

"Zbornik radova", Sveska 38, 2003.

Pregledni rad - Review

**GENETIKA I OPLEMENJIVANJE OSOBINA KOJE ODREĐUJU
KVALITET STOČNOG JEČMA**

Pržulj, N., Momčilović, Vojislava¹

IZVOD

Od ukupne svetske proizvodnje 67% zrna ječma se koristi u ishrani stoke, 28% za sladovanje i 5% u ishrani ljudi. Bez obzira na veći ekonomski značaj, istraživanja na stočnom ječmu su minorna u odnosu na pivski ječam. Kao kriterijum kvaliteta do sada su najviše korišćene fizičke osobine zrna: hektolitarska masa i krupnoća zrna. Hemijski sastav zrna je korišćen uglavnom u završnom procesu stvaranja sorti. Direktni pokazatelji kvaliteta stočnog ječma, kao što su energetska nivo, aminokiselinski sastav i svarljivost, koriste se u ograničenom obimu u stvaranju novih sorti, najvećim delom zbog nepostojanja adekvatnih tehnika ispitivanja. Determinacija gena koji određuju hranljivu vrednost otvara mogućnost značajnog napretka u oplemenjivanju stočnog ječma. Genetičke transformacije su do sada u ograničenim obimom i sa manjim uspehom primenjivane na ovu biljnu vrstu. Razvoj novih tehnologija oplemenjivanja i testiranja kvaliteta doprineće intenzivnijem istraživačkom radu na stočnom ječmu.

KLJUČNE REČI: ječam (*Hordeum vulgare* L.), fizičke osobine zrna, hemijske osobine zrna, genetička osnova, oplemenjivanje

Uvod

Ječam (*Hordeum vulgare* L.), kao jedna od najstarijih biljnih vrsta koje je čovek koristio, prošao je značajne genetičke promene tokom procesa domestikacije, koje su mu omogućile širu primenu, mnogo ranije od formalnog početka oplemenjivanja u cilju stvaranja sorti za različite namene. Tokom više hiljada godina gajenja ječma kao ratarskog useva došlo je do promene njegove osnovne namene, tj. od osnovnog žita u ishrani ljudi do veoma važne sirovine u ishrani životinja. Upotreba ječma za proizvodnju slada, piva i destilata predstavlja

1 Prof. dr Novo Pržulj, naučni savetnik, Vojislava Momčilović, dipl. biolog, Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad

osnovne rezultate oplemenjivanja ječma. Ječam poseduje široku genetičku divergentnost, što mu omogućava proizvodnju u različitim agroekološkim uslovima i iskorišćavanje za različite namene. Danas se od ukupne svetske proizvodnje 67% ječma koristi u ishrani stoke, 28% za sladovanje i 5% za dobijanje proizvoda koje konzumiraju ljudi, i shodno tome sorte ječma se kategorizuju kao stočni, pivski i prehrambeni.

Bez obzira na procentualno manje korišćenje ječma u pivarstvu u odnosu na stočarstvo, naučne i oplemenjivačke ustanove koje se bave ječmom većinu svojih aktivnosti su usmerile na poboljšanja kvaliteta pivskog ječma. Industrija slada, piva i destilerije daju premije za dobar pivski ječam u svim zemljama koje vode računa o obezbeđenju kvalitetne vlastite sirovine, što je uslovalo njegovu veću cenu u odnosu na stočni ječam. Čak u nekim zemljama nacionalna poljoprivredna politika forsira proizvodnju pivskog u odnosu na stočni ječam. U poređenju sa pivskim ječmom, istraživanja na stočnom i prehrambenom ječmu su uglavnom minorna u svim regionima sveta. U stvari, donedavno nije postojao značajniji interes industrije stočne hrane, stočara i peradara za poboljšanje kvaliteta stočnog ječma. Često su samo fizičke osobine zrna, kao što su zapreminska masa i oblik zrna određivale cenu stočnog ječma. I kod same kategorizacije kao sorte pivskog ječma označene su samo one koje su prošle rigorozne sladarske testove, dok su kao sorte stočnog ječma deklarirane one sorte koje ne odgovaraju industriji slada, a ne na osnovu njihovog kvaliteta kao sirovine za proizvodnju stočne hrane. Zbog toga je i relativno malo postignuto u oplemenjivanju stočnog ječma. Osnovni cilj oplemenjivanja strnih žita, namenjenih za ishranu stoke, je bio povećanje prinosa. Međutim, u zemljama važnim proizvođačima ove biljne vrste proučavanja osobina vezanih za kvalitet stočnog ječma su započeta šezdesetih i sedamdesetih godina prošlog veka (Bhatty, 1996; Oakenfull, 1996). Oplemenjivači i proizvođači ječma, kako u svetu tako i kod nas, još uvek nisu definisali model stočnog ječma dobrog kvaliteta. Bez obzira na to, oplemenjivači, kao i industrija stočne hrane, traže nove mogućnosti za poboljšanje hranljivih osobina žita namenjenih za ishranu stoke. U ovom slučaju ne misli se na hranljivu vrednost u tradicionalnom smislu nego prvenstveno na hranljive osobine u užem smislu reči; kao što su energetske nivo, aminokiselinski sastav i svarljivost.

U ovom tekstu analizirane su osobine koje određuju kvalitet stočnog ječma, prikazani rezultati njegovog oplemenjivanja i dat pregled budućih istraživanja.

Pokazatelji kvaliteta stočnog ječma

Definisanje fizičkih, morfoloških i hemijskih osobina zrna ječma, kao i određenih osobina životinja i proizvoda od životinja u čijoj je ishrani bilo zastupljeno zrno ječma, je preduslov uspešnijeg poboljšanja nutritivnih vrednosti putem oplemenjivanja.

Fizičke osobine zrna. Fizičke osobine uslovljavaju nutritivnu vrednost ječma. Najčešće upotrebljavana osobina u marketingu ječma je zapreminska masa, koja je ustvari mera gustoće, izražena u kg u zapremini od 100 litara. Standardna hektolitarska masa u odnosu na koju se vrši poređenje je 62 kg/hl. Hektolitarska masa ječma se uglavnom kreće od 52 do 72 kg/hl, a kod golozrnih

sorti 80 kg/hl, zavisno od uslova proizvodnje i genotipa sorte. U principu, može se prihvatiti postulat veća gustina zrna-veća nutritivna vrednost, tj. veći sadržaj skroba i proteina u odnosu na sadržaj vlakana i prostor ispunjen vazduhom. Međutim, merenje i tumačenje hektolitarske mase je teško. Prisustvo osja, pleva, slomljena zrna, strani materijal, veličina i oblik zrna, prisustvo i debljina plevice, debljina i uniformnost zrna, kao i unutrašnja anatomija i kompozicija zrna utiču na vrednost hektolitarske mase.

Debljina zrna je indirektno merilo veličine endosperma i sadržaja skroba, gde veći procenat debljih zrna znači i veći sadržaj skroba. Uniformnost zrna je značajna za pojedine tehnološke procese prerade. U masi zrna, plevice imaju udeo 10-15% suve mase, a sastoje se uglavnom od celuloze, hemiceluloze, pektina, lignina i malog sadržaja proteina. Plevice su hranljivo bezvredne za nepreživare i živinu. Kada se odstrane plevice zrno ječma sadrži biljna vlakana kao kukuruz i pšenica (Bhatty, 1993). Zrno poreklom od dvoredog ječma u principu ima veće vrednosti hektolitarske mase, mase hiljadu zrna i debljine zrna u odnosu na šestoredi ječam. Važna fizička osobina ječma je veličina čestica posle suvog rolanja ili grubog mlevenja prilikom pripremanja stočne hrane, što predstavlja faktor kvaliteta ječma prilikom njegovog korišćenja u ishrani preživara (Bowman and Blake, 1996).

Hemijski sastav. Zrno ječma kao i ostalih žita predstavlja kompleks sastavljen od ugljenih hidrata, proteina, masti, minerala i drugih materija. Detaljna analiza zrna ječma i njegova nutritivna implikacija data je u radovima Newman and Newman (1992b) i Bhatty (1993). Variranje sadržaja pojedinih komponenti zrna određeno je genetičkom osnovom sorte i uslovima proizvodnje. Ugljeni hidrati su osnova hemijakog sastava zrna ječma (oko 80% suve materije), gde skrob sa udelom od 55% (40-65%) predstavlja glavnu komponentu i ima najveći doprinos ukupnoj bioenergetskoj vrednosti ječma. Sa nutritivne tačke gledišta skrob obezbeđuju najveću količinu dostupne energije životinjama, a iza toga slede proteini, masti i rastvorljivi šećeri. Skrob se nalazi u endospermu u formi amilopektina (75%) i amiloze (25%). Kod ječma je utvrđeno značajno variranje u sadržaju amiloze, odnosno amilopektina, te su genotipovi sa niskim sadržajem amiloze, ili bez amiloze, označeni kao voskovci (*waxy* tip), a genotipovi sa visokim sadržajem amiloze (45%) kao visoko-amilozni tipovi. Zbog visokog sadržaja skroba u zrnu, u tablici za ishranu stoke i živine ječam spada u grupu energetskih izvora U nedavnim istraživanjima u Kanadi ustanovljeno je da dvoredi ječam ima veću energetsku vrednost od višeredog Međutim, neskrobni polisaharidi i lignini (10-20% SM), ponekad označeni kao ukupna biljna vlakna, smanjuju energetsku vrednost ječmenog zrna, posebno kod monogastričnih organizama. U poređenju sa drugim žitima ječam i ovas imaju relativno visok sadržaj β -glukana, a manji sadržaj rastvorljivih arabinoksilana (Tab. 1). Antinutritivni efekat β -glukana i arabinoksilana nalazi se u pozitivnoj korelaciji sa rastvorljivom frakcijom ovih polisaharida. β -glukani i arabinoksilani, dovode do povećanja viskoziteta rastvora i koloida. Ove supstance smanjuju svarljivost, posebno kod živine (Bamforth, 1982). β -glukani, primarne komponente zidova skrobnih ćelija, izazivaju probleme i u pivarstvu. S druge strane, utvrđeno je pozitivan efekat β -glukana u regulisanju holesterola kod ljudi, ostalih sisara i

živine (Newman et al. 1989). Sadržaj β -glukana može značajno varirati u zavisnosti od genetičkih faktora i faktora sredine. Najefikasniji način sprečavanja negativnog efekta β -glukana je primena enzima koji depolimerizuje ovaj polisaharid, čime se sprečava inhibicija digestije. Arabinoksilani ili pentozani, koji se nalaze u ćelijskim zidovima plevica i aleurona, slično kao β -glukani povećavaju viskozitet u gastrointestinalnom traktu, što dovodi do smanjenja probavljivosti hrane (Han and Froseth, 1992). Novija istraživanja su pokazala da arabinoksilani mogu biti značajan antinutritivni faktor, posebno kod svinja.

Tab. 1. Sadržaj ukupnih i u vodi rastvorljivih β -glukana i arabinoksilana (g/kg SM)

Tab. 1. Total and water-soluble β -glucan and arabinoxylan content of cereal grains (g/kgDM) (Campbell, 1996)

Žito Cereal	Beta-glukan - β -glucan		Arabinoksilan - Arabinoxylan	
	Ukupni - Total	Rastvorljivi - Soluble	Ukupni - Total	Rastvorljivi - Soluble
Ječam	49,5	32,8	64,7	5,5
Ovas	38,3	24,2	86,9	5,7
Pšenica	7,4	6,5	75,3	13,4
Raž	21,5	7,7	96,5	29,5

Proteini i sadržaj aminokiselina su veoma važni kod ječma i determinišu hranljivu vrednost i hranidbenu formulaciju. Analiziranjem 10978 genotipova američke nacionalne kolekcije ječma utvrđen je prosečan sadržaj proteina od 14,8%. U odnosu na ostale hemijske komponente, sadržaj proteina je najjače uslovljen spoljašnjim faktorima. Tako npr. Torp et al. (1981) su utvrdili da ista sorta gajena pri sličnom nivou azotnog đubriva ali na različitim lokalitetima imala variranje sadržaja proteina od 8,1 do 14,7%. Ova konstatacija potvrđuje neophodnost rejonizacije u gajenju žita, i to posebno onih koja treba da zadovolje određene kriterijume kvaliteta. Primer za to je tradicija gajenja jarog pivskog ječma u nekim područjima Srbije. Sadržaj aminokiselina lizina treonina i metionina kod ječma je manji od potrebnog u ishrani životinja. Ovas ima veći sadržaj ovih aminokiselina na račun manjeg sadržaja prolina. Sadržaj lizina kod celog zrna ječma iznosi 0,45% ili čak manje, dok su zahtevi svinja, zavisno od starosti, 0,6-1,0%. Istraživanja vezana za sadržaj i mogućnosti povećanja lizina su bila naročito intenzivna sedamdesetih i osamdesetih godina, nakon otkrića prvog visoko-lizinskog mutanta kod ječma, sorte Hiproly. (Munck et al., 1970). Poboljšanje nutritivnog sadržaja žita putem povećanja sadržaja proteina delimično je i kontraproduktivno zbog negativne korelacije između sadržaja esencijalnih aminokiselina, posebno lizina, i sadržaja proteina. Selekcija visokolizinskih sorti ječma nije dala očekivane rezultate, jer su dobijeni genotipovi inferiornih agronomskih osobina. Nove visokolizinske linije ječma imaju manji sadržaj glutaminske kiseline i prolina koje direktno ne doprinose nutritivnom kvalitetu proteina, dok s druge strane njihova redukcija smanjuje zagađenje azotom putem životinjskih fekalija.

Sadržaj masti kod ječma je relativno nizak. Ispitivanjem 3275 genotipova američke kolekcije utvrđen je prosečan sadržaj masti od 1,6%, sa variranjem od 0,9

do 3,2%. U odnosu na distribuciju masti u zrnu tri četvrtine se nalaze u endospermu a jedna u embrionu (Price and Parsons, 1979). Iako je pronađeno nekoliko mutanata sa sadržajem masti i do 7% (Newman and Newman, 1992b), malo je rađeno i učinjeno na dobijanju visokouljnih sorti. Zrno ječma sadrži neke važne lipidne komponente, kao što su antioksidanti tokotrienoli, za koje je utvrđeno da inhibiraju sintezu holesterola, što je važnije za ishranu ljudi nego ishranu životinja.

Tab. 2. Sadržaj nekih aminokiselina kod ječma i ovasa (g/100g proteina)
 Tab. 2. Content of selected amino acids in barley and oats (g/100g protein)
 (Campbell, 1996)

Amino kiselina Amino acids	Ječam Barley	Ovas Oats	Golozrni ječam Naked barley
Lizin	3,15	4,20	4,73
Treonin	3,00	3,30	3,86
Metionin	1,88	2,50	1,71
Glutaminska kiselina	23,44	23,90	15,20
Prolin	11,07	4,70	6,63

Polidenoli ili flavonidi, kao što je npr. antocijan, se nalaze u raznim ćelijskim tkivima. Samo ječam i sirak sadrže proantocijanide, koji se kod ječma nalaze u testu. Proantocijanidi imaju različite efekte na rezistentnost biljke prema štetočinama, kao i na hranidbenu vrednost i kvalitetne osobine zrna ječma. Proantocijanidi izazivaju zamućenost u pivu zbog formiranja nerastvorljivog enolno-proteinskog kompleksa (Wettstein et al., 1985). Slično tome, postoje podaci da se sličan kompleks formira u crevima životinja, što dovodi do ograničene svarljivosti proteina, mađa su prema drugim istraživačima problemi zbog niske koncentracije fenola zanemarljivi (Newman et al., 1984).

Mineralne materije kod ječma imaju značajan uticaj na hranljivu vredost zrna, i njihov sadržaj se kreće od 2 do 4%. U zrnu su najzastupljeniji P, K, Ca, a pored njih u manjim količinama nalaze se i Cl, Mg, S i Na (Owen et al., 1977). Najveći sadržaj minerala nalazi se u plevicama, a zatim u embrionu i endospermu. Fosfor je jedan od najvažnijih minerala za životinje, ali je 80% fosfora zrna žita nedostupno, jer je vezano u fitinskoj kiselini. Pored fosfora, fitinska kiselina veže i nekoliko drugih važnih katjona kao što su Ca, Fe, Mg i Zn. Fitinska kiselina nije uključena u metabolizam nepreživara i kada se životinje hrane koncentrovanom hranom zrna dolazi do gubitka fosfora i zagađenja sredine. Nedavno su uz upotrebu hemijskih mutagenasa dobijeni mutanti kukuruza i ječma sa niskim sadržajem fitinske kiseline što pruža osnovu za smanjenje navedenih problema u ishrani i ekologiji (Raboy and Cook, 1999). Tako je kod ribe i svinja, hranjenih sa mutantom ječma koji ima nizak sadržaj fitinske kiseline došlo do redukcija izlučivanja fosfora u okolinu za 50-55%, uz nepromenjene osobine kostiju.

Testiranje hranljivih osobina ječma kod životinja

Iako se čine razni pokušaji procene hranljive vrednosti zrna određivanjem sadržaja hranljivih i antihranljivih komponenti, najverodostojnija ocena kvaliteta

dobija se testiranjem osobina životinja hranjenih nekom hranom (Campbell, 1986). Oglеди sa ishranom i metabolizmom u kojima se određuje probavljivost ili istovremeno probavljivost i metabolizam određenih komponenti, kao što su skrob, proteini, energija, antikalitetni faktori (npr. arabinoksilani, β -glukani) su obavezni u određivanju kvaliteta i razlike između genotipova ječma visoke i niske hranljive vrednosti. Međutim, ogledi sa životinjama su skupi, potrebna je relativno velika količina zrna sorte koja se testira, veliki broj životinja, smeštajnog prostora i testiranje traje dugo. Zbog toga veliki broj naučnika predlaže metod mobilne sintetičke kese u koju se stavlja manja količina hrane koja se ispituje, kesa se unosi u digestivni trakt životinje i nakon izbacivanja sa fekalijama određuje sastav kese, odnosno određuje koje su se komponentne iskoristile tokom varenja (Duncan et al., 1991; Boisen and Eggum, 1991).

Oplemenjivanje stočnog ječma na kvalitet

U odnosu na intenzivan oplemenjivački rad na oplemenjivanju pivskog ječma na kvalitet i adaptabilnost, vrlo malo je rađeno na oplemenjivanju ječma na nutritivne parametre. Razlozi za to su nedefinisanost primarnih osobina kvaliteta, nepostojanje tehnike masovnog skrininga u oceni velikih potomstava, nedostatak genetičkih informacija o osobinama koje definišu kvalitet i finansijska nezainteresovanost industrije za takva istraživanja. Međutim, neke od ovih barijera se u zadnje vreme otklanjaju, korišćenja savremene istraživačke tehnike, većim zahtevima za kvalitetnim stočnim ječmom i odgovarajućom cenom.

Na osnovu brojnih istraživanja utvrđeno je postojanje široke genetičke varijabilnosti za većinu važnih nutritivnih osobina, izuzev sadržaja lipida u zrnu. Biotehnoška revolucija je omogućila kako rasvetljavanje genetike osobina koje se nasleđuju kompleksno (nutritivne osobine), tako i efikasniji rad oplemenjivačima. Poboljšanja u tehnologiji istraživanja dovela su do usvajanja novih metoda skrininga, odnosno uspešnijeg oplemenjivanja nego što je bilo uz primenu samo konvencionalnih metoda. Razumevanjem genetičke divergentnosti i rasvetljavanjem genetike osobina kvaliteta definisane su prioritete osobine za oplemenjivanje.

Selekcija na osobine koje se jednostavno određuju i nasleđuju može se obaviti direktno. Npr. pleličasto zrno se vizuelno odvoja od pokrivenog a zrno voskovic u odnosu na normalno pomoću jednog rastvora. Kod komplikovanijih merenja, koja zahtevaju više vremena, novca i transformacija početnog materijala obično se koriste indirektno metode za određivanja sadržaja neke supstance. Na primer određivanje sadržaja skroba, β -glukana, nerastvorljivih vlakana i proantocijanidina je prilično teško i skupo. NIR i NIT metode (bliska infracrvena oblast) se koriste za indirektno određivanje sadržaja skroba, lipida, proteina, β -glukana i vlakana, kao i ponašanje sirovine kod ishrane životinja, kao što je npr. svarljivost. Novije tehnologije omogućavaju korišćenje brzih, nedestruktivnih analiza celog zrna, što je znatno jeftinije u odnosu na destruktivne metode, gde su se uzorci morali mleti. Razvijeni su brojni in situ i in vitro testovi za potpuno i uspešno određivanje nutritivnih osobina. Otkrivanjem molekularnih mapa i određivanjem gena ili hromozomskih regiona koji su povezani sa ovim

osobinama (QTL analiza) kao i identifikacija u blizini vezanih molekularnih markera omogućavaju razvoj i primenu selekcije na bazi veze marker osobina (molecular marker-assisted selection, MMAS). Na ovaj način vrši se selekcija gena (genotipska selekcija) za razliku od konvencionalne fenotipske selekcije.

Zahtevi tržišta i predviđeni profit su najjači generator smera i intenziteta istraživanja u nekoj oblasti. Iako je goložrni ječam, koji je kontrolisan nud genom bio poznat u istočnoj hemisferi od antičkih vremena, proširio se u severnoj Americi u novije vreme, dok su aktivnosti u oplemenjivanju goložrnog ječma intenzivirane zadnjih 25-30 godina. U ovom periodu razvijena je u Kanadi posebna industrija koja proizvodi hranu za svinje na bazi goložrnog ječma (Bhatty, 1993; 1996). Nemogućnost proizvodnje kukuruza u severnoj Americi je ubrzalo istraživanja na mogućnosti korišćenja goložrnog ječma u stočarstvu, dok npr. u SAD goložrni ječam se mnogo manje proizvodi jer postoje dovoljne količine ostale visokokcentrovane hrane. Pored goložrnog zrna nove sorte su često i voskovci, posedujući *wax* gen i u određenom obimu sa visokim sadržajem amiloze, koja je kontrolisana *amo1* genom. Na taj način ista sorta je pogodna kako za ljudsku ishranu tako i za primenu u stočarstvu. U Kanadi su takođe selekcionisane sorte goložrnog ječma koje imaju posebne osobine skroba. Međunarodni centar za poljoprivredna istraživanja u sušnim područjima-ICARDA, koji je lociran u Siriji bavi se stvaranjem sorti goložrnog ječma za ljudsku ishranu za stanovništvo Latinske Amerike, Afrike i južne i istočne Azije (Ullrich, 1997).

Oplemenjivanje ječma na nizak sadržaj pitinske kiseline radi se vrlo intenzivno u SAD i Kanadi. Mutanti sa *lpa-1* genom se prvenstveno koriste za ukrštanja sa plevičastom i goložrnim germplazmom (Raboy and Cook, 1999). Ovi mutanti redukuju za 50-75% sadržaj pitinske kiseline u odnosu na divlji tip, sa veoma malim efektom na metabolizam biljke. Čvrsta veza gena, za nizak sadržaj pitinske kiseline, su dva molekularna markera na hromozomu 2 koja omogućava efektivnu upotrebu MMAS u oplemenjivanju (Larson et al., 1998).

Jedan od najznačajnijih ciljeva u povećanju nutritivnih osobina ječma putem oplemenjivanja je stvaranje visokolizinskih, i u manjoj meri, visokoproteinskih sorti. Veliki naponi u realizaciji prethodnog cilja činjeni su šezdesetih godina za vreme proteinske krize u humanoj ishrani i relativno visoke cene proteina za ishranu stoke i živine. Uprkos opsežnim istraživanjima sedamdesetih i osamdesetih godina u mnogim zemljama sveta nije ponuđena uzgajivačima ječma visokolizinska sorta ječma. Navedene genetičke barijere još uvek se nisu uspele prevazići. Uprkos postojanju genetičke varijabilnosti, gde je do sada otkriveno najmanje 10 mutantnih gena za visok sadržaj lizina i izvešen je veliki broj njihovih ukrštanja sa elitnom germplazmom ipak nisu dobijene sorte čija krupnoća zrna i prinos mogu zadovoljiti tržište (Persson and Karlsson, 1977).

Genetika kvantitativnih osobina bila je velika nepoznanica do početka primene tehnologije molekularne biologije. Direktno oplemenjivanje na poboljšanje kvantitativnih osobina koje su u osnovi hranljive vrednosti ječma, a ocenjeno preko osobina životinja koje se hrane ječmom, faktički nije ni postojalo. Bilo je ograničenih pokušaja ocene linija korišćenjem tehnike specijalnih kesa. Američka sorta ječma Crest sa dvostrukom namenom, tj. za sladovanje i stočnu hranu, selekcionisana, na bazi podataka o svarljivosti, dobijenih upotrebom

mobilne napon kese (Muir et al., 1992). Međutim, potpuno je uobičajeno u većini oplemenjivačkih programa da se ocena hranljivih vrednosti vrši odmah nakon stvaranja ili priznavanja sorte. Identifikacija gena koji određuju hranljivu vrednost, uključujući i QTL, u molekularnom smislu omogućava upotrebu do sada nepoznatih gena u poboljšanju hranljivih vrednosti ječma preko MMSA. Iako postoje podaci QTL analize o hranljivim osobinama ječma, do sada su veoma malo korišćeni u oplemenjivanju. Kao izuzetak može se navesti primer stvaranja populacije inbred linija iz ukrštanja Lewis/Baronesse nakon QTL mapiranja prinosa ječma i svarljivosti. Izdvojena je linija dobrih agronomskih osobina i takvih hranljivih osobina koje omogućavaju 10% povećanje dnevnog prirasta tovljenih junadi. Ova linija je 1999 priznata kao sorta Valier i predstavlja prvu sortu koja je dobijena upotrebom MMSA za agronomске i hranljive osobine (Bowman and Blake, 1996). MMAS može biti najkorisniji način oplemenjivanja osobina hranljive vrednosti kao što su svarljivost, prirast životinja, utroška hrane po jedinici mase itd. Upotreba MMAS postaje sve važnija i kod oplemenjivanja na ostale osobine ječma. Tako je npr. u sortu ječma Orca, koja je priznata 1998. godine, otpornost na žutu rđu (*Puccinia striiformis* f. sp. *hordei*) unešena korišćenjem tehnike MMAS (Hayes et al., 2000).

Genetička osnova osobina nosioca hranljive vrednosti ječma

Većina osobina ječmenog zrna su zajedničke sa svim ostalim žitima, dok je manji broj osobina specifičan samo za ječam. Manji broj osobina, kao što su anatomske osobine i jednostavnije hemijske komponente kontrolisane su sa jednim ili dva gena i imaju jednostavan način nasleđivanja, dok se većina osobina (npr. osobine koje uključuju kompleksne fiziološke procese) nasleđuje kvantitativno i kontrolisana je velikim brojem gena različitog efekta delovanja (Nilan, 1964). Ekspresija kvantitativnih osobina je u značajnoj meri modifikovana spoljašnjim faktorima i interakcijom genotipa sorte ječma sa spoljašnjim faktorima. Poznavanje načina nasleđivanja kvantitativnih osobina kod ječma bilo je jako skromno sve do kasnih osamdesetih i ranih devedesetih godina, do upotrebe genetičkih markera i metoda QTL analize. QTL analiza omogućava genetičko razdvajanje kompleksnih osobina i identifikaciju poželjnih alela u divergentnoj germoplazmi radi korišćenja u programu oplemenjivanja. Prva sveobuhvatna molekularna mapa ječma i QTL analiza agronomskih i kvantitativnih osobina urađena je na potomstvu ukrštanja dva šestoreda ječma Morex i Steptoe (Hayes et al., 1993) u okviru multidisciplinarnog severnoameričkog projekta mapiranja genoma ječma. Nakon toga na bazi drugih ukrštanja urađen je veći broj mapa i QTL analiza za osobine koje određuju tehnološki kvalitet.

Fizičke osobine. Prisustvo plevica i broj redova zrna su osobine koje se najjednostavnije nasleđuju, mada može da postoji značajan plejotropni efekat drugih gena na fenotip ovih osobina (Powell et al., 1990). Prisustvo plevica je kontrolisano dominantnim genom *Nud* a odsustvo plevica recesivnim genom *nud*, koji su locirani na 1 hromozomu. Broj redova zrna kontrolisan je sa dva gena *Vrs1 vrs1* i *Int-c int-c* koji su locirani na hromozomima 2 i 4. Komerrijalne dvorede

sorte imaju genotip *VersIVrs1 int-cint-c*, a komercijalne šestorede sorte *vs1vs1Int-clnt-c*.

QTL za hranljivu vrednost ječma određivani su kod osam ukrštanja izvedenih u okviru severno-američkog, evropskog i australijskog projekta mapiranja. U velikom broju QTL analiza korišćena je populacija ukrštanja Harrington/TR306, gde su takođe proučavane agronomske i tehnološke osobine. Kod ječma je utvrđeno 55 QTL na različitim hromozomima za hektolitarsku masu, oblik zrna i krupnoću zrna. Tačan broj QTL još uvek ne može biti citiran zbog velikog broja istraživanja i teškoća u poređenju mapa iz različitih ukrštanja (Han and Ullrich, 1994).

Veličina čestica kod mlevenja ječma određivana je kod populacije Steptoe/Morex., gde su locirana dva QTL na hromozomu 3, a koji su podudarni sa QTL za svarljivost suve materije i procenat svarljivosti skroba mlevenog ječma kod goveda (Bowman and Blake, 1996). Inače, velična čestica mlevenog ječma je jako važna za svarljivost kod goveda.

Hemijska kompozicija. Nasledivanje sadržaja većine ugljenih hidrata koji određuju hranljivi kvalitet ječma je veoma kompleksno. Većina ugljenih hidrata je kompleksnog sastava ili predstavlja mešavinu komponenti, te su genetičke informacije o akumulaciji ugljenih hidrata u zrnu zasnovana na QTL analizi. Kod Steptoe/Morex mape QTL za sadržaj skroba je lociran na dužem kraku hromozoma 2 i u blizini telomere dužeg kraka hromozoma 6 (Bowman and Blake, 1996). Geni koji određuju nasledivanje odnosa amiloza:amilopektin u skrobu su poznati odavno (Nilan, 1964). Gen voskovac (*wax*), lociran na hromozomu 1 uslovljava sadržaj amilopektina od 100%. Genotip voskovac *waxwax* je recesivan u odnosu na divlji genotip *WaxWax* kod kojeg ima oko 75% amilopektina i 25% amiloze. Gen koji određuje visok sadržaj amiloze (*amo1*) koji je lociran na hromozomu 3 u homozigotnom recesivnom stanju determiniše sadržaj amiloze od oko 45% (Merritt, 1967). *Wax* i *amo1* geni mogu povećati sadržaj β -glukana i smanjiti sadržaj skroba. Visoko-amilozni gen povećava nivo lizina ali i smanjuje masu zrna. Kada su u jednom genotipu zastupljena oba recesivna gena, tj. *wax* i *amo1*, nivo β -glukana je povećan a smanjen nivo skroba. S druge strane otkriveni su voskovci sa normalnim sadržajem β -glukana. Nutritivni značaj ova dva jedinjenja nije u potpunosti jasan. U eksperimentima sa različitim vrstama životinja utvrđene su prednosti i nedostaci voskovca i visokoamiloznog ječma u odnosu na normalni divlji tip (Newman and Newman, 1992b).

Iako se jednostavno nasleđuje, identifikovani su inducirani mutanti sa niskim sadržajem β -glukana na osnovu kojih je utvrđeno da je genetika sadržaja β -glukana prilično složena. Sadržaj β -glukana kod ječma kontrolisan je aditivnim genetičkim sistemom od 3-5 faktora, čija lokacija na hromozomima nije određena. U QTL analizi populacije Steptoe/Morex utvrđena su tri QTL za sadržaj β -glukana od kojih se dva nalaze na hromozomu 2 a jedan na hromozomu 5. Međutim, ova tri QTL zajedno kontrolišu samo 34% ukupnog sadržaja β -glukana. Za sadržaj nerastvorljivih biljnih vlakana utvrđena su tri QTL na hromozomu 2 i pojedinačni QTL blizu telomere na hromozomima 4 i 5 (Han et al., 1995).

Sadržaj proteina u ječmu nasleđuje se prilično kompleksno. Sadržaj nekih specifičnih proteina i proteinskih grupa nasleđuje se monofaktorijalno i određena je lokacija njihovih gena. Npr. dva izoenzima enzima α -amilaze (*amy 1* i *2*), koji utiči na nivo sadržaja α -amilaze, mapirani su na hromozomima 1 i 6. Familije gena B, C i D hordeina (*Hor 1, 2* i *3*), koje deluju kao pojedinačni lokusi, mapirane su na hromozomu 5 (Søgaard et al., 1987). Ukupan sadržaj proteina, na osnovu kojeg se određuje hranljivi kvalitet stočnog ječma, nasleđuje se kvantitativno. Do primene QTL analize molekularne genetike veoma malo se znalo o genetičkoj osnovi sadržaja proteina u zrnu ječma. Pojedini regioni svih sedam hromozoma ječma određuju ukupan sadržaj proteina, što i nije iznenađujuće, s obzirom da postoje mnogi različiti proteini i proteinske klase u zrnu ječma.

Na osnovu proučavanja visoko-lizinskih mutanata utvrdeno je da se sadržaj lizina kod ječma nasleđuje relativno jednostavno. Nakon otkrića etiopijske sorte ječma Hiproly, koja je prirodni mutant sa visokim sadržajem lizina i proteina, primenom hemijskih i radioaktivnih mutagenasa dobijen je niz visokolizinskih mutanata, gdje je kod većina determinisana biohemijska i genetička osnova (Munck et al., 1970). Međutim, najveći broj proučavanja raden je na mutantima Hiproly (*lys* gen na hromozomu 7) i 'Bomi' Risø 1508 (*lys3* gen takode na hromozomu 7). Iako se većina visokolizinskih gena nasleđuje monofaktorijalno recesivno (*lys* geni) postoji i plejotropni efekti kao što su promenena kompozicija proteina endosperma, smanjen sadržaj skroba i povećan sadržaj slobodnih amino kiselina i lipidnih komponenti u odnosu na roditeljske sorte (Doll and Køie, 1978). Različite biohemijske promene manifestuju se takode u morfološkim promenama, kao što su povećanje odnosa embrion: endosperm i smežuranost endosperma, što dovodi do smanjenja mase zrna i prinosa u odnosu na ishodni genotip. Uprkos velikoj varijabilnosti izvora visokolizinskih gena problemi jake genetičke veze između smežuranog endosperma i redukovano g prinosa još uvek nisu rešeni oplemenjivanjem.

Deficit proantocijanidina u zrnu ječma nasleđuje se monofaktorijalno recesivno. Do sada je determinisano samo nekoliko gena za ovu osobinu, koji se nalaze na 1, 3 i 6 hromozomu. U oplemenjivanju, posebno pivskog ječma, upotrebljavaju se nepigmentisani mutanti sa genima *ant13* (na hromozomu 6) i *ant17* (na hromozomu 3), kao i nekoliko pigmentisanih mutanata koji imaju *ant26, 27* i *28*.

U odnosu na hemijski sastav najmanje istraživanja je radeno na determinisanju nasleđivanja sadržaja mineralnih materija u zrnu. Nešto detaljnija istraživanja su radena na fosforu. Kod ječma je otkriveno više od 20 mutanata sa niskim sadržajem fitinske kiseline (*lpa*) (Raboy and Cook, 1999). Ovi mutanti su svrstani u dva tipa; homozigotni *lpa-1* genotipovi imaju različite nivoe redukcije fitinske kiseline, sa istovremenim povećanjem neorganskog fosfora, što za krajnji rezultat ima nepromenjen sadržaj ukupnog fosfora u zrnu. Kod homozigotnih *lpa-2* genotipova fitinska kiselina u zrnu je redukovana, što je praćeno sa povećanjem neorganskog fosfora i nižim organskim fosforom. Geni *lpa-1* se nalazi na hromozomu 2 a gen *lpa-2* na hromozomu 7.

Buduća istraživanja

Nije uvek lako predvideti kojim pravcem će ići istraživanje u nekoj oblasti, pogotovu danas, kada se nove tehnologije uvode vrlo intenzivno. Iako je uspostavljen balans između konvencionalnog i molekularnog pristupa, molekularne metode preuzimaju dominat po raznovrsnosti tehnika i metode koje oplemenjivačima omogućavaju stvaranje novih sorti. Kod ratarskih biljnih vrsta ekonomski najvažnije osobine, kao što su adaptabilnost, agronomske osobine i osobine kvaliteta su kompleksne i nasleđuju se kvantitativno. To znači da oplemenjivači nisu imali upotrebljive informacije o genetičkoj kontroli ovih osobina. Do pojave molekularnih mapa i QTL analize oplemenjivanje na kvantitativne osobine nije moglo biti direktno. Takav je slučaj i sa osobinama ječma koje označavaju hranljivu vrednost. Danas je moguće učiniti veći napredak u oplemenjivanju kvantitativnih osobina upoznavanjem gena pomoću MMAS koji kontrolišu osobine na koje se vrši oplemenjivanje. Međutim, molekularna genetika ne daje oplemenjivačima magičnu moć. Mora je još puno učiti o lokaciji gena, njihovim međusobnim interakcijama, interakcijama i sa ekološkim uslovima kao i načinu njihovog kombinovanja u idealnu sortu. Iako je ječam diploidna biljna vrsta i predstavlja relativno jednostavan genetički objekat on poseduje veoma glomazan genom koji se sastoji od 5 milijardi DNK parova baza i verovatno oko 25000 gena. Ovih 25000 gena predstavljaju manje od 5% genoma ječma. Ako se zna da je od ukupnog broja gena identifikovano manje od 10% ili oko 0,5% genoma, jasno je koliko postoji još nepoznanica o genomu ječma (Kleinhofs, 1999).

Genetičke transformacije su promene u naslednoj osnovi organizama koje su primenljive i na ječam. Tehnologija genetičkih transformacija do sada je sa većim uspehom primenjivana kod dikotiledonih biljaka, što se u poslednje vreme rapidno menja. Posle objavljivanja prvog rutinskog uspešnog protokola transformacija ječma 1994. godine napravljen je veliki pomak u ovoj oblasti i na ječmu. Do sada je najveći uspeh postignut pri manipulacijama sa termostabilnim genom β -glukanaze, koji je važan kako u industriji piva tako i za hranljivu vrednost ječmenog zrna. Transformacije bi mogle da budu efikasna metodika poboljšanja hranljivih vrednosti ječma, s obzirom da postoje neograničeni izvori gena za kvalitet. Međutim, ti geni nisu još otkriveni, izolovani i/ili klonirani, što će se sigurno desiti u vrlo bliskoj budućnosti. Uprkos napretku, korišćenje transgenih useva i njihovih produkata vode se oštre polemike i diskusije sa različitim aspektata, počev od zdravstvenog do moralnog i zakonskog.

Neki autori su pokušali predložiti ideotip stočnog ječma, ali se došlo do zaključka da je to nemoguće uraditi, imajući u vidu razlike između različitih vrsta životinja (preživari i živina), starosti životinja i razloga gajenja životinja (Newman and Newman, 1992a). Međutim, pošto se zrno ječma smatra kao energetski izvor u stočnoj hrani glavna karakteristika ječma je njegova svarljivost. Predloženi ideotip treba da ima visok nivo skroba i slobodnih šećera (>76%), visok sadržaj masti (4-5%) i nizak sadržaj neskrobnih polisaharida (<12%). U neskrobne polisaharide spadaju prvenstveno celuloza, lignin i β -glukani i arabinoksilani. Pivski ječam takode treba da ima slične ukupne prethodne performanse. Pored

značaja ukupnih proteina kod stočnog ječma, od izuzetne je važnosti i sadržaj pojedinih aminokiselina, posebno lizina.

LITERATURA

- Bamforth, C.W. (1982): Barley β -glucans: Their role in malting and brewing. *Brewers Digest* 57: 22-27.
- Bhatty, R.S. (1993): Nonmalting uses of barley. *In: A.W. MacGregor and R.S. Bhatty (Eds.) Barley: Chemistry and Technology*. American Association of Cereals Chemists, pp. 355-417, St. Paul, MN.
- Bhatty, R.S. (1996): Hulless barley: Development and utilization. *In: (G. Scoles and B. Rossnagel, Eds) Proceedings of V International Oat Conference and VII International Barley Genetics Symposium*, pp. 106-112, University of Saskatchewan, Extension Press.
- Boisen, S., Eggum, B.O. (1991): Critical evaluation of in vitro methods for estimating digestibility in simple stomach animals. *Nutrition Research Review* 4: 141-162.
- Bowman, J., Blake, T.K. (1996): Barley feed quality for beef cattle. *In: G. Scoles and B. Rossnagel (Eds.), Proceedings of the V International Oat Conference and VII International Barley Genetics Symposium*, pp. 82-90, University of Saskatchewan, Extension Press.
- Campbell, L.D. (1996). Barley and oat improvement for non-ruminants. *In: G. Scoles and B. Rossnagel (Eds.), Proceedings of the V International Oat Conference and VII International Barley Genetics Symposium*, pp. 91-96, University of Saskatchewan, Extension Press.
- Duncan, R.W., Males, J.R., Nelson, M.L., Martin, E.L. (1991): Corn and barley mixtures in finishing steer diets containing potatoe processing residue. *Journal of Production Agriculture* 4: 426-432.
- Han, F., Ullrich, S.E. (1994): Mapping of quantitative trait loci associated with malting quality in barley. *Barley Genetics Newsletter* 23: 84-97.
- Han, M.S., Froseth, J.A. (1992): Composition of pearling fractions of barley with normal and waxy starch. *Proceedings Western Section American Society of Animal Science* 43: 155-158.
- Han, F., Ullrich, S.E., Chirat, S., Menteur, S., Jestin, L., Sarrafi, A., Hazes, P.H., Jones, B.L., Blake, T.K., Wesenberg, D.M., Kleinhofs, A., Kilian, A. (1995): Mapping of β -glucans content and β -glucanase activity loci in barley grain and malt. *Theoretical and Applied Genetics* 91: 921-927.
- Hayes, P.M., Liu, B.H., Knapp, S.J., Chen, F., Jones, B., Blake, T., Franckowiak, J., Rasmusson, D., Sorells, M., Ullrich, S.E. (1993): Quantitative trait locus effect and environmental interaction in a sample of North American barley germplasm. *Theoretical and Applied Genetics* 87: 392-401.
- Hayes, P.M., Corey, A.E., Dovel, R., Karow, R., Mundt, C., Rhinart, K., Vivar, H. (2000): Registration of Orca barley. *Crop Science* 40: 849.

- Kleinhofs, A. (1999): Barley genom mapping: Where are we and where are we going. In: Proceedings of the 32nd Barley Improvement Conference, pp. 1-4. Milwaukee, WI, American Malting Barley Association.
- Muir, C.E., Nilan, R.A., Ullrich, S.E., Forseth, J.A., Miller, B.C. (1992): Registration of Crest barley. *Crop Science* 32: 1506-1507.
- Munck, L., Karlsson, K.E., Hagberg, A., Eggum, B.O. (1970): Gene for improved nutritional value in barley seed protein. *Science* 168: 985-987.
- Newman, R.K., Newman, C.W., El-Negoumy, A.M., Aastrup, S. (1984): Nutritional quality of proanthocyanidin- free barley. *Nutritional Reports International* 30: 809-816.
- Newman, R.K., Newman, C.W., Graham, H. (1989): The hypocholesterolemic function of barley β -glucans. *Cereal Foods World* 34: 883-886.
- Newman, R.K., Newman, C.W. (1992a): Characteristics of the ideal barley for feed. In: L. Munck (Ed) *Barley Genetics VI. Proceedings of the Sixth International Barley Genetics Symposium*, pp. 925-939. Copenhagen: Muncksgaard International Publishing.
- Newman, R.K., Newman, C.W. (1992b): Nutritional aspects of barley seed structure and composition. In: P.R. Shewry, Wallingford (Ed), *Barley: Genetics, Biochemistry, Molecular Biology and Biotechnology*, pp. 351-368. UK: CAB International.
- Nilan, R.A. (1964): *The Cytology and Genetics of Barley 1951-1962*. Pullman: Washington State University Press.
- Oakenfull, D. (1996): Food applications for barley. In: G. Scoles and B. Rosnagel (Eds.), *Proceedings of the V International Oat Conference and VII International Barley Genetics Symposium*, pp. 50-57, University of Saskatchewan, Extension Press.
- Owen, B.D., Sosulski, F., Wu, K.K., Farmer, J.J. (1977): Variation in mineral content in Saskatchewan feed grains. *Canadian Journal of Animal Science* 57: 679-687.
- Perrson, G., Karlsson, K.K. (1977): Progress in breeding for improved nutritive value in barley. *Cereal Research Communication* 5: 169-178.
- Powell, W., Ellins, R.P., Thomas, W.T.B. (1990): The effects of major genes on quantitatively varying characters in barley. III. The 2 row and 6 row locus (V-v). *Heredity* 65: 259-264.
- Price, P.B., Parsons, J. (1979): Distributions of lipids in embryonic axis, bran-endosperm, and full fractions of hullless barley and hullless oat grain. *Agriculture and Food Chemistry* 27: 813-815.
- Raboy, V., Gerbasi, P. (1996): Genetic of myo-inositol phosphate synthesis and accumulation. In: B.B. Biswas (Ed) *Myoinositol, Phosphates, Phosphoinositides, and Signal Transduction*, pp. 257-285. New York, Plenum.
- S gaard, B., von Wettstein-Knowles, P. (1987): *Barley: Genes and chromosomes*. Carlsberg Research Communications 52: 123-196.
- Torp, J., Doll, H., Haahr, V. (1981): Genotype and environmental influence upon the nutritional composition of barley grain. *Euphytica* 30: 319-728.

- Ullrich, S.E. (1997): Barley improvement: An evolutionary perspective. *In*: M.S. Kang (Ed) Crop Improvement for the 21st Century, pp. 165-192. Trivandrum, India: Research Signpost.
- Wettstein, D., von Nilan, R.A., Ahrenst-Larsen, B., Erdal, K., Ingversen, J., Jende-Stride, B., Nyegaard Kristiansen, K., Larsen, J., Outtrup, H., Ullrich, S.E. (1985): Proanthocyanidin-free barley for brewing: Progress in breeding for high yield and research tool in polyphenol chemistry. Technical Quarterly of the Master Brewes Association of the Americas 22: 41-52.

GENETICS AND BREEDING FOR CHARACTERS DETERMINING QUALITY IN FODDER BARLEY

Pržulj, N., Momčilović, Vojislava

Institute of Field and Vegetable Crops, Novi Sad

SUMMARY

Of the total barley production in the world, 67% are used for animal feed, 28% for malting and 5% for food. Regardless of its larger economic importance, fodder barley has been studied less extensively than malting barley. The physical properties of grain, such as test weight and grain size, have been predominant quality criteria. The use of chemical composition of grain has been limited mostly to the final stages of breeding. Direct indicators of quality of fodder barley, such as energy level, amino acid composition and digestibility, have been used sparingly in barley breeding, mostly because of a lack of adequate experimental techniques. Determination of genes controlling the nutritive value of fodder barley would open new avenues for advances in barley breeding. Genetic transformations of barley have been tried on a limited scale and without much success. Development of new technologies of breeding and quality testing is bound to intensify the breeding work on fodder barley.

KEY WORDS: barley (*Hordeum vulgare* L.), physical properties of grain, chemical properties of grain, genetic base, breeding