

**PROCJENA TOLERANTNOSTI HRVATSKE GERMPLAZME VINOVE  
LOZE NA SUŠU (KK.05.1.1.02.0010)**

**SHEMA ZA JAČANJE PRIMIJENJENIH ISTRAŽIVANJA ZA MJERE  
PRILAGODBE KLIMATSKIM PROMJENAMA**

**Razdoblje provedbe projekta: 1. ožujka 2020. do 1. ožujka 2023.**

[Genetska pozadina tolerantnosti na sušu kod vinove loze](#)

## Fitohormoni

Hormoni imaju važnu ulogu u prilagodbi biljaka na uvjete okoliša. Hormoni posreduju u rastu, razvoju, raspodjeli hranjivih tvari i odnosima između organa izvora i izljeva. ABA je najviše proučavan hormon pod uvjetima stresa suše. Ovo je ključan hormon u razvoju biljaka te može promijeniti fiziološke i biokemijske kaskade prijenosa signala u biljkama pod sušom. Ima ključnu ulogu u biosintezi biomolekula, starenju, klijanju sjemena, zatvaranju puči i modifikaciji strukture korijena. ABA je izoprenoidna molekula sintetizirana iz karotenoidnog derivata,  $\beta$ -karotena, izopentil difosfata kroz put metileritritol fosfata u plastidima (Dejonghe i sur., 2018.). Prvi korak se odvija u plastidima i uključuje pretvorbu zeaksantina u *trans*-violaksantin. Ovu cikličku hidroksilaciju epoksikarotenoida u ksantin katalizira zeaksantin epoksidaza preko međuprodukta anteraksantina. U sljedećem koraku događa se, *cis*-izomerizacija svih *trans*-violaksantina u violaksantin ili *cis*-neoksantin kroz nepoznatu enzimsku reakciju. Potom enzimi 9-*cis*-epoksikarotenoid dioksigenaze (NCED) cijepaju *cis*-izomere violaksantina i neoksantina te nastaje međuproizvod C15 nazvan ksantoksin, koji se izvozi u citosol. U citosolu se ksantoksin pretvara u ABA kroz dvije enzimске reakcije. Prvo se pretvara u apscisični aldehid kataliziran kratkolančanom alkohol dehidrogenazom/reduktazom. Konačno, oksidacijom apscizičnog aldehida u ABA pomoću aldehid oksidaze (Vishwakarma i sur., 2017.).

U uvjetima suše ABA se može transportirati od korijena do mladice iako najnovija istraživanja pokazuju da se ovaj hormon sintetizira i u nadzemnim provodnim tkivima.

ABA transporteri su proteini P-glikoprotein/ATP-vezujuće kazete (ABCG) grupe koji mogu biti izvoznici ili uvoznici ABA od mladice do korijena. ABA-uvozni transporteri/nitrat transporteri (AIT1/NRT1.2) i detoksifikacijski efluks nosači (DTX)/ekstrudije više lijekova i toksičnih spojeva (MATE), poput DTX50....

Velik broj hormona regulira reakcije vinove loze na sušu, a interakcije između njih mogu biti sinergističke ili antagonističke (Peleg i Blumwald, 2011). Na razvoj korijena utječu auksini, citokinini, giberelini, etilen, brasinosteroidi, strigolaktoni i ABA.

Nakon percepcije stresa suše od strane meristemskih stanica korijena, signalni putovi auksina su posebno važni u posredovanju okolišni odgovora arhitekture korijenskog sustava (Osmont i sur., 2007; Wang i sur., 2009). Modeliranje pomoćnika afluksa auksina (PIN) pokazalo je da se auksini transportiraju iz mladica u Arabidopsisa što može biti dovoljno za stvaranje gradijenta koji objašnjava održavanje rasta korijena izostanak biosinteze auksina u korijenju (Grieneisen

i sur., 2007.). Međutim, razvoj korijena ne ovisi samo o gradijentu auksina, već i o četiri PLETHORA (PLT) homologa koji kodiraju faktore transkripcije AP2 domene (Galinha i sur., 2007.) i PLT potrebne za aktivnosti specifikacije stanica korijena i za održavanje korijenskog meristema (Aida i sur., 2004).

### Genska ekspresija abcizinske kiseline

S obzirom na tip stomatalnog odgovora u uvjetima suše sorte se klasificiraju na izohidrične i anizohidrične. Izohidrične (pesimistične) sorte zatvaraju puči kad osjete pad vodnog potencijala u tlu ili povećanje atmosferske potražnje, dok anizohidrične (optimistične) sorte nastavljaju transpirirati čak i kada se sadržaj vode u tlu smanji. Regulacija puči jedan je od ključnih mehanizama kojim biljka regulira i optimizira asimilaciju CO<sub>2</sub> u odnosu na gubitak vode isparavanjem. Okolišno fiziološki čimbenici odgovorni za otvaranje puči su svjetlost, koncentracija ugljičnog dioksida, manjak tlaka pare na razini list zrak, status vode u listu, biljci i apscizinska kiselina (ABA). Zatvaranje puči odvija se kao pasivan hidraulički i/ili aktivan ABA posredovan odgovor na nedostatak vode (Tombesi i sur., 2015). Hidraulički signal reducira stopu transpiracije dok se paralelno šalje niz molekularnih i biokemijskih signala na relaciji mladica i korijen, rezultat čega je djelomično ili potpuno zatvaranje puči (Osakabe i sur., 2014). Kod vinove loze ABA se smatra glavnim čimbenikom zatvaranja puči. ABA pokreće kaskadu prijenosa signala koja uključuje i ekspresiju gena izazvanih ABA koja vodi do zatvaranja puči i zadržavanja vode (Daszkowska-Golec i sur., 2013). Sinteza ABA događa se kao odgovor na nedostatak vode na razini korijena ili lista što vodi do depolarizacije membrana zaštitnih stanica izazivajući osmotski efluks iona i gubitak turgora zaštitnih stanica (Tombasi i sur., 2015). Nije jasno da li je nakupljanje ABA u listu okidač zatvaranja puči ili dodatni signal uključen u dugoročno zatvaranje puči tijekom dugotrajne suše i/ili tijekom faze oporavka od suše. ABA djeluje zajedno s drugim hormonima kako bi se osigurao brz i ciljani odgovor koji je strogo reguliran složenom mrežom signalnih putova (Nemhauser i sur., 2006). Koncentracija ABA u vinovoj lozi raste tek kad je provodljivost puči niska i iznosi manje od 50 mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, što upućuje na zaključak da rano zatvaranje puči nije regulirano samo ovim hormonom (Degu i sur., 2019).

Promjene u  $\Psi$ listu i/ili hidrauličkoj vodljivosti utječu na turgor i provodljivost puči zaštitnih stanica. Promjene u hidrauličkoj vodljivosti uključuju i regulaciju akvaporina, proteina stanične membrane koji olakšavaju transport vode i malih molekula kroz plazma membrane (Gambetta i sur., 2017.; Maurel i Prado, 2017.). Akvaporini čine veliku obitelj gena čija je regulacija

složena, a eksprimiraju se u svim tkivima vinove loze (Wong i sur., 2018.). U vinove loze akvaporini su povezani s regulacijom puči i razlikama u regulaciji među sortama (Vitali i sur., 2016).

Zatvaranje puči je povezano s padom turgora u epidermalnim i mezofilnim stanicama (Ache i sur., 2010). Sorte koje su sposobne održati turgor pozitivnim pri vrlo niskom vodnom potencijalu lista zadržavaju visoku provodljivost puči, izmjenu plinova i stopu rasta pri relativno niskom vodnom potencijalu tla (Blackman i sur., 2010).

Istraživanja utjecaja progresivne dehidracije u dvije sorte, Sangiovese i Montepulciano, pokazuje tri različita stupnja fizioloških reakcija. U prvom stupnju voda u tlu je dostupna, a vinova loza nije pod utjecajem suše pa na stopu izmjene plinova ne utječe nedostatak vode. Dnevne promjene vodnog potencijala stabljike su pod utjecajem hidrauličkog otpora biljke i atmosferskog isparavanja. U drugom stupnju, progresivno smanjenje dostupne vode u tlu uzrokuje djelomično zatvaranje puči i ograničenje izmjene plinova. Progresivno smanjenje vodnog potencijala biljke uzrokuje smanjenje ksilemskog tlaka čime se povećava vrijednost indukcije embolije u ksilemskim žilama i hidraulički kvar. U ovom trenutku zatvaranje puči ima ključnu ulogu u sprečavanju hidrauličkog kvara regulacijom brzine gubitka vode i ograničavanjem pada tlaka ksilema. Smanjena provodljivost puči dodatno povećava simptome toplinskog stresa kako temperatura lista raste (Lamaoui i sur., 2018). U trećem stupnju puči su potpuno i postojano zatvorene, brzina izmjene plinova je nula i počinje starenje lista (Tombesi i sur., 2015).

### Genska ekspresija akvaporina

Akvaporini (AQP) su mali membranski proteini koji olakšavaju transport vode između stanica. Ovisno o homologiji sekvence i substancičnoj lokalizaciji, akvaporini se klasificiraju u pet filogenetski različitih podfamilija: intrinzični proteini plazma membrane (PIP), tonoplastni intrinzični proteini (TIP), nodulinu slični proteini (NIP), mali bazični intrinzični proteini (SIP), i nekarakterizirani intrinzični proteini (XIP) (Johanson i Gustavsson 2002). PIP i TIP akvaporini posreduju u unosu vode i transstaničnom protoku vode u korijenu (Afzal i sur. 2016). Ovi višenamjenski kanali služe za transport mikronutrijenata poput amonijaka, botra, silicija, selena i uree, izmjenu O<sub>2</sub> i CO<sub>2</sub> i mobilizaciju H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ROS oblika (4,8). Također posreduju i u translokaciji toksičnih metaloida arsena, germanija, aluminijska i antimona (9). Aktivnost transporta akvaporina regulirana je različitim signalima poput pH, fosforilacije, kationa i napetošću membrane [5,10,11]. Akvaporini imaju važnu ekofiziološku ulogu u odgovoru

vinove loze na sušu i održavanje homeostaze vode i iona. Omogućavaju brzu i reverzibilnu regulaciji hidrauličke vodljivosti stanica podešavanjem membranske propusnosti za vodu. U lišću vinove loze akvaporini imaju važnu fiziološku ulogu reguliranja rada puči ovisno o sorti (147,149,150). Različitim hormonskim i hidrauličkim mehanizmima kao odgovor na uvjete okoline puči čvrsto reguliraju svoj otvor mjereno stomatalnom provodljivošću, a u čemu akvaporini imaju ključnu ulogu (11, 146, 154). U loze ekspresija akvaporina je snažnija u korijenu no u listu promatrano temeljem najčešće podloge vinove loze u upotrebi u Dalmaciji, Richter 110 (Baiges i sur., 2001; Galmés i sur., 2007).

Ksilemski sok kreće se kroz kontinuum stanične stijenke u apoplast. Dakle, ne postoji izravna uključenost akvaporina u transport vode u ksilemu. Međutim, simplastične stanice koje okružuju ksilemske žile, na primjer parenhim ksilema, mogu pridonijeti regulaciji transporta ksilema varijacijom radijalne vode od stanice do stanice kretanje od perivaskularnih tkiva do ksilema. To zauzvrat utječe na uzdužni sok ksilema protoka, posebno tijekom kritičnih situacija ravnoteže vode (Kaldenhoff i sur., 2008).