



UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Vesna KUNST

**VZROKI INKOMPATIBILNOSTI PRI NAVADNI
HRUŠKI (*Pyrus communis* L.)**

DIPLOMSKI PROJEKT

Univerzitetni študij - 1. stopnja

Ljubljana, 2010

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Vesna KUNST

VZROKI INKOMPATIBILNOSTI PRI NAVADNI HRUŠKI (*Pyrus communis* L.)

DIPLOMSKI PROJEKT
Univerzitetni študij – 1. stopnja

REASONS OF INCOMPATIBILITY AT PEAR (*Pyrus communis* L.)

B. Sc. THESIS
Academic Study Programmes

Ljubljana, 2010

Diplomski projekt je zaključek Univerzitetnega študija Kmetijstvo – agronomija – 1. stopnja. Delo je bilo opravljeno na Katedri za sadjarstvo, vinogradništvo in vrtnarstvo.

Študijska komisija Oddelka za agronomijo je za mentorico diplomskega projekta imenovala prof. dr. Metko HUDINA.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednica: prof. dr. Marina PINTAR
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Članica: prof. dr. Metka HUDINA
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Članica: doc. dr. Bojka KUMP
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Datum zagovora: 10. 9. 2010

Diplomski projekt je rezultat lastnega dela. Podpisana se strinjam z objavo svojega diplomskega projekta na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je delo, ki sem ga oddala v elektronski obliki, identično tiskani verziji.

Vesna KUNST

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Du1
DK	UDK 634.13:631.541.1(043.2)
KG	hruška/ <i>Pyrus communis</i> /inkompatibilnost/cepilna zveza/prunazin
KK	AGRIS F01
AV	KUNST, Vesna
SA	HUDINA, Metka (mentor)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
LI	2010
IN	VZROKI INKOMPATIBILNOSTI PRI NAVADNI HRUŠKI (<i>Pyrus communis</i> L.)
TD	Diplomsko delo (Univerzitetni študij - 1. stopnja)
OP	VI, 14, [1] str., 7 sl., 23 vir.
IJ	sl
JI	sl/en
AI	Vzpostavitev uspešne cepilne zveze je najpomembnejši proces pri cepljenju različnih sort hruške na kutino, kot podlago. Nekatere sorte tvorijo uspešno zvezo, nekatere pa ne, kar vodi v propad cepljene rastline. Raziskovalci se ne strinjajo, katera stopnja tvorbe cepilne zveze je ključna za nastanek inkompatibilnosti. Predlaganih je več možnosti: nepravilnosti pri tvorbi kalusnega tkiva, neuspešna diferenciacija kalusa in neuspešna vzpostavitev žilnih povezav. Procesi, ki povzročajo inkompatibilnost, so zapleteni, kljub temu so bili določeni nekateri dejavniki, ki vplivajo na nastanek inkompatibilnosti. Raziskovalci ugotavljajo različne vzroke inkompatibilnosti. Najpogosteje so omenjene okoljske razmere, prisotnost virusov v cepilnem materialu, fenolne spojine, nepopolna lignifikacija celičnih sten, prisotnost prunazina in pomanjkanje hormona avksina. Delo je pregled dosedanjih raziskav na področju ugotavljanja vzrokov inkompatibilnosti.

KEY WORDS DOCUMENTATION

ND Du1

DC UDC 634.13:631.541.1(043.2)

CX pear/*Pyrus communis*/incompatibility/graft union/prunazin

CC AGRIS F01

AU KUNST, Vesna

AA HUDINA, Metka (supervisor)

PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101

PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Agronomy

PY 2010

TY REASONS OF INCOMPATIBILITY AT PEAR (*Pyrus communis* L.)

DT B. Sc. Thesis (Academic Study Programmes)

NO VI, 14, [1] p., 7 fig., 23 ref.

LA sl

Al sl/en

AB The establishment of a successful graft union is the most important event within the grafting process of different pear cultivars on a quince rootstock. Some cultivars create successful unions and some do not. In the case of the latter the result is a collapse of the grafted plant. Researchers do not agree which step within the process of creating a graft union is essential for the formation of an incompatibility. There are many possibilities: irregularity in the formation of the callus tissue, unsuccessful differentiation of the callus and unsuccessful development of the functional vascular connections. The processes that implicate the incompatibility are very complex; nevertheless some factors have been specified. Researchers are investigating different reasons for the incompatibility. The factors most often mentioned are the environmental conditions, the presence of viruses in the grafting material, phenolic compounds, incomplete lignifications of cell walls, the presence of prunasin, and the lack of the hormone auxin. This work is a review of all the previous researches on the identification of the possible causes of incompatibility.

KAZALO VSEBINE

	str.
Ključna dokumentacijska informacija (KDI)	III
Key words documentation (KWD)	IV
Kazalo vsebine	V
Kazalo slik	VI
1 UVOD	1
1.1 VZROK ZA RAZISKAVO	1
2 INKOMPATIBILNOST	2
2.1 SIMPTOMI	4
2.2 TIPI INKOMPATIBILNOSTI	5
3 VZROKI INKOMPATIBILNOSTI	6
3.1 OKOLJSKE RAZMERE	6
3.2 PRISOTNOST VIRUSOV	7
3.3 FENOLNE SPOJINE	8
3.4 LIGNIFIKACIJA IN ENCIMI	9
3.5 CIANOGENI GLUKOZID PRUNAZIN	10
3.6 AVKSINI	11
3.7 ASIMILACIJSKI PIGMENTI IN TOPNI SLADKORJI	11
4 SKLEPI	12
5 VIRI	13
ZAHVALA	

KAZALO SLIK

	str.
Slika 1: Rjavo obarvano nekrotično tkivo na cepilni zvezi med kutino MA in hruško sorte 'Conference' (Hudina, 2004).	2
Slika 2: V kolikor se lignifikacija kalusa vsaj delno izvrši in se tvorijo prevodna tkiva, je sadika sposobna nadaljnje rasti (Turk, 1979).	3
Slika 3: V nekaterih primerih ostane kalusno tkivo povsem neolesenelo in preko celotne cepilne zveze ne pride do nikakršne povezave tkiv (Turk, 1979).	3
Slika 4: Tkiva se ne povežejo. T takem stanju že ob najmanjšem zunanjem mehanskem vplivu sledi gladek prelom preko cepljenega mesta (Turk, 1979).	4
Slika 5: Slaba povezava lesa triletne cepilne zveze (Turk, 1979).	7
Slika 6: Variabilnost znotraj ene cepilne zveze; (C) leva polovica, (D) desna polovica vzdolžno prerezane triletne sadike (Turk, 1979).	8
Slika 7: Prečni prerezi skozi cepilne zveze enoletnih sadik (Turk, 1979).	10

1 UVOD

1.1 VZROK ZA RAZISKAVO

Cepljenje sort na podlago je najbolj enostaven način razmnoževanja sort drevesastih sadnih vrst. Cepljenje je ukrep, pri katerem spojimo rastlinske dele genetsko sorodnih rastlin, ki se zrastejo in živijo naprej kot nova in samostojna rastlina. Podlaga prispeva koreninski sistem, sorta pa nadzemni del rastline. Razmnoževanje rastlin s cepljenjem temelji na sposobnosti transplantacije, spajanja in zraščanja dveh rastlinskih delov v novo rastlino.

Kompatibilne (skladne) rastline so sposobne ustvariti uspešno cepilno zvezo med cepičem in podlago. Na stičnem mestu se začnejo tvoriti celice kalusa, da bi odrezano mesto zaprle. Celice kalusa se diferencirajo v prevodne celice in omogočijo pretok snovi med podlago in cepičem. Taka cepilna zveza je uspešna.

Inkompatibilnost (neskladnost) pa je pojav, kadar med rastlinami ne more nastati uspešna cepilna zveza, ali pa se za nekaj let celo ustvari, vendar se pozneje prekine in rastlina odmre. Ta pojav se lahko pokaže tudi pri genetsko sorodnih rastlinah.

Pri sadnih rastlinskih vrstah je pojav inkompatibilnosti zelo pogost, najbolj znan je v primeru cepljenja hruške na kutino. Pojavlja pa se tudi pri breskvah, slivah, marelicah in mandljevci pri medsebojnem cepljenju ter pri višnjah in češnjah cepljenih na rešeljiko. Zaradi propadanja dreves, slabše kakovosti plodov in zmanjšane rodnosti predstavlja inkompatibilnost veliko gospodarsko škodo.

Opredelitev inkompatibilnosti ni enostavna, saj se pri različnih vrstah pojavljajo različni simptomi, lahko se pojavi takoj po cepljenju ali pa šele po nekaj letih. Različne simptome pa lahko pripišemo tudi drugim motnjam, kot so pomanjkanje vode ali hranil, neugodnim rastnim razmeram ali pa različnim napadom bolezni.

2 INKOMPATIBILNOST

Izraz inkompatibilnost opisuje fiziološko motnjo, ki vključuje mnoge simptome in se razlikuje glede na rastlino. Pomeni slabo anatomsko ali fiziološko skladnost podlage in sorte (Bauer in sod., 1989).

Glede na intenzivnost in čas pojava se inkompatibilnost lahko odraža v treh oblikah (Hudina, 1998):

- **totalna** (popolna ali botanična) inkompatibilnost, ko ena ali obe komponenti ne tvorita kalusa in spojnega tkiva, zaradi česar ne pride do zraščanja cepljenega mesta;
- **nepopolna** (delna ali mehanična) inkompatibilnost, ki nastane zaradi nepopolnega zraščanja med podlago in sorto zaradi razlik v anatomske zgradbi. V začetku je lahko rast na videz normalna, vendar se nekoliko kasneje lahko zlomi na cepljenem mestu;
- **pozna** (fiziološka) inkompatibilnost, pri kateri sta se podlaga in sorta normalno prijeli in je rastlina normalno rasla, vendar se ponavadi v polni rodnosti rast cepljenega dela naglo slabša, lahko se tudi posuši ali zlomi na cepljenem mestu.

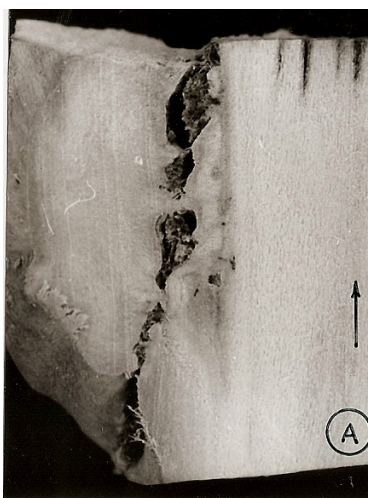


Slika 8: Rjavo obarvano nekrotično tkivo na cepilni zvezi med kutino MA in hruško sorte 'Conference' (Hudina, 2004).

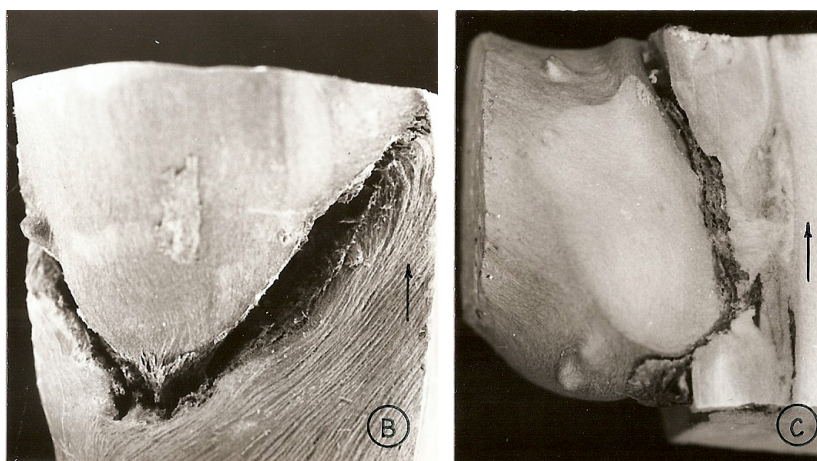
V Sloveniji kot podlago največ uporabljamo kutino (*Cydonia oblonga* Mill.), in sicer kutino MA, nekoliko manj sejanec hruške in kutino BA 29. Skladnost podlage kutine MA s sortami hrušk je srednja do dobra, vendar veliko sort zahteva posredovalko. Podlaga vpliva na zgodnejši vstop v rodnost. Podlage sejanca hruške so neizenačene v rasti, saj jih razmnožujemo s semeni. Skladnost s sortami hrušk je zelo dobra oziroma optimalna. Drevesa na tej podlagi bolj bujno rastejo, pozneje vstopijo v rodnost in tudi pozneje preidejo v mirovanje. Kutina BA 29 je srednje do dobro skladna s sortami hrušk. Rodnost je stalna in zelo dobra. Podlaga kutina BA 29 vpliva tudi na večjo debelino plodov (Smole in Črnko, 2000).

Pri cepljenju inkompatibilnih sort hrušk na kutino moramo uporabiti posredovalno sorto. To je sorta, ki je kompatibilna s podlago in tudi s cepičem. V naših razmerah sta najbolj preizkušeni sorti 'Pastorjevka' in 'Hardijeva' ('Gelertova'). Na podlago najprej cepimo posredovalko in nato šele želeno sorto hrušk.

Uspešen razvoj cepljenih rastlin ni odvisen samo od histološke in biokemijske diferenciacije kalusnega tkiva, ampak predvsem od vzpostavitve enakih fizioloških funkcij tkiv kot pri necepljenih rastlinah. Zato je nujno, da sta izpolnjena dva pogoja: neprestan tesen stik spojenih celic in oblikovanje mehanično močne cepilne zveze. Mehanična šibkost cepilne zveze nastane zaradi nepopolne diferenciacije parenhima med obema partnerjema cepilne zveze (Usenik, 1999; Buchloh, 1960).



Slika 9: V kolikor se lignifikacija kalusa vsaj delno izvrši in se tvorijo prevodna tkiva, je sadika sposobna nadaljnje rasti (Turk, 1979).



Slika 10: V nekaterih primerih ostane kalusno tkivo povsem neolesenelo in preko celotne cepilne zveze ne pride do nikakršne povezave tkiv (Turk, 1979).

2.1 SIMPTOMI

Veliko simptomov je nespecifičnih in podobnih tistim, ki jih lahko povzročijo drugi dejavniki. Splošni simptomi, ki sami po sebi še niso znak inkompatibilnosti in se velikokrat pojavljajo pri inkompatibilnih kombinacijah so (Turk, 1979):

- popolni ali delni propad brsta oziroma cepiča takoj po cepljenju,
- naknadni propad sadike že v prvem letu po cepljenju,
- zelo močna rast cepljenih dreves v prvih letih po cepljenju, čemur sledi počasni ali nenadni propad drevesa,
- opazne razlike v rasti podlage in cepiča ter
- prekomerne odebelitve nad ali pod cepilno zvezo.

Najbolj zanesljiv znak je prekinitev prevodnih tkiv, katere posledica je zlom preko cepilne zveze. Kambija podlage in cepiča se ne povežeta, zato ne pride do zraščanja, ampak se naredi gladek prelom.



Slika 11: Tkiva se ne povežejo. V takem stanju že ob najmanjšem zunanjem mehanskem vplivu sledi gladek prelom preko cepljenega mesta (Turk, 1979).

Simptomi pri lesnatih vrstah so prekomerna suberizacija, zgostitev skorje zaradi povečane tvorbe sitk in zmanjšane tvorbe traheid, prekomerno nalaganje taninov, kar se izrazi kot temni madeži v skorji ter valovit vzorec letnic. Zunanji simptomi, ki so bili opaženi, pa so poznejše brstenje, nenormalna morfologija listja in prezgodnje staranje listja, zmanjšana vegetativna rast, propadanje poganjkov, slabo zdravstveno stanje dreves in prezgodnje odmiranje dreves (Andrews in Marquez, 1993; Copes, 1980; Hartmann in sod., 1990).

2.2 TIPI INKOMPATIBILNOSTI

Poznamo dva tipa inkompatibilnosti: translocirano in lokalizirano inkompatibilnost.

Translocirana inkompatibilnost vključuje tiste primere, kjer tudi z uporabo posredovalke, ki je kompatibilna hkrati s podlago in cepičem, ne premostimo inkompatibilnosti. Ta tip vključuje floemsko degeneracijo in ga prepoznamo po nekrotični plasti v floemu (Turk, 1979). Pojavljajo se motnje v transportu ogljikovih hidratov, tako da se nad cepilno zvezo akumulira škrob, pod cepilno zvezo ga pa skoraj ne zasledimo. Različne cepilne kombinacije kažejo različno stopnjo poškodovanosti floema. V ta tip inkompatibilnosti vključujejo tudi večino virusno povzročene inkompatibilnosti.

Lokalizirana inkompatibilnost pa vključuje primere, pri katerih je inkompatibilnostna reakcija odvisna od stika med podlago in cepičem. V teh primerih pa je uporaba posredovalke uspešna in premosti inkompatibilnost. Pri inkompatibilnih kombinacijah je cepilna zveza mehansko šibka, tkiva ksilema so nenormalno razporejena ali pa so ločena s parenhimskim ali plutastim tkivom.

3 VZROKI INKOMPATIBILNOSTI

Vzpostavitev uspešne cepilne zveze poteka v treh korakih (Pina in Errea, 2005):

1. Odrezano tkivo podlage, ki je sposobno meristemske aktivnosti mora biti v čvrstem stiku z enako odrezanim tkivom cepiča. Območji kambija se morata prilegati. Parenhimske celice mladega ksilema in floema okoli kambija, tako podlage kot cepiča, se delijo in tvorijo nediferencirane kalusne (parenhimske) celice. Kalusno tkivo se premeša in spoji ter zaponi prazne prostore v cepilni zvezi. Na ta način nastane kalusni most.
2. Iz kalusa se diferencirajo nove kambijske celice, ki združijo kambij podlage s kambijem cepiča in tako med njima ustvarijo neprekinjeno povezavo.
3. V zadnjem koraku začne novo oblikovana plast kambija v kalusu navznoter tvoriti sekundarni ksilem, navzven pa sekundarni floem in tako ustvari neprekinjeno povezavo med prevajalnim tkivom podlage in cepiča. Na ta način omogoči prenos snovi med njima.

Primarni vzroki inkompatibilnosti še niso znani, čeprav je bilo podanih nekaj hipotez. Pri raziskavah največkrat omenjajo tri možnosti (Turk, 1979):

- da so inkompatibilne kombinacije rezultat virusne infekcije,
- da so vzrok inkompatibilnosti razlike v rasti in aktivnosti kambija podlage in cepiča,
- da so fiziološke in biokemične razlike med podlago in cepičem tiste, ki povzročajo inkompatibilnost.

Na pojav inkompatibilnosti naj bi vplivale tudi okoljske razmere. Največjo vlogo imajo temperatura, vlažnost zraka in tip tal.

3.1 OKOLJSKE RAZMERE

Cepilna zveza in variabilnost tkiv znotraj cepilne zveze je kompleksna in težko razumljiva. Skupina tkiv med podlago in cepičem je zelo aktivna in proizvaja nov kambij in kalus. Če je cepilna zveza dobra in so okoljske razmere optimalne, se bo tvorilo veliko kalusa. V nasprotnem primeru pa nastanejo nepravilnosti pri razvoju kalusa, kar se nato nadaljuje do te mere, da tkiva niso več sposobna tvoriti uspešne cepilne zveze (Usenik, 1999; Simons in sod., 1978).

Na pojav neskladnosti (inkompatibilnosti) lahko znatno vplivajo okoljske razmere, ki še posebno močno delujejo na pozno inkompatibilnost, kajti kalus, ki je nujno potreben za skladno zvezo med podlago in sorto, se normalno oblikuje pri temperaturi nad 3 – 5 °C, čeprav zelo počasi. Pri temperaturi 32 °C pa se že pojavljajo poškodbe na cepljenem mestu. Optimalna temperatura za razvoj kalusa je 18 do 25 °C. Tudi močnejše nihanje vlažnosti lahko poveča pojav inkompatibilnosti. Na inkompatibilnost vplivajo poleg ekstremnih temperatur tudi tla (tip tal in struktura). Na lahkih tleh je inkompatibilnost kutine s sorto močnejše izražena (Hudina, 2004).

Odziv kalusnih celic, lociranih na zunanjem robu cepilne zveze, je odvisen od relativne vlažnosti zraka v okolici. V vlažnih razmerah ostanejo zunanje celice nepoškodovane in

sposobne za cepljenje. V okoljih z manjšo vlažnostjo zraka zunanje celice tvorijo suberizirano plast periderma. Ta plast preprečuje izsušitev celic v notranjosti kalusa in zagotovi, da ostanejo notranje celice primerne za diferenciacijo novih floemskih in ksilemskih tkiv. Suberizacija zunanjih celic prav tako poveča pritisk znotraj kalusa, kar vzpodbuja diferenciacijo žilnih tkiv (Moore, 1984; Doley in Leyton, 1970).



Slika 12: Slaba povezava lesa triletne cepilne zveze (Turk, 1979).

3.2 PRISOTNOST VIRUSOV

Znano je, da so v rastlinskih tkivih velikokrat navzoči latentni virusi ali virusni kompleksi. Tako je lahko ena komponenta močno okužena z latentnim virusom, do katerega je tolerantna in zato ne kaže nobenih znakov bolezni. Šele v cepilni kombinaciji, ko je druga komponenta občutljiva na virus, se pojavijo bolezenski znaki in propad cepljene rastline (Turk, 1979).

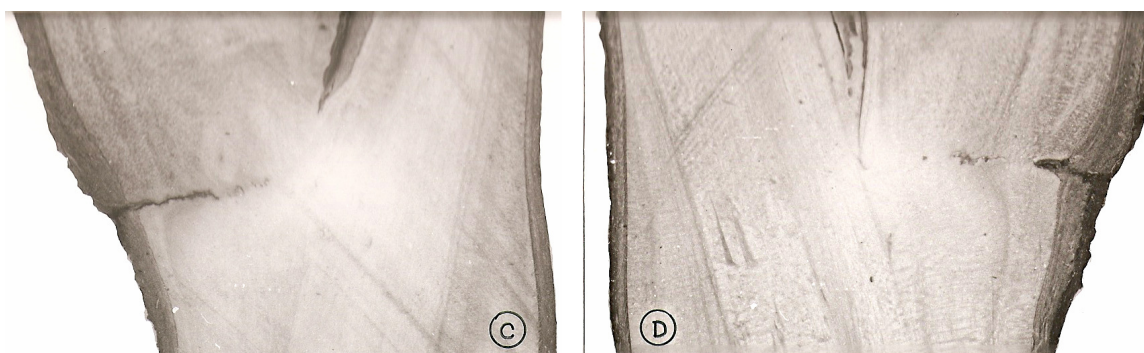
Pri translociranem tipu inkompatibilnosti, kamor spadajo tudi virusno povzročeni, je značilno, da se pojavlja degeneracija floema in akumulacija škroba v tkivih nad cepilno zvezo. Nenormalna razporeditev škroba in floemska degeneracija pa sta značilni tudi za virusne infekcije necepljenih rastlin.

Wood (1997) je raziskoval prisotnost virusov in fitoplazem pri različnih sortah hrušk, pri starih podlagah kutine in hrušk ter pri novih podlagah kutine MA, kutine BA 29 in kutine MC na Novi Zelandiji. Rezultati testiranja različnih sort hrušk so pokazali visoko stopnjo okužbe z obročkastim hruševim mozaikom (pear ring pattern mosaic), brazdavostjo lesa jablan (pear vein yellows), rdečo virusno pikčavostjo (red mottle virus) in tudi fitoplazmo

upogljivosti jablanovih vej (apple rubbery wood). Izmed treh podlag kutine in štirih podlag hruške je bila okužena samo ena podlaga hruške, ostale so bile virusov proste. Prav tako so bile virusov proste nove podlage, kutina MA, kutina BA 29 in kutina MC. Spraševal se je, kako je možno, da so se bolezni razširile v tako velikem obsegu. Prisotnost teh bolezni je preveril v evropskih državah, od koder sorte izvirajo in od koder so bile pripeljane na Novo Zelandijo. Ugotovil je, da so že raziskave iz 60ih let prejšnjega stoletja poročale o podobni stopnji okuženosti z virusi in fitoplazmami v Angliji in drugje po Evropi. Fitoplazma upogljivosti jablanovih vej (apple rubbery wood) je bila prisotna pri drevesih hrušk v Švici, Angliji in Italiji. O virusni kamnitosti hrušk (stony pit) so poročali v Angliji in drugih evropskih državah in tudi v Združenih državah Amerike. Domneval je, da so bili virusi in fitoplazme prisotne že v materialu, ki je bil pripeljan na Novo Zelandijo iz izvornih držav. Poznejša uporaba tega materiala za razmnoževanje pa je samo stopnjevala in širila bolezni. Na podlagi teh spoznanj so priporočali, da se na virusov proste podlage (kutina MA, kutina BA 29 in kutina MC) cepijo virusov proste sorte hrušk in zveza bi naj bila uspešna. Toda kasneje se je pokazalo, da zveze med kutino BA 29 in nekaterimi sortami hrušk, kljub virusov prostemu materialu, propadajo. To so pripisali drugim vzrokom inkompatibilnosti in uvedli uporabo posredovalke. V 70ih letih 20. stoletja so pri pomembnejših sortah hrušk poskušali uničiti viruse s pomočjo toplotne terapije. Pri nekaterih sortah je bil postopek uspešen in ta material je bil dostopen drevesnicam. Toplotno terapijo so uporabljali tudi pri novejših uvoženih sortah, ki niso bile virusov proste. Uporaba podlag in sort brez prisotnosti virusov je vodila v splošno izboljšanje zdravja nasadov hrušk na Novi Zelandiji.

3.3 FENOLNE SPOJINE

V okolici cepilne zveze so prizadete različne metabolne poti. Ena od teh je metabolizem fenolnih spojin. Fenolne spojine normalno sodelujejo pri odpravi stresnih procesov in pri poškodbah. Pri cepljenju so pomembne zaradi njihove vloge pri lignifikaciji in povezovanju proteinov (Errea, 1998).



Slika 13: Variabilnost znotraj ene cepilne zveze; (C) leva polovica, (D) desna polovica vzdolžno prerezane triletno sadike (Turk, 1979).

Zgodnji procesi, ki povzročajo inkompatibilnost, so zapleteni in še vedno niso dovolj raziskani, kljub temu so bili določeni nekateri dejavniki, ki vplivajo na nastanek inkompatibilnosti. To so: nezadostna rast kalusa, nastanek nekrotičnega tkiva na zvezi, napake pri diferenciaciji floema zaradi lignifikacije ali metabolnih interakcij. Fenolne

spojine sodelujejo pri vse naštetih procesih (Errea, 1998). Ko sta podlaga in cepič tesno skupaj, začnejo meristemske celice proizvajati parenhimske celice, ki zapolnijo prostore med komponentama. Kot pri normalni reakciji na ranitev tudi pri tem procesu pride do nastanka fenolnih spojin. Mnogi menijo, da je ta stopnja ključna za vzpostavitev uspešne povezave. Prisotnost različnih fenolov v podlagi in cepiču lahko vpliva na metabolne nepravilnosti. Na tej domnevi temeljijo analize in prepoznavanje raznolikosti strukturnih fenolnih spojin. Tudi diferenciacija celic kalusa v nove kambialne celice poteka pod vplivom fenolnih spojin. Le-te sodelujejo pri procesih delitve, razvoja in diferenciacije v nova tkiva. Pri nastanku ksilemskih in floemskih tkiv imajo fenolne spojine pomembno vlogo kot povezovalci polisaharidov in se vključujejo v sintezo lignina. Lignifikacija celične stene je zelo pomembna pri nastanku trdne, kompatibilne zveze.

Sintezo fenolov lahko sprožijo različne stresne situacije, kot so ranitve, okužbe in različni obrambni sistemi rastlin. Spremembe, ki vključujejo difuzijo in premikanje fenolov, lahko vplivajo na celične poškodbe in spremenijo kambij v okolici cepilnega mesta. Akumulacija fenolov lahko poškoduje mehanizme adaptacije med podlago in cepičem, saj lahko fenoli oksidirajo do kinonov, katerih polimerizacija je lahko toksična za različne metabolne reakcije.

Veliko število fenolnih snovi pripada flavanolom, ki so vpleteni v različne mehanizme. Stresne situacije imajo za posledico akumulacijo flavanolov in njihovo razgradnjo z oksidazami, ki imajo značilen vpliv na rast in metabolizem tkiv, kot je inhibicija sinteze lignina (Usenik, 1999; Errea in sod., 1994).

Da se pokažejo znaki inkompatibilnosti, je mogoče dovolj že, da relativno majhne količine fenolov povzročijo lokalno omejene nepravilnosti. Pri zapozneli inkompatibilnosti je mogoče, da koncentracija v začetku neškodljivih fenolnih snovi počasi in progresivno narašča in ruši ravnotežje cepilne zveze. Fenolne snovi prehajajo iz celic cepiča v celice podlage in povzročajo metabolne nepravilnosti (Usenik, 1999; Feucht in Treutter, 1991).

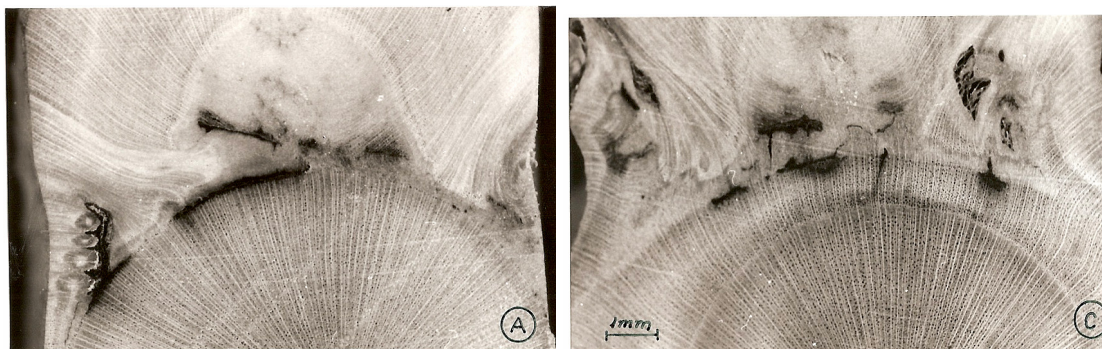
3.4 LIGNIFIKACIJA IN ENCIMI

V zgodnjih fazah razvoja kalusa, ki je sestavljen iz meristemskih celic cepiča in podlage, ni razlik v snoveh celične stene pri skladnih in neskladnih kombinacijah in ni razlik v histokemični diferenciaciji. V nadaljnjem razvoju, za katerega je značilna histokemična diferenciacija celičnih sten, se v osrednji lameli postopno nalaga lignin. Na mestu združitve naj bi bile celične stene lignificirane. Pri skladnih cepilnih zvezah so celične stene lignificirane, pri neskladnih zvezah pa celične stene ne vsebujejo lignina. Barva združenih celic v cepilni zvezi se včasih spremeni. Pri skladnih cepilnih zvezah v toku sekundarne diferenciacije celične stene obarvanost izgine, pri neskladnih kombinacijah pa le-ta ostane in se končno obarva temno rjavo (Usenik, 1999; Buchloh, 1960).

Pri mladih okulatih, zlasti v prvem letu, predstavlja cepilna zveza mesto mehanske šibkosti, posebno, če je rast zelo bujna. Pri zelo bujni rasti namreč že sicer motena lignifikacija inkompatibilnih sort zaostaja za meristemsko aktivnostjo. V nekaterih primerih ostane kalusno tkivo povsem neolesenelo in preko celotne cepilne zveze ne pride

do nikakršne povezave tkiv. V kolikor se je lignifikacija kalusa vsaj delno izvršila in so se tvorila prevodna tkiva, je sadika sposobna nadaljnje rasti (Turk, 1979).

Vzrok pomanjkljive lignifikacije celičnih sten na stiku hruška/kutina je mehanična šibkost zveze, na kar neposredno vplivajo specifične biokemijske reakcije, ki ovirajo tvorbo lignina. Akumulacija rjavih pigmentov v celicah na stiku hruška/kutina je posledica hidrolize arbutina in oksidacije hidrokinona. Oksidacijski produkti hidrokinona so tisti, ki zavirajo lignifikacijo celičnih sten. Kompatibilne sorte bi naj bile zmožne hitrejše encimatske redukcije oksidacijskih produktov kot inkompatibilne sorte (Usenik, 1999; Buchloh, 1960).



Slika 14: Prečni prerezi skozi cepilne zveze enoletnih sadik (Turk, 1979).

Pri proučevanju vloge peroksidaze v biosintezi lignina je bilo ugotovljeno, da razlike v sestavi izoperoksidaz med podlago in cepičem lahko povzročijo nenormalno lignifikacijo in pomanjkanje žilnih povezav v cepilni zvezi, kar se izrazi kot inkompatibilnost. Različne izoperoksidaze so vključene v produkcijo strukturno različnih ligninov, ki imajo različne lastnosti povezovanja (Gulen in sod., 2002; Santamour, 1988).

3.5 CIANOGENI GLUKOZID PRUNAZIN

Z eksperimenti je bila dokazana spojina – prunazin, ki je navzoča samo v tkivih kutine in se prenese v floem hruške, cepljene na kutini. V neposredni bližini cepilne zveze se ta spojina razgradi in produkt te razgradnje vpliva na pomanjkanje aktivnosti kambija v cepilni zvezi. Posledica tega so anatomske motnje v floemu in ksilemu. Na stiku med podlago in sorto se pojavi rjavo tkivo – nekrotičen sloj. Pri neskladni zvezi se nadaljuje nastajanje nekrotičnega sloja med podlago in sorto, medtem ko se pri skladni kombinaciji nekrotičen sloj ne oblikuje, ampak nastane kalus in cepilna zveza se lepo zaraste (Hudina, 2004).

Različne sorte hrušk se razlikujejo v svoji zmožnosti razkroja prunazina. Inkompatibilne sorte so sposobne razkrojiti večje količine te spojine kot kompatibilne, to pa zato, ker vsebujejo več arbutina, ki neposredno vpliva na tvorbo encima, potrebnega za razkroj prunazina. Encimatski razkroj prunazina pospešijo tudi visoke temperature (nad 25 °C) (Hudina, 1998; Gur in sod., 1968).

Dodatek cianogenega glukozida amigdalina in prunazina uniči tkivno kulturo hrušk, rast kutine pa je bila samo nekoliko ovirana. Ko so v tkivni kulturi gojili tkivo hruške na suspenziji kutine, je bila rast hruške značilno manjša, rast kutine na suspenziji hruške pa je bila neovirana (Usenik, 1999; Moore, 1986).

Nastanek cianida iz prunazina v tkivih hruške je reguliran z glukozidazo. Stopnja inkompatibilnosti med hruško in kutino je sorazmerna z aktivnostjo glukozidaze v tkivih hruške. Povečana stopnja inkompatibilnosti med hruško in kutino v toplejših podnebjih je v pozitivni korelaciji s temperaturnim optimumom glukozidaze, ki je pri 35 °C. Kemična obdelava, ki zmanjša aktivnost glukozidaze, prav tako zmanjša stopnjo inkompatibilnosti (Moore, 1986; Gur in sod., 1968).

3.6 AVKSINI

Avksini so fitohormoni, ki pospešujejo rast stebela in zavirajo rast korenin v dolžino. Avksini se neprestano sintetizirajo v rastnem vršičku stebela in potujejo navzdol. Avksini imajo v rastlini različne vloge, saj vplivajo na izdolženost celic, propustnost celične membrane, na dihanje rastline ter na sintezo mRNA in posledično na sintezo proteinov.

Pri razvoju kompatibilne zveze imajo pomembno vlogo tudi avksini, le-ti povzročijo diferenciacijo prevajalnih tkiv (Pina in Errea, 2005). Diferenciacija prevajalnih tkiv je končni proces, do katerega pride ob koncu vzpostavitve kompatibilne zveze med podlago in cepičem, kot odgovor na sproščene avksine. Diferenciacija prevajalnih tkiv se zgodi tudi, če sta podlaga in cepič ločena s porozno membrano. Ena od možnosti, zakaj ne pride do diferenciacije prevajalnih tkiv zaradi pomanjkanja avksinov, je da ni dovolj virov avksinov, kot je na primer pomanjkanje listov na cepiču (Moore, 1984).

3.7 ASIMILACIJSKI PIGMENTI IN TOPNI SLADKORJI

Ciobotari (2010) je raziskoval vpliv inkompatibilnosti na vsebnost asimilacijskih pigmentov in topnih sladkorjev v listih ter razporeditev topnih sladkorjev okoli cepilne zveze. Ugotovil je, da so imele sorte, ki so bile cepljene na kompatibilne podlage, količino vseh asimilacijskih pigmentov bližje količini le-teh v podlagi, kot sorte, cepljene na inkompatibilne podlage. Vendar je poudaril, da vsebnost karotenoidov ni odvisna od podobnosti med cepičem in podlago, ampak od okoljskih dejavnikov.

Količina topnih sladkorjev v listih je med sortami hrušk različna, vendar so vrednosti podobne vrednostim pri sejancu hruške. Iz tega Ciobotari (2010) sklepa, da je količina topnih ogljikovih hidratov v listih genetsko pogojena. Pri razporeditvi topnih ogljikovih hidratov okoli cepilne zveze je ugotovil, da je v vseh primerih največ ogljikovih hidratov v cepilni zvezi, najmanj pa nad njo. Ker je razporeditev ista pri kompatibilnih in inkompatibilnih kombinacijah je zaključil, da je za tako stanje vzrok cepljenje, ki povzroči motnjo v transportu asimilatov.

4 SKLEPI

Inkompatibilnost pri rastlinskih vrstah ni nov pojem. Narejenih je bilo veliko raziskav na poljščinah, zelenjadnicah, okrasnih rastlinah in na sadnih rastlinah. Strokovnjaki so si enotni o nastanku uspešne cepilne zveze, medtem ko določitev simptomov in vzrokov za neuspešno cepilno zvezo predstavlja večji problem.

Dokazali so, da različne okoljske razmere različno vplivajo na pojav inkompatibilnosti pri istih sortah. Tudi spoznanja o prisotnosti virusov, so potrdila, da so virusi in fitoplazme lahko eden izmed njenih vzrokov. Na Novi Zelandiji so ugotovili, da kljub uporabi brezvirusnega materiala in toplotni terapiji, določene kombinacije kutine in hruške še vedno propadajo.

Fenolne spojine sodelujejo pri različnih procesih nastajanja cepilne zveze, zato so pogost predmet raziskav. Ugotovljeno je bilo, da akumulacija fenolnih snovi in njihovi razgradni produkti negativno vplivajo na vzpostavitev uspešne cepilne zveze. Vplivajo tudi na lignifikacijo celičnih sten, kateri nekateri avtorji pripisujejo velik pomen. Pri inkompatibilnih zvezah celične stene ne vsebujejo lignina, kar povzroči prelom preko cepljenega mesta.

V tkivih kutine so dokazali spojino prunazin. Le-ta na kutino nima vpliva. Njeni razgradni produkti pa v tkivih hruške vplivajo na zmanjšano aktivnost kambija. Pomanjkanje hormona avksina pa vpliva na zmanjšano diferenciacijo žilnih tkiv.

Preučevali so tudi, kako inkompatibilnost vpliva na količino asimilacijskih pigmentov in na razporeditev topnih sladkorjev. Zaključili so, da inkompatibilnost nima pomembnega vpliva na količino asimilacijskih pigmentov in na razporeditev topnih sladkorjev. Vzrok za dobljene rezultate so pripisali motnjam v transportu asimilatov, katere povzroči cepljenje.

Mnogo raziskav je bilo narejenih z namenom, da bi določili postopke oziroma mehanizme za zgodnje odkrivanje inkompatibilnosti, toda noben ni zanesljiv. Še več je bilo narejenega, da bi odkrili vzroke za propadanje dreves. Raziskave otežuje dejstvo, da se nekatere inkompatibilnosti jasno pokažejo šele po več letih uspešne rasti. S tem pa je gospodarska škoda še večja.

5 VIRI

- Andrews P. K., Marquez C. S. 1993. Graft incompatibility. Horticultural reviews, 15: 183 - 232
<http://www.google.com/books?hl=sl&lr=&id=vY94Joa8XHoC&oi=fnd&pg=PA183&dq=The+role+of+cyanogenic+glycoside+of+the+quince+in+the+incompatibility+between+pear&ots=mgiyhSqRNk&sig=2xIwOwZyOYYbLsd4UIJeIQqQQTk#v=onepage&q=The%20role%20of%20cyanogenic%20glycoside%20of%20the%20quince%20in%20the%20incompatibility%20between%20pear&f=false> (19. 8. 2010)
- Bauer H., Treutter D., Schmid P. P. S., Schmitt E., Feucht W. 1989. Specific accumulation of o-diphenols in stressed leaves of *Prunus avium*. Phytochemistry, 28, 5: 1363-1364
- Buchloh G. 1960. The lignification in stock-scion junctions and its relation to compatibility. V: Phenolics in plants in health and disease. Oxford, Phidham: 67-71
- Ciobotari G., Brinza M., Morariu A., Gradinariu G. 2010. Graft incompatibility influence on assimilating pigments and soluble sugars amount of some pear (*Pyrus sativa*) cultivars. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 38, 1: 187-192
- Copes D. L. 1980. Anatomical symptoms of graft incompatibility in *Pyrus monticola* and *P. ponderosa*. Silvae Genetica, 29: 77-82
- Doley D., Leyton L. 1970. Effects of growth regulating substances and water potential on the development of wound callus in *Fraxinus*. New Phytologist, 69: 87-102
- Errea P. 1998. Implications of phenolic compounds in graft incompatibility in fruit tree species. Scientia Horticulturae, 71: 195-205
- Errea S., Felipe A., Treutter D., Feucht W. 1994. Flavanol accumulation in apricot grafts as a response to incompatibility stress. Acta Horticulturae, 381: 498-501
- Feucht W., Treutter D. 1991. Phenol gradients in opposing cells of *Prunus* heterografts. Advances in Horticultural Science, 5: 107-111
- Gulen H., Arora R., Kuden A., Krebs S. L., Postman J. 2002. Peroxidase isozyme profiles in compatible and incompatible pear-quince graft combinations. Journal of the American Society for Horticultural Science, 127, 2: 152-157
- Gur A., Samish R. M., Lifshitz E. 1968. The role of the cyanogenic glycoside of the quince in the incompatibility between pear cultivars and quince rootstocks. Horticultural Research, 8: 113-134
- Hartmann H. T., Kester D. E., Davies F. T. 1990. Theoretical aspects of grafting and budding. V: Plant propagation. 5th ed. Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ: 305-348

- Hudina M. 1998. Vzroki inkompatibilnosti med podlago in cepičem pri hruški (*Pyrus communis* L.). SAD, 9, 5: 2-5
- Hudina M. 2004. Zakaj propadajo drevesa hrušk? Moj mali svet, 36, 3: 36-37
- Moore R. 1984. A model for graft compatibility-incompatibility in higher plants. American Journal of Botany, 71, 5: 752-758
- Moore R. 1986. Graft incompatibility between pear and quince: the influence of metabolites of *Cydonia oblonga* on suspension cultures of *Pyrus communis*. American Journal of Botany, 73, 1: 1-4
- Pina A., Errea P. 2005. A review of new advances in mechanism of graft compatibility-incompatibility. Scientia Horticulturae, 106:1-11
- Santamour Jr., F. S. 1988. Graft compatibility in woody plants: A expanded perspective. Journal of Environmental Horticulture, 6, 1:27-32
- Simons R. K., Gilbert F. A., Chu M. C. 1978. Tissue development in graft unions of apples. Compact Fruit Tree, 11: 43-50
- Smole J., Črnko J. 2000. Razmnoževanje sadnih rastlin. 2. izd. Ljubljana, Založba Kmečki glas: 203 str.
- Turk M. 1979. Proučevanje stopnje inkompatibilnosti med kutino MA in kultivarji hrušk 'Precoc de trevoux', 'Williams Bon Chretien' in 'Passe crassane' v klimatskem območju Goriške in severovzhodne Slovenije (*Cydonia oblonga* Mill., *Pyrus communis* L.). Magistrsko delo. Ljubljana, Univerza Edvarda Kardelja v Ljubljani, VDO Biotehniška fakulteta: 64 str.
- Usenik V. 1999. Polifenolne snovi kot kazalniki nezdružljivosti različnih podlag (*Prunus spp.* L.) in kultivarjev češenj (*Prunus avium* L.). Doktorska disertacija. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 117 str.
- Wood G. A. 1997. Viruses and phytoplasma in European pear trees in New Zealand and the role of these pathogens in the compatibility of pear with quince rootstocks. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 25: 333-340

ZAHVALA

Za vso pomoč in nasvete se zahvaljujem mentorici prof. dr. Metki HUDINA in recenzentki doc. dr. Bojki KUMP.

Zahvala velja tudi moji družini, prijateljem in sošolcem za vso podporo, pomoč in potrpežljivost med študijem.