

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

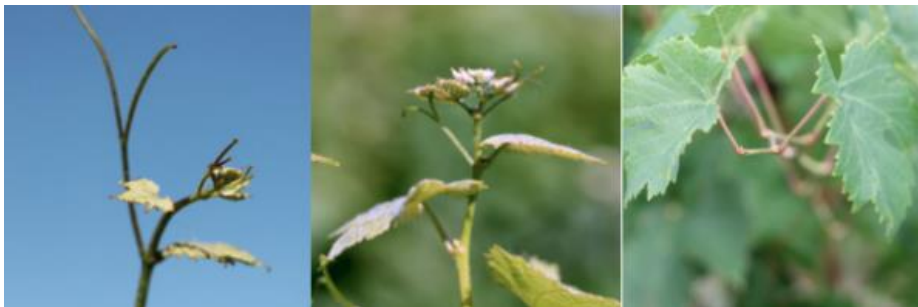
**SHEMA ZA JAČANJE PRIMIJENJENIH ISTRAŽIVANJA ZA MJERE
PRILAGODBE KLIMATSKIM PROMJENAMA**

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

Fiziološki i morfološki odgovori biljaka na inducirane uvjete suše

Morfološki znakovi suše na vinovoj lozi

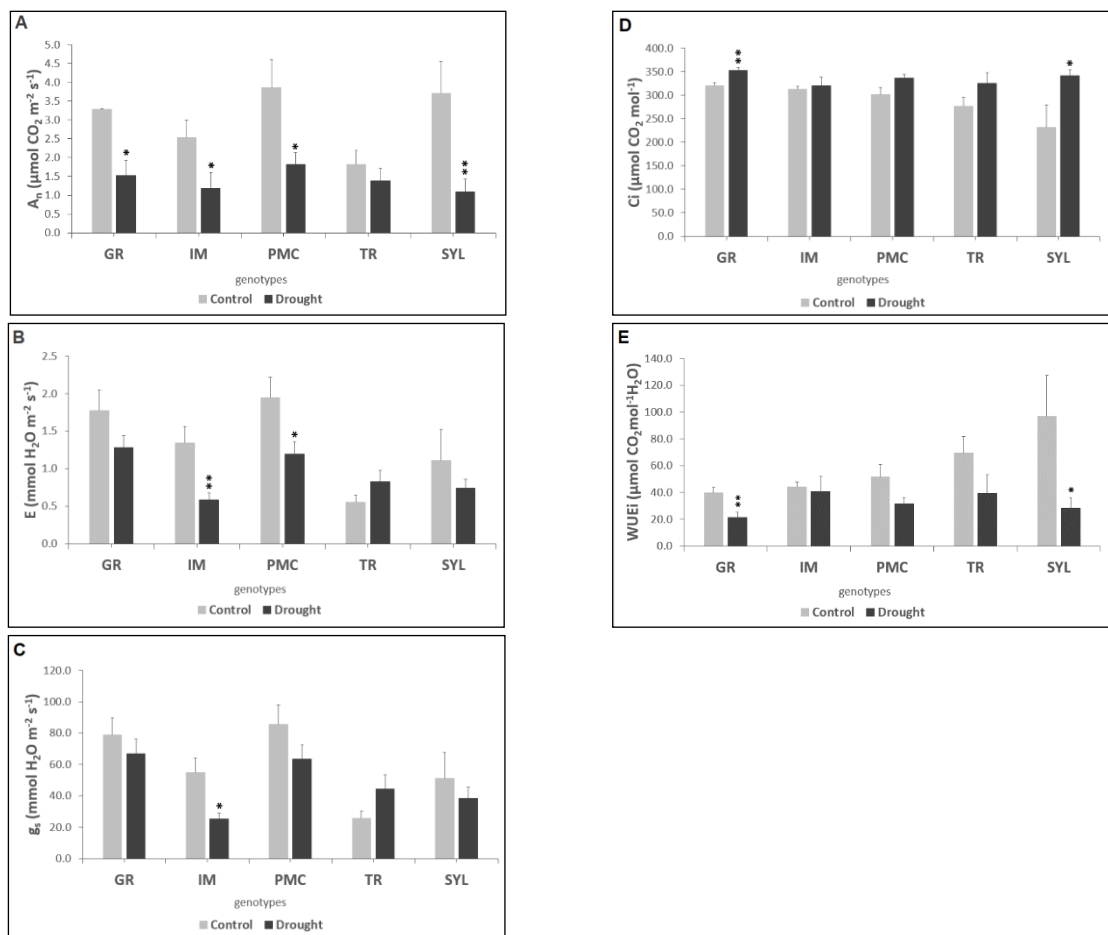
U nedostatku vode, vinova loza smanjuje vegetativni rast. Prvi morfološki znak nedostatka vode kod loze se vidi na reduciranom rastu vrha mladice i vitica. U optimalnom opskrbljenosti vodom, vitice su duge i često prelaze vrh mladice dok su u nedostatku vode kratke ili potpuno reducirane. Tijekom dugotrajnije suše, vitice se suše i otpadaju. Vrh mladice je u uvjetima vodnog stresa smanjen, kratkih internodija, a u jakom stresu nema produkcije mladih listića te postepeno dolazi do sušenja i otpadanja mladih listića (slika 9).



Slika 9. Vrh mladice uslijed nastupa suše; A) loza bez stresa, B) umjereni stres, C) jaki stres; Preuzeto Foto T. Martinson, Sveučilište Cornell, SAD

Mladice su kraće kod loze pod vodnim stresom od normalne. Lišće, posebno ono izloženo Suncu, postat će blijedo i mjestimično izbjeljeno. Grozdovi su manji i rahliji, bobice manje nego normalne. U uvjetima jakog stresa, bobice se smežuraju. Bazalni listovi postaju klorotični i otpadaju. Ulazak u fenofazu šare u nekim slučajevima kasni. Korijen reducira rast. Promjer mladice je manji. Na principu različitih morfoloških znakova na lozi tijekom stresa suše izrađena je mobilna aplikacije ApeX-Vigne (Pichon et al., 2021). Aplikacija je namijenjena za monitoring stanja vode u vinogradu i procjenu razine stresa. Temelji se na morfološkoj opservaciji mladice pri čemu su zadane tri glavne kategorije rasta mladice. Radi brzine i dostupnosti može se koristiti vrlo učinkovito komplementarno uz ostale metode za procjenu nivoa stresa u vinogradu.

Rezultati praćenja izmjene plinova i fotosintetske aktivnosti kod sorata u pokusu zasušivanja
Fiziološki odgovor nakon stresa suše sorti Graševina (GR), Malvazija istarska (IM), Plavac mali crni (PMC), Tribidrag (TR) i jednog genotipa divlje loze (*Vitis vinifera* subsp. *sylvestris*) (SYL) u polukontroliranim uvjetima staklenika prikazan je na slici 10.



Slika 10. Izmjena plinova i unutarnja učinkovitost korištenja vode kod 4 sorte (Graševina, GR, Malvazija istarska, IM, Plavac mali crni, PMC, Tribidrag, TR) i jednog genotipa divlje loze (SYL) u slučaju dobro navodnjavanog kontrolnog i tretmana stresa suše mjeren LICOR6400 (9 a.m.-1 p.m.) na drugi dan stresa suše: A) neto asimilacijska stopa CO₂ (A_n, μmol CO₂/m²s), B), stopa transpiracije (E, mmol H₂O/m²s), C) provodljivost puči (g_s, mmol H₂O/m²s), D) unutar stanični CO₂ (C_i, μmol CO₂/mol) i E) unutar stanična učinkovitost korištenja vode (WUE_i, μmol CO₂/mol H₂O). Zvijezdica (*) označava značajnu razliku u izmjeni plinova između dobro navodnjavanog, kontrolnog, i tretmana stresa suše (Student t test, * predstavlja p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001). Rezultati su prikaz prosječne vrijednosti ± standardna greška.

Najveća neto asimilacijska stopa CO₂ (A_n) izmjerena je u odraslim listovima Plavca malog kontrolnog dobro navodnjavanog tretmana, 3,86±0,73 μmol CO₂/m²s, a slijedi ga divlja loza 3,72±0,83 μmol CO₂/m²s.

U uvjetima suše, najizraženiji pad neto asimilacijske stope CO₂ bio je u divlje loze potom u PMC, GR i IM. Izražen pad neto asimilacijske stope CO₂ u uvjetima suše povezan je sa snažnom regulacijom puči, a koja vodi do brzog smanjenja neto asimilacije. Ovaj zaštitni

fiziološki odgovor ima trošak u pogledu slabijeg usvajanja CO₂ koji vodi do smanjenja rasta, a uslijed učestalog abiotskog stresa i do oštećenja lišća.

S druge strane, Tribidrag izložen vodnom stresu nije potpuno zatvorio svoje puči, održavajući visoku stopu asimilacije CO₂ u usporedbi s IM i SYL. Tribidrag pokazuje i minimalnu razliku u asimilacijskoj stopi CO₂ kontrolnih i loza izloženih stresu suše. Ovo upućuje da bi kod Tribidraga, niža stopa izmjene plinova mogla biti manje limitirajuća za asimilaciju CO₂ nego za stopu transpiracije u usporedbi s drugim sortama.

U uvjetima suše, biljke zatvore svoje puči kako bi smanjile transpiraciju (E), provodljivost puči i transpiracija su usko povezane. Općenito najveća stopa transpiracije vidljiva je u dobro navodnjavanim biljkama PMC, $1,94 \pm 0,28$ mmol H₂O/m²s, a slijedi ga Graševina s $1,78 \pm 0,27$ mmol H₂O/m²s i IM $1,35 \pm 0,21$ mmol H₂O/m²s. Najniža stopa transpiracije u dobro navodnjavanih biljaka je uočena u Tribidraga $0,55 \pm 0,10$ mmol H₂O/m²s i povećavala se s stresom suše $0,83 \pm 0,14$ mmol H₂O/m²s, a što ukazuje na drugačiji način gospodarenja vodom u ovoj sorti, općenito skromnijih potreba za vodom i aktivacije intenzivnije transpiracije uslijed stresa suše. Magnituda smanjenja transpiracije uslijed stresa suše najizraženija je kod IM $0,58 \pm 0,09$ mmol H₂O/m²s i PMC $1,20 \pm 0,17$ mmol H₂O/m²s. Kod Graševine i divlje loze nisu uočene značajne razlike u transpiraciji između dobro navodnjavanih i biljaka pod stresom suše, nakon dva dana. Najveću provodljivost puči (gs) su imale dobro navodnjavane biljke PMC, a najnižu dobro navodnjavane bilje Tribidraga. Uslijed stresa suše značajno smanjenje u gs pokazale su samo biljke IM. Stres suše vodio je do smanjenja gs u svih sorti, izuzev Tribidraga kod kojeg se provodljivost puči povećala. Unutarnja koncentracija CO₂ (C_i) visoka je u svih biljaka neovisno o provedenom tretmanu i doseže vrijednosti iznad 200 μmol CO₂/mol. Stres suše vodi do značajnog povećanja unutarnje koncentracije CO₂ u Graševine i divlje loze, i to redom kako slijedi $353,0 \pm 6,56$ μmol CO₂/mol i $341,67 \pm 12,40$ μmol CO₂/mol.

Unutarnja učinkovitost korištenja vode (WUE_i, μmol CO₂/mol H₂O) veća je u dobro navodnjavanih u odnosu na biljke pod stresom suše. Značajno smanjenje u unutarnjoj učinkovitosti korištenja vode uslijed stresa suše vidljivo je kod Graševine i divlje loze.

Sorte su pokazale različite mehanizme fiziološke prilagodbe na stres suše. Malvazija istarska reagira značajnim smanjenjem fotosinteze, na način da je uslijed smanjenja provodljivosti puči ograničena neto asimilacija CO₂ i transpiracija, a pri čemu ne dolazi ni do povećanja unutar staničnog CO₂ niti H₂O. Uslijed ograničene fiksacije CO₂ u list, NADPH se ne koristi u Calvin–Benson–Bassham ciklusu (ključnom u konverziji atmosferskog CO₂ u organsku tvar) pa ni NADP⁺ nije dostupan. Uslijed toga elektroni (e⁻) se prenose na molekularni kisik te nastaju

superoksid anioni ($O_2^{\bullet-}$) koje enzim superoksid dismutaza pretvara u vodikov peroksid. Akumulacija ROS može oštetiti kloroplast, posebno fotosustav II. Dijelom se ovo oštećenje može spriječiti, rasipanjem viška svjetlosne energije u obliku topline. Ovaj proces naziva se nefotokemijsko gašenje i obično se procjenjuje analizom fluorescencije klorofila. Mehanizam nefotokemijskog gašenja se smatra glavnim fotoprotektivnim mehanizmom. Rasipanje viška apsorbirane energije pod stresom suše smanjuje stopu transporta elektrona kako bi spriječilo stvaranje ROS-a. U ekstremnim uvjetima okoline, prirodni metabolizam i homeostaza ROS-a se poremeti, a uslijed visokog stvaranja ROS dolazi do oksidativnog stresa. Na razini stanice degradiraju ugljikohidrati, proteini, lipidi, pigmenti i DNA. Biljke nastoje očuvati staničnu homeostazu tijekom oksidativnog stresa i zaštititi membrane hvatanjem viška ROS enzimskim i ne-enzimskim antioksidativnim molekulama. Enzimske antioksidativne molekule su katalaza, monodehidroaskorbat reduktaza, dehidroaskorbat reduktaza, superoksid dismutaza, askorbat peroksidaza, glutation reduktaza i glikol peroksidaza. Ne-enzimske su askorbat, glutation, karotenoid, α -tocopherol, prolin, flavonoidi i fenoli (Moustakas i sur., 2022). Djelovanjem enzima askorbat peroksidaze vodikov peroksid se reducira u H_2O i O_2 (Moustakas i sur., 2023). Ipak kako u MI nije primijećen porast unutar staničnog sadržaja vode izvjesno je da je stres suše vodio do povećane proizvodnje ROS-a (Boo i Jung, 1999) i starenja lišća (Tombesi i sur., 2015). Plavac mali značajno smanjuje neto asimilaciju CO_2 i transpiraciju, a što je posljedica blagog zatvaranja puči. Ova sorta dobro podnosi stres suše, dok god u tlu ima dovoljno vode. Slično ponašanje Graševine i divlje loze u pogledu gospodarenja vodom uslijed stresa suše ogleda se u smanjenoj asimilaciji CO_2 te povećanom sadržaju unutar staničnog CO_2 i smanjenju unutar staničnog korištenja vode WUEi. Povećanje unutar staničnog CO_2 stimulira anionske kanale koji induciraju zatvaranje puči i smanjenje transpiracije i povećavaju učinkovitost korištenja vode, a čime se povećava otpornost na sušu. Povećanje unutar staničnog CO_2 uz izostanak u učinkovitosti korištenja vode upućuje na zaključak da je ovih sorti došlo do drugačijih fizioloških odgovora, vjerojatno povezanih s aktivnošću enzima ribuloza-1,5-bifosfat karboksilase/oksigenaze (Rubisco) i povećanja stope fotosinteze. Odnos $CO_2:O_2$ se smanjuje kao posljedica porasta fotorespiracije. Moguće da je visoki sadržaj unutar staničnog CO_2 u Graševine i divlje loze pokazatelj smanjenja fotorespiracije, a koja vodi do smanjena proizvodnje hidrogen peroksida (H_2O_2) i štiti kloroplast od oksidativnog stresa. Intenzivan stres suše smanjuje Rubisco aktivnost i stopu transporta elektrona, a što vodi do smanjenja fotosinteze. Učestalo ponavljanje suše smanjuje stopu iskorištenja NADPH i ATP u fotosintetskom metabolizmu. Ovo nije moguće nadoknaditi fotorespiracijom i Mehler-peroksidaza reakcijom ili drugim načinom odljeva elektrona u kloroplastu. Uslijed neravnoteže

inputa iz transportnog sustava elektrona u tilakoidnim membranama i outputa iz Calvin–Benson ciklusa u kloroplastu događa se oštećenje PSII. Alternativni zaštitni mehanizam u slučaju limita fiksacije CO₂ uslijed stresa je nefotokemijsko gašenje koji omogućava raspršivanje viška fotona i elektrona iz fotosintetskog aparata. Dodatno, tilakoidne membrane kloroplasta, glavna reakcijska mjesta fotokemijskih reakcija, u kojima se stvara NADPH i ATP su visoko osjetljive na visoke temperature, a što je regulirano staničnim termometrom unutar kloroplasta (Horváth i sur., 1998).