taq polimeraze v procesu prepisovanja.

2.2.3 Statistična obdelava podatkov

Vrednotenje polimorfizma in genetske sorodnosti

V analizo vrednotenja raznolikosti mikrosatelitskih lokusov smo vključili različne mere variabilnosti: število alelov na lokus, dejansko heterozigotnost (H_o , ki predstavlja delež posameznikov v vzorcu, ki so heterozigotni), pričakovano heterozigotnost (H_e , ki predstavlja delež populacije, ki bi bila heterozigotna, v primeru, da bi med posamezniki prišlo do naključnega križanja, hkrati pa predstavlja zmožnost markerja za ločevanje med genotipi):

$$H_e = 1 - \sum p_i^2$$

, kjer je p frekvenca i -tega alela

Informacijska vrednost polimorfizma (PIC) (Botstein in sod., 1980) predstavlja informativnost posameznega markerja oz. stopnjo pri kateri z markerjem nedvoumno določimo genetsko identiteto posameznika in je uporabna predvsem kot merilo primernosti

lokusa za gensko kartiranje. PIC vrednost vključuje tako število alelov odkritih na posameznem lokusu, kot tudi frekvence posameznih alelov:

$$PIC = 1 - \left(\sum_{i=1}^n p_i^2 \right) - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2p_i^2 p_j^2$$

Navedene mere raznolikosti smo izračunali s programom Identity (1.0 version, University of Vienna).

Genetska oddaljenost med akcesijami je bila izračunana kot log-transformiran delež skupnih alelov med pari hmeljnih akcesij

(Bowcock in sod., 1994). Na osnovi genetske oddaljenosti pa smo s programom Microsat 1.5 (Minch s sod., 1997) naredili matriko, ki smo jo s pomočjo Fitch-Margolism algoritma (Fitch and Margolism, 1967) uporabili za razvrstitev hmeljnih akcesij v skupine. Pri tem smo uporabili program PHYLIP 3.6 verzija (Felsenstein, 1993), aplikacija Fitch.

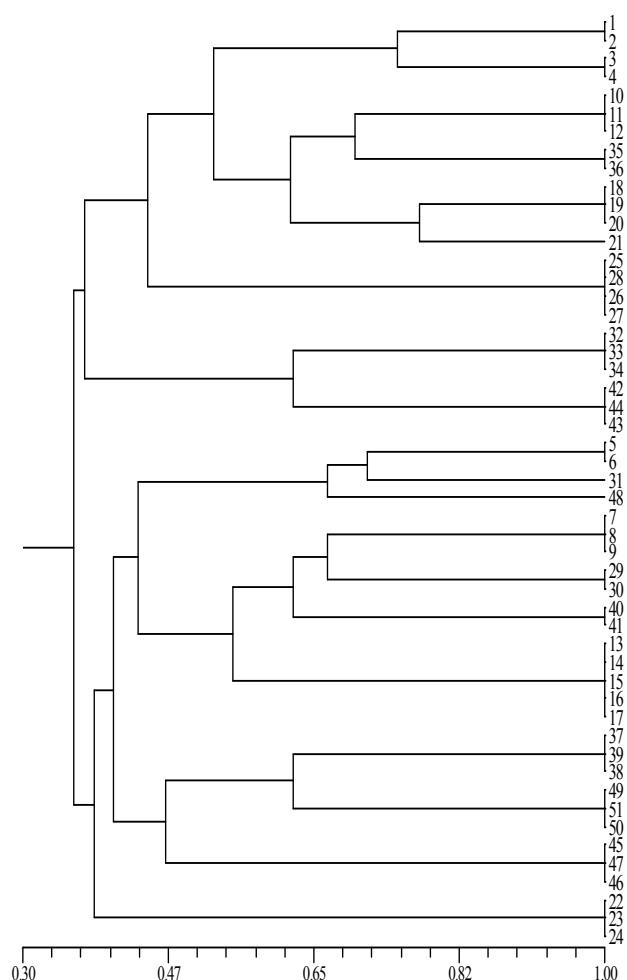
Na osnovi mer genetske oddaljenosti smo z metodo razvrščanja v skupine analizirali genetsko strukturo in število skupin genetske dednine (materiala). Pri tem smo uporabili program Structure (Pritchard s sod., 2000).

3 REZULTATI Z DISKUSIJO

3.1 Identifikacija divjih akcesij hmelja

Za uspešno vzgojo novih kultivarjev hmelja je kolekcija avtohtonega, genetsko raznolikega materiala izrednega pomena. Zbirka posajenih rastlin iz geografsko različnih območij in nadaljnja selekcija le-teh predstavlja pomemben člen v žlahtnjenju kmetijskih rastlin.

Z rezultati dveh markerskih sistemov smo lahko razmejili različne akcesije, kar je po dokončnem izrednotenju omogočilo klasifikacijo rastlin v kolekcijskem nasadu avtohtonega hmelja. Skupno smo našli 20 različnih genotipov (sl. 1). V enem primeru ima pet zaporednih rastlin isti genotip, drugače pa so isti genotipi zastopani z dvema ali tremi rastlinami. V dveh primerih pa je ostala v nasadu le še po ena rastlina nekega genotipa. Uporabljeni RAPD in mikrosatelitni markerji so dali identične rezultate.

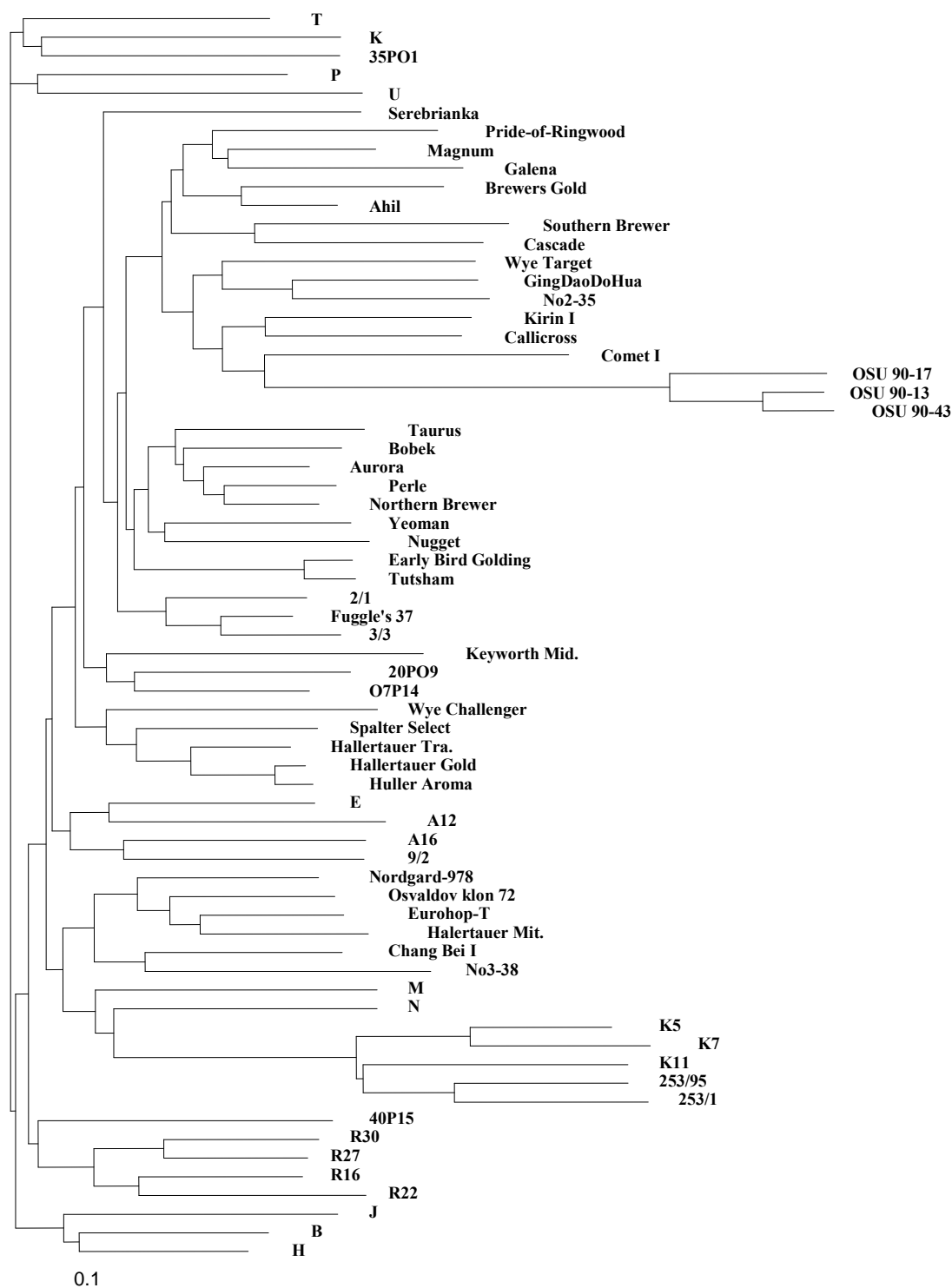


Slika 1: Analiza 51 rastlin v genski banki hmelja z Jaccardovim koeficientom podobnosti (razvidna je razdelitev na 20 različnih genotipov v skladu s sadilnimi mesti v vrsti)

3.2 Genetska struktura divjega hmelja

Genetska diverziteta hmelja je že bila obravnavana pri različnih skupinah akcesij in kultiviranega hmelja (Murakami in sod., 2006; Jakše in sod., 2004), vendar pa slednja (Štajner in sod., 2008) predstavlja analizo z največjim številom uporabljenih mikrosatelitnih markerjev.

V analizi so se genotipi iz Kavkaza (K5, K7, K11, 253/95 in 253/1) razporedili v isto skupino, medtem ko so se genotipi, nabrani na divjih rastiščih bivše Jugoslavije, razporedili v dve manjši skupini (prva skupina genotipi T, K, P, 35P01, U in druga skupina J, B in H. Skupina ruskih divjih genotipov (R30, R27, R22 in R16) se je v skladu s podatki o najdiščih razporedila v isto skupino.



Slika 2: NJ dendrogram 67-ih akcesij hmelja narejen na osnovi matrike podobnosti koeficienta Dps' (1-delež skupnih alelov).

Pomembna aplikacija molekularnih markerjev je vrednotenje genske raznolikosti rastlinskih genotipov, kar smo povzeli v članku. Rezultati

imajo uporabno vrednost pri identifikaciji genotipov in so pomemben vir informacij za žlahtnjenje hmelja.

4 VIRI

- Abbott, M. S., Fedele, M. J. 1994. A DNA based varietal identification procedure for hop leaf tissue. *Journal of the institute of brewing*, 100, p. 283-285.
- Botstein, D., White, R.L., Skolnick, M., Davis, R.W. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, 32, s. 314-331.
- Brady, J. L., Scott, N. S., Thomas, M. R. 1996. DNA typing of hops (*Humulus lupulus*) through application of RAPD and microsatellite marker sequences converted to sequence tagged sites (STS). *Euphytica*, 91, p. 277-284.
- Bowcock, A.M., Ruiz-Linares, A., Tomfohrde, J., Minch, E., Kidd, J.R., Cavalli-Sforza, L.L. 1994. High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites. *Nature*, 368, s. 455-457.
- Eurostat, 2011. European Commission eurostat [Database on the Internet]. [cited 2011 August]. Available from <http://epp.eurostat.ec.europa.eu/portal/page/portal/eurostat/home/>
- Felsenstein, J., 1993. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.5c. Department of Genetics. University of Washington, Seattle
- Fitch, W.M., Margoliash, E. 1967. Construction of phylogenetic trees. *Science* 155, s. 279-284.
- Haunold, A. 1991. Cytology and Cytogenetics of Hops. In: *Chromosome Engineering in Plants: Genetics, Breeding, Evolution*, Part B. Ed. by Tsuchiya T. & Gupta P.K., (Elsevier Sci. Publish.). p. 551-563.
- Jakše, J. 2000. Vrednotenje genetske variabilnosti hmelja (*Humulus lupulus* L.) z mikrosatelitnimi markerji. Magistrsko delo, 89 s.
- Jakše, J., Šatović, Z., Javornik, B. 2004. Microsatellite variability among wild and cultivated hops (*Humulus lupulus* L.). *Genome*, 47, s. 889-899.
- Kralj, D. 1990. Novi hmeljarski kultivarji: cerera, celeia, cekin in cicero. *Hmeljar*, 3, s. 3.
- Kralj, D., Friškovec, I. 1993. Hmeljni kultivarji v Sloveniji. *Hmeljar*, 63, s. 23-28.
- Kralj, D., Wagner, T. 1971. Prve slovenske sorte hmelja. *Sodobno kmetijstvo*, 9, s. 408-411.
- Kralj, D., Wagner, T. 1980. Novi slovenski kultivarji hmelja – bobek, blisk in buket. *Sodobno kmetijstvo*, 7-8, s. 281-286.
- Kump, B., Svetek, S., Javornik, B. 1992. Izolacija visokomolekularne DNK iz rastlinskih tkiv. *Zbornik Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani, Kmetijstvo*, 59, s. 63-66.
- Minch, E., Ruiz-Linares, A., Goldstein, D., Feldman, M., Cavalli-Sforza, L.L. 1997. MICROSAT: a computer program for calculating various statistics on microsatellite allele data, ver. 1.5d. Stanford University, Stanford, CA
<http://hpgl.stanford.edu/projects/microsat>
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 3, s. 583-590.
- Polley, A., Seigner, E., Ganai, M. W. 1997. Identification of sex in hop (*Humulus lupulus*) using molecular markers. *Genome*, 40, s. 357-361.
- Pritchard, J.K., Stephens, M., Donnelly, P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155, s. 945-959.
- Rohlf, J. F. 1998. NTSYS: Numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 2.0. Exeter software, Setauket, New York, USA.
- Štajner, N. 2003. Razvoj novih mikrosatelitskih DNA markerjev za genotipizacijo in gensko kartiranje hmelja (*Humulus lupulus* L.): doktorska disertacija = Isolation of microsatellites and their use for genotyping and mapping of hop (*Humulus lupulus* L.): doctoral dissertation. Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Ljubljana, s. 93.
- Štajner, N., Jakše, J., Kozjak, P., Javornik, B. 2005. The isolation and characterisation of microsatellites in hop (*Humulus lupulus* L.). *Plant Science*, 168, s. 213-221.
- Štajner, N., Šatović, Z., Čerenak, A., Javornik, B. 2008. Genetic structure and differentiation in hop (*Humulus lupulus* L.) as inferred from microsatellites. *Euphytica*, vol. 161, no. 1-2, p. 301-311.
- Šuštar-Vozlič, J., Javornik, B. 1999. Genetic relationships in cultivars of hop, *Humulus lupulus* L., determined by RAPD analysis. *Plant breeding*, 118, s. 175-181.

Agrovoc descriptors: drug plants, essential oil crops, gene banks, collections, genetic resources, natural resources, biogeography, habitats, biodiversity, data collection, information processing, plant breeding, genetic resources, natural resources, international cooperation

Agris category code: F30

Ohranjanje in vrednotenje genskih virov zdravilnih rastlin

Dea BARIČEVIČ¹, Petra RATAJC², Marko ZUPAN³, Boris TURK⁴, Branko VREŠ⁵, Andrej SELIŠKAR⁶, Tomaž SELIŠKAR⁷

Received December 04, 2012; accepted December 07, 2012.

Delo je prispelo 04. decembra 2012, sprejeto 07. decembra 2012.

IZVLEČEK

V okviru genske banke zdravilnih in aromatičnih rastlin pri Biotehniški fakulteti Univerze v Ljubljani (BFUNI) poteka ohranjanje genskih virov *in situ*, *ex situ* in *in vitro*. Pri *in situ* ohranjanju je bistveno popisovanje gostote populacij na naravnih rastiščih zdravilnih rastlin, pri čemer lokacije označimo z geografskimi koordinatami in ovrednotimo z deskriptorji za kolekcioniranje, okoljskimi deskriptorji in vrstno specifičnimi deskriptorji. Metodologija vrednotenja naravnih populacij rastlinskih vrst in njihovih habitatov, osnovana na sistemu deskriptorjev, je harmonizirana v okviru držav članic programa ECPGR in SEEDNet. S pomočjo terenskih vzorčenj zdravilnih in aromatičnih rastlin ter obdelave zbranih podatkov s pomočjo informacijskega sistema MEDPLANT bo mogoče prikazati biodiverzitetu med preučevanimi populacijami zdravilnih in aromatičnih rastlin, kar bo v pomoč končnim uporabnikom in eventualno zlahniteljem v prihodnosti. V okviru terenskega dela ocenjujemo pojavnost 10 izbranih rastlinskih vrst: skupina taksonov navadnega rmana (*Achillea millefolium* L. s. lat.), skupina taksonov pravega ranjaka (*Anthyllis vulneraria* L. s. lat.), navadna arnika (*Arnica montana* L.) – zavarovana (kategorija varovanja – C, O) in ranljiva vrsta (kategorija ogroženosti – V), pravi pelin (*Artemisia absinthium* L.), skupina taksonov rumenega svišča, košutnika (*Gentiana lutea* L. s. lat.) – zavarovana (kategorija varovanja – C) in ranljiva vrsta (kategorija ogroženosti – V) (Uradni list RS 82/02, 46/04; 49/04; 110/04), šentjanževka (*Hypericum perforatum* L. s. lat.), navadna dobra misel (*Origanum vulgare* L. s. lat.), razkrečena rutica (*Ruta divaricata* Ten.), žajbelj (*Salvia officinalis* L.) in kraški šetraj (*Satureja montana* L. s. lat.).

Ključne besede: zdravilne in aromatične rastline, naravna rastišča, genski viri, informacijski sistem

ABSTRACT

CONSERVATION AND EVALUATION OF GENETIC RESOURCES OF MEDICINAL PLANTS

The gene bank of medicinal and aromatic plants at the Biotechnical Faculty University of Ljubljana (BFUNI) runs the conservation of genetic resources *in situ*, *ex situ* and *in vitro*. An inventory of populations density in natural habitats of medicinal plants is essential in *in situ* conservation, where locations are recorded using geographic coordinates, and collecting, environmental as well as species-specific descriptors are used in evaluation. The methodology of evaluation of natural populations of plant species and their habitats, based on the descriptor system is harmonized within the member states of ECPGR and SEEDNet. Based on the evaluation of field samples of medicinal and aromatic plants and processing of collected data by the information system MEDPLANT biodiversity among the populations of studied medicinal and aromatic plants will be presented, which will help end users and eventually breeders in the future. The fieldwork estimated incidence of 10 selected plant species: *Achillea millefolium* L. s. lat., *Anthyllis vulneraria* s. lat., *Arnica montana* L. - Protected (protection category - C, O) and vulnerable species (risk category - V), *Artemisia absinthium* L., *Gentiana lutea* L. s. lat. - Protected (protection category - C) and vulnerable species (risk category - V) (Official Gazette of RS 82/02, 46/04; 49/04; 110/04), *Hypericum perforatum* L. s. lat., *Origanum vulgare* L. s. lat., *Ruta divaricata* L., *Salvia officinalis* L. and *Satureja montana* L. s. lat.

Key words: medicinal and aromatic plants, natural habitats, genetic resources, information system

¹ Prof. Dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana; dea.baricevic@bf.uni-lj.si

² Dr., Zadobroška cesta 10a, 1260 Ljubljana Polje

³ Viš. pred. mag., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana

⁴ Viš. pred. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana

⁵ Dr., Biološki inštitute Jovana Hadžija, ZRC SAZU, Novi trg 2, 1000 Ljubljana

⁶ Mag., Grobeljska 6b, 1234 Mengeš

⁷ Sadjarska 21, 2327 Rače

1 UVOD

Dejavniki naravnih ekosistemov, ki so v evoluciji prispevali k ohranitvi avtohtonih populacij na naravnih rastiščih oz. rastiščih, na katera so se populacije dobro prilagodile, so za pojavljanje in ohranitev določene vrste v okolju ključnega pomena. Vsaka biološka vrsta zaseda določeno ekološko nišo. Chase in Leibold (2003) sta ekološko nišo opisala kot skupnost vseh dejavnikov okolja, ki omogočajo organizmu, da ohranja rodnost v populaciji vsaj enako, če ne večjo od umrljivosti, skupaj z vsemi vplivi organizma na okolje. Poleg opredelitve okoljskih dejavnikov, ki vplivajo na obstoj in razširjenost naravnih genskih virov, so etnobotanične in splošne etnografske posebnosti lokalnih območij in poznavanje tradicionalnih navad ljudi strokovna podlaga za odkrivanje tistih divje rastočih genskih virov, ki so potencialno uporabni v prehrani in/ali zdravilstvu lokalnega prebivalstva (Heinrich, 2003; Bremner s sod., 2004; Heinrich s sod., 2005a, b). Te potencialno uporabne genske vire je potrebno ovrednotiti s sodobnimi raziskovalnimi in znanstvenimi metodami in zagotoviti njihovo sonaravno oz. trajnostno rabo (Johns in Eyzaguirre, 2000; Johns in Eyzaguirre, 2002; Johns, 2002; Troppman s sod., 2002), zato da v prihodnosti ne bi ogrozili naravnih izvorov, ki predstavljajo del naravne in kulturne dediščine. Rezultati raziskav v zadnjem desetletju kažejo, da večina surovin za rastlinske pripravke izvira iz naravnih rastišč (Franz in sod., 2009). V Evropi gojijo le 10 % zdravilnih rastlin, ki se uporabljajo komercialno (Canter in sod., 2005). Na kritični meji ogroženosti na lokalni, nacionalni, regionalni ali globalni ravni je med 4000 in 10000 vrst zdravilnih rastlin (Hamilton, 2004). Prekomerno nabiranje zdravilnih rastlin v naravi povzroča izgubo genetske raznolikosti, lokalno izumiranje vrst in uničenje habitatov (Canter in sod., 2005). Razlogi za zmanjšanje populacij zdravilnih rastlin pa niso le

antropogenega izvora, ampak so tudi posledica počasne rasti nekaterih vrst, majhne gostote populacij, specifičnosti habitatov, majhne plodnosti in delovanja herbivorov (Kala, 2009). Za zaščito ogroženih vrst zdravilnih rastlin ni dovolj le strožja zakonodaja in uvajanje trajnostnega načina nabiranja, ampak je treba razviti dolgoročne rešitve, kamor spada tudi gojenje zdravilnih rastlin (Canter in sod., 2005).

Uporaba divjih rastlin je pomembna komponenta lokalnega tradicionalnega znanja in ga je potrebno obravnavati kot kompleksen fenomen, ki pokriva zgodovinske, geografske, kulturne, ekonomske in socialne vidike (Sõukand in Kalle, 2010). Tradicionalno znanje o uporabi zdravilnih rastlin, ki se prenaša iz roda v rod, je v zadnjih desetletjih močno upadlo (Hamilton, 2004; Kala in Ratajc, 2012; Kala, 2005). Vedno pomembnejšo vlogo pa ima etnobotanika tudi pri ohranjanju ogroženih vrst in razvoju zaupanja med avtohtonimi prebivalci, nosilci znanja, in raziskovalci. Avtohtoni prebivalci in lokalne skupnosti poznajo okolje in ekološke potrebe posameznih vrst, uporaba zdravilnih rastlin je globoko zakoreninjena v njihovi zavesti, skozi stoletja uporabe pa so razvili tudi trajnostni način nabiranja in izkoriščanja rastlin (Kala, 2009).

1.1 Smernice ohranjanja zdravilnih in aromatičnih rastlin v okviru Evropskega kooperativnega programa za rastlinske genske vire (ECPGR - The European Cooperative Programme for Plant Genetic Resources)

Za ohranitev zdravilnih rastlin je pomemben pravilen pristop. Ekološke informacije o statusu populacije, njeni razširjenosti in značilnostih habitata so nujne za oceno stopnje ogroženosti in najprimernejšega načina ohranjanja vrste. Leta 2001 je bila v okviru

ECPGR (The European Cooperative Programme for Plant Genetic Resources) ustanovljena delovna skupina za zdravilne in aromatične rastline. Glavni namen skupine, ki jo trenutno sestavlja 41 držav, je preprečiti neustrezno in/ali prekomerno koriščenje samoniklih zdravilnih in aromatičnih rastlin (ZAR) za potrebe fitoterapije in razviti mehanizme ohranjanja genskih virov (*in-situ*, *ex-situ*) na območju evropske regije. V okviru skupine je bil narejen seznam prednostnih vrst, ki potrebujejo posebno pozornost: *Achillea millefolium* agg., *Artemisia absinthium* L., *Carum carvi* L., *Gentiana lutea* L., *Hypericum perforatum* L., *Melissa officinalis* L., *Mentha x piperita* L. in *M. spicata* L., *Origanum* spp., *Salvia officinalis* L., *Thymus vulgaris* L. in *T. pulegioides* L. Pristop skupine k naravovarstvu je sodoben in interdisciplinaren. Razvili so sistem t.i. deskriptorjev, ki poleg opisovanja stopnje ogroženosti rastlinske vrste in fitoceoloških opazovanj vsebuje tudi etnobotanične podatke (etnična skupina, historični podatki o rabi rastlinske vrste, uporabnost vrste,...) (Baričević in sod., 2008; [www.ecpgr.cgiar.org/...](http://www.ecpgr.cgiar.org/)). Skupina je poenotila metodologijo vrednotenja naravnih habitatov in avtohtonih populacij v evropskem prostoru in enotno nastopa pri dolgoročnem ohranjanju genskih virov ZAR.

2 METODOLOŠKO-TEORETIČNI OPIS RAZISKAV

Po standardni srednjeevropski metodi florističnega popisovanja (Ehrendorfer & Hamman 1965) in po standardni srednjeevropski metodi vegetacijskega popisovanja (Braun-Blanquet 1964) smo na izbranih lokacijah na območju Severne goriške regije, vključno s Trnovskim gozdom in Banjško planoto, na Nanosu, na območjih regijskega kraškega parka s Kraškim robom ter na enem nahajališču v Julijskih Alpah (Komna), popisali spremljevalno floro, vegetacijo in opredelili habitatne tipe kot del okoljskih deskriptorjev za naravne in subsponsane populacije izbranih rastlinskih

Gojenje zdravilnih rastlin se zdi edini pravi način preprečevanja prekomernega nabiranja in zavarovanje ogroženih vrst, hkrati pa je spodbujanje gojenja zdravilnih in aromatičnih rastlin ena od pomembnih strategij zagotavljanja zadostne količine kakovostnih surovin. Z gojenjem je zagotovljena stalna količina uniformne in visoko kakovostne surovine, možna je optimizacija vsebnosti učinkovin, izognemo se napakam pri določitvah rastlin v naravi, njihovi genetski in fenotipski variabilnosti, variabilnosti in nestabilnosti izvlečkov, toksičnim komponentam in kontaminantom (Canter in sod., 2005; Schippmann in sod., 2002).

V raziskovalnem projektu Razvoj informacijskega sistema podatkovnih baz naravne nacionalne dediščine (L7-7600) smo si zadali nalogo, da na podlagi inventarizacije, kartiranja naravnih populacij in vrednotenja naravnih genskih virov zgoraj omenjenih vrst, ob hkratni organizaciji podatkov v ustrezni skupni informacijski sistem, vzorčno ovrednotimo stanje izbranih rastlinskih vrst v naravnem okolju (tudi v NATURA 2000 območjih) in njihovo naravovarstveno problematiko v Sloveniji.

vrst. Floristične in vegetacijske popise smo vnesli v podatkovno bazo FloVegSi (Seliškar in sod., 2003). Vira imen rastlinskih združb sta Kaligarič (1997) in Poldini (1989), vir imen habitatnih tipov je Jogan in sod. (2004).

Pri terenskem delu smo vrednotili morfološke značilnosti vzorčnih primerkov naravnih populacij, odvzeli rastlinski material z namenom herbarijskega dokumentiranja primerkov in kemijske analize vzorcev rastlin in tal iz naravnih rastišč.

V obdobju med 2005 in 2012 smo na 69 preiskovanih lokacijah pridobili semenski material modelnih in tudi drugih rastlinskih vrst (skupaj 73 taksonov) z namenom hranjenja semenskega materiala v Genski banki za zdravilne in aromatične rastline pri Biotehniški fakulteti Univerze v Ljubljani. V okviru raziskav smo nekatere obravnavane taksonne v spomladanskem času razmnožili in jih posadili *ex situ* na laboratorijsko polje Biotehniške fakultete UL, kjer smo opravili morfološko, taksonomsko in/ali kemijsko vrednotenje akcesij ZAR.

2.1 Sistem deskriptorjev

Sistem deskriptorjev (t.j. izbranih opisnih vrednosti) za evidentiranje/dokumentiranje, vrednotenje in ohranitev naravnih populacij rastlinskih vrst in njihovih habitatov, na podlagi katerih temelji izpopolnitev informacijskega sistema je razdeljen na pet kategorij:

2.1.1 Vhodni (passport) deskriptorji (deskriptorji genskih virov in deskriptorji za kolekcioniranje) (Passport in Collecting descriptors) opisujejo vse parametre, ki jih pridobimo ob inventarizaciji in/ali kartiranju genskih virov.

2.1.2 Deskriptorji za oskrbovanje in vzdrževanje (Management descriptors) genskih virov so sestavljeni iz predpisov in tehničnih navodil o pripravi genskega materiala in razmer za dolgoročno hranjenje genskih virov.

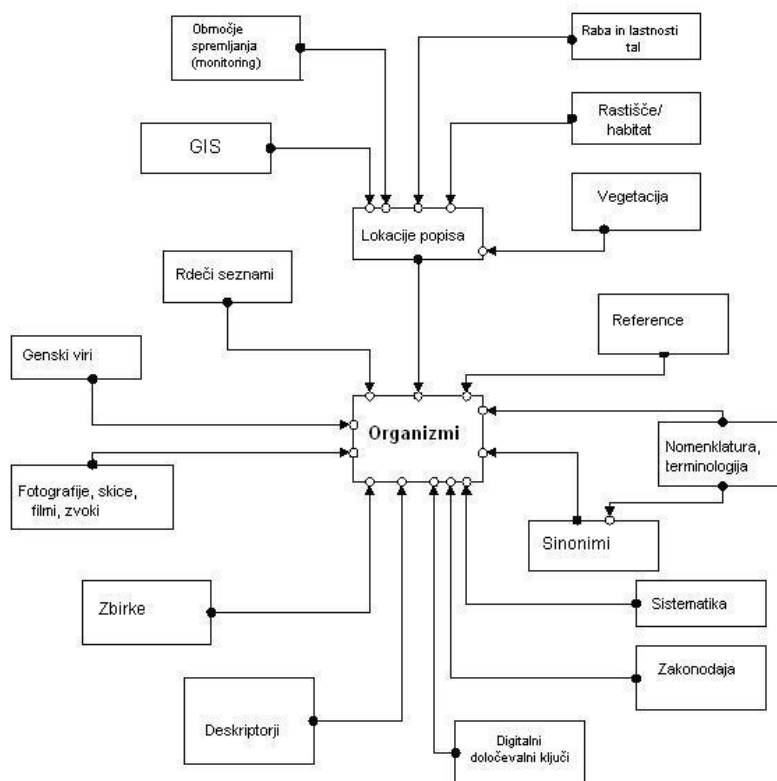
2.1.3. Okoljski in habitatni deskriptorji (Environment and Site descriptors) opisujejo okoljske (geografske, talne, reliefne, fitocenološke, mikroklimatske) in specifične habitatne parametre, ki so zaradi interakcije med ekotipom genskega vira in okoljem pomembni za karakterizacijo, vrednotenje abundance, potencialne ogroženosti in uporabnih lastnosti genskega vira.

2.1.4 Karakterizacijski deskriptorji (Characterization descriptors) opisujejo morfološke, sistematske, citološke, kemijske, produkcijske (biomasa/m²) in uporabne lastnosti vzorčenih primerkov iz naravnega genskega vira. Zaradi vezanosti na določen takson so vrstno specifični in se pri vsaki vrsti nekoliko razlikujejo.

2.1.5 Evalvacijski deskriptorji (Evaluation descriptors) so namenjeni *ex situ* vrednotenju genskih virov proučevanih vzorčnih primerkov.

2.2 MEDPLANT informacijski sistem

V svetu izbirajo za obdelavo podatkov in dokumentacijo passport podatkov različne informacijske sisteme. Skupina za zdravilne in aromatične rastline pri Biotehniški fakulteti Univerze v Ljubljani (BFUNI) je v okviru raziskovalnega dela razvila programsko okolje, ki omogoča in olajša spremljanje pojavljanja ter ohranitev naravnih genskih virov, zato so bili izdelani postopki in tehnična navodila za varovanje in regeneracijo genskih virov. Karakterizacija rastišč in populacij izbranih rastlinskih vrst je osnovana na opazovanju in meritvah florističnih in fitocenoloških podatkov, morfoloških, kemotaksonomskih in citoloških spremenljivk. Programska podpora vrednotenju (MEDPLANT) se navezuje na doktrino poznavanja ekosistema (rastlina – okolje – organizmi), v katerem se je naravna populacija razvila in se prilagodila na mikroklimatske razmere. Zbrani podatki o flori, vegetaciji in habitatih so bili vnešeni v podatkovno zbirko FloVegSi, nadgrajeni s pomočjo Talnega informacijskega sistema (TIS/ICPVO) (Vrščaj in Lobnik, 1999) in vključitvijo sistema deskriptorjev za kolekcioniranje, kartiranje in vrednotenje in so del obsežnejše relacijske baze - informacijskega sistema MEDPLANT, ki omogoča kombinirano iskanje podatkov, njihovo analizo in izmenjavo med sodelujočimi inštitucijami (Slika 1).



Slika 1: Shematski prikaz relacijske podatkovne baze.

3 REZULTATI

Pri opravljenih več kot 100 florističnih in fitocenoloških popisih na izbranih rastiščih vzorčnih (modelnih) vrst smo zbrali podatke za 355 taksonov, od katerih je 20 vrst (5,6 %) iz Rdečega seznama Slovenije (14 ranljivih – V, 4 redke – R in 2 vrsti izven nevarnosti – O) in 18 zavarovanih vrst (5 %) v Sloveniji (3 od teh vrst, *Arnica montana* L., *Gentiana lutea* L. subsp. *symphyandra* Murbeck in *G. lutea* L. subsp. *vardjanii* T. Wraber, so bile vključene v raziskavo kot modelne vrste); približno 2000 zapisov za posamezne taksonse je vnešenih v podatkovno bazo FloVegSi (Seliškar in sod., 2003), s pomočjo katere smo navedene podatke skupaj z rezultati pedoloških analiz in s podatki iz Talnega informacijskega sistema (TIS/ICPVO, 2012) ter z rezultati vrednotenja vzorčnih primerkov, nabranih bodisi *in situ*

(naravno rastišče) ali *ex situ* povezali v skupni informacijski sistem MEDPLANT.

Obravnavani taksoni aromatičnih in zdravilnih rastlin se pojavljajo v naslednjih združbah/habitatnih tipih (navedena je tudi šifra habitatnega tipa) (Jogan in sod., 2004): navadna **arnika** (*Arnica montana* L.) - *Polygalo-Nardetum* / Mezofilna do kserofilna volkovja pod gozdno mejo (35.11), **vardjanov rumeni svišč (vardjanov košutnik)** (*Gentiana lutea* subsp. *vardjanii* T. Wraber) - *Ranunculo hybridi-Caricetum sempervirentis* / Alpska in subalpska travišča na karbonatni podlagi (36.413), **bratinski rumeni svišč (bratinski košutnik)** (*Gentiana lutea* subsp. *symphyandra* Murb.) - *Carici humilis-Centaureetum rupestris laserpitietosum sileris* / Submediteransko-ilirski pašniki in suhi

kamniti travniki Visokega kras z nizkim šašem in skalnim glavincem (34.7521S1), **žajbelj** (*Salvia officinalis* L.) - *Stipo-Salvietum officinalis*, *Carici humilis-Centaureetum rupestris anthylidetosum vulnerariae /polyphyllae* / Submediteransko-ilirski pašniki in suhi kamniti travniki kraških planot Nizkega krasa z nizkim šašem in skalnim glavincem (34.7521S2), **pisani šetraj** (*Satureja montana* subps. *variegata* (Host.) P.W.Ball.), **razkrečena rutica** (*Ruta divaricata* Ten.) in **pravi ranjak** (*Anthyllis vulneraria* L.) - *Carici humilis-Centaureetum rupestris anthylidetosum vulnerariae / polyphyllae* / Submediteransko-ilirski pašniki in suhi kamniti travniki kraških planot Nizkega krasa z nizkim šašem in skalnim glavincem (34.7521S2), **malinjak** (*Rubus idaeus* L.) - *Rubetum idaei* / - , **navadna dobra misel** (*Origanum vulgare* L.) - združbe gozdnih robov / Mezofilni gozdni robovi (34.42), **šentjanževka** (*Hypericum perforatum* L.) - združbe *Trifolio-Geranieta* / Kserotermofilni gozdni robovi (34.41), **dolgostebelna materina dušica** (*Thymus longicaulis* C.Presl)

in liburnijski šetraj (*Satureja subspicata* subsp. *liburnica* Šilić), - *Carici humilis-Centaureetum rupestris satureetosum variegatae* / Submediteransko-ilirski pašniki in suhi kamniti travniki kraških planot Nizkega krasa z nizkim šašem in skalnim glavincem (34.7521S2), **navadni rman** (*Achillea millefolium* L.) - *Pastinaco-Arrhenatheretum* / Srednjeevropski mezotrofni do evtrofni nižinski travniki (38.22), **pravi pelin** (*Artemisia absinthium* L.) in **navadna melisa** (*Melissa officinalis* L.) - *Smirnetum perfoliatae* / Ruderalne združbe (87.2), Kserotermofilni gozdni robovi (34.41).

Rezultati morfoloških in kemijskih analiz nakazujejo, da so vrednoteni primerki modelnih vrst večinoma izpolnjevali zahtevane kakovostne kriterije, z izjemo večine vzorčnih primerkov populacij rmana, pri katerem bo potrebno s pomočjo informacijskega sistema natančneje opredeliti povezavo med kemotaksonomskimi lastnostmi populacij in okoljskimi deskriptorji.

4 DISKUSIJA IN SKLEPI

Ugotovili smo (i) značilna rastišča izbranih aromatičnih in zdravilnih vrst in ocenili vplive, ki neposredno ali posredno vplivajo na vzdrževanje ugodnega stanja rastišč. (ii) Vse obravnavane vrste uspevajo na sekundarno nastalih površinah izven gozda, to je na traviščih in ruderalnih mestih. (iii) Za ohranjanje vrst v naravnem okolju so pomembni ukrepi redna košnja ali zmerno intenzivna paša, ustrezna raba gnojil - od zmerne rabe do popolne odsotnosti. (iv) Velika grožnja hitremu izginjanju ustreznih rastišč je opuščanje rabe in posledično zaraščanje z grmovnimi vrstami in v končni fazi z gozdom. (v) Nikjer nismo registrirali nevarnosti za zmanjšanje populacij rastlin zaradi pretiranega nabiranja rastlin za lastno uporabo ali za prodajo, močno ogrožujoč dejavnik za

ohranjanje naravnih populacij pa je spreminjanje rabe tal v pašnik. (vi) Obsežni predeli v območjih Natura 2000 in izven njih so potencialno ustrezna za sonaravno gojenje zdravilnih in aromatičnih rastlin, npr. v območjih Kras, Banjšice, Trnovski gozd in Nanos.

V GIS okolju smo s pomočjo računalniškega programa ARCGIS 9 razvili metodološki pristop za opredelitev verjetnih območij ekoloških niš oziroma potencialnih rastišč, kjer bi izbrana rastlinska vrsta lahko uspevala. Uporabili smo okoljske oziroma habitatne parametre vzorčnih vrst rastlin (opredeljene glede na njihove ekološke potrebe) in razpoložljive prostorske informacije: lastnosti tal (globina, pH, organska snov, tekstura...),

relief, ekspozicija in nadmorska višina (suho, vlažno, senčno, rastlišče,) ter vrsta rabe tal. Upoštevajoč omenjene kriterije smo programsko orodje testirali na različnih taksonih štirih rastlinskih vrst: bratinskega košutnika (*Gentiana lutea* subsp. *symphyandra* Murb), šentjanževke (*Hypericum perforatum* L.), navadnega rmana (*Achillea millefolium* L.) in navadne kumine (*Carum carvi* L.). Ugotovili smo, da je pri različnih rastlinskih vrstah ujemanje dejansko kartiranih lokacij z modelno pridobljenimi potencialnimi rastišči različno. Najboljše ujemanje smo pridobili za navadno arniko (*Arnica montana* L.) in skupino taksonov navadnega rmana (*Achillea millefolium* agg.), ki smo ga zaradi premajhnega števila ponovitev lahko opredelili le izkustveno oz. kvalitativno. Kljub temu predstavlja opisan informacijski sistem MEDPLANT dobro metodološko osnovo za kvantitativno karakterizacijo rastišč, ki so ključna za pojavnost vrste ZAR in predvsem izboru optimalnih območij za njihovo pridelovanje.

Zbrani podatki predstavljajo znaten prispevek v zbiru podatkov naravne dediščine Slovenije ter k vedenju o razširjenosti rastlinskih vrst v

Sloveniji s poudarkom na aromatičnih in zdravilnih rastlinah oziroma k poznavanju horologije ogroženih in zavarovanih rastlinskih vrst Slovenije:

- znaten je prispevek k poznavanju horologije viabilnih populacij izbranih kmetijskih in drugih potencialno uporabnih rastlinskih vrst;
- ustrezno organiziran informacijski sistem, ki povezuje vsebine bioloških, geografsko-pedoloških, agronomsko-farmaceutskih podatkov, je osnovno orodje za zbiranje in analiziranje številnih podatkov o genskih virih tistih kmetijskih in drugih potencialno uporabnih rastlinskih vrst, ki so v evropskih državah in Sloveniji prednostne z vidika ohranitve naravnih virov.
- zbrani podatki terenskih vzorčenj (horološki, pedološki idr.) in laboratorijskih analiz predstavljajo dragocen zbir tovrstnih podatkov, ki bogatijo vedenje o slovenski naravni dediščini (v zbranem inventarju z raziskovanega območja je bilo ugotovljenih 20 vrst iz Rdečega seznama Slovenije in 18 zavarovanih vrst v Sloveniji ter zabeležena njihova nova nahajališča).

5 ZAHVALA

Raziskava je potekala v okviru aplikativnega raziskovalnega projekta: 'Razvoj informacijskega sistema podatkovnih baz naravne nacionalne dediščine' (L7-7600). Projekt sta v obdobju 2005 – 2008 financirala Javna agencija za raziskovalno dejavnost RS in Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in

prehrano. Raziskava se nadaljuje v okviru strokovne naloge Slovenska rastlinska genska banka (Genska banka zdravilnih in aromatičnih rastlin BF), ki jo financira Ministrstvo za kmetijstvo in okolje, Fitosanitarna uprava RS.

6 VIRI

Baričević, D, Vreš, B., Seliškar, A., Seliškar, T., Zupan, M., Turk, B., Gosar, B. 2008. Zasnova sistema za identifikacijo okoljskih parametrov, pomembnih za pojavnost rastlinskih vrst v naravnih rastiščih in za ugotavljanje potencialnih lokacij za pridelovanje zdravilnih in aromatičnih rastlin. V: TAJNŠEK, A.

(ur.). Novi izzivi v poljedelstvu 2008 : zbornik simpozija : proceedings of symposium, Rogaška Slatina, [4. in 5. december] 2008. Ljubljana: Slovensko agronomsko društvo, 2008, str. 250-256.

- Braun-Blanquet, J., 1964. Pflanzensoziozoologie. Grundzüge der Vegetationskunde, Springer, Wien.
- Bremner, P. D., Birkmayer, H., Tang, S., Muñoz-Blanco, E., Fiebich, B., Rivera, D., Heinrich, M. 2004. NF-kappaB Modulators from *Bupleurum fruticosum*. *Planta medica*, 70: 914–917
- Canter P.H., Thomas H., Ernst E. 2005. Bringing medicinal plants into cultivation: opportunities and challenges for biotechnology. *Trends in Biotechnology* 23(4): 180-185
- Chase, J. M., Leibold, M. A. 2003. *Ecological Niche: Linking Classical and Contemporary Approaches*. The University of Chicago Press, Chicago
- Ehrendorfer F., Hamann U. 1965. Vorschläge zu einer floristischen Kartierung von Mitteleuropa. – *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft* 78: 35–50.
- Franz C., Baričević D., Carlen, C. 2009. Genetic Resources, Conservation and Breeding. *Planta Med.*, 75, 9, 883-883.
- Hamilton AC. 2004. Medicinal plants, conservation and livelihoods. *Biodiversity and Conservation* 13: 1477-1517.
- Heinrich, M. 2003. Ethnobotany and Natural Products: The search for new molecules, new treatments of old diseases or a better understanding of indigenous cultures? *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 3: 29–422
- Heinrich, M., Leonti, M., Nebel, S., Peschel, W. 2005a. 'Local Food – Nutraceuticals': An Example of a Multidisciplinary Research Project on Local Knowledge. *Journal of Pharmacology and Physiology (Suppl.)*, 56: 5–2
- Heinrich, M., Pieroni, A., Bremner, P. 2005b. *Medicinal Plants and Phytomedicines. V: 'The Cultural History of Plants'*. Consulting Editor: Ghilleen Prance, Scientific Editor: M. Nesbitt. New York. Routledge (Taylor and Francis): 205–238
- Jogan, N., Kaligarič, M., Leskovar, I., Seliškar, A., Dobravec, J. 2004. Habitatni tipi Slovenije HTS, tipologija. Agencija Republike Slovenije za okolje, Ljubljana: 64 s.
- Johns, T. 2002. Plant genetic diversity and malnutrition: Practical steps in the development of a global strategy linking plant genetic resource conservation and nutrition. *African Journal of Food and Nutritional Sciences*, 3: 98–100
- Johns, T., Eyzaguirre, P.B. 2000. Nutrition for sustainable environments. *SCN News* 21: 24-29.
- Johns, T., Eyzaguirre, P. B. 2002. Nutrition and the environment. in *Nutrition: A Foundation for Development*. ACC/SCN, Geneva
- Kala CP. 2005. Ethnomedicinal botany of the Apatani in the Eastern Himalayan region of India. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 1(11): 1-12
- Kala CP. 2009. Ethnobotanical and Ecological Approaches for Conservation of Medicinal and Aromatic Plants. V: *Proceedings of the IVth International Symposium on Breeding Research on Medicinal and Aromatic Plants (ISBMAP 2009)*. Ljubljana, Junij 17-21, 2009; str. 19-26.
- Kala CP, Ratajc P. 2012. High altitude biodiversity of the Alps and the Himalayas: ethnobotany, plant distribution and conservation perspective. *Biodiversity & Conservation* 21(4): 1115-1125
- Kaligarič, M. 1997. *Rastlinstvo Primorskega kras in Slovenske Istre: travniki in pašniki.- Zgodovinsko društvo za južno Primorsko: Znanstvenoraziskovalno središče Republike Slovenije: 111 s.*
- Poldini, L. 1989. *La vegetazione del Carso Isontino e Triestino*. Lint, Trieste: 313 s.
- Schippmann U., Leaman D.J., Cunningham A.B. 2001. Impact of cultivation and gathering of medicinal plants on biodiversity. *Global trends and issues.- V: FAO (Ed.): Biodiversity and the ecosystem approach in agriculture, forestry and fisheries*. FAO, Rim: 142-167.
- Seliškar, T., Vreš, B., Seliškar, A. 2003. FloVegSi 2.0. Računalniški program za urejanje in analizo bioloških podatkov. Biološki inštitut ZRC SAZU, Ljubljana.
- Sõukand R., Kalle R. 2010. Plant as Object within Herbal Landscape: Different. Kinds of Perception. *Biosemiotics* 3(3): 299-313
- TIS/ICPVO. 2012. Talni informacijski sistem. Infrastrukturni center za pedologijo in varstvo okolja, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani, 1990-2012.
- Troppman, L., Johns, T., Gray-Donald, K. 2002. Natural health product use in Canada. *Canadian Journal of Public Health*, 93: 426–430
- Uradni list RS 82. 2002. Pravilnik o uvrstitvi ogroženih rastlinskih in živalskih vrst v rdeči seznam. Uradni list Republike Slovenije (24. 9. 2002) – Uredbe, 82: 8893–8975.
<http://www.uradni-list.si/1/ulonline.jsp?urlid=200282&dhid=44228>
- Uradni list RS 46. 2004. Uredba o zavarovanih prostoživečih živalskih vrstah v Sloveniji. Uradni

- list Republike Slovenije (30. 4. 2004) – Uredbe, 46: 5963–6017.
<http://www.uradni-list.si/1/ulonline.jsp?urlid=200446&dhid=69468>
- Uradni list RS 49. 2004. Uredba o posebnih varstvenih območjih (območjih NATURA 2000).
<http://www.uradni-list.si/1/ulonline.jsp?urlid=200449&dhid=69540>
- Uradni list RS 110. 2004. Uredba o spremembah in dopolnitvah Uredbe o posebnih varstvenih območjih (območjih NATURA 2000),
<http://www.uradni-list.si/1/ulonline.jsp?urlid=2004110&dhid=72065>
- Vrščaj, B., Lobnik, F. 1999. Establishment of digital soil MAP of Slovenia in the scale 1:25.000. Zb. Bioteh. fak. Univ. Ljublj., Kmet, 73, 2: 287–300

Agrovoc descriptors: prunus, vitis, rubus, *sambucus*, *sorbus*, *pyrus*, gene banks, collections, biodiversity, genetic resources, natural resources, data collection, rootstocks, genotypes, botanical gardens

Agris category code: F30

Genska banka Fakultete za kmetijstvo in biosistemske vede (FKBV) Univerze v Mariboru

Metka ŠIŠKO¹ in Anton IVANČIČ²

Received November 30, 2012; accepted December 05, 2012.

Delo je prispejelo 30. novembra 2012, sprejeto 05. decembra 2012.

IZVLEČEK

Gensko banko Fakultete za kmetijstvo in biosistemske vede (FKBV) smo začeli oblikovati leta 1996. Prvih 10 let je delo potekalo na zbiranju in vzdrževanju rastlinskih genskih virov in je bilo prilagojeno predvsem pedagoškim potrebam fakultete in žlahtnjenja. V zadnjih petih letih se je delo reorganiziralo v skladu s smernicami Ministrstva za kmetijstvo in okolje RS. Pomemben dejavnik je bila selitev fakultete iz Vrbanke ulice v Mariboru v Hoče. Na posestvu (ob botaničnem vrtu) je bila za potrebe genske banke ograjena površina v velikosti nekaj več kot 3 ha. Sedanja genska banka FKBV obsega rodove *Prunus*, *Rubus* in *Vitis*, za slednjega je to dopolnilna zbirka. Trenutno je poudarek na slivah, ki smo jih zbirali in vegetativno razmnožili (s cepljenjem in stranskimi poganjki). Na polju genske banke se trenutno nahaja 48 akcesij. Materiali češenj, marelic, višenj in breskev so v fazi zbiranja oz. prenosa na površine namenjene genski banki. V nastajanju je tudi genska banka malinjaka in robid. Površina za dopolnilno gensko banko žlahtne vinske trte in njenih sorodnikov se nahaja na Meranovem in obsega 288 akcesij. V prihodnje nameravamo gensko banko razširiti tudi na genske vire nekaterih drugih vrst, ki so bile nekdaj na Štajerskem zelo pomembne, sedaj pa izginjajo. To so po naših raziskavah navadno proso, lan in velikoplodne buče vrste *Cucurbita pepo*, ki so se nekoč uporabljale za prehrano ljudi in živali. V gensko banko bomo vključili tudi bezge (predvsem črni bezeg - *Sambucus nigra*), skorš (*Sorbus domestica*) in hruške moštнице. Mnoge ključne genotipe imamo dokumentirane, potrebno jih je le prenesti v gensko banko.

Ključne besede: genska banka, *Prunus*, *Vitis*, *Rubus*

ABSTRACT

GENE BANK OF THE FACULTY OF AGRICULTURE AND LIFE SCIENCES, UNIVERSITY OF MARIBOR

The gene bank of the Faculty of Agriculture and Life Sciences was established in 1996. During the first 10 years we were intensively collecting the genetic materials and establishing the techniques for their maintaining. The activities were closely associated with student's education and research. Later the activities were reorganised according to the guidelines on the Ministry of agriculture and the environment. During that time the faculty moved to a new location in the suburbs of Maribor – Hoče. For the need of the Faculty gene bank, an area of 3 ha was fenced next to the Botanical garden of the University of Maribor. The current collection of the Faculty gene bank involves three crucial genera: *Prunus*, *Rubus* and *Vitis*. For the genus *Vitis*, it is considered as supplementary collection. Currently, the emphasis is put on plums which have been collected past two years and maintained vegetatively (i.e., by grafting and side shoots). There are 48 accessions of plums. Materials of sweet and sour cherries, apricots, and peaches are in a state of being collected, multiplied and transferred to the collection field. Recently, a collection of raspberry and blackberry genotypes has been established. Our collection of *Vitis* species and genotypes is located at Meranovo, 8 km from the Faculty. It includes 288 accessions. In the future we plan to expand our collection and include genetic resources of other species, especially those which used to be very important in the past, but now they are subjected to intensive genetic erosion. According to our investigations these vulnerable species are: millet, flax, winter squashes, marrows and oil pumpkins, which used to be important food sources for humans and animals. The gene bank will also include elderberries (*Sambucus nigra*), service tree (*Sorbus domestica* L.), and pears used for the production of alcoholic drinks ('Moštница' group). Many of the crucial genotypes are documented, however, they need to be grafted on suitable rootstocks and transferred to the collection field.

Key words: gene bank, *Prunus*, *Vitis*, *Rubus*

¹ Univ. v Mariboru, Fakulteta za kmetijstvo, Pivola 10, 2311 Hoče, Izred.prof. dr.

² Univ. v Mariboru, Fakulteta za kmetijstvo, Pivola 10, 2311 Hoče, Red. prof. dr.

1 UVOD

Začetki genske banke FKBV segajo v 90-ta leta prejšnjega stoletja. S sistematičnim zbiranjem rastlinskih materialov ja začel prof. B. Krajnčič leta 1996. V začetku je bilo delo povezano z ustanavljanjem Botaničnega vrta Univerze v Mariboru, zaradi česar je bila prva genska banka Fakultete zelo nedoločena. Zbirka je obsegala veliko število rastlin (rodovi: *Picea*, *Abies*, *Quercus*, *Castanea*, *Tilia*, *Cornus*, *Magnolia*, *Rosa*, *Rubus*, *Malus*, *Pyrus*, *Prunus*, *Sorbus*, in *Salix*). Posebna skupina je zbirka zdravilnih rastlin, ki obsega razmeroma veliko rodov. Vsi ti zbrani materiali se danes nahajajo in ohranjajo v Botaničnem vrtu FKBV UM.

Vloženo je bilo ogromno sredstev in dela. Ko danes ocenjujemo te prve začetke, lahko rečemo, da je bilo zbrano veliko unikatnih materialov. Glavni problem je bil v tem, da ni bilo neke ožje specifikacije; bilo je preveč rodov, da bi se lahko posvetili genski pestrosti znotraj posameznih rodov. Zbiranja teh prvih materialov se niso osredotočila le na slovenske materiale. V zbirki, ki je del botaničnega vrta, obstajajo genotipi in/ali sorte iz skoraj vseh delov sveta (Krajnčič, 2007). Morda so delna izjema navadne smreke. Zbrano je kar nekaj specifičnih morfotipov te vrste iz območja Pohorja.

2 RAZVOJ GENSKE BANKE

Z razvojem zlahtnjenja na FKBV smo začeli zbirati predstavnike rodu *Cucurbita* in *Phaseolus*, pozneje pa tudi *Sambucus*. Pri bučah je nastal problem vzdrževanja posameznih akcesij. Za uspešno in dolgotrajno vzdrževanje je po naših izkušnjah potrebno vzgojiti 400 rastlin in jih skrižati med seboj po principu popolne slučajnosti. Uporaba čebel je sicer dokaj uporabna, toda le-ta pospešuje oplojevanje med sosednimi cvetovi in/ali rastlinami. Za ročno (kontrolirano) oplojevanje je potrebno veliko časa in dela, saj je potrebno cvetove (moške in ženske) izolirati dan pred odpiranjem. Po končani opravitvi pa moramo oprazen ženski cvet ponovno izolirati (Ivančič, 2002). Kolekcijo v manjši meri še vedno vzdržuje A. Ivančič na svojem domu.

Leta 2007 je senat FKBV določil osnovne smernice za razvoj genske banke. Leto pozneje pa je bila za gensko banko, v sklopu posestva FKBV na Pivoli pri Hočah, neposredno ob botaničnem vrtu, dodeljena površina v izmeri 3 ha. Površina je bila na novo ograjena.

Smernice, sprejete na senatu FKBV, pomenijo prvo reorganizacijo obstoječe genske banke. Prenehali smo z vrstami, ki ne spadajo v kmetijsko stroko. Še vedno je bilo v gensko banko FKBV vključenih 21, v nadaljevanju navedenih rodov.

Poljščine in vrtnine:

- Buče (*Cucurbita* spp.)
- Pšenice (*Triticum* spp.)
- Ječmeni (*Hordeum* spp.)

Krmne kulture:

- Plazeča in podzemna detelja (*T. repens* L., *T. subterraneum* L.)

Zdravilne in aromatske rastline:

- Pravi kolmež (*Acorus calamus* L.)
- Ježnica, ameriški slamnik (*Echinacea* spp.)

Jagodičevje:

- Jagodnjaki (*Fragaria* spp.)
- Grozdičja (*Ribes* spp.)
- Robide in malinjaki (*Rubus* spp.)
- Bezgi (*Sambucus* spp.)

Drevesne sadne vrste (pečkarji):

- Jablane (*Malus* spp.)
- Hruške (*Pyrus* spp.)
- Skorš (*Sorbus domestica*)
- Navadna kutina (*Cydonia oblonga* Mill.)
- Navadna nešplja (*Mespilus germanica* L.)

Drevesne sadne vrste (koščičarji):

- Slive (*Prunus* spp.)
- Češnje in višnje (*Prunus avium* L., *P. cerasus* L.)

- Vinogradniška breskev (*Prunus persica* subsp. *vulgaris*)

Ostale drevesne sadne vrste in vinska trta:

- Murve (*Morus* spp.)
- Dreni (*Cornus* spp.)
- Vinska trta (*Vitis vinifera* L.).

Zaradi pomanjkanja kadra in sredstev, smo začeli razmišljati, da bi se osredotočili na tisto, kar ne obstaja v drugih genskih bankah po Sloveniji. Še vedno pa smo vzdrževali in dopolnjevali majhne priročne kolekcije za potrebe žlahtnjenja in pedagoškega procesa.

3 TRENUTNO STANJE GENSKÉ BANKE FK BV

Zadnja reorganizacija, ki jo je podprl senat FK BV, pa je bila opravljena na predlog Skupine za koordinacijo dela Slovenske rastlinske genske banke (SRGB) leta 2009. Po tej reorganizaciji genska banka FK BV obsega: malinjake in robide (rod *Rubus*), slive, češnje, višnje, breskve (rod *Prunus*) in vinsko trto (rod *Vitis*). Slednja pomeni dopolnilno kolekcijo tiste, ki se nahaja v sklopu KIS-a.

3.1 Robide in malinjaki

Malinjaki so del evropskega projekta “*New agricultural practices for quality production of red fruits enriched in healthy compounds*”, v okviru katerega smo že pred leti začeli zbirati domače avtohtone materiale, v zadnjem času pa prihajajo tudi materiali iz Bolgarije, Švice in Francije.

Na zbranih genotipih bomo opravili molekulske analize, z namenom iskanja duplikatov in sortno identifikacijo.

Pri zbiranju lokalnih materialov smo naleteli na problem poimenovanja akcesij. Mnogi, ki jih gojijo, ne vedo ne njihovega izvora, ne njihovega naziva.

3.2 Prunus

V letu 2010 smo v polje genske banke FK BV posadili 48 akcesij sliv (*Prunus domestica*), 30 jih je že cepljenih na drugi lokaciji in so bile v letu 2011 posajene na polje genske banke. Pripravljajo (cepijo) se tudi sadike češenj, breskev in marelic. Delo je razdeljeno tako, da posamezni sodelavci, ki so povezani s programom sadjarstva na FK BV, zbirajo materiale in jih razmnožujejo doma.

Na češnjah imamo program sodelovanja z inštitutom INRA – Bordeaux, Francija. Od njih smo prejeli prve materiale v maju 2010. Pri rodu *Prunus* nas ne zanimajo le sorte kot takšne, ampak tudi podlage za cepljenje (kar bo še posebej pomembno za marelice).

3.3 Vitis

Kolekcija obsega avtohtone, introducirane, interspecies hibride ter species in interspecies hibride, ki se uporabljajo za podlage. Kolekcija se nahaja na lokaciji Meranovo, ki je v sklopu posestva FK BV. Velik poudarek genske banke je tudi na zbiranju namiznih sort. Kolekcija glede na podatke iz leta 2010 obsega 288 akcesij.

3.4 Sambucus

Glede vključitve v gensko banko ostaja nerešena kolekcija bezgov. Ta se trenutno nahaja na posestvu staršev profesorja A. Ivančiča v bližini Brežic.

Za potrebe žlahtnjenja je pred 12 leti začel zbirati avtohtone materiale črnega bezga (*Sambucus nigra* L.) in rdečega bezga (*S. racemosa* L.).

Pozneje je v kolekcijo vključil tudi akcesije drugih vrst kot so *S. careulea* (modri bezeg),

S. ebulus L. (habat), *S. javanica* (javanski ali kitajski bezeg), *S. sibirica* (sibirski bezeg), *S. kamtchatica* (kamčatski bezeg), *S. racemosa* ssp. *miquelli*, *S. racemosa* ssp. *tigranii*. Kolekcija bezgov pa obsega tudi večino kombinacij medvrstnih križanj dveh in treh speciesov (vsaj 1500 rastlin).

Prof. A. Ivančič bi želel vsaj večji del te zbirke vključiti v obstoječo gensko banko. Velik interes za to zbirko so že pokazali strokovnjaki iz tujine (INRA).

4 VIRI

Ivančič, A. 2002. Hibridizacija pomembnejših rastlinskih vrst. Fakulteta za kmetijstvo, Maribor, s. 121-155

Krajncič, B. 2007. Rastline botaničnega vrta Univerze v Mariboru. Fakulteta za kmetijstvo, Maribor, 159 str.

Genska banka in žlahtnjenje krompirja v Sloveniji

Peter DOLNIČAR¹, Katarina RUDOLF PILIH²

Received November 30, 2012; accepted December 10, 2012.

Delo je prispelo 30. november 2012, sprejeto 10. december 2012.

IZVLEČEK

Opisana je zgodovina hranjenja in vzgoje novih sort krompirja v Sloveniji, od prvih sortnih poskusov leta 1895 na Ljubljanskem barju, do varietetnega vrta po letu 1935 na Bokalcah. Z vzgojo novih sort so na Kmetijskem inštitutu Slovenije začeli leta 1949 in do leta 1999 vzgojili 15 novih slovenskih sort krompirja. Z novim programom žlahtnjenja smo po letu 1993 vzgojili 9 na PVY odpornih sort krompirja. Slovenske sorte krompirja: 'Igor', 'Cvetnik', 'Dobrin', 'Jubilej', 'Karmin', 'Vesna', 'Matjaž', 'Jana', 'Jaka', 'Meta', 'Tone', 'Kresnik', 'Cita', 'Pšata', 'Bistra', 'KIS Mirna', 'KIS Sora', 'KIS Sotla', 'KIS Kokra', 'KIS Mura', 'KIS Vipava' in 'KIS Krka' se hrani na Kmetijskem inštitutu Slovenije v laboratoriju za tkivne kulture *in vitro* kot rastline in mikrogomolje ter kot rastline v mrežniku in na polju. Sortno pristnost zagotavljamo z metodo mikrosatelitskih markerjev.

Ključne besede: žlahtnjenje, genska banka, krompir, *in vitro*, mikrosatelitski markerji

ABSTRACT

GENE BANK AND POTATO BREEDING IN SLOVENIA

The history of potato breeding and gene bank in Slovenia is described. First variety trials were organized in 1895 in Ljubljansko barje, followed by variety garden in Bokalce after 1935. Breeding of new potato varieties started at Kmetijski inštitut Slovenije in 1949 and 15 varieties had been released until 1999. 9 new potato varieties resistant to PVY has been developed in a new breeding programme after 1993. At Kmetijski inštitut Slovenije slovenian potato varieties are maintained as *in vitro* plantlets in tissue culture lab, as micro tubers, and as plants in screenhouse and in the field: 'Igor', 'Cvetnik', 'Dobrin', 'Jubilej', 'Karmin', 'Vesna', 'Matjaž', 'Jana', 'Jaka', 'Meta', 'Tone', 'Kresnik', 'Cita', 'Pšata', 'Bistra', 'KIS Mirna', 'KIS Sora', 'KIS Sotla', 'KIS Kokra', 'KIS Mura', 'KIS Vipava' and 'KIS Krka'. Variety identity is checked by microsatellite markers.

Key words: breeding, gene bank, potato, *in vitro*, microsatellite markers

1 UVOD

Krompir (*Solanum tuberosum* L.) ki ga poznamo danes spada med razhudnikovke (družina Solanaceae) in je ena od mnogih vrst iz rodu *Solanum*, ki tvorijo gomolje. Izvira iz goratih predelov južne Amerike, od koder so ga v Evropo v 16. stoletju prvi prinesli Španci, pozneje pa tudi Angleži. Sprva se je širil po Evropi le kot okrasna rastlina v botaničnih vrtovih, kmalu pa so prepoznali njegovo pravo

vrednost za prehrano ljudi. Med preprostim prebivalstvom se je za prehrano ljudi in živali močno razširil šele v devetnajstem stoletju, ko so takratni vladarji ugotovili, da se z njim lahko uspešno bojujejo proti lakoti. Na Slovensko je prišel iz nemških dežel konec osemnajstega stoletja in šele dekreti cesarice Marije Terezije so Slovence prepričali, da so pričeli saditi krompir (Stabej, 1977).

¹ mag., Kmetijski inštitut Slovenije, Oddelek za poljedelstvo in semenarstvo, peter.dolnicar@kis.si

² dr., Kmetijski inštitut Slovenije, Oddelek za poljedelstvo in semenarstvo, katarina.rudolf@kis.si

Krompir je za rižem, pšenico in koruzo četrta najpomembnejša poljščina na svetu. V mnogih manj razvitih deželah velik pridelek krompirja še danes zagotavlja osnovno preskrbo prebivalstva s hrano in preživetje. V razvitem svetu je zaradi vsebnosti esencialnih aminokislin, vitaminov in ogljikovih hidratov cenjen kot pomemben sestavni del vsakodnevne prehrane. Pripravljamo in uživamo ga na mnogo načinov kot glavno jed, pred pripravljene prigrizke ali pa kot prilogo drugim jedem. Tudi Slovenci veljamo za ljubitelje krompirja, saj si skoraj ne znamo predstavljati tradicionalnega nedeljskega kosila brez krompirja. O tem pričajo številni recepti za pripravo krompirjevih jedi, nenazadnje imamo samo pri nas tudi društvo ljubiteljev praženega krompirja kot samostojne jedi.

Pridelovanje in poraba krompirja v svetu v zadnjih letih po podatkih FAO (FAO, 2011) naraščata, pri čemer je močan trend naraščanja v državah v razvoju z veliko prebivalstva (Kitajska in Indija), medtem ko v razvitem svetu tudi zaradi povečevanja pridelkov in tudi spremenjenih prehranskih navad zaznavamo upad površin s krompirjem. Podobno upada pridelava tudi v vzhodno evropskih državah in državah bivše Sovjetske zveze, kjer so tradicionalno pridelovali izjemno veliko

krompirja. Kljub temu je v teh državah poraba krompirja na prebivalca še vedno največja na svetu (na prvem mestu npr. Belorusija) (Dolničar, 2008a).

V Sloveniji se je pridelava krompirja v zadnjih letih močno zmanjšala. Po drugi svetovni vojni smo po podatkih Repanška (1949) krompir pridelovali na cca. 53.000 do 59.000 hektarjih površin. Pridelki so bili majhni, povprečna poraba na prebivalca pa je znašala okoli 120 kg. Do konca osemdesetih let prejšnjega stoletja so se površine s krompirjem zmanjšale na okoli 20.000 ha. V devetdesetih letih so se z opustitvijo pridelave domače sorte 'Igor' in uvedbo novih sort povprečni pridelki močno povečali. Ekonomika pridelave in pa razmere na trgu so prisilile manjše pridelovalce, da so mnogi prenehali s pridelovanjem krompirja. Tako imamo danes po podatkih iz vlog Agencije Republike Slovenije za kmetijske trge in razvoj podeželja (ARSKTRP, 2011) le še okoli 4.000 ha krompirjevih polj pri večjih pridelovalcih in po oceni avtorja še okoli 1000 ha pri manjših pridelovalcih in na vrtovih. Vendar tudi te površine pod krompirjem ob izboljšani agrotehnik in pridelkih v zadnjih letih v dobrih letinah zadoščajo za samooskrbo Slovencev s krompirjem.

2 ZAČETKI HRANJENJA SORT KROMPIRJA

Osnova za dolgoročno zagotavljanje samooskrbe s krompirjem je ustrezen sortiment krompirja ter pridelava zdravega semena. To so spoznali že zelo zgodaj, mnogo prej kot je bila ustanovljena prva genska banka. Sprva seveda niso poznali boleznih krompirja, ugotovili so le, da se po določenih letih krompir izrodi (»degenerira«), pridelki pa močno upadejo. To so pripisovali zmanjšanju vigorja krompirjevih rastlin zaradi prevelikega števila vegetativnih generacij. Zato so pričeli s pridobivanjem semena iz jagod krompirja.

Tako pridobljeno seme je ponovno rodilo, seveda dokler se ni ponovno degeneriralo. Danes vemo, da je pojav »degeneracije« povezan z okužbo s krompirjevimi virusi, ki jih večinoma prenašajo listne uši, ne prenašajo pa se preko pravega semena. To so bili začetki vzgoje novih sort krompirja. Žlahtnjenje novih sort se je močno okrepilo v prvi polovici dvajsetega stoletja, hkrati z njim pa tudi spoznanje, da je potrebno ohraniti stare sorte in dednino krompirja na sploh. Kmalu so žlahtnjitelji spoznali, da je genfond krompirja

v Evropi in Ameriki zelo ozek, da pa v domovini krompirja obstajajo številne sorodne vrste, ki posedujejo različne uporabne lastnosti, posebej še odpornosti proti različnim boleznim in škodljivcem. Temu so sledile številne odprave po vsej Latinski Ameriki in osnovane so bile prve genske banke, ki so zbrale tudi številno kolekcijo genskih virov

krompirja. Za varovanje dednine krompirja pa so pomembne tudi lokalne zbirke. Četudi ni Slovenija center raznolikosti, je pomembno, da ohranimo naše stare sorte. To spoznanje se je še okrepilo v zadnjih desetletjih zaradi pohoda intenzivnega kmetijstva, erozije genskih virov in podnebnih sprememb.

3 ZAČETKI HRANJENJA SORT KROMPIRJA V SLOVENIJI

Na območju Slovenije so pričeli s preskušanjem sort krompirja konec devetnajstega stoletja. V okolici Ljubljane je Kranjska kmetijska družba leta 1895 organizirala poskusno postajo na Ljubljanskem barju na posestvu Martina Peruzzija v Lipah. Med obema svetovnjima vojnama je bilo prvo stalnejše poskusno mesto na Poljanski cesti od leta 1931 pa na Bokalcah, kjer je bil od leta 1935 pa do konca druge svetovne vojne tako imenovani varietetni vrt. Na 2 hektarja velikem poskusnem polju je bilo zbranih 30 sort krompirja. Pred in med drugo svetovno vojno je poskuse s krompirjem vodil ing. Ivan Zaplotnik, ki je imel v programu dela tudi kolekcijiranje in žlahtnjenje sort, pri čemer je bila mišljena pozitivna odbira rastlin v zbranem sortimentu (Sluga, 2005).

Z ustanovitvijo Kmetijsko znanstvenega zavoda Slovenije v letu 1946, ki se je leta 1952 preoblikoval v Kmetijski poskusni in kontrolni zavod Slovenije, v letu 1955 pa v Kmetijski inštitut Slovenije, je delo ponovno zaživelo in se razširilo tudi na področje vzgoje novih

domačih sort krompirja. Delo je potekalo na posestvih Črnolo-Češenik, Poljane, Radlje in Beltinci. Glavna naloga Poskusne postaje Češenik (po združitvi s Čnelim) je bila žlahtnjenje krompirja, pšenice, ječmena in nekaterih krmnih rastlin. Tu so začeli z zbiranjem sortimenta krompirja in vzgojo novih sort krompirja. Do leta 1949 so zbrali več kot 250 sort in križancev krompirja, predvsem iz Združenih držav Amerike, Sovjetske zveze, Češkoslovaške ter v naslednjih letih tudi iz drugih evropskih držav, predvsem Nemčije in Nizozemske. V letu 1963 je bilo to delo delno preneseno v Komendo, na lokaciji v Češeniku pa je ostalo do leta 1987. Na poskusni postaji Poljane (poskusna polja v Javorjah in Podvrhu) so predvsem razmnoževali elitni semenski krompir okoli 200 sort namenjenih vzgoji novih slovenskih sort. V letu 1960 je bilo to delo preneseno v Šenčur in Voglje, kar je bilo pozneje podlaga za pridelavo semenskega krompirja v Kmetijsko živilskem kombinatu Kranj (Sluga, 2005).

4 VZGOJA PRVIH SLOVENSkih SORT KROMPIRJA

Vzgoja novih sort krompirja se je v Jugoslaviji v več centrih začela kmalu po drugi svetovni vojni. Najuspešnejša je bila prav v Sloveniji. Osnova za delo je bil ponovno zbran ustrezen sortiment krompirja. Leta 1948 so imeli v sortimentu 32 divjih vrst krompirja in 114 sort ter križancev. Naredili so prva križanja med

vrstami *Solanum catarrum* in *Solanum boegeri* ter med *Solanum catarrum* in *Solanum parodii*.

Z medvrstnim križanjem so delali predvsem v Češeniku, po letu 1955 pa tudi na selekcijski postaji v Poljanah. Kakšnih uporabnih

rezultatov ni bilo, saj vzgojeni križanci niso bili uporabljeni v nadaljnjih križanjih (Sluga, 2005).

Z načrtnim medsortnim križanjem so začeli v letu 1949. Za križanja so izbrali nekaj ameriških in nemških sort in križancev krompirja. Križanja so opravili na polju. Od 92 preskušanih kombinacij je bilo 23 uspešno opravešnih. Za matere rastline je bilo uporabljenih 17 sort, opraveševali pa so s 14 sortami ali križanci. Pri opravešanju sorte 'Figna' so uporabili mešanico cvetnega prahu sort 'Menominee', 'Katahdin', 'Voran' in ameriškega križanca 'X 297-3', pozneje priznanega kot sorta 'Cvetnik'. Iz te kombinacije je bila odbrana sorta 'Vesna'. Od preostalih kombinacij sta bili uspešni še 'BRA 639 x Katahdin' in 'Karmen x Menominee'. Iz vseh treh kombinacij so bile v letu 1962 priznane nove slovenske sorte 'Viktor', 'Jubilej', 'Karmin', 'Igor', 'Dobrin', 'Matjaž' in 'Vesna', torej kar 7 sort iz le 157 v letu 1950 na polje posajenih rastlin. V letu 1962 je bila prav tako priznana sorta 'Cvetnik' (Sluga, 2005).

V letih 1951, 1952, in naslednjih letih je bilo opravljenih kar nekaj križanj, vendar večinoma neuspešnih. Šele leto 1962 je bilo ponovno uspešno, saj je bila ob 82 križanih in 8 uspešnih kombinacijah ter posajenih 2830 sejancih v letu 1973 potrjena nova sorta 'Maja'. V letu 1963 je bilo križanih 25 uspešnih kombinacij, izmed 4890 sejancev pa je bila v letu 1973 potrjena nova sorta 'Jana'. Iz križanj v letu 1970 s sta bili v letu 1979 potrjeni dve novi Slovenki sorti krompirja 'Jaka' in 'Meta'. V letu 1975 je bila vzgojena in v letu 1989 potrjena sorta 'Kresnik', v letu 1978 pa leta 1988 potrjena sorta 'Tone' (Sluga, 2005).

Do leta 1990 je bilo priznanih 14 novih slovenskih sort krompirja, ki smo jih shranili tudi v genski banki. Do danes so se ohranile vse, razen sort 'Maja' in 'Viktorija', ki sta izgubljeni za vedno.

Iz sodelovanja med Kmetijskim inštitutom Slovenije in Univerzo v Keszthely-ju je bila leta 1998 priznana nova sorta 'Cita', prva pri nas odbrana sorta odporna proti krompirjevemu virusu Y.

5 VZGOJA NOVIH SLOVENSКИH SORT KROMPIRJA

Slovenski pridelovalci krompirja so se konec osemdesetih let soočili z velikimi težavami pri pridelovanju krompirja, saj je novi različek Y virusa (PVY^{NTN}) iz pridelovanja praktično izločil slovenske sorte, kar je pomenilo prelomnico v pridelovanju krompirja. Posebej je bila občutljiva nosilna sorta 'Igor', pri kateri so se na površini gomoljev pojavile značilne nekrotične pege.

Glede na probleme z občutljivostjo proti boleznim ter novimi zahtevami kupcev po ustrezni jedilni kakovosti sort, smo se na Kmetijskem inštitutu Slovenije odločili, da ponovno pričnemo z obsežnejšim programom vzgoje novih slovenskih sort. Cilj našega dela je bila vzgoja novih domačih belo mesnatih

kakovostnih sort krompirja, odpornih proti pomembnejšim boleznim in škodljivcem, ki ustrezajo okusu slovenskih porabnikov in bi v prihodnje zavzele pomemben delež v pridelovanju krompirja v Sloveniji in tudi tujini. Z delom smo začeli v letu 1993 in danes že lahko predstavimo prve nove slovenske sorte krompirja.

Žlahtnjenje kmetijskih rastlin je dolgotrajno delo, saj npr. pri krompirju traja postopek od križanja do potrditve nove sorte od 10 do 15 let. Najprej opravimo načrtovana križanja, tem pa sledi postopek selekcije, ki obsega več vzporednih metod selekcije in odbire. Te so odvisne od namena in ciljev vzgoje novih sort.

Program žlahtnjenja krompirja zajema naslednje postopke:

- izbiro staršev,
- križanja v prvem letu,
- vzgojo sejancev v drugem letu,
- vzgojo križancev na polju v tretjem do osmem letu,
- preizkušanje križancev v predizbiri,
- proces registracije nove sorte.

Postopek selekcije obsega več vzporednih metod, ki so odvisne od ciljev žlahtnjenja:

- odbiro klonov, odpornih proti virusom,
- odbiro klonov, tolerantnih na herbicid metribuzin,
- odbiro kvalitativno dedovanih lastnosti (oblika gomoljev, globina očes, barva kože in mesa, dolžina stolonov, habitus,...),
- odbiro kvantitativno dedovanih lastnosti (pridelek, število gomoljev,...),

- spremljanje in določevanje občutljivosti na krompirjevo plesen,
- preizkus jedilne kakovosti,
- opis klonov.

Uspešni odbiri nato sledi uradno preskušanje gospodarsko pomembnih lastnosti in preskušanje RIN (raznolikosti, izenačenosti in nespremenljivosti), kar je osnova za uvrstitev sorte na sortno listo (Dolničar, 2008b).

Doslej so bile potrjene naslednje nove sorte krompirja: 'Pšata' in 'Bistra' v letu 2004, 'KIS Sora' v letu 2006, 'KIS Mirna' v letu 2008, 'KIS Kokr'a' in 'KIS Sotla' v letu 2010, 'KIS Mura' v letu 2011 ter 'KIS Vipava' in 'KIS Krka' v letu 2012. Vse sorte so popolnoma odporne proti krompirjevemu virusu Y, poleg tega pa so posamezne sorte odporne še proti krompirjevemu raku (soj D1), nekaterim rasam rumene in bele cistotvorne ogorčice, 'Bistra' proti virusu zvijanja listov, 'KIS Kokra' je odporna proti krompirjevi plesni na listih. V preskušanju so še perspektivni križanci, ki bodo potrjeni kot nove sorte v prihodnjih letih.

6 HRANJENJE SLOVENSКИH SORT KROMPIRJA PO VZPOSTAVITVI LABORATORIJEV ZA HITRO RAZMNOŽEVANJE

Postavitev laboratorijev za hitro razmnoževanje (tkivne kulture) v osemdesetih letih prejšnjega stoletja je pomenil nov mejnik tudi za hranjenje sort krompirja v Sloveniji. Leta 1984 je bil postavljen nov laboratorij za tkivne kulture v podjetju Kmetijsko živilski kombinat Kranj (KŽK) v Šenčurju pri Kranju, leta 1986 pa tudi v Seleksijskem centru za krompir na Kmetijskem inštitutu Slovenije v Mostah pri Komendi. Naloga prvega je bila razmnoževanje osnovnega semena tujih sort krompirja, na Kmetijskem inštitutu Slovenije pa so pričeli s pridelovanjem zdravega osnovnega in pred osnovnega semena domačih sort. Hkrati z uvedbo hitrega razmnoževanja v sterilni tkivni kulturi *in vitro* je bilo uvedeno tudi serološko določevanje virusov po metodi

das-ELISA. Obe tehniki sta omogočili tudi vzpostavitev hranjenja genskih virov krompirja na povsem novo raven. V letu 2004 se je laboratorij za tkivne kulture preselil na sedež Kmetijskega inštituta v Ljubljano.

Vnos genetskega materiala domačih - pozneje pa tudi tujih - sort krompirja *in vitro* se je pričel v letu 1988. Sprva so hranili material predvsem kot rastline *in vitro*, v rastnih komorah pri dnevno nočni temperaturi 22/18 °C in dolžini dneva 16 ur. Uporabljeno gojišče je bilo polovična koncentracija standardnega MS (Murashige in Skoog, 1962) gojišča z dodatkom 30 g/l saharoze in 8 g/l agarja, kislost gojišča oziroma pH vrednost je bila 5,7-5,8. Rastline je bilo potrebno

prestavljati na 2 do 4 tedne. Režim hranjenja so sčasoma optimizirali tako, da so rastline rasle prva dva tedna na 18-20 °C, nato pa dva meseca na 8-11 °C. Kmalu se je pokazalo, da je tako hranjenje predrago, saj je bilo potrebno rastline *in vitro* razmnoževati vsaj 5 x letno.

Zaradi zagotavljanja varnosti hranjenega materiala so uvedli pridelavo mikrogomoljev *in vitro*. Rastline se namnožijo v sterilnih razmerah *in vitro* in shranijo na sobni temperaturi v temi za 3 mesece. Za

mikrotuberizacijo se rastline namnožijo v steklenih kozarcih 75 x 55 mm s polipropilenskim pokrovom, uporabljeno gojišče je polna koncentracija standardnega MS gojišča z dodatkom 80 g/l saharoze, 7,5 g/l agarja, kislost gojišča oziroma pH vrednost je bila 5,8. Po pobiranju gomolje lahko hranimo pri 4 °C v hladilniku leto do leto in pol. V letu 1996 so tako v genski banki hranili že 118 sort krompirja, po najmanj štiri epruvete na sorto (slika 1) (Komatar, 2004).



Slika 1: *In vitro* hranjenje krompirjevih sort z mikrogomolji (vir: Dolničar)

Da bi optimizirali delo pri hranjenju genskih virov krompirja, smo v letu 2003 pričeli s hranjenjem rastlin *in vitro* na standardnem prej opisanem MS gojišču z dodatkom 20 g/l sorbitola. Sorbitol močno upočasni rast, tako da je manjkrat potrebno prestavljanje rastlin *in vitro*. Rastline se sicer močno razrastejo, vendar že po enkratni do dvakratni predstavitvi na standardno MS gojišče preidejo v normalno rast. Rastline ves čas rastejo na temperaturi 20 °C (Komatar, 2004).

S serološkim določevanjem virusnih bolezni spremljamo zdravstveno stanje genfonda krompirja *in vitro* in *in vivo*. Po metodi das-ELISA vsako leto ugotavljamo prisotnost šestih najpogostejših virusov: krompirjevih virusov Y, A, S, X in M ter virusa zvijanja krompirjevih listov. Ves genetski material je vsakih nekaj let, obvezno pa ob novem vnosu, po metodi PCR (verižna reakcija s polimerazo) testiran na prisotnost viroida vretenatosti krompirjevih gomoljev (PSTVD) in rjave ter obročkaste bakterijske gnilobe.

7 GENSKA BANKA KROMPIRJA V SLOVENIJI DANES

Na Kmetijskem inštitutu Slovenije deluje genska banka krompirja kot del sistema slovenske rastlinske genske banke in je hkrati tesno povezana z drugimi genskimi bankami krompirja v Evropi. V sodelovanju z genskima bankama v Groß Lusewitzu v Nemčiji in

Havlíčkúv Brod na Češkem zagotavljamo hranjenje in izmenjavo varnostnih kopij našega genetskega materiala.

Glavna naloga genske banke krompirja v Sloveniji je hranjenje domačih sort krompirja

ter zbiranje in hranjenje starih iz pridelovanja že izginevajočih sort. Večino doslej požlahtnjenih lastnih sort krompirja: 'Igor', 'Cvetnik', 'Dobrin', 'Jubilej', 'Karmin', 'Vesna', 'Matjaž', 'Jana', 'Jaka', 'Meta', 'Tone', 'Kresnik', 'Cita', 'Pšata', 'Bistra', 'KIS Mirna', 'KIS Sora', 'KIS Sotla', 'KIS Kokra', 'KIS Mura', 'KIS Vipava' in 'KIS Krka' se hrani na Kmetijskem inštitutu Slovenije v laboratoriju za tkivne kulture *in vitro* kot rastline in mikrogomolje ter kot rastline v mrežniku in na polju. Poleg njih hranimo še nekatere sorte pomembne za žlahtnjenje krompirja.

Hkrati hranimo tudi druge sorte, predvsem za potrebe žlahtnjenja in vzgoje novih sort. Sistem hranjenja in katalogizacija vzorcev krompirja omogoča pridobitev manjših vzorcev rastlinskega materiala v katerikoli obliki vsem zainteresiranim. Z izmenjavo materiala med genskimi bankami pridobivamo tudi druge kakovostne genotipe namenjene programu žlahtnjenja krompirja.

V genski banki tako za potrebe žlahtnjenja hranimo še genotipe, ki so nosilci odpornosti proti boleznim in škodljivcem in so bili pridobljeni iz raziskovalnega programa USDA Univerze v Madisonu, v Wisconsinu iz Združenih držav Amerike:

Haploidni kloni:

'US-W 1'
'US-W 416'
'US-W 527'
'US-W 551'
'US-W 730'
'US-W 1817'
'US-W 13,125'

Klon odporen proti krompirjevi plesni: 'US 35.9'

Podvojena haploidna klon, ki tvorita 2n gamete:

'US-W 5293.3' ('phu 2257,0.2 x US-W 1' ('Katahdin'))
'US-W 5295.7'

Hibridi pridobljeni v letu 1991:

'10271' '13026 (H 396 Atlantic)' x (2 x 2EBN vrsta odporna proti ovelosti krompirja)
'10272' 'Ontario' x 4 x 4EBN vrsta odporna proti črni nogi
'10275' 'Atlantic x 4 x 4EBN vrsta odporna proti hapla nematodam
'10290' 'Katahdin' x '1991 (2013 brd. 218228 + tbr. 203900)' odporen proti krompirjevi plesni

Hibridi pridobljeni v letu 1992:

'10398' '(US-W 10,102 (x-143)(90-5861) x tar.)' x sib pollen odporen proti listnim ušem
'10419' 'Denali x Tbr. 2217-18 /23' odporen proti hapla nematodam

Hibridi pridobljeni v letu 1994:

'10442' 'Katahdin x scr.(473392) clone 94-4284-1' odporen proti listnim ušem
'10443' 'Katahdin x scr.(473392) clone 94-4284-2' odporen proti listnim ušem

Vsi so hranjeni v tkivni kulturi *in vitro* kot rastline in kot minigomolji v skladišču.

Opomba: Krompir je tetraploidna vrsta ($2n = 4x$), linije z reducirano ploidnostjo imenujemo haploidi ($2n = 2x$), še enkrat reducirane pa monoploidi ($n = x$).

Kot minigomolje v mrežniku hranimo 14 haploidnih populacij krompirja pridobljenih iz programa raziskovalne postaje Agriculture and Agri Good Canada v Frederictonu iz New Brunswicka v Kanadi (slika 2).

oprašena ♀		opraševalec ♂
'9479-05	x	9787-07'
'10908-05	x	7506-01'
'10908-05	x	9901-01'
'10908-05	x	10578-02'
'9479-05	x	7506-01'
'9901-01	x	10875-04'
'CH72.03	x	10875-04'
'DW84-1457	x	10875-04'
'591101.12	x	09901-01'
'591128.43	x	10875.04'
'591128.43	x	08675.21'
'591128.26	x	10875.04'
'590001.7	x	10875.04'
'590001.7	x	08675.21'



Slika 2: Haploidna rastlina krompirja

8 ZAGOTAVLJANJE SORTNE PRISTNOSTI

Pomembna naloga genske banke je zagotavljanje sortne pristnosti, zdravstvenega stanja in vrednotenje genetskih, morfoloških in drugih lastnosti akcesij v genski banki. Za razlikovanje genskega materiala in sort so pomembni opisi RIN (raznolikost, izenačenost in nespremenljivost). Pri krompirju ocenjujemo 42 različnih lastnosti na svetlobnih kaličih, listih, rastlinah, cvetovih, jagodah in gomoljih.

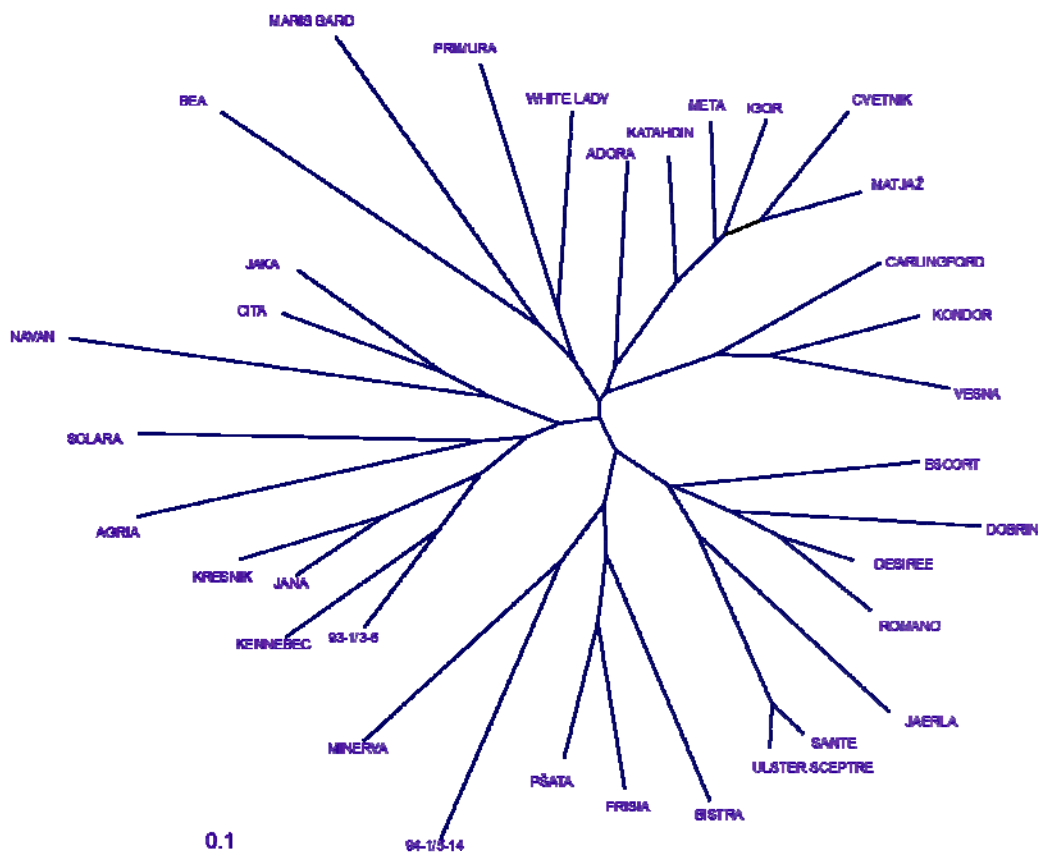
V zadnjih letih smo za zagotavljanje sortne pristnosti uvedli razlikovanje in identifikacijo

sort krompirja z metodo mikrosatelitskih markerjev (Rudolf Piliš s sod., 2006).

V raziskavo smo vključili 34 sort krompirja s slovenske sortne liste, med njimi 14 vzgojenih na Kmetijskem inštitutu Slovenije. Za zagotavljanje sortne pristnosti smo uvedli razlikovanje in identifikacijo sort krompirja z metodo mikrosatelitskih markerjev, kjer lahko zaradi velikega polimorfizma (v povprečju pet alelov na lokus) z le šestimi markerji (preglednica 1) zanesljivo in hitro potrdimo pristnost in razlikujemo sorte med seboj (slika 3).

Preglednica 1: Pregled mikrosatelitskih markerjev

Marker	Število alelov	PIC vrednost	Aleli (bp)
STM 1024	3	0,59	147,151,158
STM 2022	3	0,59	181,196,236
STM 2028	4	0,77	169,196,198,202
STM 3012	5	0,66	288,297,367,407,485
STM 5136	5	0,74	222,228,230,233,251
STM 5148	8	0,82	419,448,453,459,464,467,473,478



Slika 3: Razlikovanje in identifikacija sort krompirja s šestimi mikrosatelitskimi markerji.

9 DRUGO RAZISKOVALNO DELO

Raziskovalno delo na področju genske banke krompirja je namenjeno predvsem razvoju novih in optimizaciji že uveljavljenih metod hranjenja rastlinskih vzorcev krompirja *in vitro*, pri čemer je pomemben poudarek namenjen zmanjšanju možnosti kakršnih koli sprememb hranjenih akcesij. V zadnjih letih

smo tako preverili več metod pridobivanja mikrogomoljev *in vitro* ter z dodajanjem sorbitola standardnim gojiščem pomembno podaljšali interval razmnoževanja brezvirusnih rastlin *in vitro* (neobjavljeni rezultati Komatar, Dolničar).

10 LITERATURA

Agencija Republike Slovenije za kmetijske trge, 2011. <http://www.arsktrp.gov.si/>

Dolničar, P. 2008a. Zgodovinski pregled pridelovanja krompirja v svetu in pri nas: 46. Mednarodni kmetijsko-živilski sejem, Gornja Radgona, 23. - 29. avgust 2008: posvet ob svetovnem letu krompirja: Krompir - skriti zaklad. 2008.

Dolničar, P. 2008b. Vzgoja proti krompirjevi plesni na listih odpornih sort krompirja na Kmetijskem

inštitutu Slovenije = Breeding of potato varieties resistant to late blight on leaves at the Agricultural Institute of Slovenia. V: TAJNŠEK, Anton (ur.). Novi izzivi v poljedelstvu 2008: zbornik simpozija: proceedings of symposium, Rogaška Slatina, [4. in 5. december] 2008. Ljubljana: Slovensko agronomsko društvo, 2008, str. 103-107

FAO 2011. <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>

- Komatar, E. 2004. Pregled dela v laboratoriju za tkivne kulture od leta 1987 do 2004. Kmetijski inštitut Slovenije, interno poročilo, 8 s.
- Murashige T., Skoog H. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15: 473-479
- Repanšek, V. 1949. Gojimo krompir. Celjska tiskarna, Celje, 143 s.
- Rudolf Pilih, K., Kavar, T., Dolničar, P., Meglič, V. 2006. Microsatellite markers in phylogenetic and fingerprinting analyses of potato (*Solanum tuberosum* L.) = Uporaba mikrosatelitskih markerjev za identifikacijo in filogenetske analize krompirja (*Solanum tuberosum* L.). V: FILIPIČ, Metka (ur.), ZAJC, Irena (ur.). 4th Congress of Slovenian Genetic Society and 2nd Meeting of the Slovenian Society of Human Genetics with International Participation = IV. Kongres Slovenskega genetskega društva in II. srečanje Slovenskega društva za humano genetiko, z mednarodno udeležbo, September 28th-October 1st, 2006, Biološko središče, Ljubljana. *Genetika 2006 : Book of Abstracts*. Ljubljana: Slovensko genetsko društvo, 2006, str. 134, P 15.
- Sluga, T. 2005. Krompir v zgodovini Kmetijskega inštituta Slovenije. Kmetijski inštitut Slovenije, Raziskave in študije 81, Ljubljana, 63 s.
- Stabej J. 1977. Kruh ubogih. Kulturnozgodovinski in jezikovni začetki zgodovine krompirja na Slovenskem. Slovenska akademija znanosti in umetnosti, razred za filološke in literarne vede. Ljubljana, 94 s.

Agrovoc descriptors: brassica oleracea capitata, xanthomonas campestris, gene banks, collections, biodiversity, genetic resources, natural resources, data collection, varieties, land varieties, plant breeding, germplasm, hybrids, pollination, plant anatomy, inbreeding, crossbreeding, disease resistance, chemical composition

Agris category code: F30

Genska banka zelja in žlahtnjenje hibridnih sort (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L. f. *alba*)

Katarina RUDOLF PILIH¹, Borut BOHANEČ², Jelka ŠUŠTAR VOZLIČ³

Received November 30, 2012; accepted December 05, 2012.

Delo je prispelo 30. novembra 2012, sprejeto 05. decembra 2012.

IZVLEČEK

V Sloveniji ima pridelovanje zelja stoletno tradicijo, kljub temu pa se danes v glavnem pridelujejo le tuji hibridi in v manjši meri stare domače sorte. Prednost domačih sort je v lastnostih (npr. za kisanje), ki so vezane na zahteve domačega trga, medtem ko so hibridni kultivarji izenačeni, dosegajo veliko višje pridelke in imajo vnesene določene gene za specifične odpornosti proti boleznim. Pri dosedanjem žlahtnjenju zelja smo se na Kmetijskem inštitutu Slovenije kot tudi na Biotehniški fakulteti osredotočili predvsem na žlahtnjenje hibridnih sort zelja, ki naj bi vključevale dednino domačih ali udomačenih sort ter imeli povečano odpornost na črno žilavko kapusnic (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, Pammel). Kot izhodiščni material smo uporabili udomačeno sorto 'Varaždinsko' in angleški hibridni kultivar 'Hawke'. Čiste linije smo v preteklih letih dobili z indukcijo haploidov s pomočjo kulture mikrospor. Linije smo ocenili in križali ter križance primerjali z že uveljavljenimi tujimi hibridi. Na osnovi teh rezultatov bo zasnovan nadaljnji postopek. V kolikor bomo določili ugodno kombinacijo dveh ali več linij, bo del projekta usmerjen v razmnoževanje linij s samoopraševanjem, del pa v ugotavljanje izražanja inkompatibilnosti in navzkrižne sposobnosti opraševanja. Na ta način bomo pridelali hibridno seme, ki ga bo možno oddati v sortno testiranje, obenem pa se bo nadaljevalo delo na zagotavljanju možnosti pridobivanja semen izbranih linij. Na novo pridobljene linije bomo vključili v nova križanja in tako pridobili material, ki je potreben za nemoteno nadaljevanje žlahtniteljskega programa.

Pomemben vir dednine za križanja predstavljajo tudi domače avtohtone sorte. V genski banki zelja na Kmetijskem inštitutu Slovenije hranimo 12 različnih akcesij iz različnih predelov Slovenije. Od tega sta dva slovenska kultivarja, 'Emona' in 'Kranjsko okroglo', ki sta bila požlahtnjena na Kmetijskem inštitutu Slovenije. Akcesijam smo v preteklih letih določili tako morfološke kot tudi biokemične lastnosti. Na podlagi

dobljenih rezultatov smo izbrali najprimernejše in le te semenili. Na ta način smo pridobili seme rastlin primernih za selekcijo kot tudi za križanja, ki bodo v nadaljevanju lahko pripeljala do požlahtnitve novih sort in hibridov zelja.

Ključne besede: zelje, žlahtnjenje, genska banka

ABSTRACT

CABBAGE GENE BANK AND BREEDING OF HYBRID VARIETIES (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L. f. *alba*)

Cabbage production in Slovenia has a long tradition. Domestic varieties are bred from autochthonous population from different parts of Slovenia. The characteristics of domestic varieties (e.g. for sauering) are important for Slovenian consumers. On the other hand hybrid cultivars are uniform, give much higher yields and they are resistant to different diseases. So far, cabbage breeding at the Agricultural Institute of Slovenia and at Biotechnical faculty was focused on breeding of hybrid cultivar with germplasm of domesticated varieties and with increased resistance to black root (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, Pammel). A cross-breeds between domesticated variety 'Varaždinsko' and English hybrid cultivar 'Hawke' were used for inbreed production via microspore culture. Lines and hybrids were analysed in field trial and compared with commercial hybrids. Based on these results, the new procedure of breeding will be designed. If we will determine a favorable combination of two or more lines, the part of a project will be focused on lines reproduction with self pollination, detecting expression of incompatibility and cross-pollination abilities. In this way the hybrid seed will be produced and included in the national variety tests. At the same time we will continue with self-pollination to provide enough seeds of selected lines. The newly produced lines will be included in the new crossings. In this way we will gain the material needed for the continuation of breeding program.

¹ Dr. Kmetijski inštitut Slovenije, Hacquetova 17, 1000 Ljubljana, e-mail: katarina.rudolf@kis.si

² Prof. dr. Biotehniška fakulteta, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana

³ Doc.dr. Kmetijski inštitut Slovenije, Hacquetova 17, 1000 Ljubljana

As an important source of germplasm for crosses are the local autochthonous varieties. The gene bank of cabbage at Agricultural Institute of Slovenia combines 12 accessions from different parts of Slovenia. Two of these are Slovenian cultivars: 'Emona' and 'Kranjsko okroglo'. Both varieties were bred at Agricultural Institute of Slovenia. According to

the assessment of morphological and biochemical characteristics of all accessions in gene bank the most appropriate ones will be chosen for the production of new varieties and hybrids.

Key words: cabbage, breeding, genebank

1 UVOD

Pridelovanje zelja ima v Sloveniji stoletno tradicijo. Gojimo v glavnem domače sorte požlahtnjene iz avtohtonih populacij, ki izvirajo iz okolice Ljubljane, to so Kašeljško in Ljubljansko zelje. Z Bloške planote izhaja Bloško zelje, iz Škofjeloškega pogorja Zaloško zelje ter na meji s Hrvaško različni tipi Varaždinskega zelja.

S stališča slovenskega zelenjadarstva je pomembno žlahtnjenje novih sort in hibridnih kultivarjev zelja, ki bodo vključevali lastnosti domačih sort. Glede na to, je potrebno vzdrževati avtohtone slovenske sorte in populacije, ki so v genski banki Kmetijskega inštituta Slovenije. Žlahtnjenje lahko poteka na klasičen način, ki je dolgotrajen in delovno zahteven ali pa z uporabo biotehnoloških postopkov, s pomočjo katerih se je število let potrebnih za nastanek novih sort občutno skrajšalo. Žlahtnjenje hibridov vključuje

pridobivanje čistih linij, selekcijo linij, določanje kombinacijskih sposobnosti izbranih linij in križanje. Zelje je dvoletna tujeprašna rastlina. Postopek pridobivanja linij na klasičen način traja 10 let, saj potrebujemo najmanj pet generacij samoopraševanja. Precej hitreje lahko čiste linije pridobimo s postopkom indukcije haploidov oziroma dihaploidov. Dihaploidne rastline nastanejo s spontanim ali induciranim podvojevanjem kromosomov v haploidnih celicah in so teoretično popolnoma homozigotne. S samooprašitvijo dihaploidnih rastlin dobimo potomstvo, ki ga imenujemo čista linija. V preteklih letih smo v naš laboratorij uspešno vpeljali tehniko pridobivanja čistih linij s pomočjo kulture mikrospor. Cilj, ki smo si ga zastavili je vzgoja visoko produktivnega hibrida zelja s kvalitativnimi lastnostmi v slovenskem prostoru uveljavljenega kultivarja Varaždinsko.

2 MATERIAL IN METODE

2.1 Rastlinski material uporabljen pri biotehnoloških postopkih žlahtnjenja zelja (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.)

Za izhodiščni material smo v poskusih indukcije haploidov iz mikrospor uporabili kultivar 'Hawke F2' in udomačeno sorto 'Varaždinsko'. Poleg navedenih genotipov smo v poskus indukcije haploidov vključili še tri križance med kultivarjem Hawke in Varaždinsko. V nadaljevanju poskusa smo proučevali čiste linije zgoraj navedenih genotipov, ki smo jih pridobili s postopkom indukcije haploidov. V poljski poskus smo vključili 54 čistih linij in križancev. Kot

kontrolno smo uporabili sorto 'Varaždinsko' ter štiri komercialne, v Sloveniji uveljavljene hibride: 'Krautam F1', 'Atria F1', 'Bravo F1' in 'Rinda F1'.

2.2 Kultura mikrospor

Izolirane mikropore petih genotipov smo kultivirali na saharozno (NLN) gojišče brez rastnih regulatorjev, kateremu smo dodali sredstva za podvojevanje genoma: trifluralin in orizalin v različnih koncentracijah. Za induciranje sporofitnega razvoja mikrospor smo uporabili 48 urno tretiranje pri temperature 30 °C (Duijs, 1992; Hansen,

1994). Po preteku 21 do 30 dni od kultiviranja mikrospor v gojišče smo prešteli inducirane embrije.

2.3 Izsuševanje embrijev in dodajanje abscizinske kisline

V petrijevke smo dodali abscizinsko kislino, tako da je bila koncentracija v gojišču 5 mg/l. Po enodnevnem tretiranju z abscizinsko kislino smo embrije predstavili na sterile filter papir. Izsuševanje je trajalo 30 dni pri temperature 20 °C.

2.4 Regeneracija rastlin iz embrijev in aklimatizacija

Po 30 dneh izsuševanja smo embrije predstavili na trdno B5 gojišče (Gamborg in sod., 1968) z 2 % saharozo in 0,7 % agarja. Po 40-50 dneh od prvega kultiviranja embrijev na gojišče za regeneracijo, smo dihaploidne regenerante presadili v zemljo v mini rastlinjak, od tam pa v lončke premera 10 cm.

2.5 Merjenje ploidnosti

Ploidnost smo izmerili pred prenosom regenerantov iz *in vitro* v *in vivo* pogoje. V rastlinjak smo posadili le dihaploidne rastline. Stopnjo ploidnosti regenerantov smo določili s tehniko pretočne citometrije. Uporabili smo modificirano metodo Otta in sod. (1981), ki temelji na izolaciji jeder s citronsko kislino in barvanju jeder s fluorokromom DAPI v fosfatnem pufru. Ploidnost smo določili na osnovi C1 pikov, pri čemer smo imeli za kontrolo diploidno zelje.

2.6 Vernalizacija dihaploidov

Da bi pridobljeni dihaploidi čimprej in v čim večjem številu zacveteli, smo po obdobju aklimatizacije rastline 12 tednov vernalizirali pri 5 °C in 16 urni fotoperiodi. Rastline smo vernalizirali 12 tednov.

2.7 Samoopraševanje in križanje dihaploidov

Pri samoopraševanju dihaploidov zelja prihaja velikokrat do izražanja samoinkompatibilnosti. Z namenom, da bi efekt samoinkompatibilnostnih mehanizmov zmanjšali, smo pri samoopraševanju in križanju uporabili 6 % CO₂ in 3 % NaCl. Rastlinam, ki so imele 5-10 odprtih cvetov, smo le-te porezali. Zaprte cvetove primerne dolžine smo s pinceto odprli. Tako pripravljene cvetove smo oprášili s cvetnim prahom predhodno porezanih cvetov. Oprášene cvetove smo nato 12 ur tretirali s CO₂ v posebni komori. V primeru, ko smo rastline tretirali z NaCl, smo oprášene cvetove, po preteku 30 minut od opráševanja, poškopili. Oprášene cvetove smo pokrili s papirnatimi vrečkami in tako onemogočili neželjena križanja. Po oprášitvi so se formirali luski. Ko so se le-ti posušili, smo jih pobrali in pridobili seme čistih linij in križancev.

2.8 Preizkušanje čistih linij in križancev

V poljskem poskusu smo proučevali dihaploidne linije in križance. Kot kontrolne rastline smo uporabili sorto 'Varaždinsko' in štiri v Sloveniji uveljavljene hibride. Vse rastline vključene v poskus smo na koncu rastne dobe ocenili in jim določili izbrane parameter. Ohranili smo tiste čiste linije, ki so imele po statističnem izrednotenju najboljše lastnosti. Ponovno smo jih vernalizirali ter izvedli nova križanja med 18 različnimi genotipi, od tega smo jih sedem križali dialelno.

2.9 Določanje čistih linij odpornih na črno žilavko kapusnic (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, Pammel)

V raziskave odpornosti zelja proti črni žilavki smo vključili 6 čistih linij, 3 genotipe F1 generacije, ki izhajajo iz križanj med občutljivimi in tolerantnimi linijami ter za kontrolo tolerantni hibrid 'Matsumo F1' in občutljiv hibrid 'Krautman F1'. Štiri tedenske

sadike smo okužili s suspenzijo bakterij rase 1, 3 in 4 koncentracije 10^8 - 10^9 cfu (Vincente in sod., 2000; Jensen in sod., 2005). Ločeno smo gojili rastline, ki jih nismo okužili in smo jih uporabili kot kontrolo. Rastline smo gojili še

tri tedne v lončnih platojih in jih nato presadili na polje. Okuženost smo ocenili ob presajanju rastlin na prosto, drugič v polni rasti in tretjič ob spravilu pridelka.

3 REZULTATI

V poskusih indukcije haploidov smo s križanjem med odzivnim in neodzivnim genotipom zelja dosegli visoko stopnjo embriogeneze in dokazali, da je lastnost odzivnosti na indukcijo haploidov iz mikrospor močno dedna in v največji meri odvisna od genotipa. Število embrijev na genotip je bilo od 13,6 do 40,4 na petrijevko. Predno se odločimo za podvojevanje genoma, je potrebno proučiti stopnjo spontane diploidizacije, ki se močno razlikuje že med sorodnimi genotipi. Orizalin na podvojevanje genoma ni imel vpliva, medtem ko je bil trifluralin pri višjih koncentracijah deloma učinkovit. Trifluralin na embriogenezo ni imel vpliva, orizalin pa je delno ali popolno inhibiral indukcijo embrijev. Tretiranje embrijev z abscizinsko kislino in izsuševanje omogoča visoko stopnjo regeneracije in normalen razvoj rastlin zelja. Dosegli smo 54,7- 70,6 % regeneracijo. Za nadaljnje postopke žlahtnjenja je potrebno z indukcijo haploidov pridobiti čim večje število dihaploidov. Obdobje aklimatizacije in vernalizacije preživi določen odstotek rastlin, ki se jih lahko uporabi v postopkih

samoopraševanja. Samooprašijo se le rastline, ki nimajo izraženih samoinkompatibilnostnih mehanizmov. Z uporabo CO_2 je možno te mehanizme oslabiti. Čiste linije kažejo manjšo stopnjo inbriding depresije, medtem ko je pri križancih močno izražen heterotičen efekt. Od skupno 980 regenerantov smo aklimatizirali 387 dihaploidov, od tega je vernalizacijo preživel 33 % rastlin. Ob uporabi CO_2 smo uspešno samooprašili 54 linij zelja. Na podlagi morfoloških znakov smo odbrali 18 najprimernejših linij in jih medsebojno križali ter tako pridobili veliko število križancev, ki smo jih ovrednotili v poljskih poskusih. V raziskavah odpornosti na črno žilavko kapusnic smo določili dve liniji, ki sta tolerantni na tri rase te bakterijske bolezni. Tako smo pridobili material, ki je uporaben v namene slovenskega žlahtniteljskega programa kot tudi širše. Tolerantne linije smo vključili v nova križanja in se tako približali požlahtnitvi hibrida, ki bo imel poleg primernih morfoloških lastnosti tudi odpornost na črno žilavko kapusnic. Dobljeni rezultati so tudi osnova za proučevanje odpornosti na nivoju genoma.

4 SKLEPI

Skladno z vsem navedenim lahko ugotovimo, da nam je s postopkom indukcije haploidov rastlin uspelo inducirati veliko število dihaploidnih rastlin, ki smo jih lahko uporabili v postopkih samoopraševanja. Na ta način smo pridobili čiste linije, ki smo jih medsebojno križali. Izvedli smo 187 križanj med 18 čistimi linijami. Na podlagi poljskih poskusov

križanci niso v celoti izpolnili naših pričakovanj, zato smo zasnovali nov žlahtniteljski cikel, v katerega smo vključili genotipe, ki imajo poleg primernih morfoloških lastnosti, tudi odpornost na črno žilavko kapusnic. Celoten postopek žlahtnjenja se tako nadaljuje in trenutno smo v fazi preverjanja novih čistih linij. Sledi križanje

odbranih čistih linij in ocenjevanje linij v poljskem poskusu. Tako se približujemo požlahnitvi prvega slovenskega hibrida zelja, ki bo imel lastnosti domačih sort, ki so zanimive tako za slovenskega potrošnika, kot tudi širše.

5 ZAHVALA

Raziskava je potekala v okviru dveh ciljnih raziskovalnih projektov: 'Uporaba genskega potenciala tradicionalnih slovenskih vrst kmetijskih rastlin za žlahtnjenje novih sort prilagojenih spremenjenim klimatskim razmeram (V4-0482) in 'Genetsko izboljšanje kvalitativnih in kvantitativnih lastnosti ekonomsko pomembnih kmetijskih rastlin za konkurenčno in trajnostno pridelovanje v Sloveniji' (V4-0335). Projekta sta sofinancirala javna agencija za raziskovalno dejavnost RS in Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano.

6 VIRI

- Duijs J.C., Voorrips R.E., Visser D.L., Custers J.B.M. 1992. Microspore culture is successful in most crop types of *Brassica oleracea* L. *Euphytica*, 60: 45-55
- Gamborg O.L., Miller R.A., Ojima K. 1968. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Experimental Cell Research*, 50:151-158
- Hansen M. 1994. Gametic embryogenesis in *Brassica*: optimisation of production and germination of embryos.V: Proceedings of the international Colloquim on Impact of Plant Biotechnology on Agriculture. Rogla, 5-7 dec. 1994. Javornik B., Bohanec B., Kreft I. (eds). Ljubljana, Biotechnical Faculty, Agronomy Department, Centre for Plant Biotechnology and Breeding:15-18
- Jensen D.B., Massomo S.M.S., Swai I.S., Hockenhull J., Bode Andersen S. 2005. Field evaluation for resistance to the black rot pathogen *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in cabbage (*Brassica oleracea*). *European Journal of Plant Pathology*, 113:297-308
- Otto F.J., Oldiges H., Gohde W., Jain W.K. 1981. Flow cytometric measurement of nuclear DNA content variations as a potential *in vivo* mutagenicity test. *Cytometry*, 2:189-191
- Vincente J. G., Conway J., King G.J., Taylor J.D. 2000. Resistance to *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in *Brassica* spp. *Acta Horticulturae* 593:61-67

Agrovoc descriptors: brassica napus, gene banks, collections, biodiversity, genetic resources, natural resources, data collection, pollination, genotypes, seeds, habitats

Agris category code: F30

Zbiranje genskih virov oljne ogrščice (*Brassica napus* ssp. *napus* L.) iz različnih habitatov v Sloveniji

Barbara PIPAN¹, Jelka ŠUŠTAR-VOZLIČ², Vladimir MEGLIČ³

Received November 30, 2012; accepted December 05, 2012.

Delo je prispelo 30. novembra 2012, sprejeto 05. decembra 2012.

IZVLEČEK

Oljna ogrščina (*Brassica napus* L.) se v naravi pojavlja v različnih habitatih, njena prisotnost izven pridelovalnih površin pa omogoča spontan prenos peloda v času cvetenja. V osnovi je navadna ali oljna ogrščina samoprašna rastlinska vrsta, vendar pa zaradi variabilne stopnje tujeprašnosti v naravi prihaja do opravevanj znotraj vrste (posevki, samosevne rastline in podivjane populacije) in med vrstami (spolno kompatibilnimi sorodniki iz družine Brassicaceae). Zbiranje genskih virov rastlin navadne ogrščice iz različnih habitatov na območju celotne Slovenije je potekalo v štiriletnem časovnem obdobju. Sočasno je potekalo tudi zbiranje semen referenčnih genotipov oljne ter krmne ogrščice, ki so se od leta 1984 pridelovale v Sloveniji. Skupno smo v obdobju od 2007 do 2010 zbrali 334 genskih virov ogrščice, od tega 195 vzorcev rastlin podivjanih populacij, 66 vzorcev samosevnih rastlin, 19 vzorcev posevkov oljne ogrščice ter 54 referenčnih genotipov. Podrobne podatke o vsakem vzorcu smo sproti beležili v posebne formularje za terensko vzorčenje. Zbiranje genskih virov iz različnih habitatov v daljšem časovnem obdobju predstavlja začetni korak raziskav, katerih namen je opredeliti dejansko stanje prenosa genov med vsemi pojavnimi oblikami ogrščice ter njihove vplive na genetsko raznolikost sorodnih rastlinskih vrst v slovenskem pridelovalnem prostoru.

Ključne besede: *Brassica napus*, oljna ogrščina, Brassicaceae, samosevci, podivjane populacije, genski viri, genetska raznolikost

ABSTRACT

ACQUIREMENT OF GENETIC RESOURCES OF (*Brassica Napus* ssp. *napus* L.) FROM DIFFERENT HABITATS IN SLOVENIA

Rapeseed (*Brassica napus* L.) naturally occurs in different habitats. Its presence outside the cultivation areas allows the spontaneous transfer of pollen during the flowering time. *B. napus* is self-pollinated plant species with naturally occurred variable cross-pollination level. Consequently, the out-crossing within species (crops, volunteer plants and feral populations) and between species (sexually-compatible relatives of the Brassicaceae family) is possible. Collection of plant genetic resources of *B. napus* in different habitats in the entire territory of Slovenia was conducted in a four-year period. In addition seeds of reference genotypes of oilseed and fodder rape, which have been grown in Slovenia since 1984, were also obtained. In the period from 2007 to 2010 a total of 334 rapeseed accessions were collected; 195 samples were feral populations, 66 samples originated from volunteer plants, 19 samples were obtained from production fields and 54 samples were reference genotypes. Details for each sample were recorded simultaneously in specific forms for field sampling. The collected accessions of rapeseed from different habitats over time will be used in further studies of gene flow between appeared forms of *B. napus* and their impact on genetic diversity of related plants in the Slovenian production area.

Key words: *Brassica napus*, rape, Brassicaceae, volunteers, feral populations, genetic resources, genetic diversity

¹ Univ.dipl.inž.agr., Kmetijski inštitut Slovenije, Hacquetova 17, 1000 Ljubljana, e-pošta: barbara.pipan@kis.si

² Izr. prof.dr., univ.dipl.inž.agr., Kmetijski inštitut Slovenije, Hacquetova 17, 1000 Ljubljana

³ Izr.prof.dr., univ.dipl.inž.agr., Kmetijski inštitut Slovenije, Hacquetova 17, 1000 Ljubljana

1 UVOD

Oljna (navadna) ogrščica (*Brassica napus* L.) je kot alotetraploidna rastlinska vrsta nastala s spontanim medvrstnim križanjem med repo (*B. rapa* L.; AA genom, $2n = 20$) in zeljem (*B. oleracea* L.; CC genom, $2n = 18$). V osnovi je oljna ogrščica samoprašna rastlinska vrsta, vendar pa v odvisnosti od posameznega genotipa in specifičnih vplivov okolja lahko delež tujeprašnosti znaša od 5 do 47 % (Friedt in Snowden, 2009).

Prisotnost podivjanih (Slika 1) in samosevni (Slika 2) rastlin navadne v različnih habitatih najpogosteje izvira iz izgub semena med transportom (ob cestni infrastrukturi izven pridelovalnih površin) ali pa je posledica neustreznih agrotehničnih ukrepov znotraj pridelovalnih površin (Pascher in sod., 2006;

Pipan in sod., 2010). Te pojavne oblike v času cvetenja predstavljajo nedefinirane oprasne vire, ki v pridelovalnem prostoru sodelujejo pri prenosu genov tudi s posevki oljne ogrščice. Oljna ogrščica se lahko oprasi tudi s spolno kompatibilnimi sorodniki iz drugih rodov in vrst iz družine Brassicaceae. Prisotnost teh plevelnih in podivjanih rastlin v pridelovalnih razmerah lahko omogoči prenos genov v gojene rastline oljne ogrščice (Treu in Emberlin, 2000). Opisane oprasne aktivnosti lahko kratkoročno vplivajo na kakovost posevkov in sortno čistost, dolgoročno pa ohranjanje takega semena v tleh omogoča nenadzorovano spreminjanje genetskega potenciala rastlin navadne ogrščice.



Slika 1: Podivjane populacije navadne (oljne) ogrščice.



Slika 2: Samosevci v posevku krmnega graha.

Zbiranje genskih virov oljne ogrščice, ki se pojavljajo v različnih habitatih (ob cesti, na nasipih, ob novogradnjah ob rekah, ob železniški infrastrukturi, na neobdelanih površinah, na počivališčih, ob distribucijskih skladiščih,...) v štiriletnem časovnem sosedstvu, je zahtevalo uporabo sheme vzorčenja na

terenu, ki omogoča pridobiti genetsko čim bolj raznolik material. V ta namen smo razvili primerno shemo za pridobitev reprezentativnih vzorcev. Zbrani genski viri predstavljajo osnovo za nadaljevanje študije genetske raznolikosti oljne (navadne) ogrščice v slovenskem pridelovalnem prostoru z uporabo mikrosatelitnih markerjev.

2 MATERIAL IN METODE

Zbiranje genskih virov oljne (navadne) ogrščice (*Brassica napus* L. ssp. *napus*) iz različnih habitatov je potekalo na območju celotne Slovenije v štiriletnem časovnem obdobju (2007-2010). Vzorčili smo na dveh nivojih. Makrolokacijsko vzorčenje je zajemalo vse slovenske statistične regije, večje število vzorcev pa smo nabrali v regijah z večjim obsegom pridelave oljne ogrščice. Znotraj posamezne regije smo vzorčili na mikrolokacijah-habitatih s samosevnimi in podivjanimi rastlinami, hkrati smo vzorčili tudi posevke oljne ogrščice. Podatke o lokacijah in vzorčenih rastlinah smo vpisovali v posebne formularje za terensko vzorčenje, ki so vsebovali naslednje rubrike: oznaka vzorca, datum vzorčenja, status rastišča, natančen opis in GPS koordinate mikrolokacije, pojavna oblika rastline, prisotnost posevka ali spolno kompatibilnega sorodnika v radiju 100 m ter

posebnosti in opombe za posamezno mikrolokacijo. Rastlinski material je bil nabran na lokacijah, kjer je raslo pet ali več rastlin ogrščice na 1 m² talne površine, iz vsake rastline smo povzorčili štiri mlade liste. Iz vsakega lista, nabranega na eni lokaciji, smo odrezali del in ga združili v skupen vzorec. Posamezne vzorce smo homogenizirali, izolirali DNA in jo shranili za nadaljnje molekulske analize.

Poleg terenskega zbiranja rastlinskega materiala smo pridobili tudi genske vire vseh krmnih in oljnih genotipov, ki so se v zadnjih 25 letih pridelovali na območju Slovenije. V prvi fazi smo s pomočjo nacionalnih sortnih list, prodajnih katalogov in internih evidenc na Kmetijskem inštitutu Slovenije (KIS) pridobili podatke o teh genotipih. V drugi fazi pa smo pridobili seme teh genotipov od pristojnih

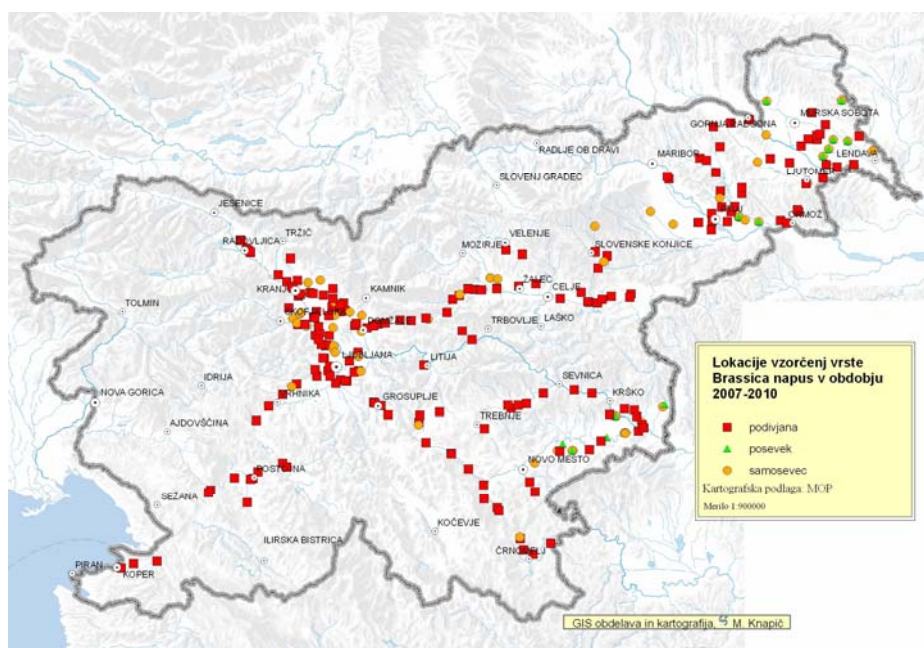
semenarskih hiš, ki tržijo seme oljne ogrščice, od evropskih genskih bank (Nemčija, Češka) ter iz zbirke standardnih vzorcev na KIS. Del pridobljenega semena smo nato posejali v zaščiten prostor in iz mladih rastlin izolirali

DNA, ostanek semena posameznih genotipov pa smo razmnožili in tako dodatno obogatili gensko banko na Kmetijskem inštitutu Sloveniji z novimi genskimi viri oljne ogrščice.

3 REZULTATI IN DISKUSIJA

V obdobju od 2007 do 2010 smo skupno zbrali 280 vzorcev oljne ogrščice, od tega 195 vzorcev rastlin podivjanih populacij, 66 vzorcev samosevnih rastlin ter 19 vzorcev posevkov oljne ogrščice (Slika 3). Podoben sistem zbiranja vzorcev so v avstrijski študiji uporabili tudi Pascher in sod., (2006), kjer so prav tako proučevali izvor podivjanih rastlin ogrščice ob transportni infrastrukturi, vendar so se osredotočili le na območje treh regij v Avstriji. Podrobni podatki o nabranih vzorcih

v Sloveniji z opisi na posebnih formularjih so na voljo pri avtorjih. Na osnovi pregleda podatkov različnih nacionalnih baz smo ugotovili, da se je v zadnjih 25-ih letih na območju Slovenije pridelovalo okrog 57 različnih sort in hibridov oljne ogrščice, od tega nam je preko različnih semenarskih hiš, podjetij, ki tržijo seme oljne ogrščice, genskih bank v Evropi in shranjenega semena oljne ogrščice na KIS uspelo zbrati seme 54-ih različnih genotipov (Preglednica 1).



Slika 3: Lokacije vzorčenja oljne ogrščice (*B. napus* L.ssp.*napus*) po Sloveniji v letih od 2007 do 2010.

Preglednica 1: Sortna struktura oljne ogrščice (*B. napus* L.ssp.*napus*) v Sloveniji od 1984 do 2010

Ime sorte/hibrida	Ime sorte/hibrida	Ime sorte/hibrida
'Adder'	'Kronos'	'PR46W31'
'Akela'	'Milena'	'Rasmus'
'Alaska'	'Mohican'	'Remy'
'Allure'	'Molino'	'Robust'
'Arista'	'Navajo'	'Rodeo'
'Baldur'	'NK Nemax'	'Rohan'
'Baros'	'NS-L-36'	'Smart'
'Brilland'	'NS-L-39'	'Starška'
'Bristol'	'Ontario'	'Tandem'
'Daniela'	'Petranova'	'Tassilo'
'Darmor'	'PR44W29'	'Titan'
'Digger'	'PR45D01'	'Triangle'
'Express'	'PR45D03'	'Viking'
'Gabriella'	'PR45D05'	'Visby'
'Helena'	'PR45W04'	'X08W982 L.'
'Helga'	'PR46W14'	'X08W984 L.'
'Honk'	'PR46W15'	'Xenon'
'Jet Neuf'	'PR46W24'	'Zenith'

Vsi pridobljeni genski viri so shranjeni na Kmetijskem inštitutu Slovenije v obliki zamrznjenih mladih listov ali kot seme v genski banki, oboji pa so shranjeni tudi v obliki DNA. Iz tako pridobljenih genskih virov, ki izvirajo iz območja celotne Slovenije

in so bili zbrani iz različnih tipov rastišč, lahko na podlagi primerjav z referenčnimi genotipi (seme genotipov iz Preglednice 1) identificiramo izvor samosevni in podivjanih populacij z uporabo mikrosatelitnih markejev.

4 SKLEPI

Na osnovi zbranega števila genskih virov različnih pojavnih oblik oljne ogrščice ugotavljamo, da je nedefiniranih oprasovalnih virov (samosevci, podivjane rastline) največ v tistih slovenskih regijah, kjer je tudi obseg pridelave največji. Ob vzorčenju na terenu smo opazili, da je pojavnost odvisna tudi od izbranega sistema kmetijske pridelave (konvencionalna, ekološka), saj so tudi agrotehnične zahteve v procesu pridelave med različnimi sistemi različno intenzivne. Osnovo za vrednotenje genske raznolikosti oljne ogrščice v Sloveniji na podlagi genetskih analiz zagotovo predstavlja kvalitetno in

reprezentativno vzorčenje na terenu, ki odraža dejansko stanje pojavnosti genskih virov oljne ogrščice v naravi. Na podlagi zbranega referenčnega materiala bo v nadaljnje mogoče vzpostaviti bazo podatkov s standardnimi sortami in hibridi, ki se (so se) pridelovali v Sloveniji. Genetske profile že znanih sort in hibridov bo mogoče primerjati z neznanimi genotipi oljne ogrščice, ki bi se pojavljali v slovenskem prostoru tako z vidika preverjanja sortne čistosti, identifikacije ali tudi detekcije gensko spremenjenih organizmov v neznanih rastlinskih vzorcih oljne ogrščice.

5 ZAHVALA

Zahvaljujemo se Mateju Knapiču za GIS obdelavo in kartografijo pri prikazu lokacij vzorčenja na karti Slovenije.

6 VIRI

- Friedt, W., Snowdon, R. (2009): Oil crops, Handbook of Plant Breeding 4.V: Oilseed rape. Vollman, J., Rajcan, I. (eds.). Giessen, Springer Science+Business Media: 91-126
- Pascher, K., Narendja, F., Rau, D. (2006): Feral Oilseed Rape-Investigations on its Potential Hybridisation. Final report in commission of the Federal Ministry of Health and Women, GZ 70420/0116-IV/B/12/2004: 56 str.
- Pipan, B., Šuštar Vozlič, J., Meglič, V. Cultivation, varietal structure and possibilities for cross-pollination of *Brassica napus* L. in Slovenia. *Acta agric Slov*, 97 (3): 247-258.
- Treu, R., Emberlin, J. (2000): Pollen dispersal of the crops Maize (*Zea mays*), Oilseed rape (*Brassica napus*), Potatoes (*Solanum tuberosum*), Sugar beet (*Beta vulgaris*) and Wheat (*Triticum aestivum*). A report for the Soil Association, University College, Bristol: 54 str.

Agrovoc descriptors: phaseolus, phaseolus coccineus, colletotrichum lindemuthianum, gene banks, collections, biodiversity, genetic resources, natural resources, data collection, disease resistance, drought stress, varieties, plant breeding, genetic markers, genetic variation, plant anatomy, international cooperation

Agris category code: F30

Raznolikost fižola v zbirki Kmetijskega inštituta Slovenije

Jelka ŠUŠTAR-VOZLIČ¹, Marko MARAS², Alenka MUNDA², Tanja ZADRAŽNIK², Vladimir MEGLIČ²

Received November 30, 2012; accepted December 05, 2012.

Delo je prispelo 30. novembra 2012, sprejeto 05. decembra 2012.

IZVLEČEK

Zbirka fižola, ki jo v okviru Slovenske rastlinske genske banke hranimo na Kmetijskem inštitutu Slovenije, obsega 1035 genskih virov, ki so bili v zadnjih 25ih letih zbrani na območju Slovenije. V zbirki imamo tudi 61 genskih virov, ki smo jih pridobili v okviru sodelovanja v mednarodnih ekspedicijah v tujini ter 39 virov, ki smo jih za potrebe raziskovalnega dela pridobili iz drugih genskih bank v Evropi in svetu. Večina slovenskih virov predstavlja navadni fižol (*Phaseolus vulgaris* L.), manjši del pa je laškega, turškega fižola (*P. coccineus* L.). Za vse shranjene vzorce imamo na voljo osnovne podatke. Vsako leto določeno število vzorcev razmnožimo in naredimo osnovno karakterizacijo. Del zbirke smo podrobneje ovrednotili z uporabo morfoloških, biokemijskih in molekularskih markerjev. Rezultati so pokazali, da se je v več stoletjih pridelovanja v Sloveniji oblikovala raznolika dednina, ki jo je vredno ohraniti. Obsežneje smo ovrednotili odpornost na glivo *Colletotrichum lindemuthianum*, ki povzroča fižolov ožig. Vzorce, shranjene v genski banki, uporabljamo za različne raziskave, med katerimi prevladujejo raziskave sušnega stresa. Prav tako pa jo uporabljamo v žlahtniteljskem procesu za žlahtnjenje novih sort ter za reintrodukcijo starih sort.

Ključne besede: fižol, genski viri, genska raznolikost, raziskave, žlahtnjenje

ABSTRACT

VARIABILITY OF COMMON BEAN ACCESSIONS IN THE GENE BANK OF AGRICULTURAL INSTITUTE OF SLOVENIA

The gene bank at the Agricultural institute of Slovenia holds a collection of 1035 bean accessions collected from various parts of Slovenia in the last 25 years. In addition, 61 accessions, collected during international expeditions and 39 accessions that were obtained from other gene banks in Europe and abroad for the research purposes are included in the collection. Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is the predominant species, whereas runner bean (*Phaseolus coccineus* L.) is represented by a smaller number of accessions. Multicrop passport data are available for all the accessions stored in the gene bank. Every year a certain number of accessions are regenerated and characterized. A part of the collection was evaluated in detail with the use of morphological, biochemical and molecular markers. The results revealed that during the centuries of common bean cultivation in Slovenia a diverse collection was formed that should be preserved for the future. A part of collection was evaluated also for the resistance to bean anthracnose, caused by the fungus *Colletotrichum lindemuthianum*. The accessions that are stored in the gene bank are used for research purposes, where particular emphasis is given to drought stress. The collection is used also in breeding process and in the programme of reintroduction of old varieties.

Key words: common bean, genetic resources, genetic variability, research, breeding

1 UVOD

Navadni fižol (*Phaseolus vulgaris* L.) je zaradi učinkovin v svetovnem merilu daleč velike prehranske vrednosti in zdravilnih najpomembnejša stročnica v vsakodnevni

¹ Kmetijski inštitut Slovenije, Hacquetova ulica 17, SI-1000 Ljubljana, e-mail: jelka.vozlic@kis.si

² Kmetijski inštitut Slovenije, Hacquetova ulica 17, SI-1000 Ljubljana

prehrani ljudi (Duranti, 2006). Predstavlja bogat vir vlaknin, ogljikovih hidratov in beljakovin, vsebuje pa tudi številne vitamine in minerale, kot so železo, magnezij, kalij, selen in kalcij (Broughton in sod., 2003). Raziskave kažejo tudi na pomembno vsebnost antioksidantov (Madhujith in sod., 2004), ki prispevajo k zmanjšanju tveganja za nastanek bolezni srca in ožilja, določenih vrst raka in drugih kroničnih bolezni (Duranti, 2006). Fižol mora biti pred zaužitjem ustrezno pripravljen, saj v nasprotnem primeru vsebuje tudi nekatere antinutricionistične komponente (npr. fitati, fenoli) (Batista in sod., 2010).

Navadni fižol, tako kot ostale vrste iz rodu *Phaseolus*, izvira iz ameriškega kontinenta. Vse vrste imajo skupnega divjega prednika, enoletno ovijalko, ki jo lahko še danes najdemo na obsežnem področju med Argentino in Mehiko (Gepts in sod., 1986). Primarni center genske raznolikosti divjega fižola se nahaja na področju Ekvadorja in severnega Peruja, od koder se je potem širil na sever in jug (Broughton in sod., 2003). Domestifikacija fižola je potekala v dveh, že ločenih centrih variabilnosti, srednjeameriškem, ki se razprostira od severne Mehike do Kolumbije, in andskem, ki se razteza od Peruja do severozahodne Argentine (Gepts in sod., 1986; Koenig in Gepts, 1989; 1990; Freyre in sod., 1996). Izmed skupno 50 do 60 vrst, ki jih vsebuje rod *Phaseolus*, je kultiviranih pet vrst in sicer: *P. vulgaris* (navadni fižol), *P. coccineus* L. (turški fižol), *P. lunatus* L. (limski fižol), *P. polyanthus* Greenm. in *P. acutifolius* A. Gray.

Po odkritju Amerike se je fižol v 16. stoletju razširil na ostale kontinente, v Evropo je prišel okrog leta 1500 (Zeven, 1997). Prvotni fižol v Evropi je najverjetneje izhajal iz srednje ameriškega centra variabilnosti (Rodino in sod., 2003), po Pizzarovem odkritju Peruja leta 1528 pa so se v Evropo razširili tudi andski genotipi. Fižol se je po Evropi širil z Iberskega polotoka (Zeven, 1997), natančneje poti

znotraj kontinenta še niso raziskane. Na osnovi raziskav posameznih zbirk fižola v Evropi z biokemičnimi in molekulskimi markerji so ugotovili, da je večina evropske dednine fižola danes andskega izvora (Gepts in Bliss, 1988). Andski genotipi so se bolje prilagodili hladnim in kratkim poletjem Zahodne Evrope kot srednje ameriški genotipi, verjetno pa so bili zaradi oblike zrn, ki so večji kot srednjeameriški, tudi bolj atraktivni. Poleg teh dveh tipov najdemo danes v Evropi tudi genotipe, ki so nastali s križanjem med njima. Seleksijski pritisk okolja za toleranco na dolg dan, odpornost na bolezni in škodljivce, stres ter seleksijski pritisk človeka za obliko rastline, obliko in barvo zrn ter odpornost so botrovali tudi razvoju številnih lokalnih sort, ki jih po Evropi poleg novo požlahtnjenih sort pridelujejo še danes (Zeven, 1997; Negri in Tosti, 2002).

V Sloveniji smo fižol spoznali kmalu za zahodnoevropskimi narodi, že Valvasor je v Slavi vojvodine Kranjske (17. stoletje) zapisal, da je pridelava fižola razširjena po vsej deželi. Čeprav letnica prihoda fižola ni točno znana, lahko na osnovi zgodovinskih dokumentov, kot so srednjeveški urbarji, kuharske knjige in zgodovinopisje vsaj v grobem rekonstruiramo distribucijske poti fižola v slovenskem prostoru v preteklih stoletjih (Maras, 2007). Najverjetneje je fižol k nam prišel iz Italije preko Benetk. Skozi stoletja kontinuirane pridelave so se ob različnih klimatskih in talnih razmerah, veliki pestrosti krajine, izoliranosti ter zaradi različnega načina pridelave in uporabe v Sloveniji razvile številne avtohtone populacije in sorte fižola (Šuštar-Vozlič in sod., 2000). Le-te se ločijo glede na namen pridelave (za zrnje, stročje ali kombinirano, kot krma za zeleno maso, za zeleno gnojenje in zaščito tal ali kot okrasna rastlina), tip rasti, višino stebela, obliko zrna, barvo zrna, dolžino vegetacije, odpornost na posamezne bolezni, prilagojenost na določene klimatske razmere in določen način gojenja (Ivančič, 2002). Poleg novo požlahtnjenih

slovenskih sort in nekaterih introduciranih tujih sort nekatere med njimi pridelujemo še danes. Čeprav so se površine, namenjene pridelavi fižola, v preteklih desetletjih precej

zmanjšale, lahko na marsikateri slovenski kmetiji še vedno najdemo stare domače tradicionalne genske vire.

2 GENSKA BANKA FIŽOLA V SLOVENIJI

Z zbiranjem avtohtonega fižola v Sloveniji je prvi začel Janez Zaplotnik že leta 1937, opisal je morfološke in fenološke lastnosti 287 genskih virov (Zaplotnik, 1952). Zbiranje je v letu 1965 nadaljevala Silva Avšič, ki je zbrala 1507 genskih virov fižola. Zbirka je bila osnova za žlahtniteljsko delo, katerega rezultat so štiri slovenske sorte fižola, ki jih pridelujemo še danes: Jabelski pisanec, Jabelski stročnik, Klemen, Zorin. Žal se je zaradi neustreznih razmer skladiščenja od starih zbirk do danes ohranilo le 55 genskih virov, ki pa niso več kalivi. Tretje zbiranje avtohtonega fižola je na področju celotne Slovenije potekalo v letih 1995 – 1998 pod vodstvom dr. Mihaele Černe s Kmetijskega inštituta Slovenije. V tem času je bilo zbranih 995 avtohtonih genskih virov navadnega ter 52 genskih virov turškega fižola, ki jih danes hranimo v Slovenski rastlinski genski banki (SRGB) – Genski banki kmetijskih rastlin na Kmetijskem inštitutu Slovenije. Zbirko stalno dopolnjujemo z novimi genskimi viri in tako šteje danes skupaj že 1104 genske vire fižola, od katerih jih je bilo 1035 zbranih na območju Slovenije v obdobju 1989-2011, 61 genskih virov pa smo pridobili v okviru sodelovanja v mednarodnih ekspedicijah v tujini. V zbirki hranimo tudi 39 genskih virov fižola, ki smo jih za potrebe raziskovalnega dela pridobili iz drugih genskih bank v Evropi in svetu. Na Kmetijskem inštitutu Slovenije hranimo tudi 33 genskih virov navadnega fižola, ki smo jih leta

2000 dobili iz genske banke Agrarbiologie Linz v Avstriji in so stari okrog 200 let. Vzorci so bili nekoč del bogate zbirke nadvojvode Janeza (1782-1859). Zaradi starosti ti vzorci fižola niso več kalivi.

Za vse genske vire fižola, zbrane v zadnjih 25 letih, ki so vključeni v zbirki, imamo izpolnjene osnovne podatke o vzorcu, t.i. multicrop passport podatke. Hranimo jih v prostoru za srednje dolgo hranjenje pri temperaturi +4 °C, dopolnjujemo pa tudi zbirko za dolgoročno hranjenje pri temperaturi -20 °C. Vsako leto določeno število avtohtonih genskih virov razmnožimo v mrežnikih na poskusnem polju v Jabljah. V rastni dobi in ob spravilu pridelka genske vire vrednotimo po deskriptorjih za fižol, ki so bili izdelani v okviru evropskega konzorcija *Phaselieu* in so priporočeni za vrednotenje dednine fižola (de la Cuadra, de Ron, Schachl, 2001: Handbook on evaluation of *Phaseolus* germplasm). Deskriptorji vključujejo vrednotenje 14-ih morfoloških in fenoloških parametrov, za naše potrebe smo deskriptorje dopolnili z nekaj dodatnimi parametri. Za vse ovrednotene vzorce izdelamo tudi slikovno datoteko (cvet, list, zelen strok, suh strok, osušeno seme). Po spravilu pridelka jeseni seme posušimo, določimo kalivost in vsebnost vlage ter vzorce shranimo (v steklenih kozarcih pri +4 °C oziroma v aluminijastih vrečkah pri -20 °C).

3 RAZNOLIKOST SLOVENSКИH GENSKIH VIROV NAVADNEGA FIŽOLA

3.1 Morfološka in biokemijska karakterizacija

V obširni raziskavi smo proučevali 139 genotipov iz rodu *Phaseolus* (Maras, 2007). Iz zbirke SRGB smo izbrali 102 genska vira (91 starih avtohtonih in devet novo požlahtnjenih sort navadnega fižola ter po enega predstavnika vrst *P. coccineus* in *P. lunatus*), iz tujih genskih bank (IPK, Nemčija; NPB, Belgija; INIA, Španija; CIAT, Kolumbija; USDA, ARS-GRIN, ZDA) pa smo pridobili 10 divjih in 27 gojenih genotipov navadnega fižola (*P. vulgaris*). Slednje smo izbrali na osnovi porekla (andska Južna Amerika, Srednja Amerika) in so služili kot referenčni genotipi za umestitev slovenske dednine fižola v svetovni genski sklad.

Morfološke deskriptorje smo izbrali iz nabora dveh deskriptorjev (IBPGR in Phaselieu) in so vključevali meritve 23ih parametrov (za cvet, steblo, list, strok in seme). Genotipe smo vrednotili dve rastni dobi. Na osnovi rezultatov smo ugotovili, da vse morfotipe, ki so prisotni pri referenčnih genotipih, najdemo tudi pri slovenskih genskih virih fižola, kar je potrdilo domnevo oziroma dosedanja poročila o veliki fenotipski pestrosti slovenskega navadnega fižola (Maras, 2007). Na osnovi šestih morfoloških znakov z morfotipi, specifičnimi za srednjeameriški oziroma andski genski sklad (Singh, 1991), smo lahko le tri genotipe z gotovostjo opredelili kot srednjeameriške. Pri vseh ostalih genotipih, vključno z referenčnimi, smo opazili tako srednjeameriške kot andske morfotipe. Morfološki markerji so se v determinaciji porekla genskih virov fižola (srednjeameriško/andsko) izkazali kot neučinkoviti. Pri nekaterih morfoloških znakih smo med slovenskimi, iberskimi (Rodino in sod., 2003) in italijanskimi genotipi (Piergiovanni in sod., 2006) ugotovili izrazito

podobnost v fenotipski strukturi, tj. zastopanosti posameznih morfotipov.

Z analizo fazeolina, glavne založne beljakovine v semenu fižola, smo ugotovili, da slovenski genotipi navadnega fižola vsebujejo vse tri tipe fazeolina, ki so značilni za mediteranski prostor, to je C-, T- in S-tip (Šuštar-Vozlič in sod., 2006). Prevladujoč je delež C-tipa (55 %), sledi T-tip (31 %), najmanj pa je zastopan S-tip (14 %). Ugotovili smo, da imajo slovenski genotipi podobno sestavo fazeolina kot iberski in italijanski, kar nakazuje, da se je v preteklosti fižol v naše kraje stekal preko zahodnih meja (Maras, 2007). Ugotovili smo tudi, da je tip fazeolina v močni korelaciji s poreklom genotipov, določenim v AFLP analizi, kar potrjuje uporabnost tega biokemijskega markerja v raziskavah izvora genotipov navadnega fižola (Maras, 2007).

3.2 Molekulska karakterizacija

3.2.1 RAPD markerji

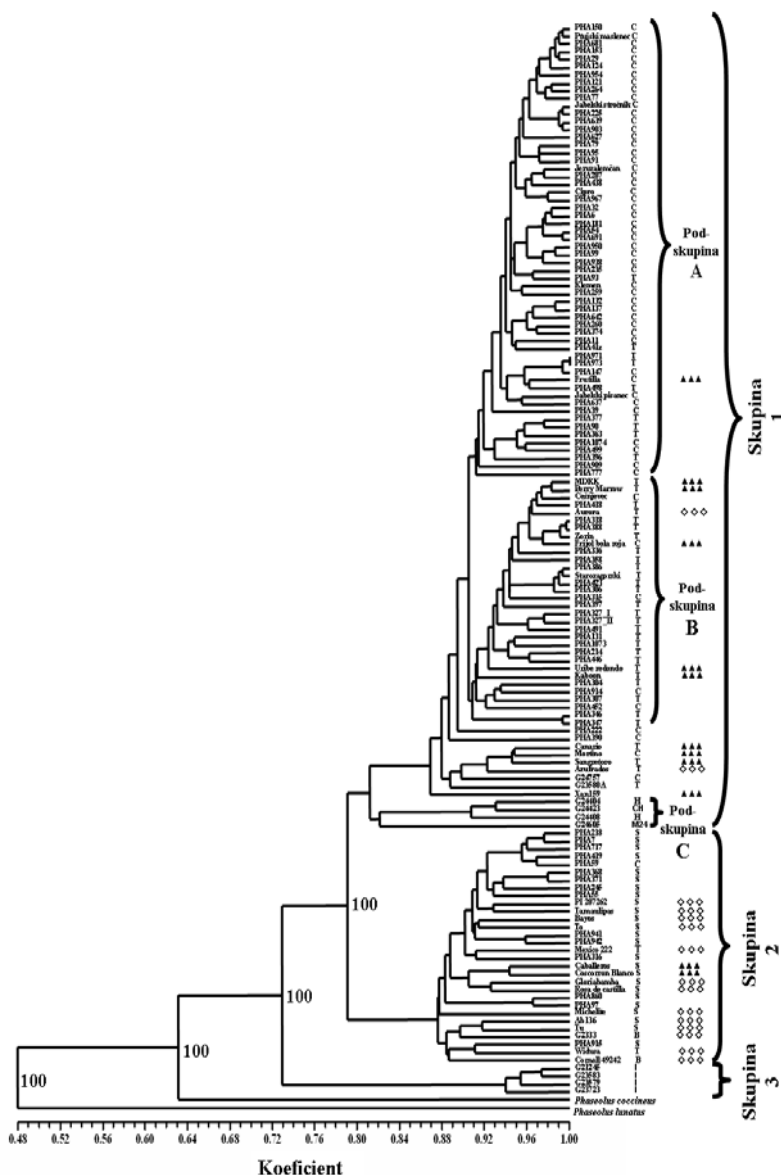
Prva raziskava genske raznolikosti slovenske zbirke fižola je bila narejena z uporabo RAPD markerjev (Meglič in sod., 1999). V raziskavo smo vključili 27 genskih virov navadnega fižola iz zbirke SRGB, ki so v dobršni meri odražali skupno variabilnost zbirke. Da bi lahko sklepali na poreklo dednine slovenskega fižola, je bilo v analizo dodatno vključenih 21 akcesij andskega in srednjeameriškega porekla. Na osnovi rezultatov analize smo ugotovili, da je raznolikost slovenske zbirke navadnega fižola sorazmerno velika. Večji del slovenskih genskih virov se je razporedil okrog andskih referenčnih genotipov, manjši pa okrog srednjeameriških. Štirinajst genskih virov pa je tvorilo povsem samostojno skupino, ki se je razlikovala od vključenih referenčnih genotipov in je nakazala obstoj lokalno specifičnega genskega sklada.

3.2.2 Analiza z AFLP markerji

Z namenom dodatno pojasniti variabilnost slovenske zbirke navadnega fižola in jo umestiti v skupni genski fond fižola smo 139 genskih virov fižola, ki smo jih proučevali z morfološkimi in biokemijskimi markerji, analizirali tudi z AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) markerskim sistemom (Šuštar-Vozlič in sod., 2006). Seznam genotipov, vključenih v raziskavo, je podan v poglavju 3.1. Za analizo smo uporabili 10 kombinacij začetnih oligonukleotidov. Na podlagi visokega števila namnoženih (skupno 424) in polimorfnih (300 ali 71 %) DNA fragmentov smo med seboj ločili vse genotipe razen dveh, ki sta si bila na ravni DNA identična. Na UPGMA dendrogramu (Slika 1) so se genotipi navadnega fižola razdelili v tri jasno ločene skupine, od katerih sta se oddaljila predstavnika vrst *P. lunatus* in *P. coccineus* (Maras, 2007). Najmanjšo skupino na dendrogramu so tvorili štirje divji perujski in ekvadorski genotipi z I-tipom fazeolina. Od 100 proučevanih slovenskih genotipov navadnega fižola se jih je 85 razporedilo poleg andskih referenčnih genotipov (Skupina 1), 15 pa poleg srednjeameriških (Skupina 2), kar kaže na močnejšo zastopanost andskega

genskega sklada znotraj slovenske dednine navadnega fižola.

Znotraj andske Skupine 1 smo v analizi molekulskih markerjev, tako kot predhodno že v RAPD analizi (Meglič in sod., 1999), zasledili diferenciacijo gojenih genotipov v dve podskupini. Ugotovili smo, da se podskupini ločita tudi po nekaterih morfoloških znakih kot tudi na ravni fazeolina. Za podskupino, ki naj bi predstavljala dodaten - lokalno specifičen - genski sklad navadnega fižola, je bil značilen C-tip fazeolina, visok tip rasti, višja in širša semena, večja masa 100 semen, odsotnost nitke, dolgi stroki idr. Podobnost med omenjenimi genotipi in 'Frutillo', čilskim referenčnim genotipom, je bila izrazita tako na ravni DNA kot na ravni fazeolina in fenotipa, iz česar sklepamo, da podskupina slovenskih genotipov ne predstavlja posebne, dodatne variabilnosti, ki ne bi bila prisotna že v samem primarnem centru genetske raznolikosti. Njena močna zastopanost v slovenski dednini navadnega fižola je najverjetneje posledica visoke adaptacijske sposobnosti na specifične klimatske razmere ter izrazite preference pridelovalcev in potrošnikov za določen tip fižola.



Slika 1: UPGMA dendrogram, sestavljen na osnovi AFLP podatkov in izračunanih Jaccardovih koeficientov genetske podobnosti med 139 *Phaseolus* genotipi. Bootstrap vrednosti so izpisane ob nodijih glavnih razvejitev, tip fazeolina pa ob imenu genotipa. ◇◇◇-srednjeameriški referenčni genotipi, ▲▲▲-andski referenčni genotipi (cit. po Maras, 2007).

3.3 Odpornost izbranih vzorcev fižola na glivo *Colletotrichum lindemuthianum*

Fižolov ožig, ki ga povzroča gliva *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magnus) Briosi et Cav., je najpomembnejša glivična bolezen fižola v Sloveniji. Pojavlja se v vseh pridelovalnih območjih in v letih, ko so vremenske razmere za razvoj bolezni ugodne, povzroča precejšnjo gospodarsko škodo. Gliva

napade vse nadzemne dele rastline, kjer povzroči udrtte temno rjave lezije. Interakcija med genotipom fižola in glivo *C. lindemuthianum* je rasno specifična (Ferreira in sod., 2012). Na osnovi odziva 12ih diferencialnih sort je bilo opisanih že več kot 100 ras patogena (Mahuku in Riascos, 2004; Campa in sod., 2011). V Sloveniji smo do sedaj ugotovili štiri fiziološke rase, ki smo jih na podlagi binarnega nomenklaturega sistema

identificirali kot rase št. 23, 55, 103 in 131 (Munda in sod., 2002). Najbolj pogosti in razširjeni sta rasi št. 55 in 23, ki ju po drugačni klasifikaciji imenujemo lambda in delta. Gensko raznolikost identificiranih ras smo proučili z AFLP analizo (Munda in sod., 2009).

Vzgoja odpornih sort je najučinkovitejša metoda za varstvo pred boleznijo. Odpornost fižola proti glivi *C. lindemuthianum* je pogojena z več neodvisnimi geni, poimenovanimi kot *Co*- geni, med katerimi so vsi, razen *Co-8*, dominantni (Goncalves-Vidigal in sod., 2012). Večina med njimi je bila identificirana v srednje ameriški dednini fižola. Žlahtnjenje na odpornost proti fižolovemu ožigu je težavno zaradi velike variabilnosti patogena, zato dolgotrajno odpornost dosežemo le s kombiniranjem, tj. piramidenjem čim večjega števila odpornostnih genov (Kelly in Miklas, 1998).

V laboratorijskih in poljskih pogojih smo z umetno infekcijo proučili odpornost izbranih 26 slovenskih genskih virov fižola na štiri, v Sloveniji identificirane rase glive *C. lindemuthianum* (Munda in sod., 2009). V poskus smo vključili tudi diferencialne sorte fižola. Ugotovili smo, da nobeden od 26 preizkušenih genotipov fižola ni povsem odporen na vse rase glive, šest pa je zmerno

odpornih. Visoko stopnjo odpornosti smo ugotovili zlasti pri tistih diferencialnih sortah, ki izvirajo iz srednjeameriške dednine.

Proučili smo tudi odpornost 104-ih slovenskih genskih virov fižola, ki so jih v enoletnem poljskem poskusu na poskusnem polju v Jabljah umetno okužili z mešanico trosov vseh štirih fizioloških ras glive *C. lindemuthianum*, ki se pojavljajo pri nas. V poskus smo vključili tudi štiri diferencialne sorte (Cornell, MDRK, Michelite, Mexico), ki so nam služili kot standardi pri ocenjevanju stopnje občutljivosti. Ugotovili smo, da je bilo 11 akcesij fižola odpornih na okužbo, pri tem so bile štiri akcesije povsem odporne, pri sedmih akcesijah pa so se znamenja okužbe pojavila, vendar so rastline uspele omejiti nadaljnji razvoj bolezni. Preostalih 93 akcesij fižola je bilo na okužbo občutljivih, od tega je bilo 24 akcesij zmerno občutljivih (stopnja občutljivosti 4 - 6), 69 pa močno občutljivih (stopnja občutljivosti 7 - 9). Pri slednjih so bolezenska znamenja (nekroze) zajela več kot 70 % listne površine, močno prizadeta so bila tudi stebela, rastline so hirale in propadale.

Na podlagi dobljenih rezultatov sklepamo, da bi z vnosom nekaterih genov iz srednjeameriške dednine lahko bistveno prispevali k izboljšanju odpornosti slovenskih genskih virov fižola.

4 SPREMEMBE V GENETSKI STRUKTURI SLOVENSkih GENSKIH VIROV NAVADNEGA FIŽOLA SKOZI ČAS

4.1 Genetska erozija in raznolikost navadnega fižola tipa Češnjevca

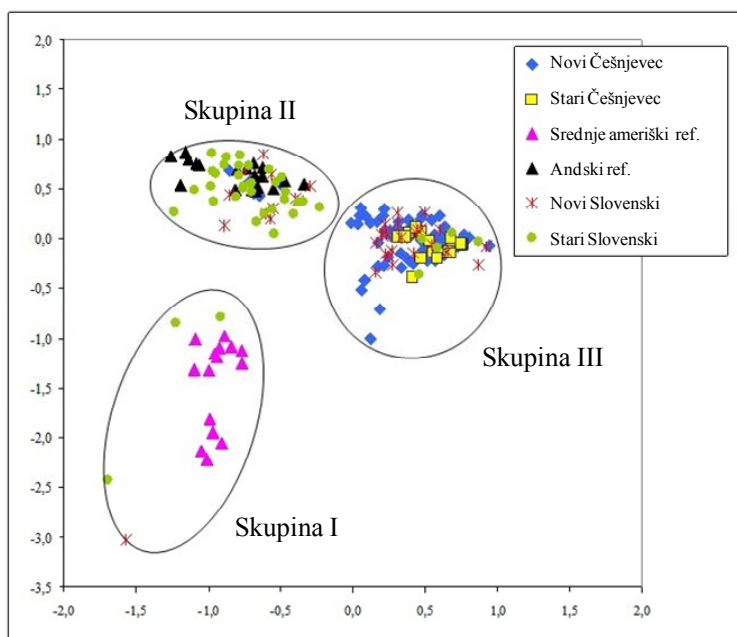
Na primeru avtohtonih lokalnih populacij fižola tipa 'Češnjevca' smo proučevali pojav genske erozije v dednini slovenskega fižola v zadnjih 50-ih letih (Maras in sod., 2006a). Stopnjo genske erozije smo ocenjevali na osnovi sprememb oziroma razlik v mikrosatelitni alelni diverziteti pri starih in novih akcesijah češnjevca, ki smo jih na

osnovi morfoloških lastnosti semena (oblike in barve) izbrali iz 50-let stare kolekcije na KIS. V začetku smo v raziskavo vključili pet genotipov iz stare kolekcije (Stari Češnjevca) in 19 genotipov iz zbirke SRGB (Novi Češnjevca). V nadaljevanju pa smo v analizo dodatno vključili 20 fenotipsko različnih genotipov iz nove zbirke, ki so bili ob vključitvi v SRGB imenovani kot češnjevca oz. kot njegovi sinonimi (češnjevca, češnovar ipd.). Prav tako smo vključili tudi kontrolne

genotipe (16 genotipov iz stare zbirke, štiri genotipe iz nove kolekcije in tri genotipe, ki smo jih pridobili iz genske banke IPK v Nemčiji).

V prvem delu raziskave smo pri 19-ih novih akcesijah (95-ih vzorcih) na 14-ih lokusih identificirali 62 mikrosatelitnih alelov, pri 5-ih starih akcesijah (25-ih vzorcih) pa 36 alelov. Podobnost med obema skupinama češnjencev se je pokazala v istovrstnosti najbolj pogostih alelov in kasneje tudi potrdila v statistični analizi. Analiza je pokazala, da v tem času ni prišlo do izgube alelov, pač pa je prišlo do sprememb v njihovi frekvenci ter do introgresije novih alelov v njihovo genetsko strukturo. V nadaljevanju, ko smo v analizo vključili dodatne genotipe fižola, smo na 14-ih mikrosatelitnih lokusih identificirali 108 različnih alelov. Pri skupini Novi Češnjevec je bilo prisotnih 62 alelov, 36 jih je bilo pri

skupini Stari Češnjevec, 69 pri skupini novega fižola, 68 pri skupini starega fižola in 61 pri kontrolnih skupinah. 29 alelov je bilo prisotnih le v skupini Novi Češnjevec, trije aleli pa so bili le pri skupini Stari Češnjevec, kar potrjuje rezultat, ki smo ga dobili pri analizi manjšega števila genotipov, da torej v zadnjih 50-ih letih ni prišlo do večje izgube alelov. Prisotnost nekaterih novih alelov v skupini Novi Češnjevec pa kaže na to, da je prišlo v tem času do introgresije nekaterih novih alelov v skupini češnjencev. Rezultat analize prikazuje razsevni grafikon (slika 2), kjer vsak simbol predstavlja določen genotip oziroma akcesijo. Razpršenost novih akcesij 'Češnjevca' na razsevni grafikonu je posledica vnosa novih alelov in sprememb v frekvenci posameznih alelov, ki so se v zadnjih 50-ih letih zgodile z mešanjem populacij, rekombinacijami in mutacijami.



Slika 2: Razsevni grafikon, ki prikazuje sorodstvene odnose med 67imi genskimi viri fižola (skupno je bilo vključenih 231 vzorcev) (cit. po Maras in sod., 2006a).

4.2 Spremembe genetske strukture genskih virov fižola iz geografsko različnih območij v obdobju 1800 do 2000

Spremembe v genetski strukturi fižola, ki so ga pridelovali na območju Slovenije in sosednje Avstrije v obdobju zadnjih 200 let, smo proučili z uporabo 14 mikrosatelitnih markerjev (Maras in sod., 2006b; Maras, 2007). V raziskavo smo vključili 128 genskih virov navadnega fižola iz treh različnih časovnih obdobj, I obdobje – 33 akcesij iz 200 let stare zbirke, ki smo jo pridobili iz genske banke pri Agrarbiologie Linz, Avstrija, II obdobje - 49 akcesij iz 50 let stare slovenske zbirke, III obdobje - 39 akcesij iz SRGB. V raziskavo smo vključili tudi sedem kontrolnih genotipov za andsko in srednjeameriško dednino (3 tuje in 7 lokalnih sort fižola).

Na osnovi analize molekulske variance in klastrske analize smo ugotovili, da se je velik delež variabilnosti navadnega fižola izpred 200 let ohranil do danes. V tem času je prišlo do izgube nekaterih alelov, vendar bilanca na račun introdukcije novih alelov ni negativna. Zaradi povečanja frekvence nekaterih alelov v današnji populaciji navadnega fižola se je zmanjšala povprečna skupna variabilnost. Z genske povezave, prikazane na UPGMA dendrogramu, smo ugotovili, da se združujejo genotipi, ki so iz različnih geografskih področij, kar kaže na skupni izvor slovenske in avstrijske dednine fižola. Genotipi so se razvrstili v andsko, srednje ameriško in tretjo skupino, ki bi lahko bila specifična za to območje.

5 UPORABNOST ZBIRKE

Zbirko fižola uporabljamo za različne raziskave, med katerimi prevladujejo raziskave sušnega stresa, s katerimi se raziskovalna skupina na KIS ukvarja zadnje desetletje. Obsežna zbirka genskih virov pa predstavlja tudi vir genov tako za žlahtnjenje novih sort kot za ponovno uvajanje starih sort v pridelovanje.

5.1 Raziskave sušnega stresa

Izpostavljenost sušnemu stresu povzroči v rastlinah niz fizioloških sprememb in ima lahko uničujoč vpliv na številne celične funkcije. Do sprememb pride tako na ravni genov, kot tudi na ravni proteinov (Seki in sod., 2002; Yamaguchi et al., 2010). Fižol je občutljiv na sušo, ki vpliva na rast in razvoj rastlin in v vremensko neugodnih letih se pridelek lahko zmanjša tudi za 60 % in več. Zaradi genetske kompleksnosti in zapletenega mehanizma tolerance mehanizmi odgovora na sušo pri fižolu še niso podrobno preučeni (Beaver in Osorno, 2009).

Na osnovi rezultatov meritev vodnega potenciala in integritete membran pri devetih sortah navadnega fižola v sušnem stresu smo ugotovili, da je na sušo najbolj tolerantna sorta Tiber, najmanj pa sorta Starozagorski črn (Hieng in sod., 2004). Fiziološke spremembe, ki nastanejo kot posledica izpostavljenosti suši, smo v listih sort Tiber in Starozagorski črn proučevali tudi z uporabo TRAP (Total Radical-Trapping Potential) testa, PAM (Pulse-Amplitude-Modulation) fluorometrije in reflektometrije (Razinger in sod., 2010). Rezultati meritev so pokazali, da je sorta Tiber bolj odporna na sušni stres, vendar stres pri nobeni sorti ni bil tako močan, da bi povzročil nepovratne spremembe fotosintetskega aparata. V listih osmih genotipov navadnega fižola smo proučevali izražanje genov pri različnih stopnjah dehidracije (Kavar et al. 2008). Z analizo genske ekspresije smo ugotovili diferencialno izražanje 15 transkriptov, od katerih se šest diferencialno izraža tudi pri navadnem repnjakovcu. Odkrili smo pet transkriptov, ki pri drugih rastlinskih vrstah niso bili poznani in ugotovili, da pet od

osmih transkriptov z znižano ravni izražanja sodi v funkcionalno kategorijo fotosinteze. Da bi ugotovili, ali so spremembe v izražanju 13ih transkriptov, ki smo jih potrdili kot navzgor ali navzdol regulirane, del splošnega odziva na sušo v rodu *Phaseolus*, oziroma so specifične za posamezno vrsto, smo pri vrstah *P. coccineus*, *P. lunatus* in *P. acutifolius* naredili relativno analizo izražanja s kvantitativnim PCR (Kavar in sod., 2011). Rezultati so pokazali, da je vzorec izražanja pri vseh vrstah podoben, ne glede na dejstvo, da se te štiri vrste različno odzivajo na sušo, tako na fiziološkem kot na morfološkem nivoju.

V sodelovanju z dr. Marjetko Kidrič in skupino z Inštituta Jožef Stefan proučujemo spremembe v proteolitični aktivnosti pri odzivu navadnega fižola na sušo. Ugotovili smo, da imajo kompleksno in verjetno specifično vlogo pri odgovoru na sušni stres različne proteaze, saj se aktivnost nekaterih od njih poveča in drugih zmanjša (Hieng s sod., 2004; Budič in sod., 2009). V pogojih izrazitega sušnega stresa je odgovor na nivoju proteazne aktivnosti v korelaciji z občutljivostjo posameznega genotipa. V listih navadnega fižola se nahaja več serinskih endopeptidaz in aminopeptidaz, na katere suša različno vpliva (Budič in sod. 2009; Budič 2009). Identificirani in karakterizirani sta bili dve novi serinski endopeptidazi, ki sta podobni subtilizinu, ena od njih je vpletena v odziv na sušo (Budič 2009).

Za analizo proteinov, udeleženih pri odzivu na sušo v listih fižola sort Tiber in Starozagorski, smo uporabili proteomsko analizo (Zadražnik in sod., 2011). Poskus smo izvedli v rastlinjaku, kjer so bile rastline podvržene različnim stopnjam sušnega stresa, normalno zalivane rastline so služile kot kontrola. Vzorce proteinskih ekstraktov smo označili s fluorescentnimi barvili in jih ločili s pomočjo dvo-dimenzionalno gelske elektroforeze. S statistično analizo regresije na osnovi vsote najmanjših kvadratov, ki je bila opravljena na

osnovi 543 proteinskih lis sorte Starozagorski čern in 400 proteinskih lis sorte Tiber, smo določili proteinske lise, pri katerih se je izražanje spremenilo v sušnem stresu. Proteinske lise, pri katerih je prišlo do povečanega ali zmanjšanega izražanja v stresnih razmerah glede na kontrolne, smo identificirali z LC-MS/MS, analiza MS spektrov pa je bila obdelana s programom Mascot, z uporabo podatkovne zbirke NCBI nr. Pri sorti Starozagorski čern smo identificirali 64 proteinov, pri sorti Tiber pa 58 proteinov, ki so se diferencialno izražali v suši (Zadražnik in sod., 2012). Ugotovili smo, da je največ identificiranih proteinov udeleženih v procesih energijskega metabolizma (glikoliza, Krebsov cikel), v sintezi proteinov ali njihovi proteolizi, imajo zaščitno in detoksifikacijsko vlogo ali pa so udeleženi v procesih fotosinteze. Med sortama ni bilo bistvenih razlik pri identificiranih proteinih ali večjih razlik pri izražanju določene skupine proteinov. Povezave med identificiranimi proteini, ki smo jih ponazorili z bioinformacijsko analizo, omogočajo kompleksnejši vpogled v biološke poti in molekulske funkcije, na katere vpliva sušni stres. Raziskave na področju proteomike so bile narejene v sodelovanju z dvema raziskovalnima skupinama na Norveškem, inštitutom Nofima v Aasu in skupino z Oddelka za molekularne bioznanosti Univerze v Oslu, v okviru doktorskega študija mlade raziskovalke.

Sorti Tiber in Starozagorski čern, ki se razlikujeta v toleranci na sušo, smo uporabili tudi kot starševski liniji za pridobitev rekombinantnih inbridiranih linij (RIL). Dobljeno F8 generacijo 80 RIL bomo uporabili za izdelavo genske karte.

5.2 Žlahtnjenje

Zbirko avtohtonih genskih virov fižola uporabljamo tudi kot vir za žlahtnjenje slovenskim razmeram prilagojenih, odpornih

in slovenskemu potrošniku vsečnih sort. Pomanjkljivost domačih sort fižola se kaže v nezadostni odpornosti, saj so vse bolj ali manj občutljive na nekatere glivične in bakterijske bolezni (fižolov ožig, fižolova vdrta pegavost, fižolova rjava pegavost, mastna in navadna fižolova bakterijska pegavost), škodljivce (črna fižolova uš) in viruse (navadni in rumeni fižolov mozaik virus, fižolova virusna pegavost), ki zmanjšujejo količino in kakovost pridelka (Šuštar Vozlič in Meglič, 2000).

Cilj žlahtnjenja je vzgoja novih slovenskih sort fižola, odpornih na fižolov ožig in spremenjene klimatske razmere (toleranca na sušo in ekstremno vlago). Osredotočili smo se predvsem na nizek fižol za zrnje. V ta namen

izvajamo ciljna križanja med slovensko sorto Zorin in genotipi, odpornimi proti fižolovemu ožigu in/ozroma tolerantnimi na sušo. Selekcija v zgodnjih generacijah poteka po metodi potomstva enega semena (single seed descend), v kasnejših generacijah (F4 in F5) posadimo in vrednotimo več rastlin. V letu 2009 smo začeli tudi z reintrodukcijo starih genskih virov. Iz zbirke fižola v SRGB smo izbrali genske vire tipa češnjevec, lišček in 'dan in noč'. Izbrane genotipe smo tri leta vrednotili na poskusnem polju v Jabljah, v letu 2012 smo pet najboljših virov vrednotili tudi na treh drugih lokacijah v Sloveniji. Žlahtnjenje je v preteklosti potekalo v okviru ciljnih raziskovalnih projektov, katerih financiranje pa se je v letu 2011 zaključilo.

6 SKLEPI

Zbirka genskih virov fižola predstavlja najboljše zbirko v Slovenski rastlinski genski banki, saj trenutno obsega 1035 avtohtonih genskih virov fižola. V okviru programa SRGB, predvsem pa v okviru več raziskovalnih projektov smo del zbirke podrobno ovrednotili in ugotovili, da se je v stoletjih pridelovanja v Sloveniji oblikovala

raznolika dednina, ki jo je vredno ohraniti in uporabiti tudi kot vir za žlahtnjenje slovenskih sort fižola. Pridelovanje fižola in njegova uporaba v prehrani ljudi imata v Sloveniji dolgo tradicijo. Fižol, ki ga danes pridelamo v Sloveniji, pa ne zadostuje za samooskrbo, zato veliko fižola uvozimo

7 ZAHVALA

Hranjenje, razmnoževanje in osnovno vrednotenje genskih virov fižola poteka v okviru programa Slovenska rastlinska genska banka, za kar skrbi Boštjan Lipavac. Raziskave genske raznolikosti in genske erozije so potekale v okviru projekta L4-3284-0401-01, ki ga je sofinanciralo takratno Ministrstvo za šolstvo, znanost in šport in Ministrstvo za

kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano. Raziskave sušnega stresa so oziroma še potekajo v okviru projektov J4-6355 in J4-4126, financiranih s strani Agencije za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije. Raziskave fižola so bile oziroma so tudi tema doktorskih disertacij treh mladih raziskovalk.

6 VIRI

Batista K.A., Prudencio S.H., Fernandes K.F. 2010. Changes in the functional properties and antinutritional factors of extruded hard-to-cook

common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). Food Chemistry, 75, 3: 286-290.

- Beaver J., Osorno J.M. 2009. Achievements and limitations of contemporary common bean breeding using conventional and molecular approaches. *Euphytica*, 168: 145–175
- Broughton W.J., Hernandez G., Blair M., Beebe S., Gepts P., Vanderleyden J. 2003. Beans (*Phaseolus* spp.) - model food legumes. *Plant and Soil*, 252: 55-128
- Budič M. 2009. Proteaze, vpletene v odziv navadnega fižola (*Phaseolus vulgaris* L.) na vodni stres. Doktorska disertacija. Ljubljana: 112 str.
- Budič M., Kidrič M., Meglič, V. in Cigić B. 2009. A quantitative technique for determining proteases and their substrate specificities and pH optima in crude enzyme extracts. *Analytical Biochemistry* 388, 1: 56-62
- Campa A., Giraldez R., Ferreira J.J. 2011. Genetic Analysis of the Resistance to Eight Anthracnose Races in the Common Bean Differential Cultivar Kaboon. *Phytopathology*, 101, 6: 757-764
- De la Cuadra C., de Ron A.M., Schachl R. 2001. Handbook on evaluation of *Phaseolus* germplasm. PHASELIEU - FAIR - PL97-3463 Misión Biológica de Galicia (CSIC): 86 s.
- Duranti M. 2006. Grain legume proteins and nutraceutical properties. *Fitoterapia*, 77: 67-82
- Freyre R., Rios R., Guzman L., Debouck D.G., Gepts P. 1996. Ecogeographic distribution of *Phaseolus* spp (Fabaceae) in Bolivia. *Economic Botany*, 50: 195-215
- Gepts P., Bliss F.A. 1986. Phaseolin variability among wild and cultivated common beans (*Phaseolus vulgaris*) from Colombia. *Economic Botany*, 40: 469-478
- Gepts P., Bliss F.A. 1988. Dissemination paths of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae) deduced from phaseolin electrophoretic variability. II. Europe and Africa. *Economic Botany*, 42: 86-104
- Gepts P., Osborn T.C., Rashka K., Bliss F.A. 1986. Phaseolin-protein variability in wild forms and landraces of the common bean (*Phaseolus vulgaris*): evidence for multiple centers of domestication. *Economic Botany*, 40: 451-468
- Goncalves-Vidigal M.C., Meirelles A.C., Poletine J.P., De Sousa L.L., Cruz A.S., Nunes M.P., Lacanallo G.F., Vidigal F.P.S. 2012. Genetic analysis of anthracnose resistance in 'Pitanga' dry bean cultivar. *Plant Breeding*, 131, 3: 423-429
- Hieng B., Ugrinovič K., Šuštar-Vozlič J. in Kidrič M. 2004. Different classes of proteases are involved in the response to drought of *Phaseolus vulgaris* L. cultivars differing in sensitivity. *Journal of Plant Physiology*, 161, 5: 519-530
- Ivančič A. 2002. Hibridizacija pomembnejših rastlinskih vrst. Maribor, Fakulteta za kmetijstvo: 776 str.
- Jose Ferreira J., Campa A., Perez-Vega E., Rodriguez-Suarez C., Giraldez R. 2012. Introgression and pyramiding into common bean market class fabada of genes conferring resistance to anthracnose and potyvirus. *Theoretical and Applied Genetics*, 124, 4: 777-788
- Kavar T., Maras M., Kidrič M., Šuštar-Vozlič J, Meglič V. 2011. The expression profiles of selected genes in different bean species (*Phaseolus* spp.) as response to water deficit. *Journal of Central European Agriculture*, 12, 4: 557-568
- Kavar T., Maras M., Kidrič M., Šuštar-Vozlič J., Meglič V. 2008. Identification of genes involved in the response of leaves of *Phaseolus vulgaris* to drought stress. *Molecular Breeding*, 21: 159-172
- Kelly J.D., Miklas N. 1999. Marker assisted selection. V: Singh S.P (ur.): Common bean improvement in the twenty-first century. The Netherlands, Dodrecht, Kluwer Academic Publishers: 405 str.
- Kelly J.D., Miklas P.N. 1998. The role of RAPD markers in breeding for disease resistance in common bean. *Molecular breeding*, 4, 1: 1-11
- Koenig R., Gepts P. 1989a. Segregation and linkage of genes for seed proteins, isozymes, and morphological traits in common bean (*Phaseolus vulgaris*). *Journal of Heredity*, 80: 455-459
- Madhujith T., Nacz M., Shahidi F. 2004. Antioxidant activity of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Food Lipids*, 11: 220-233
- Mahuku G.S., Riascos J.J., 2004. Virulence and molecular diversity within *Colletotrichum lindemuthianum* isolates from Andean and Mesoamerican bean varieties and regions European. *Journal of Plant Pathology*, 110, 3: 253-263
- Maras M. 2007. Karakterizacija slovenskih genskih virov navadnega fižola (*Phaseolus vulgaris* L.) z morfološkimi, biokemijskimi in molekulkimi markerji. Doktorska disertacija. Ljubljana: 134 s.
- Maras M., Sušnik Bajec S., Meglič V., Šuštar-Vozlič J. 2006a. Characterization and genetic diversity changes in the Slovenian common bean Češnjevce landrace. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 48, 2: 39-47

- Maras M., Sušnik Bajec S., Šuštar-Vozlič J., Meglič V. 2006b. Temporal changes in genetic diversity of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) accessions cultivated between 1800 and 2000. *Russian Journal of Genetics*, 42, 7: 775-782
- Maras M., Šuštar-Vozlič J., Javornik B., Meglič V. 2008. The efficiency of AFLP and SSR markers in genetic diversity estimation and gene pool classification of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Acta agriculturae Slovenica*, 91, 1: 87-96
- Meglič V., Johns M.A., Šuštar-Vozlič J. 1999. Genetic diversity in a Slovenian bean germplasm collection as related to the Andean *Phaseolus* gene pool. V: Denholm I., Pickett J.A., Devonshire A.L. (ur.): Cambridge UK: ISTA 75th Anniversary: a unique event: programme & abstracts. World Seed Conference 1999, Cambridge, Velika Britanija, 6-8 sept. 1999. Cambridge, ISTA: 28
- Munda A., Radišek S., Šuštar-Vozlič J., Javornik B. 2009. Genetic variability of *Colletotrichum lindemuthianum* isolates from Slovenia and resistance of local *Phaseolus vulgaris* germplasm. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 116, 1: 23-29
- Munda A., Žerjav M., Šuštar-Vozlič J. 2002. Identification of physiological races of *Colletotrichum lindemuthianum* occurring in Slovenia. *Acta biologica Slovenica*, 45, 1: 3-7
- Negri V., Tosti N. 2002. *Phaseolus* genetic diversity maintained on-farm in central Italy. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 49: 511-520
- Piergiorganni A.R., Taranto G., Losavio F.P., Pignone D. 2006. Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces from Abruzzo and Lazio regions (Central Italy). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 53: 313-322
- Razinger J., Drinovec L., Šuštar-Vozlič J., Čremožnik B., Meglič V., Čerenak A. 2010. Physiological response of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) to drought stress. *Hmeljarski bilten*, 17: 44-56
- Rodino A.P., Santalla M., De Ron A.M., Singh S.P. 2003. A core collection of common bean from the Iberian peninsula. *Euphytica*, 131: 165-175
- Seki M., Narusaka M., Kamiya A., Ishida, J., Satou M., Sakurai T., Nakajima, M.), Enju, A., Akiyama, K., Oono, Y., Muramatsu, M., Hayashizaki, Y., Kawai, J., Carninci, P., Itoh, M., Ishii, Y., Arakawa, T., Shibata, K., Shinagawa, A., Shinozaki, K. 2002. Functional annotation of a full-length Arabidopsis cDNA collection. *Science*, 296, 5565: 141-145
- Singh S.P., Gepts P., Debouck D.G. 1991. Races of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). *Economic Botany*, 45: 379-396
- Šuštar-Vozlič J., Černe M., Meglič V. 2000. Genetska variabilnost fižola v Sloveniji. *Sodobno kmetijstvo*, 33, 9: 378-379
- Šuštar-Vozlič J., Mara, M., Javornik, B., Meglič, V. 2006. Genetic diversity and origin of Slovene common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) germplasm as revealed by AFLP markers and phaseolin analysis. *Journal of the American Society of Horticultural Sciences*, 131, 2: 242-249
- Šuštar-Vozlič J., Maras M., Javornik B., Meglič V. 2006. Genetic diversity and origin of Slovene common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) germplasm as revealed by AFLP markers and phaseolin analysis. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 131: 242-249
- Yamaguchi M., Valliyodan B., Zhang J., Lenoble M., Yu O., Rogers E., Nguyen H., Sharp R.E. 2010. Regulation of growth response to water stress in the soybean primary root. I. Proteomic analysis reveals region-specific regulation of phenylpropanoid metabolism and control of free iron in the elongation zone. *Plant Cell and Environment*, 33, 2: 223-243
- Zadražnik T., Hollung, K., Meglič V., Šuštar-Vozlič J. 2011. Proučevanje proteoma listov navadnega fižola (*Phaseolus vulgaris* L.) v povezavi s sušnim stresom. V: Potočnik, U. (ur.), Ramšak, A. (ur.). 2. kolokvij iz genetike, Piran, 16. september 2011. Ljubljana: Slovensko genetsko društvo: 92-99
- Zadražnik T., Hollung, K., Egge-Jacobsen W., Meglič V., Šuštar-Vozlič J. 2012. Differential proteomic analysis of drought stress response in elaves of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Proteomics*, v tisku, doi: 10.1016/j.prot.2012.09.021.
- Zaplotnik J. 1952. Naš fižol. Ljubljana, Kmečka knjiga: 99 str.
- Zeven A.C. 1997. The introduction of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) into Western Europe and the phenotypic variation of dry beans collected in the Netherlands in 1946. *Euphytica*, 94: 319-328

Agrovoc descriptors: lactuca, gene banks, collections, biodiversity, genetic resources, natural resources, data collection, land varieties, wild plants, varieties, genetic markers, genetic variation, plant anatomy, genotypes

Agris category code: F30

Raznolikost genskih virov vrtno solate v slovenski rastlinski genski banki

Jelka ŠUŠTAR-VOZLIČ¹, Kristina UGRINOVIC², Marko MARAS², Vladimir MEGLIČ²

Received December 07, 2012; accepted December 10, 2012.

Delo je prispelo 07. decembra 2012, sprejeto 10. decembra 2012.

IZVLEČEK

V stoletjih pridelovanja so se v Sloveniji razvile številne avtohtone sorte vrtno solate (*Lactuca sativa* L.). Z zbiranjem, ki je od začetka devetdesetih let prejšnjega stoletja potekalo po Sloveniji, smo do danes zbrali skupno 177 genskih virov, ki jih v okviru Slovenske rastlinske genske banke (SRGB) hranimo in vzdržujemo na Kmetijskem inštitutu Slovenije. Zbirka vsebuje tudi nekatere divje sorodnike vrtno solate in genske vire, ki smo jih za namene raziskovalnega dela pridobili iz drugih genskih bank v Evropi in svetu. Skupaj obsega 227 genskih virov. V okviru raziskovalnih projektov smo večji del zbirke podrobno ovrednotili z morfološkimi in molekularskimi markerji. Pretežni del zbirke predstavljajo krhkolistne solate, najbolj zastopana med njimi je avtohtona sorta 'Ljubljanska ledenka', kateri smo v zadnjih letih namenili posebno pozornost, saj ji je grozilo izumrtje. Na osnovi večletnega vrednotenja izbranih virov 'Ljubljanske ledenke' tako iz SRGB kot iz drugih genskih bank v svetu smo ugotovili, da še obstajajo genski viri, ki ustrezajo originalnemu opisu sorte in se hkrati razlikujejo od do sedaj znanih sort. Te vire smo uporabili za obuditev sorte 'Ljubljanska ledenka' in sorto bomo kot avtohtono vpisali v Sortno listo.

Ključne besede: vrtna solata, genska banka, raznolikost, 'Ljubljanska ledenka'

ABSTRACT

VARIABILITY OF LETTUCE GENETIC RESOURCES IN THE SLOVENE PLANT GENE BANK

Numerous autochthonous varieties have been developed during centuries of lettuce (*Lactuca sativa* L.) cultivation in Slovenia. In the Slovene Plant Gene bank (SPGB), maintained at the Agricultural Institute of Slovenia, 177 accessions are included that were obtained from various parts of Slovenia in the nineties of the last century. In addition, wild relatives and accessions obtained for the research purposes from other gene banks worldwide are included. Altogether, 227 lettuce accessions are included in the collection. In the frame of different research projects a substantial part of the collection was evaluated by morphological and molecular markers. The majority of the accessions are of crisp type, the most well-known variety is 'Ljubljanska ledenka', which was threatened to disappear from the production fields. Based on extensive studies of selected genotypes of 'Ljubljanska ledenka' from SPGB and other gene banks throughout the world conducted in last years we were able to identify genotypes that correspond to the original variety 'Ljubljanska ledenka' and differ from all other varieties. These genotypes were selected for the reintroduction of original 'Ljubljanska ledenka' and its inscription on the variety list.

Key words: lettuce, gene bank, variability, 'Ljubljanska ledenka'

1 UVOD

Vrtna solata, gojena ločika (*Lactuca sativa* L.) je v svetovnem merilu vodilna zelenjadnica za svežo uporabo. Liste uporabljamo za različne solate in sendviče, v nekaterih vzhodnih državah (Kitajska, Egipt) pa uporabljajo

pretežno stebila, sveža ali kuhana (Mou, 2008). Med manj znanimi nameni uporabe so jedilna olja, ki jih ekstrahirajo iz semen primitivne solate, liste pa uporabljajo tudi za breznicotinske cigarete. Suhi lateks, ki se

¹ Kmetijski inštitut Slovenije, Hacquetova ulica 17, SI-1000 Ljubljana, e-mail: jelka.vozlic@kis.si

² ibid

nahaja v stebelu in drugih tkivih, se lahko uporablja tudi kot sedativ. Lactucarium, posušen lateks iz divje sorodnice solate, strupene ločike (*L. virosa* L.), uporabljajo kot uspavalno sredstvo (Ryder, 1986).

Pridelovanje vrtno solate je razširjeno povsod po svetu v območjih z zmernim in subtropskim podnebjem (Lebeda in Astley, 1999). Skoraj dve tretjini vseh pridelovalnih površin se nahaja v Aziji, največja pridelovalka je Kitajska, kjer pridelajo polovico svetovne količine solate, predvsem za stebela (Mou, 2008). Vodilne pridelovalke listnate vrtno solate so ZDA, kjer na 13 % pridelovalnih površin pridelajo skoraj četrtino svetovne količine. V zahodni Evropi je okrog 13 % pridelovalnih površin solate, prav tolikšen je delež pridelka v svetovnem merilu.

V Sloveniji ima vrtna solata že od nekdaj pomembno mesto v prehrani ljudi in še danes jo najdemo na tradicionalnih jedilnikih ter skoraj na vsakem, še tako majhnem vrtu. Organizirana pridelava, tako na prostem kot v zaščitenem prostoru, je v letu 2010 potekala na 162 ha, skupni pridelek je znašal 3679 ton, skoraj še enkrat toliko vrtno solate pa smo uvozili (SURS, 2011).

V stoletjih pridelovanja so se razvile številne avtohtone sorte vrtno solate, ki so danes shranjene v Slovenski rastlinski genski banki (SRGB). Najbolj poznana med njimi je 'Ljubljanska ledenka'.

1.1 Botanična razvrstitev, izvor in domestikacija vrtno solate

Rod *Lactuca* obsega okoli sto različnih vrst, 17 vrst iz Evrope, 10 iz Severne Amerike, 33 iz Vzhodne Afrike in 40 vrst iz Azije (Vries, 1997; Ryder, 1999). V svetu in tudi v Sloveniji je najbolj razširjena vrsta vrtno solata ali gojena ločika (*L. sativa* L.) (Martinčič in sod., 1999). O izvoru vrtno solate (*L. sativa* L.) so mnenja deljena, vendar večina botanikov meni, da je njena predhodnica divja vrsta

pripotna ločika (*L. serriola* L.) (Vogel, 1996). Najverjetnejša je teorija, da je vrtna solata nastala iz pripotne ločike z mutacijami, ki so privedle do oblik, primernih za domestikacijo (Ryder, 1999). Hintum in Boukema (1999) navajata, da je primarni vir genske raznolikosti vrtno solate vseboval le vrsti *L. sativa* in *L. serriola*. Ti dve vrsti se lahko brez težav med seboj križata, zato ju nekateri avtorji pojmujejo kot eno vrsto. Številne druge divje vrste, opisane na osnovi morfoloških razlik (*L. altaica* Fisch. et C. A. Mey., *L. augustana* All., *L. dregeana* DC., *L. aculeata* Boiss. et Ky), se lahko prosto križajo z vrstami iz skupine vrtno solate in pripotne ločike, zato jih lahko prištevamo k primarnemu viru kot njihov del, ali pa jih imamo celo kot sinonim za pripotno ločiko. Sekundarni vir genske raznolikosti vsebuje le vrsto vrbovolistna ločika (*L. saligna* L.), ki se težje križa z vrstami iz prvega, posebno če je le-ta ženski roditelj. Terciarni vir genske raznolikosti pa daje sterilne hibride s primarnim in vsebuje le vrsto strupena ločika (*L. virosa* L.) (Hintum in Boukema, 1999).

Prvotno so seme vrtno solate uporabljali za krmo ali olje za domačo uporabo (Mou, 2008). Še danes v Egiptu obstajajo številne primitivne oblike vrtno solate z velikimi semeni, ki jih uporabljajo za olje. Obstoj teh oblik na območju Bližnjega vzhoda kaže na to, da vrtna solata najverjetneje izvira iz območja vzhodnega Sredozemlja. Tudi slike v egipčanskih grobnicah nakazujejo, da so vrtno solato pridelovali že pred letom 4500 pr. n. št. (Pink in Keane, 1993). Vrtna solata na teh slikah ima dolga, tanka stebela in ozke liste ter je podobna današnjemu stebelnemu tipu. Prehod do oblik vrtno solate, primernih za človekovo prehrano, je najbrž potekal v območju vzhodnega Sredozemlja, verjetno v Egiptu in v predelu med Tigrisom in Evfratom. Vrtna solata se je nato v obdobju rimskega in grškega imperija razširila čez celo Sredozemlje ter od tam v ostalo Evropo. Prvi pisani dokazi o pridelovanju vrtno solate so iz obdobja okrog leta 550 pr. n. št., ko naj bi po

navedbah Herodota perzijski sodniki jedli vrtno solato. Prvo pridelovanje v Severni Ameriki je zabeleženo leta 1494 (Mou, 2008).

1.2 Razdelitev tipov vrtno solate

Med tipi vrtno solate obstaja velika raznolikost v obliki in velikosti rastlin, obliki, velikosti in teksturi listov, formiranju glave in tipu stebila (Mou, 2008). Na osnovi morfoloških lastnosti različni avtorji razdelijo vrtno solato v več tipov. Vogel (1996) jo razdeli v štiri fenotipske skupine:

1) Glavnata vrtna solata (*L. sativa* var. *capitata* L.) - solate iz te skupine oblikujejo glave. Listi so obarvani blede rumeno do svetlo ali temno zeleno, lahko so tudi intenzivno rdeči. Na osnovi teksture listov razdelimo vrtno solate iz te skupine v krhkolistne in mehkolistne. Krhkolistne vrtno solate imajo debele in krhke liste, listi mehkolistnih vrtnih solat so tanjši in mehkejši. Med obema tipoma obstojajo tudi številni vmesni tipi. Vrtno solate iz te skupine so razširjene v osrednji in severni Evropi ter v ZDA. Predstavljajo gospodarsko najbolj pomembno skupino vrtnih solat.

2) Vezivka ali štrucarka (*L. sativa* var. *longifolia* Lam.) - pridelovali so jo že Rimljani. Povezovali so jo podobno kot endivijo, da bi dobili rumene notranje liste. Ta tip najbolj spominja na stebelno solato in

verjetno se je iz nje tudi razvil (Ryder, 1999). V vegetativni fazi rastline razvijejo zelo gosto rozeto. Znotraj tipa obstaja velika raznolikost v barvi in obliki. Listi so podaljšani, rozeta je pokončna, lahko pa tudi sploščena. Tekstura listov je precej groba. Večina listov je zelenih, ker je glava relativno odprta, notranji listi so rumenkasti. Razširjena je predvsem v sredozemskem območju, največ jo pridelujejo v Italiji, Španiji in Franciji.

3) Berivka, rezivka in obiralka (*L. sativa* var. *crispa* L.) - rastline ne oblikujejo glave, temveč so rumeno zeleni do rjavo rdeči listi združeni v rozeti podobno obliko, ki je lahko pokončna ali sploščena.

4) Stebelna ali belušna solata (*L. sativa* var. *angustana* hort. Ex L. H. Bailey) - rastline ne oblikujejo glave, temveč rozeto. Steblo se podaljša, ko se oblikuje rozeta. Uporablja se odebeljeno, mesnato steblo podobno kot beluše. Te solate najdemo v Egiptu in na Srednjem Vzhodu, pogoste pa so tudi na Kitajskem, medtem ko so v Evropi zelo redke.

Boukema in sod. (1990) razlikujejo na osnovi morfoloških lastnosti sedem skupin vrtno solate. Krhkolistne in mehkolistne uvrščajo vsako v svojo skupino, v posebno skupino pa so uvrščene tudi primitivne vrtno solate za olje (iz semena).

2 NASTANEK IN RAZNOLIKOST ZBIRKE SLOVENSkih GENSkih VIROV SOLATE

S sistematičnim zbiranjem avtohtonih genskih virov solate smo na Kmetijskem inštitutu Slovenije (KIS) začeli v osemdesetih letih prejšnjega stoletja. Zbiranje je najprej potekalo na ljubljanski tržnici, pri pridelovalcih v Trnovem in v širši okolici Ljubljane, v začetku devetdesetih let pa se je razširilo na celotno slovensko območje (Černe, 1999; Meglič in Šuštar-Vozlič, 2000). V zbiranje so bili vključeni otroci v osnovnih in srednjih šolah,

kot tudi predstavniki kmetijske svetovalne službe in organizatorji pridelovanja pri kmetijskih zadrugah. V strokovnih in različnih lokalnih časopisih na območju Slovenije smo objavljali oglase o zbiranju domačih genskih virov. Večkrat smo organizirali tudi zbiranje na kmetijah v različnih predelih Slovenije. Do danes smo tako skupno zbrali 177 genskih virov vrtno solate, ki jih hranimo v Slovenski rastlinski genski banki (SRGB) na KIS. Zbirka

vsebuje tudi 28 genskih virov vrtno solate, ki smo jih za namene različnih raziskav pridobili iz genskih bank drugod po svetu ter 22 genskih virov sorodnih vrst (*L. serriola*, *L. virosa*, *Mycelis muralis*).

Za vse genske vire vrtno solate, ki jih hranimo v genski banki, imamo v podatkovni bazi na voljo osnovne podatke o vzorcu (t.i. 'multicrop passport' podatke). Ko pridobimo nov vzorec v gensko banko, le-tega čim prej razmnožimo v zaščitenem prostoru (mrežniku) na poskusnem polju v Jabljah. Ob tem opravimo osnovno karakterizacijo vzorca (opis osnovnih morfoloških znakov, ocena odpornosti na bolezni in škodljivce). Dozorelo seme posušimo v posebni sušilnici pri temperaturi 25 °C in majhni zračni vlagi, ga očistimo in naredimo osnovno analizo kakovosti. Dobro posušeno seme shranimo v aluminijaste vrečke in damo v prostor za dolgoročno hranjenje pri -20 °C. Po določenem času preverimo kalivost posameznega vzorca in ko le-ta pade pod predpisano mejo, vzorec ponovno razmnožimo.

Na osnovi passport podatkov in osnovnih podatkov o karakterizaciji smo ugotovili, da je večina genskih virov solate iz SRGB (okrog 80 %) uvrščena v fenotipsko skupino krhkolistnih vrtnih solat – ledenk tipa 'Batavia' ter da je v ostale skupine (mehkolistne solate, štrucarice, hrastolistne, vezivke) uvrščen le manjši del genskih virov. Največ vzorcev je iz Ljubljane in njene okolice, širše okolice Celja, Krškega, Prekmurja in Bele krajine.

2.1 Morfološka in molekulska raznolikost slovenske avtohtone vrtno solate ter njena odpornost na solatno plesen

V okviru raziskovalnih projektov smo del slovenskih genskih virov vrtno solate podrobno preučili z morfološkimi in molekulskimi markerji. Osredotočili smo se predvsem na genske vire krhkolistne vrtno solate, ki prevladujejo v zbirki.

Prvo leto smo spomladi posejali 139 genskih virov pretežno krhkolistne vrtno solate. Na osnovi morfoloških lastnosti sadik smo izločili akcesije mehkolistnih solat in vrtno solate v tipu sorte 'Great Lakes'. Preostalih 121 akcesij smo presadili na poskusno polje, kjer smo v rastni dobi opazovali in vrednotili morfološke in fenološke parametre po UPOV deskriptorjih za vrtno solato (TG 13/8) (UPOV, 2003), ki se uporabljajo za RIN (Različnost, Izenačenost, Nespremenljivost) testiranja in obsegajo vrednotenje 38 lastnosti. Izmed teh lastnosti smo jih v poskusu ovrednotili 34. Na osnovi opazovanj in vrednotenj smo ugotovili, da obstaja velika raznolikost znotraj posameznih genskih virov. Med 121 opazovanimi genskimi viri je bilo 51 virov mešanih, t. j. sestavljenih iz več različnih tipov vrtno solate. Razlike so bile tudi med genskimi viri. Za vrednotenje v drugem letu smo izbrali 52 genskih virov, ki so imeli zanimive lastnosti za morebitno nadaljnje žlahtnjenje oz. so bili v tipu 'Ljubljanska ledenka', ki smo jo podrobneje proučevali (glej poglavje 3). Tretje leto smo po UPOV deskriptorjih v poskusu vrednotili 34 akcesij iz SRGB, ki so bili pretežno v tipu 'Ljubljanska ledenka'. Rezultate morfološkega vrednotenja smo statistično ovrednotili s PCA analizo, genski viri so se grupirali glede na morfološke lastnosti (Šuštar-Vozlič in sod., 2007).

V analizo z molekulskimi markerji smo vključili 139 genskih virov vrtno solate, dodatno smo vključili še 20 virov, ki smo jih naročili iz tujine, in so nam služile kot kontrolne sorte za umestitev dednine. Uporabili smo AFLP molekulske markerje (dva restrikcijska encima in kombinacije šestih začetnih oligonukleotidov) (podrobneje v točki 3.1). Rezultati klastrske analize so pokazali, da so posamezni genski viri ozko sorodni. Posamezni tipi vrtno solate so se na dendrogramu razvrstili poleg odgovarjajočih kontrolnih sort. Ozko sorodnost med evropskimi genskimi viri vrtno solate so ugotovili tudi drugi avtorji (Hintum in sod.,

2012). Rezultati vrednotenja morfoloških lastnosti v naši raziskavi so bili primerljivi z rezultati, dobljenimi z molekulskimi markerji.

V sodelovanju s prof. A. Lebedo s Palacky Univerze v Olomoucu na Češkem smo 34 izbranih genskih virov ovrednotili tudi na odpornost proti solatni plesni (*Bremia lactucae* Regel.) (Šuštar-Vozlič in sod., 2006). Ugotovili smo, da je večina slovenskih

genskih virov vrtno solate občutljiva na vseh 12 ras patogena, ki smo jih uporabili pri testiranju. Nekateri viri pa so bili kljub temu odporni in/ali delno odporni na specifične rase, kar kaže na to, da gene za odpornost lahko pričakujemo vsaj pri nekaterih virih. Za povečanje odpornosti slovenskih genskih virov vrtno solate proti tej pomembni bolezni pa bi bilo v prihodnje potrebno zasnovati poseben žlahtniteljski program.

3 OBUDITEV SLOVENSKE AVTOHTONE SORTE VRTNE SOLATE 'LJUBLJANSKA LEDENKA'

'Ljubljanska ledenka' je stara slovenska sorta vrtno solate, ki, kot že samo ime pove, izvira iz Ljubljane in njene okolice (Černe in Levičnik, 1984). Trnovčani in Krakovčani so bili med prvimi oskrbovalci Ljubljančanov z ajsarico, kot so to vrtno solato imenovali. V 19. stoletju se je sorta razširila tudi drugod po Evropi, v Avstrijo (Gradec, Dunaj) in na Češko vse do Prage. Sorta se je odlikovala po lepih glavah, ki so pozno uhajale v cvet, krhki listi pa so imeli značilen rdeč listni rob (Avšič in sod., 1966). Danes Ljubljanska ledenka predstavlja krovno - dežnikasto sorto ('umbrella' variety), ki ima več podtipov – sort. Tri od njih so vpisane v Skupni katalog sort Evropske unije (SKSEU), 'Laibacher Eis 2' (sin. 'Batavia rubia de borde rojo 2' = 'Blonde a bord rouge 2', 'Grazer Krauthauptel 2'), 'Laibacher Eis 3' (sin. 'Blonde a borde rouge 3' – 'Glaciale di Lubiana 3'- I, 'Grazer Krauthauptel 3 NL', 'Laibacher Eis 3 – NL') in 'Laibacher Eis 4' (sin. 'Blonde a borde rouge 4' – 'Grazer Krauthauptel 4 – NL', 'Laibacher Eis 4 – NL') (Šuštar-Vozlič in sod., 2004). Vse sorte, vpisane v SKSEU, imajo značilen rdeč listni rob, kot je razvidno tudi iz njihovih imen oz. sinonimov.

V sedemdesetih letih prejšnjega stoletja rdeč listni rob pri potrošnikih ni bil več zaželen, zato je šla selekcija v smeri odbire rastlin z zelenim listnim robom. Pri opisih sorte 'Ljubljanska ledenka' po letu 1979 tako kot njene bistvene značilnosti ne zasledimo več rdečega listnega roba (Pavlek, 1979, Černe in

Levičnik, 1984, Đokić, 1988). 'Ljubljanska ledenka', kot smo jo do nedavna tržili v Sloveniji, je imela zelen listni rob in je bila tudi po drugih morfoloških lastnostih zelo podobna sortama 'Braziljanka' in 'Leda', ki sta obe nastali s selekcijo iz populacije 'Ljubljanske ledenke'. Sorta 'Leda' je edina med tremi sortami, ki ima uspešno opravljen RIN test. Primerjalna testiranja so pokazala, da sorta vrtno solate 'Ljubljanska ledenka' ne bi uspešno opravila testiranja RIN, ki je pogoj za vpis na SKSEU ter posledično za trženje sorte na območju EU. To pomeni, da bi jo bilo potrebno izbrisati iz SKSEU, kar je imelo za posledico umaknitev sorte z imenom 'Ljubljanska ledenka' iz prometa.

Namen raziskovalnega projekta, ki smo ga opravili na KIS, je bil poiskati izvorno avtohtono sorto 'Ljubljanska ledenka', ki bi se razlikovala od sorte 'Leda' in vseh ostalih sort in bi jo lahko vpisali na SKSEU ter tako omogočili njeno pridelovanje tudi v prihodnje.

Iz genske banke kmetijskih rastlin na KIS smo na osnovi passport podatkov izbrali vse genske vire krhkolistne vrtno solate (skupno 139 virov) in jih vključili v poskus. V raziskavo smo vključili tudi 17 sort z imenom 'Ljubljanska ledenka' in njenimi sinonimi, ki smo jih pridobili s pregledom baz podatkov drugih genskih bank solate v Evropi in svetu, ki so vključevale sorte, ki so bile v preteklem

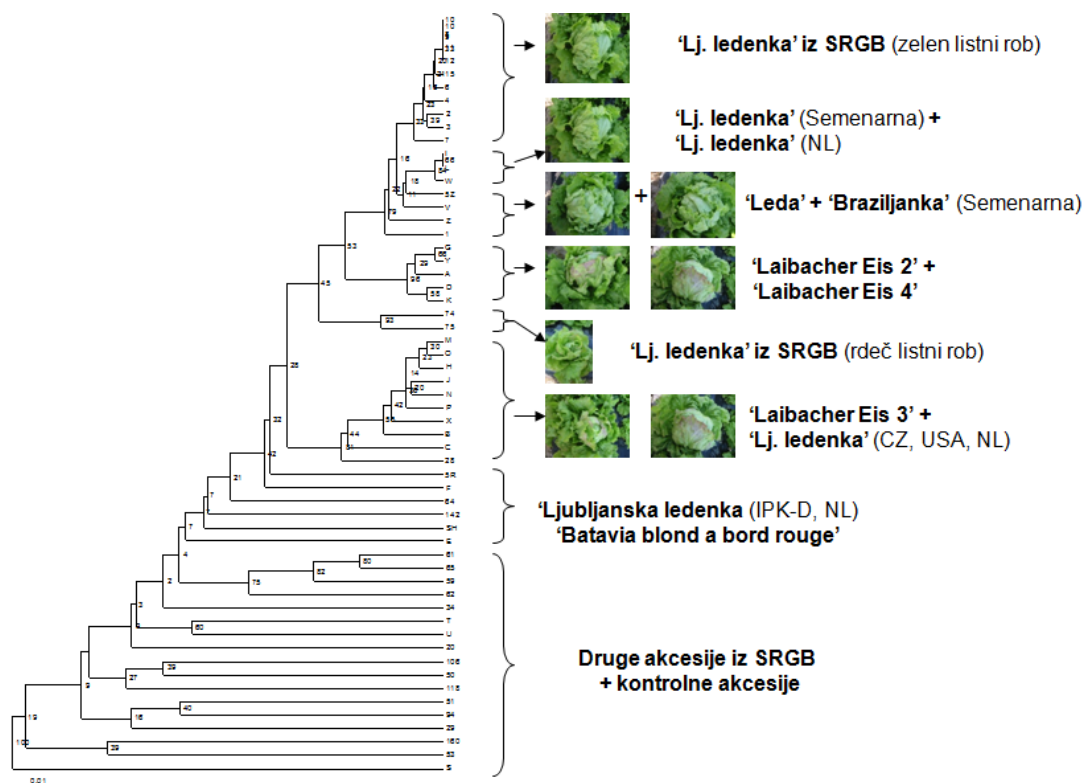
stoletju pridobljene s področja Slovenije in nekdanje Jugoslavije. Tako smo v poskus vključili tudi dve akcesiji iz genske banke IPK v Gaterslebnu (Nemčija), pet akcesij iz genske banke RICP v Pragi (Češka), sedem akcesij iz Centre for Genetic Resources - CGN (Nizozemska) ter tri akcesije iz USDA-ARS, National Genetic Resources Program, GRIN (ZDA). V poskus smo vključili tudi sorte 'Leda', 'Braziljanka' in 'Ljubljanska ledenka' (vse Semenarna Ljubljana) ter sorti 'Laibacher Eis 3' in 'Laibacher Eis 4', ki smo ju pridobili iz kolekcije Nizozemske organizacije za kontrolo sort hortikulturnih rastlin Naktuinbouw.

Sadike smo vzgojili v rastlinjaku in jih kasneje presadili na prosto. Na osnovi morfoloških lastnosti sadik smo predhodno izločili vse genske vire mehkolistnih solat in solate v tipu sorte 'Great Lakes'. V rastni dobi smo opazovali in vrednotili morfološke in fenološke parametre po UPOV (2003) deskriptorjih za vrtno solato (TG 13/8). Genske vire vrtno solate tipa 'Ljubljanska ledenka' in kontrolne genotipe smo vključili tudi v molekulsko analizo z AFLP markerji.

Po prvem letu opazovanja morfoloških in fenoloških lastnosti vseh, v poskus vključenih genskih virov, smo ugotovili, da tipu sorte

'Ljubljanska ledenka' odgovarja 27 vzorcev, shranjenih v SRGB. Med 17 vzorci, pridobljenimi iz tujih genskih bank, je bilo 14 takih, ki so bili v tipu 'Ljubljanske ledenke'. Drugo leto smo v poljskem poskusu vrednotili 41 genskih virov, ki so bili v tipu 'Ljubljanske ledenke', in vse standardne sorte. Rdeč listni rob smo zasledili le pri dveh vzorcih (dobrih 7 %) iz SRGB, medtem ko je bilo iz tujih genskih bank z rdečim robom kar 11 genskih virov (skoraj 80 %). Pri tistih tujih virih, kjer je bila na voljo tudi letnica pridobitve vira, smo videli, da so bili ti viri pridobljeni pred letom 1970, medtem ko so bili viri shranjeni v SRGB zbrani po letu 1989. To potrjuje, da je šla v Sloveniji selekcija pri 'Ljubljanski ledenki' v smer vzgoje rastlin brez rdečega roba. Za nadaljnje vrednotenje smo odbrali 16 genskih virov, 14 iz SRGB (pet z rdečim robom, sedem brez) in dva iz tujih genskih bank (po en z rdečim robom in brez), ki so bili v tipu vrtno solate 'Ljubljanska ledenka', a so se kljub temu v nekaterih podrobnostih razlikovali od nje ter od sorte 'Leda' in sort 'Laibacher eis 2', 'Laibacher eis 3' in 'Laibacher eis 4'.

Rezultate morfoloških in fenoloških vrednotenj smo potrdili z analizo AFLP markerjev (Slika 1).



Slika 1: Grupiranje genskih virov vrtno solate na UPGMA dendrogramu, narejenim na osnovi AFLP analize (slika levo) in primerjava z morfološkim lastnosti glave (barva listnega roba) (slika desno).

4 ZAKLJUČEK

Slovenska rastlinska genska banka vsebuje številne in raznolike genske vire solate, ki so bili zbrani na področju Slovenije, večinoma v zadnjem desetletju prejšnjega stoletja. V zbirki prevladuje tip krhkolistnih solat, najznačilnejša med njimi je 'Ljubljanska ledenka'. Pomen ohranjanja avtohtonih genskih virov se je pokazal ravno pri tej sorti vrtno solate, ki bi zaradi posledic selekcije v zadnjih desetletjih prejšnjega stoletja skoraj izginila iz pridelovanja. Na osnovi večletnega vrednotenja izbranih virov sorte 'Ljubljanska ledenka' tako iz SRGB kot iz drugih genskih bank v svetu smo ugotovili, da še obsojajo

genski viri, ki ustrezajo originalnemu opisu sorte in se hkrati razlikujejo od do sedaj znanih sort. Te vire smo uporabili za obuditev sorte 'Ljubljanska ledenka' in sorto bomo kot avtohtono vpisali v Sortno listo. Avtohtona sorta solate 'Ljubljanska ledenka' kot taka ne bo izginila iz slovenskega prostora, kar je pomembno tudi s stališča ohranjanja biodiverzitete. Pridelovalci bodo sorto lahko pridelovali in zanjo tudi pridobili neposredna plačila na površino, kot je opredeljeno v Slovenskem kmetijskem okoljskem programu ter kandidirali tudi za pridobitev podobnih sredstev iz skladov Evropske unije.

5 ZAHVALA

Hranjenje, razmnoževanje in osnovno vrednotenje genskih virov solate poteka v

okviru programa Slovenska rastlinska genska banka, za kar skrbi Boštjan Lipavic. Raziskave

genetskega izvora in raznolikosti slovenske avtohtone vrtnice solate so potekale v okviru aplikativnega projekta L4-6346, ki sta ga sofinancirala Ministrstvo za šolstvo, znanost in šport in Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano ter evropskega projekta GENRES

(AGRI-2006-0262). Pri obsežnem vrednotenju morfoloških in fenoloških parametrov po UPOV deskriptorjih je sodelovala Marija Kregar. Za zelo dobro opravljeno delo se ji iskreno zahvaljujemo.

6 VIRI

- Avšič S., Korošec J., Potočnik F., Repanšek V., Spanring J., Šilc J. 1966. Ljubljanska ledenka. V: Repanšek, V. (Ur.): Opis priporočenih sort poljščin in vrtnin. Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana: 145-146
- Boukema I. W., Hazenkamp T., Hintum T.J.L. 1990. The CGN Lettuce Collection. V: CGN Collections Reviews. Centre for Genetic Resources Wageningen, the Netherlands: 27
- Černe M. 1999. Slovenska genska banka vrtnin. *Sodobno kmetijstvo*, 32, 1: 36-39
- Černe M., Levičnik S. 1984. Solatnice in kitajski kapus. ČZP Kmečki glas in ČZP Delo, Ljubljana: 24
- Hintum T.J.L., Boukema I.W. 1999. Genetic resources of leafy vegetables. V: Lebeda A., Kristkova E. (Ur.) EUCARPIA Leafy Vegetables '99, Proceedings of the Eucarpia meeting on leafy vegetables genetic and breeding, Olomouc, Czech Republic, 8-11 June 1999. Palacky University Olomouc: 59-71
- Lebeda A., Astley D. 1999. World genetic resources of *Lactuca* spp., their taxonomy and biodiversity. - V: Lebeda A., Kristkova E. (Ur.) EUCARPIA Leafy Vegetables '99, Proceedings of the Eucarpia meeting on leafy vegetables genetic and breeding, Olomouc, Czech Republic, 8-11 June 1999. Palacky University Olomouc: 81-94
- Martinčič A., Wraber T., Jogan N., Ravnik V., Podobnik A., Turk B., Vreš, B. 1999. Mala flora Slovenije - Ključ za določanje praprotnic in semenk. - Tehniška založba Slovenije, Ljubljana: 605
- Meglič V., Šuštar-Vozlič J. 2000. Genetska variabilnost solate. *Sodobno kmetijstvo*, 33, 5: 215-217
- Mou B. 2008. Lettuce. V: Prohens J. in Nuez F. (Ur.): Vegetables I. Asteraceae, Brassicaceae, Chenopodiaceae, and Cucurbitaceae. Springer Science-Business Media LLC: 75-116
- Pavlek P. 1979. Specialno povrčarstvo. Fakultet poljoprivrednih znanosti, Zagreb: 340
- Pink D.A.C., Keane E.A. 1993. Lettuce - *Lactuca sativa* L. V: Kaloo G., Bergh B.O. (Ur.) Genetic improvement of vegetable crops. Pergamon Press, Oxford, New York: 543-571
- Ryder E.J. 1986. Lettuce breeding. - V: Bassett M.J. (Ur.) Breeding vegetable crops. AVI Publishing Company, Westport: 433-474
- Ryder E. J. 1999. Lettuce, endivie and chicory. CABI Publishing, Wallingford: 8-53
- SURS. 2011. Statistični urad Republike Slovenije
- Šuštar-Vozlič J., Ugrinović K., Maras M., Javornik B., Meglič V. 2007. Genetski izvor in raznolikost slovenske avtohtone solate: zaključno poročilo o rezultatih raziskovalnega projekta, (KIS - Poročila o raziskovalnih nalogah, 362). Ljubljana: Kmetijski inštitut Slovenije
- Šuštar-Vozlič J., Ugrinović K., Maras M., Javornik B., Lebeda A., Petrželova I., Meglič V. 2006. Slovene autochthonous collection of crisp lettuce (*Lactuca sativa* L.): morphological and molecular variability, *Bremia resistance*. V: Filipič M., Zajc I. (Ur.). 4th Congress of Slovenian Genetic Society and 2nd Meeting of the Slovenian Society of Human Genetics with International Participation. September 28th-October 1st, 2006, Biološko središče, Ljubljana. *Genetika 2006: Book of Abstracts*. Ljubljana: Slovensko genetsko društvo: 28
- Šuštar-Vozlič J., Ugrinović K., Maras M., Meglič V. 2004. Raziskava genetskega izvora in obuditev slovenske avtohtone sorte solate Ljubljanska ledenka = Research of genetic origin and resuscitation of Slovene autochthonous lettuce variety Ljubljanska Ledenka. V: TAJNŠEK, Anton (ur.). *Novi izzivi v poljedelstvu 2004: zbornik simpozija: proceedings of symposium, Čatež ob Savi, [13. in 14. december] 2004*. Ljubljana: Slovensko agronomsko društvo, 2004: 207-211
- UPOV 2003. Descriptors for identification and DUS - Lettuce TG 13/8

- Trpin D., Vreš B. 1995. Register Slovenije - Praprotnice in cvetnice, latinsko-slovenski register (elektronska verzija). - ZRC SAZU
- Hintum T., Coquin P., Lohwasser U. 2012. Genetic resources collections of leafy vegetables (lettuce, spinach, chicory, artichoke, asparagus, lamb's lettuce, rhubarb and rocket salad): composition and gaps. *Genetic Resources and Crop Evaluation*, 59: 981-997
- Vogel G. 1996. *Handbuch des speziellen Gemüsebaues*. Eugen Ulmer Verlag: 45-54
- Vries I.M. de. 1997. Origin and domestication of *Lactuca sativa* L. - *Genetic Resource and Crop Evolution*, 44: 165-174
- Wiel (van de) C., Arens P., Vosman B. 1999. Microsatellite retrieval in lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Genome*, 42: 139-149

Agrovoc descriptors: legumes, leguminosae, grasses, gramineae, feed crops, gene banks, collections, biodiversity, genetic resources, natural resources, plant anatomy, pollination, data collection, varieties, ecotypes, chemical composition

Agris category code: F30

Genska banka krmnih rastlin na Kmetijskem inštitutu Slovenije

Janko VERBIČ¹ in Vladimir MEGLIČ²

Received December 06, 2012; accepted December 10, 2012.

Delo je prispelo 06. decembra 2012, sprejeto 10. decembra 2012.

IZVLEČEK

Začetki načrtnega zbiranja trav in metuljnic segajo v 50 leta prejšnjega stoletja, ko so iz zbranega materiala kasneje požlahtnili prve slovenske sorte trav in metuljnic. V prispevku je poleg zgodovine prikazano sedanje delo genske banke krmnih rastlin in nekateri rezultati vrednotenja genskih virov v zadnjem desetletju. Za najprimernejši način zbiranja genskih virov so se pokazale večdnevne odprave, katerih cilj so lahko travniki ali kmetije, ki še pridelujejo lokalne populacije oziroma stare sorte kmetijskih rastlin. Trenutno v genski banki hranimo 761 vzorcev krmnih rastlin, od tega je 281 metuljnic, 352 trav, 73 travniških zeli in 55 krmnih poljščin. Večina krmnih rastlin je tujeprašnih, kar otežuje množenje vzorcev zaradi potrebe po prostorski izolaciji. Obnova starih vzorcev je in bo v prihodnje velik izziv tudi naše genske banke. Pri ocenjevanjih travniškega mačjega repa (*Phleum pratense*), navadne pasje trave (*Dactylis glomerata* L.), plazeče detelje (*Trifolium repens* L.), navadne nokote (*Lotus corniculatus* L.) in navadne turške detelje (*Onobrychis viciifolia* Scop.) smo med posameznimi ekotipi ugotovili dokaj veliko morfološko raznolikost. Ekotipi se med seboj razlikujejo tudi po kemijski sestavi, krmni vrednosti in drugih agronomskih lastnostih.

Ključne besede: genska banka, krmne rastline, trave, metuljnice

ABSTRACT

GENE BANK OF FORAGE PLANTS IN AGRICULTURAL INSTITUTE OF SLOVENIA

The systematic collection of grasses and legumes started during the 50 years of the last century. The first Slovenian varieties of grasses and legumes were bred from collected material. This contribution shows the history of the Gene bank of forage crops and some evaluation results of genetic resources in the past decade. Gene resources of forage crops are collected at farms and meadows, where local populations/old varieties of agricultural crops are still cultivated. At the moment in the gene bank 761 samples of forage plants, including 281 legumes, 352 grasses, 73 herbs and 55 forage crops are stored.

Most forage crops are open-pollinated, therefore for propagation the isolation of plants is necessary. This fact prevents the higher propagation rate of different forage crops. Propagation of old samples will be also a challenge for our gene bank in the near future. According to evaluation of timothy (*Phleum pratense* L.), cocksfoot (*Dactylis glomerata* L.), white clover (*Trifolium repens* L.), birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus* L.) and sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) quite high morphological diversity between different ecotypes was found. Ecotypes differ also in chemical composition, nutritive value and also in other agronomic traits.

Key words: gene bank, forage crops, grasses, legumes

1 UVOD

Slovenija ima s kmetijskega vidika zelo težke, hkrati pa tudi zelo pestre pridelovalne razmere, ki so posledica njene geografske lege, pestre geološke zgradbe in razgibanega reliefa, ter s

tem povezanih različnih pedoloških, podnebnih in hidroloških razmer.

¹ Univ.dip.inž.agr., Kmetijski inštitut Slovenije, Hacquetova 17, 1000 Ljubljana

² Izr.prof.dr., prav tam

Bogata biotska raznovrstnost in krajinska pestrost je tudi in predvsem posledica delovanja človeka, ki je prvotno zaradi preživetja oblikoval kulturno krajino. V zadnjih 50 letih pestro biotsko raznovrstnost na travinju in njivah ogroža predvsem izguba teh zemljišč zaradi urbanizacije ter visoka intenzivnost kmetijstva na eni in opuščanje rabe na drugi strani.

Pomena genske raznolikosti za uporabo v kmetijstvu so se pri nas zavedali že kmalu po ustanovitvi Kmetijskega kemičnega preskuševališča za Kranjsko v Ljubljani, t.j. po letu 1898, ko so med drugimi kmetijskimi rastlinami začeli s proučevanjem slovenskih

ekotipov trav in detelj. Intenzivnejše zbiranje ekotipov trav in metuljnic se je na Kmetijskem inštitutu Slovenije za potrebe žlahtnjenja nadaljevalo v 50 letih prejšnjega stoletja. Iz tega materiala so kasneje vzgojili prve domače sorte trav in metuljnic (Zbornik, 1998).

Sedanje delo genske banke krmnih rastlin na Kmetijskem inštitutu Slovenije poteka v okviru Slovenske rastlinske genske banke. Delo genske banke krmnih rastlin obsega zbiranje, ocenjevanje, razmnoževanje in hranjenje domačih ekotipov travniških rastlin (trave, metuljnice, zeli) in lokalnih populacij oziroma starih sort krmnih rastlin, ki se gojijo kot poljščine v njivskem kolobarju.

2 ZBIRANJE GENSKIH VIROV

V Sloveniji so se v preteklosti lokalne populacije kmetijskih rastlin zbirale v sodelovanju s šolami, kmetijsko svetovalno službo, preko časopisnih oglasov in redkeje tudi s posamičnimi obiski kmetij. Zbiranje trav in metuljnic za potrebe žlahtnjenja je običajno potekalo občasno ali vzporedno z drugim terenskim delom.

Sodelovanju z genskimi bankami Češke in Slovaške je prineslo za nas nove pristope, ki jih pri zbiranju genskih virov do tedaj nismo uporabljali – zbiranje na odpravah.

Odprava traja več dni in ima večje število udeležencev, ki so lahko specialisti za posamezne skupine rastlin (trave, metuljnice, zdravilne rastline, žita, zelenjadnice). Pogosto je član odprave tudi botanik in lokalni kmetijski svetovalec, ki je dober poznavalec lokalnega okolja. Prisotnost lokalnega kmetijskega svetovalca je pomembna predvsem pri zbiranju na kmetijah, saj najbolje pozna ljudi in razmere na terenu.

Tako smo v zadnjem desetletju v Sloveniji organizirali osem odprav, kjer smo nabirali

travniške rastline, ki so namenjene krmi ali so divji sorodniki kulturnih rastlin. Nabirali smo tudi lokalne populacije kmetijskih rastlin, ki se tradicionalno še pridelujejo na kmetijah. Glede na dosedanje izkušnje ima predvsem zbiranje lokalnih populacij na odpravah nekatere pomembne prednosti pred drugimi oblikami zbiranja:

- z osebnim obiskom kmetije dobimo zanesljive osnovne agronomske informacije o pridobljenem vzorcu (način pridelave, uporabe);
- pogosto dobimo tudi pomembne podatke o zgodovini pridelave, etnoloških posebnostih, povezanih s pridelavo, predelavo in uporabo;
- v jesenskem času, ko se običajno organizira odprava je nekatere rastline mogoče še videti na polju ali vrtu, kjer lahko naredimo že prvi enostaven opis rastline in jo fotografiramo;
- pogosto se v pogovoru na kmetiji izkaže, da pridelujejo ali hranijo seme tudi drugih starih sort oziroma populacij;
- osebni stik je najprimernejši način, da kmetu razložimo velik pomen njegovega

dela, pri ohranjanju starih sort kmetijskih rastlin.

3 HRANJENJE IN DOKUMENTIRANJE GENSKIH VIROV

V genski banki Kmetijskega inštituta Slovenije hranimo genske vire krmnih rastlin, ki smo jih zbrali po letu 1992 ter tudi nekatere starejše vire. Skupaj hranimo 761 vzorcev krmnih rastlin, od tega je 281 metuljnic, 352 trav, 73 travniških zeli in 55 krmnih poljščin. Hranimo tudi vse slovenske sorte krmnih rastlin, ki so bile požlahtnjene iz domačega genskega materiala.

Vzorke hranimo v hladilnici Centralne genske banke na Kmetijskem inštitutu Slovenije v Ljubljani pri +2 °C (srednjeročno hranjenje), manjši del vzorcev hranimo pri -20 °C v zamrzovalni skrinji.

Dokumentacija je ena pomembnejših prvin dela v genski banki in pri izdelavi datoteke uporabljamo osnovne deskriptorjev za kmetijske rastline (Multi-crop Passport Descriptors, 2012).

4 MNOŽENJE GENSKIH VIROV

Seme trav in metuljnic z visoko začetno kalivostjo in nizko vsebnost vlage pri pravilnem skladiščenju dokaj dolgo (10 in več let) obdrži dovolj visoko kalivost (75%). Podobno velja tudi za velik del krmnih poljščin. Kljub temu je potrebno del semena v genski banki obnavljati oziroma množiti. V svetovnem merilu je nezadostno množenje starejših slabo kalivih vzorcev eden večjih problemov in tudi bodočih izzivov mnogih genskih bank oziroma vlad, ki financirajo delo genskih bank. Trave in metuljnice so večinoma tujeprašne rastline, kar nam ekonomsko in organizacijsko oteži množenje. Posebej to velja za večino metuljnic, ki so žužkocvetke in za uspešno množenje

potrebujemo mrežnike z oprashaľalci. Nekoliko enostavnejše je množenje trav, kjer je pomembna le prostorska ali časovna izolacija. Na Kmetijskem inštitutu Slovenije običajno trave in nekatere metuljnice množimo na manjših parcelah sredi večjih njiv, kjer je omogočena prostorska izolacija. Tako lahko na eni parceli skupaj množimo več različnih vrst kmetijskih rastlin, ki se med seboj ne oprashaľujejo. Vzorke sejemo na njivo neposredno ali v rastlinjaku predhodno vzgojimo sadike in jih kasneje presadimo na njivo. Glede števila množenih rastlin izpolnjujemo vsaj minimalni priporočeni pogoj za tujeprašne rastline, ki znaša 30 rastlin na ekotip (Boller in sod., 2007).

5 KARAKTERIZACIJA IN EVALVACIJA GENSKIH VIROV

Uporabljamo deskriptorje Mednarodnega inštituta za genske vire (IPGRI) za posamezne vrste ali skupine rastlin (npr. Forage Grass Descriptors, Forage Legumes Descriptors). Poljske poskuse za opis morfoloških in kemijskih lastnosti proučevanih ekotipov izvajamo na poskusnem polju Kmetijskega inštituta Slovenije v Jabljah. Pri večletnih

rastlinah osnovne meritve opravimo v času vegetacije v drugem letu rasti na povprečno vsaj 20 rastlinah, običajno pa več. Z namenom enostavnejših in natančnejših meritev in opisov predvsem pri metuljnicah si pogosto pomagamo z izdelavo herbarija. Herbarij nam služi kot pomoč pri meritvah morfoloških lastnosti (npr. velikost listov) in tudi kot

arhivski material. Kemijske analize predvsem v smislu ugotavljanja kakovosti rastlinskega materiala za prehrano živali opravljamo v Centralnem laboratoriju Kmetijskega inštituta Slovenije. Kemično sestavo in vsebnost neto energije za laktacijo (NEL) v vzorcih zadnja leta ocenjujemo tudi s pomočjo bližnje infrardeče refleksijske spektroskopije. Gre za metodo, ki presega ocenjevanje krme zgolj na podlagi kemične sestave in je prilagojena slovenskim rastnim razmeram.

Karakterizacija in evalvacija hranjenega genskega materiala poteka postopoma za izbrane vrste rastlin. To pomeni, da se v smislu racionalizacije in kakovostnejše izvedbe v enem letu odločimo za karakterizacijo in evalvacijo na eni ali dveh rastlinskih vrstah, kjer imamo zbranih več genskih virov. V nadaljevanju so opisani nekateri rezultati karakterizacije in evalvacije nekaterih vrst krmnih rastlin, ki smo jih opravili v zadnjih letih.

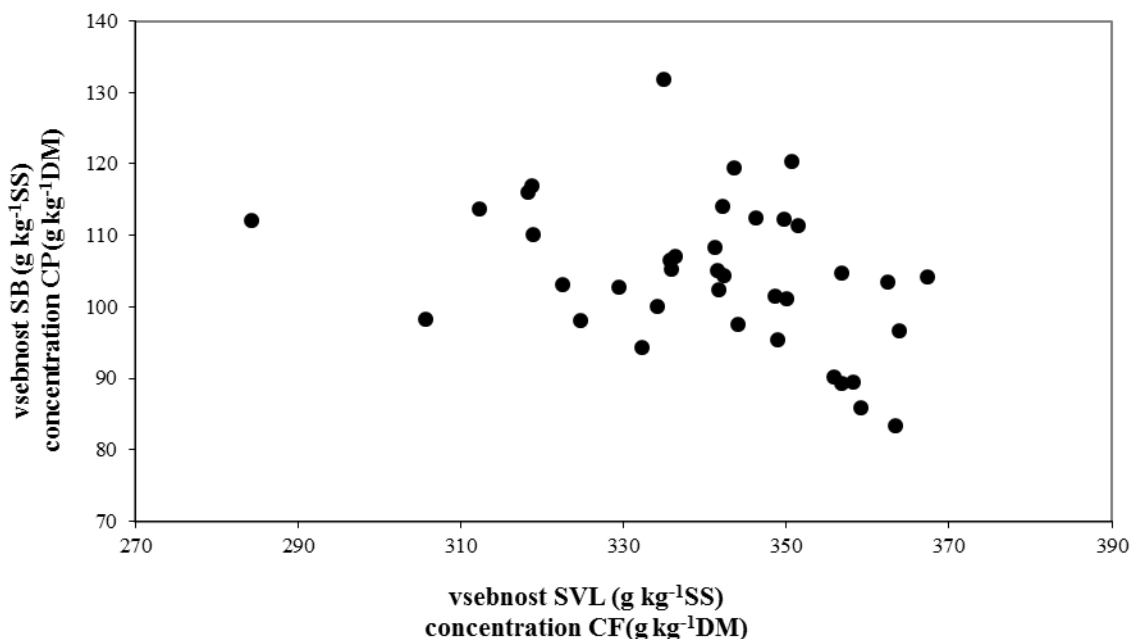
5.1 Travniški mačji rep (*Phleum pratense* L.)

Ugotavljali smo morfološke in kemijske lastnosti 13 različnih ekotipov travniškega

mačjega repa iz predalpskega in submediteranskega klimatskega območja Slovenije. V različnih rokih košnje (3.maj, 18.maj in 5.junij) smo ugotavljali pridelek in hranilno vrednost sena. Različni ekotipi so klasili od 27.maja do 6.junija, višina rasti ob klasenju je bila od 59 do 100 cm. Ekotipi so se razlikovali tudi v intenzivnosti regeneracije in odpornosti proti boleznim. Pridelki sena so se glede na rok košnje gibali od 1,94 do 3,78 v prvem, od 3,95 do 6,39 v drugem in od 6,65 do 8,46 t SS ha⁻¹ v tretjem roku. Vsebnost NEL se je v prvem roku gibala od 6.04 do 6.33, v drugem od 5.63 do 6.06 in tretjem od 4.81 do 5.44 MJ kg⁻¹ SS. Že majhno število raziskanih ekotipov kaže na veliko raznolikost in velik potencial domače dednine za žlahtnjenje.

5.2 Navadna pasja trava (*Dactylis glomerata* L.)

Kemijske analize 38 ekotipov navadne pasje trave kažejo precejšnjo raznolikost v vsebnosti surovih beljakovin in surove vlaknine. Rezultati so prikazani v sliki 1. Ocenjevali smo tudi NEL, ki se je gibala od 4,85 do 5,28 MJ kg⁻¹SS.



Slika 1: Vsebnost surovih beljakovin (SB) in surove vlaknine (SVL) 38 ekotipov navadne pasje trave (*Dactylis glomerata* L.)

Figure 1: Concentration of crude protein (CP) and crude fibre (CF) of 38 ecotypes of cocksfoot (*Dactylis glomerata* L.)

V poljskem poskusu smo ocenili morfološke lastnosti 56 ekotipov navadne pasje trave. Ugotovili smo precejšno variabilnost pri vseh merjenih in ocenjevanih lastnostih. Najpogostejši tip rasti je *semi-erectum*, medtem ko smo *medium* in *prostratum* tip rasti zasledili redkeje in pripadajo trem ekotipom iz alpskega fitogeografskega območja ter ekotipu iz Javornikov. Po širini listov prevladujejo srednji do široki listi, razen iz alpskega fitogeografskega območja, kjer so prisotni tudi ekotipi z ozkimi listi. Po intenzivnosti latenja v drugem letu rasti so med ekotipi precejšne razlike, ki pa jih ne moremo povezati z različnimi izvori. Vsi ekotipi so po začetku latenja zelo zgodnji saj latijo že v prvih dneh maja. Višina rastlin se giblje od 61 cm pri ekotipu iz Vršiča do 125 cm pri ekotipu iz Rožic. Glede na dokaj veliko število raziskanih ekotipov iz celotnega območja Slovenije lahko zaključimo, da v Sloveniji prevladujejo zgodnji do zelo zgodnji ekotipi navadne pasje trave, ki latijo že v začetku maja.

5.3 Plazeča detelja (*Trifolium repens* L.)

Morfološke lastnosti 39 ekotipov plazeče detelje smo vzporedno proučevali v poljskem in lončnem poskusu. Velikost (dolžina/širina) srednjega lističa v trištevnom listu se je gibala od 11,3/10,0 do 26,0/21,0 mm. Razmerje dolžina/širina, ki nam približno opiše obliko listov se je gibala od 0,8 do 1,3. Ocene površine listov (širina x dolžina) so se gibale od 115 do 533 mm². Ugotovili smo tudi

precejšnje razlike v intenzivnosti in obsegu razraščanja rastlin, ki je bil v premeru od 46 cm do 164 cm. Skupna dolžina nadzemnih poganjkov v lončnem poskusu se je med ekotipi gibala od 0 do 44 cm. Ocenjevanje ekotipov plazeče detelje kaže veliko raznolikost domačega avtohtonega materiala.

5.4 Navadna nokota (*Lotus corniculatus* L.)

Ocenili smo nekatere morfološke, agronomske in biokemijske lastnosti 18 ekotipov navadne nokote. Obravnavani ekotipi so izkazali precejšno morfološko raznolikost, predvsem po tipu rasti (ocena: 2,4 do 7,4), dlakavosti rastline (ocena: 1 do 4,5) ter višine rasti (16 do 40 cm). Velike razlike smo ugotovili tudi pri datumu cvetenja, ki se je gibal od 6. do 20. junija. Vsebnost surovih beljakovin se je gibala od 180 do 284 g/kg SS in vsebnost surovih vlaknin od 195 do 234 g/kg SS.

5.5 Navadna turška detelja (*Onobrychis viciifolia* Scop.)

Morfološko in kemijsko smo vrednotili 4 ekotipe in jih primerjali s 5 češkimi ekotipi. Na osnovi ocen smo ekotipe navadne turške detelje uvrstili v navaden tip (*Common*), ki v letu setve ne cveti (dvo kosen in bolj trpežen tip) in v tip velike esparzete (*Giant*), ki cveti že v letu setve (več kosen in manj trpežen tip). Vsi ekotipi so s Krasa in pripadajo navadnemu tipu, medtem ko vsi ekotipi s panonskega območja Češke pripadajo velikemu tipu turške detelje.

Preglednica 1: Morfološke lastnosti in ocena prezimitve 9 ekotipov navadne turške detelje (*Onobrychis viciifolia* Scop.)

Table 1: Morphological traits and winter hardiness of 9 ecotypes of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.)

Izvor Origin	CVE (3-7) ^a	Prezimatev Winter hardiness (1-9) ^b	Tip ^c Type ^c	Tip rasti ^d Growth habit ^d	Višina rastlin Plant height (cm)	List/Leaf	
						Lenght (mm)	Width(mm)
						D (mm)	Š (mm)
Prešnica, SVN	3	3,1	C	E	68	34	8,3
Senožeče, SVN	3	4,1	C	E	59	29	7,8
Klanec, SVN	4	3,2	C/G	SE	70	26	7,3
Prešnica, SVN	4	2,4	C	-	74	28	6,3
Letonice, CZ	5	6,1	C/G	-	50	21	4,2
Újezd u Brna, CZ	7	6,3	G	SE	65	27	4,9
Želetice, CZ	7	4,9	G	P	55	24	6,2
Želetice, CZ	7	3,8	G	SP	66	21	6,0
Popice, CZ	7	5,4	G	SP	49	26	6,5

CVE - Nagnjenost k cvetenju v letu setve/ Tendency to flower in the year of sowing

a - 3 = majhna/weak, 7 = močna/strong

b - 1 = zelo dobra/very good

c - C-navaden/common, G-veliki/giant

d- E-pokončen/erect, SE-pol pokončen/semi erect, SP-pol ležeč/semi prostrate, P-ležeč/prostrate

6 ZAHVALA

Zahvaljujemo se vsem, ki so v polpretekli zgodovini kljub pečatu nazadnjaštva na kmetijah ohranili dragoceno dednino starih sort oziroma populacij kmetijskih rastlin. Pa tudi tistim, ki so in še izvajajo tradicionalno

rabo travinja, ki poleg ohranjanja genske raznovrstnosti travniških rastlin veliko prispeva k neponovljivi kulturni krajini v Sloveniji.

7 VIRI

Zbornik ob 100-letnici Kmetijskega inštituta Slovenije (ur.: S. Gliha, I. Kmetič, B. Koruza, L. Marinček in T. Volk).1998. Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije, 300 str.

Boller B, Willner E, Marum P, Maggioni L, Lipman E. 2010. Report of a Working Group on Forages.

Ninth Meeting, 23-25 October 2007, Piešťany, Slovakia. Bioversity International, Rome, Italy, 46 str.

FAO/Bioversity Multi-Crop Passport Descriptors V.2 [MCPD V.2]. June 2012, 11str.

Agrovoc descriptors: grapevines, vitis vinifera, wine grapes, gene banks, collections, biodiversity, genetic resources, natural resources, data collection, germplasm, land varieties, rootstocks, clones, plant breeding, varieties, genotypes, international cooperation

Agris category code: F30

Slovenska genska banka žlahtne vinske trte

Radojko PELENGIĆ¹ in Boris KORUZA²

Received November 30, 2012; accepted December 10, 2012.

Delo je prispelo 30. novembra 2012, sprejeto 10. decembra 2012.

IZVLEČEK

Zbiranje in ohranjanje genskega fonda rodu *Vitis* je pomembna naloga, ki smo se je v Sloveniji načrtno lotili leta 1980. Možnost izbire med različnimi genotipi omogoča nadaljevanje žlahtniteljskega dela, tako glede selekcije (odbire klonov žlahtne vinske trte), kot tudi glede vključevanja zanimivih lastnosti v že obstoječe genetske kombinacije (pridobivanje odpornejših sort). Predvsem pri starih domačih sortah žlahtne vinske trte je pomembno, da smo jih v čim večjem številu ohranili in zaščitili preden so povsem izginile iz naših vinogradov. Posebej to velja za avtohtone vinske sorte žlahtne vinske trte, ki so izključno del naše naravne dediščine in jih v drugih vinorodnih deželah ne najdemo. Slovenska genska banka žlahtne vinske trte je razdeljena na dva dela in sicer na kolekcijo starih sort ter na kolekcijo novih, doma selekcioniranih klonov žlahtne vinske trte ter podlag. Kolekcije *in situ* so posajene na treh lokacijah, kot kolekcija z okoli petdesetimi starimi domačimi vinskimi sortami žlahtne vinske trte, ki se sproti dopolnjuje v Ampelografskem vrtu BF v Kromberku pri Novi Gorici, kot kolekcija 29 novih doma selekcioniranih klonov žlahtne vinske trte na lokaciji Litmerk pri Ormožu in kot kolekcija 10 novih doma selekcioniranih klonov žlahtne vinske trte v Vipavi. Poleg treh glavnih lokacij, se kolekcije nahajajo še na štirih pomožnih lokacijah, kot kolekcije novih doma selekcioniranih klonov žlahtne vinske trte v Pleterjih, Čurilah pri Metliki in Gadovi peči, ter kot kolekcija starih domačih vinskih sort žlahtne vinske trte v Dobrovem v Goriških Brdih. Vse zbrane akcesije so vključene v program ampelografije, ki se opravlja po predpisani metodiki deskriptorjev, ki jih izdajajo mednarodna organizacija za vinsko trto in vino (OIV), mednarodni inštitut za rastlinske genske vire (IPGRI) in mednarodna zveza za zaščito novih sort rastlin (UPOV), ki skupno obsega opis 130 morfoloških značilnosti. Delo poteka postopno, osnovno opisovanje pa je bilo razširjeno s popolno filometrijo. Do leta 1999 smo bili kot sodelavci vključeni tudi v evropski projekt GENRES, vse naše zbrane vinske sorte pa so vpisane v »Mednarodni seznam sort vinske trte in njihovih sinonimov«, ki ga je izdala mednarodna organizacija za vinsko trto in vino.

Ključne besede: genska banka, žlahtne vinska trta, avtohtona sorta, ampelografija, filometrija

ABSTRACT

SLOVENIAN GRAPEVINE GERMPLASM

Collecting and preserving the genetic pool of the genus *Vitis* is an important task that we have in Slovenia systematically addressed already in 1980. The possibility to choose between different genotypes gives breeders an opportunity to develop new varieties, both in terms of selection (selecting clones of the variety), as well as the integration of interesting features into the existing genetic combinations (making resistant varieties). It is very important that we have collected and preserved our old grapevine varieties which were in danger of extinction and are/were grown only in our country. This is especially true for indigenous grape varieties that are exclusively part of our natural heritage and they can not be found in other wine regions. Slovenian grapevine germplasm is divided into two parts, namely the collection of old grapevine varieties and the collection of new selected grapevine clones and rootstocks. Collections *in situ* are planted at three locations, (1) a collection of about fifty old grapevine varieties that are constantly updated in ampelographic garden BF in Kromberk in Nova Gorica, (2) a collection of 29 new selected clones on the location Litmerk near Ormož and (3) a collection of 10 new selected clones in Vipava. In addition to the three main sites there are four auxiliary locations, collection of new selected clones in Pleterje, Čurile near Metlika, Gadova peč, and a collection of old indigenous vine varieties in Dobrovo in Goriška brda. All collected accessions are included in the program of ampelographic description carried out according to the prescribed methodology descriptors issued by the International Organisation of Vine and Wine (OIV), International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI) and International Union for Protection of New Varieties of Plants (UPOV), and a total volume of 130 description of morphological features is done. The work is done gradually, basic description was expanded to

¹ Univ.dipl.inž.agr., Kmetijski inštitut Slovenije, Hacquetova ulica 17, 1000 Ljubljana, e-pošta: radojko.pelengic@kis.si

² Mag., univ.dipl.inž.agr., Kmetijski inštitut Slovenije, Hacquetova ulica 17, 1000 Ljubljana

a full phylometric processing. Till 1999, we were also involved as collaborators in the European project GENRES. All our collected grapevine varieties were entered in the "Liste Internationale des Variétés de Vigne et leurs Synonymes", issued by OIV.

Key words: germplasm, grapevine, indigenous variety, ampelography, phylometry

1 UVOD

Zbiranje in ohranjanja genskega bogastva rodu *Vitis* so se v večini evropskih vinogradniških držav načrtno lotili leta 1970. Raznolikost genotipov, ki omogoča nadaljnji razvoj žlahtniteljskega dela, tako glede selekcije (odbire klonov) kot tudi možnosti vključevanja dednih lastnosti v že obstoječe genske kombinacije (genski inženiring, pridobivanje odpornejših in tolerantnejših sort na vremenske razmere in fitopatogene organizme) je potrebno ohraniti. Prav zato smo se v Sloveniji leta 1980 pridružili načrtnemu zbiranju genskega bogastva rodu *Vitis*, in sicer s postopnim ustanavljanjem genske banke – kolekcije žlahtne vinske trte *in situ* na več lokacijah, v vseh treh vinorodnih deželah Slovenije. Pri delu, ki ga vodi kurator genske banke žlahtne vinske trte (mag. Boris Koruza, Kmetijski inštitut Slovenije), sodelujejo še strokovnjaki Katedre za hortikulturo (Biotehniška fakulteta - Oddelek za agronomijo) in obe selekcijski trsničarski središči (Ivanjkovci in Vrhopolje). Pri zbiranju materiala so svoj delež prispevali tudi številni slovenski vinogradniki in trsničarji. V zbirko so bile vključene predvsem stare sorte žlahtne vinske trte in lastne selekcije sort (kloni) – torej genotipi, ki jih imamo večinoma le pri nas in smo v tem pogledu dolžni zanje tudi skrbeti. Z oznako »stare vinske sorte« mislimo na naše avtohtone sorte žlahtne vinske trte (najdene kot samonikle sorte ali pa stare sorte,

ki jih tradicionalno in dokumentirano gojimo samo pri nas) in naše udomačene stare sorte žlahtne vinske trte, ki jih dokumentirano gojijo pri nas že več kot dvesto let. Vse naše zbrane vinske sorte so vpisane v »Liste internationale des Variétés de vigne et leurs synonymes« (Koruza in sod., 1998; OIV, 1996).

Kolekcije klonov lastnih selekcij so se v tistem obdobju postavile v Jeruzalemu pri Ormožu, Slapu pri Vipavi in Vidošičih v Beli krajini. Kolekcija starih primorskih sort, ki je takrat nastala pa je bila razdeljena na treh lokacijah, in sicer: Lože pri Vipavi, Ampelografski vrt BF v Kromberku pri Novi Gorici in Dobrovo v Goriških brdih. V tem obdobju so pri vseh klonih, ki jih je kar 148, potekali postopki zapisovanja ampelografskih deskriptorjev, ugotavljanja njihovega zdravstvenega stanja (serološki testi, indeksiranje) in preskušanje njihove tehnološke vrednosti, skupaj z mikrovinifikacijami vzorcev grozdja, kemijsko analizo in senzorično oceno vina. V letu 2011 so bili nekateri kloni sort žlahtne vinske trte tudi potrjeni in vpisani v sortno listo. Pri starih sortah pa se je v tem obdobju skrbelo predvsem za ohranitev materiala in zbiranje ampelografskih opisov. Na temo starih sort je bilo objavljenih več člankov, diplomskih in magistrskih del (Koruza in sod., 1998; Koruza in sod., 1999).

2 MATERIAL IN METODE

2.1 Kolekcija Litmerk pri Ormožu

Kolekcija 39 novih potrjenih in vpisanih v sortno listo klonov žlahtne vinske trte lastnih

selekcij na Litmerku pri Ormožu je bila zasajena v obdobju od leta 2006 do leta 2010. Velikost kolekcije je 2,5 ha pokrite s proti točno mrežo, ki je bila postavljena s

sodelovanjem Seleksijsko trsničarskega središča (STS) Ivanjkovci. Kolekcija vključuje nove doma selekcionirane klone vinskih sort primernih za gojenje v vinorodni deželi Podravje in Posavje: 'Laški rizling' (4 klone: SI-11, SI-12, SI-13, SI-41), 'Sauvignon' (3 klone: SI-1, SI-2, SI-3), 'Renski rizling' (3 klone: SI-22, SI-23, SI-24), 'Šipon' (5 klonov: SI-14, SI-15, SI-16, SI-17, SI-18), 'Radgonska ranina' (4 klone: SI-4, SI-5, SI-6, SI-7), 'Chardonnay' (3 klone: SI-21, SI-39, SI-40), 'Beli pinot' (2 klone: SI-19, SI-20), 'Dišeči traminec' (3 klone: SI-8, SI-9, SI-10), 'Ranfol' (1 klon: SI-38), 'Žametovka' (1 klon: SI-25) (Koruza in sod., 2012). Dodatno je posajeno manjše število trsov doma selekcioniranih klonov primernih za gojenje v Primorski vinorodni deželi. Kolekcija je posajena na izolirano lokacijo, v njej pa se izvajajo tudi vsi tehnološki ukrepi proti okužbam s fitoplazmami (trsne rumenice).

2.2 Kolekcija Slap pri Vipavi

Kolekcija 39 novih potrjenih in vpisanih v sortno listo klonov žlahtne vinske trte lastnih selekcij pri Slapu pri Vipavi je bila zasajena v letu 2009. Velikost kolekcije je 1 ha in je prav tako pokrita s proti točno mrežo. Postavilo se je s sodelovanjem seleksijsko trsničarskega središča (STS) Vrhpolje. V njej so posajeni klone primerni za gojenje v Primorski vinorodni deželi: 'Zelen' (1 klon: SI-26), 'Pinela' (1 klon: SI-28), 'Barbera' (1 klon: SI-36), 'Malvazija' (1 klon: SI-37), 'Refošk' (1 klon: SI-35) in 'Rebula' (5 klonov: SI-30, SI-31, SI-32, SI-33, SI-34) (Koruza in sod., 2012). Prav tako je posajeno manjše število trsov doma selekcioniranih klonov primernih za gojenje v vinorodnih deželah Podravje in Posavje. Na obeh lokacijah je še nekaj prostora za zasajanje morebitnih novih akcesij.

2.3 Kolekcija Ampelografski vrt v Kromberku

Kolekcija Ampelografski vrt v Kromberku pri Novi Gorici je bila obnovljena leta 1999. Po sajenju v letu 2004 in 2005 trenutno obsega okrog 50 starih vinskih sort žlahtne vinske trte pri katerih se opaža več tipov, tako da število starih vinskih sort še ni dokončno. V tej kolekciji se izvajajo ampelografska preučevanja sort, s katerimi lahko natančno opredelimo za katero sorto oziroma tip gre. Ta kolekcija postopoma nadomešča kolekciji v Ložah in na Dobrovem (Koruza in sod., 1999).

Metode, ki se uporabljajo pri opisovanju in opazovanju vinske trte so predpisane s strani Mednarodne organizacije za vinsko trto in vino (O.I.V.). Za ampelografsko opisovanje sort se uporabljajo deskriptorji s katerimi opišemo morfološke lastnosti vinske trte (vršička, mladike, mladega lista, grozdov, itd.).

Metode za merjenje vsebnosti kemijskih in biokemijskih lastnosti se sproti dopolnjujejo in ažurirajo. Uporabljajo se različne metode glede na komponente, ki nas zanimajo. Med temi analizami so najpogostejše analize fenolov v grozdju, analize barvil v grozdju (β -karoten, lutein, ksantofili) ter merjenje sladkorjev in kislin v grozdju.

Pri mikro-vinifikacijah se uporablja kletarska oprema, ki pa je glede dimenzij prilagojena manjšim količinam. Kemijske analize, ki se opravljajo, so standardne kemijske analize mošta in vina, razen v primerih ko se preizkuša določene kemijske in biokemijske spojine bolj natančno v raziskovalne namene.

V zadnjih letih smo pričeli opravljati tudi DNA analize sort, s katerimi lahko bolj natančno določimo sorodnost med sortami.

3 REZULTATI

V okviru strokovnih nalog poteka revitalizacija stare vinske sorte 'Cipro' žlahtne vinske trte, ki so jo nekoč gojili predvsem v Slovenski Istri. Opravljeni sta bili dve mikro-vinifikaciji, prav tako se zbirajo podatki o tehnoloških lastnostih in ampelografski opis sorte.

V letu 2009 smo nadaljevali z gojenjem trsnih cepljenk za potrebe sajenja novih in obnavljanje starih kolekcij. Vse navedene kolekcije, ki skupaj predstavljajo slovensko genosko banko žlahtne vinske trte *in situ*, so redno oskrbovane s standardnimi tehnološkimi ukrepi za žlahtno vinsko trto. V letu 2009 smo nadaljevali z izdelavo ampelografskih opisov po metodiki deskriptorjev (OIV, UPOV, IPGRI), in sicer pri akcesijah 'Zelen', 'Glera', 'Bela Glera', 'Racuk', 'Ranfol', 'Dišečka', 'Rebula' in 'Vitovska Grganja'. Pri teh sortah je bil poleg ampelografskega opisa pridobljen tudi slikovni material, opravljene so bile filometrijske meritve ter narejeni fenolni in aromatski profili grozdja. Pri teh akcesijah smo ugotavljali tudi zdravstveno stanje trsov po metodi ELISA. Predvsem pri starih vinskih sortah ugotavljamo precejšnjo stopnjo okuženosti z virusi vinske trte (GFLV, ArMV, GLRaV I in III, GVA, GFvK). To je eden izmed razlogov, zakaj zbrane akcesije

postopno obnavljamo in rastline zamenjujemo z zdravimi.

V rastlinjaku smo uspešno pridobili zdrave rastline klonov vinske sorte 'Modra frankinja' in v letu 2010 cepili že prve zdrave cepiče za pridelavo zdravega sadilnega materiala, ki bo posajen v kolekcije. Skladno s programom dela za leto 2011, smo pozimi porezali, razkužili in pripravili cepiče vseh zbranih akcesij starih vinskih sort žlahtne vinske trte. V marcu 2011 so bile vse akcesije cepljene na brez virusno podlago 'Kober 5BB kl. 13-15 Gm'. Skupno je bilo razmnoženih okoli 43 starih vinskih sort žlahtne trte, nekatere imajo tudi več tipov, tako da je bilo končno število cepljenk približno 3800. Ker je bil zaradi različnih razlogov, prijem cepičev pri nekaterih sortah slab, smo v letu 2012 cepljenje ponovili. Namen cepljenja je pridobiti zadostno količino cepljenk posamezne stare vinske sorte žlahtne vinske trte za postavitve nove kolekcije spomladi leta 2013. Nova kolekcija bo zaradi večjega števila trsov posamezne sorte (od 20 do 30 trsov) omogočala tudi mikro-vinifikacije grozdja po sortah, ki do zdaj zaradi premajhne količine grozdja pri nekaterih sortah niso bile mogoče. S tem bomo pridobili tudi podatke o tehnoloških vrednostih grozdja in vina starih sort žlahtne vinske trte.

4 LITERATURA

Koruza, B., Tomažič, I., Korošec-Koruza, Z., Lokar, V. 1998. The collecting, conserving, evaluating and data collecting of genetic resources of grapevine (*Vitis* spp.) in Slovenia. [Predavanje na :] 2nd European network for grapevine genetic resources, conservation and characterisation. Torres Vedras, Portugal, 18.-20.11.1998. 82 str.

Koruza, B., Tomažič, I., Korošec-Koruza, Z. 1999. Slovenska genska banka vinske trte. *Sodobno kmetijstvo*, 32, (1): 43-45.

Koruza, B., Vaupotič, T., Škvarč, A., Korošec-Koruza, Z., Rusjan, D. 2012. Katalog slovenskih klonov vinske trte. Nova Gorica: Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije - Kmetijsko gozdarski zavod; Maribor: Kmetijsko gozdarski zavod, 93 str.

Organisation International de la Vigne et du Vin (OIV). 1996. Liste Internationale des Varietes de Vigne et de leurs Synonymes. Paris: 66 str.

Agrovoc descriptors: grapevines, vitis vinifera, wine grapes, gene banks, collections, biodiversity, biogeography, genetic resources, natural resources, data collection, land varieties, plant anatomy, plant breeding, genetic markers, genotypes, varieties, chemical composition

Agris category code: F30

Ovrednotenje genskih virov belih sort žlahtne vinske trte (*Vitis vinifera* L.)

Radojko PELENGIČ¹, Barbara PIPAN², Vladimir MEGLIČ³, Denis RUSJAN⁴

Received November 30, 2012; accepted December 10, 2012.

Delo je prispelo 30. novembra 2012, sprejeto 10. decembra 2012.

IZVLEČEK

Geografska lega, klimatske razmere in zgodovinska pripadnost so glavni dejavniki, ki so botrovali k oblikovanju raznolikega sortimenta sort žlahtne vinske trte na območju današnje Slovenije. Sorte žlahtne vinske trte (*Vitis vinifera* L.) je mogoče opisati na več nivojih in z različnimi metodami. Ovrednotenje ali celo okarakterizacija lahko poteka na podlagi morfoloških, morfometričnih, biokemijskih in genetskih značilnosti posamezne sorte. V prispevku smo na podlagi analiz karotenoidnih pigmentov ter DNK analiz z uporabo molekularskih markerjev ugotavljali podobnosti in sorodnost med 17-imi akcesijami žlahtne vinske trte. Namen raziskave je bil odkriti morebitno povezavo med karotenoidnimi profili in meritvami barve sort ter ovrednotenje kemotaksonomskega potenciala dobljenih rezultatov za razlikovanje sort žlahtne vinske trte. Dobljene rezultate smo primerjali z rezultati analiz z metodo mikrosatelitov. V raziskavo smo vključili 17 različnih genskih virov belih sort žlahtne vinske trte, ki so posajene v kolekcijem vinogradu Biotehniške fakultete (BF), ki obenem služi tudi kot genska banka. Rezultati evalvacije obravnavanih genskih virov belih sort žlahtne vinske trte se tako na biokemijskem kot tudi na genetskem nivoju dopolnjujejo, kar pomeni, da so obravnavane akcesije generalno razdelili v tri večje skupine, znotraj katerih prihaja do manjših odstopanj, kar je verjetno posledica lastnosti posameznih genotipov in vpliva okolja.

Ključne besede: žlahtna vinska trta, genski viri, kemotaksonomija, karotenoidi, mikrosateliti, lokus

ABSTRACT

EVALUATION OF GENETIC RESOURCES OF WHITE GRAPEVINE VARIETIES (*Vitis vinifera* L.)

Geographical location, climate and historical affinities are the main factors that have contributed to creating a diverse assortment of grapevine varieties in the area of Slovenia. The grapevine varieties (*Vitis vinifera* L.) can be described at several levels, using different methods. Evaluation can be done on the basis of morphological, morphometrical, biochemical and genetic characteristics of each variety. In this paper the biochemical analysis of carotenoid pigments and DNA analysis using molecular markers observed similarities between seventeen grapevine accessions. The purpose of this study was to find connections between carotenoids, shapes and measurements, evaluation of chemotaxonomical potential of obtained results to distinguish among varieties, and these properties compare with the results of the qualitative analysis with microsatellites. The study included 17 different genetic resources of white grapevine varieties, which are planted in the collection vineyard of Biotechnical Faculty (BF), which can also serve as a gene bank. The results of the evaluation with treated genotypes are supplemented on biochemical and genetic level. Generally, the accessions are divided into three major groups within which there are minor discrepancies, probably due to the properties of individual genotypes and the impact environment.

Key words: grapevine, genetic resources, chemotaxonomy, carotenoids, microsatellites, locus

¹ Univ.dipl.inž.agr., Kmetijski inštitut Slovenije, Hacquetova 17, 1000 Ljubljana, e-pošta: radojko.pelengic@kis.si

² Univ.dipl.inž.agr., Kmetijski inštitut Slovenije, Hacquetova 17, 1000 Ljubljana

³ Doc.dr., univ.dipl.inž.agr., Kmetijski inštitut Slovenije, Hacquetova 17, 1000 Ljubljana

⁴ Doc.dr., univ.dipl.inž.agr., Biotehniška fakulteta, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana

1 UVOD

Geografska lega, klimatske razmere in zgodovinska pripadnost so glavni dejavniki, ki so botrovali oblikovanju sortimenta sort žlahtne vinske trte na območju današnje Slovenije. S pojavom bolezni in škodljivcev na žlahtni vinski trti ob kocu 19. stoletja, ter zahteve po določenih tipih vina je prišlo do dodatne erozije genotipov pri žlahtni vinski trti, predvsem v škodo lokalnih in avtohtonih sort (Vertovc, 1845; Goethe, 1997; PelengiĆ in Rusjan, 2010). Sorte žlahtne vinske trte (*Vitis vinifera* L.) je mogoče opisati na več nivojih in z različnimi metodami. Evalvacija lahko poteka na podlagi morfoloških opisov različnih delov rastline pri različnih fenofazah, z morfometričnimi meritvami različnih rastlinskih delov, biokemijskih kvalitativnih

ali kvantitativnih analiz in genetskih značilnostih posamezne sorte (Galet, 1979; O.I.V., 1983; Schneider in sod., 1988; Cabelo in sod., 1995; Martinez de Toda in sod., 1997; Asensio in sod., 2002; Kozjak in sod., 2003; Štajner in sod., 2008; PelengiĆ in Rusjan, 2010). V prispevku smo na podlagi analiz karotenoidnih pigmentov ter DNK analiz z uporabo molekularskih markerjev ugotavljali sorodnost med 17-imi akcesijami žlahtne vinske trte. Namen raziskave je bil dobiti morebitno povezavo med karotenoidnimi profili in meritvami barve, ob enem ovrednotenje kemotaksonomskih lastnosti, ki bi se lahko pokazale kot učinkovite za razlikovanje med sortami. Te meritve smo primerjali z rezultati analize mikrosatelitov.

2 MATERIAL IN METODE

V raziskavo smo vključili 17 različnih genskih virov belih sort žlahtne vinske trte, ki so bili nabrani v kolekciji Ampelografski vrt, ki je del raziskovalnega vinograda Biotehniške fakultete (BF) in obenem služi tudi kot genska banka. Nahaja se v Kromberku pri Novi Gorici. Skrbnik vinograda je BF, Oddelek za agronomijo, Katedra za hortikulturo. Vzorčenje mladih listov je potekalo v začetku rastne dobe in je vključevalo naslednje genske vire: 'Bela Glera (5-6)', 'Glera (I)', 'Zelen Goče', 'Zelen Kolekcija', 'Beli Teran', 'Glera (II)', 'Dišečka', 'Pokov Zelen', 'Vitovska', 'Dišeči Traminec', 'Sauvignon blanc', 'Racuk

A1-3', 'Rumeni Muškat', 'Medena Glera', 'Bela Glera (8-1)', 'Verduc' in 'Rebula'. Pri vseh akcesijah smo s tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti (High Performance Liquid Chromatography-HPLC) izmerili vsebnost violaksantina, neoksantina, anteraksantina, luteina, β -karotena, klorofila a in klorofila b, ter s kolorimetrom barvo jagod po sistemu CIELAB. Vse sorte smo vključili tudi v genetsko analizo z enajstimi specifičnimi mikrosatelitnimi markerji (VVMD5, VVMD7, VVMD25, VVMD27, VVMD36, VrZAG21, VrZAG47, VrZAG62, VrZAG79, VrZAG83, in VrZAG112) (Seferić in sod., ???).

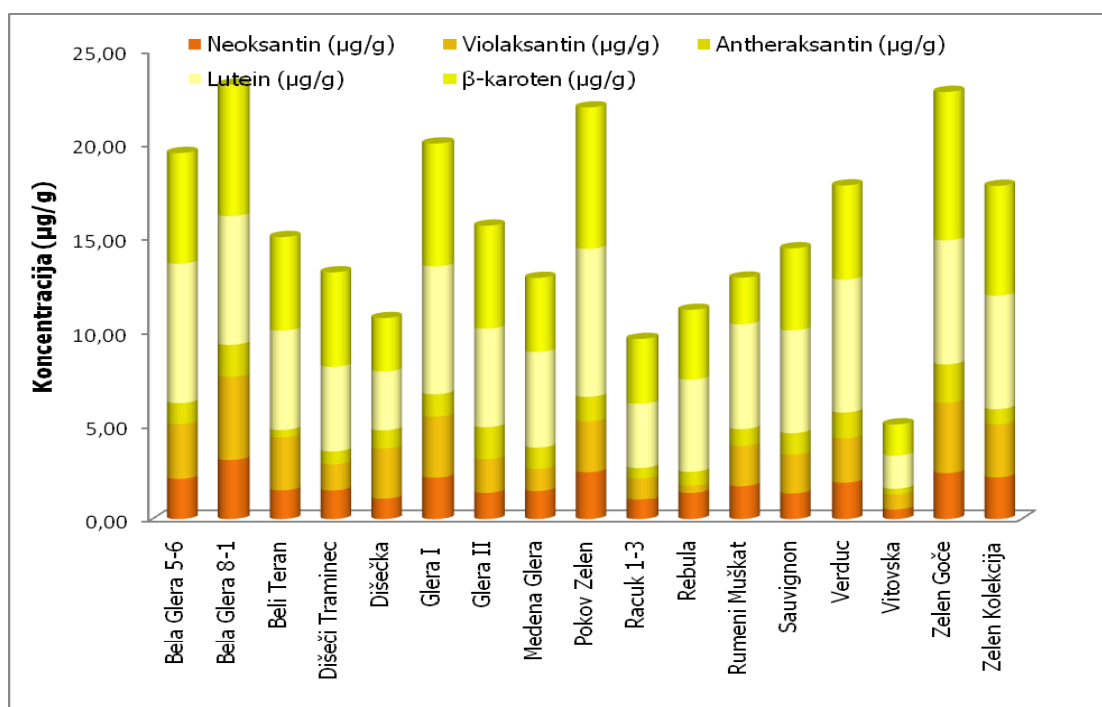
3 REZULTATI Z DISKUSIJO

Karotenoidni profili se pri preučevanih akcesijah med seboj razlikujejo. Sorti 'Zelen Goče' in 'Bela Glera (8-1)' imata večjo vsebnost violaksantina, medtem ko sorte zapisane kot 'Bela Glera (5-6)', 'Glera (I)', 'Verduc', 'Zelen Kolekcija', 'Pokov Zelen',

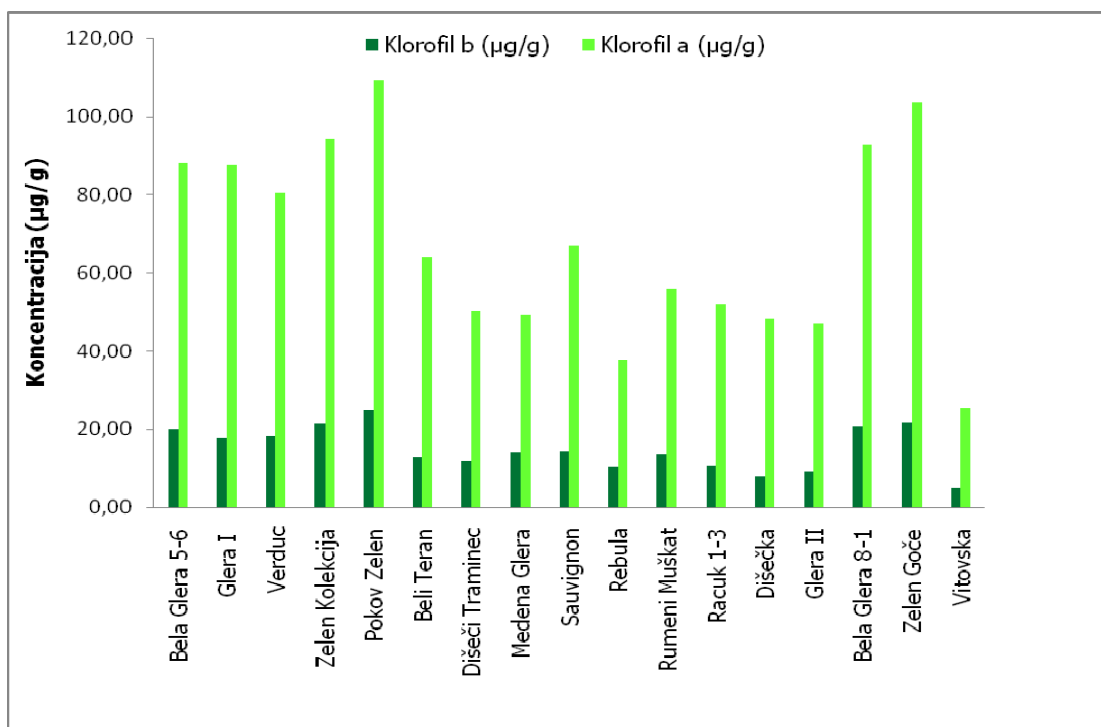
'Bela Glera (8-1)' in 'Zelen Goče' imajo večjo vsebnost β -karotena in luteina. Povprečna vsebnost ksantofilov je 5,48 $\mu\text{g/g}$, luteina 2,27 $\mu\text{g/g}$, violaksantina 1,78 $\mu\text{g/g}$, neoksanthina in 1,06 $\mu\text{g/g}$ anteraksantina. Največja vsebnost ksantofilov (16,15 $\mu\text{g/g}$) je

bila izmerjena pri sorti 'Bela Glera (8-1)', najmanjša (3,41 µg/g) pa pri sorti 'Vitovska'. Največjo vsebnost klorofilov je imela sorta 'Pokov Zelen' (134,2 µg/g) in najmanjšo pa sorta 'Vitovska' (30,4 µg/g). V tej fazi projekta smo na osnovi molekularnih analiz ugotovili, da na lokusih VVMD5, VVMD36, VrZAG79 in VrZAG112 ni razlik med posameznimi akcesijami. Amplifikacija lokusov VVMD25, VVMD27 in VrZAG27 je bila uspešna le pri sorti 'Bela Glera (8-1)', lokus VVMD7 se je

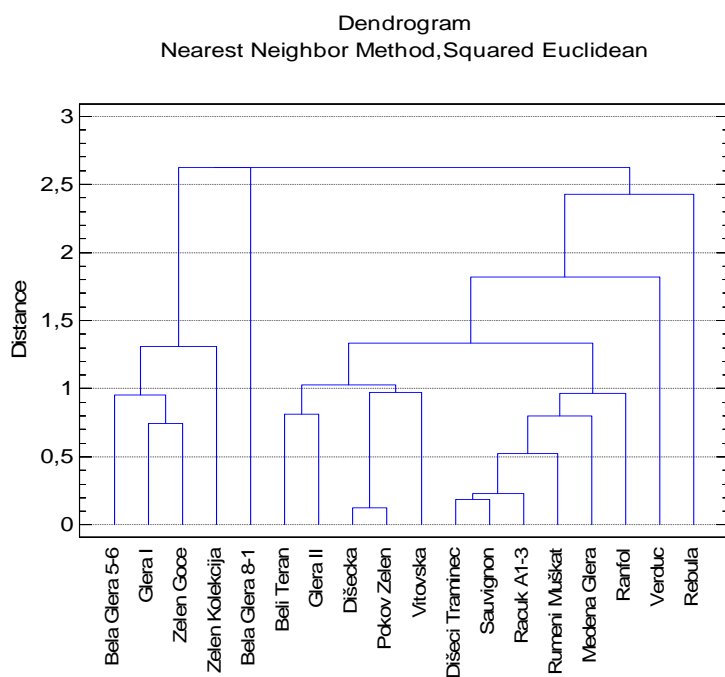
uspešno namnožil pri sorti 'Vitovska'. Največ razlik med akcesijami so se pokazale na lokusih VrZAG21 in VrZAG83. Prvi se je uspešno namnožil pri sortah 'Bela Glera (8-1)', 'Dišečka', 'Glera (I)', 'Rebula', 'Verduc' in 'Vitovska', lokus VrZAG83 pa se je pojavljal pri sortah 'Bela Glera (5-6)', 'Glera (I)', 'Racuk', 'Rumeni Muškat' in 'Vitovska'. Pri sortah 'Beli Teran', 'Vitovska' in 'Verduc' je bil uspešno namnožen lokus VrZAG62.



Slika 1: Vsebnost neoksantina, violaksantina, antheraksantina, luteina in β-karotena (µg/g) v svežih jagodnih kožicah pri 17 sortah žlahtne vinske trte (*Vitis vinifera* L.).



Slika 2: Vsebnost klorofila a in klorofila b (µg/g) v svežih jagodnih kožicah pri 17 sortah žlahtne vinske trte (*Vitis vinifera* L.).



Slika 3: Dendrogram glede na vsoto vseh karotenoidov pri 17 sortah žlahtne vinske trte (*Vitis vinifera* L.) z UPGMA metodo.

Preglednica 1: Uspešnost namnožitve posameznega mikrosatelitnega lokusa pri preučevanih akcesijah.

	VVMD5	VVMD7	VVMD25	VVMD27	VVMD36	VrZAG21	VrZAG47	VrZAG62	VrZAG79	VrZAG83	VrZAG112
Bela Glera 5-6	○	○	○	○	○	○	○	○	○	●	○
Bela Glera 8-1	○	○	●	●	○	●	●	○	○	○	○
Beli Teran	○	○	○	○	○	○	○	●	○	○	○
Dišeči Traminec	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
Dišečka	○	○	○	○	○	●	○	○	○	○	○
Glera I	○	○	○	○	○	●	○	○	○	●	○
Glera II	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
Medena Glera	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
Pokov Zelen	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
Racuk A1-3	○	○	○	○	○	○	○	○	○	●	○
Rebula	○	○	○	○	○	●	○	○	○	○	○
Rumeni Muškat	○	○	○	○	○	○	○	○	○	●	○
Sauvignon	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
Verduc	○	○	○	○	○	●	○	●	○	○	○
Vitovska	○	●	○	○	○	●	○	●	○	●	○
Zelen Goče	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
Zelen Kolekcija	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
○ Ni prisotnega namnoženega lokusa						● Uspešno namnožen lokus					

4 SKLEPI

Rezultati evalvacije obravnavanih genskih virov belih sort žlahtne vinske trte se tako na biokemijskem kot tudi na genetskem nivoju dopolnjujejo, kar pomeni, da so obravnavane

akcesije generalno razdelili v tri večje skupine, znotraj katerih prihaja do manjših odstopanj, kar je verjetno posledica lastnosti posameznih genotipov in vpliva okolja.

5 LITERATURA

- Asensio, M.L., Valdés, E. and Cabello, F. 2002. Characterisation of some Spanish white grapevine cultivars by morphology and amino acid analysis. *Scientia Horticulturae* 93:289-299.
- Cabelo, F. and Ortiz, J.M. 1995. Isoenzymatic and morphological characterization of Spanish vine varieties (*Vitis vinifera* L.). *Bulletin de l'O.I.V.* 775-776:720-745.
- Galet, P. 1979. A practical Ampelography, traduction et adaptation par Lucie MORTON. Ithaca: Cornell University. 248 p.
- Goethe, H. 1887. Handbuch der Ampelographie. Beschreibung und Klassifikation der bis jetzt kultivierten Rebenarten und Trauben-varietäten mit Angabe ihrer Synonyme, Kulturverhältnisse und Verwendungsart. Berlin: P. Parey. 219 p.
- Kozjak, P., Korošec-Koruza, Z. and Javornik, B. 2003. Characterisation of cv. Refošk (*Vitis vinifera* L.) by SSR markers. *Vitis* 42(2):83-86.
- Martínez de Toda, F. and Sancha, J.C. 1997. Ampelographical characterization of red *Vitis*

- vinifera* L. cultivars preserved in Rioja. Buletin de l'O.I.V. 793-794:220-234.
- Office International de la Vigne et du Vin (OIV). 1983. Le code des caracteres descriptifs des varietés et especes de vitis. Paris: Dedon. 128 p.
- Pelengić, R. Rusjan, D. 2010 Efficacy of ampelographic and phyllometric tools for the validation of grapevine (*Vitis vinifera* L.) biodiversity in Slovenia. Journal of food, agriculture & environment Vol.8 (No.3&4): 563-568.
- Schneider, A. and Zeppa, G. 1988. Biometria in ampelografia: l'uso di una tavoletta grafica per effettuare rapidamente misure fillometriche. Vignevini 15:37-40
- Štajner, N., Korošec-Koruza, Z., Rusjan, D. and Javornik, B. 2008. Microsatellite genotyping of old Slovenian grapevine varieties (*Vitis vinifera* L.) of the Primorje (coastal) winegrowing region. *Vitis* 47(4):201-204.
- Vertovc, M. 1845. Vinoreja za Slovence. Ajdovščina: Agroind Vipava. 287 p.

Agrovoc descriptors: fragaria, ribes, gene banks, collections, biodiversity, genetic resources, natural resources, data collection, varieties, plant breeding, plant anatomy, land varieties, fruit crops, quality, genetic markers, resistance to injurious factors, pest resistance, fruit

Agris category code: F30

Genska banka jagodičja

Darinka KORON¹

Received November 30, 2012; accepted December 10, 2012.

Delo je prispelo 30. novembra 2012, sprejeto 10. decembra 2012.

IZVLEČEK

Genska banka jagodičja v sklopu Slovenske rastlinske genske banke (SRGB) obsega monitoring in vrednotenje avtohtonih jagodičastih sadnih rastlin *in situ*; kolekcioniranje in spremljanje rasti in razvoja avtohtonih jagodičastih rastlin iz posameznih območij, presajenih v kolekcijsko poskusni nasad Kmetijskega inštituta Slovenije na Brdu pri Lukovici; kolekcioniranje starih in novih sort ter raziskovalno delo na avtohtonem rastlinskem materialu. Avtohtone jagodičaste sadne rastline zbiramo na potencialnih rastiščih po Sloveniji. Odrane tipe rastlin in lokacije popišemo ter ovrednotimo na podlagi deskriptorjev. Ocene parametrov so temelj za presaditev rastlin v kolekcijski nasad in nadaljnje vrednotenje. Stare in nove sorte jagodičja so namenjene ohranjanju sort za izobraževanje in morebitno žlahtnjenje. Vse sorte oskrbujemo po običajnih tehnologijah. Na odbranih sortah posameznih jagodičastih sadnih vrst vsako leto spremljamo fenofaze razvoja, rodnost in občutljivost rastlin za škodljive organizme ter za zunanje vplive. V letu 2012 je bilo v poskusnih nasadih jagodičja Kmetijskega inštituta Slovenije na Brdu pri Lukovici (0,8 ha) in Drenovem griču (2,5 ha) posajenih 60 sort jagodnjaka, 29 sort malinjaka, 2 sorti črnega malinjaka, 7 sort robid, dva križanca med malinjakom in robido, preko 50 sort in selekcij črnega ribeza, 13 sort rdečega ribeza, 6 sort belega ribeza, 14 sort kosmulj, 1 križanec med črnim ribezom in kosmuljo, 50 sort ameriških borovnic ter 20 samosevk in križancev ameriških borovnic, ena brusnica in ena ameriška mahovnica (brusnica). Kolekcija vključuje tudi ostale, manj poznane vrste jagodičja. Skupno je več kot 270 sort, tipov in selekcij s preko 600 grmi rastlin in 300 grmiči jagod. Na avtohtonem sadilnem materialu ali starejših sortah iz kolekcij so opravljene raziskave morfoloških lastnosti avtohtonih tipov malinjaka, monitoring virusov na avtohtonih in gojenih malinjakih ter raziskava genskih markerjev in vsebnosti fenolov v plodovih borovnic.

Ključne besede: avtohtono jagodičje, sorte jagodičja, kolekcioniranje, odpornost, kakovost plodov

ABSTRACT

SMALL FRUIT GENE BANK

Small fruit Gene Bank, as a part of Slovenian plant gene bank (SRGB) includes monitoring and evaluating of autochthonous small fruit plants *in situ*; collecting and evaluating of autochthonous small fruit plants in the experimental orchard of the Agricultural Institute of Slovenia at Brdo pri Lukovici; collecting of old and new varieties and researches on autochthonous plant material. Autochthonous small fruit plants are collected throughout Slovenia. Selected types of plants and the locations are described and evaluated on the basis of descriptors. For transplantation of plants in to the collection and for further evaluation we decide on the base of parameters. Old and new varieties of small fruits are intended for education and as potential breeding material. All varieties are supply with standard technologies. On the selected varieties of small fruits the annually monitoring of phenology development, fertility and sensitivity of plants to pests and external influences is carried out. In 2012 in experimental stations of Agricultural Institute of Slovenia at Brdo pri Lukovici (0.8 ha) and Drenov grič (2.5 ha) we had 60 varieties of strawberries, 29 varieties of raspberries, 2 varieties of black raspberries, 7 varieties of blackberries, 2 crosses between raspberries and blackberries, more than 50 varieties and selections of black currant, 13 varieties of red currants, 6 varieties of white currants, 14 varieties of gooseberries, 1 cross between black currant and gooseberries, 50 varieties of highbush blueberries and 20 seedlings and hybrids of blueberries, one lingonberry and one large American cranberry. The collections also include other, less-known types of small fruit. More than 270 varieties, types and selections with over 600 shrubs and 300 plants of strawberry bushes are included in collection. On autochthonous planting material and older varieties of collections we held researches on morphological properties of autochthonous raspberries types, monitoring of viruses in autochthonous and cultivated raspberries and study of genetic markers and phenolic compounds in fruits of bilberries.

Key words: autochthonous small fruit, varieties, collecting, resistance, quality of fruit

¹ Kmetijski inštitut Slovenije, Oddelek za sadjarstvo in vinogradništvo, Hacquetova 17, 1000 Ljubljana, E-mail: darinka.koron@kis.si

1 UVOD

Z delom na področju genske banke jagodičastih sadnih rastlin so na Kmetijskem inštitutu Slovenije pričeli leta 1966, s projektom 'Collecting and study of indigenous small fruit types and breeding varieties with a high C-vitamin content', ki so ga finančno podprle ZDA in je trajal do leta 1971 (Oblak, 1971). V sklopu naloge so po Sloveniji zbirali avtohtone jagodičaste sadne vrste, jih ovrednotili in kolekcionirali. Prvi kolekcijski nasad avtohtonih jagodičastih sadnih vrst iz rodu robide (*Rubus*) in grozdičja (*Ribes*) je bil posajen v alpskem okolju na Zatniku (Pokljuka). Različni tipi jagodičastih sadnih vrst iz rodov vakcinija (*Vaccinium*) in mahovnice (*Oxycoccus*) so bili posajeni na Ljubljanskem barju, v bližini Lesnega Brda. Delo na genski banki jagodičja se je od leta 1989 nadaljevalo z nalogo 'Formiranje genofonda za potrebe banke biljnih gena Jugoslavije'. Naloga je bila zaključena leta 1991. Od leta 1992 do 1995 je delo na genski banki jagodičja potekalo v sklopu naloge 'Genska banka vrtnin, krompirja, krmnih rastlin, jagodičja, vinske trte, hmelja, zdravilnih in aromatičnih rastlin' ter naloge 'Genska banka sadnih rastlin, koruze, hmelja, trav in detelj'. Od leta 1996 delo na genski banki jagodičja poteka v sklopu naloge 'Slovenska rastlinska genska banka' (SRGB) (Černe, 1999).

Delo v SRGB – 'Genska banka jagodičja', poteka v več smereh: monitoring in vrednotenje avtohtonih jagodičastih sadnih rastlin *in situ* (Koron, 1999); kolekcioniranje in spremljanje rasti in razvoja avtohtonih jagodičastih rastlin iz posameznih območji, presajenih v kolekcijsko poskusnem nasadu Kmetijskega inštituta Slovenije na Brdu pri Lukovici; kolekcioniranje starih in novih sort jagodičastih rastlin; raziskovalno delo na avtohtonem rastlinskem materialu.

Namen monitoringa in kolekcioniranja avtohtonih jagodičastih rastlin je v spoznavanju in ohranjanju avtohtonih rastlin ter njihove zelo velike raznolikosti. Večina prednikov ali bližnjih sorodnikov gojenih jagodičastih vrst je v našem okolju avtohtonih (malinjak, robida, gozdni jagodnjak, borovnica, brusnica, rdeči ribez, črni ribez, kosmulja, črni bezeg, jerebika, dren) in predstavljajo določen genski potencial, ki ga ne smemo izgubiti. Življenjski prostor avtohtonih jagodičastih rastlin je predvsem na gozdnem robu visokogorskih travnikov in na gozdnih posekah (malinjak), ki zaradi intenzivnega zaraščanja izginjajo. Problem avtohtonih rastišč so tudi infrastrukturni posegi v naravno okolje.

2 MATERIAL IN METODE

2.1 Zbiranje avtohtonih jagodičastih sadnih vrst

Avtohtone jagodičaste sadne rastline zbiramo na potencialnih rastiščih po različnih krajih Slovenije na podlagi naključnih ogledov ali informacij lokalnih prebivalcev. Odbrane tipe rastlin in lokacije popišemo (ime in tip rastline, lokacija, lega, opis rastline, fotografija, herbarij in opis na osnovi deskriptorjev (IBPGR - International Board for

Plant Genetic Resources). Na podlagi dobljenih parametrov, ki jih spremljamo od dve do tri leta, se odločimo za presaditev rastlin v kolekcijski nasad. Zbiranje poteka nepretrgoma za vse vrste jagodičja.

2.2 Zbiranje starih in novih sort jagodičja

Zbiranje starih in novih sort jagodičja v kolekcijskem nasadu je namenjeno ohranjanju sort za namene izobraževanja in morebitnega

žlahtnjenja. Vse rastline oskrbujemo po običajnih tehnologijah za posamezno sadno vrsto. Pri posameznih sortah (standardne sorte za posamezno jagodičasto sadno vrsto), vsako leto spremljamo fenofaze razvoja, rodnost in občutljivost rastlin za škodljive organizme in zunanje vplive.

2.3 Opis morfoloških lastnosti malinjaka (avtohtonih malin) (*Rubus idaeus* L.)

Morfološke lastnosti malinjaka, ki je izvorna vrsta vseh sort malinjakov, presajenih v kolekcijski nasad, smo prvič spremljali od leta 1990 do 1995. Poleg fenofaz razvoja rastlin in ocen občutljivosti rastlin za škodljive organizme in vplive okolja, smo spremljali parametre rasti (višina rodne veje, število in skupna dolžina rodnih vejic, skupna dolžina rodnega lesa),

parametre rodnosti (število plodov, masa in dimenzije plodov, število plodičev na plod, potencialna in dejanska rodnost) kakovost plodov (skupni sladkorji, C vitamin, skupne kisline).

2.4 Raziskovalne naloge na avtohtonih tipih jagodičastih rastlin

Na posameznih avtohtonih tipih jagodičastih rastlin smo izvajali raziskave, ki so potekale v različnih raziskovalnih nalogah. Na malinjakih smo spremljali virusne okužbe v primerjavi z gojenimi malinjaki. Na borovnicah iz različnih delov Slovenije smo spremljali gensko raznolikost z različnimi genskimi markerji, ter raznolikost fenolov glede na posamezno rastišče.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

3.1 Kolekcije avtohtonih tipov jagodičja

Kolekcijski nasad avtohtonih tipov malinjaka vključuje tipe, odbrane v letu 1989 Rog, Dane in Krim ter tipe, ki smo jih odbrali v letu 2010 Unec, Čaven, Hrastje, Lokarjih in Pokljuka. Tipi rastlin iz prvega obdobja so zastopani s po 1 rastlino, tipi iz drugega obdobja pa s po 3 rastlinami.

Poleg avtohtonih tipov malinjaka je v stari kolekciji avtohtonih rastlin tudi črno grozdčje (*Ribes nigrum* L.) iz Ljubljanskega barja, zastopano s tremi grmi. Od ostalih jagodičastih rastlin smo odbrali tipe rdečega grozdčja (*Ribes rubrum* L.) iz Robleka, Snežnika in Kamniškega sedla, kosmulje (*Ribes uva-crispa* L.) iz Robleka ter navadni jagodnjak (*Fragaria vesca* L.) iz Dvora, Drenovega griča in Stare gore. Te rastline spremljamo v naravnih rastiščih.

V kolekciji spremljamo še rastline, ki smo jih presadili iz naravnega okolja. To sta gozdna jagodnjaka iz Unca in Šentvida pri Prevojah, dva tipa jerebike (*Sorbus aucuparia* L.) iz

Pokljuke in črni bezeg (*Sambucus nigra* L.) iz Brda pri Lukovici.

Pri odbranih tipih avtohtonih rastlin ob spremljanju fenofaz razvoja ugotavljamo, da so faze razvoja rastlin prinesenih iz različnih okolij, v kolekcijskem nasadu zelo izenačene. Tudi po morfoloških lastnostih se v kolekcijo prinesene rastline med seboj malo razlikujejo.

Način zbiranja rastlin v naravnem in kultiviranem okolju za potrebe genske banke jagodičastih rastlin v Sloveniji je primerljiv s tujimi genskimi bankami (Flachowsky in Hanke, 2010; Postman in sod., 2006). Razlike so bistvene le v sistemu hranjenja posameznih tipov. V slovenski genski banki jagodičja se poslužujemo izključno kolekcioniranja v nasadu, medtem ko se tuje genske banke poslužujejo tudi shranjevanja rastlin *in vitro*, hranjenja z uporabo počasne rasti ter kriopreservacije (Kondakova in sod., 2005).

Kljub temu, da je pestrost divje rastočih avtohtonih jagodičastih vrst velika, lastnih sort

jagodičja nimamo, saj dejavnosti na področju žlahtnjenja jagodičja v preteklosti v Sloveniji niso potekale. V postopku priznavanja bodo v kratkem le ameriške borovnice, ki ne izvirajo iz avtohtonega rastlinskega materiala.

3.2 Kolekcije starih in novih sort jagodičja

V kolekciji starih in novih sort ter selekcij posameznih sort, je v letu 2012 v poskusnih nasadih jagodičja Kmetijskega inštituta Slovenije na Brdu pri Lukovici (0,8 ha) in Drenovem griču (2,5 ha) posajenih: 60 sort jagodnjaka, 29 sort malinjaka, 2 sorti črnega malinjaka, 7 sort robid, dva križanca med malinjakom in robido, preko 50 sort in selekcij črnega ribeza, 13 sort rdečega ribeza, 6 sort belega ribeza, 14 sort kosmulj, 1 križanec med črnim ribezom in kosmuljo, 50 sort ameriških borovnic ter 20 samosevk in križancev ameriških borovnic, 1 brusnica in 1 ameriška mahovnica (brusnica).

Kolekcija vključuje tudi ostale vrste jagodičja: japonsko robido (*Rubus phoenicolasius* Maxim.), zlati ribez (*Ribes aureum* Pursh), 2 sorti drena (*Cornus mas* L.), šmarno hrušico (*Amelanchier lamarckii* F.G.Schroed.), rdečo aronijo (*Aronia arbutifolia* (L.) Pers.), 2 sorti črne aronije (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott), črni bezeg (*Sambucus nigra* L.), jerebiko (*Sorbus aucuparia* L.), 3 sorte navadnega rakitovca (*Hippophae rhamnoides* L.), kosteničevje (*Lonicera caerulea* var. *kamtschatica* L.) in goji jagode (*Lycium barbarum* L.). V kolekcijah je več kot 270 sort, tipov in selekcij s skupno preko 600 grmi in 300 grmiči jagod. Skupno število rastlin v kolekcijskih nasadih je dejansko večje, saj so nekatere sorte zaradi tehnoloških poskusov, matičnih grmov itd., v kolekcijsko poskusnih nasadih zastopane z večjim številom rastlin.

Med jagodnjaki so v kolekciji zbrane sorte, ki so bile v postopku introdukcije ali v pridelavi v zadnjih dvajsetih letih. Zaradi boleznih in škodljivcev, izrojenosti in drugih razlogov je veliko število sort propadlo. Vzdrževanje

kolekcij starih sort ni bilo nikoli vključeno v katerikoli projekt, zato tudi ni bilo finančno podprto. Slovenska kolekcija sort jagodnjaka je v primerjavi z evropsko gensko banko 'European Strawberry Germplasm' s 1056 sortami, relativno majhna (Geibel in sod., 2004).

Podobno kot pri jagodnjaku je število sort v primerjavi s skupno evropsko bazo majhno pri vseh ostalih jagodičastih sadnih vrstah, razen pri ameriških borovnicah, kjer je število sort izjemno veliko. Skupno je v evropski bazi podatkov 310 ameriških borovnic, v naši pa preko 50 (Trajkovski in sod., 2004). Vse rastline iz kolekcijskih nasadov Kmetijskega inštituta Slovenije so vključene v bazo podatkov, ki jo vodijo na Fitosanitarni upravi Republike Slovenije.

Standardna metoda hranjenja sadnih rastlin in jagodičja v naravi (Plant Genetic Resources - PGR) je zelo draga in delovno zahtevna. Pridobivanje in vzdrževanje starih sort v genski banki in kolekcijah, je zaradi kratke življenjske dobe jagodičastih rastlin težavno. Kolekcije jagodnjaka na novo lokacijo presajamo vsako leto, malinjaka na približno 7 let, robide, ribeze in kosmulje na 10 do 12 let in ameriške borovnice na približno 20 let. Poleg pogostega obnavljanja posameznih kolekcij in s tem posledično kolobarjenja s površinami, v sistemu kolekcioniranja prihaja do pogostih izgub sadilnega materiala zaradi škodljivih organizmov in zunanjih stresnih dejavnikov. Izgube so, zaradi kratke življenjske dobe in načina rasti, velike predvsem pri jagodnjaku.

3.3 Morfološke lastnosti avtohtonih tipov malinjaka

Meritve avtohtonih tipov malinjaka Dane, Krim, Orle in Rog v primerjavi s standardnimi sortami Malling exploit Schönemann in Willamette, so potekale od leta 1990 do 1995. Podatki so bili objavljeni v reviji Sodobno kmetijstvo (Koron, 1999). Med odbranimi tipi

je izstopal malinjak Rog, z izjemnim številom serijskih brstov na posameznem internodiju, kar je osnova za velik pridelek.

3.4 Raziskovalne naloge na avtohtonih tipih jagodičastih rastlin

Med raziskavami na avtohtonem sadilnem materialu ali sortah iz kolekcij so potekale raziskave virusov na malinjaku (Mavrič in sod., 2004) ter raziskava genskih markerjev na borovnicah in vsebnosti fenolnih snovi v plodovih borovnic (Može Bornšek in sod., 2011).

4 LITERATURA

- Černe, M. 1999. Nacionalni program: Slovenska rastlinska genska banka, *Sodobno kmetijstvo*, 32: 17-23.
- Flachowsky, H., Hanke, M.V. 2010. The Network of the 'German National Fruit Genbank', a new concept for sustainable preservation of fruit genetic resources.
http://www.ecpgr.cgiar.org/fileadmin/www.ecpgr.cgiar.org/NW_and_WG_UPLOADS/Prunus/German%20National%20Fruit%20Genebank.pdf
- Geibel, M., Roudeillac, P., Masny, A., Trajkovski, K., Coman, M., Simpson, D.W. 2004. The European Strawberry Database and Building up a European Core Collection. *Acta Horticulturae*, 649: 41-45.
- Kondakova, V., Todorovska, E., Boicheva, R., Hristova, E., Badjakov, I., Todorova, M., Domosetova, D., Atanassov, A. 2005. Genetic resources of small fruits, present and future development, *Biotechnol. & Biotechnol. Eq.* 19: 4-12.
- Koron, D. 1999. Genska banka jagodičja, *Sodobno kmetijstvo*, 32: 4-42.
- Mavrič Pleško, I., Viršček Marn, M., Koron, D. 2004. Najdba raspberry bushy dwarf virusa in njegov potencialni vpliv na pridelavo malin v Sloveniji. V: Hudina, M. (ur.). *Zbornik referatov 1. slovenskega sadjarskega kongresa z mednarodno udeležbo, Krško, 24.-26. marec 2004*. Ljubljana: Strokovno sadjarsko društvo Slovenije, 437-441.
- Može Bornšek, Š., Polak, T., Gašperlin, L., Koron, D., Vanzo, A., Poklukar Ulrih, N., Abram, V. 2011. Phenolics in Slovenian bilberries (*Vaccinium myrtillus* L.) and blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). *J. Agric. Food Chem.*, 59, 13: 6998-7004.
- Oblak, M. 1971. Collecting and study of indigenous small fruit types and breeding varieties with a high C-vitamin content (Final technical report), *Agricultural Institute of Slovenia, Ljubljana*, 64.s.
- Postman, J., Hummer, K., Stover, E., Krueger, R., Forsline, P., Grauke, L.J., Zee, F., Ayala-Silva, T., Irish. 2006. Fruit and Nut Genbanks in the U.S. *National Plant Germplasm System, HortScience* 41, 5: 1188-1194.
- Trajkovski, V., Pluta, S., Hjalmarsson, I. 2004. Gene Bank and Breeding for Cane and Bush Fruit Crops. *Acta Horticulturae*, 649: 273-277.

Agrovoc descriptors: diplotaxis, gene banks, collections, biodiversity, genetic resources, wild plants, natural resources, data collection, land varieties, germplasm, plant anatomy

Agris category code: F30

Zbirka samoniklih virov rukole v Slovenski rastlinski genski banki

Kristina UGRINOVIC¹ in Mojca ŠKOF²

Received December 10, 2012; accepted December 11, 2012.

Delo je prispelo 10. decembra 2012, sprejeto 11. decembra 2012.

IZVLEČEK

Med vrstami, ki jim s skupnim imenom pravimo rukola, v Sloveniji samoniklo rastejo le tri vrste iz rodu dvoredca (*Diplotaxis tenuifolia*, *Diplotaxis muralis* in *Diplotaxis viminea*), medtem ko vrste iz rodu rukvice (*Eruca*) v naravi niso prisotne. V Genski banki kmetijskih rastlin pri Kmetijskem inštitutu Slovenije je zbranih in shranjenih 19 avtohtonih virov iz različnih predelov Slovenije. Pri vseh smo ocenili nekatere morfološke in agronomske lastnosti. Pri večini virov so prisotni različni tipi rastlin, nekateri viri pa so tudi mešanica različnih vrst. Razmnoževanje v izolaciji se je pokazalo za težavno in ne prav uspešno. Pri različnih virih je bila oploditev v izolaciji različno dobra, iz česar lahko sklepamo, da imajo različno samoinkompatibilnost. V prihodnje bi bilo zbirko potrebno dopolniti z viri iz še nepregledanih predelov Slovenije, vire še podrobneje oceniti in proučiti razmnoževanje v izolaciji.

Ključne besede: *Diplotaxis*, dvoredec, genski viri, ocenjevanje, razmnoževanje, shranjevanje

ABSTRACT

COLLECTION OF AUTOCHTHONOUS GERMPLASM OF ROCKET IN THE SLOVENE PLANT GENE BANK

Among the species, that are collectively called "rocket", only three species of genus *Diplotaxis* (*D. tenuifolia*, *D. muralis* and *D. viminea*), can be found growing wild in Slovenia while species from the genus *Eruca* are not occurring. The Gene Bank of Agricultural Plants at the Agricultural Institute of Slovenia holds 19 autochthonous accessions from different parts of Slovenia. The main morphological and agronomical traits of all the accessions were described. In the majority of the accessions plants with different characteristics are present and some accessions are composed of different species. The multiplication in isolation cages turned out to be complicated and the success was poor. The success of fertilisation differed among the accessions, what allow us to conclude, that accessions differ in their self-incompatibility. In the future the collection should be completed with the accessions from the regions of the country that have not been examined yet. The accessions need to be further evaluated and the maintenance in isolation studied dipper.

Key words: *Diplotaxis*, wild rocket, genetic resources, evaluation, multiplication, preservation

1 UVOD

Z imenom rukola označujemo več različnih vrst rastlin iz družine križnic (Brassicaceae), ki pripadajo rodovoma *Eruca* (rukvica) in *Diplotaxis* (dvoredec) (IPGRI, 1999). V Sloveniji samoniklo rastejo le vrste iz rodu *Diplotaxis* medtem ko vrste iz rodu *Eruca* v naravi niso prisotne (Martinčič et. al., 2007).

Rod dvoredec šteje okoli 30 vrst (Martinez-Laborde, 1997) od katerih lahko pri nas najdemo tankolistnega (*D. tenuifolia*), obzidnega (*D. muralis*) in šibastega (*D. viminea*) (Martinčič et. al., 2007). Po klasifikaciji, ki jo navaja Martinez-Laborde (1997), vse tri v Sloveniji prisotne vrste

¹ dr., Kmetijski inštitut Slovenije, Hacquetova ulica 17, SI - 1000 Ljubljana, Slovenija; e-mail: kristina.ugrinovic@kis.si

² ibid, e-mail: mojca.skof@kis.si

pripadajo isti skupini (t.i. *D. tenuifolia* skupina) znotraj roda *Diplotaxis*. Za to skupno je značilno, da v kljunu luska ni semen in da so venčni listi dlanasto mrežasto žilnati, ima pa skupina tudi nekatere skupne biokemične lastnosti. Tankolistni in obzidni dvoredca sta razširjena po celotnem območju Slovenije, medtem ko je šibasti dvoredca omejen na območje s submediteransko klimo. Za vse tri vrste so značilna enaka rastišča – najdemo jih ob cestah, ob zidovih, na njivah,... (Martinčič et al., 2007).

Genski viri dvoredca so v svetu vključeni v različne zbirke, težko pa si je ustvariti popolno sliko. Pregled zbirk, ki hranijo genske vire rukole, je pripravila mednarodna mreža za genske vire rukole (Rocket Genetic Resources Network), ki je bila ustanovljena sredi 90-ih let prejšnjega stoletja v okviru IPGRI projekta »Underutilized Mediterranean Species«. Edino večjo zbirko dvoredca so takrat hranili v Španiji na Universidad Politecnica of Madrid. Z aktivnostmi v okviru zgoraj navedene mreže so tudi v drugih državah razširili zbirke dvoredca in okrepili aktivnosti povezane z

vzdrževanjem le-teh (Pignone, 1997). Trenutno so podatki o zbirkah rukole del podatkovne zbirke »The International Minor Leafy Vegetables Database«, ki vključuje vse znane evropske zbirke in glavne zbirke neevropskih držav (ECPGR, 2011). Skupno je v bazo vpisanih 381 akcesij dvoredca shranjenih v šestih državah. Največja je še vedno zbirka v Španiji, ki ji pripada več kot 80 % akcesij. Vključenih je tudi 18 vzorcev iz Slovenske rastlinske genske banke. V bazo je vpisanih več vrst iz rodu *Diplotaxis*, največ (več kot 10 %) je akcesij tankolistnega dvoredca. Akcesije so bile nabrane oz. pridobljene v 20 različnih državah, največ jih je iz Maroka (96), Španije (88), Alžirije (52) in Italije (39).

Zbirka dvoredca v Slovenski rastlinski genski banki pri Kmetijskem inštitutu Slovenije je bila zasnovana z namenom, da se ohrani in ovrednoti dednina dvoredca v Sloveniji ter oceni njen potencial za žlahtnjenje. V nadaljevanju je predstavljeno zbiranje, vrednotenje in poskus vzdrževanja zbranih virov.

2 ZBIRANJE

V Gensko banko kmetijskih rastlin pri Kmetijskem inštitutu Slovenije smo seme prvih genskih virov rodu *Diplotaxis* shranili v letu 2005, z zbiranjem pa smo nadaljevali do leta 2008. Trenutno je zbranih in shranjenih 19 avtohtonih virov iz različnih predelov Slovenije. Najpogosteje smo rastline našli ob robu ceste, kolovoza in/ali železniške proge ter na njivah in v vinogradih. Nabirali smo tako, da smo s čim večjega števila rastlin na določenem rastišču iz suhih luskov osmukali dozorelo seme. Seme smo nato posušili na zraku, očistili in shranili pri 4 °C.

Med zbranimi viri jih je trenutno skoraj polovica z območja Primorske, predvsem Dolenjsko pa bi bilo potrebno še pregledati.

Kljub temu, da smo nekatere predele Slovenije bolj slabo pregledali, pa lahko ugotovimo, da v Sloveniji vrste iz rodu *Diplotaxis* težko najdemo na nadmorskih višinah višjih od 500 m nmv. Tudi pregled podatkovne zbirke »The International Minor Leafy Vegetables Database« razkrije, da je bila le ena izmed akcesij vseh treh vrst dvoredcev, ki uspevajo tudi pri nas (*D. muralis*, *D. tenuifolia* in *D. viminea*), in imajo navedeno tudi nadmorsko višino nahajališča, najdena višje od 500 m – gre za vzorec tankolistnega dvoredca, ki izvira iz Bolgarije in je shranjen v Nemčiji.

Seme za našo zbirko smo nabirali pretežno v oktobru in novembru, ko je bilo na voljo največ zrelega semena. Količina semena, ki

smo ga nabrali pri posameznem genskem viru, se je gibala med 0,4 in 53,0 g.

Zaradi majhne kalivosti nabranega semena smo imeli pri prvih poskusih vrednotenja in razmnoževanja akcesij veliko težav. Tudi drugi avtorji poročajo o slabi kalivosti v naravi nabranega semena rastlin iz rodov *Eruca* in *Diplotaxis*. Razloge za slabo kalivost pripisujejo predvsem dejstvu, da je seme potrebno nabrati še preden se luski razpočijo,

kar pa pomeni, da ob nabiranju seme še ni popolnoma zrelo (Pignone, 1997). Med razlogi za slabo kalivost navajajo tudi vremenske razmere v času razvoja in zorenja semena, ki lahko okrepijo dormantnost semena in poslabšajo njegov vigor (Pita-Villamil et al., 2002) ter sekundarno dormanco (Martinez-Laborde et al., 2007). Kalivost semena nam je uspelo precej izboljšati z namakanjem v 0,05 % raztopini giberelinske kisline tik pred setvi.

3 VREDNOTENJE

V letih od 2007 do 2010 smo s prirejenimi UPOV smernicami za opis tankolistnega dvoredca (*D. tenuifolia*, TG/244/1) pri vseh zbranih virih ocenili nekatere morfološke lastnosti (habitus rastlin, dolžina, narezanost in barva listov,...), začetek uhajanja v cvet in okus. Med doslej zbranimi viri so vse tri pri nas prisotne vrste dvoredca, to so tankolistni (*D. tenuifolia*), obzidni (*D. muralis*) in šibasti dvoredec (*D. viminea*). Pri ocenjevanjih se je pokazalo, da so v večini virov prisotni različni tipi rastlin, nekateri viri pa so tudi mešanica

različnih vrst. Pri večini virov imajo rastline pol-pokončno rast in srednje dolge liste. Le en vir ima razprostrto rast. Barva listov je pri večini virov srednje zelena. Pri nekaterih virih je bilo opaziti rdečkasto obarvanje listnih žil. Uhajanje v cvet je bilo pri večini virov srednje do pozno. Zanimivo je, da se viri razlikujejo tudi po okusu – nekateri imajo prijeten, rahlo grenko pekoč okus, nekateri so skoraj brez značilnega okusa, nekaj je tudi zelo pekočih. Glavne značilnosti zbranih virov so prikazane v preglednici 1.

4 VZDRŽEVANJE ZBIRKE

Pri razmnoževanju zbranih virov v letih od 2008 do 2010 smo imeli precej težav. Vzroke zanje gre pripisati predvsem tujeprašnosti, samoinkompatibilnosti in potrebi po sprotnem pobiranju semena.

Ker je dvoredec tujeprašen, ga je potrebno razmnoževati v popolni izolaciji (Pignone, 1997). To smo dosegli tako, da smo vsak vir pred cvetenjem prekrili z mrežo oz. izolirano kletko, v kateri je bilo okoli 100 rastlin.

Zaradi samoinkompatibilnosti je bila oploditev v izolaciji zelo slaba, pa čeprav smo rastline v času cvetenja tedensko stresali s palico. Med viri je bilo nekaj razlik pri uspešnosti oploditve v izolaciji iz česar lahko sklepamo,

da je samoinkompatibilnost pri različnih virih različna. Nekateri avtorji sicer poročajo o razmeroma uspešnem razmnoževanju rukole v izolaciji tudi pri manjšem številu rastlin (Pignone, 1997). Drugi (Bhandari in Chandel, 1997) pa podobno kot mi ugotavljajo, da je vzdrževanje in razmnoževanje virov rukole zaradi samoinkompatibilnosti precej težavno in, tako kot za ostale tujeprašne vrste, tudi razmeroma drago. Eden od razlogov za slabo oploditev v izolaciji je lahko tudi odsotnost insektov.

V času dozorevanja smo seme redno pobirali, kar pa zahteva dosti dela. Večkratno pobiranje je sicer zamudno, a nujno, saj le tako lahko zmanjšamo izgube semena, do katerih pride,

če se luski razpočijo. Podobno ugotavlja tudi Pignone (1997), medtem ko protokol projekta »Leafy Veg« za razmnoževanje vrst iz rodu

Eruca (Anonymus, 2009) priporoča, da se ob zrelosti vsa stebila poreže in shrani v vrečo.

Preglednica 1: Glavne značilnosti akcesij rodu *Diplotaxis* shranjenih v Slovenski rastlinski banki na Kmetijskem inštitutu Slovenije.

Table 1: Main characteristics of *Diplotaxis* accessions stored in the Slovene Plant Gene Bank at the Agricultural Institute of Slovenia.

Številka akcesije	Habitus	Dolžina listov	Uhajanje v cvet	Okus
Dx-1	pokončen	srednji	zgodaj (10 %), srednje (90 %)	prijeten
Dx-2	pol pokončen	kratki	zgodaj	prazen
Dx-3	pol pokončen	kratki do srednji	zgodaj do zelo pozno	prazen, pekoč
Dx-4	pol pokončen	kratki	srednje	zelo pekoč
Dx-5	pokončen do pol pokončen	srednji	srednje	prazen
Dx-6	pokončen do pol pokončen	kratki do srednji	zgodaj do srednje	prijeten
Dx-7	pol pokončen	kratki do srednji	zgodaj	prazen
Dx-8	pol pokončen	kratki do srednji	pozno	pekoč
Dx-9	pol pokončen	kratki do srednji	pozno	pekoč
Dx-10	pol pokončen	kratki do srednji	pozno	pekoč
Dx-11	razprostrt	srednji do dolgi	pozno	pekoč
Dx-12	pokončen do pol pokončen	kratki do srednji	pozno	zelo pekoč
Dx-13	pol pokončen	kratki do srednji	pozno	pekoč
Dx-14	pol pokončen	kratki do srednji	pozno	pekoč
Dx-15	pokončen do pol pokončen	kratki do srednji	pozno	prazen
Dx-16	pol pokončen	kratki do srednji	pozno	prazen do prijeten
Dx-17	pol pokončen	kratki do srednji	pozno	prazen
Dx-18	pokončen	kratki do srednji	pozno	prazen
Dx-19	pol pokončen	kratki do srednji	srednje	pekoč

5 POGLED NAPREJ

V prihodnje bo potrebno pregledati tudi tiste predele, kjer dvoredca doslej nismo nabirali, in zbirko dopolniti tako, da bodo v njej zastopani viri iz cele Slovenije.

Prva ocenjevanja kažejo, da je med zbranimi viri kar precej variabilnosti, zato bi jih bilo vredno še podrobneje ovrednotiti in jih

primerjati z na trgu dostopnim materialom teh vrst.

Podrobneje bo potrebno proučiti možnosti razmnoževanja dvoredca v izolaciji, saj bo le tako mogoče zbirko ohranjati skozi daljše obdobje.

6 VIRI

Anonymus (2009). Multiplication of Rocket (*Eruca* spp.). In Third Annual Technical Report, Leafy vegetables germplasm, stimulating use, AGRI GEN RES Target Action.

Bhandari D. C. and Chandel K. P. S. (1997). Status of rocket germplasm in India: research accomplishments and priorities. In Rocket: a Mediterranean crop for the world. Report of a work-shop, 13-14 December 1996, Legnaro

- (Padova), Italy. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy, Padulosi S. and Pignone D. (eds.), 67-75.
- ECPGR (2011). The International Minor Leafy Vegetables Database
<http://documents.plant.wur.nl/cgn/pgr/minorlv/>
- IPGRI (1999). Descriptors for Rocket (*Eruca* spp.). International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
- Martinčič A., Wraber T., Jogan N., Podobnik A., Turk B. and Vreš B. (2007). Mala flora Slovenije. 450. Ljubljana, Slovenija: Tehniška založba Slovenije
- Martinez-Laborde J. B., Pita-Villamil J. M. P. and Perez-Garcia F. (2007). Short communication. Secondary dormancy in *Diplotaxis erucoides*: a possible adaptive strategy as an annual weed. Spanish Journal of Agricultural Research, 5(3): 402-406.
- Martinez-Laborde J. B. (1997). A brief account of the genus *Diplotaxis*. In Rocket: a Mediterranean crop for the world. Report of a work-shop, 13-14 December 1996, Legnaro (Padova), Italy. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy, Padulosi S. and Pignone D. (eds.), 13-22.
- Pignone D. (1997). Present status of rocket genetic resources and conservation activities. In Rocket: a Mediterranean crop for the world. Report of a work-shop, 13-14 December 1996, Legnaro (Padova), Italy. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy, Padulosi S. and Pignone D. (eds.), 2-12.
- Pita-Villamil J. M. P., Perez-Garcia F. and Martinez-Laborde J. B. (2002). Time of seed collection and germination in rocket, *Eruca vesicaria* (L.) Cav. (Brassicaceae). Genetic Resources and Crop Evolution, 45: 47-51.
- UPOV (2008). Test guidelines for the conduct of test for distinctness, uniformity and stability for wild rocket (TG/244/1)
http://www.upov.int/en/publications/tg-rom/tg244/tg_244_1.pdf

CONTENT ANALYSIS OF THE PAPERS IN THE ACTA AGRICULTURAE SLOVENICA

VSEBINSKA OBDELAVA PRISPEVKOV V ACTA AGRICULTURAE SLOVENICA let. 99 št. 3

Tomaž BARTOL^a, Karmen STOPAR^b,

SUBJECT INDEX BY AGROVOC DESCRIPTORS PREDMETNO KAZALO PO DESKRIPTORJIH AGROVOC

acquired characters	21-29, 69-75
adaptation	69-75
adsorbents	99-105
adventitious roots	65-67
ambrosia	41-47
anthracnosis	77-83
antibiotic properties	99-105
aphalaridae	93-98
apples	49-56
arabica coffee	85-92
artificial pollination	5-11
beauveria bassiana	57-63
beneficial organisms	93-98
biological control	93-98, 99-105
biological control organisms	93-98
biological development	69-75
biopesticides	99-105
blueberries	77-83
brassica napus	13-19
breeding methods	5-11
callogenesis	65-67
callus	65-67
castor beans	31-40
catalase	31-40
chemical composition	31-40
chemical reactions	31-40
coffea arabica	85-92
coffea canephora	85-92
coffea congensis	85-92
colletotrichum	77-83
congusta coffee	85-92
control methods	93-98
crop yield	13-19
crossbreeding	5-11
damage	93-98
developmental stages	69-75
diagnosis	77-83
diatomite	99-105
drought resistance	21-29
drought stress	21-29
ecosystems	93-98

a Assoc. Prof., Ph. D., M. Sc., B. Sc., Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana, P. O. Box 95

b B.Sc., M.Sc., ibid

efficiency	41-47
entomogenous fungi	57-63
enzymes	31-40
explants	65-67
flowering	13-19
food safety	49-56
fungal diseases	77-83
fungal morphology	57-63
gene expression	85-92
genetic code	85-92
germination	5-11
growing media	69-75
growth	13-19, 99-105, 69-75, 57-63
growth control	21-29
herbicides	57-63
hybridization	85-92
hybrids	85-92
identification	77-83
in vitro regeneration	57-59
inhibition	65-67
integrated control	57-63
integrated pest management	49-56
lactuca sativa	49-56
lettuces	49-56
lipid peroxidation	31-40
malus pumila	49-56
maximum residue limits	49-56
meristem culture	65-67
mycelium	57-63
natural enemies	93-98
nature conservation	93-98
nitrogen	41-47
noxious plants	41-47, 93-98
nucleotide sequence	85-92
nucleotides	85-92
orchidaceae	5-11, 69-75
osmotic stress	31-40
peroxidases	31-40
pest control	99-105
pesticides	49-56, 57-63
phalaenopsis	5-11
physiological functions	13-19
plant anatomy	5-11
plant developmental stages	5-11, 13-19
plant physiology	31-40, 41-47
plant propagation	69-75
plant protection	49-56
plant vegetative organs	31-40
plant water relations	41-47
potatoes	49-56
pregermination	21-29
proximate composition	31-40, 41-47
rapeseed	13-19
reciprocal crossing	5-11
regulations	49-56

reproduction	13-19
residues	49-56
ricinus communis	31-40
robusta coffee	85-92
salt tolerance	31-40
seed treatment	21-29
seeds	5-11, 13-19
selenium	13-19
soft wheat	21-29
solanum tuberosum	49-56
stems	65-67
storage losses	99-105
stored products pests	99-105
stress	31-40
symptoms	77-83
tissue culture	69-75
toxicity	99-105
triticum aestivum	21-29
vaccinium corymbosum	77-83
varieties	5-11
water	31-40, 41-47
water metabolism	41-47
water uptake	41-47
water use	41-47
weeds	41-47
ziziphus	65-67

NAVODILA AVTORJEM

(letniki z liho številko - rastlinska proizvodnja)

Prispevki

Sprejemamo izvirne znanstvene članke s področja agronomije, hortikulture, rastlinske biotehnologije, raziskave živil rastlinskega izvora, agrarne ekonomike in informatike ter s sorodnih področij - **letniki z liho številko** (npr. 97, 99) - v slovenskem in angleškem jeziku; pregledne znanstvene članke samo po poprejšnjem dogovoru. Objavljamo tudi izbrane razširjene znanstvene prispevke s posvetovanj, vendar morajo taki prispevki zajeti najmanj 30 % dodatnih originalnih vsebin, ki še niso bile objavljene. O tovrstni predhodni objavi mora avtor obvestiti uredniški odbor. Če je prispevek del diplomske naloge, magistrskega ali doktorskega dela, navedemo to in tudi mentorja na dnu prve strani. Navedbe morajo biti v slovenskem in angleškem jeziku.

Prispevke sprejemamo vse leto.

Podrobnejša navodila: <http://aas.bf.uni-lj.si/navodila.htm>

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

(Odd-numbered volumes - plant production)

Articles

The Journal *accepts original scientific* articles from the fields of agronomy, horticulture, plant biotechnology, plant-related food-and-nutrition research, agricultural economics, information-science, and related research - odd-numbered volumes (for example: 97, 99) - in Slovenian or English language. Review articles are published in advance agreement with the editorial board. Extended versions of selected proceedings-papers can also be considered for acceptance, provided they include at least 30% of new original content, but the editorial board must be notified beforehand. If the article is based on a thesis or dissertation, the thesis-type must be indicated (BSc, MSc, PhD...), along with the role of the candidate and advisor, at the bottom of the first article page.

Manuscripts are accepted throughout the year.

Detailed instructions: <http://aas.bf.uni-lj.si/instructions.htm>