

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Institut Ruđer Bošković u Zagrebu
Sveučilište u Dubrovniku
Sveučilišni poslijediplomski interdisciplinarni doktorski studij
Molekularne bioznanosti

Marija Viljevac

**GENETSKA VARIJABILNOST VIŠNJE (*Prunus cerasus* L.)
I FOTOSINTETSKA UČINKOVITOST U UVJETIMA SUŠE**

Doktorski rad predložen
Sveučilišnom Vijeću za poslijediplomske interdisciplinarne
doktorske studije zbog stjecanja akademskog stupnja
doktora molekularnih bioznanosti – modul biologija biljaka

Osijek, 2012.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Institut Ruđer Bošković, Zagreb
Sveučilište u Dubrovniku
Sveučilišni poslijediplomski interdisciplinarni
doktorski studij Molekularne bioznanosti

Doktorski rad

Znanstveno područje: Interdisciplinarna područja znanosti
Znanstveno polje: Biologija, Znanstveno polje: Poljoprivreda (agronomija)

GENETSKA VARIJABILNOST VIŠNJE (*Prunus cerasus* L.) I FOTOSINTETSKA UČINKOVITOST U UVJETIMA SUŠE

Marija Viljevac

Rad je izrađen u Agrokemijskom laboratoriju i Laboratoriju za kulturu tkiva Poljoprivrednog instituta Osijek

Mentori: Prof.dr.sc. Hrvoje Lepeduš, znanstveni savjetnik
Dr.sc. Zorica Jurković, znanstvena savjetnica

Kratki sažetak Dokorskog rada:

Višnja je u Hrvatskoj značajno zastupljena u plantažnom uzgoju. U postojećim nasadima prevladava sorta Oblačinska unutar koje je uočena fenotipska heterogenost. U ovom radu istražena je genetska varijabilnost ukupno 22 genotipa višnje, i to sorti Oblačinska, Maraska, Cigančica te standardnih sorti Kelleris 14, Kelleris 16, Kereška, Rexelle i Heimann konzervna. Korištena su dva tipa molekularnih biljega: mikrosatelitski biljezi (SSR) s ciljem identifikacije sorti i AFLP biljezi s ciljem identifikacije genotipova unutar sorte. Upotrebom 12 SSR biljega utvrđena je mala genetska udaljenost između sorti Maraska i Oblačinska dok je sorta Cigančica u vrlo bliskom srodstvu sa sortom Oblačinska. Sorte Oblačinska, Cigančica i Maraska genetički su okarakterizirane u odnosu na standardne sorte. AFLP biljezima nije potvrđena značajna varijabilnost genotipova unutar sorte Oblačinska koja je dokazana na morfološkoj, pomološkoj i kemijskoj razini. Uočena je značajna korelacija između SSR i AFLP biljega u određivanju genetske varijabilnosti višnje.

Identifikacijom sorti višanja tolerantnih na sušu omogućit će se održivost proizvodnje voća s obzirom na predviđene klimatske promjene u budućnosti. U tu svrhu ispitivana je tolerancija na sušu sedam odabranih genotipova višnje (Kelleris 16, Maraska, Cigančica i Oblačinska zastupljena sa 4 genotipa: OS, 18, D6 i BOR) kako bi se izdvojili genotipovi sa željenim svojstvima. U plasteničkom pokusu, biljke višnje bile su izložene stresu uzrokovanom sušom. Relativni sadržaj vode u listu, parametri OJIP testa koji opisuju učinkovitost fotosintetskog sustava na osnovi mjerenja fluorescencije klorofila *a* te koncentracija fotosintetskih pigmenta mjereni su tijekom pokusa kao biljezi kojima se uspješno može utvrditi tolerancija genotipova na sušu. Indeks fotosintetske učinkovitosti (PI_{ABS}) obuhvaća tri ključna događaja u reakcijskom središtu fotosustava II o kojima ovisi fotosintetska aktivnost: apsorpciju energije, hvatanje ekscitona i pretvorbu ekscitacijske energije uslijed odvajanja naboja što pokreće elektronski transport. Uslijed nedostatka vode, vrijednosti PI_{ABS} , relativnog sadržaja vode u listu i sadržaja fotosintetskih pigmenta su se uglavnom smanjivale ovisno o genotipu. Prema izmjerenim parametrima sorta Oblačinska, uključujući sva 4 ispitana genotipa među kojima se OS istakao kao najtolerantniji genotip, pokazala je veću toleranciju na sušu u odnosu na sorte Maraska, Cigančica i Kelleris 16.

Broj stranica: 149

Broj slika: 28

Broj tablica: 46

Broj literaturnih navoda: 183

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: fluorescencija klorofila *a*, fotosintetski pigmenti, genetska varijabilnost, molekularni biljezi, OJIP test, relativni sadržaj vode u listu, tolerancija na sušu, višnja

Datum obrane: 03. srpnja 2012.

Stručno povjerenstvo za obranu:

- 1.
- 2.
- 3.

Rad je pohranjen u:

Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, Hrvatske bratske zajednice bb. i Sveučilištu u Osijeku, Trg Sv. Trojstva 3.

BASIC DOCUMENTATION CARD

University Josip Juraj Strossmayer Osijek
Institute Ruder Bošković, Zagreb
University of Dubrovnik
University Postgraduate Interdisciplinary Doctoral Study
Molecular biosciences

PhD thesis

Scientific Area: Interdisciplinary Area of Science
Scientific Field: Biology, Scientific field: Agriculture

SOUR CHERRY (*Prunus cerasus* L.) GENETIC VARIABILITY AND PHOTOSYNTHETIC EFFICIENCY DURING DROUGHT

Marija Viljevac

Thesis performed at Agrochemical Laboratory and Tissue culture laboratory of Agrochemical Institute Osijek
Supervisors: Hrvoje Lepeduš, PhD, Scientific advisor, Professor
Zorica Jurković, PhD, Scientific advisor

Short abstract:

Sour cherry is important fruit in Croatian orchards. Cultivar Oblačinska is predominant in existing orchards with noted intracultivar phenotypic heterogeneity. In this study, the genetic variability of 22 genotypes of cvs. Oblačinska, Maraska and Cigančica, as well as standard cvs. Kelleris 14, Kelleris 16, Kereška, Rexelle and Heimann conserved was investigated. Two types of molecular markers were used: microsatellite markers (SSR) in order to identify intercultivar, and AFLP in order to identify intracultivar variabilities. A set of 12 SSR markers revealed small genetic distance between cvs. Maraska and Oblačinska while cv. Cigančica is affined to cv. Oblačinska. Furthermore, cvs. Oblačinska, Cigančica and Maraska were characterized in comparison to standard ones. AFLP markers didn't confirm significant intracultivar variability of cv. Oblačinska although variability has been approved on the morphological, chemical and pomological level. Significant correlation between SSR and AFLP markers was found.

Identification of sour cherry cultivars tolerant to drought will enable the sustainability of fruit production with respect to the climate change in the future. For this purpose, the tolerance of seven sour cherry genotypes (cvs. Kelleris 16, Maraska, Cigančica and Oblačinska represented by 4 genotypes: OS, 18, D6 and BOR) to drought conditions was tested in order to isolate genotypes with the desired properties. In the greenhouse experiment, cherry plants were exposed to drought stress. The leaf relative water content, OJIP test parameters which specify efficiency of the photosynthetic system based on measurements of chlorophyll *a* fluorescence, and concentrations of photosynthetic pigments during the experiment were measured as markers of drought tolerance. Photosynthetic performance index (PI_{ABS}) comprise three key events in the reaction center of photosystem II affecting the photosynthetic activity: the absorption of energy, trapping excitons and the conversion of excitation energy due to charge separation that drives electron transport. Water deficiency generally caused certain decrease of PI_{ABS}, leaf relative water content, and photosynthetic pigments content depending of genotype. Accordingly, cv. Oblačinska, including all investigated genotypes with particular respect to OS, was proved to be the most tolerant one to drought stress in comparison to the cvs. Maraska, Cigančica and Kelleris 16.

Number of pages: 149

Number of figures: 28

Number of tables: 46

Number of references: 183

Original in: Croatian

Key words: chlorophyll *a* fluorescence, drought tolerance, genetic variability, leaf relative water content, molecular markers, OJIP test, photosynthetic pigments, sour cherry

Date of the thesis defense: 03. July 2012.

Reviewers:

- 1.
- 2.
- 3.

Thesis deposited in:

National and University Library, Hrvatske bratske zajednice bb. and University of Osijek, Trg Sv. Trojstva 3.

Doktorski rad je izrađen u Agrokemijskom laboratoriju i Laboratoriju za kulturu tkiva Poljoprivrednog instituta Osijek u sklopu znanstvenog projekta Ministarstva znanosti, obrazovanja i športa Republike Hrvatske „Biotehnološke metode u identifikaciji, selekciji i razmnožavanju voćaka“ (073-1781844-1930) kojega je voditeljica dr. sc. Zorica Jurković.

SADRŽAJ

1.	UVOD	1
2.	LITERATURNI PREGLED	3
2.1.	GENETSKA VARIJABILNOST VIŠNJE I RODA <i>PRUNUS</i>	3
2.1.1.	Genom višnje	3
2.1.2.	Genetski biljezi	3
2.1.3.	Genetske mape roda <i>Prunus</i> i višnje (<i>Prunus cerasus</i> L.)	10
2.2.	FOTOSINTETSKA UČINKOVITOST U UVJETIMA SUŠE	11
2.2.1.	Suša	11
2.2.2.	Relativni sadržaj vode u listu (RWC)	11
2.2.3.	Fotosinteza u uvjetima suše	12
2.2.4.	Fotosinteza kod vrsta roda <i>Prunus</i>	12
2.2.5.	Fluorescencija klorofila <i>a</i>	13
2.2.6.	Mjerenje fluorescencije klorofila <i>a</i>	14
2.2.7.	Primjena fluorescencije klorofila u istraživanjima	16
2.2.8.	Primjena fluorescencije klorofila u istraživanju stresa uzrokovanog sušom	17
2.2.9.	Sadržaj fotosintetskih pigmenata u uvjetima suše	18
3.	CILJEVI ISTRAŽIVANJA I HIPOTEZA	20
3.1.	Ciljevi istraživanja	20
3.2.	Hipoteza	20
4.	MATERIJAL I METODE	21
4.1.	ISTRAŽIVANJA GENETSKE VARIJABILNOSTI NA RAZINI DNA	21
4.1.1.	Biljni materijal	21
4.1.3.	Izolacija genomske DNA	22
4.1.4.	Provjera kvalitete i kvantitete izolirane DNA	23
4.1.5.	Mikrosatelitski biljezi (SSR)	24
4.1.6.	Elektroforeza PCR-produkata mikrosatelitskih biljega	25
4.1.7.	AFLP biljezi	26
4.1.8.	Elektroforeza PCR-produkata AFLP biljega	29
4.2.	ISTRAŽIVANJE FOTOSINTETSKE UČINKOVITOSTI U UVJETIMA SUŠE	31
4.2.1.	Biljni materijal	31
4.2.2.	Mikropropagacija biljnog materijala	31
4.2.3.	Pokus u plasteniku	33
4.2.4.	Određivanje relativnog sadržaja vode u listu (RWC)	34
4.2.5.	Mjerenje polifaznog rasta fluorescencije klorofila <i>a</i> i OJIP test	34
4.2.6.	Spektrofotometrijsko određivanje koncentracije fotosintetskih pigmenata	37
4.3.	STATISTIČKA OBRADA	38
4.3.1.	Statistička obrada molekularnih biljega	38
4.3.2.	Statistička obrada fizioloških podataka	38

5.	REZULTATI ISTRAŽIVANJA	41
5.1.	GENETSKA VARIJABILNOST VIŠNJE NA RAZINI DNA	41
5.1.1.	Genetska varijabilnost procijenjena mikrosatelitskim biljezima	41
5.1.2.	Genetska varijabilnost procijenjena AFLP biljezima	43
5.1.3.	Usporedba rezultata mikrosatelitskih i AFLP biljega	45
5.1.4.	Genetska varijabilnost sedam genotipova višnje u istraživanju fotosintetske učinkovitosti u uvjetima suše	47
5.2.	FOTOSINTETSKA UČINKOVITOST U UVJETIMA SUŠE	48
5.2.1.	Relativni sadržaj vode u listu (RWC)	50
5.2.2.	Maksimalni prinos kvanta PSII ($F_v/F_m = TR_0/ABS$)	52
5.2.3.	Indeks fotosintetske učinkovitosti (PI_{ABS})	54
5.2.4.	Omjer koncentracije klorofila reakcijskih središta i koncentracije antena klorofila (RC/ABS)	57
5.2.5.	Omjer hvatanja ekscitona i disipacije energije (TR_0/DI_0)	59
5.2.6.	Transport elektrona dalje od primarnog akceptora Q_A ($ET_0/(TR_0-ET_0)$)	62
5.2.7.	Gustoća aktivnih reakcijskih središta (RC/CS_0)	64
5.2.8.	Apsorpcija po aktivnom reakcijskom središtu (ABS/RC)	67
5.2.9.	Hvatanje ekscitona po aktivnom reakcijskom središtu (TR_0/RC)	70
5.2.10.	Elektronski transport po aktivnom reakcijskom središtu (ET_0/RC)	72
5.2.11.	Disipacija po aktivnom reakcijskom središtu (DI_0/RC)	75
5.2.12.	Koeficijenti korelacije relativnog sadržaja vode u listu (RWC) s uvenućem biljaka, maksimalnim prinosom kvanta PSII i indeksom fotosintetske učinkovitosti	78
5.2.13.	OJIP porast fluorescencije klorofila <i>a</i> u genotipovima KEL 16 i OS	79
5.2.14.	Ostali parametri OJIP porasta fluorescencije klorofila <i>a</i> u genotipovima KEL 16 i OS	81
5.2.15.	Koncentracije fotosintetskih pigmenata	85
5.2.15.1.	Klorofil <i>a</i>	85
5.2.15.2.	Klorofil <i>b</i>	86
5.2.15.3.	Ukupni klorofil (<i>a+b</i>)	87
5.2.15.4.	Omjer klorofil <i>a</i> / klorofil <i>b</i>	89
6.	RASPRAVA	91
6.1.	GENETSKA VARIJABILNOST VIŠNJE	91
6.2.	FOTOSINTETSKA UČINKOVITOST U UVJETIMA SUŠE	96
7.	ZAKLJUČAK	106
8.	LITERATURA	108
9.	SAŽETAK	124
10.	SUMMARY	125
11.	PRILOZI	126
12.	ŽIVOTOPIS	150

POPIS KRATICA

ABS	engl. <u>A</u> bsorption - apsorpcija
ABS/RC	apsorpcija po aktivnom reakcijskom središtu
AFLP	engl. <u>A</u> mplified <u>F</u> ragment <u>L</u> enght <u>P</u> olymorphism - polimorfizam duljine umnoženih ulomaka
AMOVA	engl. <u>A</u> nalysis of <u>M</u> olecular <u>V</u> ariance - analiza molekularne varijance
ANOVA	engl. <u>A</u> nalysis <u>O</u> f <u>V</u> ariance - analiza varijance
ATP	adenozin-5'-trifosfat
BAP	benzilaminopurin
BSA	engl. <u>B</u> ovine <u>S</u> erum <u>A</u> lbumine - goveđi serum - albumin
cDNA	engl. <u>C</u> omplementary DNA - komplementarna DNA
cM	centiMorgan
CS	engl. <u>e</u> xcited <u>C</u> ross <u>S</u> ection - ekscitirana površina
CTAB	cetiltrimetilamonijev bromid
Cy5	cianin5
dATP	deoksiadenozin-5'-trifosfat
dCTP	deoksicitidin-5'-trifosfat
dGTP	deoksigvanozin-5'-trifosfat
dNTP	deoksinukleotid trifosfat
dTTP	deoksitimidin-5'-trifosfat
DFI	engl. <u>D</u> rought <u>F</u> actor <u>I</u> ndex - indeks suše
DI	engl. <u>D</u> issipation - disipacija
DI ₀ /RC	disipacija po aktivnom reakcijskom središtu
DNA	deoksiribonukleinska kiselina
DTT	ditiotreitol
ET	engl. <u>E</u> lectron <u>T</u> ransport - elektronski transport
ET ₀ /RC	elektronski transport po aktivnom reakcijskom središtu
ET ₀ /(TR ₀ -ET ₀)	transport elektrona dalje od primarnog akceptora Q _A
F _m	maksimalni intenzitet fluorescencije
F ₀	intenzitet fluorescencije nakon 50 μs
F _v	varijabilna fluorescencija
F _v /F _m	maksimalni prinos kvanta PSII
GA ₃	giberelinska kiselina
H _e	genska različitost
IBA	indol-3-maslačna kiselina
ISSR	engl. <u>I</u> nter- <u>S</u> imple <u>S</u> equence <u>R</u> epeats - umnažanje između ponavljajućih jednostavnih sekvenci
LHC	engl. <u>L</u> ight- <u>H</u> arvesting <u>C</u> omplex - kompleks koji hvata svjetlosnu energiju
LSD	engl. <u>L</u> east <u>S</u> ignificant <u>D</u> ifference - najmanja značajna razlika
N _a	ukupan broj alela
NAA	1-naftalenocetna kiselina

NADPH	nikotinamid adenin dinukleotid fosfat
Na ₂ EDTA	natrijeva sol etilendiamintetraoctene kiseline
NILs	engl. <u>N</u> ear- <u>I</u> sogenic <u>L</u> ines - bliske izogene linije
N _p	broj polimorfni ulomaka
OEC	engl. <u>O</u> xygen <u>E</u> volving <u>C</u> omplex - kompleks koji ekstrahira kisik iz vode
OJIP	porast fluorescencije od O do J faze
PCR	engl. <u>P</u> olymerase <u>C</u> hain <u>R</u> eaction - lančana reakcija polimerazom
PEA	engl. <u>P</u> lant <u>E</u> fficiency <u>A</u> nalyzer - analizator učinkovitosti fotosinteze
PI _{ABS}	engl. <u>P</u> erformance <u>I</u> ndex - indeks fotosintetske učinkovitosti
PIC	engl. <u>P</u> olymorphism <u>I</u> nformation <u>C</u> ontent - informacijski sadržaj polimorfizma
PPFD	engl. <u>P</u> hotosynthetic <u>P</u> hoton <u>F</u> lux <u>D</u> ensity - gustoća fluksa fotona
PS II	engl. <u>P</u> hotosystem <u>I</u> I - fotosustav II
Q _A	vezani plastokinon
Q _B	slabo vezani (mobilni) plastokinon
QTL	engl. <u>Q</u> uantitative <u>T</u> rait <u>L</u> ocus - lokusi kvantitativnih svojstava
RAPD	engl. <u>R</u> andom <u>A</u> mplified <u>P</u> olymorphic <u>D</u> NA - nasumično umnožena polimorfna DNA
RC	engl. <u>R</u> eaction <u>C</u> enter - reakcijsko središte
RC/ABS	omjer koncentracije klorofila reakcijskih središta i koncentracije antena klorofila
RC/CS ₀	gustoća aktivnih reakcijskih središta
RFLP	engl. <u>R</u> estriction <u>F</u> ragment <u>L</u> enght <u>P</u> olymorphism - polimorfizam duljine restrikcijskih ulomaka
RNAza	enzim koji razgrađuje ribonukleinske kiseline
ROS	engl. <u>R</u> eactive <u>O</u> xygen <u>S</u> pecies - reaktivne kisikove jedinke
RuBP	ribuloza-bisfosfat
RWC	engl. <u>R</u> elative <u>W</u> ater <u>C</u> ontent - relativni sadržaj vode
SFI	engl. <u>S</u> tructure- <u>F</u> unction- <u>I</u> ndex - indeks fotosintetske učinkovitosti
SSR	engl. <u>S</u> imple <u>S</u> equences <u>R</u> epeats - ponavljajuće jednostavne sekvence
Taq	Termus aquaticus
TBE	<u>T</u> ris - <u>B</u> orna kiselina - <u>E</u> DTA
TE	<u>T</u> ris - <u>E</u> DTA
TR	engl. <u>T</u> rapping - hvatanje ekscitona
TR ₀ /DI ₀	omjer hvatanja ekscitona i disipacije energije
TR ₀ /RC	hvatanje ekscitona po aktivnom reakcijskom središtu
Tris	tris(hidroksimetil)aminometan
UPGMA	engl. <u>U</u> nweighted <u>P</u> air <u>G</u> roup <u>M</u> ethod with <u>A</u> rithmetic <u>M</u> ean - neponderirana metoda za sparivanje skupina na temelju prosječnih vrijednosti
W _K	omjer varijabilne fluorescence na K stupnju i amplitude intenziteta fluorescencije J i O stupnja
λ DNA	deoksiribonukleinska kiselina lambda faga

1. UVOD

Višnja (*Prunus cerasus* L.) je značajno zastupljena u plantažnom uzgoju u Hrvatskoj i to na 2400 ha u 2010. godini (FAOSTAT). Sorta Oblačinska ima veliki udio u nasadima zbog rane i dobre rodnosti. Unutar populacije Oblačinske višnje uočene su fenološke, pomološke i kemijske varijabilnosti (Puškar 2005). Stoga je potrebno provesti klonsku selekciju kako bi se izdvojili i okarakterizirali genotipovi dobrih agronomskih svojstava s ciljem stvaranja sadnica koje će osiguravati ujednačenost i kakvoću ploda za podizanje kvalitetnih proizvodnih nasada višnje.

Osim sustavnog bilježenja fenoloških različitosti te analize pomoloških i kemijskih svojstava pojedinih genotipova, koje mogu biti promijenjene pod utjecajem agroekoloških čimbenika, potrebno je provesti analize na razini genoma tj. DNA. Dosada su u proučavanju varijabilnosti korišteni različiti molekularni biljezi. Među mnogim molekularnim biljezima kao što su izoenzimski biljezi ili biljezi na razini DNA (RAPD, RFLP i drugi), mikrosatelitski biljezi su se pokazali kao pouzdana metoda za određivanje genetske varijabilnosti sorata kod većine vrsti roda *Prunus* (Dirlewanger i sur. 2002; Hormaza 2002; Pedersen 2006).

Unutarsortna varijabilnost Oblačinske višnje je posljedica nakupljanja mutacija zbog vegetativnog razmnožavanja tijekom godina, ali i razmnožavanja izdancima koji su generativno potomstvo nastalo iz sjemena otpalih plodova (Mišić 1989). Promjene u genomu nastale na ovaj način su male pa je za otkrivanje polimorfizama potrebno odabrati visokoinformativne sustave biljega. Polimorfizam duljine umnoženih ulomaka (AFLP) je dobra metoda za proučavanje unutarsortnih varijabilnosti gdje je varijabilnost mala jer ovom metodom se umnaža mnoštvo lokusa razasutih po cijelom genomu i velika je mogućnost pronalaženja polimorfničkih lokusa (Meudt i Clarke 2007). Ovaj sustav biljega je uspješno korišten u analizama genetske varijabilnosti unutar roda *Prunus* (Aradhya i sur. 2004), populacija kajsije (Krichen i sur. 2010), šljive (Ayanoğlu i sur. 2007) te trešnje i višnje (Tavaud i sur. 2004).

S obzirom na predviđene klimatske promjene u budućnosti, sušni periodi će znatno utjecati na prinos i kvalitetu voća, ali i ostalih kultura. Stoga će se identifikacijom podloga i sorti voćaka

tolerantnih na sušu omogućiti održivost proizvodnje voća (Baker i Rosenqvist 2004; Cochard i sur. 2008).

Stres uzrokovan sušom karakterizira smanjenje sadržaja vode, smanjenje vodnog potencijala lista i gubitak turgora te zatvaranje puči što u konačnici vodi do zastoja fotosinteze, poremećaja u metabolizmu te do smrti biljke (Jaleel i sur. 2009).

Učinkovitost fotosintetskog sustava u odgovoru na stresne uvjete uzrokovane sušom, istražena je na mnogim biljnim vrstama (Christen i sur. 2007; Clavel i sur. 2006). Česta metoda korištena u istraživanju fotosintetske učinkovitosti u različitim uvjetima abiotskog stresa je mjerenje fluorescencije klorofila. Porast intenziteta fluorescencije je posljedica progresivnog zatvaranja reakcijskih središta fotosustava II, što uzrokuje smanjenje učinkovitosti pretvorbe energije odnosno smanjenje učinkovitosti procesa fotosinteze (Maxwell i Johnson 2000). Na temelju podataka dobivenih mjerenjem fluorescencije klorofila izračunavaju se parametri koji opisuju učinkovitost fotosintetskog aparata. Maksimalni prinos kvanta PSII (F_v/F_m) i indeks fotosintetske učinkovitosti (PI_{ABS}) su glavni indikatori ukupne učinkovitosti fotosinteze koja se mijenja pod utjecajem stresnih čimbenika. F_v/F_m se pokazao kao slabo osjetljiv parametar u ranoj detekciji promjena koje su uzrokovane stresom dok je indeks fotosintetske učinkovitosti osjetljiv na vrlo male i rano uočljive promjene u radu fotosintetskog aparata (Strasser i sur. 2004).

Mjerenje polifaznog porasta fluorescencije klorofila praćeno OJIP-testom osim F_v/F_m i PI_{ABS} daje i informaciju o „ponašanju“ fotosintetskog aparata pomoću parametara koji opisuju apsorpciju fotona, hvatanje ekscitona, elektronski transport i disipaciju energije kako u stresnim tako i u optimalnim uvjetima za biljku (Strasser i sur. 2004). Stoga su promjene fotosintetske aktivnosti praćene mjerenjem fluorescencije klorofila dobro oruđe za selekciju genotipova tolerantnih na sušu.

2. LITERATURNI PREGLED

2.1. GENETSKA VARIJABILNOST VIŠNJE I RODA *PRUNUS*

2.1.1. Genom višnje

Prema najčešće prihvaćanoj sistematici (Rehder 1947), višnja se, (*Prunus cerasus* L.), zajedno sa trešnjom (*Prunus avium* L.) i stepskom višnjom (*Prunus fruticosa* Pall.), na temelju morfologije svrstava u porodicu *Rosaceae*, potporodicu *Prunoideae*, rod *Prunus*, podrod *Cerasus* i odjeljak *Eucerasus*. Trešnja je diploid ($AA, 2n = 2x = 16$), a stepska višnja autotetraploid ($FFFF, 2n = 4x = 32$). Višnja je alotetraploid ($A AFF, 2n = 4x = 32$) nastao prirodnom interspecijskom hibridizacijom nereducirane gamete *P. avium* (AA) i gamete *P. fruticosa* (FF) (Olden i Nybom 1968). Olden i Nybom su do toga zaključka došli proučavajući umjetne hibride *P. avium* i *P. fruticosa* koji su bili slični višnji morfološki, ali i na temelju kemijskih analiza. Hibridno porijeklo višnje kasnije je potvrđeno izoenzimskim i kariotipskim analizama. Genom višnje se sastoji od 599 Mpb što ga svrstava u biljne genome srednje veličine.

2.1.2. Genetski biljezi

Prema dostupnoj literaturi, relativno je malo radova koji govore o analizi strukture genoma višnje genetskim biljezima. Kao i na mnogim drugim biljnim vrstama, istraživanje genetske varijabilnosti na molekularnoj razini kod vrsta roda *Prunus* započeto je izoenzimskim biljezima 1990-tih godina.

Izoenzimi su različiti molekularni oblici istog enzima koji djeluju na isti supstrat, a kodirani su genima na različitim genskim lokusima, dok su aloenzimi molekularne inačice istog izoenzima kodirane različitim alelima istog gena (Murphy i sur. 1996). Zbog različitog aminokiselinskog sastava izoenzimi, odnosno aloenzimi se razlikuju po električnom naboju što omogućuje identificiranje polimorfizama (Šatović 1999). Beaver i sur. (1995) su analizirali 36 genotipova trešnje, višnje i stepske višnje (*Prunus fruticosa* L.) pomoću 7 izoenzimskih sustava i detektirali polimorfizme među njima, kao i razlike između diploidnih i tetraploidnih genotipova s naglaskom na heterozigotnost koja je veća kod poliploida.

Bošković i Tobutt (1998) su analizirali 14 kultivara trešnje pomoću 19 enzimskih sustava od kojih je polimorfizam zabilježen kod samo 4 od 15 dobivenih lokusa. Slične rezultate su dobili Agarwal i sur. (2001) analizirajući 12 sorata breskve. Polimorfizam je zabilježen samo na 6 od 15 proučavanih lokusa dok su Čolić i sur. (2010) pomoću 10 izoenzimskih sustava zabilježili polimorfizme kojima je identificirano 20 genotipova badema. Velik polimorfizam zabilježen je kod stranooplodnih vrsta (badem) dok je kod djelomično samooplodnih i samooplodnih vrsta polimorfizam manji (breskva, trešnja, višnja). Unatoč tome što su izoenzimski biljezi tehnika koja je relativno jeftina i ponovljiva, zbog ograničenog broja lokusa koji se mogu analizirati i slabe polimorfnosti na lokusima kod višnje i trešnje, danas se slabo koriste.

Izoenzimske biljege danas su zamijenili sustavi genetskih biljega na razini DNA. Genetski biljeg je bilo koji ulomak DNA koji pokazuje neki oblik uočljivog polimorfizma između analiziranih jedinki. Razvoj molekularne biologije, odnosno otkriće i primjena restrikcijskih enzima, lančane reakcije polimerazom (PCR – engl. *Polymerase Chain Reaction*) i određivanja slijeda nukleotida u molekuli DNA tzv. sekvenciranje doveli su do razvoja velikog broja različitih sustava biljega (Šatović 1999).

Među prvim razvijenim metodama biljega na razini DNA je polimorfizam duljine restrikcijskih ulomaka (RFLP – engl. *Restriction Fragment Length Polymorphism*). Ova metoda se bazira na otkrivanju polimorfizama koji su posljedica postojanja ili nepostojanja nekog restrikcijskog mjesta, a sastoji se od više koraka: cijepanje genomske DNA restrikcijskim enzimima, razdvajanje nastalih ulomaka elektroforezom, prijenos ulomaka s gela na membranu te hibridizacija restrikcijskih ulomaka specifičnim sondama (Beckmann i Soller 1983). Ograničenje ove metode je što zahtjeva specifične sonde koje se za svaku vrstu moraju izolirati ili iz genomskih knjižnica (nasumične sonde) ili iz cDNA (engl. *Complementary DNA*) knjižnica (sonde funkcionalnih gena), a mogu se koristiti samo za srodne vrste. RFLP je s drugim sustavima biljega korišten za stvaranje prvih genetskih mapa genoma breskve (Dirlewanger i sur. 1998; Rajapakse i sur. 1995), kajsije (de Vicente i sur. 1998), badema (Viruel i sur. 1995), ali i višnje (Wang i sur. 1998).

Sličan sustav biljega primjenili su Mohanty i sur. (2001) za filogenetsku analizu europskih populacija trešnje. Koristili su tzv. PCR-RFLP kojim se pomoću univerzalnih početnica

umnaža određena regija kloroplastne DNA, a onda se dobiveni ulomci cijepaju restrikcijским enzimima. Na taj način su pronašli varijabilnost kloroplastne DNA koja je strogo konzervativna, a ustanovljeni polimorfizmi su nastali točkastim mutacijama. Korištenjem iste metode Panda i sur. (2003) nalaze varijabilnost haplotipova višnje i trešnje što pobija teoriju da je trešnja majčinska vrsta iz koje je nastala višnja spajanjem gamete trešnje i nereducirane gamete *Prunus fruticose* L.

Nasumično umnožena polimorfna DNA (RAPD – engl. Random Amplified Polymorphic DNA) je univerzalna metoda koja koristi univerzalne početnice za sve biljne vrste (Welsh i McClelland 1990). Brza je, jednostavna i jeftina metoda kojom se dobiva veliki broj polimorfni biljega, no slaba pouzdanost i ponovljivost ju čine nepopularnom. Bez obzira na te činjenice, često je korištena u analizama genetske varijabilnosti vrsta roda *Prunus* (Baránek i sur. 2006; Hend i sur. 2009; Shiran i sur. 2007). RAPD analiza na 19 sorti trešanja (Lisek i sur. 2006) dala je nizak stupanj polimorfizma (14,6%), ali dovoljan za razlikovanje svih sorti. Cai i sur. (2007) su analizirali 8 vrsta roda *Prunus*, od toga 23 sorte trešanja i 4 sorte višanja i dobili prosječnu genetsku udaljenost 0,1758 dok je genetska udaljenost između trešanja i višanja bila 0,0623.

Danas su za proučavanje genetske udaljenosti i identifikaciju sorti najčešći izbor mikrosatelitski biljezi ili ponavljajuće jednostavne sekvence (SSR – engl. Simple Sequences Repeats) ne samo kod vrsta roda *Prunus* nego i kod ostalih biljnih vrsta (Gupta i Varshney 2000). Mikrosateliti su područja DNA koja se sastoje od uzastopnih ponavljanja kratkih slijedova nukleotida (2-5) u svim eukariotskim genomima (Tautz i Renz 1984). Polimorfizam kod ovih biljega je posljedica varijacija u broju ponavljajućih motiva zbog pogreške u replikaciji kojom dolazi do gubitka ili dodatka ponavljajućeg motiva (Schlötterer i Tautz 1992), što je češći slučaj nego točkasta mutacija, stoga su ovi biljezi hipervarijabilni. Osim toga, mikrosateliti su kodominantni, učestali i raspršeni po cijelom genomu pa su stoga dobro oruđe za mapiranje genoma, proučavanja populacija i identifikacije vrsta i sorti (Morgante i Olivieri 1993). Za razliku od AFLP i RAPD biljega, mikrosateliti su specifični za vrstu ili skupinu srodnih vrsta. Ukoliko za određenu vrstu ne postoje objavljene početnice potrebno ih je razviti, što znatno poskupljuje istraživanje (Arus 2006). Specifične početnice se izoliraju iz genomskih knjižnica tako što se prvo detektiraju ulomci koji sadrže ponavljajuće sekvence, zatim se sekvenciraju ulomci koji omeđuju te sekvence i prema njima se konstruiraju

specifične početnice (Aranzana i sur. 2002; Cipriani i sur. 1999; Clarke i Tobutt 2003; Sosinski i sur. 2000).

Prema dostupnoj literaturi, do danas je najveći broj SSR biljega razvijen prema genomu breskve i to 17 UDP biljega (Cipriani i sur. 1999), 5 pchgms i 5 pchcms biljega (Sosinski i sur. 2000), 35 CPPCT biljega (Aranzana i sur. 2002), 41 BPPCT biljeg (Dirlewanger i sur. 2002) te 17 pchgms biljega (Wang i sur. 2002). Prema genomu šljive razvijeno je 35 CPSCT biljega (Mnejja i sur. 2004), prema genomu trešnje 21 EMPA biljeg (Clarke i Tobutt 2003) te 6 PMS biljega (Cantini i sur. 2001), prema genomu divlje trešnje 14 EMPaS biljega (Vaughan i Russell 2004), a prema genomu višnje 3 PceGA (Cantini i sur. 2001).

Mikrosatelitski biljezi razvijeni prema određenoj vrsti roda *Prunus* često se i uspješno primjenjuju za analizu ostalih vrsta unutar roda (Bouhadida i sur. 2009; Wünsch 2009; Zhang i sur. 2008). Dosadašnji rezultati pokazuju da mikrosatelitne početnice razvijene prema genomu breskve korištene za umnažanje DNA trešnje (Dirlewanger i sur. 2002) ili kajsije (Hormaza 2002) pokazuju 80-90% učinkovitost dok je razina polimorfizma manja od očekivane, oko 65% kod kajsije pa sve do 56% kod trešnje. Ovi podaci pokazuju da će polovica SSR biljega razvijenih za jednu vrstu roda *Prunus* detektirati polimorfizam u drugim vrstama ovoga roda.

Cantini i sur. (2001) su utvrdili genetsku različitost 59 tetraploidnih genotipova (*P. cerasus*, *P. fruticosa* i njihovih hibrida) koristeći set od 10 mikrosatelitskih biljega. Dobiveno je ukupno 107 alela (od 4 do 16 alela po lokusu) sa prosjekom od 10,7 alela po lokusu. Najinformativniji par početnica je bio PMS3 sa diskriminacijskom snagom 0,9925 i PIC vrijednošću 0,906 (razvijen iz trešnje), a najmanje informativan je bio PS08E08 (razvijen iz breskve).

Genetsku varijabilnost 38 genotipova višnje, 6 genotipova trešnje i 7 podloga analizirao je Pedersen (2005) pomoću istog seta 10 mikrosatelitskih biljega kao i Cantini i sur. (2001). Na genomima višnje umnoženo je ukupno 240 alela (od 16 do 36 alela po lokusu) sa prosjekom od 24 alela po lokusu s time da je 75% alela imalo frekvenciju $<0,05$. Najinformativniji par početnica je bio PceGA59 sa diskriminacijskom snagom 0,965 (razvijen iz višnje), a najmanje informativan je bio PS08E08 (razvijen iz breskve) u skladu s rezultatima Cantini i sur. (2001).

Kako bi uhodali rutinsku metodu za identifikaciju sorata višnje, Xuan i sur. (2009) su analizirali 30 sorti višnje pomoću seta od 15 SSR biljega. Generirano je 128 alela sa prosječnom PIC vrijednošću (informacijski sadržaj polimorfizma) od 0,803 te UCD-CH17 (PMS3) parom početnica kao najinformativnijim što je u skladu s rezultatima koje su objavili Cantini i sur. (2001). U ovom istraživanju set od 15 mikrosatelitskih početnica bio je dovoljan za razlikovanje svih 30 sorata višnje.

Puškar (2005) je proveo analizu mikrosatelitskim biljezima na 42 klonska kandidata Oblačinske višnje, 6 klonskih kandidata višnje Maraske te sortama Kelleris 14, Kelleris 16, Heimann konzervna i Rexelle pomoću 8 mikrosatelitskih biljega razvijenih prema genomu breskve. Svi klonski kandidati Oblačinske višnje imali su identičan profil na svim ispitivanim lokusima dok se Maraska od Oblačinske višnje razlikovala samo u jednom alelu na lokusu BPPCT039 i to ne kod svih istraživanih tipova Maraske što ukazuje na potrebu daljnjeg istraživanja genetske varijabilnosti među sortama, ali i unutar sorti Oblačinska i Maraska.

Kaçar i sur. (2006) su mikrosatelitskim biljezima analizirali 81 tetraploidni genotip višnje i *P. fruticosa* Pall. kako bi utvrdili genetsku udaljenost turske germplazme s germplazmom sakupljenom u Rusiji i regijama Europe. Umnažanjem sa 5 parova SSR početnica dobiveno je ukupno 63 alela i to od 5 do 20 (PMS 49) alela po lokusu. Iako analizom nisu uspjeli identificirati sve genotipove, pokazalo se da turska germplazma sadrži nove alele pa ju je potrebno uključiti u oplemenjivačke programe.

Zbog malog broja mikrosatelitskih početnica razvijenih prema genomu višnje, analize genetske varijabilnosti višnje mikrosatelitskim biljezima često su rađene početnicama dizajniranim prema genomu breskve. Antonius i sur. (2012) su analizirali 66 genotipova finske germplazme višnje na 9 mikrosatelitskih lokusa pomoću početnica razvijenih iz genoma breskve. Umnoženo je ukupno 72 alela (od 3 do 16 alela po lokusu) sa prosjekom od 8 alela po lokusu s time da je 89% alela imalo frekvenciju $>0,2$. Najinformativniji par početnica je bio BPPCT037. Uspjeli su identificirati 28 genotipova.

Unutarsortne razlike nastaju uglavnom mutacijama kao posljedica vegetativnog razmnožavanja, ali i zbog generativnog potomstva pa je za detekciju polimorfizama potrebno odabrati visokoinformativne sustave biljega. Polimorfizam duljine umnoženih ulomaka

(AFLP – engl. *Amplified Fragment Length Polymorphism*) je dobra metoda za proučavanje unutar-sortnih varijabilnosti gdje je varijabilnost mala jer ovom metodom se umnaža mnoštvo lokusa razasutih po cijelom genomu i velika je mogućnost pronalazjenja polimorfnih lokusa (Meudt i Clarke 2007). Metoda se sastoji od više koraka i to cijepanja genomske DNA restriktivnim enzimima, ligacije oligonukleotidnih adaptera, predselektivnog i selektivnog umnažanja restriktivnih ulomaka te elektroforetskog razdvajanja ulomaka (Vos i sur. 1995). Polimorfizmi koje ova metoda detektira uzrokovani su točkastim mutacijama na mjestima restrikcije ili na dodatnim nukleotidima u selektivnim početnicama ili pojavom insercija/delecija unutar restriktivnih ulomaka (Šatović 1999).

Aradhya i sur. (2004) su upotrijebili AFLP biljege za analizu genetske varijabilnosti unutar i između sedam kultiviranih i sedam divljih vrsta roda *Prunus*. Umnažanje DNA 113 genotipova sa 5 parova AFLP početnica rezultiralo je sa 199 polimorfnih ulomaka (u prosjeku 40 polimorfnih ulomaka po kombinaciji početnica). Genetska udaljenost među ispitivanim genotipovima bila je od 0,01 do 0,5 sa srednjom vrijednošću 0,17 što pokazuje na veliku sličnost između ispitivanih vrsta, ali i među sortama unutar vrste. Ovako male genetske udaljenosti su karakteristične za AFLP jer on generira visok stupanj homoplazije među udaljenim vrstama. Unutarvrstna molekularna varijacija (izačunata AMOVA-om) je pokazala da su kajsije najvarijabilnija vrsta (0,0529), slijede heksaploidne šljive (0,0359), bademi (0,0330), višnje i trešnje (0,0310), diploidne šljive (0,0303), a najmanje varijabilna vrsta su breskve (0,0263).

Geuna i sur. (2003) su pomoću 5 parova AFLP početnica analizirali 118 genotipova kajsije (porijeklom iz Azije, Europe, Amerike i Novog Zelanda) i dobili 165 polimorfnih ulomaka (48%) što je bilo dovoljno za jedinstvenu identifikaciju svih ispitivanih genotipova.

Genetska raznolikost zelenih šljiva (*Prunus cerasifera* L.) mediteranske regije Turske analizirana je AFLP biljezima (Ayanoğlu i sur. 2007). Dvadeset genotipova analizirano je sa 6 parova AFLP početnica koje su dale u prosjeku 12 polimorfnih ulomaka po paru početnica (6 - 18% polimorfizma). Koeficijenti genetske sličnosti prema Jaccardu varirali su od 0,829 do 0,985 što upućuje na relativno malu genetsku varijabilnost koja je posljedica vegetativnog razmnožavanja.

Genetsku varijabilnost 45 kultiviranih i divljih sorti badema porijeklom iz Irana, Europe i Amerike analizirali su Sorkheh i sur. (2007) sa 19 parova AFLP početnica kako bi se utvrdila genetska sličnost među njima i omogućilo uvođenje novih sorti i poboljšanje oplemenjivačkog rada na bademu. Umnoženo je 813 ulomaka od kojih je 781 bio polimorfan (96,23%). Koeficijent genetske sličnosti varirao je od 0,5 do 0,96, a PIC vrijednost od 0,56 do 0,86 što je omogućilo jedinstvenu identifikaciju svih analiziranih genotipova.

Zhou i sur. (2002) su upotrijebili set od 6 parova AFLP početnica kako bi analizirali 67 sorti i selekcija trešnje oplemenjivačkog programa Kanade. Od ukupno 625 umnoženih ulomaka 118 je bilo polimorfno i to sa prosjekom od 20 polimorfni ulomaka po paru početnica. Manje od 19% polimorfni ulomaka upućuje na nisku genetsku raznolikost među ispitivanim genotipovima. Čak 90% ulomaka je imalo veliku frekvenciju pojavljivanja u ispitivanim genotipovima pa čak i onim genotipovima s različitim porijeklom.

Tavaud i sur. (2004) su pomoću AFLP biljega proučavali genetske odnose između diploidnih i tetraploidnih gena. U ispitivanje je bilo uključeno 114 genotipova trešnje, višnje i tzv. „duke cherry“ ($P \times gondouinii$). Pomoću 4 AFLP kombinacije početnica dobili su 75 polimorfni ulomaka (prosječno 20 po paru početnica), s time da je od toga 61 ulomak (81,33%) polimorfan kod trešnje, 55 (73,33%) kod višnje i 52 (69,33%) kod $P \times gondouinii$. Pronašli su specifične alele višnje kojih nema u A genomu trešnje što znači da poječu iz F genoma, ali još treba potvrditi potječu li od *P. fruticose*. Pomoću tih specifičnih biljega moći će se utvrditi porijeklo tetraploidnih vrsta.

Za identifikaciju 24 diploidne i 4 heksaploidne sorte šljiva Goulão i sur. (2001) upotrijebili su dva sustava biljega: AFLP i ISSR (engl. *Inter-Simple Sequence Repeats*) koji istovremeno umnažaju više lokusa. Pomoću 7 parova AFLP početnica dobili su ukupno 379 ulomaka od kojih je 279 bilo polimorfno (73,6%) dok su sa 6 ISSR početnica dobili 270 ulomaka od kojih je 259 bilo polimorfno (95,9%). Dendrogrami dobiveni iz AFLP i ISSR biljega jasno odvajaju diploidne i heksaploidne vrste.

Krichen i sur. (2010) su AFLP i SSR biljezima analizirali 81 genotip tuniške germplazme kajsije. 5 AFLP i 24 SSR parova početnica umnožilo je ukupno 339 polimorfni biljega s visokim stupnjem polimorfizma što je omogućilo razlikovanje ispitivanih genotipova sa

koeficijentom učinkovitosti razlikovanja od 100% za AFLP i 97% za SSR biljege. Mantelov test baziran na genetskim udaljenostima pokazao je značajnu korelaciju između AFLP-SSR podataka ($r = 0,873$).

2.1.3. Genetske mape roda *Prunus* i višnje (*Prunus cerasus* L.)

Referentna genetska mapa za rod *Prunus* potječe iz 1998. godine (Joobeur i sur. 1998). Konstruirana je na F_2 populaciji nastaloj križanjem badema *Prunus dulcis* „Teksas“ \times breskve *Prunus persica* „Earlygold“ i nazvana je $T \times E$ mapa. Prvobitna mapa je dopunjena pa sada sadrži 562 biljega koji pokrivaju 519 cM, sa prosječnom gustoćom 0,92 cM po biljegu i najvećom prazninom od 7 cM (Dirlewanger i sur. 2004). Konstruirano je više genetskih mapa na drugim vrstama roda *Prunus* koje se mogu usporediti sa $T \times E$ mapom (Clarke i sur. 2009). Usporedba svih tih mapa pokazuje da su usidreni biljezi među različitim mapama kolinearni što ukazuje na visoku sličnost među ispitivanim genomima (Arus 2006).

Konstruiranje mape genoma višnje je složen posao budući da se radi o tetraploidnom genomu. Ipak, prva mapa je konstruirana 1998. (Wang i sur. 1998) pomoću RFLP biljega na potomstvu „Rheinische Schattenmorelle“ i „Erdi Botermo“, a na istom potomstvu dopunjena SSR-ovima (Canli 2004) i pokriva 442,4 cM.

2.2. FOTOSINTETSKA UČINKOVITOST U UVJETIMA SUŠE

2.2.1. Suša

Suša je meteorološki termin koji označava period bez značajnih padalina. Tolerancija na stres uzrokovan sušom je prisutna u gotovo svim biljkama, ali razina tolerancije varira među vrstama te čak i među sortama iste vrste (Jaleel i sur. 2009). Ovisno o intenzitetu i trajanju stresnih uvjeta, biljne vrste različito reagiraju na različitim organizacijskim razinama i u različitim razvojnim stadijima (Chaves i sur. 2002). Budući da je pomanjkanje vode danas jedan od ograničavajućih čimbenika u voćarskoj proizvodnji, važno je razviti sustave navodnjavanja na temelju direktnog odgovora biljke na pomanjkanje vode, a ne na temelju vlažnosti tla (Šircelj i sur. 2007).

Stres uzrokovan sušom je umjeren gubitak vode koji vodi do zatvaranja puči i ograničene izmjene plinova. Sušenje je veći gubitak vode koji može dovesti do značajnog poremećaja metabolizma i staničnih struktura. Ravnoteža sadržaja vode u biljci tj. stanici određena je gubitkom vode transpiracijom i apsorpcijom vode iz tla. Kada je stopa transpiracije veća od absorpcije, stanični turgor opada zajedno sa relativnim sadržajem vode, volumen stanice se smanjuje, a time raste koncentracija staničnih komponenti što dovodi do rasta osmotskog i pada vodnog potencijala (Lawlor i Cornic 2002).

Smanjenje sadržaja vode, smanjenje vodnog potencijala lista i gubitak turgora te zatvaranje puči u konačnici vode do zastoja fotosinteze, poremećaja u metabolizmu te do smrti biljke (Jaleel i sur. 2009). Razumijevanje morfološko-anatomskih i fizioloških promjena u toleranciji na stres uzrokovan pomanjkanjem vode može se koristiti kao oruđe u oplemenjivačkoj selekciji i stvaranju novih genotipova koji će biti tolerantni na takve uvjete (Ahmed i sur. 2008; Clavel i sur. 2006; Oukarroum i sur. 2007; Živčák i sur. 2008).

2.2.2. Relativni sadržaj vode u listu (RWC)

Relativni sadržaj vode u listu (engl. *Relative Water Content*) je direktno povezan sa sadržajem vode u tlu (Sarker i sur. 1999) i važan je indikator stresa uzrokovanog pomanjkanjem vode u listu (Clavel i sur. 2006). Sredinom osamdesetih godina prošloga

stoljeća, istraživanja su pokazala da je relativni sadržaj vode u listu bolji indikator vodnog statusa biljke od vodnog potencijala jer je povezan sa volumenom stanica i precizno pokazuje ravnotežu između absorbirane vode i vode utrošene transpiracijom, odnosno sadržaj vode u odnosu na maksimalni sadržaj vode u listu (Hassanzadeh i sur. 2009; Rosales-Serna i sur. 2004).

Velik je broj radova koji pokazuju da je smanjenje relativnog sadržaja vode u listu odgovor biljke na stres uzrokovan sušom kod jabuke (Jie i sur. 2010), pšenice (Khakwani i sur. 2011), soje (Lobato i sur. 2009) i drugih biljnih vrsta, a samim time i mjerilo razine stresa u biljkama. Rampino i sur. (2006) te Sánchez-Rodríguez i sur. (2010) su pokazali kako je relativni sadržaj vode u listu dobar kriterij za primarnu selekciju tolerantnih i osjetljivih genotipova pšenice, odnosno rajčice, na stres uzrokovan pomanjkanjem vode.

2.2.3. Fotosinteza u uvjetima suše

Stopa fotosinteze u listu kod viših biljaka opada smanjenjem relativnog sadržaja vode i vodnog potencijala lista (Lawlor i Cornic 2002). Dugotrajna kontroverza oko glavnog uzroka smanjenja fotosintetske učinkovitosti u uvjetima suše postoji i danas. Naime, osim puči koje kontroliraju gubitak vode u listu, na smanjenje fotosintetske učinkovitosti utječu i poremećaji metabolizma, pogotovo Kalvinovog ciklusa (Lawson i sur. 2003; Tezara i sur. 1999). Flexas i Medrano (2002) su analizirajući dostupnu literaturu na tu temu došli do slijedećih zaključaka: zatvaranje puči je najraniji odgovor na stres uzrokovan sušom i glavno ograničenje fotosinteze u uvjetima blage do umjerene suše dok pri jakoj suši progresivno smanjenje ili inhibicija metaboličkih procesa vodi do smanjenja sadržaja ribuloza-bifosfata (RuBP) što postaje glavno ograničenje fotosinteze jer na taj način je inhibirana asimilacija CO₂.

2.2.4. Fotosinteza kod vrsta roda *Prunus*

Flore i Layne (1999) su opisali učinkovitost fotosinteze u listu trešnje i višnje. Stopa fotosinteze izražena prema fiksaciji ugljika, kod trešnje je oko 17,9, a kod višnje oko 21,5 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ CO₂ iako može varirati među sortama. U usporedbi s jabukom, vinovom lozom ili grejpom, višnja ima veću stopu karboksilacije i bolji elektronski transpot. U listu višnje se zasićenje svjetlošću javlja već pri 30 - 50% potpunog osvjetljenja, a kompenzacijske točke su

pri $\approx 75 - 80 \mu\text{mol PPF}$ D (engl. *Photosynthetic Photon Flux Density*) sa fotokemijskom učinkovitosti od $0,025 - 0,028 \mu\text{mol}$ fiksiranog CO_2 po molu PPF. Utjecaj temperature na fotosintezu je paraboličan s platoom pri temperaturi između 17 i 30°C . Maksimalan temperaturni prag za vrste iz roda *Prunus* nije utvrđen.

2.2.5. Fluorescencija klorofila *a*

Proces fotosinteze započinje apsorpcijom fotona svjetlosti pomoću fotosintetskih pigmenata. Dio absorbirane svjetlosti ulazi u fotosintezu (fotokemijska pretvorba), no dio se emitira u obliku topline ili u obliku fotona crvene svjetlosti tzv. fluorescencije klorofila *a*. Ta tri procesa su kompetitivna, to jest, povećanje prinosa jednoga procesa rezultira smanjenjem prinosa druga dva procesa (Maxwell i Johnson 2000). Stoga mjerenje fluorescencije klorofila *a* daje informaciju o učinkovitosti fotokemijskih reakcija te disipaciji energije. No, od ukupne absorbirane svjetlosti, u intaktnom fotosintetskom aparatu, samo se mali dio energije (manje od 5%) emitira u obliku fluorescencije (Taiz i Ziegler 1982).

Kautsky i suradnici 1960. godine opisali su promjene u intenzitetu fluorescencije koje se događaju nakon osvjetljavanja fotosintetskog materijala prilagođenog uvjetima tame. Naime, u trenutku osvjetljenja fluorescencija naglo raste i dostiže maksimum nakon ≈ 1 s, a zatim opada sve do uspostavljanja ravnoteže u narednih nekoliko minuta (Maxwell i Johnson 2000). Ove promjene se u literaturi nazivaju: engl. „*Kautsky effect*“, „*chlorophyll fluorescence induction*“, „*fluorescence transient*“, „*Kautsky transient*“ (Papageorgiou i sur. 2007). Porast intenziteta fluorescencije posljedica je progresivnog zatvaranja reakcijskih središta fotosustava II. Naime, kada primarni akceptor elektrona plastokinon (Q_A) primi elektron, mora ga predati slijedećem nosaču (Q_B) kako bi primio slijedeći elektron. U tom periodu se za reakcijska središta kaže da su „zatvorena“, stoga postojanje određenog udjela zatvorenih reakcijskih središta, koje je pristupno u svakom trenutku, za posljedicu ima smanjenje učinkovitosti fotokemijske pretvorbe energije i odgovarajuće povećanje prinosa fluorescencije (Maxwell i Johnson 2000).

2.2.6. Mjerenje fluorescencije klorofila *a*

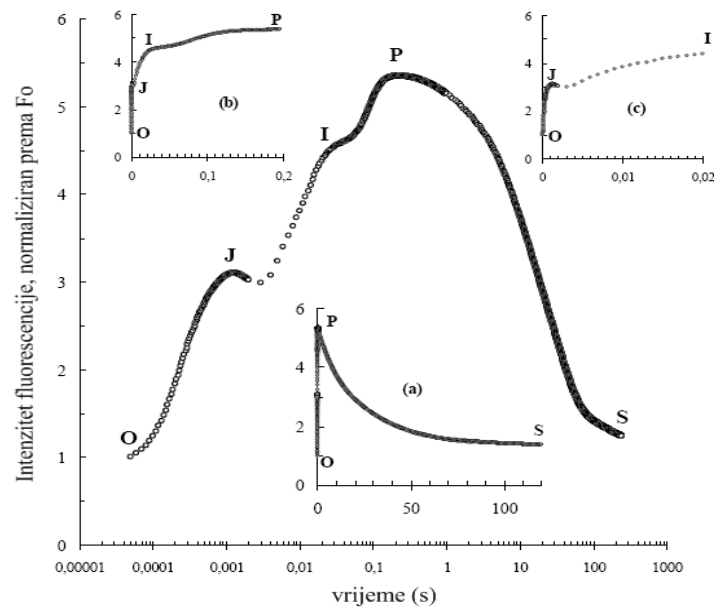
Mjerenje fluorescencije klorofila *a* je relativno jednostavno budući da je spektar fluorescencije različit od spektra apsorbirane svjetlosti (Maxwell i Johnson 2000). Naime, emitirani foton svjetlosti (fluorescencija) ima veću valnu duljinu, a time manju energiju od apsorbiranoga fotona (Voet i Voet 2004). Klorofil *a* uvijek fluorescira crveno jer se foton, neovisno o valnoj duljini apsorbiranih fotona, emitira pri prijelazu iz prvog pobuđenoga stanja u osnovno stanje (Taiz i Ziegler 1982). Najveći udio fluorescencije klorofila *a* pri sobnoj temperaturi potječe od kompleksa fotosustava II (90 %) jer kompleksi fotosustava I slabo fluoresciraju, no još nije dokazano zašto (Govindjee 2004). Budući da promjene u fluorescenciji ovise uglavnom o fotosustavu II interpretacija eksperimentalnih podataka je stoga olakšana (Schreiber i sur. 1994).

Kada je fotosintetski materijal prilagođen na uvjete tame, smatra se da su sva reakcijska središta otvorena, tj. Q_A je potpuno oksidiran i prinos fluorescencije je u tome trenutku minimalan (F_o). Ukoliko se na takav fotosintetski materijal djeluje sa saturacijskom svjetlošću, sva reakcijska središta se zatvaraju i prinos fluorescencije je maksimalan (F_m) (Strasser i sur. 2004). Razlika između maksimalnog (F_m) i minimalnog (F_o) intenziteta fluorescencije naziva se varijabilna fluorescencija (F_v). Iz podataka o maksimalnom i minimalnom intenzitetu fluorescencije može se izračunati maksimalni prinos kvanta PSII kao omjer varijabilne fluorescencije i maksimalnog intenziteta fluorescencije (F_v/F_m) (Baker i Oxborough 2004). Maksimalni prinos kvanta PSII se koristi kao indikator ukupne učinkovitosti fotosinteze i u zdravom fotosintetskom materijalu njegova vrijednost iznosi oko 0,83 neovisno o biljnoj vrsti (Maxwell i Johnson 2000; Schreiber i sur. 1994).

Iako je povezanost fluorescencije klorofila *a* sa stopom fotosinteze poznata još od otkrića Kautskyevog efekta tridesetih godina prošloga stoljeća, razvojem dovoljno preciznih rutinskih fluorometara osmadesetih godina prošloga stoljeća, počinje era istraživanja fotosintetske učinkovitosti bazirana na fluorescenciji klorofila *a* (Baker i Oxborough 2004).

Mjerenje fluorescencije klorofila zasniva se na dva različita principa. Jedan tip fluorometara mjeri fluorescenciju moduliranom svjetlošću tzv. engl. *Pulse-Amplitude-Modulation Fluorometry* (Schreiber 2004) dok drugi mjeri fluorescenciju klorofila *a* induciranu

kontinuiranom svjetlošću u periodu od 1 s tzv. „brza“ fluorescencija kojom se bilježi polifazni rast fluorescencije (Strasser i sur. 2000). Iako obje tehnike imaju svoje prednosti i nedostatke, njihovi rezultati ne bi smjeli biti kontradiktorni (Strasser i sur. 2004).



Slika 1. Tipične promjene intenziteta fluorescencije (OJIPS) nakon osvjetljavanja fotosintetskog materijala prilagođenog uvjetima tame prikazane na logaritamskoj vremenskoj skali (Strasser i sur. 2004).

Mjerenje polifaznog rasta fluorescencije se temelji na indukciji fluorescencije kratkom crvenom svjetlošću velikog intenziteta, a mjere se promjene intenziteta fluorescencije tijekom 1 s (Strasser i sur. 2004). Već je odavno poznato da se porast fluorescencije od F_0 do F_m sastoji od više stupnjeva koji se označavaju slovima abecede (Slika 1.) i to na slijedeći način: O stupanj – inicijalni stupanj koji odgovara intenzitetu fluorescencije nakon 50 μ s (F_0), J stupanj – predstavlja intenzitet fluorescencije nakon 2 ms (F_J), I stupanj – intenzitet fluorescencije nakon 30 ms (F_I) te P stupanj – maksimalni intenzitet fluorescencije (F_m) (Strasser i sur. 2004). Ovisno o jačini pobudne svjetlosti porast O-P traje manje od 1 s pa sve do maksimalno nekoliko sekundi, a nakon toga slijed smanjenje intenziteta fluorescencije (P-S) do postizanja stabilnog intenziteta fluorescencije. Porast fluorescencije O-J odgovara fotokemijskoj redukciji primarnog akceptora elektrona Q_A (Joly i Carpentier 2007), traje vrlo kratko (2ms) i označava se kao fotokemijska faza (Lazár i sur. 2005; Stirbet i Govindjee 2011). Nakon stupnja J slijedi sporija faza od stupnja J do stupnja P koja se naziva termalna faza (Lazár i sur. 2005) no još uvijek nije u potpunosti razjašnjen uzrok porasta intenziteta

fluorescencije u fazama J-I i I-P iako neki autori predlažu moguća rješenja (Boisvert i sur. 2006; Joly i Carpentier 2007; Schansker i sur. 2005).

Rezultati mjerenja polifaznog rasta fluorescencije klorofila *a* kvantificiraju se OJIP testom (Strasser i Strasser 1995). Parametri koji proizlaze iz OJIP testa (Tablica 10.) kvantificiraju protok energije kroz fotosustav II tj. apsorpciju, engl. *trapping* (hvatanje ekscitona) i elektronski transport te disipaciju energije kako kroz reakcijska središta (RC – engl. *Reaction Center*) tako i kroz ekscitirane površine (CS – engl. *excited Cross Section*) (Force i sur. 2003; Strasser i sur. 2004). Osim toga, OJIP test kvantificira kvantni prinos primarnog fotokemijskog događaja i elektronskog transporta. No, najinformativni parametar OJIP testa je indeks fotosintetske učinkovitosti – PI_{ABS} (engl. *Performance Index*) koji obuhvaća tri ključna događaja u reakcijskom središtu fotosustava II o kojima ovisi fotosintetska aktivnost: apsorpciju energije, hvatanje ekscitona i pretvorbu ekscitacijske energije uslijed odvajanja naboja što pokreće elektronski transport (Strasser i sur. 2004). Često se za indeks fotosintetske učinkovitosti koristi i naziv indeks vitalnosti (Christen i sur. 2007).

U evaluaciji funkcije fotosustava II, Force i sur. (2003) su pokazali prednost upotrebe parametara dobivenih OJIP testom, pogotovo indeksa fotosintetske učinkovitosti, nad samo jednim parametrom kao što je maksimalni prinos kvanta PSII (F_v/F_m) budući da on daje informaciju samo o primarnom fotokemijskom događaju. Prednost kompleksne analize kao što je OJIP test leži i u tome što parametri dobiveni njome, ponajviše PI_{ABS} , mogu detektirati stres u biljkama prije nego se pojave vidljivi simptomi na listovima (Christen i sur. 2007).

2.2.7. Primjena fluorescencije klorofila u istraživanjima

Osim u fundamentalnim istraživanjima fotosinteze i fotosintetskog aparata (Jurić i sur. 2009; Lepeduš i sur. 2009; Lepeduš i sur. 2010a), mjerenje fluorescencije najveću primjenu ima u istraživanjima abiotskog i biotskog stresa jer se fotosintetski organizmi prilagođavaju promjenama u okolišu mijenjajući fotosintetsku aktivnost, a time i fluorescenciju klorofila (Strasser i sur. 2000).

Mnoga istraživanja bazirana na mjerenju i analizi fluorescencije klorofila *a* dokazala su utjecaj abiotskog stresa na biljke uzrokovanog sušom (Bertamini i sur. 2007; Jaleel i sur.

2008; Mishra i sur. 2012; Shao i sur. 2010; Zlatev i Yordanov 2004), poplavom (Smethurst i sur. 2005), visokim temperaturama (Kadir i sur. 2007; Stefanov i sur. 2011), niskim temperaturama (Dai i sur. 2007; Tambussi i sur. 2004), povećanim ili smanjenim intenzitetom svjetlosti (Griffin i sur. 2004), UV zračenjem (Ranjbarfordoei i sur. 2011), solnim stresom (Ranjbarfordoei i sur. 2006), nedostatkom nutrijenata (Huang i sur. 2004; Lin i sur. 2009), djelovanjem teških metala (Appenroth i sur. 2001; Pagliano i sur. 2006), djelovanjem ozona (Clark i sur. 2000; Flowers i sur. 2007), djelovanjem različitih kemijskih tvari (Kummerová i Váňová 2007), onečišćivača zraka (Lepeduš i sur. 2005) i drugim abiotskim čimbenicima. Fluorescencija klorofila *a* koristi se i u istraživanjima biotskog stresa (Christen i sur. 2007; Wagner i sur. 2006), istraživanjima razvojnih stadija biljaka (Lepeduš i sur. 2010b; Lepeduš i sur. 2011), kontroli kvalitete voća i povrća (Hagen i sur. 2006), u oplemenjivačkoj selekciji i evaluaciji novih genotipova (Fracheboud i sur. 1999; Guo i sur. 2008; Kiani i sur. 2008; Petkova i sur. 2007; Rong-hua i sur. 2006).

2.2.8. Primjena fluorescencije klorofila u istraživanju stresa uzrokovanog sušom

Živčák i sur. (2008) su analizirali odgovor sedam genotipova pšenice na sušu. Uz relativni sadržaj vode u listu kao mjerilo suše, pokazali su da je maksimalni prinos kvanta PSII ostao gotovo nepromijenjen dehidracijom, sve dok se nisu pojavili značajni vidljivi simptomi isušivanja. Međutim, smanjenje indeksa fotosintetske učinkovitosti (PI_{ABS}) zabilježili su već na početku dehidracije, a tijekom eksperimenta PI_{ABS} se linearno smanjivao zajedno s RWC-om. Njihovi rezultati potvrđuju da indeks fotosintetske učinkovitosti reflektira utjecaj nedostatka vode na vitalnost biljke što ga čini pouzdanim i dovoljno osjetljivim parametrom za selekciju genotipova tolerantnih na sušu.

Clavel i sur. (2006) su pokazali kako je PI_{ABS} (u svom radu ga nazivaju engl. Structure-Function-Index - SFI) pouzdan kriterij za selekciju vrlo bliskih genotipova kikirikija (engl. Near-Isogenic Lines - NILs) u toleranciji na sušu, za razliku od F_v/F_m koji se u njihovom eksperimentu nije značajno mijenjao u odnosu na kontrolne biljke.

Oukarroum i sur. (2007) su pokazali da je moguće razlikovati kultivare ječma tolerantne na sušu na temelju indeksa suše (DFI - engl. Drought Factor Index) koji predstavlja sušom izazvano smanjenje indeksa fotosintetske učinkovitosti (PI_{ABS}) mjereno u juvenilnom stadiju

biljke. Relativni DFI je omjer indeksa fotosintetske učinkovitosti u biljkama izloženim suši u odnosu na kontrolne biljke. Osim toga, ovi autori su pratili oporavak biljaka nakon dvotjednog sušnog perioda. Njihovi rezultati dovode do zaključka da stres uzrokovan sušom nije trajno ošteti fotosintetski aparat te da je oporavak moguć ukoliko maksimalni prinos kvanta PSII (F_v/F_m) nije bio značajno smanjen tijekom sušnog perioda.

U svrhu oplemenjivanja biljaka na toleranciju na sušu važno je identificirati molekularne biljege povezane s genima koji kontroliraju otpornost na sušu tzv. lokuse kvantitativnih svojstava (QTL - engl. *Quantitative Trait Locus*). Kod ječma je pronađeno nekoliko regija u genomu povezanih sa ekspresijom pet svojstava (sadržaj klorofila, F_o , F_m , F_v i F_v/F_m) vezanih uz aktivnost fotosintetskog aparata u odgovoru na sušne uvjete. Dva su lokusa kvantitativnih svojstava, locirana na istom kromosomu, uključena u regulaciju fotosintetskih parametara u uvjetima suše i mogu se koristiti u oplemenjivanju na sušu potpomognutom molekularnim biljezima (Guo i sur. 2008). Kiani i sur. (2008) su kod suncokreta također pronašli nekoliko lokusa kvantitativnih svojstava za fluorescencijske parametre koji se preklapaju s lokusima kvantitativnih svojstava za vodni status biljke što omogućava upotrebu biljega vezanih za ova svojstva u selekciji oplemenjivačkog materijala za toleranciju na sušu.

2.2.9. Sadržaj fotosintetskih pigmenata u uvjetima suše

Fotosintetski pigmenti, klorofil *a* i *b*, imaju značajnu ulogu u procesu fotosinteze jer su zaslužni za apsorpciju svjetlosti te prijenos ekscitacijske energije do molekula klorofila reakcijskih središta (Voet i Voet 2004). No, osim toga, molekule klorofila *a* u reakcijskim središtima fotosustava sudjeluju u primarnim reakcijama fotosinteze i jedini su fotoaktivni pigmenti u reakcijskim središtima oksi-fotosintetskih organizama (Papageorgiou 2004).

Mnogi su radovi koji govore o promjenama koncentracija fotosintetskih pigmenata u odgovoru biljke na stres uzrokovan sušom. Jaleel i sur. (2008), Kauser i sur. (2006), Munné-Bosch i Peñuelas (2004) te mnogi drugi pokazali su da su u sušnim uvjetima koncentracije klorofila *a*, klorofila *b* i ukupnih klorofila značajno snižene u odnosu na koncentracije istih fotosintetskih pigmenata u optimalnim uvjetima.

Abdalla i El-Koshiban (2007) su analizirali odgovor na sušu dvije sorte pšenice (tolerantna i osjetljiva na sušu). Pokazali su da su koncentracije klorofila *a*, klorofila *b* i ukupnih klorofila bile značajno smanjene u obe sorte u odnosu na kontrole. Značajnije smanjenje koncentracija navedenih pigmenata u svim tretmanima zabilježeno je u sorti osjetljivoj na sušu u usporedbi sa sortom tolerantnom na sušne uvjete. Ovi rezultati ukazuju da se sadržaj fotosintetskih pigmenata može koristiti kao parametar za rangiranje sorti s obzirom na tolerantnost na stresne uvjete uzrokovane sušom.

Munné-Bosch i Alegre (2000) su pokazali povezanost sadržaja fotosintetskih pigmenata i relativnog sadržaja vode u biljkama ružmarina u poljskom pokusu tijekom cijele godine. Za vrijeme sušnih perioda (srpanj i kolovoz) relativni sadržaj vode bio je smanjen čak na 30% što je pratilo i smanjenje klorofila čak i do 85% u odnosu na najveću koncentraciju zabilježenu za vrijeme pokusa. Jednako tako, nakon jesenjskih oborina, relativni sadržaj vode se vratio na maksimalnu vrijednost (iznad 80%) što je popratilo i povećanje koncentracije klorofila. Smanjenjem koncentracije fotosintetskih pigmenata u sušnim periodima biljka smanjuje mogućnost oštećenja fotosintetskog aparata jer se apsorbira manje svjetlosti.

3. CILJ I HIPOTEZA ISTRAŽIVANJA

3.1. Ciljevi istraživanja

- Utvrditi genetsku varijabilnost genotipova višnje pomoću genetskih biljega (SSR i AFLP biljega).
- Istražiti razlike u fotosintetskoj učinkovitosti među odabranim genotipovima višnje u optimalnim uvjetima uzgoja te pod utjecajem stresnih uvjeta suše.
- Istražiti fotokemijske i biokemijske mehanizme prilagodbe fotosintetskog aparata na stres uzrokovan sušom.
- Utvrditi genotipove tolerantne na sušu.

3.2. Hipoteza

- S obzirom na rezultate dosadašnjih istraživanja varijabilnosti višnje i srodnih vrsta molekularnim biljezima, mikrosatelitski biljezi će identificirati sortu Oblačinska od drugih sorti uključenih u istraživanje dok će AFLP biljezi identificirati pojedine genotipove unutar sorte Oblačinska.
- Zbog uočene fenotipske raznolikosti (RWC, parametri OJIP testa, koncentracije fotosintetskih pigmenata) unutar populacije Oblačinske višnje neki genotipovi će biti tolerantniji na sušu od drugih, što će biti temelj klonske selekcije.

4. MATERIJAL I METODE

4.1. ISTRAŽIVANJA GENETSKE VARIJABILNOSTI NA RAZINI DNA

4.1.1. Biljni materijal

Analiza genetske varijabilnosti pomoću molekularnih biljega napravljena je na 8 sorti višanja, tj. ukupno 22 genotipa višnje (Tablica 1.).

Tablica 1. Istraživani genotipovi višanja.

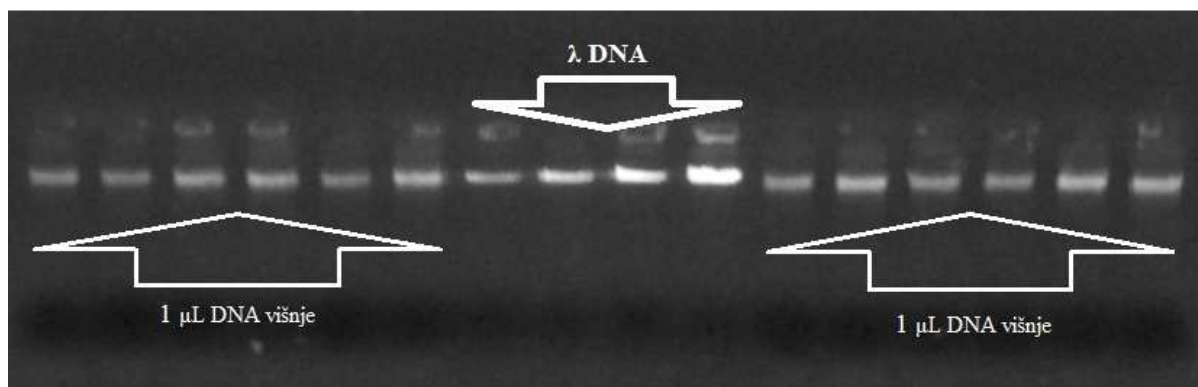
Br.	Naziv sorte	Oznaka sorte tj. genotipa
1.	Oblačinska	6
2.	Oblačinska	11
3.	Oblačinska	15
4.	Oblačinska	16
5.	Oblačinska	18
6.	Oblačinska	OS
7.	Oblačinska	BOR
8.	Cigančica	VS 10-13
9.	Cigančica	VN 2-28
10.	Cigančica	VN 12-23
11.	Oblačinska	D4
12.	Oblačinska	D6
13.	Oblačinska	D9
14.	Oblačinska	JA-2
15.	Cigančica	CG
16.	Maraska	MA
17.	Maraska	ST
18.	Kereška	KER
19.	Kelleris 14	KEL 14
20.	Kelleris 16	KEL 16
21.	Rexelle	REX
22.	Heimann konzervna	HEI

4.1.2. Izolacija genomske DNA

Za DNA analize je uzeto tkivo mladog lista svakog genotipa iz pokusnog nasada Tovljač Poljoprivrednog instituta Osijek. Po tri lista svakog genotipa su odmah nakon uzorkovanja pohranjena na -80°C do daljnje obrade. Za potrebe izolacije genomske DNA lisno tkivo je osušeno u liofilizatoru (Alpha 1-2, Christ, Njemačka) u trajanju od 72 sata. Neposredno prije izolacije DNA 40 mg liofiliziranog tkiva svakog uzorka odvagano je u tubice od 2 mL te samljeveno u oscilatornom mlinu (Ping-el, Sesvetski krajevac, Hrvatska). Izolacija DNA je izvršena prema modificiranoj CTAB metodi (Doyle i Doyle 1987). U svaki uzorak je dodano 900 μL 3% CTAB pufera (1M Tris-HCl; 20 mM Na_2EDTA , pH 8,0; 1,4M NaCl; 0,2% 2-merkaptoetanol; 4% polivinilpirolidon) prethodno ugrijanog na 65°C u vodenoj kupelji. Nakon dodatka pufera sadržaj tubice je dobro izmješšan (Vibromix 240EV, Tehnica, Slovenija) te stavljen u vodenu kupelj na inkubaciju u trajanju od 30 minuta pri 65°C uz povremeno okretanje rukom. Nakon inkubacije tubice su premještene u posudu s ledom i svakom je uzorku dodano 900 μL smjese kloroform-izoamilni alkohol (24:1) nakon čega je svaki uzorak lagano izmiješan protresanjem te stavljen u stalak za mućkanje (Thermomixer 5436, Eppendorf, Njemačka) 30 minuta. Uzorci su zatim centrifugirani pri 14 000 rpm (Hettich, USA) u trajanju od 8 minuta. Centrifugiranjem je odvojena tekuća faza (600 μL) koja je mikropipetom prenesena u čistu označenu tubicu. U tekuću je fazu dodano 4 μL RNAze (10 mg/mL) i narednih 30 minuta uzorci su povremeno miješani laganim okretanjem tubice pri sobnoj temperaturi. Nakon toga u svaku tubicu je dodano 60 μL natrijevog acetata (3M, pH 5,2) praćeno miješanjem te 440 μL hladnog izopropanola ponovno praćeno miješanjem. Dodatkom izopropanola stvaraju se bijele paučinaste nakupine (niti DNA). Uzorci su smješteni u zamrzivač na -80°C u trajanju od 10 minuta kako bi se poboljšalo taloženje DNA. Tubice su zatim centrifugirane na 14 000 rpm u trajanju od 10 minuta što je dovelo do stvaranja bijelog taloga na dnu tubice. Tekuća faza je pažljivo dekantirana, a talog ispran sa 500 μL 70% etanola u trajanju od 30 minuta. Kratkim centrifugiranjem talog je ponovno spušten na dno tubice, etanol je dekantiran i postupak ispiranja je ponovljen na isti način. Nakon drugog ispiranja taloga DNA, tubice su ostavljene otvorene preko noći kako bi ishlapio sav etanol. Slijedeći je dan izolirana DNA resuspendirana u 100 μL ultračiste vode i uzorci su ostavljeni u frižideru na 4°C preko noći.

4.1.3. Provjera kvalitete i kvantitete izolirane DNA

Kvaliteta i kvantiteta izolirane genomske DNA određene su na dva načina: spektrofotometrom BioPhotometer (Eppendorf, Njemačka) te vizualizacijom DNA na agaroznom gelu uz različite koncentracije λ DNA (Gibco-BRL, USA) kao standarda. Spektrofotometrijsko određivanje koncentracije DNA napravljeno je mjerenjem apsorbancije pri 260 i 280 nm u tri ponavljanja pripremljenih razrjeđenja uzorka (2 μ L originalne DNA u 198 μ L ultračiste vode). Rezultati mjerenja izraženi su kao koncentracija DNA u ng/ μ L te omjer A_{260}/A_{280} koji predstavlja čistoću izolirane DNA. Na temelju podatka o koncentraciji DNA pojedinog uzorka dobivenoj spektrofotometrijski pripremljene su radne otopine uzoraka genomske DNA koncentracije 50 ng/ μ L. Kvaliteta izolirane DNA provjerena je na 1% agaroznom gelu horizontalnom elektroforezom u $1\times$ TBE puferu (100 mM Tris, 83 mM borna kiselina, 2 mM Na_2EDTA) u trajanju od 30 minuta pri 60 V. 1 μ L genomske DNA svakog uzorka pomiješan je sa 6 μ L ultračiste vode i 3 μ L $5\times$ *Blue Juice* pufera za nanošenje uzoraka (Invitrogen, USA). Uz uzorke su na gel nanese različite koncentracije (5, 10, 20 i 50 ng/ μ L) λ DNA kao standarda. Trake na gelu vizualizirane su *SybrSafe* bojom (Invitrogen, USA) i očitane UV transiluminatorom (EDAS 290, Kodak, USA) (Slika 2.).



Slika 2. Dio elektroforegrama za procjenu kvalitete izolirane DNA.

4.1.4. Mikrosatelitski biljezi (SSR)

Analiza mikrosatelitskim biljezima provedena je na 12 lokusa koristeći početnice (Tablica 2.) koje su sintetizirane prema Cantini i sur. (2001) te Clarke i Tobutt (2003). Sve prednje početnice (*forward*) na 5' kraju su označene sa fluorokromom Cy5 zbog vizualizacije PCR produkata elektroforezom na ALFexpress uređaju.

Tablica 2. Parovi mikrosatelitskih početnica.

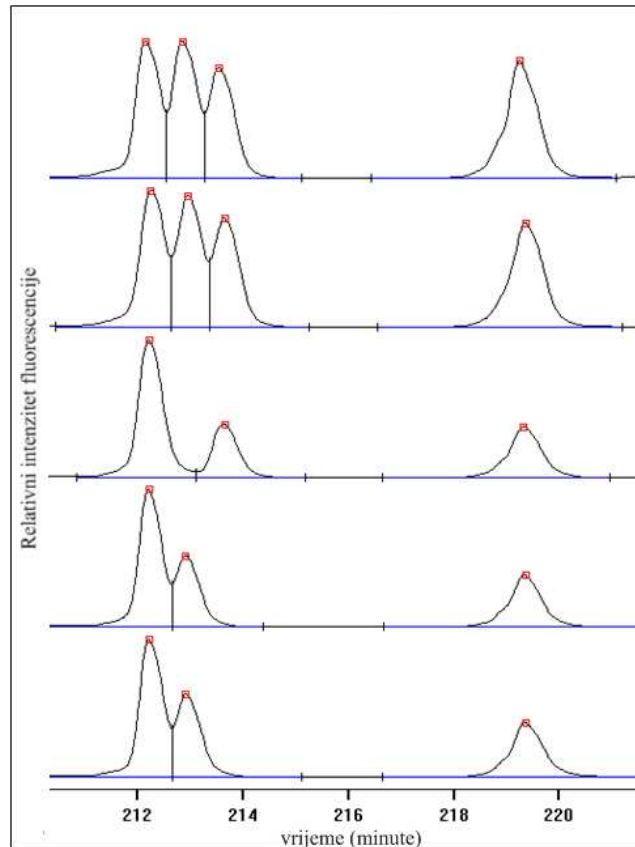
Oznaka početnice	Slijed nukleotida prednje (<i>forward</i>) i stražnje (<i>reverse</i>) početnice (5' → 3')	Literaturni izvor
EMPA001	Cy5-GCTCTGCTGCTTCAACCATT TTTCCCAACACACTTACCCC	Clarke i Tobutt 2003
EMPA004	Cy5-TACGGTAGGCTTCTGCAAGG TTGGCAGGTTCTGTTCACAT	Clarke i Tobutt 2003
EMPA005	Cy5-TGGGTTTGAGCAATATGCAA CACCAATACACATGCACACG	Clarke i Tobutt 2003
EMPA014	Cy5-ATTTGCCTATTGGGTTCCCTG TGAATGATCACAGAACATCCAG	Clarke i Tobutt 2003
EMPA015	Cy5-TTTTGGTCAATCTGCTGCTG CTCTCATCTTCCCCCTCCTC	Clarke i Tobutt 2003
PMS2	Cy5-CACTGTCTCCCAGGTAAACT CCTGAGCTTTTGACACATGC	Cantini i sur. 2001
PMS3	Cy5-TGGACTTCACTCATTTTCAGAGA ACTGCAGAGAATTTACAACCA	Cantini i sur. 2001
PMS40	Cy5-TCACTTTCGTCCATTTTCCC TCATTTTGGTCTTTGAGCTCG	Cantini i sur. 2001
PMS49	Cy5-TCACGAGCAAAAGTGTCTCTG CACTAACATCTCTCCCCTCCC	Cantini i sur. 2001
PMS67	Cy5-AGTCTCTCACAGTCAGTTTCT TTAACTTAACCCCTCTCCCTCC	Cantini i sur. 2001
PceGA25	Cy5-GCAATTCGAGCTGTATTTTCAGATG CAGTTGGCGGCTATCATGTCTTAC	Cantini i sur. 2001
PceGA59	Cy5-AGAACCAAAAAGAACGCTAAAATC CCTAAAATGAACCCCTCTACAAAT	Cantini i sur. 2001

Umnažanje SSR-PCR produkata obavljeno je prema Clarke i Tobutt (2003). Reakcijska smjesa ukupnog volumena 15 µL po uzorku sadržavala je 1× PCR pufer (50 mM KCl; 10 mM Tris-HCl; pH 8,3) (Applied Biosystems, USA), 1,5 mM MgCl₂ (Applied Biosystems, USA), 0,2 mM svakog deoksinukleotida (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) (Applied Biosystems, USA),

0,2 μM prednje i stražnje početnice (Metabion, Njemačka), 0,25 U Taq DNA polimeraze (Applied Biosystems, USA) te 50 ng genomske DNA. PCR reakcija je izvedena u GeneAmp PCR System 2700 (Applied Biosystems, USA) prema slijedećem temperaturnom rasporedu: inicijalna denaturacija u trajanju od 5 minuta pri 94°C, slijedilo je 10 ciklusa po 30 sekundi pri 94°C, 45 sekundi pri 60°C (-0,5 °C po ciklusu) i 1 minuta pri 72°C, zatim 25 ciklusa po 30 sekundi pri 94°C, 45 sekundi pri 55°C i 1 minuta pri 72°C te završna elongacija u trajanju 5 minuta pri 72°C.

4.1.5. Elektroforeza PCR-produkata mikrosatelitskih biljega

Ulomci dobiveni umnažanjem mikrosatelitskih lokusa razdvojeni su u 6% poliakrilamidnom gelu pomoću ALFexpress poluautomatskog DNA sekvencijskog sustava (Pharmacia Biotech, Švedska) koji laserski očitava ulomke obilježene flourokromom Cy5. 1 μL SSR-PCR produkta svakog uzorka pomiješano je sa 3 μL pufera za nanošenje (0,5% *Blue Dextran* u 75% formamidu) i 2 μL unutarnjih standarda poznate veličine (po 5 fmol/ μL standarda razrijeđenoga u 1 \times TE puferu; ovisno o očekivanoj duljini mikrosatelitskih ulomaka korištena su po dva unutarnja standarda duljine 50, 115, 250 ili 334 parova baza).



Slika 3. Dio fluorograma mikrosatelitskih biljega PceGA59.

5,5 μL tako pripremljene smjese svakoga uzorka neposredno prije elektroforeze denaturirano je 5 minuta pri 95°C te nanešeno na poliakrilamidni gel. Kao vanjski standard korišten je *ALFexpress sizer 50-500* (Pharmacia Biotech, Švedska) sa 10 ulomaka poznatih duljina. Elektroforeza je provedena u $0,6\times\text{TBE}$ puferu pri temperaturi od 50°C te struji od 1200 V, 40 mA i 50 W. Fluorescentni signal bilježen je svake sekunde i pohranjen u računalo (Slika 3.). Razdvojeni produkti su obrađeni programom AlleleLinks (Pharmacia Biotech, Švedska).

4.1.6. AFLP biljezi

AFLP je složena metoda koja se sastoji od nekoliko koraka, a zaštićeni je patent tvrtke Keygene (Nizozemska). Dio kemikalija korištenih u analizi je iz kitova AFLP® Core Reagent Kit (Invitrogen, USA) i AFLP® Starter Primer Kit (Invitrogen, USA). Njihov sastav je prikazan u Tablici 3. dok su u Tablici 4. Prikazani nukleotidni slijedovi korištenih AFLP početnica.

Tablica 3. Nazivi smjese iz kitova AFLP® Core Reagent Kit i AFLP® Starter Primer Kit (Invitrogen, USA).

Komercijalni naziv	Sastav
<i>EcoR</i> I/ <i>Mse</i> I	1,25 U/ μL svakoga restrikcijskog enzima u 10 mM Tris-HCl (pH 7,4), 50 mM NaCl, 0,1 mM EDTA, 1 mM DTT, 0,1 mg/mL BSA, 50% glicerol (v/v), 0,1% Triton X-10
5 \times Reaction Buffer	50 mM Tris-HCl (pH 7.5), 50 mM Mg-acetat, 250 mM K-acetat
Adapter / Ligation Solution	<i>EcoR</i> I i <i>Mse</i> I adapteri, 0,4 mM ATP, 10 mM Tris-HCl (pH 7,5), 10 mM Mg-acetat, 50 mM K-acetat
T4 DNA Ligase	1 U/ μl u 10 mM Tris-HCl (pH 7.5), 1 mM DTT, 50 mM KCl, 50% (v/v) glicerol
Pre-amp primer mix	<i>EcoR</i> I početnica (E-A), <i>Mse</i> I početnica (M-C), dNTPovi
10 \times PCR buffer plus Mg	200 mM Tris-HCl (pH 8,4), 15 mM MgCl_2 , 500 mM KCl
<i>Mse</i> I primers	6,7 ng/ μL <i>Mse</i> I početnice sa tri selektivna nukleotida, dNTPovi

Tablica 4. AFLP početnice.

Naziv adaptera tj. početnice	Slijed nukleotida
<i>EcoR</i> I adapter	5` - CTCGTAGACTGCGTACC -3` 3` - CATCTGACGCATGGTTAA -5`
<i>Mse</i> I adapter	5` - GACGATGAGTCCTGAG -3` 3` - CTA ^{CT} CAGGACTCAT -5`
E-A	5` - GACTGCGTACCAATTCA -3`
M-C	5` - GATGAGTCCTGAGTAAC -3`
E-AAA (E31)	5` - Cy5- GACTGCGTACCAATTCAAA -3`
E-AAC (E32)	5` - Cy5- GACTGCGTACCAATTCAAC -3`
E-ACA (E35)	5` - Cy5- GACTGCGTACCAATTCACA -3`
E-ACT (E38)	5` - Cy5- GACTGCGTACCAATTCACT -3`
M-CAA (M47)	5` - GATGAGTCCTGAGTAACAA -3`
M-CAC (M48)	5` - GATGAGTCCTGAGTAACAC -3`
M-CAG (M49)	5` - GATGAGTCCTGAGTAACAG -3`
M-CAT (M50)	5` - GATGAGTCCTGAGTAACAT -3`
M.CCT (M54)	5` - GATGAGTCCTGAGTAACCT -3`
M-CTA (M59)	5` - GATGAGTCCTGAGTAACTA -3`
M-CTC (M60)	5` - GATGAGTCCTGAGTAACTC -3`
M-CTG (M61)	5` - GATGAGTCCTGAGTAACTG -3`
M-CTT (M62)	5` - GATGAGTCCTGAGTAACTT -3`

A) Digestija genomske DNA restrikcijskim enzimima

250 ng genomske DNA pocijepano je restrikcijskim enzimima *EcoR* I i *Mse* I. Digestijska smjesa (Tablica 5.) je inkubirana 2 h pri 37°C te 15 minuta pri 70°C kako bi se inaktivirali preostali enzimi.

Tablica 5. Sastav smjese i volumeni sastavnica za digestiju.

Volumen za jednu reakciju	
ddH ₂ O	13 μL
5× <i>Reaction Buffer</i>	5 μL
<i>EcoR I/Mse I</i>	2 μL
Genomska DNA	5 μL
25 μL	

B) Ligacija adaptera

U svaki uzorak nakon završene digestije dodano je 24 μL *adapter / ligation solution* i 1 μL *T4 DNA ligaze* nakon čega je sve inkubirano pri 20°C u trajanju od 2 h. Nakon inkubacije je slijedila provjera produkata ligacije na način da je 8 μl uzorka naneseo na 1,5 % agarozni gel pri čemu se, nakon elektroforeze i vizualizacije, pojavio razmaz između 100 i 1000 parova baza što je dokaz uspješne ligacije. 5 μL smjese produkata ligacije je razrijeđeno sa 45 μL ddH₂O (1:10). Ova razrijeđena otopina je predložak za pre-selektivno umnažanje.

C) Pre-selektivno umnažanje

Smjesa za preselektivno umnažanje (Tablica 6.) podvrgnuta je PCR reakciji u uređaju GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems, USA) prema slijedećem temperaturnom rasporedu: inicijalna denaturacija u trajanju od 5 minuta pri 94°C, slijedilo je 20 ciklusa po 30 sekundi pri 94°C, 60 sekundi pri 56°C i 1 minuta pri 72°C te završna elongacija u trajanju 5 minuta pri 72. Nakon završenog preselektivnog umnažanja, 5 μL smjese produkata preselektivnog umnažanja je razrijeđeno sa 145 μL ddH₂O (1:30). Ova razrijeđena otopina je predložak za selektivno umnažanje.

Tablica 6. Sastav smjese i volumeni sastavnica za pre-selektivno umnažanje.

Volumen za jednu reakciju	
<i>Pre-amp primer mix</i>	20 μL
10× <i>PCR buffer plus Mg</i>	2,5 μL
Taq polimeraza (5U/μL)	0,5 μL
Ligacijska DNA (1:10)	2,5 μL
25 μL	

D) Selektivno umnažanje

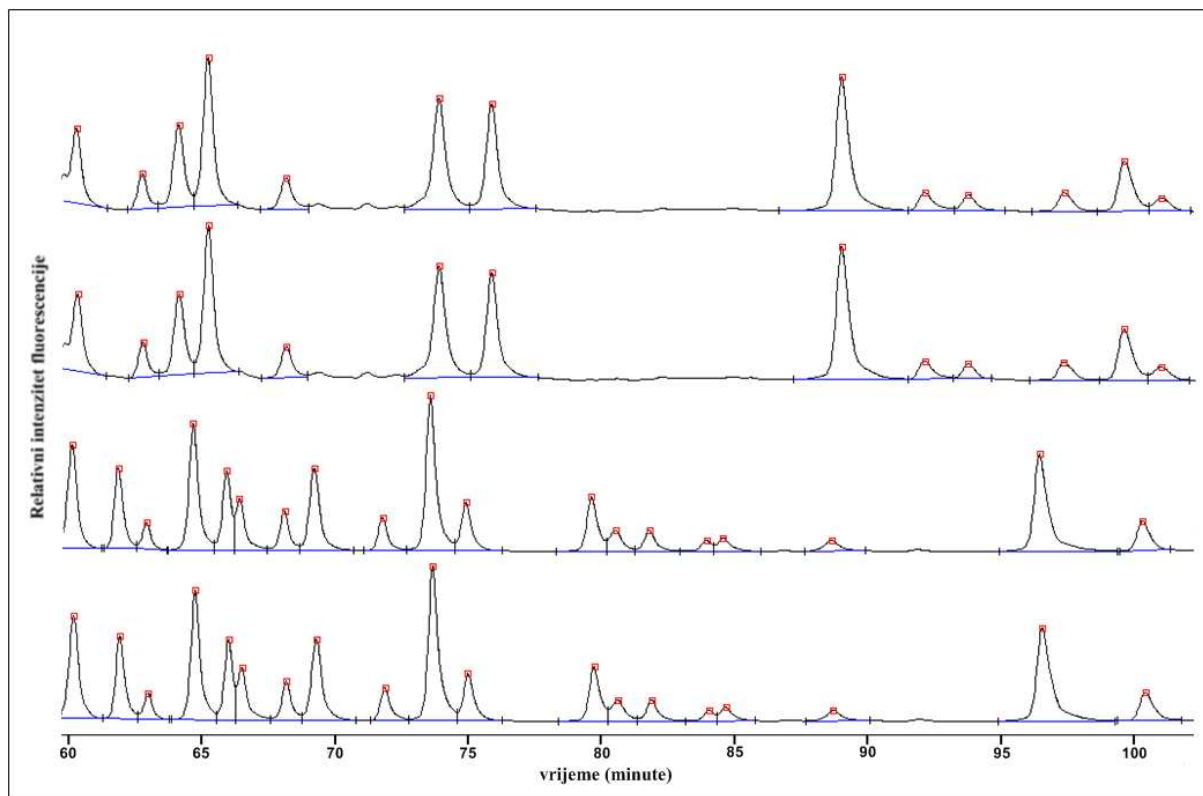
Smjesa za selektivno umnažanje (Tablica 7.) podvrgnuta je PCR reakciji u GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems, USA) prema slijedećem temperaturnom režimu: inicijalna denaturacija u trajanju od 5 minuta pri 94°C, slijedilo je 13 ciklusa po 30 sekundi pri 94°C, 30 sekundi pri 65°C (-0,7°C po ciklusu) i 1 minuta pri 72°C, zatim 23 ciklusa po 30 sekundi pri 94°C, 30 sekundi pri 56°C i 1 minuta pri 72°C te završna elongacija u trajanju 5 minuta pri 72°C.

Tablica 7. Sastav smjese i volumeni sastavnica za selektivno umnažanje.

Volumen za jednu reakciju	
ddH ₂ O	3,95 µL
10× PCR buffer plus Mg	1 µL
EcoR I (10 µM)	0,2 µL
Mse I primer	2,25 µL
Taq polimeraza (5 U/µL)	0,1 µL
Preamplificirana DNA (1:30)	2,5 µL
	10 µL

4.1.7. Elektroforeza PCR-produkata AFLP biljega

Ulomci dobiveni umnažanjem AFLP lokusa razdvojeni su u 6% poliakrilamidnom gelu pomoću ALFexpress poluautomatskog DNA sekvencijskog sustava (Pharmacia Biotech, Švedska) koji laserski očitava ulomke obilježene flourokromom Cy5. 1 µL AFLP-PCR produkta svakog uzorka pomiješano je sa 3 µL pufera za nanošenje (0,5% *Blue Dextran* u 75% formamidu) i 2 µL TE pufera. 5,5 µL tako pripremljene smjese svakoga uzorka neposredno prije elektroforeze denaturirano je 5 minuta pri 95°C te nanešeno na poliakrilamidni gel. Kao vanjski standard korišten je *ALFexpress sizer 50-500* (Pharmacia Biotech, Švedska) sa 10 ulomaka poznatih duljina. Elektroforeza je provedena u 0,6× TBE puferu pri temperaturi od 50°C te struji od 1200 V, 40 mA i 50 W. Fluorescentni signal bilježen je svake sekunde i pohranjen u računalo (Slika 4.). Razdvojeni produkti su obrađeni programom AlleleLinks (Pharmacia Biotech, Švedska).



Slika 4. Dio fluorograma AFLP biljega.

4.2. ISTRAŽIVANJE FOTOSINTETSKE UČINKOVITOSTI U UVJETIMA SUŠE

4.2.1. Biljni materijal

U istraživanje fotosintetske učinkovitosti u uvjetima suše je uključeno 7 genotipova višnje (*Prunus cerasus* L.) i to sorte Kelleris 16, Maraska, Cigančica te 4 genotipa sorte Oblačinska (s oznakama OS, 18, BOR i D6) (Tablica 1.). Sorta Kelleris 16 (Danska) izabrana je kao strana standardna sorta u komercijalnom sortimentu višanja kako bi služila za usporedbu sa ostalim sortama uključenim u ovo istraživanje (Oblačinska, Maraska i Cigančica). Sorta Oblačinska je u istraživanje fotosintetske učinkovitosti uključena sa 4 genotipa (OS, 18, BOR i D6) i vrlo je slična sortama Maraska (Hrvatska) i Cigančica (Mađarska).

4.2.2. Mikropropagacija biljnog materijala

Biljke navedenih sorti i klonova za ovo istraživanje umnožene su mikropropagacijom *in vitro*. Materijal dobiven na ovaj način oslobođen je virusa (Jelaska 1994). Pupovi navedenih genotipova za uvođenje u kulturu *in vitro* uzeti su 2008. godine iz pokusnog nasada Tovljač, Poljoprivrednog instituta Osijek. Budući da su pupovi uzeti sa stabala iz voćnjaka, prije sterilizacije grančice s pupovima ispirane su 5 minuta pod mlazom vode, a površinska sterilizacija je napravljena uranjanjem pupova u 70% etanol na par sekundi te uranjanjem u 1% otopinu natrijevog hipoklorit u trajanju od 20 minuta.

Nakon sterilizacije, iz pupova svakog genotipa izolirano je više meristema koji su uvedeni na hranidbenu podlogu za uvođenje u kulturu (Tablica 8.). Razvoj eksplantata u kulturi odvijao se u klima-komori na temperaturi od 23 - 25°C, fotoperiodu od 16 sati osvjetljenja (intenzitet svjetla od 3000 luksa) i 8 sati tame. Nakon mjesec dana nezaraženi eksplantati su preneseni na hranidbenu podlogu za umnažanje (Tablica 8.) te presađivani kroz pet ciklusa dok se nije dobilo dovoljno materijala.

Biljčice su tada prenesene na hranidbenu podlogu za ukorijenjavanje (Tablica 8.) te su nakon dva tjedna, kada su pustile korijenčice, posađene u sterilnu zemlju te prenesene u plastenik na aklimatizaciju tijekom svibnja 2009. godine. Biljke su tijekom naredne godine redovito

zalijevane, prihranjivane i tretirane protiv štetnika. U proljeće 2010. biljke su presađene u zasebne posude promjera 12 cm u supstrat Floradur (Floragard, Francuska).

Tablica 8. Sastav i koncentracije pojedinih sastavnica u hranidbenim podlogama za mikropropagaciju višnje.

	Hranidbena podloga za uvođenje u kulturu		Hranidbena podloga za multiplikaciju		Hranidbena podloga za ukorijenjavanje	
	Sastav	Konc./L	Sastav	Konc./L	Sastav	Konc./L
Makroelementi	SH (Schenk i Hildebrandt 1972)	1 ×	DKW (Driver i Kuniyuki 1984)	1 ×	MS (Murashige i Skoog 1962)	0.5 ×
Mikroelementi	MS (Murashige i Skoog 1962)	1 ×	MS	1 ×	MS	50 ×
Vitamini	Z4	2 ×	DKW (Driver i Kuniyuki 1984)	2 ×	FL	2 ×
Biljni hormoni	BAP (6-benzil-aminopurin)	0,5 mg	BAP	0,8 mg	IBA	1,5 mg
	NAA (1-naftalen-octena kiselina)	0,01 mg	IBA (indol-3-maslačna kiselina)	0,01 mg		
	GA ₃ (giberelinska kiselina)	0,5 mg				
Saharoza		30 g		30 g		20 g
Agar		6,5 g		6,5 g		6 g
Ostalo	FeSO ₄	50 mg	FeSO ₄	33,4 mg	Antranilinska kiselina	10 mg
	EDTA	55 mg	EDTA	44,6 mg	Zn(OOCCH ₃) ₂	10 mg
	(NH ₄) ₂ HPO ₄	300 mg			Fe-sekvestren	200 mg
					Ugljen	50 mg
pH otopine		6.3		6.3		6.3

Napomena: Vitamini Z4 i FL su formulacija Laboratorija za kulturu biljnog tkiva PIO

4.2.3. Pokus u plasteniku

U lipnju 2011. godine postavljen je pokus u plasteniku Poljoprivrednog instituta Osijek (Slika 5.). Uniformne biljke izabrane slučajnim odabirom postavljene su na tri pokretna stola sa sustavom za natapanje. Po 10 biljaka svakog genotipa služilo je kao kontrola i bile su postavljene na jednom stolu. Kontrolne biljke su primale optimalnu količinu vode natapanjem stolova svakog drugog dana. Po deset biljaka svakog genotipa postavljeno je na druga dva stola (dva jednaka tretmana). Ove biljke su izložene stresu uzrokovanom pomanjkanjem vode odnosno sušom. Tijekom 10 dana pokusa u plasteniku dnevne temperature su dosezale i do 35°C što je dovelo do potpunog sušenja i propadanja biljaka koje su izložene nedostatku vode.



Slika 5. Pokus u plasteniku.

4.2.4. Određivanje relativnog sadržaja vode u listu

Relativna količina vode (RWC) u listu određivana je svaki drugi dan počevši sa 0-tim danom. Neposredno nakon mjerenja fluorescencije sa 4 lista od svakog genotipa uključujući kontrolne biljke i biljke izložene stresu uzet je komadić lisnoga tkiva dimenzija oko 1×1 cm, odmah je izvagan (FW) i stavljen u plastičnu kivetu sa destiliranom vodom te spremljen u frižider na temperaturu 8°C tijekom 24 h. Nakon 24 sata komadić lisnog tkiva je pincetom izvađen iz vode, nježno obrisano staničevinom te ponovno izvagan (TW) i stavljen na sušenje tijekom 24 h na 105°C. Dobivena masa je nakon sušenja je masa suhe tvari (DW). RWC je izračunat prema slijedećoj formuli

$$\text{RWC (\%)} = (\text{FW} - \text{DW}) / (\text{TW} - \text{DW}) \times 100$$

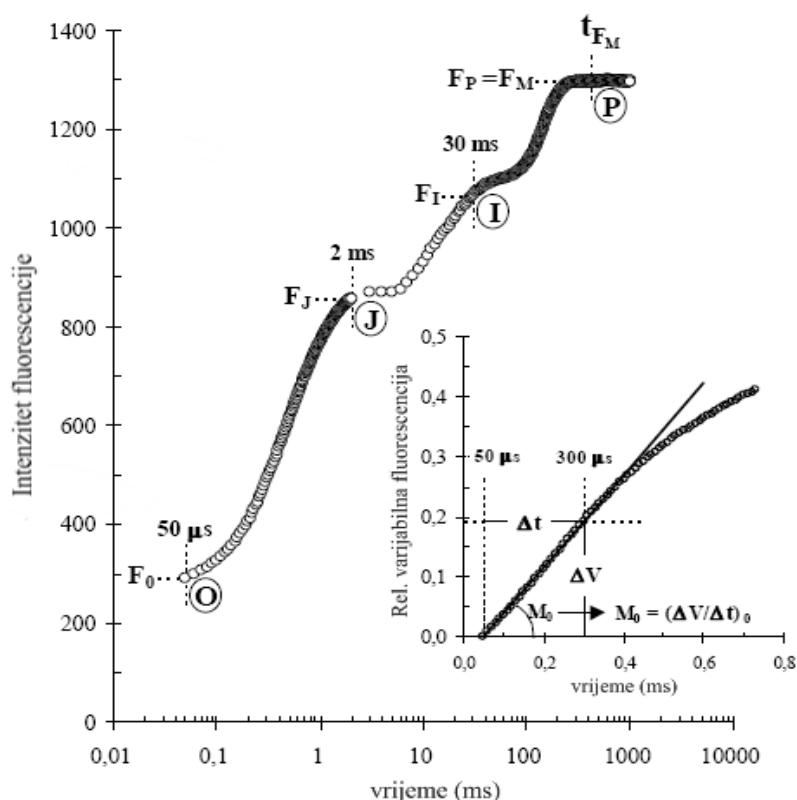
Rezultati su za svaki uzorak izraženi kao postotak RWC-a u odnosu na vrijednost RWC-a dobivenu za biljke kontrolnog tj. tretmana sušom 0. dan pokusa (100%).

4.2.5. Mjerenje polifaznog rasta fluorescencije klorofila *a* i OJIP test

Svakodnevno u vremenu od 9-10 sati prijepodne na prosječno 10 listova svake skupine uzoraka (1 list po biljci) mjerena je fluorescencija klorofila *a* *in vivo* pomoću uređaja Plant Efficiency Analyser (PEA) (Hansatech, Engleska). Pola sata prije mjerenja listovi su prilagođeni na uvjete tame posebnim plastičnim kopčama. Prilagodnom listova na uvjete tame dolazi do potpune redukcije plastokinona, odnosno do otvaranja svih reakcijskih središta što je preduvjet za mjerenje minimalnog intenziteta fluorescencije. PEA-fluorimetar mjeri polifazni rast fluorescencije klorofila induciran pulsom crvene saturacijske svjetlosti (maksimum apsorpcije 650 nm, $3000 \mu\text{mol}_{\text{FOTONA}} \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$), a bilježi promjene u intenzitetu fluorescencije tijekom 1s, počevši od 50 μs nakon osvjetljavanja (Slika 6.). Tijekom prvih 2 ms promjene se bilježe svakih 10 μs te nakon toga svake ms. Intenzitet korištene svjetlosti omogućuje zatvaranje svih reakcijskih središta, odnosno postizanje maksimalnog intenziteta fluorescencije. Iz podataka dobivenih ovim mjerenjem (Slika 6.; Tablica 9.), OJIP-testom se izračunavaju parametri koji opisuju funkcioniranje fotosustava II (Tablica 10.).

Tablica 9. Podaci dobiveni mjerenjem polifaznog rasta fluorescencije klorofila *a*.

oznaka	značenje
F_0	intenzitet fluorescencije nakon $50 \mu\text{s}$ (O stupanj)
F_{300}	intenzitet fluorescencije nakon $300 \mu\text{s}$
F_J	intenzitet fluorescencije nakon 2 ms (J stupanj)
F_I	intenzitet fluorescencije nakon 30 ms (I stupanj)
F_m	maksimalni intenzitet fluorescencije (P stupanj)
F_v	maksimalna varijabilna fluorescencija; $F_v = F_m - F_0$
t_{max}	vrijeme potrebno da se postigne F_m
V_J	varijabilna fluorescencija na J stupnju; $V_J = (F_J - F_0) / (F_m - F_0)$
V_I	varijabilna fluorescencija na I stupnju; $V_I = (F_I - F_0) / (F_m - F_0)$
S_m	normalizirana komplementarna površina iznad OJIP krivulje $S_m = \text{AREA} / (F_m - F_0)$
M_0	ukupna brzina zatvaranja reakcijskih centara $M_0 = (TR_0 / RC) - (ET_0 / RC) = 4(F_{300\mu\text{s}} - F_0) / (F_m - F_0)$
N	prometni broj; $N = S_m \times [(dV/dt)_0] / V_J$



Slika 6. Tipični OJIP porast fluorescencije prikazan na logaritamskoj vremenskoj skali.

Umetnuti graf pokazuje promjenu relativne varijabilne fluorescencije u vremenu (Strasser i sur. 2004).

Tablica 10. Parametri OJIP testa.

oznaka	značenje	izračun
TR₀/ABS = F_v/F_m	maksimalni prinos kvanta PSII	$[1 - (F_o/F_m)]$
ABS/RC	apsorpcija po aktivnom reakcijskom središtu	$M_o \times (1/V_J) \times [1/(F_v/F_m)]$
TR₀/RC	hvatanje ekscitona po aktivnom reakcijskom središtu	$M_o \times (1/V_J)$
ET₀/RC	elektronski transport po aktivnom reakcijskom središtu	$M_o \times (1/V_J) \times (1-V_J)$
DI₀/RC	disipacija po aktivnom reakcijskom središtu	$(ABS/RC) - (TR_0/RC)$
RC/CS₀	gustoća aktivnih reakcijskih središta	$F_v/F_m \times (V_J/M_o) \times ABS/CS_0$
RC/ABS	omjer koncentracije klorofila reakcijskih središta i koncentracije antena klorofila	$[(F_J-F_o) / 4(F_{300\mu s}-F_o)] \times (F_v/F_m)$
TR₀/DI₀	omjer hvatanja ekscitona i disipacije energije	F_v/F_o
ET₀ / (TR₀-ET₀)	transport elektrona dalje od primarnog akceptora Q _A	$(F_m-F_J) / (F_J-F_o)$
PI_{ABS}	indeks fotosintetske učinkovitosti	$(RC/ABS) \times (TR_0/DI_0) \times [ET_0/(TR_0 - ET_0)]$

4.2.6. Spektrofotometrijsko određivanje fotosintetskih pigmenata

Koncentracija fotosintetskih pigmenata određena je 0. i 8. dan pokusa. Uzorak za kvantitativnu analizu fotosintetskih pigmenata činilo je tkivo 10 listova svakog genotipa (po jedan list od svake biljke) na kojima je toga dana mjerena fluorescencija. Nultog dana pokusa za analizu je uzet skupni uzorak listova kontrolnog i tretmana sušom, a osmoga dana pokusa zasebni uzorci listova tretmana sušom i kontrolnih biljaka. Do dolaska u laboratorij lisno tkivo je držano u prijenosnom frižideru s ledenim blokovima.

Tkivo je usitnjeno u tekućem dušiku uz dodatak magnezijevog hidrogenkarbonata (na vrh spatule) i prebačeno u označene Eppendorf tubice te odvagano na analitičkoj vagi ($\approx 0,1$ g) u četiri ponavljanja po uzorku. U usitnjeno tkivo odmah je dodano 1 mL hladnog acetona i dobro izmješano. Pigmenti su ekstrahirani 15 minuta na ledu uz povremeno miješanje, a supernatant sa ekstrahiranim pigmentima odvojen je centrifugiranjem na 14 000 rpm u trajanju od 10 minuta. Supernatant je tada dekantiran u plastičnu graduiranu epruvetu. Reekstrakcija po istom postupku je ponovljena više puta dok talog nije bio potpuno obezbojen. Prije samog mjerenja očitala sam volumene uzoraka (spojeni supernatanti iz reekstrakcija).

Koncentracije fotosintetskih pigmenata odredila sam mjerenjem apsorbancije na valnim duljinama 661,6, 644,8 i 470 nm. Za izračun su korišteni ekstinkcijski koeficijenti prema Lichtenthaleru (1987).

$$\text{Chl } a = (11,24 A_{661,6} - 2,04 A_{644,8}) V / m \times 10^3$$

$$\text{Chl } b = (20,13 A_{644,8} - 4,19 A_{661,6}) V / m \times 10^3$$

$$\text{Chl } a+b = (7,05 A_{661,6} + 18,09 A_{644,8}) V / m \times 10^3$$

gdje je V ukupni volumen ekstrakta fotosintetskih pigmenata u mL, a m je masa uzorka u gramima. Koncentracija fotosintetskih pigmenata izražena je u mg/g suhe tvari. Suha tvar je određena sušenjem usitnjenog uzorka tijekom 24 h na 105°C .

4.3. STATISTIČKA OBRADA

4.3.1. Statistička obrada molekularnih biljega

Za svaki mikrostelitski lokus izračunat je ukupan broj alela (N_a), genska različitost (H_e) (Nei 1978) te informacijski sadržaj polimorfizma – PIC (engl. *Polymorphic Information Content*) (Botstein i sur. 1980) dok je za svaku AFLP kombinaciju izračunat ukupan broj ulomaka (N_a), broj polimorfni ulomaka (N_p), udio polimorfni ulomaka (%P) te genska različitost i informacijski sadržaj polimorfizma pomoću programa Powermarker (Liu 2002.).

Binarne matrice su korištene za izračun koeficijenta genetske sličnosti prema Dice (1945). Matrice s koeficijentima genetske sličnosti korištene su za izradu dendrograma UPGMA metodom (engl. *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*) pomoću NTSYSpc 2.1 programa (Rohlf 2000).

Matrice genetske sličnosti na osnovu podataka SSR i AFLP biljega o ispitivanim genotipovima su uspoređene kako bi se utvrdila korelacija između dobivenih rezultata. Usporedba je provedena koristeći Mantelov test značajnosti i podudarnosti matrica (Mantel 1967).

4.3.2. Statistička obrada fizioloških podataka

Analizom varijance nije utvrđena statistički značajna razlika u relativnom sadržaju vode u listu, parametrima OJIP testa i koncentracijama fotosintetskih pigmenata između dva zasebna tretmana sušom postavljena u ovom pokusu stoga su rezultati tih dvaju tretmana sušom spojeni u jednu skupinu podataka dok drugu skupinu podataka čine vrijednosti navedenih parametara izmjerene u skupini biljaka kontrolnog tretmana.

Rezultati parametara OJIP testa te RWC-a izmjereni u biljkama kontrolnog i tretmana sušom obrađeni su analizom varijance ponovljenih mjerenja (engl. *Repeated-measures ANOVA*) (Winer 1971) pomoću programa SAS (SAS institute 2004). Zbog nehomogenosti varijanci podataka, izvorni podaci paratetara OJIP testa i RWC-a su logaritmirani te je analiza varijance

ponovljenih mjerenja izvedena na osnovi transformiranih podataka (Horvat i Ivezić 2005). Mauchlyjev test za procjenu sferičnosti pokazao je narušenu sferičnost varijanci (Mauchly 1940) te je korištena Greenhouse-Geisserova korekcija stupnjeva slobode u univarijantnoj analizi varijanci ponovljenih mjerenja koje testiraju učinke unutar subjekata. Za svaki parametar prikazane su dvije tablice (A i B) s rezultatima analize varijance ponovljenih mjerenja s time da su u tablici A prikazane vrijednosti F testa i razine vjerojatnosti koje testiraju učinke između subjekata, a u tablici B vrijednosti F testa i razine vjerojatnosti koje testiraju učinke unutar subjekata.

Rezultati RWC-a i parametara OJIP testa za sedam genotipova višnje prikazani su grafički pomoću srednjih vrijednosti i standardnih devijacija. Razlika u pojedinom parametru između kontrolnog tretmana i tretmana sušom smatra se značajnom ukoliko se intervali standardnih devijacija tih dvaju skupina ne preklapaju. Grafički prikaz rezultata pojedinog parametra sastoji se od 8 dijelova na način da su A-G grafovi nacrtani na osnovi srednjih vrijednosti i standardnih devijacija ispitivanih parametara tijekom deset dana pokusa kontrolnog tretmana i tretmana sušom (A - Kel 16; B - CG; C - MA; D - OS; E - 18; F - D6; G - BOR), a pod H je prikazan dendrogram napravljen na osnovi Euklidske udaljenosti između razlika parametra kontrolnog tretmana i tretmana sušom pomoću programa Statistica 7.1. (StatSoft, Inc. 2005, USA).

Stupanj povezanosti između relativnog sadržaja vode u listu (RWC) i parametara OJIP testa (F_v/F_m i PI_{ABS}) u tretmanu sušom utvrdila sam izračunom koeficijenta korelacije ($p < 0,05$) pomoću programa Statistica 7,1.

Podaci osnovnih parametara fluorescencije klorofila *a* (F_o , F_m , V_j , V_i , t_{max} , S_m , M_o , N) za genotipove KEL 16 i OS analizirani su analizom varijance i prikazani grafički pomoću srednjih vrijednosti. *Post hoc* LSD (engl. Least Significant Difference) testom (Statistica 7,1) su utvrđene razlike među tretmanima tijekom svakog drugog dana pokusa za svaki genotip posebno ($p < 0,05$), a rezultati su prikazani slovima (različita slova znače statistički značajnu razliku) u tablici s srednjim vrijednostima i standardnim devijacijama u Prilogu.

Rezultati koncentracija fotosintetskih pigmenata su analizirani analizom varijance i prikazani grafički pomoću srednjih vrijednosti i standardnih devijacija. *Post hoc* LSD testom (Statistica

7,1) su utvrđene razlike među tretmanima za svaki genotip posebno ($p < 0,05$), a rezultati su prikazani slovima (različita slova znače statistički značajnu razliku) iznad intervala standardnih devijacija na stupičastim grafovima. Osim toga, LSD testom su utvrđene razlike u koncentracijama fotosintetskih pigmenata među genotipovima nultoga dana pokusa.

5. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

5.1. GENETSKA VARIJABILNOST VIŠNJE NA RAZINI DNA

5.1.1. Genetska varijabilnost višnje procijenjena mikrosatelitskim biljezima

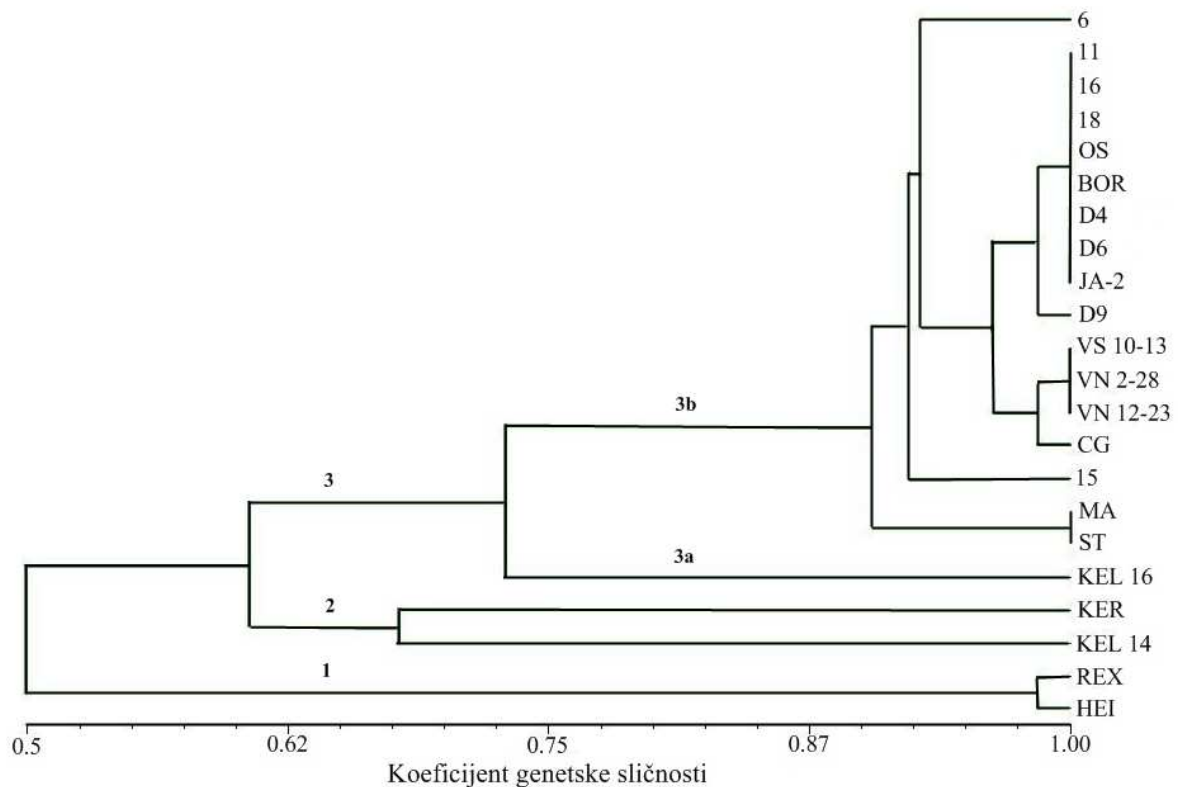
Koristeći set od 12 mikrosatelitskih biljega na DNA izvojenj iz 22 genotipa višnje umnoženo je ukupno 68 različitih alela. Broj alela po lokusu varirao je od 2 za biljeg EMPA005 do 11 za PMS3, s prosječnim brojem od 5,66 alela po lokusu (Tablica 11.). Najveća genska različitost (0,740) kao i najveći PIC (0,706) utvrđeni su za mikrosatelitski lokus PMS3, a najmanja genska različitost (0,165) i najmanji PIC (0,152) za lokus PMS2. Prosječna genska različitost unutar ispitivanih genotipova iznosila je 0,392, a prosječni informacijski sadržaj polimorfizma 0,373 (Tablica 11.).

Tablica 11. Kromosomska lokacija, broj alela (N_a), genska različitost (H_e) i informacijski sadržaj polimorfizma (PIC) za korištene mikrosatelitske biljege.

Mikrosatelitski lokus	Kromosomska lokacija	Ukupan broj alela (N_a)	Maksimalan broj alela na lokusu	H_e	PIC
EMPA001	1	9	3	0,570	0,550
EMPA004	6	7	4	0,570	0,550
EMPA005	1	2	2	0,169	0,163
EMPA014	3	5	3	0,455	0,437
EMPA015	4	4	4	0,376	0,344
PMS2	7	4	3	0,165	0,152
PMS3	4	11	4	0,740	0,706
PMS40	4	8	4	0,393	0,380
PMS49	2	5	3	0,388	0,371
PMS67	1	3	2	0,244	0,228
PceGA25	5	6	3	0,388	0,371
PceGA59	1	4	4	0,244	0,228
Prosjek		5,66	3,25	0,392	0,373

Binarna matrica napravljena prema ishodišnoj matrici umnoženih mikrosatelitskih lokusa (Tablica 27. u Prilogu) korištena je za izračun koeficijenta genetske sličnosti prema Dice-u (1945). Prosječna vrijednost koeficijenta genetske sličnosti prema Dice-u između svih ispitivanih genotipova višnje iznosila je 0,844. Najmanja genetska sličnost (Tablica 28. u Prilogu) utvrđena je između genotipova Kereška i Heimann konzervna (0,355), dok je najveća sličnost (1,000) tj. identičnost utvrđena između većine genotipova Oblačinske višnje (11, 16, 18, OS, D4, D6 i JA-2) te genotipova Cigančice (VS 10-13 i VN 2-28).

Svi ispitivani genotipovi Oblačinske višnje međusobno imaju vrlo visok koeficijent genetske sličnosti (>0,9). Četiri genotipa Cigančice i dva genotipa višnje Maraske (MA i ST) također imaju visoke koeficijente genetske sličnosti (0,844 - 0,985) s genotipovima Oblačinske višnje. Ostalih pet sorti (Kelleris 14, Kelleris 16, Kereška, Rexelle i Heimann konzervna) se prema koeficijentima genetske sličnosti, koji su se kretali od 0,452 do 0,738, razlikuju od genotipova Oblačinske višnje, Cigančice i Maraske.



Slika 7. UPGMA dendrogram za 22 genotipa višnje temeljem matrice genetske sličnosti prema mikrosatelitskim biljezima.

Matrice s koeficijentima genetske sličnosti (Tablica 28. u Prilogu) korištene su za izradu dendrograma UPGMA metodom pomoću NTSYSpc 2,1 programa. Prema prikazanom dendrogramu (Slika 7.) nije moguće razlikovati sve genotipove. Prvu skupinu čine genotipovi Rexelle i Heimann konzervna, a drugu skupinu Kelleris 14 i Kereška. U treću skupinu svrstano je ukupno 18 genotipova u dvije podskupine. Podskupinu 3a čini genotip Kelleris 16, dok podskupinu 3b možemo podijeliti na dva dijela: prvi dio koji čine genotipovi Maraske (MA i ST), te drugi dio koji čini petnaest genotipova Oblačinske i Cigančice počevši sa genotipom 15 pa sve do genotipa 6 unutar kojega se zajedno grupiraju genotipovi Cigančice (CG, VS 10-13, VN 12-23 i VN 2-28), ali s vrlo visokim koeficijentom genetske sličnosti s genotipovima Oblačinske višnje.

5.1.2. Genetska varijabilnost višnje procijenjena AFLP biljezima

Pomoću 10 kombinacija AFLP početnica iz 22 genotipa višnje umnožen je ukupno 321 ulomak, od toga je 15,5% polimorfni ulomaka (155). Najveći broj polimorfni ulomaka je dobiveno umnažanjem genomske DNA kombinacijom E-ACT/M-CAT (38 ulomaka), a najmanje kombinacijom E-ACA/M-CTG (6 ulomaka) (Tablica 12.). Prosječan broj polimorfni ulomaka iznosio je 15,5, dok je prosjek postotka polimorfni ulomaka za korištene AFLP kombinacije početnica iznosio 45,65%. Najveća genska različitost (0,169) kao i najveći PIC (0,148) utvrđeni su za kombinaciju početnica E-ACT/M-CAT, a najmanja genska različitost (0,033) i najmanji PIC (0,029) za kombinaciju početnica E-ACA/M-CTG. Prosječna genska različitost unutar ispitivanih genotipova iznosila je 0,093, a prosječni informacijski sadržaj polimorfizma 0,080 (Tablica 12.).

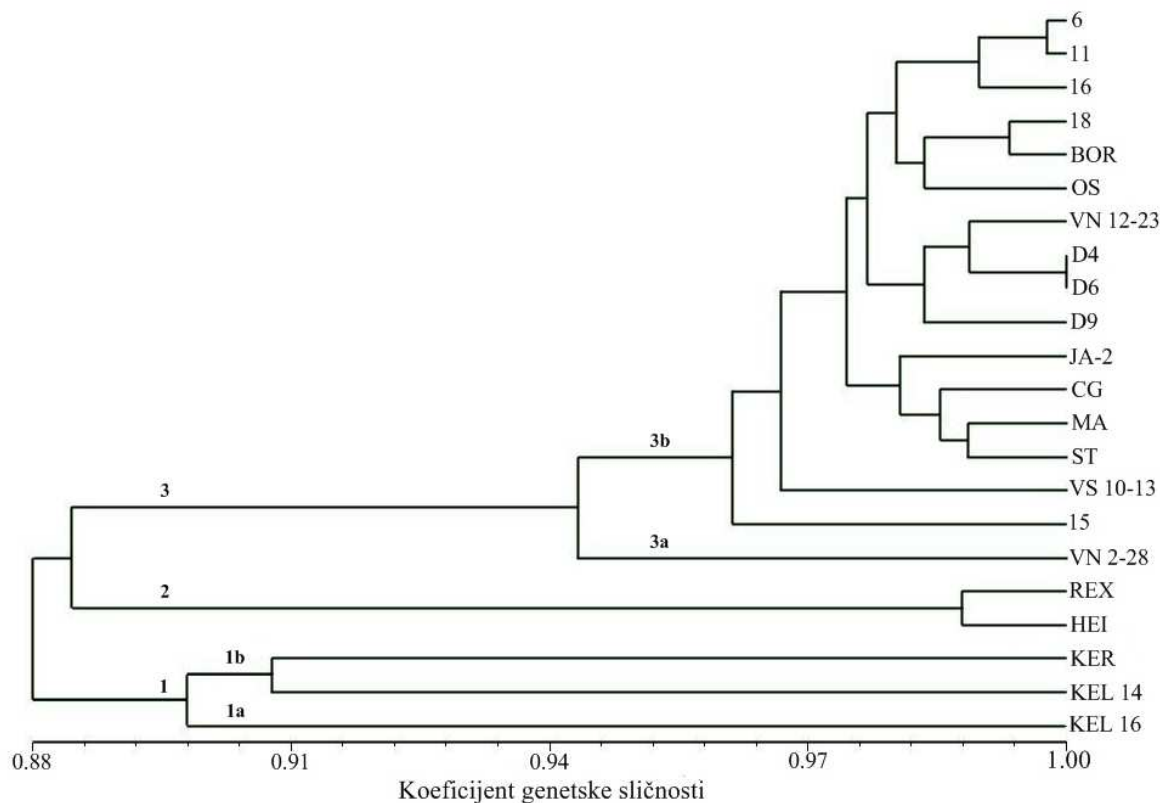
Koeficijenti genetske sličnosti prema Dice-u (1945) između 22 ispitivanih genotipa višnje izračunati su iz ishodišne binarne matrice. Prosječna vrijednost koeficijenta genetske sličnosti prema Dice-u između svih ispitivanih genotipova višnje iznosila je 0,955. Najmanja genetska sličnost utvrđena je između genotipova Kelleris 14 i VN 2-28 (0,839), dok je najveća sličnost (1,000) tj. identičnost utvrđena između genotipova D4 i D6 (Tablica 29. u Prilogu).

Tablica 12. Ukupan broj ulomaka (N_a), broj polimorfnih ulomaka (N_p), postotak polimorfnih ulomaka, genska različitost (H_e) i informacijski sadržaj polimorfizma (PIC) za korištene AFLP kombinacije početnica.

Kombinacija AFLP početnica	Ukupan broj ulomaka (N_a)	Broj polimorfnih ulomaka (N_p)	Postotak polimorfnih ulomaka	H_e	PIC
E-AAA/M-CTT	40	23	57,5	0,146	0,120
E-AAC/M-CCT	35	25	71,4	0,136	0,118
E-ACT/M-CAT	45	38	84,4	0,169	0,148
E-ACT/M-CAG	24	9	37,5	0,068	0,060
E-ACA/M-CAA	33	9	27,3	0,069	0,059
E-ACA/M-CAC	28	16	57,1	0,102	0,091
E-ACA/M-CAT	31	8	25,8	0,043	0,038
E-ACA/M-CTA	34	11	32,4	0,076	0,065
E-ACA/M-CTC	25	10	40,0	0,087	0,076
E-ACA/M-CTG	26	6	23,1	0,033	0,029
Ukupno	321	155	-	-	-
Prosjek	32,1	15,5	45,65	0,093	0,080

Svi ispitivani genotipovi Oblačinske višnje, četiri genotipa Cigančice (CG, VS 10-13, VN 12-23 i VN 2-28) i dva genotipa Maraske (MA i ST) međusobno imaju vrlo visok koeficijent genetske sličnosti ($>0,921$). Koeficijenti genetske sličnosti genotipova Kelleris 14, Kelleris 16, Kereška, Rexelle i Heimann konzervne s genotipovima Oblačinske višnje, Maraske i Cigančice su nešto manji i iznose od 0,839 do 0,914 (Tablica 29. u Prilogu).

Na temelju matrice genetske sličnosti između svih ispitivanih genotipova višnje UPGMA metodom je izrađen dendrogram (Slika 8.).



Slika 8. UPGMA dendrogram za 22 genotipa višnje temeljem matrice genetske sličnosti prema AFLP biljezima.

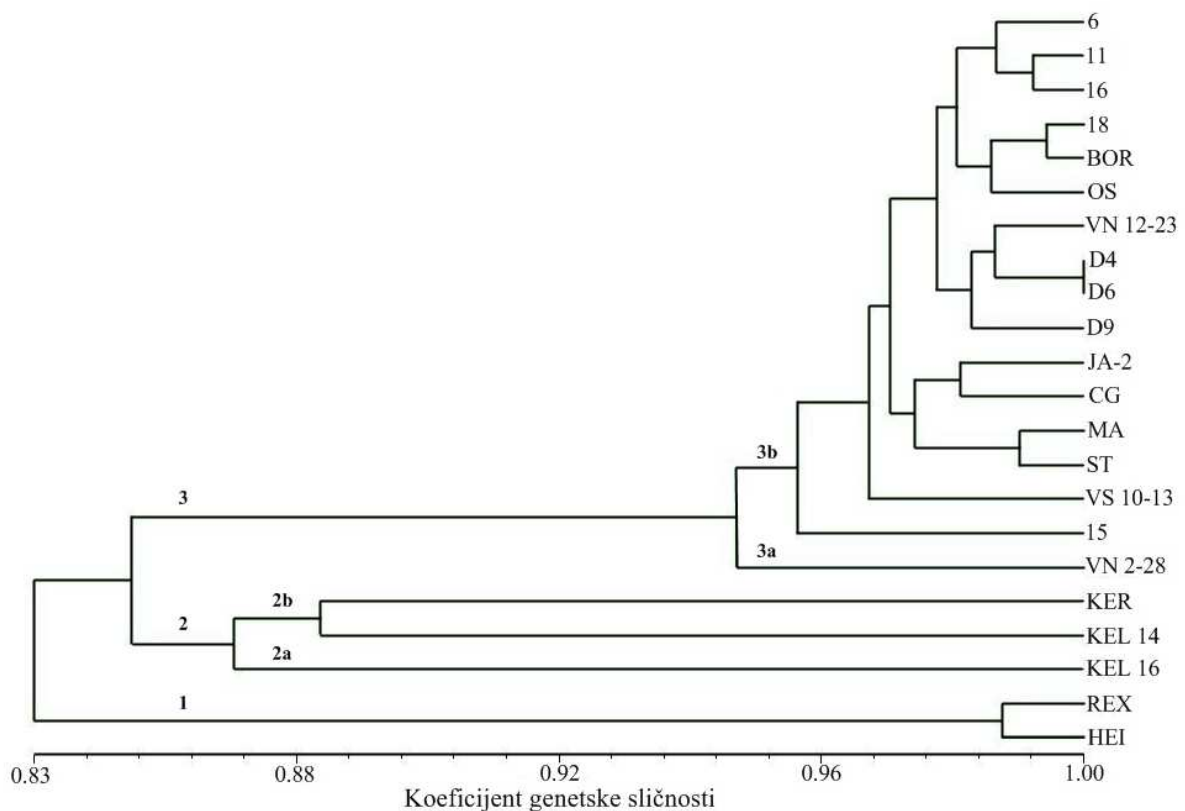
Ispitivane genotipove možemo svrstati u 3 skupine na dendrogramu (Slika 8.). Prvu skupinu čine 3 genotipa koji su razvrstani u dvije podskupine, s time da podskupinu 1a čini genotip Kelleris 16, a podskupinu 1b genotipovi Kelleris 14 i Kereška. Drugu skupinu čine genotipovi Rexelle i Heimann konzervna. U treću skupinu svrstano je ukupno 17 genotipova u dvije podskupine. Podskupinu 3a čini genotip VN 12-28, a podskupinu 3b 16 genotipova počevši s genotipom 15 pa sve do genotipa 6. Genotipovi Maraske, Cigančice i Oblačinske unutar ove podskupine imaju vrlo visoke koeficijente genetske sličnosti međusobno.

5.1.3. Usporedba rezultata mikrosatelitskih i AFLP biljega

Mantelovim testom ispitano je postojanje korelacije između matrica genetskih sličnosti dobivenih na temelju mikrosatelitskih i AFLP biljega. Koeficijent ove korelacije dobiven Mantelovim testom iznosio je 0,878 što znači da je korelacija između matrica sličnosti dva tipa biljega za ispitivane genotipove višnje statistički opravdana.

Zbog vrlo jake korelacije među matricama genetske sličnosti mikrosatelitskih i AFLP biljega, napravljena je matrica genetskih sličnosti (Tablica 30. u Prilogu) prema združenim podacima dobivenim SSR i AFLP biljezima. Ova matrica je korištena su izradu dendrograma UPGMA metodom pomoću NTSYSpc 2,1 programa.

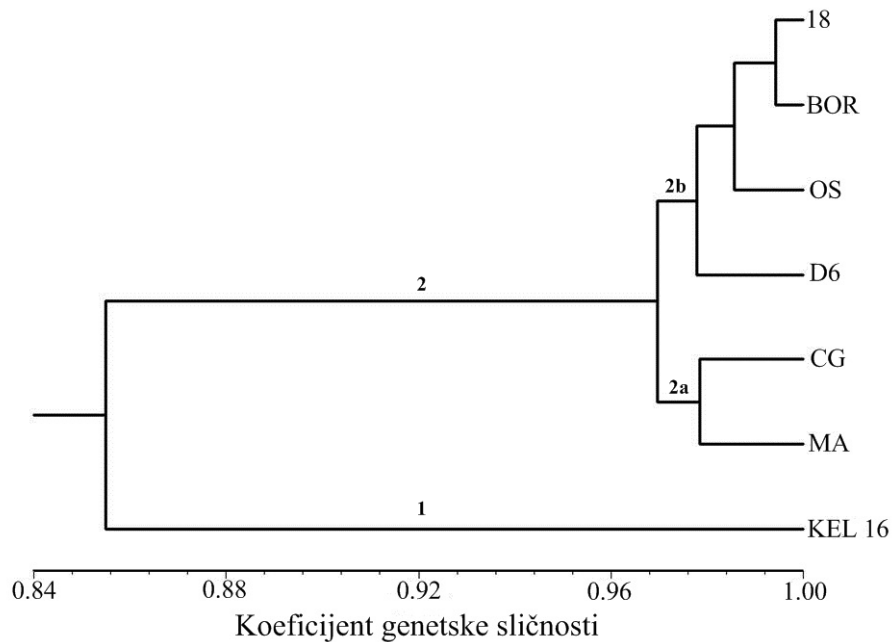
Prema prikazanom dendrogramu (Slika 9.) nije moguće razlikovati sve genotipove. Prvu skupinu čine genotipovi Rexelle i Heimann konzervna, a drugu skupinu čine dvije podskupine od kojih jednu čini genotip Kelleris 16, a drugu genotipovi Kelleris 14 i Kereška. U treću skupinu svrstano je ukupno 17 genotipova u dvije podskupine. Podskupinu 3a čini genotip VN 2-28, a podskupinu 3b čini 16 genotipova počevši s genotipom 15 pa sve do genotipa 6 s vrlo visokim koeficijentom genetske sličnosti međusobno.



Slika 9. UPGMA dendrogram za 22 genotipa višnje temeljem matrice genetske sličnosti prema mikrosatelitskim i AFLP biljezima.

5.1.4. Genetska varijabilnost sedam genotipova višnje u istraživanju fotosintetske učinkovitosti u uvjetima suše

Na UPGMA dendrogramu (Slika 10.) prikazana je genetska sličnost genotipova uključenih u istraživanje fotosintetske učinkovitosti u uvjetima suše. Iz dendrograma su vidljive dvije velike skupine. Jednu skupinu čini genotip Kelleris 16, a druga skupina se sastoji od dvije podskupine. Podskupinu 2a čine genotipovi Cigančica i Maraska, a podskupinu 2b genotipovi Oblačinske višnje (OS, 18, BOR i D6) iako sa vrlo visokim koeficijentom genetske sličnosti.



Slika 10. UPGMA dendrogram za sedam genotipova višnje temeljem matrice genetske sličnosti prema mikrosatelitskim i AFLP biljezima.

5.2. FOTOSINTETSKA UČINKOVITOST U UVJETIMA SUŠE

Tijekom deset dana pokusa praćena je vitalnost biljaka u oba tretmana. Uvenulim biljkama smatraju se biljke na kojima su se zbog gubitka turgora listovi samo opustili, dok se osušenim biljkama smatraju biljke na kojima su listovi potpuno dehidrirani, uvinutih rubova lisnih plojki i promijenjene boje. Petog dana pokusa biljke iz tretmana sušom su počele venuti izuzev biljaka genotipa OS koje su počele venuti tek osmoga dana pokusa (Slika 11.). Već šestog dana sve biljke tretmana sušom genotipa CG su uvenule dok je sedmog dana pokusa zabilježen određeni postotak osušenih biljaka kod svih genotipova osim genotipa OS i to od 10% kod genotipa 18 do 60% kod genotipa KEL 16. Najtolerantniji na sušne uvjete pokazao se genotip OS sa samo 20% uvenulih biljaka osmog dana tj. 45% uvenulih biljaka desetoga dana pokusa (Talica 13.). Najosjetljiviji na sušne uvjete su bili genotipovi KEL 16 i CG kod kojih je devetog dana pokusa zabilježeno 95, odnosno 100% osušenih biljaka, a i ostali istraživani genotipovi osim genotipa OS su pokazali sličan odgovor na sušu.

Tablica 13. Postotak uvenulih i osušenih (podatak u zagradi) biljaka tretmana sušom od petoga do desetoga dana pokusa.

Genotip/dani	5. dan	6. dan	7. dan	8. dan	9. dan	10. dan
KEL 16	50	90	100 (60)	100 (90)	100 (95)	100 (100)
CG	55	100	100 (30)	100 (85)	100 (100)	100 (100)
MA	45	90	95 (30)	100 (65)	100 (80)	100 (95)
OS	-	-	-	20	25	45
18	10	95	100 (10)	100 (30)	100 (60)	100 (75)
D6	20	60	80 (15)	90 (55)	100 (85)	100 (85)
BOR	35	70	85 (55)	95 (70)	95 (75)	100 (85)



Slika 11. Biljke tretmana sušom i kontrolnog tretmana (u pozadini) osmoga dana pokusa.

5.2.1. Relativni sadržaj vode u listu (RWC)

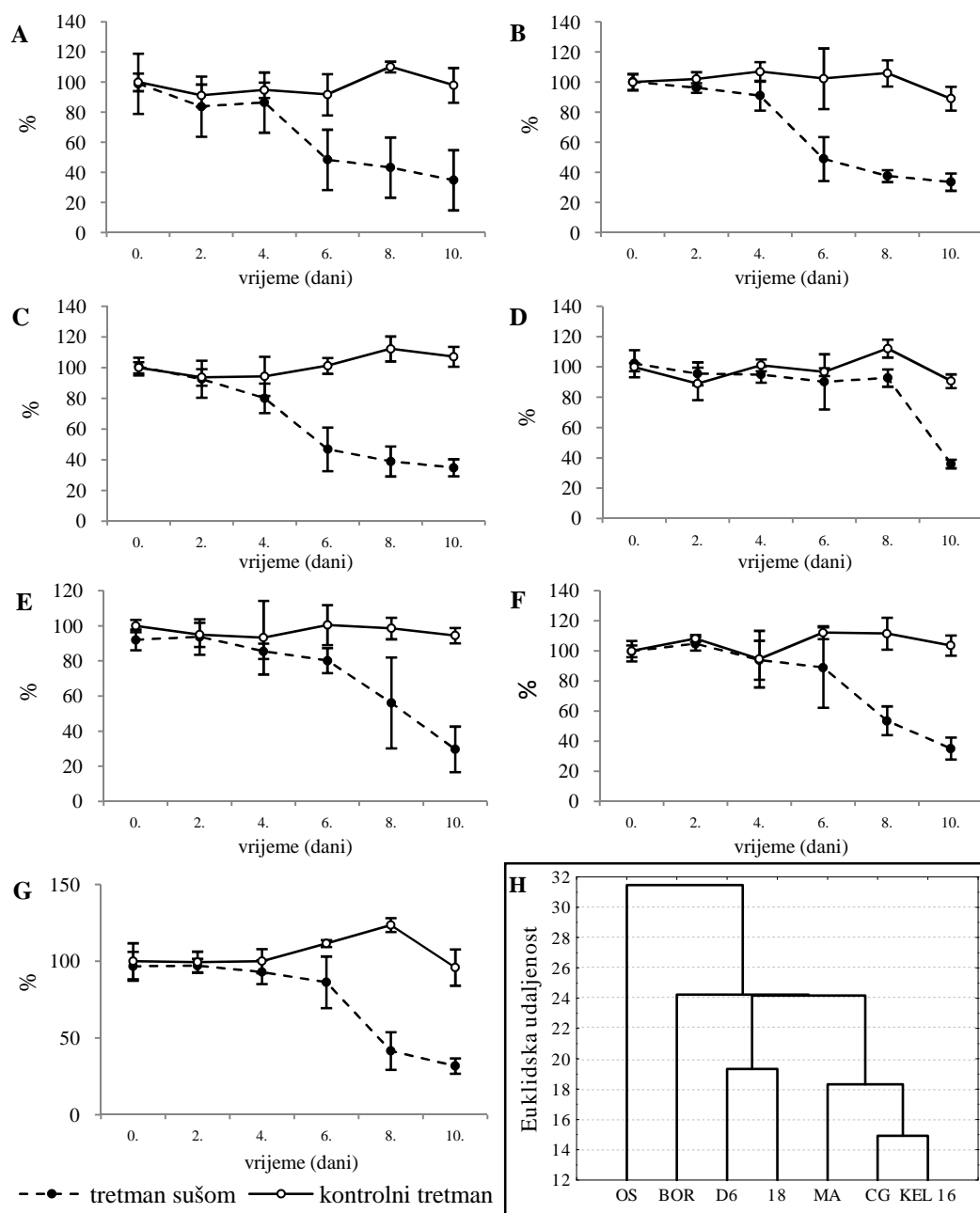
Analizom varijance ponovljenih mjerenja utvrđene su statistički opravdane razlike ($p < 0,001$) u relativnom sadržaju vode u listu među istraživanim genotipovima, između tretmana te za interakciju genotip \times tretman (Tablica 14.A). Univarijatna ANOVA ponovljenih mjerenja je pokazala statistički značajnu razliku ($p < 0,001$) u RWC-u unutar deset dana pokusa, ali i u interakcijama vremena s genotipom, tretmanom te genotip \times tretman interakcijom (Tablica 14.B).

Tablica 14. Vrijednosti F testa i razine vjerojatnosti u analizi varijance ponovljenih mjerenja koje testiraju učinke između (A) i unutar (B) subjekata za relativni sadržaj vode (RWC) u listovima višnje.

A	Izvor variranja	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Vjerojatnost > F
	Genotip	6	8,73	<0,0001
	Tretman	1	776,44	<0,0001
	Genotip \times Tretman	6	7,98	<0,0001

B	Izvor variranja	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Vjerojatnost > F
	Vrijeme (dani)	5	187,47	<0,0001
	Vrijeme \times Genotip	30	5,62	<0,0001
	Vrijeme \times Tretman	5	217,60	<0,0001
	Vrijeme \times Genotip \times Tretman	30	3,61	<0,0001

Do šestog dana pokusa nema značajne razlike u relativnom sadržaju vode između biljaka kontrolnog tretmana i tretmana sušom kod svih genotipova. Šestog dana pokusa RWC je značajno smanjen u biljkama tretmana sušom u odnosu na kontrolne biljke i to za 20,14% kod genotipa 18, za 22,67% kod BOR, 47,11% kod KEL16, 52,07% kod CG te 53,71% kod genotipa MA (Slika 12.A, B, C, E i G; Tablica 31. u Prilogu). U genotipovima OS i D6 značajno smanjenje RWC u biljkama tretmana sušom u odnosu na biljke kontrolnog tretmana zabilježeno je osmog dana pokusa. Smanjenje od 51,83% je zabilježeno kod genotipa D6 dok je smanjenje RWC u listovima OS genotipa bilo samo 17,28% (Slika 12.D i F).



Slika 12. Srednje vrijednosti i standardne devijacije relativnog sadržaja vode (RWC) u listovima biljaka kontrolnog tretmana i tretmana sušom za sedam genotipova višnje (A-G) tijekom deset dana pokusa i dendrogram (H) za sedam genotipova višnje na osnovi Euklidske udaljenosti između razlika parametra RWC u biljkama kontrolnog tretmana i tretmana sušom; A – Kel 16; B – CG; C – MA; D – OS; E – 18; F – D6; G – BOR.

Iz dendrograma (Slika 12.H) se vidi da se prema relativnom sadržaju vode u listu genotipovi svrstavaju u tri skupine. U prvoj skupini je genotip OS, u drugoj genotip BOR, a u trećoj

skupini su dvije podskupine. Jednu podskupinu čine genotipovi D6 i 18, a drugu genotipovi MA, CG i KEL 16.

5.2.2. Maksimalni prinos kvanta PSII ($F_v/F_m = TR_0/ABS$)

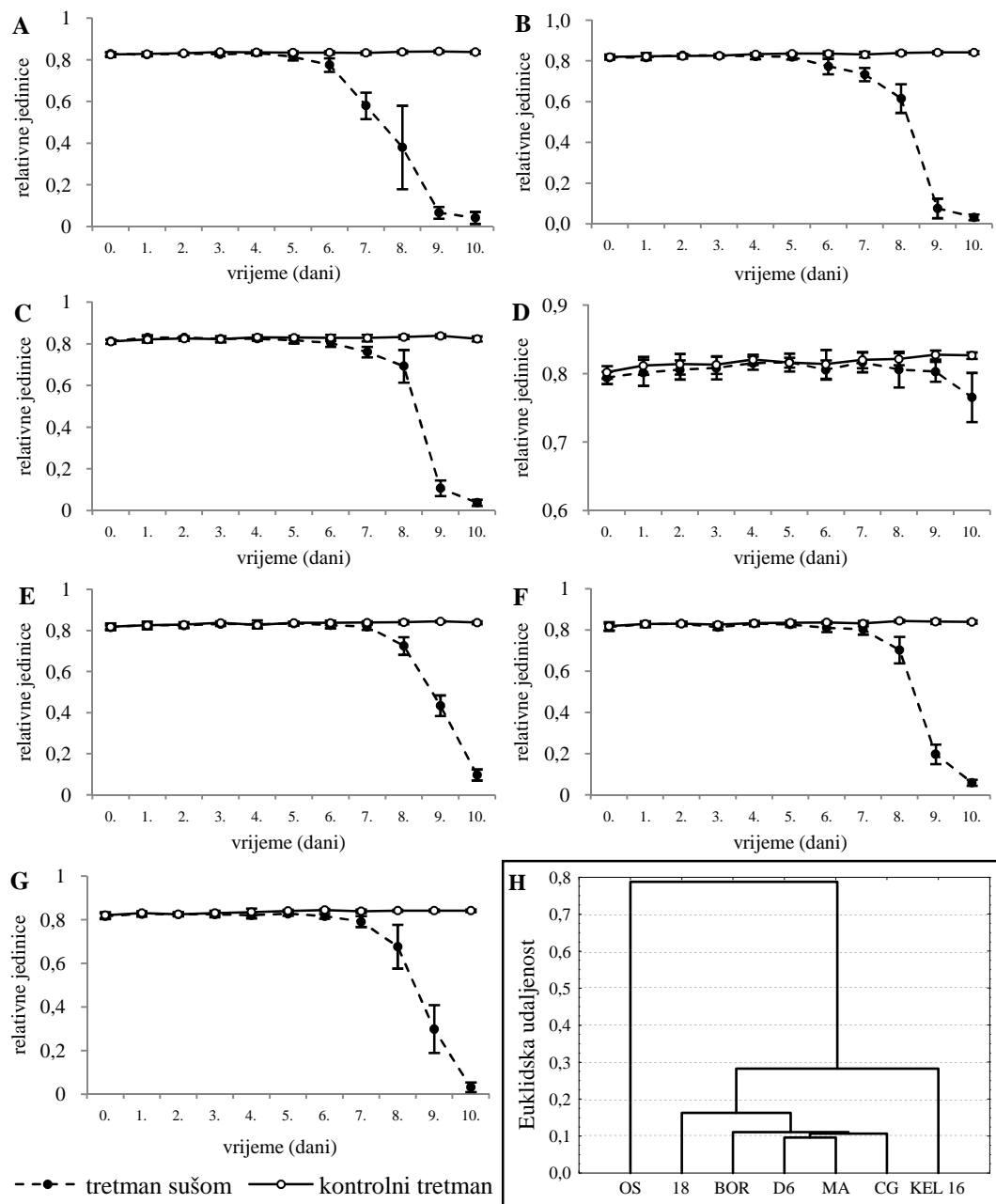
Iz Tablice 15.A vidi se da je analiza varijance ponovljenih mjerenja za maksimalni prinos kvanta PSII pokazala statistički opravdanu razliku ($p < 0,001$) između genotipova, između tretmana te za interakciju genotip \times tretman. Jednako tako, vrijednosti u Tablici 15.B ukazuju da je razlika u promjenama F_v/F_m kroz dane statistički opravdana, jednako kao i interakcije genotipa, tretmana te genotip \times tretman s vremenom (danima) ($p < 0,001$).

Tablica 15. Vrijednosti F testa i razine vjerojatnosti u analizi varijance ponovljenih mjerenja koje testiraju učinke između (A) i unutar (B) subjekata za maksimalni prinos kvanta PSII (F_v/F_m) u listovima višnje.

A	Izvor variranja	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Vjerojatnost > F
	Genotip	6	63,96	<0,0001
	Tretman	1	1819,04	<0,0001
	Genotip \times Tretman	6	70,02	<0,0001

B	Izvor variranja	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Vjerojatnost > F
	Vrijeme (dani)	9	887,31	<0,0001
	Vrijeme \times Genotip	54	36,17	<0,0001
	Vrijeme \times Tretman	9	901,23	<0,0001
	Vrijeme \times Genotip \times Tretman	54	35,93	<0,0001

Tijekom deset dana pokusa srednje vrijednosti maksimalnog prinosa kvanta PSII u kontrolnim biljkama bile su približno 0,83 izuzev genotipova CG i OS gdje su bile 0,826, odnosno 0,817. Do kraja pokusa tj. desetoga dana pokusa vrijednosti maksimalnog prinosa kvanta PSII u listovima biljaka tretmana sušom su drastično smanjene za sve genotipove osim OS (0,765) i iznosile su od 0,032 do 0,098 za genotipove BOR i 18 (Tablica 32. u Prilogu).



Slika 13. Srednje vrijednosti i standardne devijacije prinos kvanta PSII (F_v/F_m) u listovima biljaka kontrolnog tretmana i tretmana sušom za sedam genotipova višnje (A-G) tijekom deset dana pokusa i dendrogram (H) za sedam genotipova višnje na osnovi Euklidske udaljenosti između razlika parametra F_v/F_m u biljkama kontrolnog tretmana i tretmana sušom;

A – Kel 16; B – CG; C – MA; D – OS; E – 18; F – D6; G – BOR.

Značajno smanjenje F_v/F_m u biljkama tretmana sušom u odnosu na kontrolni tretman (Slika 13.A-G) zabilježeno je šestoga dana pokusa kod genotipova KEL 16 (0,775, odnosno 0,835) i CG (0,773, odnosno 0,837), sedmoga dana pokusa kod genotipa MA (0,760, odnosno 0,828),

a osmoga dana kod genotipova 18 (0,725, odnosno 0,840), D6 (0,703, odnosno 0,844) i BOR (0,676, odnosno 0,841). Kod genotipa OS maksimalni prinos kvanta PSII u listovima biljaka tretmana sušom tek je devetoga dana pokusa bio značajno smanjen (0,803) u odnosu na kontrolni tretman istoga dana (0,827) (Tablica 32. u Prilogu).

Na dendrogramu (Slika 13.H) izrađenom prema razlici između kontrolnog i tretmana sušom za maksimalni prinos kvanta PSII genotipovi se svrstavaju u tri skupine. Genotip OS je u prvoj skupini. Drugu skupinu čine dvije podskupine, jedna u kojoj je genotip 18 te druga u kojoj su genotipovi BOR, D6, MA i CG. Genotip KEL 16 je u trećoj skupini.

5.2.3. Indeks fotosintetske učinkovitosti (PI_{ABS})

ANOVA ponovljenih mjerenja je testirajući učinke između subjekata za indeks fotosintetske učinkovitosti pokazala statistički opravdanu razliku ($p < 0,001$) među genotipovima, tretmanima te u interakciji genotip \times tretman (Tablica 16.A). Analiza varijance ponovljenih mjerenja pokazala je statistički značajnu razliku ($p < 0,001$) u indeksu fotosintetske učinkovitosti unutar deset dana pokusa (dani) te unutar interakcija vrijeme \times genotip, vrijeme \times tretman i vrijeme \times genotip \times tretman (Tablica 16.B).

Tablica 16. Vrijednosti F testa i razine vjerojatnosti u analizi varijance ponovljenih mjerenja koje testiraju učinke između (A) i unutar (B) subjekata za indeks fotosintetske učinkovitosti (PI_{ABS}) u listovima višnje.

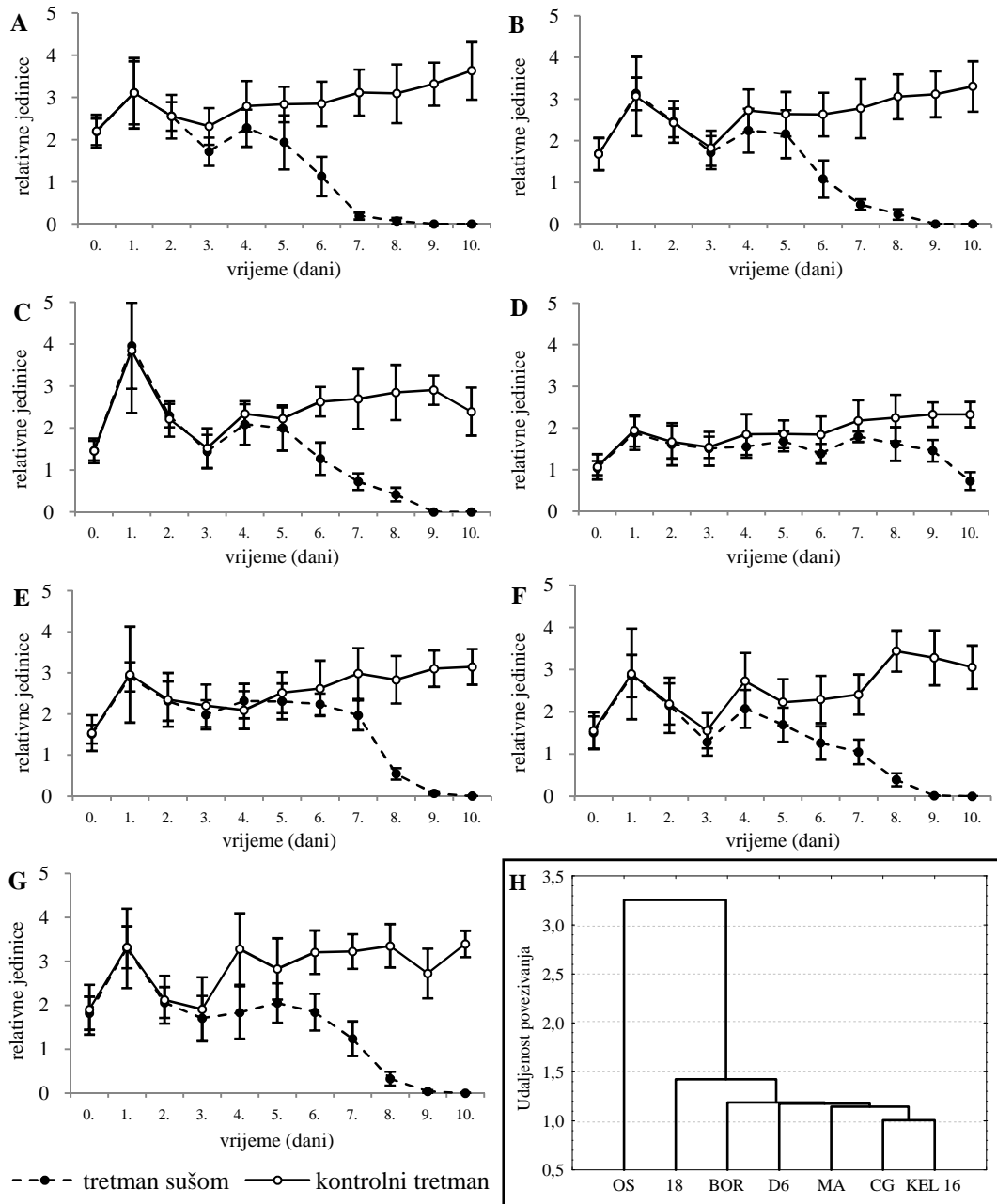
A	Izvor variranja	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Vjerojatnost > F
	Genotip	6	68,54	<0,0001
	Tretman	1	5878,46	<0,0001
	Genotip \times Tretman	6	152,41	<0,0001

B	Izvor variranja	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Vjerojatnost > F
	Vrijeme (dani)	9	1160,11	<0,0001
	Vrijeme \times Genotip	54	39,21	<0,0001
	Vrijeme \times Tretman	9	1356,35	<0,0001
	Vrijeme \times Genotip \times Tretman	54	37,11	<0,0001

Iz Slike 14.A-G može se vidjeti kako se indeks fotosintetske učinkovitosti mijenjao tijekom 10 dana pokusa u listovima ispitivanih genotipova. Šestoga dana pokusa značajno smanjenje indeksa fotosintetske učinkovitosti u biljkama tretmana sušom u odnosu na biljke kontrolnog tretmana zabilježeno je kod genotipova KEL 16 (1,133, odnosno 2,852), CG (1,086, odnosno 2,634), MA (1,274, odnosno 2,631), D6 (1,264, odnosno 2,292) i BOR (1,843, odnosno 3,208) (Tablica 33. u Prilogu). Značajno smanjenje PI_{ABS} u biljkama tretmana sušom u odnosu na kontrolne biljke u genotipovima 18 i OS pokazalo se osmoga dana pokusa za genotip 18 (0,545, odnosno 2,836), odnosno devetoga dana pokusa u listovima genotipa OS (1,455, odnosno 2,322).

Prosječna srednja vrijednost parametra PI_{ABS} u listovima biljaka kontrolnog tretmana svih genotipova tijekom svih deset dana pokusa iznosila je 2,55, a kretala se od 2,465 do 2,893 osim kod genotipa OS za koji je iznosila 1,891. Kod svih genotipova osim OS, do zadnjega dana pokusa vrijednost parametra PI_{ABS} je pala na nulu (Tablica 33. u Prilogu), dok je kod genotipa OS desetoga dana pokusa indeks fotosintetske učinkovitosti bio 0,730.

Slika 14.H prikazuje dendrogram za indeks fotosintetske učinkovitosti ispitivanih sedam genotipova višnje koji se svrstavaju u tri skupine. Jednu čini genotip OS, drugu 18, a treću genotipovi BOR, D6, MA, CG i KEL 16.



Slika 14. Srednje vrijednosti i standardne devijacije indeksa fotosintetske učinkovitosti (PI_{ABS}) u listovima biljaka kontrolnog tretmana i tretmana sušom za sedam genotipova višnje (A-G) tijekom deset dana pokusa i dendrogram (H) za sedam genotipova višnje na osnovi Euklidske udaljenosti između razlika parametra PI_{ABS} u biljkama kontrolnog tretmana i tretmana sušom; A – Kel 16; B – CG; C – MA; D – OS; E – 18; F – D6; G – BOR.

5.2.4. Omjer koncentracije klorofila reakcijskih središta i koncentracije antena klorofila (RC/ABS)

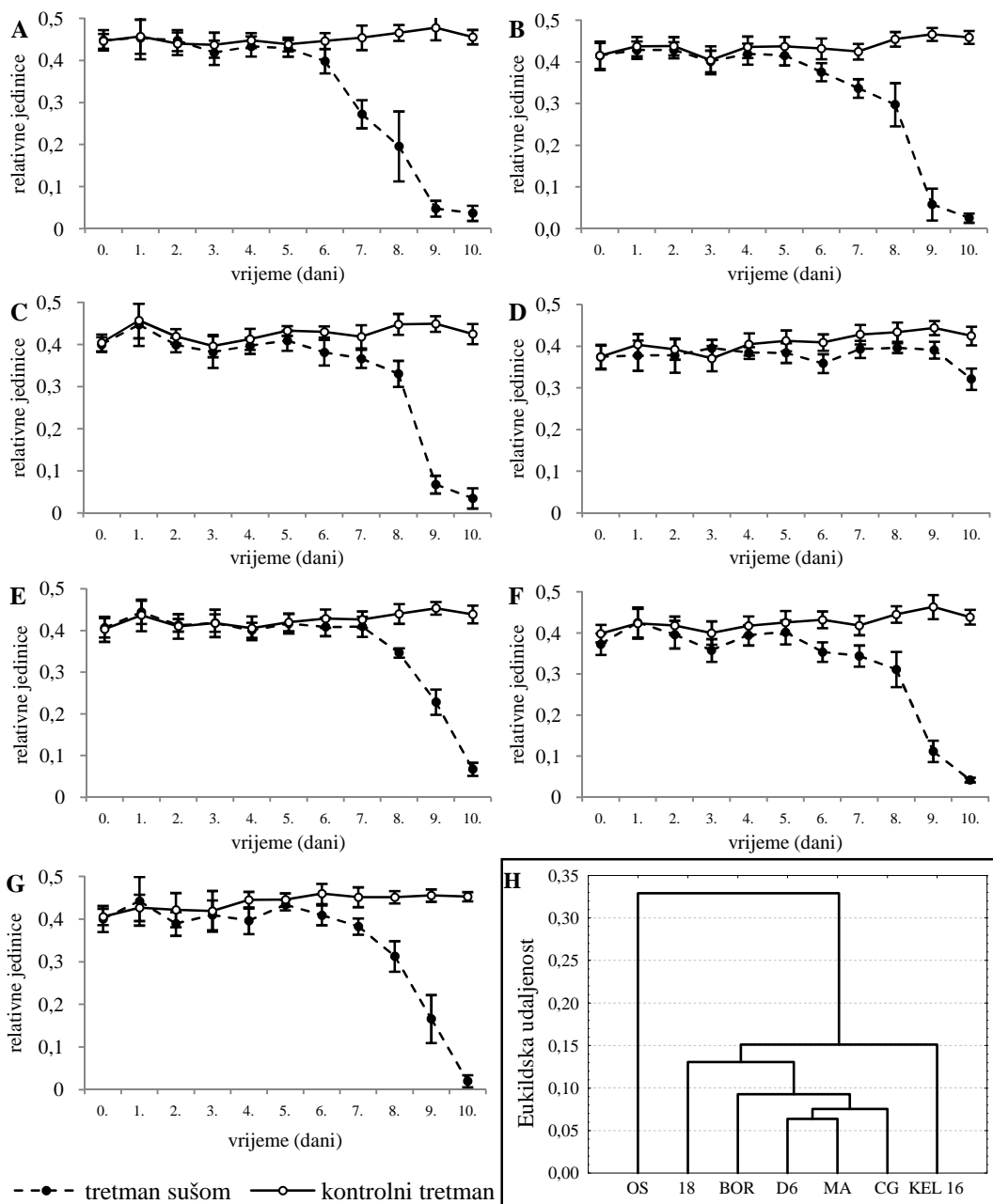
ANOVA ponovljenih mjerenja je testirajući učinke između subjekata za omjer koncentracije klorofila reakcijskih središta i koncentracije antena klorofila (RC/ABS) pokazala statistički opravdanu razliku ($p < 0,001$) među genotipovima, tretmanima te u interakciji genotip \times tretman (Tablica 17.A). Analiza varijance ponovljenih mjerenja za parametar RC/ABS pokazala je statistički opravdanu razliku ($p < 0,001$) unutar deset dana pokusa te unutar interakcija vrijeme \times genotip, vrijeme \times tretman i vrijeme \times genotip \times tretman (Tablica 17.B).

Tablica 17. Vrijednosti F testa i razine vjerojatnosti u analizi varijance ponovljenih mjerenja koje testiraju učinke između (A) i unutar (B) subjekata za omjer koncentracije klorofila reakcijskih središta i koncentracije antena klorofila (RC/ABS) u listovima višnje.

A	Izvor variranja	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Vjerojatnost > F
	Genotip	6	25,64	<0,0001
	Tretman	1	1598,93	<0,0001
	Genotip \times Tretman	6	45,03	<0,0001

B	Izvor variranja	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Vjerojatnost > F
	Vrijeme (dani)	9	496,62	<0,0001
	Vrijeme \times Genotip	54	21,49	<0,0001
	Vrijeme \times Tretman	9	550,55	<0,0001
	Vrijeme \times Genotip \times Tretman	54	20,90	<0,0001

Iz Slike 15.A-G može se vidjeti kako se omjer koncentracije klorofila reakcijskih središta i koncentracije antena klorofila mijenjao tijekom 10 dana pokusa u tretmanu sušom u odnosu na kontrolni tretman. Srednje vrijednosti ovoga parametra za svih deset dana pokusa u listovima biljaka kontrolnog tretmana kretale su se u rasponu od 0,409 kod genotipa OS do 0,451 kod genotipa KEL 16. Do kraja pokusa tj. desetog dana pokusa vrijednosti parametra RC/ABS u tretmanu sušom su pale ispod 0,07 (0,068 kod genotipa 18 do 0,020 kod BOR) kod svih genotipova osim genotipa OS kod kojega je parametar RC/ABS iznosio 0,321 (Tablica 34. u Prilogu).



Slika 15. Srednje vrijednosti i standardne devijacije omjera koncentracije klorofila reakcijskih središta i koncentracije antena klorofila (RC/ABS) u listovima biljaka kontrolnog tretmana i tretmana sušom za sedam genotipova višnje (A-G) tijekom deset dana pokusa i dendrogram (H) za sedam genotipova višnje na osnovi Euklidske udaljenosti između razlika parametra RC/ABS u biljkama kontrolnog tretmana i tretmana sušom;

A – Kel 16; B – CG; C – MA; D – OS; E – 18; F – D6; G – BOR.

Prva značajna razlika između kontrolnog i tretmana sušom izmjerena je šestog dana pokusa u listovima genotipova CG (0,432, odnosno 0,376) i D6 (0,432, odnosno 0,353). Genotipovi

KEL 16 i BOR su sedmog dana imali značajno niži parametar RC/ABS u biljkama tretmana sušom u odnosu na kontrolni tretman s vrijednostima 0,272 u biljkama izloženim suši te 0,454 u kontrolnim biljkama kod genotipa KEL 16, a u listovima genotipa BOR 0,383, odnosno 0,452 u kontrolnoj skupini. Razlike parametra RC/ABS kod genotipova MA i 18 bile su značajne osmoga dana pokusa kada je parametar RC/ABS u biljkama tretmana sušom bio 0,331 kod genotipa MA, a 0,346 kod genotipa 18, dok je u kontrolnom tretmanu iznosio 0,448 odnosno 0,440 (Tablica 34. u Prilogu).

Na dendrogramu (Slika 15.H) se genotipovi svrstavaju u tri skupine. Genotip OS je u prvoj skupini. Drugu skupinu čine dvije podskupine, jedna u kojoj je genotip 18 te druga u kojoj su genotipovi BOR, D6, MA i CG. Genotip KEL 16 je u trećoj skupini.

5.2.5. Omjer hvatanja ekscitona i disipacije energije (TR_0/DI_0)

Iz Tablice 18.A vidi se da je analiza varijance ponovljenih mjerenja za omjer hvatanja ekscitona i disipacije energije pokazala statistički opravdanu razliku ($p < 0,001$) između genotipova, tretmana te za interakciju genotip \times tretman. Jednako tako, vrijednosti u Tablici 18.B ukazuju da u ovom parametru postoji statistički opravdana razlika ($p < 0,001$) unutar deset dana pokusa te unutar interakcija vremena s genotipom, tretmanom i genotip \times tretman interakcijom.

Promjene u omjeru hvatanja ekscitona i disipacije energije tijekom deset dana pokusa u kontrolnom i tretmanu sušom prikazane su na Slici 16.A-G. Prosječna srednja vrijednost parametra TR_0/DI_0 tijekom svih deset dana pokusa u kontrolnom tretmanu iznosila je 4,925, s time da je srednja vrijednost ovoga parametra za genotip OS bila najniža (4,485) dok je najviša srednja vrijednost zabilježena kod genotipa BOR (5,107). Kod svih genotipova osim OS, do zadnjega dana pokusa TR_0/DI_0 je pao ispod 0,07, dok je kod genotipa OS desetoga dana pokusa bio 3,340 (Tablica 35. u Prilogu).

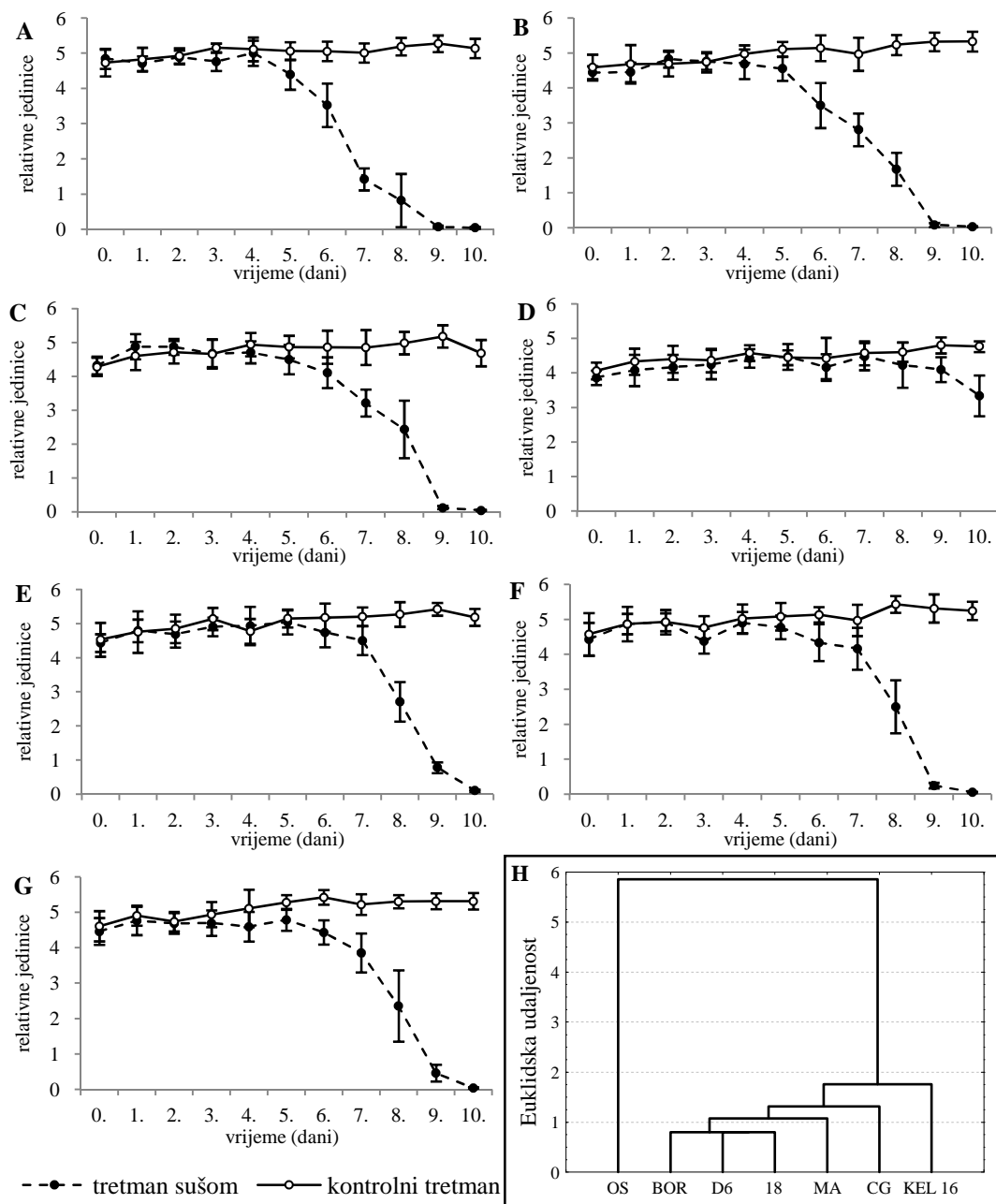
Tablica 18. Vrijednosti F testa i razine vjerojatnosti u analizi varijance ponovljenih mjerenja koje testiraju učinke između (A) i unutar (B) subjekata za omjer hvatanja ekscitona i disipacije energije (TR_0/DI_0) u listovima višnje.

A	Izvor variranja	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Vjerojatnost > F
	Genotip	6	95,78	<0,0001
	Tretman	1	4307,13	<0,0001
	Genotip × Tretman	6	132,77	<0,0001

B	Izvor variranja	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Vjerojatnost > F
	Vrijeme (dani)	9	1342,70	<0,0001
	Vrijeme × Tretman	54	46,80	<0,0001
	Vrijeme × Tretman	9	1429,76	<0,0001
	Vrijeme × Genotip × Tretman	54	45,64	<0,0001

Značajno smanjenje omjera hvatanja ekscitona i disipacije energije u biljkama tretmana sušom u odnosu na kontrolni tretman zabilježeno je šestoga dana pokusa kod genotipova KEL 16 (3,528, odnosno 5,057), CG (3,504, odnosno 5,143) i BOR (4,435, odnosno 5,425), sedmoga dana pokusa kod genotipa MA (3,211, odnosno 4,850), osmoga dana kod genotipova 18 (2,713, odnosno 5,272) i D6 (2,508, odnosno 5,432), a tek devetoga dana pokusa kod genotipa OS (4,098, odnosno 4,800) (Tablica 35. u Prilogu).

Na dendrogramu (Slika 16.H) Genotip OS je u prvoj skupini. Drugu skupinu čine dvije podskupine, jedna u kojoj je genotip CG te druga u kojoj su genotipovi BOR, D6, 18 i MA. Genotip KEL 16 je u trećoj skupini.



Slika 16. Srednje vrijednosti i standardne devijacije omjera hvatanja ekscitona i disipacije energije (TR_0/DI_0) u listovima biljaka kontrolnog tretmana i tretmana sušom za sedam genotipova višnje (A-G) tijekom deset dana pokusa i dendrogram (H) za sedam genotipova višnje na osnovi Euklidske udaljenosti između razlika parametra TR_0/DI_0 u biljkama kontrolnog tretmana i tretmana sušom; A – Kel 16; B – CG; C – MA; D – OS; E – 18; F – D6; G – BOR.

5.2.6. Transport elektrona dalje od primarnog akceptora Q_A ($ET_0/(TR_0-ET_0)$)

ANOVA ponovljenih mjerenja je testirajući učinke između subjekata za transport elektrona dalje od primarnog akceptora Q_A ($ET_0/(TR_0-ET_0)$) pokazala statistički opravdanu razliku ($p < 0,001$) između genotipova, tretmana i u interakciji genotip \times tretman (Tablica 19.A) kao i unutar deset dana pokusa te unutar interakcija vrijeme \times genotip, vrijeme \times tretman i vrijeme \times genotip \times tretman (Tablica 19.B).

Tablica 19. Vrijednosti F testa i razine vjerojatnosti u analizi varijance ponovljenih mjerenja koje testiraju učinke između (A) i unutar (B) subjekata za transport elektrona dalje od primarnog akceptora Q_A ($ET_0/(TR_0-ET_0)$) u listovima višnje.

A	Izvor variranja	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Vjerojatnost > F
	Genotip	6	4,08	0,0011
	Tretman	1	880,62	<0,0001
	Genotip \times Tretman	6	13,60	<0,0001

B	Izvor variranja	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Vjerojatnost > F
	Vrijeme (dani)	9	94,53	<0,0001
	Vrijeme \times Genotip	54	6,23	<0,0001
	Vrijeme \times Tretman	9	97,84	<0,0001
	Vrijeme \times Genotip \times Tretman	54	5,04	<0,0001

Tijekom deset dana pokusa srednje vrijednosti transporta elektrona dalje od primarnog akceptora Q_A u kontrolnom tretmanu kretale su se od 1,012 kod genotipa OS do 1,259 kod genotipa KEL 16, s prosječnom srednjom vrijednost svig genotipova 1,176 (Tablica 36. u Prilogu).

Značajno smanjenje parametra $ET_0/(TR_0-ET_0)$ u biljkama tretmana sušom u odnosu na kontrolni tretman (Slika 17.A-G) zabilježeno je šestoga dana pokusa kod genotipova KEL 16, CG i MA. Vrijednost ovoga parametra šestoga dana pokusa kod genotipa KEL 16 iznosila 0,776 u listovima biljaka tretmana sušom te 1,259 u kontrolnom tretmanu, kod genotipa CG 0,784, odnosno 1,180 te kod genotipa MA 0,796, odnosno 1,262. Kod genotipova D6 i BOR

$ET_0/(TR_0-ET_0)$ u tretmanu sušom bila 0,721 kod genotipa D6, a 0,825 kod genotipa BOR, dok je u kontrolnom tretmanu iznosila 1,151 odnosno 1,364. Osmoga dana pokusa značajne razlike između kontrolnog i tretmana sušom zabilježene su kod genotipa 18 s vrijednostima parametra $ET_0/(TR_0-ET_0)$ 1,214 u kontrolnom, a 0,576 u tretmanu sušom. U listovima biljaka genotipa OS tretmana sušom transport elektrona dalje od primarnog akceptora Q_A je tek desetoga dana pokusa bio značajno manji (0,670) nego u kontrolnom tretmanu (1,145) (Tablica 36. u Prilogu).

Na dendrogramu (Slika 17.H) se genotipovi odvajaju u tri skupine. U prvoj skupini je genotip OS, u drugoj genotip 18, a treću čine dvije podskupine. U prvoj podskupini su genotipovi BOR i D6, a u drugoj MA, CG i KEL 16.

5.2.7. Gustoća aktivnih reakcijskih središta (RC/CS_0)

ANOVA ponovljenih mjerenja je testirajući učinke između subjekata za gustoću aktivnih reakcijskih središta pokazala je statistički opravdanu razliku ($p < 0,001$) među genotipovima, između tretmana te u interakciji genotip \times tretman (Tablica 20.A). Analiza varijance ponovljenih mjerenja za parametar RC/CS_0 pokazala je statistički značajnu razliku unutar deset dana pokusa, te unutar interakcija vrijeme \times genotip, vrijeme \times tretman i vrijeme \times genotip \times tretman (Tablica 20.B).

Tablica 20. Vrijednosti F testa i razine vjerojatnosti u analizi varijance ponovljenih mjerenja koje testiraju učinke između (A) i unutar (B) subjekata za gustoću aktivnih reakcijskih središta (RC/CS_0) u listovima višnje.

A	Izvor variranja	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Vjerojatnost > F
	Genotip	6	16,34	< 0,0001
	Tretman	1	707,59	< 0,0001
	Genotip \times Tretman	6	25,05	< 0,0001

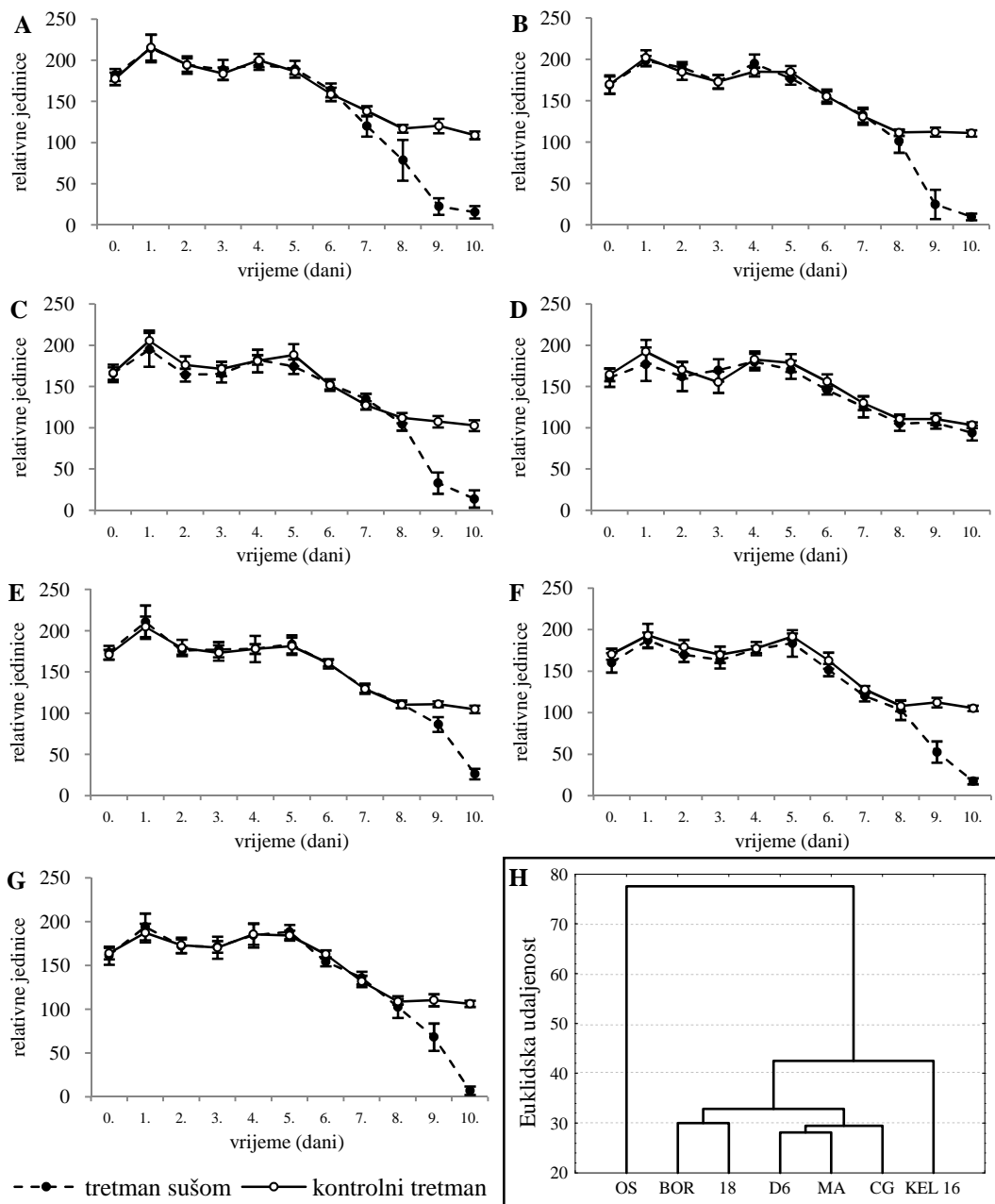
B	Izvor variranja	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Vjerojatnost > F
	Vrijeme (dani)	9	938,83	< 0,0001
	Vrijeme \times Tretman	54	17,24	< 0,0001
	Vrijeme \times Tretman	9	348,31	< 0,0001
	Vrijeme \times Genotip \times Tretman	54	17,16	< 0,0001

Značajnim smanjenjem gustoće aktivnih reakcijskih središta na sušne uvjete u biljkama tretmana sušom u odnosu na kontrolni tretman (Slika 18.A-G) prvi je reagirao genotip KEL 16 osmog dana pokusa, s vrijednostima parametra RC/CS_0 78,787 u listovima biljaka tretmana sušom, odnosno 117,133 u listovima biljaka kontrolnog tretmana. Kod svih ostalih genotipova, osim genotipa OS, značajno smanjenje gustoće aktivnih reakcijskih središta tretmana sušom u odnosu na kontrolni tretman, zabilježeno je devetoga dana pokusa.

Vrijednosti ovoga parametra devetoga dana pokusa bile su: kod genotipa CG 25,084 u tretmanu sušom, a 112,438 u kontrolnom tretmanu, kod genotipa MA 33,299 u tretmanu sušom, a 107,665 u kontrolnom tretmanu, kod genotipa 18 86,420 u tretmanu sušom, a 111,153 u kontrolnom tretmanu, kod genotipa D6 52,790 u tretmanu sušom, a 112,330 u kontrolnom tretmanu te kod genotipa BOR 68,286 u tretmanu sušom, a 110,418 u kontrolnom tretmanu (Tablica 37. u Prilogu). Kod genotipa OS do kraja pokusa nije zabilježeno značajno smanjenje gustoće aktivnih reakcijskih središta u listovima biljaka tretmana sušom u odnosu na kontrolni tretman.

Srednje vrijednosti gustoće aktivnih reakcijskih središta u kontrolnom tretmanu tijekom svih deset dana pokusa kretale su se od 150,444 kod genotipa OS do 163,814 kod genotipa KEL 16, a prosječna srednja vrijednost svih genotipova za ovaj parametar u kontrolnom tretmanu je bila 155,265.

Na dendrogramu (Slika 18.H) se izdvajaju tri skupine. U prvoj je skupini genotip OS, a druga se sastoji od dvije podskupine. Prvu podskupinu čine genotipovi BOR i 18, a drugu D6, MA i CG. Genotip KEL 16 je u trećoj skupini.



Slika 18. Srednje vrijednosti i standardne devijacije gustoće aktivnih reakcijskih središta (RC/CS_0) u listovima biljaka kontrolnog tretmana i tretmana sušom za sedam genotipova višnje (A-G) tijekom deset dana pokusa i dendrogram (H) za sedam genotipova višnje na osnovi Euklidske udaljenosti između razlika parametra RC/CS_0 u biljkama kontrolnog tretmana i tretmana sušom; A – Kel 16; B – CG; C – MA; D – OS; E – 18; F – D6; G – BOR.

5.2.8. Apsorpcija po aktivnom reakcijskom središtu (ABS/RC)

Na Slici 19. se vidi sa su devetoga i desetoga dana pokusa vrijednosti parametra ABS/RC u biljkama tretmana sušom jako porasle, stoga sam podatke dobivene tijekom ova dva dana pokusa prikazala na dodatnom grafu s prilagođenim vrijednostima ordinate. Iz istoga razloga, a i zbog velikih standardnih devijacija desetoga dana pokusa u ovom parametru, ANOVA je napravljena prema podacima za prvih osam dana pokusa, a za deveti i deseti dan pokusa je iz grafova jasno vidljivo da postoje značajne razlike između tretmana sušom i kontrolnog tretmana.

ANOVA ponovljenih mjerenja je testirajući učinke između subjekata za apsorpciju po aktivnom reakcijskom središtu (ABS/RC) pokazala je statistički opravdanu razliku ($p < 0,001$) među genotipovima, tretmanima i u interakciji genotip \times tretman (Tablica 21.A) tijekom osam dana pokusa. Analiza varijance ponovljenih mjerenja za parametar ABS/RC pokazala je značajan učinak unutar subjekata ($p < 0,001$): vrijeme (dani), vrijeme \times genotip, vrijeme \times tretman i vrijeme \times genotip \times tretman (Tablica 21.B).

Tablica 21. Vrijednosti F testa i razine vjerojatnosti u analizi varijance ponovljenih mjerenja koje testiraju učinke između (A) i unutar (B) subjekata za apsorpciju po aktivnom reakcijskom središtu (ABS/RC) u listovima višnje.

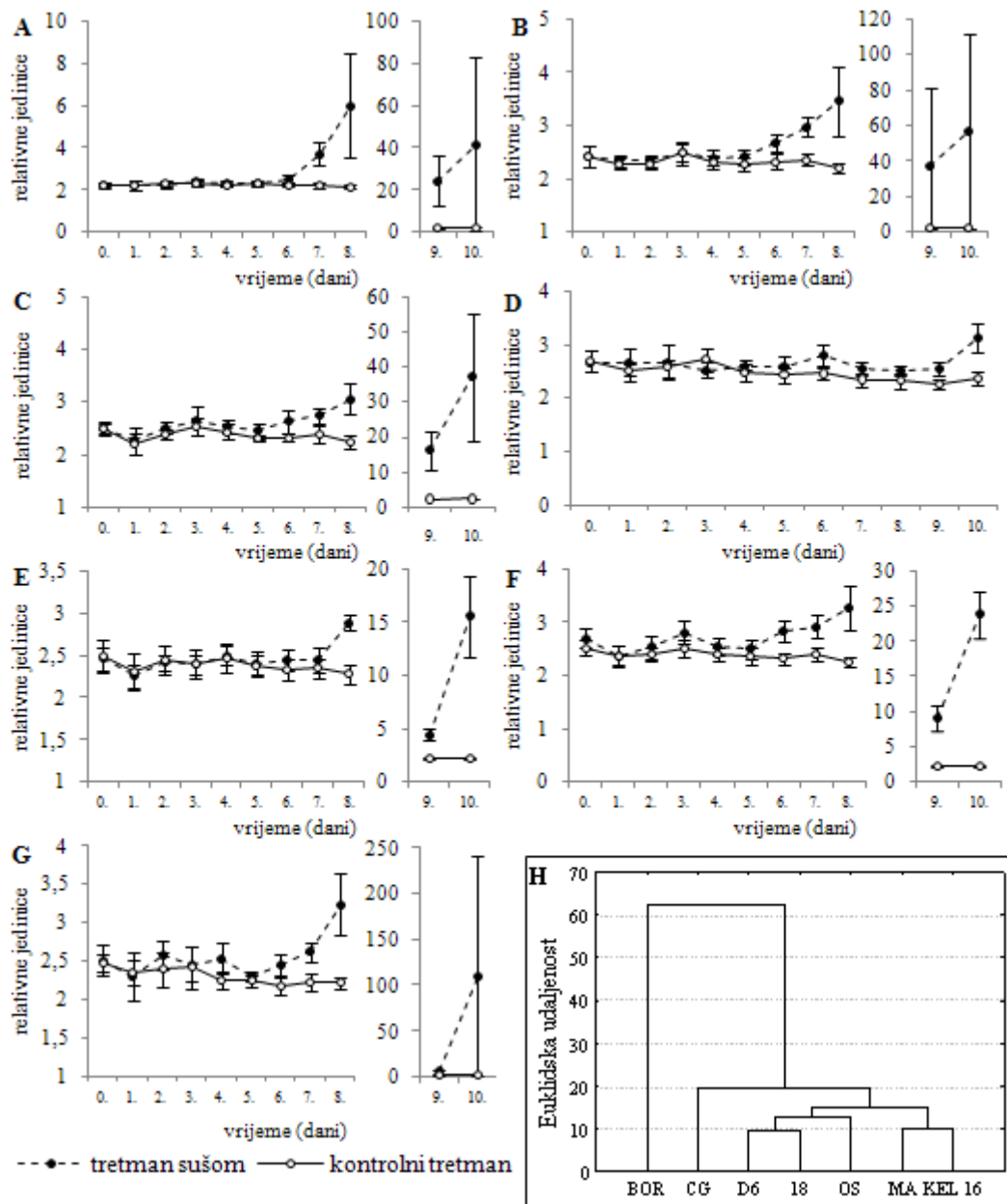
A	Izvor variranja	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Vjerojatnost > F
	Genotip	6	8,14	< 0,0001
	Tretman	1	380,55	< 0,0001
	Genotip \times Tretman	6	13,60	< 0,0001

B	Izvor variranja	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Vjerojatnost > F
	Vrijeme (dani)	7	41,33	< 0,0001
	Vrijeme \times Genotip	42	8,82	< 0,0001
	Vrijeme \times Tretman	7	74,98	< 0,0001
	Vrijeme \times Genotip \times Tretman	42	7,20	< 0,0001

Iz Slike 19.A-G može se vidjeti kako se apsorpcija po aktivnom reakcijskom središtu mijenjala tijekom 10 dana pokusa u listovima ispitivanih genotipova. Šestoga dana pokusa značajan porast apsorpcije po aktivnom reakcijskom središtu u biljkama tretmana sušom u odnosu na kontrolni tretman zabilježen je kod genotipa D6 (2,840, odnosno 2,319), sedmoga dana pokusa kod genotipova KEL 16 (3,728, odnosno 2,209), CG (2,980, odnosno 2,358) i BOR (2,617, odnosno 2,218), osmoga dana kod genotipova MA (3,046, odnosno 2,236) i 18 (2,889, odnosno 2,278), a tek devetoga dana pokusa kod genotipa OS (2,563, odnosno 2,255) (Tablica 38. u Prilogu).

Srednje vrijednosti parametra apsorpcija po aktivnom reakcijskom središtu u kontrolnim biljkama tijekom svih deset dana pokusa kretale su se od 2.180 do 2.360, a prosječna srednja vrijednost svih genotipova je bila 2.335. Kod svih genotipova osim OS, do zadnjega dana pokusa ABS/RC je porastao iznad 4 (čak do vrijednosti 110.802 kod BOR), dok je kod genotipa OS desetoga dana pokusa bio 3.130 (Slika 19.D; Tablica 38. u Prilogu).

Na dendrogramu (Slika 19.H) se genotipovi grupiraju u tri skupine. Prvu čini genotip BOR, drugu CG, a treća se sastoji od dvije podskupine. U prvoj podskupini su genotipovi D6, 18 i OS, a u drugoj genotipovi MA i KEL 16.



Slika 20. Srednje vrijednosti i standardne devijacije apsorpcije po aktivnom reakcijskom središtu (ABS/RC) u listovima biljaka kontrolnog tretmana i tretmana sušom za sedam genotipova višnje (A-G) tijekom deset dana pokusa i dendrogram (H) za sedam genotipova višnje na osnovi Euklidske udaljenosti između razlika parametra ABS/RC u biljkama kontrolnog tretmana i tretmana sušom;
 A – Kel 16; B – CG; C – MA; D – OS; E – 18; F – D6; G – BOR.

5.2.9. Hvatanje ekscitona po aktivnom reakcijskom središtu (TR_0/RC)

Iz Tablice 22.A vidi se da je analiza varijance ponovljenih mjerenja za hvatanje ekscitona po aktivnom reakcijskom središtu pokazala statistički opravdanu razliku ($p < 0,001$) između genotipova te za interakciju genotip \times tretman dok među tretmanima razlika nije statistički značajna. Jednako tako, vrijednosti u Tablici 22.B ukazuju da je u parametru TR_0/RC razlika statistički opravdana ($p < 0,001$) unutar deset dana pokusa te unutar interakcija vremena s genotipovima, tretmanima te genotip \times tretman interakcijom.

Tablica 22. Vrijednosti F testa i razine vjerojatnosti u analizi varijance ponovljenih mjerenja koje testiraju učinke između (A) i unutar (B) subjekata za hvatanje ekscitona po aktivnom reakcijskom središtu (TR_0/RC) u listovima višnje.

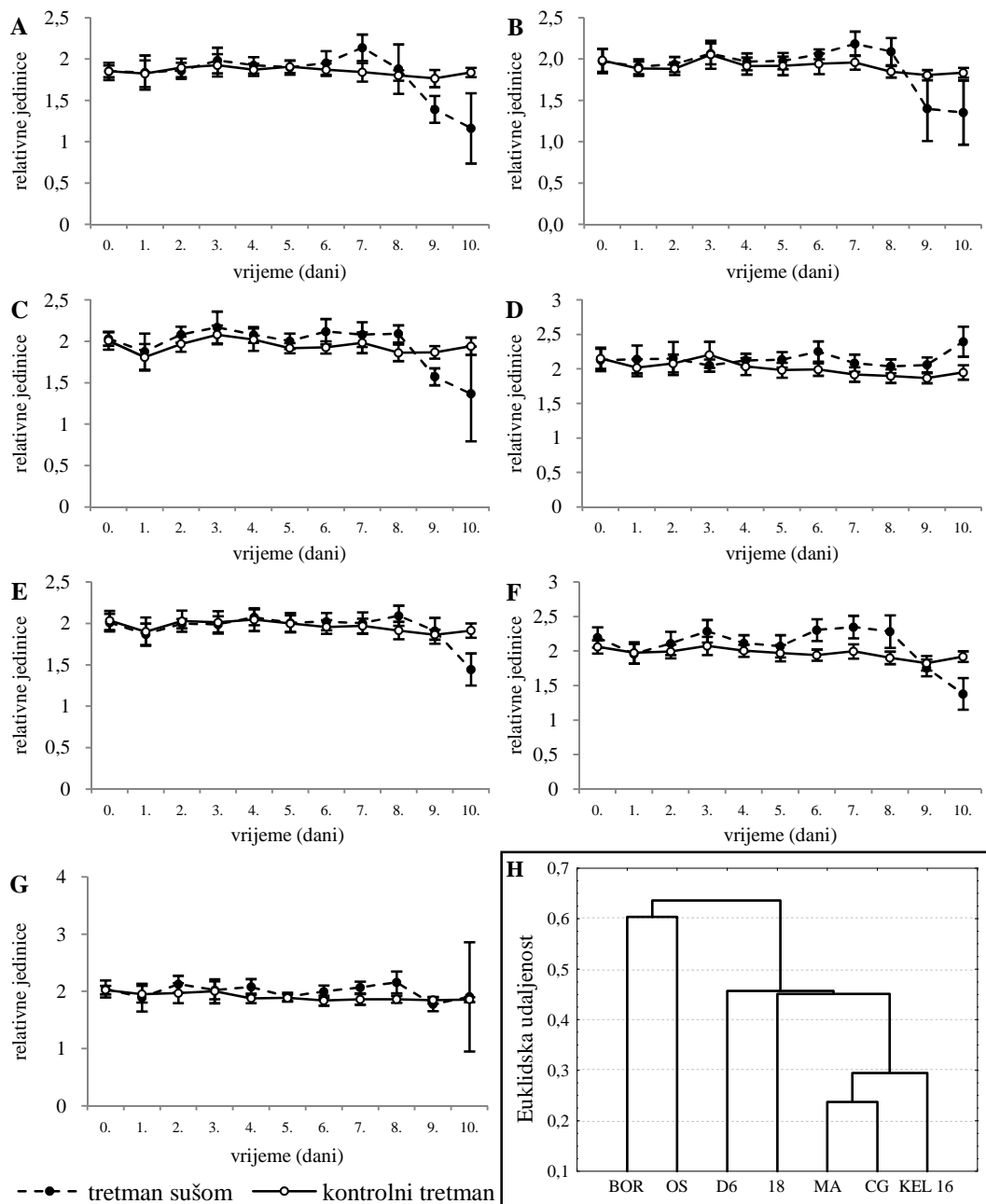
A	Izvor variranja	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Vjerojatnost > F
	Genotip	6	18,96	<0,0001
	Tretman	1	0,45	0,5027
	Genotip \times Tretman	6	5,20	0,0001

B	Izvor variranja	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Vjerojatnost > F
	Vrijeme (dani)	9	48,11	<0,0001
	Vrijeme \times Genotip	54	3,16	0,0001
	Vrijeme \times Tretman	9	29,88	<0,0001
	Vrijeme \times Genotip \times Tretman	54	3,09	0,0002

Srednje vrijednosti (za deset dana pokusa) za parametar TR_0/RC kretale su se od 1,854 kod genotipa KEL 16 do 2,009 kod genotipa OS, s prosječnom srednjom vrijednosti svih genotipova kontrolnog tretmana u iznosu od 1,937 (Tablica 39. u Prilogu).

Na Slici 20.A-G prikazane su promjene hvatanja ekscitona po aktivnom reakcijskom središtu tijekom deset dana pokusa u kontrolnom i tretmanu sušom u listovima sedam genotipova višnje. Prva značajna razlika između tretmana sušom u odnosu na kontrolni tretman zabilježena je šestoga dana pokusa za genotip D6, s time da je vrijednost parametra TR_0/RC bila povećana u tretmanu sušom u odnosu na kontrolni tretman i iznosila je 2,303, odnosno 1,940 u kontrolnom tretmanu. Sedmoga dana pokusa povećanjem TR_0/RC u biljkama

tretmana sušom reagirao je genotip KEL 16 (2,318 u tretmanu sušom; 1,841 u kontrolnom tretmanu).



Slika 20. Srednje vrijednosti i standardne devijacije hvatanja ekscitona po aktivnom reakcijskom središtu (TR_0/RC) u listovima biljaka kontrolnog tretmana i tretmana sušom za sedam genotipova višnje (A-G) tijekom deset dana pokusa i dendrogram (H) za sedam genotipova višnje na osnovi Euklidske udaljenosti između razlika parametra TR_0/RC u biljkama kontrolnog tretmana i tretmana sušom;
A – Kel 16; B – CG; C – MA; D – OS; E – 18; F – D6; G – BOR.

Kod genotipova MA i BOR značajna razlika se pokazala osmog dana pokusa sa vrijednostima ovoga parametra 2,090 za MA, odnosno 2,160 za BOR u tretmanu sušom te 1,861 za MA, odnosno 1,864 za BOR u kontrolnom tretmanu. U trenutku kada je razlika između kontrolnog i tretmana sušom bila značajna, ova četiri genotipa su u tretmanu sušom imali veće hvatanje ekscitona po aktivnom reakcijskom središtu nego kontrolni tretman.

Desetog dana pokusa povećanjem TR_0/RC u tretmanu sušom reagirao je genotip OS (2,395 u biljkama izloženim suši; 1,950 u kontrolnim biljkama) dok su genotipovi CG i 18 reagirali sniženjem hvatanja ekscitona po aktivnom reakcijskom središtu u tretmanu sušom u odnosu na kontrolni (1,352, odnosno 1,835 kod genotipa CG; 1,444, odnosno 1,914 kod genotipa 18) (Tablica 39. u Prilogu).

Na dendrogramu (Slika 20.H) se genotipovi grupiraju u dvije skupine. Prvu skupinu čine genotipovi BOR i OS, a druga se sastoji od dvije podskupine. U prvoj podskupini je genotip D6, a u drugoj su dvije grane i to genotip 18 u jednoj, a genotipovi MA, CG i KEL 16 u drugoj grani.

5.2.10. Elektronski transport po aktivnom reakcijskom središtu (ET_0/RC)

ANOVA ponovljenih mjerenja je testirajući učinke između subjekata za elektronski transport po aktivnom reakcijskom središtu (ET_0/RC) pokazala je statistički opravdanu razliku ($p < 0,001$) među genotipovima, tretmanima i u interakciji genotip \times tretman (Tablica 23.A). Analiza varijance ponovljenih mjerenja za parametar ET_0/RC pokazala je značajan učinak unutar subjekata: vrijeme (dani), vrijeme \times genotip, vrijeme \times tretman i vrijeme \times genotip \times tretman (Tablica 23.B).

Srednje vrijednosti parametra elektronskog transporta po aktivnom reakcijskom središtu u kontrolnim biljkama tijekom svih deset dana pokusa kretale su se od 0,998 do 1,051, a prosječna srednja vrijednost svih genotipova je bila 1,030.

Tablica 23. Vrijednosti F testa i razine vjerojatnosti u analizi varijance ponovljenih mjerenja koje testiraju učinke između (A) i unutar (B) subjekata za elektronski transport po aktivnom reakcijskom središtu (ET_0/RC) u listovima višnje.

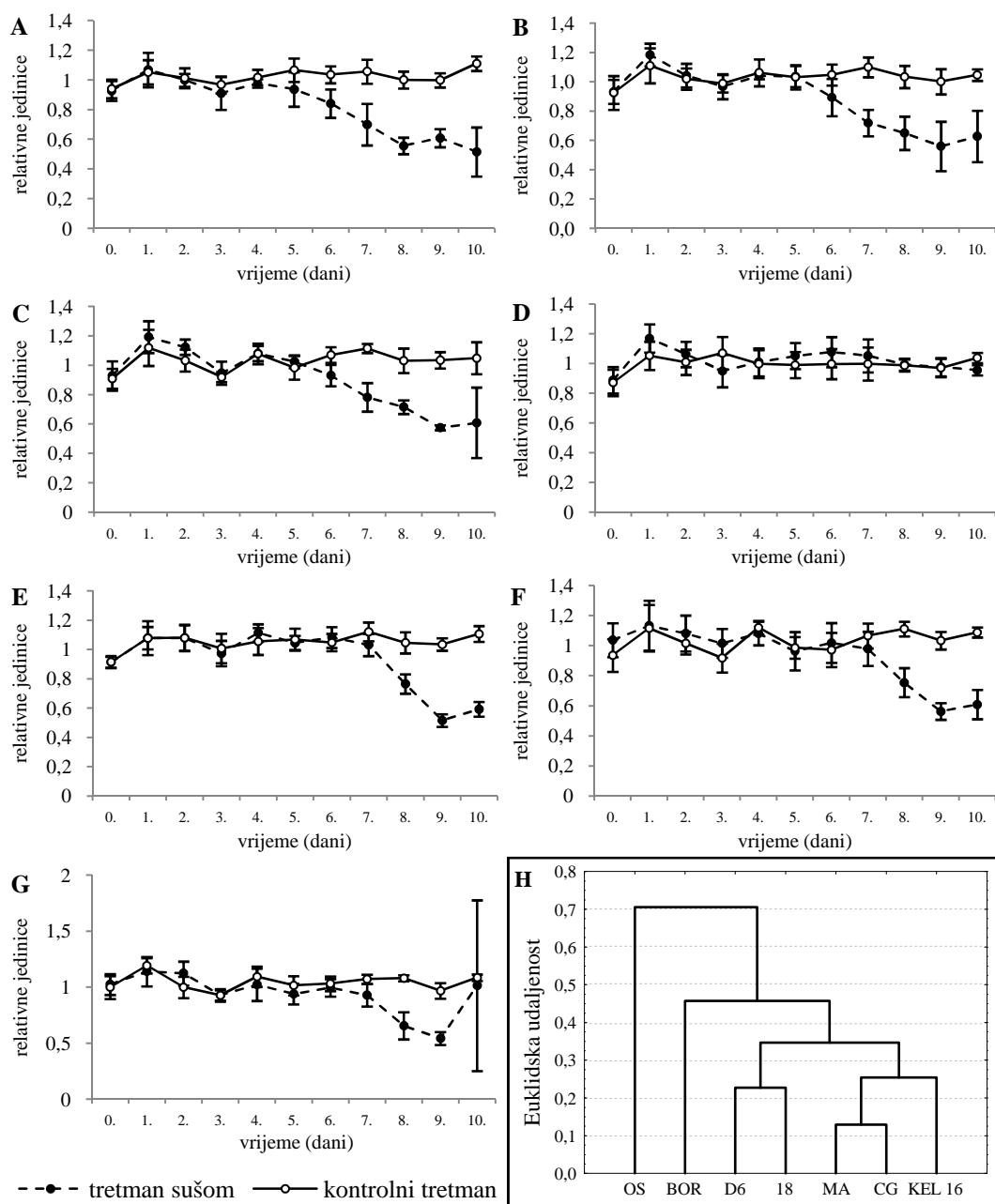
A	Izvor variranja	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Vjerojatnost > F
	Genotip	6	14,31	<0,0001
	Tretman	1	452,28	<0,0001
	Genotip × Tretman	6	19,57	<0,0001

B	Izvor variranja	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Vjerojatnost > F
	Vrijeme (dani)	9	89,68	<0,0001
	Vrijeme × Genotip	54	3,32	<0,0001
	Vrijeme × Tretman	9	85,06	<0,0001
	Vrijeme × Genotip × Tretman	54	3,75	<0,0001

Iz Slike 21.A-G može se vidjeti kako se elektronski transport po aktivnom reakcijskom središtu mijenjao tijekom 10 dana pokusa u listovima ispitivanih genotipova. Šestoga dana pokusa značajno smanjenje elektronskog transporta po aktivnom reakcijskom središtu u biljkama tretmana sušom u odnosu na kontrolni tretman zabilježeno je kod genotipova KEL16 (0,842, odnosno 1,036) i MA (0,931, odnosno 1,071), a sedmoga dana kod genotipa CG (0,719, odnosno 1,099) (Tablica 40. u Prilogu).

Značajno smanjenje parametra ET_0/RC u tretmanu sušom u odnosu na kontrolni u genotipovima 18, D6 i BOR pokazalo se osmoga dana pokusa sa slijedećim vrijednostima: za genotip 18 (0,765, odnosno 1,046), za genotip D6 (0,755, odnosno 1,111) te za genotip BOR (0,656, odnosno 1,081). Kod genotipa OS značajna razlika između tretmana je zabilježena desetog dana sa vrijednostima 0,956 u biljkama tretmana sušom te 1,038 u biljkama kontrolnog tretmana (Tablica 40. u Prilogu).

Na dendrogramu (Slika 21.H) se izdvajaju tri skupine. U prvoj je skupini genotip OS, u drugoj BOR, a treća se sastoji od dvije podskupine. Prvu podskupinu čine genotipovi D6 i 18, a drugu MA, CG i KEL 16.



Slika 21. Srednje vrijednosti i standardne devijacije elektronskog transporta po aktivnom reakcijskom središtu (ET_0/RC) u listovima biljaka kontrolnog tretmana i tretmana sušom za sedam genotipova višnje (A-G) tijekom deset dana pokusa i dendrogram (H) za sedam genotipova višnje na osnovi Euklidske udaljenosti između razlika parametra ET_0/RC u biljkama kontrolnog tretmana i tretmana sušom; A – Kel 16; B – CG; C – MA; D – OS; E – 18; F – D6; G – BOR.

5.2.11. Disipacija po aktivnom reakcijskom središtu (DI_0/RC)

Kao i kod parametra ABS/RC, na Slici 22. se vidi sa su devetoga i desetoga dana pokusa vrijednosti parametra DI_0/RC u biljkama tretmana sušom jako porasle, stoga sam podatke dobivene tijekom ova dva dana pokusa prikazala na dodatnom grafu s prilagođenim vrijednostima ordinate. Iz istoga razloga, a i zbog velikih standardnih devijacija desetoga dana pokusa u ovom parametru, ANOVA je napravljena prema podacima za prvih osam dana pokusa, a za deveti i deseti dan pokusa je iz grafova jasno vidljivo da postoje značajne razlike između tretmana sušom i kontrolnog tretmana.

Iz Tablice 24.A vidi se da je analiza varijance ponovljenih mjerenja za disipaciju po aktivnom reakcijskom središtu (DI_0/RC) tijekom osam dana pokusa pokazala statistički opravdanu razliku ($p < 0,01$) između genotipova, tretmana te za interakciju genotip \times tretman. Jednako tako, vrijednosti u Tablici 24.B ukazuju da je razlika statistički opravdana ($p < 0,001$) unutar deset dana pokusa te unutar interakcija vremena s genotipovima, tretmanima te genotip \times tretman interakcijom.

Tablica 24. Vrijednosti F testa i razine vjerojatnosti u analizi varijance ponovljenih mjerenja koje testiraju učinke između (A) i (B) unutar subjekata za disipaciju po aktivnom reakcijskom središtu (DI_0/RC) u listovima višnje.

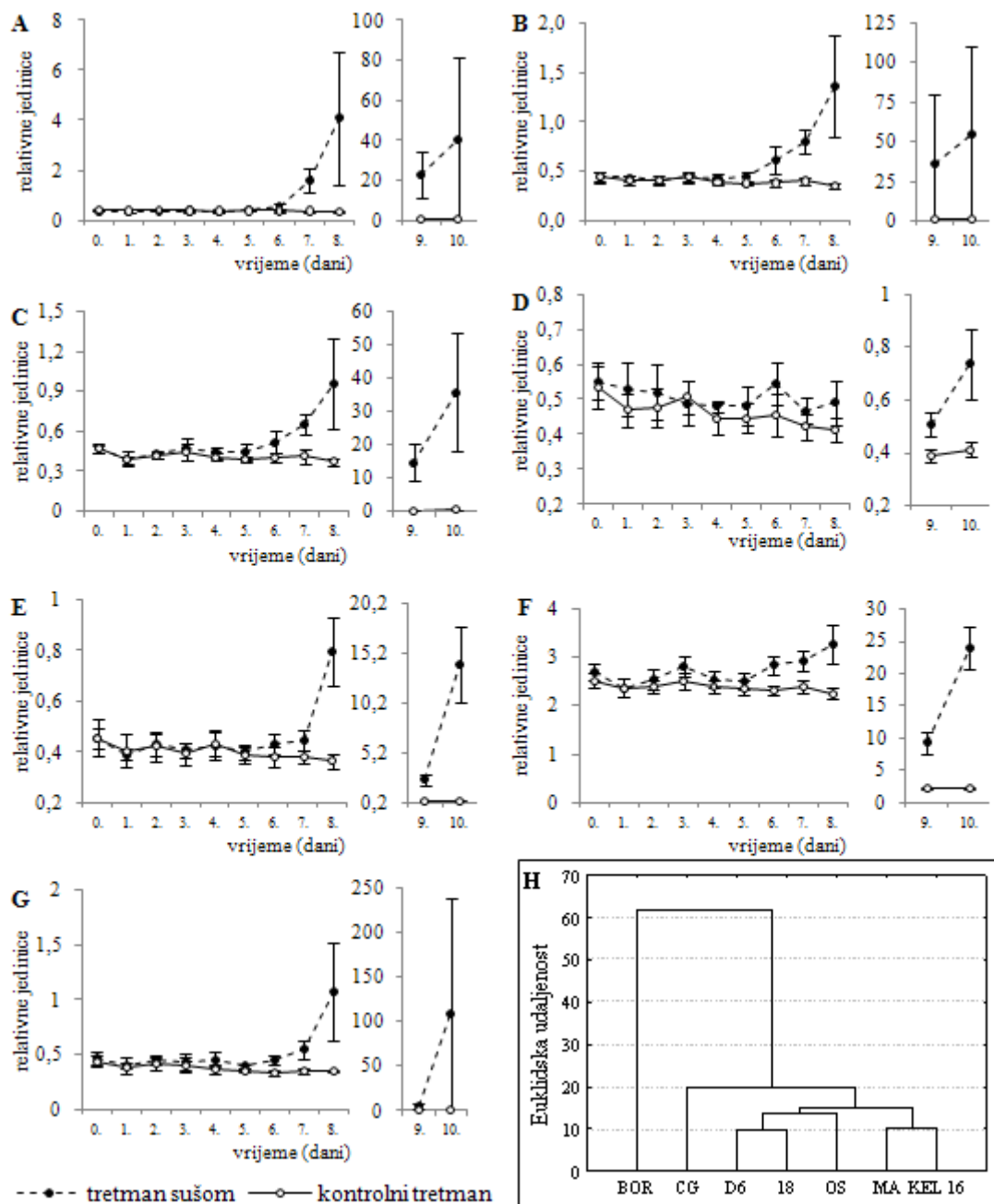
A	Izvor variranja	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Vjerojatnost > F
	Genotip	6	16,54	<0,0001
	Tretman	1	772,89	<0,0001
	Genotip \times Tretman	6	33,49	<0,0001

B	Izvor variranja	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Vjerojatnost > F
	Vrijeme (dani)	7	101,69	<0,0001
	Vrijeme \times Tretman	42	13,38	<0,0001
	Vrijeme \times Tretman	7	163,94	<0,0001
	Vrijeme \times Genotip \times Tretman	42	11,51	<0,0001

Promjene disipacije po aktivnom reakcijskom središtu tijekom deset dana pokusa u kontrolnom i tretmanu sušom prikazane su na Slici 22.A-G. Prosječna srednja vrijednost parametra DI_0/RC tijekom svih deset dana pokusa u kontrolnom tretmanu iznosila je 0,398, s time da je srednja vrijednost ovoga parametra za genotip KEL 16 bila najniža (0,369) dok je najviša srednja vrijednost zabilježena kod genotipa OS (0,452). Kod svih genotipova osim OS, do zadnjega dana pokusa DI_0/RC je porastao iznad 1 (čak do vrijednosti 108,895 kod BOR), dok je kod genotipa OS desetoga dana pokusa bio 0,735 (Tablica 41. u Prilogu).

Značajan porast disipacije po aktivnom reakcijskom središtu u biljkama tretmana sušom u odnosu na kontrolni tretman zabilježen je šestoga dana pokusa kod genotipova CG (0,610, odnosno 0,379), D6 (0,537, odnosno 0,379) i BOR (0,453, odnosno 0,340), sedmoga dana pokusa kod genotipova KEL 16 (1,590, odnosno 0,368) i MA (0,655, odnosno 0,413), osmoga dana kod genotipa 18 (0,796, odnosno 0,364), a tek devetoga dana pokusa kod genotipa OS (0,505, odnosno 0,390) (Tablica 41. u Prilogu).

Genotipovi se na dendrogramu (Slika 22.H) izdvajaju u tri skupine. U prvoj je skupini genotip BOR, u drugoj CG, a treća se sastoji od dvije podskupine. Prvu podskupinu čine genotipovi D6, 18 i OS, a drugu MA i KEL 16.



Slika 22. Srednje vrijednosti i standardne devijacije disipacije po aktivnom reakcijskom središtu (DI_0/RC) u listovima biljaka kontrolnog tretmana i tretmana sušom za sedam genotipova višnje (A-G) tijekom deset dana pokusa i dendrogram (H) za sedam genotipova višnje na osnovi Euklidske udaljenosti između razlika parametra DI_0/RC u biljkama kontrolnog tretmana i tretmana sušom; A – Kel 16; B – CG; C – MA; D – OS; E – 18; F – D6; G – BOR.

5.2.12. Koeficijenti korelacije relativnog sadržaja vode u listu (RWC) s uvenućem biljaka, maksimalnim prinosom kvanta PSII i indeksom fotosintetske učinkovitosti

Kako bi se utvrdio stupanj povezanosti između relativnog sadržaja vode u listu (RWC) s uvenućem biljaka te parametrima OJIP testa (F_v/F_m i PI_{ABS}) izračunati su koeficijenti korelacije za svaki genotip posebno iz vrijednosti ispitivanih parametara izmjerenih u listovima biljaka tretmana sušom tijekom pokusa, uzevši u obzir vrijednosti svakoga drugoga dana počevši s nultim danom.

Tablica 25. Koeficijenti korelacije (r) relativnog sadržaja vode u listu (RWC) s uvenućem biljaka (vitalnost), maksimalnim prinosom kvanta PSII (F_v/F_m) i indeksom fotosintetske učinkovitosti (PI_{ABS}), pripadajuće t - i p -vrijednosti ($N = 6$); podebljane vrijednosti pisane italicom su statistički značajne.

Genotip	RWC								
	Vitalnost			F_v/F_m			PI_{ABS}		
	r	t	p	r	t	p	r	t	p
KEL 16	<i>-0,975</i>	<i>-8,746</i>	<i>0,001</i>	0,801	2,678	0,055	<i>0,932</i>	<i>5,124</i>	<i>0,007</i>
CG	<i>-0,982</i>	<i>-10,518</i>	<i>0,000</i>	0,707	1,998	0,116	<i>0,929</i>	<i>5,027</i>	<i>0,007</i>
MA	<i>-0,971</i>	<i>-8,099</i>	<i>0,001</i>	0,618	1,573	0,191	<i>0,826</i>	<i>2,927</i>	<i>0,043</i>
OS	<i>-0,911</i>	<i>-4,417</i>	<i>0,012</i>	<i>0,872</i>	<i>3,555</i>	<i>0,024</i>	0,722	2,085	0,105
18	-0,782	-2,512	0,066	<i>0,901</i>	<i>4,142</i>	<i>0,014</i>	<i>0,901</i>	<i>4,159</i>	<i>0,014</i>
D6	<i>-0,919</i>	<i>-4,658</i>	<i>0,010</i>	<i>0,856</i>	<i>3,308</i>	<i>0,030</i>	<i>0,949</i>	<i>6,014</i>	<i>0,004</i>
BOR	<i>-0,894</i>	<i>-3,990</i>	<i>0,016</i>	<i>0,819</i>	<i>2,859</i>	<i>0,046</i>	<i>0,992</i>	<i>15,759</i>	<i>0,000</i>

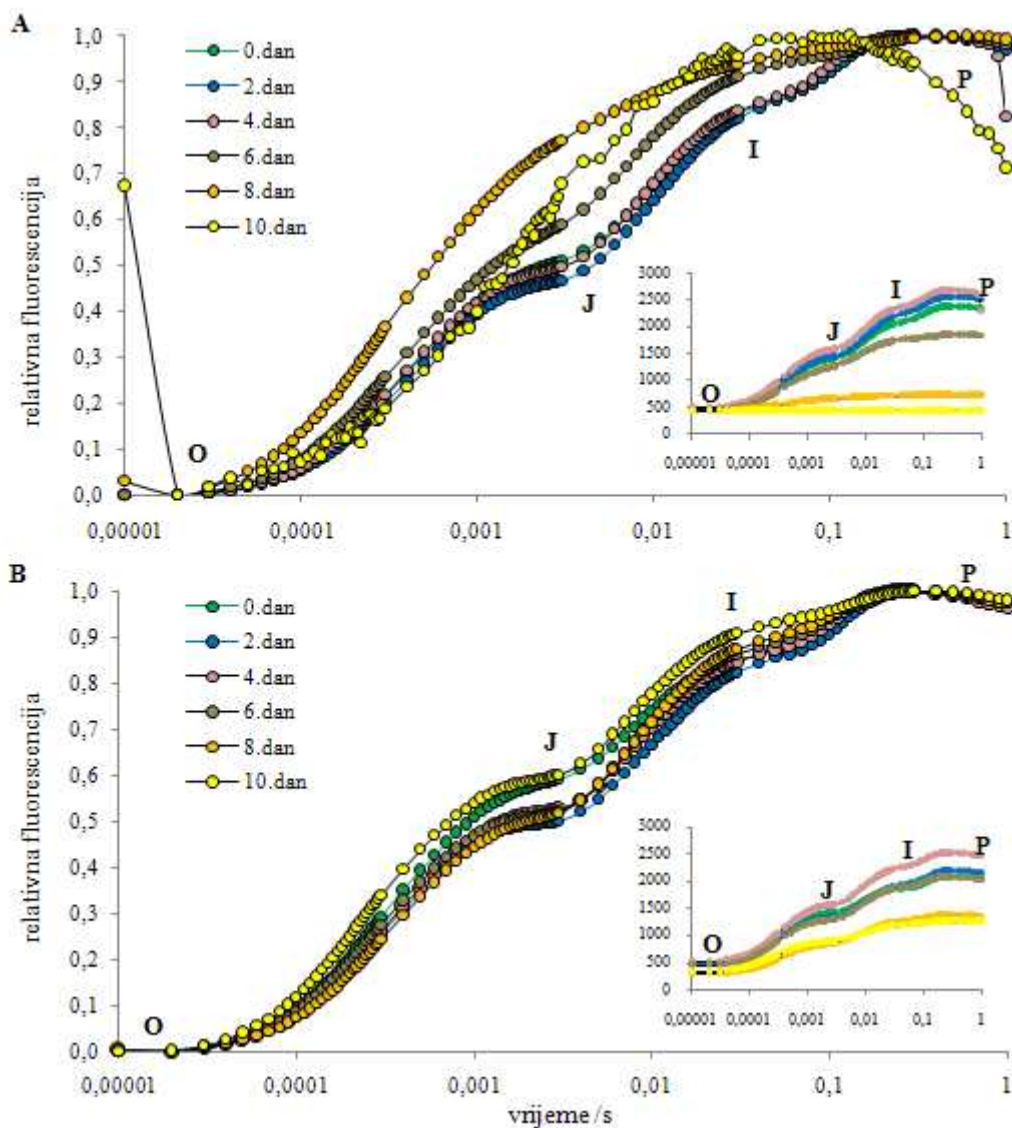
Kod svih genotipova, izuzevši genotip 18, uvenuće biljaka tijekom pokusa (Tablica 13.) je u statistički značajnoj ($p < 0,05$) negativnoj korelaciji s RWC-om (Tablica 25.). Između relativnog sadržaja vode i maksimalnog prinosa kvanta PSII tijekom sušnog perioda postoji statistički značajna pozitivna korelacija kod genotipova OS, 18, D6 i BOR, no kod svih ispitivanih genotipova osim genotipa OS pronađena je statistički značajna pozitivna korelacija ($p < 0,05$) između relativnog sadržaja vode u listu i indeksa fotosintetske učinkovitosti (Tablica 25.).

5.2.13. OJIP porast fluorescencije klorofila *a* u genotipovima KEL 16 i OS

Na Slici 23. prikazane su OJIP krivulje intenziteta fluorescencije na logaritamskoj vremenskoj skali prema podacima mjerenja fluorescencije klorofila *a* svakog drugog dana pokusa. U dosada komentiranim parametrima, uglavnom su se genotipovi KEL 16 i OS isticali kao krajnosti (najosjetljiviji i najtolerantniji) prema reakciji na sušu i na većini dendrograma su bili u zasebnim skupinama, stoga sam za ove genotipove prikazala OJIP krivulju porasta fluorescencije klorofila *a*.

Kod genotipa KEL 16 (Slika 23.A) tipičan oblik OJIP krivulje zadržan je do četvrtog dana pokusa. U šestom danu pokusa javljaju se razlike u porastu između svakoga stupnja. Desetoga dana pokusa OJIP krivulja je izgubila tipičan oblik jer je maksimalna fluorescencija dosegnuta već na I stupnju. Odstupanja od tipičnog oblika OJIP krivulje jasno se vide na umetnutom grafu koji predstavlja OJIP porast fluorescencije prije normalizacije. Na tom grafu se jasno vide razlike u obliku krivulje od šestoga dana pokusa na dalje s time da je desetoga dana pokusa krivulja gotovo ravna jer su vrijednosti F_o i F_m gotovo jednake (Slika 23.; Tablica 44. u Prilogu).

Slika 23.B prikazuje OJIP krivulju genotipa OS koji se kroz OJIP parametre pokazao kao najtolerantniji genotip na sušu. OJIP krivulja je kroz sve dane pokusa zadržala karakterističan oblik s malim razlikama u porastu fluorescencije između svakoga stupnja. Na umetnutom grafu se jasno vidi da su odstupanja od tipične krivulje zabilježena osmog i desetoga dana pokusa iako je krivulja i dalje zadržala karakterističan oblik.



Slika 23. Normalizirani OJIP porast fluorescencije klorofila *a* izmjeren tijekom deset dana pokusa u listovima biljaka izloženih suši genotipova KEL 16 (A) i OS (B); umetnuti graf pokazuje OJIP porast fluorescencije klorofila *a* bez normalizacije; promjena intenziteta fluorescencije prikazana je na logaritamskoj vremenskoj skali.

5.2.14. Ostali parametri OJIP porasta fluorescencije klorofila *a* u genotipovima KEL 16 i OS

U tumačenju promjena učinkovitosti fotosintetskog aparata u stresnim uvjetima često se koriste osnovni parametri dobiveni mjerenjem fluorescencije klorofila *a* kao što su intenzitet fluorescencije na O stupnju (F_o), maksimalni intenzitet fluorescencije (F_m), varijabilna fluorescencija na J stupnju (V_j), varijabilna fluorescencija na I stupnju (V_i), vrijeme potrebno da se postigne F_m (t_{max}), normalizirana komplementarna površina iznad OJIP krivulje (S_m), ukupna brzina zatvaranja reakcijskih središta (M_o) i prometni broj (N). Na Slici 24. su prikazani navedeni parametri izmjereni u listovima genotipova KEL 16 i OS svakog drugog dana pokusa dok su u Tablici 44. u Prilogu navedene srednje vrijednosti za nabrojane parametre s rezultatima LSD testa (različita slova znače da postoji statistički značajna razlika) koji je napravljen za svaki genotip posebno kako bi pokazao razlike u tretmanima ($p < 0,05$) nakon što je analiza varijance pokazala da je razlika među tretmanima statistički opravdana (Tablica 42. i 43. u Prilogu).

Intenzitet fluorescencije na O stupnju (Slika 24.A; Tablica 44. u Prilogu) u kontrolnom tretmanu oba genotipa je ujednačen tijekom prva četiri dana pokusa (varirao je od 398,750 do 453,250), no nakon toga se smanjuje da bi desetoga dana pokusa bio 239,500 kod genotipa KEL 16, a 243,875 kod genotipa OS. U biljkama tretmana sušom genotipa KEL 16 vrijednost F_o prati vrijednosti u kontrolnom tretmanu tijekom prva četiri dana pokusa, no već šestoga dana pokusa F_o je statistički značajno veći u odnosu na kontrolni tretman (411,875, odnosno 355,875), a isti trend se nastavlja do kraja pokusa. Naime, vrijednosti F_o u biljkama tretmana sušom genotipa KEL 16 su približno jednake tijekom svih deset dana pokusa i kreću se u rasponu od 407,125 do 450,375. Suprotno genotipu KEL 16, kod genotipa OS F_o slijedi trend kontrolnog tretmana, odnosno vrijednost F_o se statistički značajno smanjuje od šestoga dana pokusa do kraja pokusa no ipak je viša nego u kontrolnom tretmanu.

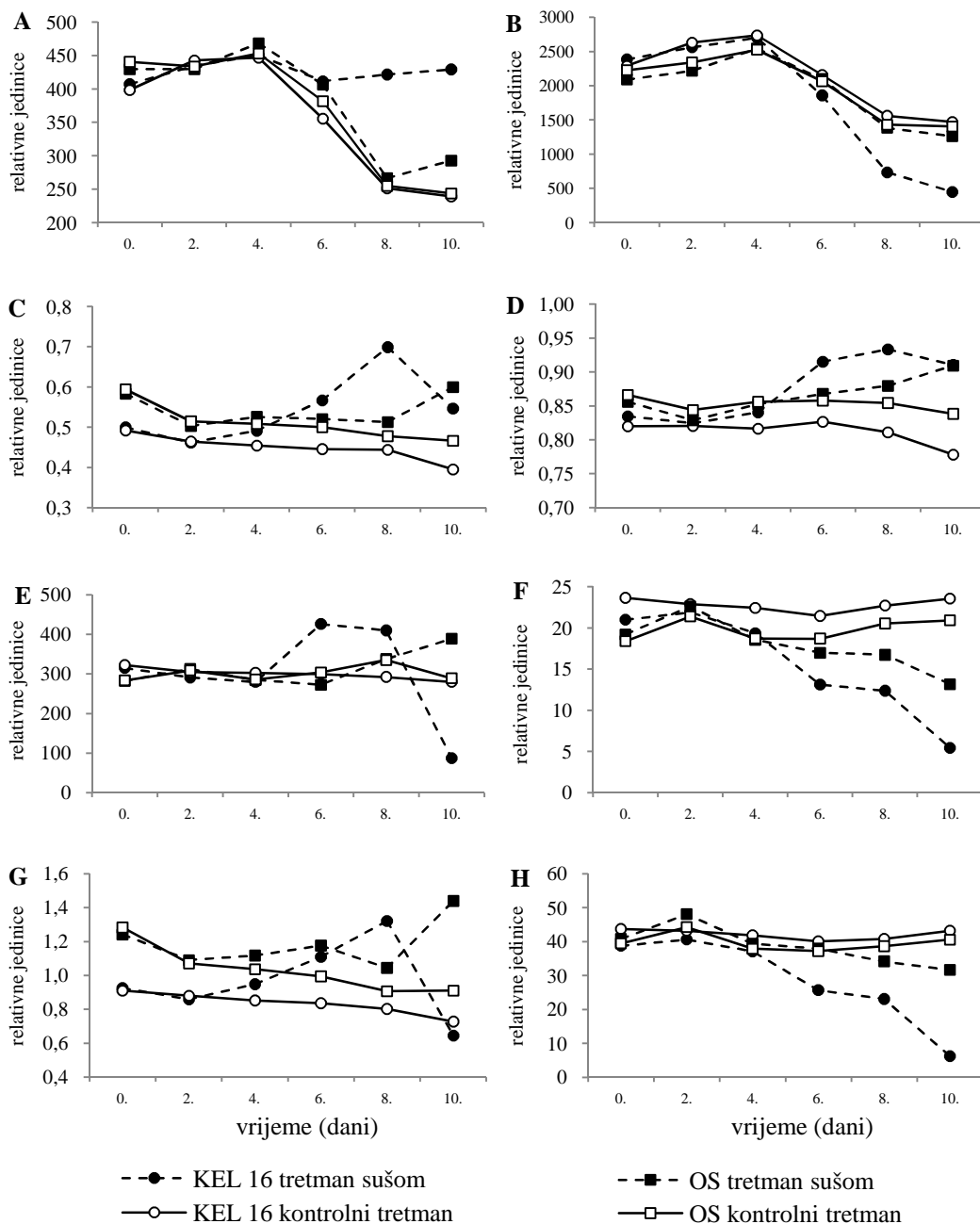
Maksimalni intenzitet fluorescencije (F_m) pokazuje sličan trend kao i F_o tj. nakon četvrtoga dana pokusa bilježi se pad vrijednosti F_m u kontrolnom tretmanu koji se nastavlja do kraja pokusa (Slika 24.B; Tablica 44. u Prilogu) i to sa vrijednosti približno 2250 nultoga dana pokusa na vrijednosti približno 1450 desetoga dana pokusa. Vrijednosti maksimalnog intenziteta fluorescencije u tretmanu sušom prate trend ovoga parametra u kontrolnom tretmanu sve do četvrtoga dana pokusa, no već šestoga dana pokusa kod genotipa KEL 16

vidljiv je statistički značajan pad vrijednosti F_m u odnosu na kontrolni tretman (1858,250, odnosno 2154,375). Kod genotipa OS statistički značajan pad maksimalnog intenziteta fluorescencije vidljiv je osmoga dana pokusa u odnosu na kontrolni tretman (912,625, odnosno 1429,625).

Varijabilna fluorescencija na stupnju J (Slika 24.C; Tablica 44. u Prilogu) u kontrolnim tretmanima pokazuje blagi pad vrijednosti tijekom deset dana pokusa i kreće se u rasponu od 0,396 do 0,492 kod genotipa KEL 16, a kod genotipa OS od 0,467 do 0,594. U tretmanu sušom genotipa KEL 16 statistički značajno povećanje V_j u odnosu na kontrolni tretman vidljivo je šestoga dana pokusa (0,568, odnosno 0,446), a povećanje je do kraja pokusa bilo značajno različito u odnosu na kontrolni tretman. Kod genotipa OS, statistički značajno povećanje V_j u tretmanu sušom u odnosu na kontrolni tretman vidljivo je desetoga dana pokusa (0,600, odnosno 0,467).

Vrlo sličan trend je vidljiv i kod varijabilne fluorescencije na stupnju I (Slika 24.D; Tablica 44. u Prilogu). Vrijednosti V_i u kontrolnom tretmanu oba genotipa bile ujednačene tijekom svih deset dana pokusa i kretale su se u rasponu od 0,779 do 0,827 kod genotipa KEL 16, a kod genotipa OS od 0,838 do 0,866. Šestoga dana pokusa vidljivo je statistički značajno povećanje V_i u odnosu na kontrolni tretman kod genotipa KEL 16 (0,915, odnosno 0,827), a osmoga dana pokusa kod genotipa OS (0,903, odnosno 0,854).

Vrijeme da se postigne F_m (t_{max}) nije značajno promijenjeno tijekom pokusa u kontrolnom tretmanu (Slika 24.E; Tablica 44. u Prilogu). Već šestoga dana pokusa, kod genotipa KEL 16 vrijednost parametra t_{max} statistički je značajno porasla u tretmanu sušom u odnosu na kontrolni tretman (426,250, odnosno 300), no desetoga dana pokusa vrijednost t_{max} je drastično smanjena u odnosu na kontrolni tretman (87,625, odnosno 280,000). Kod genotipa OS tek desetoga dana pokusa je t_{max} statistički značajno povećana u tretmanu sušom (388,750) u odnosu na kontrolni tretman (288,750).



Slika 24. Srednje vrijednosti osnovnih podataka mjerenja fluorescencije klorofila *a* u listovima genotipova KEL 16 i OS tretmana sušom i kontrolnog tretmana tijekom deset dana pokusa; A - (F_o) intenzitet fluorescencije pri $50 \mu s$ (O stupanj); B - (F_m) maksimalni intenzitet fluorescencije (P stupanj); C - (V_j) varijabilna fluorescencija na J stupnju; D - (V_i) varijabilna fluorescencija na I stupnju; E - (t_{max}) vrijeme potrebno da se postigne F_m ; F - (S_m) normalizirana komplementarna površina iznad OJIP krivulje; G - (M_o) ukupna brzina zatvaranja reakcijskih središta; H - (N) prometni broj.

Parametar S_m koji predstavlja normaliziranu komplementarnu površinu iznad OJIP krivulje (Slika 24.F; Tablica 44. u Prilogu) u kontrolnom tretmanu je bio ujednačen kroz sve dane pokusa s time da je kod genotipa KEL 16 varirao od 21,446 do 23,638, a kod genotipa OS od 18,391 do 21,384. Vrijednosti ovoga parametra u tretmanu sušom genotipa KEL 16 već su šestoga dana pokusa bile statistički značajno snižene u odnosu na kontrolni tretman (13,123, odnosno 21,446), dok je kod genotipa OS statistički značajno smanjenje vidljivo osmoga dana pokusa (11,258, odnosno 20,529).

Vrijednosti ukupne brzine zatvaranja reakcijskih središta (M_o) u kontrolnim tretmanima pokazuju blagi pad tijekom deset dana pokusa (Slika 24.G; Tablica 44. u Prilogu) i kretale su se u rasponu od 0,912 do 0,728 kod genotipa KEL 16, a kod genotipa OS od 0,909 do 1,283. Šestoga dana pokusa u tretmanu sušom kod oba genotipa ukupna brzina zatvaranja reakcijskih središta je statistički značajno povećana u odnosu na vrijednosti kontrolnih tretmana i to sa 0,836 na 1,111 kod genotipa KEL 16 te sa 0,994 na 1,176 kod genotipa OS kod kojega se trend povećanja ovoga parametra nastavio do kraja pokusa. No, kod genotipa KEL 16 desetoga dana pokusa vrijednost M_o je pala u odnosu na kontrolni tretman (0,647, odnosno 0,728).

Vrijednost prometnog broja (N) se nije značajno mijenjala tijekom pokusa u kontrolnom tretmanu (Slika 24.H; Tablica 44. u Prilogu). Već šestoga dana pokusa, kod genotipa KEL 16 vrijednost prometnog broja statistički je značajno smanjena u tretmanu sušom u odnosu na kontrolni tretman (25,723, odnosno 40,122) i smanjenje se nastavilo do kraja pokusa dok je kod genotipa OS osmoga dana pokusa vrijednost N statistički značajno smanjena u tretmanu sušom (23,707) u odnosu na kontrolni tretman (38,679).

5.2.15. Koncentracije fotosintetskih pigmenta

5.2.15.1. Klorofil *a*

Analiza varijance za koncentracije klorofila *a* (Tablica 45. u Prilogu) u listovima sedam genotipova višnje nultoga dana pokusa te kontrolnog tretmana i tremana sušom osmoga dana pokusa pokazala je statistički značajne razlike među genotipovima, tretmanima te u interakciji genotip \times tretman na razini značajnosti $p < 0,01$.

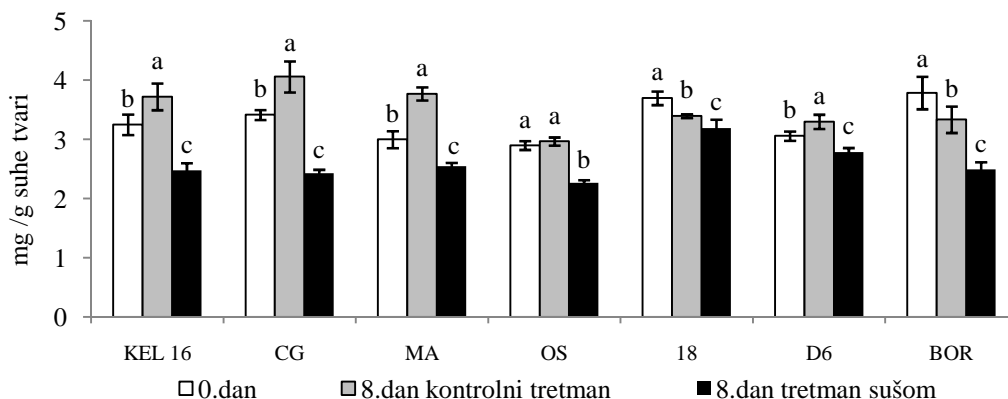
Prosječna srednja vrijednost koncentracija klorofila *a* svih genotipova nultog dana pokusa iznosila je 3,300 mg/g suhe tvari, s time da je najmanja koncentracija klorofila *a* izmjerena u listovima genotipa OS (2,899 mg/g suhe tvari), a najveća u listovima genotipa BOR (3,785 mg/g suhe tvari). LSD testom ($p < 0,05$) su utvrđene statistički značajne razlike među genotipovima s obzirom na koncentracije klorofila *a* nultog dana pokusa (Tablica 46. u Prilogu).

Osmoga dana pokusa, koncentracija klorofila *a* je statistički značajno porasla u listovima kontrolnih biljaka genotipova KEL 16, CG, MA i D6 u odnosu na koncentracije izmjerene nultoga dana pokusa, dok je kod genotipova 18 i BOR koncentracija klorofila *a* u odnosu na nulti dan statistički značajno smanjena u odnosu na koncentracije izmjerene nultoga dana pokusa (Slika 25.). U listovima kontrolnog tretmana genotipa OS osmog dana pokusa koncentracija klorofila *a* je bila jednaka u kontrolnom tretmanu i tretmanu sušom.

Prosječna srednja vrijednost koncentracija klorofila *a* svih genotipova u kontrolnim biljkama iznosila je 3,506 mg/g suhe tvari, s time da je najniža koncentracija izmjerena u listovima genotipa OS (2,966), a najveća u listovima genotipa CG (4,057 mg/g suhe tvari) (Tablica 46. u Prilogu).

U listovima biljaka tretmana sušom svih genotipova osmoga dana pokusa koncentracija klorofila *a* je bila statistički značajno niža u odnosu na koncentracije izmjerene u kontrolnim biljkama istoga dana. Najveće smanjenje koncentracije klorofila *a* u odnosu na kontrolne biljke izmjereno je kod genotipa CG (40,192%), a najmanje kod genotipa 18 (6,047%). Srednje vrijednosti koncentracija klorofila *a* u listovima biljaka izloženih suši osmoga dana

pokusa su se kretale od 2,265 do 3,189 mg/g suhe tvari (kod genotipova OS, odnosno 18), a prosječna srednja vrijednost koncentracije klorofila *a* u svim genotipovima iznosila je 2,597 mg/g suhe tvari.



Slika 25. Srednje vrijednosti i standardne devijacije koncentracije klorofila *a* (mg/g suhe tvari) u listovima sedam genotipova višnje nultoga dana pokusa te osmoga dana pokusa u kontrolnom i tretmanu sušom; statistički značajne razlike između tretmana ($p < 0,05$) označene su različitim slovima; LSD test je napravljen za svaki genotip posebno.

5.2.15.2. Klorofil *b*

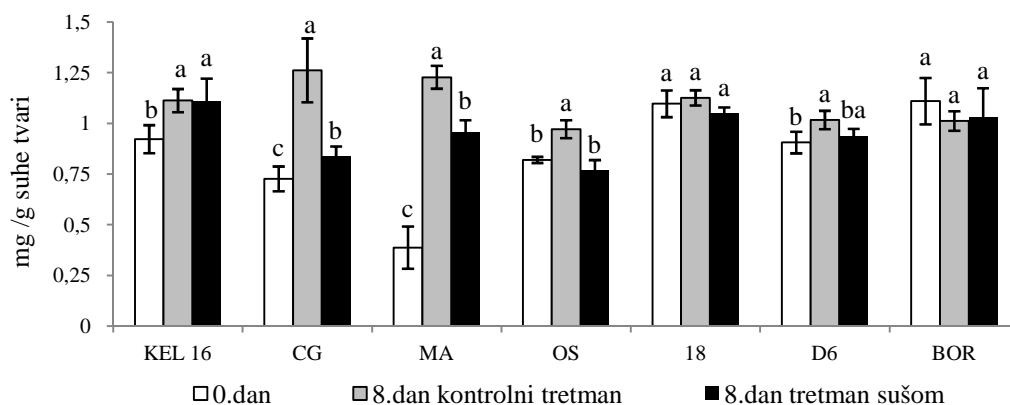
Analizom varijance za koncentracije klorofila *b* (Tablica 45. u Prilogu) u listovima sedam genotipova višnje nultoga dana pokusa te kontrolnog tretmana i tretmana sušom osmoga dana pokusa dokazana je statistički značajna razlika među genotipovima, tretmanima te u interakciji genotip \times tretman na razini značajnosti $p < 0,01$.

Koncentracije klorofila *b* nultog dana pokusa varirale su od 0,387 kod genotipa MA do 1,109 mg/g suhe tvari kod genotipa BOR, a prosječna srednja vrijednost koncentracija klorofila *b* svih genotipova iznosila je 0,852 mg/g suhe tvari. Statistički značajne razlike među genotipovima s obzirom na koncentracije klorofila *b* nultog dana pokusa su utvrđene LSD testom ($p < 0,05$) (Tablica 46. u Prilogu).

Osmog dana pokusa u kontrolnim biljkama svih genotipova osim genotipa 18 i BOR, koncentracija klorofila *b* je statistički značajno ($p < 0,05$) porasla u odnosu na koncentracije klorofila *b* izmjerene nulti dan pokusa (Slika 26.). Prosječna srednja vrijednost koncentracija

klorofila *b* osmoga dana pokusa u kontrolnim biljkama iznosila je 1,103 mg/g suhe tvari, s najmanjom vrijednosti kod genotipa OS (0,971 mg/g suhe tvari), a najvećom kod genotipa CG (1,261 mg/g suhe tvari) (Tablica 46. u Prilogu).

Statistički značajno smanjenje koncentracija klorofila *b* osmoga dana pokusa u listovima biljaka tretmana sušom zabilježeno je kod genotipova CG, MA i OS, dok je kod ostalih istraživanih genotipova koncentracija klorofila *b* bila jednaka u kontrolnom i tretmanu sušom. Koncentracije klorofila *b* osmoga dana pokusa tretmana sušom varirale su od 0,766 kod genotipa OS do 1,106 mg/g suhe tvari kod genotipa KEL 16, a prosječna srednja vrijednost koncentracija klorofila *b* svih genotipova iznosila je 0,954 mg/g suhe tvari (Tablica 46. u Prilogu).

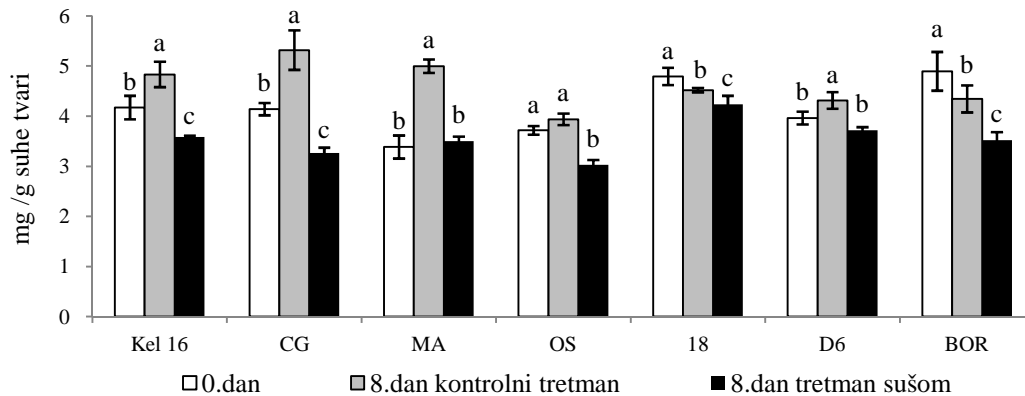


Slika 26. Srednje vrijednosti i standardne devijacije koncentracije klorofila *b* (mg/g suhe tvari) u listovima sedam genotipova višnje nultoga dana pokusa te osmoga dana pokusa u kontrolnom i tretmanu sušom; statistički značajne razlike između tretmana ($p < 0,05$) označene su različitim slovima; LSD test je napravljen za svaki genotip posebno.

5.2.15.3. Ukupni klorofil (klorofil *a+b*)

Statistički opravdane razlike ($p < 0,01$) između koncentracija ukupnih klorofila u listovima sedam genotipova višnje nultoga dana pokusa te osmoga dana pokusa kontrolnog tretmana i tretmana sušom dokazane su analizom varijance koja je pokazala da su razlike u ukupnom klorofilu opravdane među genotipovima, tretmanima te u interakciji genotip \times tretman (Tablica 45. u Prilogu).

Prosječna srednja vrijednost koncentracija ukupnih klorofila svih genotipova nultog dana pokusa iznosila je 4,152 mg/g suhe tvari, s time da je najmanja koncentracija ukupnih klorofila izmjerena u listovima genotipa MA (3,385 mg/g suhe tvari), a najveća u listovima genotipa BOR (4,895 mg/g suhe tvari) (Tablica 46. u Prilogu). LSD testom ($p < 0,05$) su utvrđene statistički značajne razlike među genotipovima s obzirom na koncentracije ukupnih klorofila nultog dana pokusa (Tablica 46. u Prilogu).



Slika 27. Srednje vrijednosti i standardne devijacije koncentracije ukupnih klorofila (mg/g suhe tvari) u listovima sedam genotipova višnje nultoga dana pokusa te osmoga dana pokusa u kontrolnom i tretmanu sušom; statistički značajne razlike između tretmana ($p < 0,05$) označene su različitim slovima (a, b i c); LSD test je napravljen za svaki genotip posebno.

Osmoga dana pokusa, koncentracija ukupnih klorofila je statistički značajno porasla u listovima kontrolnih biljaka genotipova KEL 16, CG, MA i D6 u odnosu na koncentracije izmjerene nultoga dana pokusa, dok je kod genotipova 18 i BOR koncentracija klorofila *a* u odnosu na nulti dan statistički značajno smanjena u odnosu na koncentracije izmjerene nultoga dana pokusa (Slika 27.). Kod genotipa OS u kontrolnom tretmanu osmoga dana pokusa koncentracija ukupnih klorofila je bila jednaka kao i nultoga dana pokusa. Prosječna srednja vrijednost koncentracija ukupnih klorofila svih genotipova u kontrolnom tretmanu iznosila je 4,609 mg/g suhe tvari, s time da je najniža koncentracija izmjerena u listovima genotipa OS (3,938), a najveća u listovima genotipa CG (5,318 mg/g suhe tvari) (Tablica 46. u Prilogu).

Koncentracija ukupnih klorofila u listovima biljaka tretmana sušom svih genotipova osmoga dana pokusa je bila statistički značajno niža u odnosu na koncentracije izmjerene u kontrolnim biljkama istoga dana (Slika 27.). Najveće smanjenje koncentracije ukupnih

klorofila u odnosu na kontrolne biljke izmjereno je kod genotipa CG (38,634%), a najmanje kod genotipa 18 (6,218%). Srednje vrijednosti koncentracija ukupnih klorofila u listovima biljaka izloženih suši osmoga dana pokusa su se kretale od 3,031 do 4,238 mg/g suhe tvari (kod genotipova OS, odnosno 18), a prosječna srednja vrijednost koncentracije ukupnih klorofila u svim genotipovima iznosila je 3,551 mg/g suhe tvari (Tablica 46. u Prilogu).

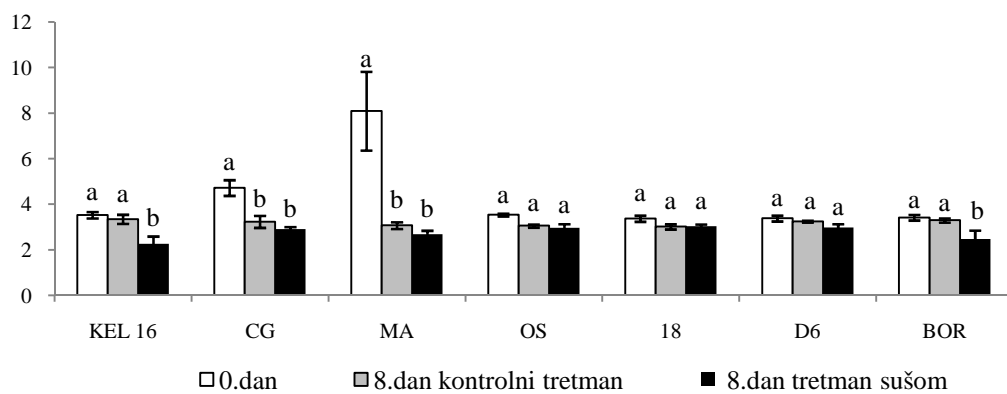
5.2.15.4. Omjer klorofil *a* / klorofil *b*

Analiza varijance za omjer klorofil *a* / klorofil *b* (Tablica 45. u Prilogu) u listovima sedam genotipova višnje nultoga dana pokusa te kontrolnog tretmana i tremana sušom osmoga dana pokusa pokazala je statistički značajne razlike među genotipovima, tretmanima te u interakciji genotip \times tretman na razini značajnosti $p < 0,01$.

Omjer klorofil *a* / klorofil *b* nultog dana pokusa je varirao od 3,377 kod genotipa 18 do 8,096 kod genotipa MA, a prosječna srednja vrijednost omjera klorofil *a* / klorofil *b* svih genotipova iznosila je 4,296. Statistički značajne razlike među genotipovima s obzirom na omjer klorofil *a* / klorofil *b* nultog dana pokusa su utvrđene LSD testom ($p < 0,05$) (Tablica 46. u Prilogu). Genotipovi CG i MA se prema omjeru klorofil *a* / klorofil *b* statistički značajno razlikuju od ostalih ispitivanih genotipova, ali i međusobno.

Osmog dana pokusa u kontrolnim biljkama genotipova CG i MA, omjer klorofil *a* / klorofil *b* je statistički značajno ($p < 0,05$) smanjen u odnosu na omjere klorofil *a* / klorofil *b* izmjerene nulti dan pokusa (Slika 28.) dok je kod ostalih genotipova omjer klorofil *a* / klorofil *b* bio jednak kao i nultoga dana pokusa. Prosječna srednja vrijednost omjera klorofil *a* / klorofil *b* osmoga dana pokusa u kontrolnim biljkama iznosila je 3,183, s najmanjom vrijednosti kod genotipa 18 (3,019), a najvećom kod genotipa KEL 16 (3,349) (Tablica 46. u Prilogu).

Statistički značajno smanjenje omjera klorofil *a* / klorofil *b* osmoga dana pokusa u listovima biljaka tretmana sušom zabilježeno je samo kod genotipova KEL 16 i BOR (Slika 28.). Omjer klorofil *a* / klorofil *b* osmoga dana pokusa tretmana sušom varirao je od 2,264 kod genotipa KEL 16 do 3,038 kod genotipa 18, a prosječna srednja vrijednost omjera klorofil *a* / klorofil *b* svih genotipova tretmana sušom iznosila je 2,756 mg/g suhe tvari (Tablica 46. u Prilogu).



Slika 28. Srednje vrijednosti i standardne devijacije omjera klorofil *a* / klorofil *b* u listovima sedam genotipova višnje nultoga dana pokusa te osmoga dana pokusa u kontrolnom i tretmanu sušom; statistički značajne razlike između tretmana ($p < 0,05$) označene su različitim slovima (a i b); LSD test je napravljen za svaki genotip posebno.

6. RASPRAVA

Višnja (*Prunus cerasus* L.) je značajno zastupljena u plantažnom uzgoju u Hrvatskoj i to na 2400 ha u 2010. godini. Prema podacima o proizvedenim količinama višnje u Hrvatskoj (Tablica 26.) može se zaključiti da se Hrvatska svrstava u značajne proizvođače plodova višanja srazmjerno njenoj veličini.

Tablica 26. Zasađene površine, prinos i proizvedene količine višanja prema podacima za 2010. godinu prema FAOSTAT (www.faostat.fao.org).

	Zasađene površine (ha)	Prinos (kg/ha)	Proizvedene količine (t)
Svijet	220 518	5 138	1 172 915
Europa	161 893	4 504	729 179
Hrvatska	2 400	2 825	6 781

6.1. GENETSKA VARIJABILNOST VIŠNJE

Pored standardnih sorata višnje, velik udio u višnjicima Hrvatskog primorja ima višnja Maraska dok u višnjicima kontinentalne Hrvatske prevladava Oblačinska višnja zbog rane, redovite i dobre rodnosti. Puškar (1991, 2005) je u svojim istraživanjima pokazao fenotipsku heterogenost populacije Oblačinske višnje na temelju morfoloških, pomoloških i kemijskih osobina. Heterogenost populacije je posljedica razmnožavanja korijenovim izdancima iz proizvodnih nasada, a oni se ne mogu razlikovati od samoniklih biljaka iz sjemena (sjemenjaka). Klonska selekcija ove populacije omogućava izdvajanje i karakterizaciju genotipova dobrih agronomskih svojstava s ciljem stvaranja sadnog materijala koji će osiguravati ujednačenost i kakvoću plodova te koji će biti otporan na negativne učinke suše, niskih temperatura, bolesti i drugih stresnih čimbenika kako bi se omogućilo podizanje kvalitetnih proizvodnih nasada višnje.

Osim klasičnom klonskom selekcijom na temelju fenoloških, pomoloških i kemijskih osobina biljke i ploda, koji mogu biti pod utjecajem agroekoloških čimbenika, selekciji se danas pristupa na razini genoma tj. DNA. Upotrebom različitih molekularnih biljega dobiva se uvid

u strukturu genoma, a pronalaženjem prikladnog molekularnog biljega moguća je identifikacija genotipa.

Mikrosatelitski biljezi su se pokazali kao pouzdana metoda za određivanje genetske varijabilnosti sorata kod većine vrsti roda *Prunus* (Dirlewanger i sur. 2002; Hormaza 2002; Pedersen 2006). U ovom radu analiza genetske strukture mikrosatelitskim biljezima napravljena je pomoću seta od 12 mikrosatelitskih početnica koje su odabrane prema dostupnoj literaturi (Cantini i sur. 2001; Clarke i Tobutt 2003; Pedersen 2006; Xuan i sur. 2009). Odabrane početnice pokrivaju sedam kromosoma i dizajnirane su prema genomu trešnje i višnje. Budući da je višnja alotetraploid (AAFF) može se očekivati četiri alela po lokusu, no u slučaju pojave dva fragmenta ne može se znati potječu li iz homozigotnog ($A^x A^y F^x F^y$) ili heterozigotnog ($A^x A^y F^x F^y$) genoma, stoga izračunata heterozigotnost predstavlja i unutar-genomsku i među-genomsku heterozigotnost na lokusu (Cantini i sur. 2001). Početnice korištene u ovom istraživanju umnožile su od 2 do 4 alela po lokusu u jednom genomu, s prosjekom od 3,25 alela po lokusu jednog genoma (Tablica 11.). Genetska mapa sa položajem ovih početnica napravljena je na međuvrskom križancu *P. avium* „Napoleon“ × *P. nipponica* (Clarke i sur. 2009) koji je diploid što znači da su navedeni položaji lokusa na A genomu pa se ne može znati koji aleli potječu iz kojega genoma.

U analizi genetske varijabilnosti mikrosatelitskim početnicama umnoženo je ukupno 69 različitih alela u 22 ispitivana genotipa višnje, od toga je 41 alel produkt PMS i PceGA početnica (1,86 alela po genotipu), a 27 alela su produkti EMPA početnica (1,22 alel po genotipu) (Tablica 11.). Slične rezultate sa istim PMS i PceGA početnicama dobili su Cantini i sur. (2001) s 87 umnoženih alela u 59 ispitivanih tetraploidnih genotipova višnje (1,47 alela po genotipu), što je manji broj umnoženih alela u odnosu na rezultate koje je dobio Pedersen (2006) sa 175 umnoženih alela u 38 ispitivanih tetraploidnih genotipova (4,60 alela po genotipu). Podaci o amplifikaciji EMPA početnica na višnji ne postoje.

U ovom istraživanju broj alela po lokusu varirao je od 2 za biljeg EMPA005 do 11 za PMS3, s prosječnim brojem od 5,66 alela po lokusu (Tablica 11.). Cantini i sur. (2001) i Xuan i sur. (2009) su u svojim istraživanjima također najinformativnijim biljekom proglasili PMS3, dok je biljeg PMS49 bio najinformativniji u istraživanju Kaçar i sur. (2006). Prosječan broj alela

po lokusu u ovom istraživanju (5,66) je manji u odnosu na 8,53 u istraživanju Xuan i sur. (2009), 10,7 kod Cantini i sur. (2001) i 12,6 kod Kaçar i sur. (2006).

Informativnost korištenih mikrosatelitskih biljega u ovom istraživanju izražena kao PIC vrijedost u skladu je s rezultatima Cantini i sur. (2001). U istom setu mikrosatelitskih biljega PIC vrijednost biljega PMS3 je bila najveća (0,906), a biljega PMS2 najmanja (0,761) kao i u ovom istraživanju no s manjim PIC vrijednostima (0,706 za PMS3 i 0,152 za PMS2) (Tablica 11.). Pedersen i sur. (2006) u svom radu biljeg PceGA59 proglašavaju najinformativnijim s PIC vrijednošću 0,966, no najmanje informativnim proglašavaju PMS2 (0,927) što je u skladu s ovim istraživanjem. Genska različitost dobivena korištenim mikrosatelitskim početnicama u ovom istraživanju je bila od 0,165 do 0,740 (Tablica 11.).

Genetske sličnosti između genotipova izračunate na temelju podataka dobivenih mikrosatelitskim biljezima kretale su se od 0,355 do 1,000, s prosječnom vrijednošću 0,844 (Tablica 28. u Prilogu). Drugi autori su primjenom ovoga tipa biljega na vrstama roda *Prunus* dobivali slične rezultate. Bouhadida i sur. (2009) su pronašli genetsku sličnost 44 genotipa vegetativnih podloga od 0,32 do 0,92, a genetsku sličnost od 0,45 do 0,95 između 48 genotipova kajsije pokazao je Hormaza (2002).

Na UPGMA dendrogramu za 22 genotipa višnje dobivenom prema mikrosatelitskim biljezima nisu se mogli razlikovati svi genotipovi (Slika 7.). Mikrosatelitski biljezi su dobro razdvojili standardne sorte od sorti Oblačinska, Maraska i Cigančica koja je fenotipski slična Oblačinskoj višnji. Jednako tako genotipovi Maraske (MA, ST) su se izdvojili od genotipova Oblačinske višnje i Cigančice iako s vrlo visokim koeficijentom sličnosti što pokazuje da su mikrosatelitski biljezi dobar odabir za identifikaciju sorti (Gupta i Varshney 2000; Maletić i sur. 1999). Analiza mikrosatelitskim biljezima ovih genotipova na većem broju lokusa nego u ovom istraživanju sigurno bi bolje razlučila Marasku od Oblačinske i Cigančice no nedostatak ove metode je u tome što je mali broj biljega razvijen prema genomu višnje ili trešnje pa se mogu koristiti samo početnice dizajnirane prema srodnim vrstama roda *Prunus* (Arus 2006).

Prema ovim rezultatima, Cigančica i Oblačinska su srodne sorte što je u skladu sa saznanjima koja se prenose usmenim putem o porijeklu Oblačinske višnje koje do danas nije znanstveno utemeljeno. Naime, postoji teorija da je Oblačinsku višnju u Banat 1870. godine donio Velja

Vujić iz Mađarske (najvjerovatnije Cigančicu), a deset godina kasnije u Aleksandrovo kraj Oblačine po čemu je i dobila naziv (Pavičević 1976).

Vrlo velika genetska sličnost pronađena je između Maraske, Cigančice i Oblačinske višnje (Tablica 28. u Prilogu). Genotipovi Cigančice i Oblačinske, ali i Maraske se grupiraju s vrlo malim razlikama u koeficijentu genetske sličnosti što je u skladu s Puškarovim (2005) rezultatima. On je pomoću seta od 8 mikrosatelitskih markera uspio identificirati sorte Kelleris, Heimann konzervna i Rexelle no na 42 klonska kandidata Oblačinske višnje i 6 klonskih kandidata Maraske dobio je identične profile na sedam ispitivanih lokusa. Dio klonskog materijala iz Puškarovog istraživanja (genotipovi 6, 11, 15, 16, 18) te dio klonskog materijala iz Srbije (D4, D6 i D9) uvršteno je u ovo istraživanje kako bi se daljnjom analizom na genetskoj razini utvrdile moguće razlike koje su fenotipski opisane (Nikolić i sur. 2005; Puškar 2005). Ovim istraživanjem potvrđen je i Puškarov zaključak da je Oblačinska monoklonska sorta.

Fenotipska varijabilnost unutar sorte Oblačinska, pa i sorti Maraska i Cigančica posljedica je generativnog umnažanja putem izdanaka izraslih iz sjemenki otpalih plodova (Mišić 1989), ali i dugogodišnjeg vegetativnog razmnožavanja zbog prirodnih mutacija u meristemskom tkivu pupa iz kojeg se razvija izbojak sa promijenjenom genetskom strukturom. Ovakve mutacije su slučajne, najčešće su negativne i dovode do degradacije sorte, no mogu biti i pozitivne što omogućava rađanje novoga klona (Cindrić 2003). Detekcija takvih malih promjena u genomu moguća je visokoinformativnim sustavom biljega koji obuhvaća cijeli genom stoga je polimorfizam duljine amplificiranih ulomaka metoda od izbora pri analiziranju unutar sorte varijabilnosti (Manubens i sur. 1999; Meudt i Clarke 2007).

AFLP biljezima u ovom istraživanju iz 22 genotipa višnje umnožen je ukupno 321 ulomak, od toga je 155 polimorfni ulomak (15,5%). Broj polimorfni ulomak po kombinaciji početnica varirao je od 6 do 38, s prosječnim brojem od 15,5 polimorfni lokusa po kombinaciji početnica (Tablica 12.). Budući da su obje AFLP početnice iz para imale tri selektivne baze, ovi rezultati su u skladu s Ayanoglu i sur. (2007) koji su pomoću šest kombinacija AFLP početnica umnožili u prosjeku 12 polimorfni ulomak po paru početnica, kao i Zhou i sur. (2002) koji su dobili 20 polimorfni ulomak po paru početnica. Puno veći postotak polimorfizma ovim biljezima dobili su Geuna i sur. (2003) na 118 genotipova kajsije

(48%), Goulão i sur. (2001) (73,6%) na 28 sorti šljiva te Sorkheh i sur. (2007) čak 96,23% polimorfni ulomaka ukupno na 45 sorti badema.

Informacijski sadržaj polimorfizma (PIC) AFLP biljega u ovom istraživanju kretao se od 0,029 do 0,148 (Tablica 12.) što je u skladu s PIC vrijednostima koje su dobili Geuna i sur. (2003) na 118 genotipova kajsije (0,158 do 0,236) koristeći 5 AFLP kombinacija početnica, ali su puno manje od PIC vrijednosti (0,56 do 0,82) dobivenih pomoću seta od 19 AFLP kombinacija početnica na 45 kultivara badema (Sorkheh i sur. 2007). Genska različitost procijenjena sa 10 kombinacija AFLP početnica u ovom istraživanju se kretala od 0,033 do 0,169 (Tablica 12.).

Na temelju podataka umnoženih AFLP biljega izračunate su genetske sličnosti prema Dice-u koje su iznosile od 0,839 do 1,000 što upućuje na veliku sličnost ispitivanih genotipova (Tablica 29. u Prilogu). Ovaj rezultat je u skladu s Aradhya i sur. (2004) koji su AFLP biljezima zabilježili prosječnu genetsku udaljenost od 0,17 (odgovara genetskoj sličnosti od 0,83) između različitih vrsta roda *Prunus* i sorti unutar vrsta. Veliku genetsku sličnost između dvadeset genotipova zelene šljive (od 0,829 do 0,985 prema Jaccardu) dobili su Ayanoglu i sur. (2007).

Prema matricama genetske sličnosti iz podataka AFLP biljega dobiven je dendrogram na kojem se, kao i kod mikrosatelita, razlikuju sorte Oblačinska, Maraska i Cigančica od standardnih sorti no razlike između sorti Oblačinska, Maraska i Cigančica nisu značajne, jer su dobiveni vrlo slični koeficijenti sličnosti (Slika 8.). Suprotno očekivanjima, AFLP biljezi nisu pokazali bolju razlučivost srodnih sorti Oblačinska, Maraska i Cigančica kao ni genotipova unutar navedenih sorti što ukazuje na malu genetsku varijabilnost postojećeg sortimenta višnje.

Mantelovim testom je utvrđena vrlo jaka ($r = 0,878$) statistički opravdana korelacija između mikrosatelitskih i AFLP biljega upotrebljenih u ovom istraživanju. Gotovo identičnu korelaciju ($r = 0,873$) između SSR i AFLP biljega dobili su Krichen i sur. (2010) analiziravši tunišku germplazmu kajsije dok su Belaj i sur. (2003) dobili manju (0,33), ali statistički značajnu korelaciju između ova dva tipa biljega na 32 kultivara masline.

Zbog velike povezanosti rezultata dobivenih SSR i AFLP biljezima, napravljena je matrica genetske sličnosti prema združenim podacima te je na temelju toga izrađen UPGMA dendrogram (Slika 9.; Tablica 30. u Prilogu). Topografija ovoga dendrograma je slična prethodno opisanim rezultatima. Naime, i na ovom dendrogramu se odvajaju standardne sorte od domaćih sorti. Genotipovi sorti Oblačinska, Maraska i Cigančica imaju velike koeficijente genetske sličnosti i u jednoj su podskupini dendrograma (Slika 9.).

U ovom istraživanju su korištena dva tipa molekularnih biljega, i to mikrosatelitski biljezi s ciljem identifikacije sorti, a AFLP biljezi s ciljem identifikacije genotipova unutar sorte. Budući da AFLP biljezima nije utvrđena unutarSORTNA varijabilnost Oblačinske višnje koja je fenotipski dokazana (Nikolić i sur. 2005; Puškar 2005), otvara se prostor za daljnja istraživanja drugim tipovima molekularnih biljega. Zadnjih desetak godina, razvijeni su biljezi koji umnažaju retrotranspozonske sekvence. Mutacije izazvane insercijom retrotranspozonskih elemenata blizu ili u same gene mogu pojačati njihovu ekspresiju ili promijeniti strukturu proteina koje kodiraju (Kumar i Hirochika 2001). Venturi i sur. (2006) su pokazali da su insercije retrotranspozona dovele do promjene boje ploda jabuke, a Kobayashi i sur. (2004) su potvrdili njihovu povezanost s gubitkom pigmentacije u pojedinim kultivarima vinove loze. Budući da su ove fenotipske varijacije uzrokovane retrotranspozonskim elementima, za očekivati je da bi i u populaciji Oblačinske višnje neke fenotipske razlike mogle biti identificirane ovim sustavom molekularnih biljega.

6.2. FOTOSINTETSKA UČINKOVITOST U UVJETIMA SUŠE

Abiotski uzročnici stresa, pogotovo suša, negativno utječu na rast i razvoj biljke te smanjuju produktivnost, odnosno plodnost biljke. Odgovor biljke na stres uzrokovan sušom je složen biološko-fizikalno-kemijski proces u koji su uključene brojne biološke makro i mikromolekule (Khakwani i sur. 2011). Razumijevanje utjecaja suše na povezanost vode u listu sa fotosintetskim parametrima važno je za razumijevanje fizioloških mehanizama tolerancije na sušu i identifikaciju tolerantnih genotipova neke vrste (Omae i sur. 2007).

Pri tumačenju rezultata dobivenih u pokusima kojima se prati fiziološki odgovor biljke na stres uzrokovan sušom veliku pažnju treba posvetiti uvjetima eksperimenta, pogotovo trajanju

i jačini stresnih uvjeta. U pokusima s biljkama koje su u posudama s malim volumenom supstrata, biljke brzo podliježu stresnim uvjetima što se očituje progresivnim smanjenjem relativnog sadržaja vode u listu, osmotskog potencijala i turgora kroz nekoliko dana tijekom kojih se rade mjerenja (Lawlor i Tezara 2009).

Vidljivi simptomi stresa uzrokovanog sušom tj. gubitak turgora u listovima i njihovo venjenje, uvrtnje lisnih plojki i posmeđenje lista na biljkama višnje (Slika 11.) u ovom istraživanju javljaju se petoga dana pokusa kod svih genotipova osim genotipa OS dok je sedmoga dana pokusa većina biljaka uvenula (85-100% ovisno o genotipu). Dehidracija, uvrtnje lisnih plojki te na kraju posmeđenje lista javljaju se sedmoga dana pokusa kod 10-60% biljaka ovisno o genotipu, a sušenje se progresivno nastavlja do kraja pokusa. Izuzetak je genotip OS kod kojeg je tijekom deset dana pokusa zabilježeno samo uvenuće listova i to kod malog postotka jedinki (Tablica 13.). Uvrnuće lisnih plojki je odgovor biljke na stresne uvjete jer se time smanjuje efektivna površina lista, a samim time i transpiracija (Kadioglu i Terzi 2007; Saruhan i sur. 2009). Do posmeđenja lista dolazi zbog nakupljanja antocijanina (Steyn i sur. 2002) te zbog degradacije klorofila (Abdalla i sur. 2007; Jaleel i sur. 2008; Kauser i sur. 2006) jer u sušnim uvjetima inducirana je preuranjena senescenca.

Tijekom stresa uzrokovanog sušom, odnosi vode unutar biljke imaju glavnu ulogu u aktivaciji i provođenju antioksidativne obrane biljke. Mogućnost boljeg zadržavanja vode tijekom dehidracije uzrokovane pomanjkanjem vode važna je strategija tolerancije biljke na stres uzrokovan sušom (Sánchez-Rodríguez i sur. 2010).

Relativni sadržaj vode u listovima ispitivanih genotipova višnje u tretmanu sušom šestoga dana pokusa bio je značajno smanjen u odnosu na kontrolni tretman kod genotipova KEL 16, CG, MA, 18 i BOR, a kod genotipova OS i D6 osmoga dana pokusa (Slika 12.). Lobato i sur. (2009) su već nakon dva dana tretmana sušom u listovima soje zabilježili statistički značajno niži relativni sadržaj vode nego u kontrolnim biljkama. Značajno smanjenje RWC-a u odnosu na kontrolni tretman u skladu je s vidljivim simptomima tj. uvenućem biljaka koje se javilo petoga dana pokusa i progresivno nastavilo do potpunog sušenja biljke. Naime, šestoga dana pokusa u tretmanu sušom genotipova KEL 16, CG i MA 90-100% biljaka je uvenulo, što je popratilo smanjenje RWC-a za 50% u odnosu na kontrolni tretman (Tablica 31. u Prilogu). Istoga dana pokusa uvenulo je 60-95% biljaka tretmana sušom genotipova 18, D6 i BOR, a

RWC je u njima smanjen o odnosu na kontrolne biljke oko 20%. Kod genotipa OS prvi simptomi uvenuća zabilježeni su osmoga dana pokusa (20% biljaka) što je popraćeno smanjenjem RWC za 17,28% u odnosu na kontrolni tretman. Prema koeficijentima korelacije (Tablica 25.) izračunatim kako bi se opisala povezanost RWC-a s gubitkom vitalnosti biljke u suši kod svih genotipova izuzevši genotip 18 potvrđena je značajna negativna korelacija ($p < 0,05$) što dokazuje povezanost gubitka vitalnosti biljke i relativnog sadržaja vode u listu u skladu sa Hassanzadeh i sur. (2009).

Relativni sadržaj vode u listu je tijekom deset dana pokusa smanjen kod svih ispitivanih genotipova višnje u tretmanu sušom u odnosu na kontrolne biljke (Slika 12.; Tablica 31. u Prilogu). Sadržaj vode u biljci tijekom trajanja suše pratili su mnogi autori. Sánchez-Rodríguez i sur. (2010) su pratili pet sorti rajčice u pokusu u kontroliranim uvjetima te su na kraju sušnog perioda kojemu su izložili biljke u svim sortama osim Zarine dobili značajno snižen RWC u odnosu na kontrolne biljke. Slične rezultate su zabilježili i Abdalla i sur. (2007) na dvije sorte pšenice različite po toleranciji na sušu. Oni su pokazali da je nakon šest dana sušnog perioda RWC u listovima obje sorte značajno snižen u odnosu na kontrolne biljke, s time da je veći pad RWC-a (33,6%) izmjeren kod sorte osjetljive na sušu dok je kod tolerantne sorte pad bio 28,6% u odnosu na kontrolne biljke. Isti autori ovu varijabilnost u odgovoru na sušu na razini relativnog sadržaja vode u listu pripisuju genetskoj osnovi otpornosti, za koju Khakwani i sur. (2011) daju tri različita objašnjenja: varijacije u RWC-u među genotipovima mogu biti posljedica različitosti u usvajanju vode iz tla i kontroli gubitka vode kroz puči, različitosti u akumuliranju i osmotskoj prilagodbi kako bi se zadržao turgor i/ili zbog različitosti građe korijenovog sustava kojim crpe vodu iz tla.

U stresnim uvjetima kao što je suša, fotosintetski organizmi se prilagođavaju mijenjajući fotosintetsku aktivnost, s kojom je direktno povezana i fluorescencija klorofila (Strasser i sur. 2000). Mjerenjem fluorescencije klorofila u ovom istraživanju praćena je učinkovitost fotosintetskog sustava sedam genotipova višnje tijekom deset dana sušnih uvjeta, kako bi se utvrdila tolerantnost pojedinog genotipa na sušu, ali i istražili fotosintetski mehanizmi biljke u odgovoru na stres.

U svim genotipovima se vidi oscilacija u nekim parametrima OJIP testa (PI_{ABS} , $ET_0/(TR_0-ET_0)$, RC/CS_0 , ET_0/RC) tijekom prva tri dana pokusa kako u biljkama tretmana sušom tako i u

biljkama kontrolnog tretmana (Slika 14., 17., 18., 21.) . Od četvrtog dana na dalje vrijednosti OJIP parametara u kontrolnim biljkama se se ustabilile. Većina biljaka ima sposobnost prilagođavanja na količinu svjetlosti u uvjetima u kojima žive na način da mijenjaju sadržaj klorofila i gustoću kloroplasta tijekom procesa aklimatizacije (Wang i sur. 2007) što se onda odražava na fotosintetsku učinkovitost. Varijacije parametara OJIP testa su vjerovatno posljedica aklimatizacije na promjenjene okolišne uvjete jer su biljke dva dana prije pokusa prenesene iz plastenika bez zasjenjenja (više temperature i jače osvjetljenje) gdje su bile direktno na zemlji, u plastenik na pokretne stolove sa zasjenama na stranicama (niže temperature i slabiji intenzitet svjetlosti).

U ovom istraživanju, maksimalni prinos kvanta PSII na početku pokusa kod svih genotipova osim OS je iznosio oko 0,82 (0,80 za genotip OS). Tijekom deset dana pokusa njegova vrijednost u kontrolnim biljkama je porasla u prosjeku za 0,02 što se može pripisati prilagodbi na nove uvjete pri preseljenju materijala u plastenik. Kod biljaka genotipova KEL 16 i CG izloženih suši, vrijednost F_v/F_m se značajno smanjila već šestoga dana pokusa u odnosu na kontrolne biljke (Slika 13.; Tablica 32. u Prilogu;). Idućih dana pokusa, ova vrijednost je značajno smanjena kod svih ostalih genotipova, na način da je idućega dana nakon značajnog smanjenja u odnosu na kontrolu drastično pala uglavnom ispod vrijednosti 0,5, s time da se već 0,75 smatra granicom ispod koje fotosintetski sustav nije funkcionalan (Bolhár-Nordenkampf i sur. 1989).

O smanjenju maksimalnog prinosa kvanta PSII u stresu sušom izvjestili su mnogi autori i to na kultivarima javora (Bauerle i sur. 2003), vinovoj lozi (Bertamini i sur. 2007), uljanoj repici (Kauser i sur. 2006), itd. Subrahmanyam i sur. (2006) su na četiri genotipa pšenice pratili učinkovitost fotosustava u stresu uzrokovanom sušom. Njihovi rezultati pokazuju da unatoč značajno smanjenom vodnom potencijalu nakon pet dana tretmana sušom, F_v/F_m ostaje nepromijenjen u tretmanu sušom u odnosu na kontrolni tretman. Sličan odgovor na sušu pokazao se na linijama graška, gdje F_v/F_m također nije bio značajno smanjen u odnosu na kontrole tijekom suše (Clavel i sur. 2006) te na sortama pšenice (Živčák i sur. 2008).

Općenito, maksimalni prinos kvanta PSII se ne snižava smanjenjem RWC-a do 50%, no pri nižem RWC-u dolazi do njegovog drastičnog smanjenja (Bertamini i sur. 2007). U ovom istraživanju smanjenje F_v/F_m prati smanjenje RWC-a, što je dokazano statistički značajnim

pozitivnim korelacijama (r od 0,819 do 0,901) između ova dva parametra (Tablica 25.) kod genotipova OS, 18, D6 i BOR koji su šestoga dana pokusa imali oko 20% manji RWC u odnosu na kontrolni tretman dok je kod ostalih genotipova smanjenje RWC bilo puno veće (oko 50%) pa korelacije nisu statistički značajne iako su koeficijenti korelacije vrlo visoki (r od 0,618 do 0,801).

Smanjenje maksimalnog prinosa kvanta PSII je posljedica povećanja F_o i smanjenja F_m koje se lijepo vidi na primjerima OJIP krivulja genotipova KEL 16 i OS koji su najviše razlikuju u odgovoru na sušu (Slika 23.). Povećanje F_o , a time smanjenje F_v/F_m , može biti posljedica inaktivacije određenog broja reakcijskih središta fotosustava II što potvrđuje smanjena gustoća aktivnih reakcijskih središta (RC/CS_0) koja je u tretmanu sušom značajno smanjena u odnosu na kontrolni tretman, ali tek od osmoga dana pokusa na dalje (Slika 18.; Tablica 37. u Prilogu), što znači da je smanjenje gustoće aktivnih reakcijskih središta utjecalo na smanjenje F_v/F_m , ali tek nakon osmoga dana pokusa.

Smanjenje gustoće aktivnih reakcijskih središta ne mora nužno biti trajno oštećenje nego može biti reverzibilna strategija biljke u odgovoru na stres jer je dokazano da je moguć oporavak tj. povratak aktivnosti reakcijskih središta (de Ronde i sur. 2004). Naime, biljke imaju razvijen mehanizam fotoinhibicije kojim u uvjetima kada apsorbiraju sunčevu energiju u suvišku, dio reakcijskih središta PSII poprima disipacijsku ulogu degradacijom D1 proteina, no ponovnom sintezom D1 proteina reakcijska središta PSII se mogu ponovno aktivirati (Chritchley 2000; Lindahl i sur. 2000). Do degradacije D1 proteina u najvećoj mjeri dolazi zbog stvaranja reaktivnih kisikovih jedinki (ROS – engl. *Reactive Oxygen Species*) koje su neizbježni nusprodukti elektronskog transporta (superoksidni anion, vodikov peroksid, hidroksilni radikal) ili produkti prijenosa ekscitacijske energije s tripletnog klorofila na tripletni kisik (singletni kisik) (Nishiyama i sur. 2011).

Bertamini i sur. (2007) smanjenje F_v/F_m u stresnim uvjetima također objašnjavaju inaktivacijom reakcijskih centara iako Li i sur. (2009) navode da povećanje F_o može biti posljedica oštećenja kompleksa koji ekstrahira kisik iz vode. Osim toga, povećanje F_o može nastati zbog povećane brzine zatvaranja reakcijskih središta (M_0) što može dovesti do nakupljanja reduciranoga oblika plastokinona (Q_A). Ukupna brzina zatvaranja reakcijskih središta u ovom pokusu značajno je povećana u tretmanu sušom genotipova KEL 16 i OS već

šestoga dana pokusa, s time da je kod genotipa KEL 16 povećanje veće nego kod genotipa OS (Slika 24.; Tablica 44. u Prilogu) što je u skladu sa trendom smanjenja F_v/F_m ovih genotipova tijekom pokusa. Povećanje F_o izazvano nekom vrstom stresa je često popraćeno smanjenjem F_m (Zlatev i Yordanov 2004). Smanjenje F_m u listovima *Camellia sinensis* osiromašenog sadržaja fosfora (Lin i sur. 2009) te listićima *Spirodela polyrhiza* tretiranim kromom (Appenroth i sur. 2001) je posljedica disipacije energije u ksantofilskom ciklusu. U ovom istraživanju disipacija energije izražena prema aktivnim reakcijskim središtima (DI_0/RC) je značajno povećana u tretmanu sušom već od šestoga dana pokusa kod genotipa KEL 16 (Slika 22.; Tablica 41. u Prilogu) što je u skladu s značajnim povećanjem F_m istoga dana pokusa (Slika 24.; Tablica 44. u Prilogu).

Najinformativniji parametar OJIP testa je indeks fotosintetske učinkovitosti (PI_{ABS}) koji se često naziva indeksom vitalnosti budući da reflektira funkcionalnost oba fotosustava i kvantificira trenutnu učinkovitost u stresnim uvjetima (Strasser i sur. 2004). Indeks fotosintetske učinkovitosti se u ovom istraživanju pokazao vrlo osjetljiv parametar fotosintetskog sustava u odgovoru na sušu. Vrijednost PI_{ABS} je u svim ispitivanim genotipovima bila smanjena u tretmanu sušom u odnosu na kontrolne biljke što je posljedica dehidracije biljke okarakterizirane relativnim sadržajem vode u listu. Smanjenje ovog parametra zabilježeno je već šestoga dana pokusa u većini genotipova, no genotip OS je zadržao nepromijenjenu vrijednost u odnosu na kontrolne biljke sve do devetoga dana pokusa (Slika 14.; Tablica 33. u Prilogu).

O vrlo velikoj osjetljivosti indeksa fotosintetske učinkovitosti kao indikatora stresa raspravljali su Christen i sur. (2007), van Heerden i sur. (2007), Oukarroum i sur. (2007), Strasser i sur. (2000), Živčák i sur. (2008) i drugi. Snaga indeksa fotosintetske učinkovitosti leži i u tome što je ovaj parametar u jakoj povezanosti s relativnim sadržajem vode u listu. U ovom istraživanju kod svih ispitivanih genotipova osim genotipa OS postoji statistički vrlo značajna korelacija (r iznosi od 0,826 kod MA do 0,92 kod BOR) između ova dva parametra (Tablica 25.) što je u skladu s rezultatima Živčáka i sur. (2008) koji su pokazali da je korelacija ova dva parametra u dva ispitivana genotipa pšenice gotovo linearna ($r = 0,81$ i $0,92$) dok ostalih pet ispitivanih genotipova nisu pokazali statističku značajnu povezanost u ova dva parametra. Osim toga, van Heerden i sur. (2007) su pokazali značajnu korelaciju

PI_{ABS} sa kapacitetom asimilacije CO_2 što je dokaz koji povezuje promjene u OJIP porastu fluorescencije tijekom suše sa promjenama ukupnog fotosintetskog kapaciteta.

Indeks fotosintetske učinkovitosti obuhvaća tri ključna parametra o kojima ovisi fotosintetska aktivnost: omjer koncentracije klorofila klorofila reakcijskih središta i koncentracije antena klorofila (RC/ABS), omjer hvatanja ekscitona i disipacije (TR_0/DI_0) i pretvorbu ekscitacijske energije uslijed odvajanja naboja što pokreće elektronski transport iza primarnog akceptora elektrona (Q_A^-) ($ET_0/(TR_0-ET_0)$) (Strasser i sur. 2004). Tijekom deset dana tretmana sušom RC/ABS i TR_0/DI_0 su se značajno smanjivali u odnosu na kontrolne biljke u svim genotipovima (Slika 15. i 16.; Tablica 34. i 35. u Prilogu). Izuzetak je bio genotip OS kod kojeg je ovaj trend bio puno slabiji nego kod ostalih genotipova. Vrlo je vjerovatno da je upravo drastično smanjenje TR_0/DI_0 najviše pridonijelo smanjenju indeksa fotosintetske učinkovitosti. Naime, DI_0/RC je od početka pokusa ($\approx 0,450$) u svim genotipovima osim genotipa OS drastično porastao čak do vrijednosti od 108,895 kod genotipa BOR (povećanje 242 puta) (Slika 22.; Tablica 41. u Prilogu), dok je TR_0/RC na kraju pokusa u većini genotipova smanjen od 30-40% u odnosu na početni dan pokusa (Slika 20.; Tablica 39. u Prilogu) što je objašnjenje smanjenja TR_0/DI_0 . Sličan zaključak o utjecaju TR_0/DI_0 na PI_{ABS} su donijeli Lepeduš i sur. (2009) koji su pratili učinkovitost fotosintetskog sustava u mutantima *Arabidopsis thaliana* s eliminiranim proteinom CYP38 koji je uključen u građu i funkcioniranje fotosustava II. Lepeduš i sur. (2009) navode da je na smanjenje TR_0/DI_0 značajnije utjecao veliki porast disipacije energije (DI_0/RC) nego hvatanja elektrona po aktivnom reakcijskom središtu. Sličan odgovor reakcijskih središta fotosustava II na povećanu koncentraciju ozona kod nekoliko različitih biljnih vrsta objavili su Nussbaum i sur. (2001).

Karakteristično ponašanje je pokazao parametar $ET_0/(TR_0-ET_0)$ na način da je u prosjeku od šestoga do devetoga dana pokusa prisutan konstantan pad vrijednosti u biljkama tretmana sušom, no nakon toga vrijednost ovoga parametra ponovno raste (Slika 17.; Tablica 36. u Prilogu). Ovaj trend se ne vidi jedino kod genotipa OS jer je on smanjenjem $ET_0/(TR_0-ET_0)$ reagirao puno kasnije od ostalih genotipova. Iz ovoga se može zaključiti da je i pretvorba ekscitacijske energije u elektronski transport utjecala na smanjenje indeksa fotosintetske učinkovitosti što je moguće budući da je veza između elektronskog transporta i fiksacije CO_2 dokazana (Krall i Edwards 1992), a time i veza indeksa fotosintetske učinkovitosti sa fiksacijom CO_2 (van Heerden i sur. 2007).

Protok energije kroz fotosintetski sustav je promijenjen u stresnim uvjetima (Force i sur. 2003). U ovom istraživanju, apsorpcija svjetlosne energije je značajno porasla u tretmanu sušom u odnosu na kontrolni tretman (Slika 19.; Tablica 38. u Prilogu). Parametar ABS/RC predstavlja funkcionalnu veličinu antena kompleksa odnosno, daje podatak o prosječnoj količini apsorbirajućih molekula klorofila, stoga povećanje ovoga parametra ukazuje na smanjenje broja aktivnih reakcijskih središta. Naime, uslijed visokog protonskog gradijenta kroz tilakoidne membrane, dio aktivnih reakcijskih središta dobiva disipacijsku ulogu („utišana reakcijska središta“) pretvarajući violaksantin u zeaksantin i pri tome emitiraju energiju u obliku topline (Chritchley 2000) stoga DI_0/RC raste. Jednak protok energije kroz fotosustav u vidu povećanja ABS/RC i DI_0/RC događa se i pri stresu uzrokovanom kromom (Appenroth i sur. 2001) te u listovima osiromašenim fosforom (Lin i sur. 2009).

Hvatanje elektrona po aktivnom reakcijskom središtu je do osmoga dana pokusa uglavnom bilo povećano u tretmanu sušom, no nakon osmoga dana se značajno smanjuje u odnosu na kontrolni tretman (Slika 20.; Tablica 39. u Prilogu). Elektronski transport je već od šestoga dana pokusa smanjen u tretmanu sušom (Slika 21.; Tablica 40. u Prilogu). Smanjenje ovih parametara, zajedno sa povećanjem apsorpcije i disipacije karakterističan je odgovor fotosintetskog sustava u izloženog stresu (Appenroth i sur. 2001; Force i sur. 2003; Lin i sur. 2009). Ovakav slijed događaja je logičan, budući da smo pokazali da je gustoća aktivnih reakcijskih središta smanjena (RC/CS_0) pod utjecajem stresnih čimbenika, a kao posljedicu ima smanjenu fiksaciju CO_2 , odnosno smanjenu učinkovitost fotosintetskog procesa.

Kako bi bolje opisali i razumjeli mehanizme tolerancije na sušu kod višnje, funkcija fotosintetskog aparata u vidu fluorescencijskih parametara, opsežnije je opisana za genotipove KEL 16 i OS (Slika 23. i 24.; Tablica 44. u Prilogu). Iz prikazanih OJIP krivulja se vide promjene u F_0 i F_m tijekom deset dana pokusa koje su već ranije obrazložene. Osim toga, na krivuljama je jasno vidljiv porast varijabilne fluorescencije na J i I stupnju (V_j i V_i). Sličan trend porasta fluorescencije u ovim stupnjevima zabilježen je i u odgovoru biljke na stres uzrokovanom kromom (Appenroth i sur. 2001), na stres zbog pomanjkanja fosfora (Lin i sur. 2009), u listovima mutanta *Arabidopsis thaliana* s eliminiranim proteinom CYP38 (Lepeduš i sur. 2009).

Tretman sušom u ovom pokusu uzrokovao je smanjenje normalizirane komplementarne površine iznad OJIP krivulje (S_m), vremena potrebnog da se postigne F_m (t_{max}) te prometnog broja (N) (Slika 24.; Tablica 44. u Prilogu). S_m je mjera za energiju koja je potrebna za zatvaranje svih reakcijskih središta, a N je broj redukcijskih događaja između F_o i F_m (Strasser i sur. 2004). Smanjen S_m potvrđuje činjenicu da je smanjena gustoća (RC/CS_0) i brojnost aktivnih reakcijskih središta, a smanjenje prometnog broja potvrđuje smanjenu učinkovitost fotosintetskog procesa, vidljivu u smanjenju F_v/F_m i PI_{ABS} .

Kako bi se upotpunila slika o funkcioniranju fotosintetskog sustava u stresu te kako bi se bolje razjasnili mehanizmi uključeni u odgovor biljke na takve uvjete, određena je koncentracija fotosintetskih pigmenata tijekom pokusa. Koncentracija fotosintetskih pigmenata mjerena je nultog dana pokusa na skupnom uzorku za svaki genotip. Budući da je osmoga dana pokusa kod većine parametara u tretmanu sušom došlo do značajnih promjena u odnosu na nulti dan, koncentracija fotosintetskih pigmenata je ponovno određena u tretmanu sušom i kontrolnom tretmanu (Slika 25.-28.; Tablica 46. u Prilogu).

U ovom istraživanju koncentracije klorofila a , klorofila b te ukupnih klorofila ($a+b$) gotovo u svim genotipovima su snižene u tretmanu sušom u odnosu na kontrolni tretman (Slika 25.-27.; Tablica 46. u Prilogu). O smanjenju koncentracije klorofila a i b te ukupnih klorofila u stresu uzrokovanom sušom izvjestili su Munné-Bosch i Peñuelas (2004) na jagodnjaku, Kauser i sur. (2006) na uljanoj repici Abdalla i El-Koshiban (2007) na pšenici, Manivannan i sur. (2007) na suncokretu, Jaleel i sur. (2008) na vrsti *Catharanthus roseus* i drugi.

Smanjenje koncentracije fotosintetskih pigmenata, posebno klorofila a može biti posljedica smanjene sinteze *cab* proteina u LHC kompleksima ili destrukcije unutar LHC kompleksa koji između ostalih funkcija i štite fotosintetski aparat ili pak posljedica oksidacijskih oštećenja kloroplastnih lipida, pigmenata i proteina (Kauser i sur. 2006), posebice proteina u membranama tilakoida što dovodi do degradacije fotosustava II pa je hvatanje fotona svjetlosti smanjeno, a time i elektronski transport, produkcija ATP-a i NADPH, a u konačnici i fiksacija CO_2 (Abdalla i El-Koshiban 2007). Smanjenje koncentracija klorofila a , klorofila b i ukupnih klorofila potvrđuje i smanjena gustoća reakcijskih središta (RC/CS_0) u tretmanu sušom.

Omjer klorofil *a* / klorofil *b* u tretmanu sušom osmoga dana pokusa značajno je smanjen samo kod genotipova KEL 16 i BOR (Slika 28.; Tablica 46. u Prilogu). Smanjenje omjera klorofila (*a/b*) ukazuje da su antena kompleksi fotosustava II povećani što omogućava veću apsorpciju fotona svjetlosti, dovodi do prezasićenja fotosustava II elektronima te do „utišavanja“ reakcijskih središta odnosno njihove modifikacije u disipacijska središta (Lepeduš i sur. 2009). Kod genotipa KEL 16 osmoga dana pokusa (u trenutku određivanja koncentracije fotosintetskih pigmenata) apsorpcija i disipacija po aktivnom reakcijskom središtu znatno su porasle u odnosu na kontrolni tretman, ali i u usporedbi s ostalim genotipovima što je u skladu s smanjenjem omjera klorofil *a* / klorofil *b*.

Prema koncentracijama fotosintetskih pigmenata nultoga dana pokusa postoji statistički značajna razlika među istraživanim genotipovima (Tablica 46. u Prilogu). Genotipovi OS i BOR su međusobno jednaki prema koncentracijama klorofila *a*, klorofila *b*, ukupnih klorofila i omjera klorofil *a* / klorofil *b*, no kao i genotip MA, razlikuju se od svih ostalih genotipova.

Genotipovi KEL 16 i OS su međusobno najrazličitiji, s time da je KEL 16 najosjetljiviji na stres uzrokovan sušom, dok se genotip OS pokazao najtolerantnijim. Ova činjenica proizlazi iz većine mjerenih parametara tijekom pokusa. U većini mjerenih parametara, posebno parametara F_v/F_m i PI_{ABS} (Slika 32. i 33.), genotip KEL 16 je prvi među genotipovima pokazao značajne razlike između tretmana sušom i kontrolnog tretmana dok je genotip OS značajnom promjenom u parametrima u odnosu na kontrolu reagirao uvijek posljednji. Genotipovi CG i MA su pokazali sličan odgovor na sušu kao KEL 16 i mogu se smatrati manje tolerantnim genotipovima, dok su genotipovi 18, D6 i BOR bili sličniji genotipu OS i mogu se smatrati tolerantnijima na sušu što je za očekivati jer su genotipovi OS, 18, D6 i BOR pripadnici iste sorte Oblačinska (Slika 10.).

7. ZAKLJUČAK

Na temelju provedenog istraživanja genetske varijabilnosti višnje može se zaključiti slijedeće:

- Mikrosatelitskim biljezima utvrđena je mala genetska udaljenost između sorti Maraska i Oblačinska dok je sorta Cigančica u vrlo bliskom srodstvu sa sortom Oblačinska.
- Sorte Cigančica, Maraska i Oblačinska se na analiziranim mikrosatelitskim lokusima razlikuju od standardnih sorti uključenih u istraživanje.
- AFLP biljezima utvrđene su različitosti između sorti Cigančica, Maraska i Oblačinska u odnosu na standardne sorte uključene u ispitivanje.
- Značajna korelacija između SSR i AFLP biljega u procjeni genetske varijabilnosti višnje opravdava korištenje ovih metoda.
- Suprotno očekivanjima, AFLP biljezima nije utvrđena značajna varijabilnost unutar sorte Oblačinska što znači da je Oblačinska monoklonska sorta.

Na temelju provedenog istraživanja fotosintetske učinkovitosti u uvjetima suše može se zaključiti slijedeće:

- Relativni sadržaj vode se pokazao kao dobar indikator stresa izazvanog sušom kod višnje jer značajno korelira sa uvenućem biljaka, maksimalnim prinosom kvanta PSII te indeksom fotosintetske učinkovitosti kao glavnim parametrima koji opisuju funkcionalnost fotosintetskog aparata.
- Indeks fotosintetske učinkovitosti je osjetljiv parametar kojim se mogu utvrditi razlike između genotipova višnje u odgovoru na stres uzrokovan sušom, što opravdava korištenje metode bazirane na fluorescenciji klorofila *a* u ispitivanju stresa kod višnje.
- Sniženje koncentracija fotosintetskih pigmenata u tretmanu sušom u skladu je sa smanjenom učinkovitošću fotosintetskog sustava dokazanom parametrima OJIP testa.
- Smanjena fotosintetska učinkovitost biljaka izloženih stresu izazvanom sušom posljedica je smanjene koncentracije fotosintetskih pigmenata i povećane apsorpcije svjetlosne energije zbog čega se smanjuje broj aktivnih reakcijskih središta fotosustava jer postaju disipacijska središta, što umanjuje učinkovitost hvatanja ekscitona i elektronski transport.
- Ispitivani genotipovi pokazuju različitu toleranciju na sušu.

- Genotip OS se pokazao kao najtolerantniji genotip, a zajedno s ostalim klonskim kandidatima Oblačinske višnje (18, D6 i BOR) pokazuje veću toleranciju na sušu u odnosu na sorte Maraska, Cigančica i Kelleris 16.
- Potvrđena je uočena unutarSORTNA varijabilnost populacije Oblačinske višnje jer se genotip OS ističe kao najtolerantniji genotip na sušu, iako ta varijabilnost nije utvrđena na genetskoj razini.

8. LITERATURA

1. Abdalla MM, El-Khoshiban NH (2007) The influence of water stress on growth, relative water content, photosynthetic pigments, some metabolic and hormonal contents of two *Triticum aestivum* cultivars. J App Sci Res 3(12): 2062-2074
2. Agarwall S, Nath AK, Sharma DR (2001) Characterisation of peach (*Prunus persica* L.) cultivars using isozymes as molecular markers. Sci Hort 90: 227-242
3. Ahmed AK, Tawfik KM, Zinab AAEl-G (2008) Tolerance of seven faba bean varieties to drought and salt stresses. Res J Agr Biol Sci 4(2): 175-186
4. Antonius K, Aaltonen M, Uosukainen M, Hurme T (2012) Genotypic and phenotypic diversity in finnish cultivated sour cherry (*Prunus cerasus* L.). Genet Resour Crop Evol 59(3): 375-388
5. Appenroth K-J, Stöckel J, Srivastava A, Strasser RJ (2001) Multiple effects of chromate on the photosynthetic apparatus of *Spirodela polyrhiza* as probed by OJIP chlorophyll a fluorescence measurements. Environ Pollut 115: 49-64
6. Aradhya MK, Weeks C, Simon CJ (2004) Molecular characterisation of variability and relationship among seven cultivated and selected wild species of *Prunus* L. using amplified fragment length polymorphism. Sci Hort 103: 131-144
7. Aranzana MJ, Garcia-Mas J, Carbo J, Arus P (2002) Development and variability analysis of microsatellite markers in peach. Plant Breeding 121:87-92
8. Arus P (2006) Molecular markers for variability assessment and map comparison in *Prunus*. Acta Hort (ISHS) 701: 173-180
9. Ayanoglu H, Bayazit S, Inan G, Bakir M, Akpinar AE, Kazan K, Ergül A (2007) AFLP analysis of genetic diversity in Turkish green plum accessions (*Prunus cerasifera* L.) adapted to the Mediterranean region. Sci Hort 114:263-267 of photosynthetic productivity
10. Baker NR, Oxborough K (2004) Chlorophyll fluorescence as a probe. U: Papageorgiou GC, Govindjee (ur) Chlorophyll a fluorescence a signature of photosynthesis: Advances in photosynthesis and respiration. Vol 19, Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, 65-82
11. Baker NR, Rosenqvist E (2004) Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. J Exp Bot 55(403): 1607-1621

12. Baránek M, Raddová J, Pidra M (2006) Comparative analysis of genetic diversity in *Prunus* L. as revealed by RAPD and SSR markers. *Sci Hort* 108: 253-259
13. Bauerle WL, Dudley JB, Grimes LW (2003) Genotypic variability in photosynthesis, water use, and light absorption among red and Freeman maple cultivars in response to drought stress. *J Amer Soc Hort Sci* 128(3): 337-342
14. Beaver JA, Iezzoni AF, Ramm CW (1995) Isozyme diversity in sour, sweet, and ground cherry. *Theor Appl Genet* 90: 847-852
15. Beckmann JS, Soller M (1983) Restriction fragment length polymorphisms in genetic improvement: methodologies, mapping and costs. *Theor Appl Genet* 67: 35-43
16. Belaj A, Satovic, Cipriani G, Baldoni L, Testolin R, Rallo L, Trujillo I (2003) Comparative study of the discriminating capacity of RAPD, AFLP and SSR markers and of their effectiveness in establishing genetic relationships in olive. *Theor Appl Genet* 107: 736-744
17. Bertamini M, Zulini L, Zorer R, Muthuchelian K, Nedunchezian N (2007) Photoinhibition of photosynthesis in water deficit leaves of grapevine (*Vitis vinifera* L.) plants. *Photosynthetica* 45(3): 426-432
18. Boisvert S, Joly D, Carpentier R (2006) Quantitative analysis of the experimental O-J-I-P chlorophyll fluorescence induction kinetics Apparent activation energy and origin of each kinetic step. *FEBS J* 273: 4770-4777
19. Bolhár-Nordenkampf HR, Long SP, Baker NR, Öquist G, Schreiber U, Lechner EG, (1989) Chlorophyll fluorescence as a probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: A review of current instrumentation *Funct Ecol* 3: 497-514
20. Bošković R, Tobutt KR (1998) Inheritance and linkage relationships of isoenzymes in two interspecific cherry progenies. *Euphytica* 103: 273-286
21. Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW (1980) Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Hum Genet* 32: 314-333
22. Bouhadida M, Casas AM, Gonzalo MJ, Arus P, Moreno MA, Gogorcena Y (2009) Molecular characterisation and genetic diversity of *Prunus* rootstocks. *Sci Hort* 120: 237-245
23. Cai YL, Cao DW, Zhao GF (2007) Studies on genetic variation in cherry germplasm using RAPD analysis. *Sci Hort* 111: 248-254

24. Canli FA (2004) Development of a second generation genetic linkage map for sour cherry using SSR markers. *Pakistan J Biol Sci* 7(10): 1676-1683
25. Cantini C, Iezzoni AF, Lamboy WF, Boritzki M, Struss D (2001) DNA fingerprinting of tetraploid cherry germplasm using simple sequence repeats. *J Amer Soc Hort Sci* 126(2): 205-209
26. Chaves MM, Pereira JS, Maroco J, Rodrigues ML, Ricardo CPP, Osório ML, Carvalho I, Faria T, Pinheiro C (2002) How plants cope with water stress in the field. Photosynthesis and growth. *Ann Bot* 89: 907-916
27. Christen D, Schönmann S, Jermini M, Strasser RJ, Defago G (2007) Characterisation and early detection of grapevine (*Vitis vinifera*) stress responses to esca disease by *in situ* chlorophyll fluorescence and comparison with drought stress. *Environ Exp Bot* 60: 504-514
28. Critchley C (2000) Photoinhibition. U: Raghavendra AS (ur) *Photosynthesis: A Comprehensive Treatise*, Cambridge University Press, Cambridge, UK, 264–272
29. Cindrić P (2003) Klonska selekcija vinove loze. *Savremena poljoprivreda* 52(1-2): 53-66
30. Cipriani G, Lot G, Huang W-G, Marrazzo MT, Peterlunger E, Testolin R (1999) AC/GT and AG/CT microsatellite repeats in peach [*Prunus persica* (L) Batsch]: isolation, characterisation and cross-species amplification in *Prunus*. *Theor Appl Genet* 99: 65-72
31. Clark AJ, Landolt W, Bucher JB, Strasser RJ (2000) Beech (*Fagus sylvatica*) response to ozone exposure assessed with a chlorophyll a fluorescence performance index. *Environ Pollut* 109: 501-507
32. Clarke JB, Sargent DJ, Bošković RI, Belaj A, Tobutt KR (2009) A cherry map from the inter-specific cross *Prunus avium* „Napoleon“ × *P. nipponica* based on microsatellite, gene-specific and isoenzyme markers. *Tree Genet Genomes* 5: 41-51
33. Clarke JB, Tobutt KR (2003) Development and characterisation of polymorphic microsatellites from *Prunus avium* „Napoleon“. *Mol Ecol Notes* 3: 578-580
34. Clavel D, Diouf O, Khalfaoui JL, Braconnier S (2006) Genotypes variation in fluorescence parameters among closely related groundnut (*Arachis hypogaea* L.) lines and their potential for drought screening programs. *Field Crop Res* 96: 296-306
35. Cochard H, Barigah ST, Kleinhentz M, Eshel A (2008) Is xylem cavitation resistance a relevant criterion for screening drought resistance among *Prunus* species? *J Plant Physiol* 165: 976-982

36. Čolić S, Milatović D, Nikolić D, Zec G (2010) Isoenzyme polymorphism of almond genotypes selected in the region of northern Serbia. *Hort Sci* 37(2): 56-61
37. Dai F, Zhou M, Zhang G (2007) The change of chlorophyll fluorescence parameters in winter barley during recovery after freezing shock and as affected by cold acclimation and irradiance. *Plant Physiol Biochem* 45: 915-921
38. De Ronde JA, Cress WA, Krüger GHJ, Strasser RJ, Van Staden J (2004) Photosynthetic response of transgenic soybean plants, containing an *Arabidopsis P5CR* gene, during heat and drought stress. *J Plant Physiol* 161: 1211-1224
39. Dice LR (1945) Measures and amount of ecologic association between species. *Ecology* 26: 297-302
40. Dirlewanger E, Cosson P, Tavaud M, Aranzana MJ, Poizat C, Zanetto A, Arús P, Laigret F (2002) Development of microsatellite markers in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] and their use in genetic analysis in peach and sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Theor Appl Genet* 105:127-138
41. Dirlewanger E, Graziano E, Joobeur T, Garriga-Caldere F, Cosson P, Howad W, Arus P (2004) Comparative mapping and marker-assisted selection in Rosaceae fruit crops. *P Natl Acad Sci USA* 101:9891-9896
42. Dirlewanger E, Pronier V, Parvery C, Rothan C, Guye A, Monet R (1998) Genetic linkage map of peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] using morphological and molecular markers. *Theor Appl Genet* 97: 888-895
43. Doyle JJ, Doyle JL (1987) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Phytochem Bull* 19:11
44. Driver JA, Kuniyuki AH (1984) *In vitro* propagation of Paradox walnut *Juglans hindsii* × *Juglans regia* rootstock. *HortSci* 19: 507-509
45. Flexas L, Medrano H (2002) Drought-inhibition of photosynthesis in C₃ plants: Stomatal and non-stomatal limitations revised. *Ann Bot* 89: 183-189
46. Flore JA, Layne DR (1999) Photoassimilate production and distribution in cherry. *Hort Sci* 34(6): 1015-1019
47. Flowers MD, Fiscus EL, Burkey KO, Booker FL, Dubois J-JB (2007) Photosynthesis, chlorophyll fluorescence, and yield of snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes differing in sensitivity to ozone. *Environ Exp Bot* 61: 190-198
48. Force L, Critchley C, van Rensen JJS (2003) New fluorescence parameters for monitoring photosynthesis in plants. *Photosynth Res* 78: 17-23

49. Fracheboud Y, Haldimann P, Leipner J, Stamp P (1999) Chlorophyll fluorescence as a selection tool for cold tolerance of photosynthesis in maize (*Zea mays* L.). *J Exp Bot* 50(338): 1533-1540
50. Geuna F, Toschi M, Bassi D (2003) The use of AFLP markers for cultivar identification in apricot. *Plant Breeding* 122: 526-531
51. Goulão L, Monte-Corvo L, Oliveira CM (2001) Phenetic characterisation of plum cultivars by high multiplex ratio markers: amplified fragment length polymorphism and inter-simple sequence repeats. *J Amer Soc Hort Sci* 126(1): 72-77
52. Govindjee (2004) Chlorophyll *a* fluorescence: A bit of basics and history *U: Papageorgiou GC, Govindjee (ur) Chlorophyll a fluorescence a signature of photosynthesis: Advances in photosynthesis and respiration. Vol 19, Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, 1-42*
53. Griffin JJ, Ranney TG, Pharr DM (2004) Photosynthesis, chlorophyll fluorescence, and carbohydrate content of *Illicium* taxa grown under varied irradiance. *J Amer Soc Hort Sci* 129(1): 46-53
54. Guo P, Baum M, Varshney RK, Graner A, Grando S, Ceccarelli S (2008) QTLs for chlorophyll and chlorophyll fluorescence parameters in barley under post-flowering drought. *Euphytica* 163: 203-214
55. Gupta PK, Varshney RK (2000) The development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant breeding with emphasis on bread wheat. *Euphytica* 113: 163-185
56. Hagen SF, Solhaug KA, Bengtsson, Borge GIA, Bilger W (2006) Chlorophyll fluorescence as a tool for non-destructive estimation of anthocyanins and total flavonoids in apples. *Postharvest Biol Tec* 41: 156-163
57. Hassanzadeh M, Ebadi A, Panahyan-e-Kivi M, Eshghi AG, Jamaati-e-Somarin S, Saeidi M, Zabihi-e-Mahmoodabad (2009) Evaluation of drought stress on relative water content and chlorophyll content of sesame (*Sesamum indicum* L.) genotypes at early flowering stage. *Res J Environ Sci* 3(3): 345-350
58. Van Heerden PDR, Swanepoel JW, Krüger GHJ (2007) Modulation of photosynthesis by drought in two desert scrub species exhibiting C₃-mode CO₂ assimilation. *Environ Exp Bot* 61: 124-136

59. Hend BT, Ghada B, Sana BM, Mohamed M, Mokhtar T, Amel S-H (2009) Genetic relatedness among Tunisian plum cultivars by random amplified polymorphic DNA analysis and evaluation of phenotypic characters. *Sci Hort* 121: 440-446
60. Hormaza JI (2002) Molecular characterization and similarity relationships among apricot (*Prunus armeniaca* L.) genotypes using simple sequence repeats. *Theor Appl Genet* 104:321-328
61. Horvat D, Ivezić M (2005) Analiza varijance. U: *Biometrika u poljoprivredi*. Poljoprivredni fakultet, Osijek, 185-207
62. Huang Z-A, Jiang D-A, Yang Y, Sun J-W, Jin S-H (2004) Effects of nitrogen deficiency on gas exchange, chlorophyll fluorescence, and antioxidant enzymes in leaves of rice plants. *Photosynthetica* 42(3): 357-364
63. Jaleel CA, Gopi R, Sankar B, Gomathinayagam M, Panneerselvam R (2008) Differential responses in water use efficiency in two varieties of *Catharanthus roseus* under drought stress. *C R Biologies* 331: 42-47
64. Jaleel CA, Manivannan P, Wahidi A, Ferooq M, Jasim Al-Juburi H, Somasundaram R, Panneerselvam R (2009) Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *Int J Agric Biol* 11:100-105
65. Jelaska S (1994) Vegetativno razmnožavanje u uvjetima *in vitro*. U: *Kultura biljnih stanica i tkiva*. Školska knjiga, Zagreb, 139-171
66. Jie Z, Yuncong Y, Streeter JG, Ferree D (2010) Influence of soil drought stress on photosynthesis and the nitrogen and phosphorus absorb in different saction of leaves and stem of Fugi/M.9EML, a young apple seedling. *Afr J Biotechnol* 9(33): 5320-5325
67. Joly D, Carpentier R (2007) The oxidation/reduction kinetics of the plastoquinone pool controls the appearance of the I-peak in the O-J-I-P chlorophyll fluorescence rise: Effects of various elektron acceptors. *J Photoch Photobio B* 88: 43-59
68. Joobeur T, Viruel MA, de Vicente MC, Jauregui B, Ballester J, Dettori MT, Verde I, Truco MJ, Messeguer R, Batlle I, Quarta R, Dirlewanger E, Arus P (1998) Construction of a saturated linkage map for *Prunus* using an almond × peach F₂ progeny. *Theor Appl Genet* 97:1034-1041
69. Jurić S, Hazler-Pilepić K, Tomašić A, Lepeduš H, Jeličić B, Puthiyaveetil S, Bionda T, Vojta L, Allen JF, Schleiff E, Fulgosi H (2009) Tethering of ferredoxin : NADP⁺ oxidoreductase to thylakoid membranes is mediated by novel chloroplast protein TROL. *Plant J* 60(5): 783-794

70. Kaçar YA, Cetiner MS, Cantini C, Iezzoni AF (2006) Simple sequence repeat (SSR) markers differentiate Turkish sour cherry germplasm. *J Am Pomol Soc* 60(3): 136-143
71. Kadioglu A, Terzi R (2007) A dehydration avoidance mechanism: leaf rolling. *Bot Rev* 73(4): 290-302
72. Kadir S, Von Weihe M, Al-Khatib K (2007) Photochemical efficiency and recovery of photosystem II in grapes after exposure to sudden and gradual stress. *J Amer Soc Hort Sci* 132(6): 764-769
73. Kauser R, Athar H-U-R, Ashraf M (2006) Chlorophyll fluorescence: a potential indicator for rapid assessment of water stress tolerance in canola (*Brassica napus* L.). *Pak J Bot* 38(5): 1501-1509
74. Khakwani AA, Dennett MD, Munir M (2011) Drought tolerance screening of wheat varieties by inducing water stress conditions. *Songklanakarin J Sci Technol* 33(2): 135-142
75. Kiani SP, Maury P, Sarrafi A, Grieu P (2008) QTL analysis of chlorophyll fluorescence parameters in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under well-watered and water-stressed conditions. *Plant Sci* 175: 565-573
76. Kobayashi S, Goto-Yamamoto, Hirochika H (2004) Retrotransposon-induced mutations in grape skin color. *Science* 304: 982
77. Krall JP, Edwards GE (1992) Relationship between photosystem II activity and CO₂ fixation in leaves. *Physiol Plant* 86(1): 180-187
78. Krichen L, Bourguiba H, Audergon JC, Trifi-Farah N (2010) Comparative analysis of genetic diversity in Tunisian apricot germplasm using AFLP and SSR marker. *Sci Hort* 127: 54-63
79. Kumar A, Hirochika H (2001) Applications of retrotransposons as genetic tools in plant biology. *Trends Plant Sci* 6(3): 127-134
80. Kummarová M, Váňová L (2007) Chlorophyll fluorescence as an indicator of fluoranthene phototoxicity. *Plant Soil Environ* 53(10): 430-436
81. Lazár D, Ilík P, Kruk J, Strzałka K, Nauš J (2005) A theoretical study on the effect of the initial redox state of cytochrome *b*₅₅₉ on maximal chlorophyll fluorescence level (*F_M*): implications for photoinhibition of photosystem II. *J Theor Biol* 233: 287-300
82. Lawlor DW, Cornic G (2002) Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant Cell Environ* 25: 275-294

83. Lawlor i Tezara (2009) Causes of decreased photosynthetic rate nad metabolic capacity in water-deficient leaf cells: a critical evaluation of mechanisms and integration of processes. *Ann Bot* 103: 561-579
84. Lawson T, Oxborough K, Morison JIL, Baker NR (2003) The response of guard and mesophyll cell photosynthesis to CO₂, O₂, light, and water stress in a range of species are similar. *J Exp Bot* 54(388): 1743-1752
85. Lepeduš H, Gaća V, Viljevac M, Kovač S, Fulgosi H, Šimić D, Jurković V, Cesar V (2011) Changes in photosynthetic performace and antioxidative strategies during maturation of Norway maple (*Acer platanoides* L.) leaves. *Plant Physiol Biochem* 49: 368-376
86. Lepeduš H, Hoško M, Žuna Pfeiffer T, Skenderović Babojelić M, Žanić M, Cesar V (2010a) Preliminary study on the photosynthesis performance in leaves of two olive cultivars. *Period Biol* 112(3): 259-261
87. Lepeduš H, Jurković V, Štolfa I, Ćurković-Perica M, Fulgosi H, Cesar V (2010b) Changes in photosystem II photochemistry in senescencing maple leaves. *Croat Chem Acta* 83(4): 379-386
88. Lepeduš H, Tomašić A, Jurić S, Katanić Z, Cesar V, Fulgosi H (2009) Photochemistry of PSII in CYP38 *Arabidopsis thaliana* deletion mutation. *Food Technol Biotechnol* 47(3): 275-280
89. Lepeduš H, Viljevac M, Cesar V, Ljubešić N (2005) Functioning of the photosynthetic apparathus under low and high light conditions in chlorotic spruce needles as evaluated by *in vivo* chlorophyll fluorescence. *Russ J Plant Physl* 52(2): 165-170
90. Li P, Cheng L, Gao H, Jiang C, Peng T (2009) Heterogeneous behavior of PSII in soybean (*Glycine max*) leaves with identical PSII photochemistry efficiency under different high temperature treatments. *J Plant Physiol* 166: 1607-1615
91. Lichtenthaler HK (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Method Enzymol* 148: 350-382
92. Lin Z-H, Chen L-S, Chen R-B, Zhang F-Z, Jiang H-X, Tang N (2009) CO₂ assimilation, ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, carbohydrates and photosynthetic electron transport probed by the JIP-test, of tea leaves in response to phosphorus supply. *BMC Biology* 9: 43

93. Lindahl M, Spetea C, Hundal T, Oppenheim AB, Adam Z, Andersson B (2000) The thylakoid FtsH protease plays a role in the light-induced turnover of the photosystem II D1 protein. *Plant Cell* 12: 419-431
94. Lisek A, Korbin M, Rozpara E (2006) Using simply generated RAPD markers to distinguish between sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars. *J Fruit Ornam Plant Res* 14(1): 53-59
95. Liu J (2002) POWERMARKER – A powerful software for marker data analysis. North Carolina State University, Bioinformatics Research Center, Raleigh, NC (<http://powermarker.net>)
96. Lobato AKS, Neto MAM, Meirelles ACS, Silva LI, Marochio CA, Monteiro ER, Zeni Neto H, Maleia MP, Moiana LD, Bronzato AR, Cruz FJR (2009) Relationship between leaf relative water content and total soluble proteins in soybean exposed to short water deficit. *Res J Biol Sci* 4(9): 1061-1067
97. Maletić E, Sefc KM, Steinkellner H, Kontić JK, Pejić I (1999) Genetic characterisation of Croatian grapevine cultivars and detection of synonymous cultivars in neighboring regions. *Vitis* 38(2): 79-83
98. Manivannan P, Jaleel CA, Sankar B, Kishorekumar A, Somasundaram R, Lakshmanan GMA, Panneerselvam R (2007) Growth, biochemical modifications and proline metabolism in *Helianthus annuus* L. as induced by drought stress. *Colloid Surface B* 59: 141-149
99. Mantel N (1967) The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res* 27: 209-220
100. Manubens A, Lobos S, Jadue Y, Toro M, Messina R, Lladser M, Seelenfreund D (1999) DNA isolation and AFLP fingerprinting of nectarine and peach varieties (*Prunus persica*). *Plant Mol Biol Rep* 17(3): 255-267
101. Mauchly JW (1940) Significance test for sphericity of a normal n-variate distribution. *Ann Math Stat* 11: 204–209
102. Maxwell K, Johnson GN (2000) Chlorophyll fluorescence – a practical guide. *J Exp Bot* 51: 659-662
103. Meudt HM, Clarke AC (2007) Almost forgotten or latest Practice? AFLP applications, analyses and advances. *Trends Plant Sci* 12(3): 106-117

104. Mishra KB, Iannacone R, Petrozza A, Mishra A, Armentano N, La Vecchia G, Trtílek M, Cellini F, Nedbal L (2012) Engineered drought tolerance in tomato plants is reflected in chlorophyll fluorescence emission. *Plant Sci* 182: 79-86
105. Mišić DP (1989) Nove sorte voćaka. Nolit, Beograd
106. Mnejja M, Garcia-Mas J, Howad W, Badenes ML, Arus P (2004) Simple-sequence repeat (SSR) markers of Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.) are highly polymorphic and transferable to peach and almond. *Mol Ecol Notes* 4:163–166
107. Mohanty A, Martín JP, Aguinalalde I (2001) A population genetic analysis of chloroplast DNA in wild populations of *Prunus avium* L. in Europe. *Heredity* 87: 421-427
108. Morgante M, Olivieri AM (1993) PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. *Plant J* 3(1): 175-182
109. Munné-Bosch S, Alegre L (2000) Changes in carotenoids, tocopherols and diterpenes during drought and recovery, and the biological significance of chlorophyll loss in *Rosmarinus officinalis* plants. *Planta* 210: 925-931
110. Munné-Bosch S, Peñuelas J (2004) Drought-induced oxidative stress in strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) growing in Mediterranean field conditions. *Plant Sci* 166: 1105-1110
111. Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15(3): 473-497
112. Murphy RW, Sites JW, Buth DG, Haufler CH (1996) *Proteins: Isozyme electrophoresis U*: Hillis DH, Moritz C, Mable BK (ur) *Molecular systematics*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts, 51-55
113. Nei M (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590
114. Nikolić D, Rakonjac V, Milutinović M, Fotirić M (2005) Genetic divergence of Oblačinska sour cherry (*Prunus cerasus* L.) clones. *Genetika* 37(3): 191-198
115. Nishiyama Y, Allakhverdiev SI, Murata N (2011) Protein synthesis is the primary target of reactive oxygen species in the photoinhibition of photosystem II. *Physiol Plantarum* 142(1): 35-46
116. Nussbaum S, Geismann M, Eggenberg P, Strasser RJ, Fuhrer J (2001) Ozone sensitivity in herbaceous species as assessed by direct and modulated chlorophyll fluorescence techniques. *J Plant Physiol* 158: 757-766

117. Olden EJ, Nybom N (1968) On the origin of *Prunus cerasus* L. *Hereditas* 59(2-3): 327-345
118. Omae H, Kumar A, Kashiwaba K, Shono M (2007) Assessing drought tolerance of snap bean (*Phaseolus vulgaris*) from genotypic differences in leaf water relations, shoot growth and photosynthetic parameters. *Plant Prod Sci* 10(1): 28-35
119. Oukarroum A, El Madidi S, Schansker G, Strasser RJ (2007) Probing the responses of barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.) by chlorophyll a fluorescence OLCJIP under drought stress and re-watering. *Env Exp Bot* 60: 438-446
120. Pagliano C, Raviolo M, Vecchia FD, Gabbriellini R, Gonnelli C, Rascio N, Barbato R, La Rocca N (2006) Evidence for PSII donor-side damage and photoinhibition induced by cadmium treatment on rice (*Oryza sativa* L.). *J Photochem Photobiol B* 84: 70-78
121. Panda S, M, Martín JP, Aguinalalde I (2003) Chloroplast DNA study in sweet cherry cultivars (*Prunus avium* L.) using PCR-RFLP method. *Genet Resour Crop Ev* 50: 489-495
122. Papageorgiou GC (2004) Fluorescence of photosynthetic pigments *in vitro* and *in vivo* U: Papageorgiou GC, Govindjee (ur) Chlorophyll a fluorescence a signature of photosynthesis: Advances in photosynthesis and respiration. Vol 19, Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, 43-63
123. Papageorgiou GC, Tsimilli-Michael M, Stamatakis K (2007) The fast and slow kinetics of chlorophyll a fluorescence induction in plants, algae and cyanobacteria: a viewpoint. *Photosynth Res* 94: 275-290
124. Pavičević B (1976) Karakteristike Oblačinske višnje. *Jugoslovensko voćarstvo* 10(37-38): 153-156
125. Pedersen BH (2006) DNA fingerprints of 51 sweet and sour *Prunus* accessions using simple sequence repeats. *J Hortic Sci Biotech* 81(1): 118-124
126. Petkova V, Denev ID, Cholakov D, Porjazov I (2007) Field screening for heat tolerant common bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.) by measuring of chlorophyll fluorescence induction parameters. *Sci Hort* 111: 101-106
127. Puškar B (1991) Inventarizacija i ocjena tipova Oblačinske višnje za potrebe daljnje selekcije. Magistarski rad, Sveučilište u Zagrebu, Fakultet poljoprivrednih znanosti, Zagreb, 57 str.
128. Puškar B (2005) Unutarsortna varijabilnost Oblačinske višnje. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zagreb, 92 str.

129. Rajapakse S, Belthoff LE, He G, Estager AE, Scorza R, Verde I, Ballard RE, Baird WV, Callahan A, Monet R, Abbott AG (1995) Genetic linkage mapping in peach using morphological, RFLP and RAPD markers. *Theor Appl Genet* 90: 503-510
130. Rampino P, Pataleo S, Gerardi C, Giovanni M, Perrotta C (2006) Drought stress response in wheat: physiological and molecular analysis of resistant and sensitive genotypes. *Plant Cell Environ* 29: 2143-2152
131. Ranjbarfordoei A, Samson R, van Damme P (2006) Chlorophyll fluorescence performance of sweet almond [*Prunus dulcis* (Miller) D. Webb] in response to salinity stress induced by NaCl. *Photosynthetica* 44(4): 513-522
132. Ranjbarfordoei A, Samson R, van Damme P (2011) Photosynthesis performance in sweet almond [*Prunus dulcis* (Miller) D. Webb] exposed to supplemental UV-B radiation. *Photosynthetica* 49(1): 107-111
133. Rehder A (1947) *Manual of cultivated trees and shrubs*. 2nd edition, Macmillan Company, New York, 452-481
134. Rohlf FJ (2000) NTSYS-pc. Numerical Taxonomy System for the PC, Exeter Software, Version 2.1, Applied Biostatistics Inc, Setauket, USA
135. Rong-hua LI, Pei-guo GUO, Baum M, Grando S, Ceccarelli S (2006) Evaluation of chlorophyll content and fluorescence parameters as indicators of drought tolerance in barley. *Agr Sci China* 5(10): 751-757
136. Rosales-Serna R, Kohashi-Shibata, Acosta-Gallegos JA, Trejo-López C, Ortiz-Cereceres J, Kelly JD (2004) Biomass distribution, maturity acceleration and yield in drought stress common bean cultivars. *Field Crops Res* 85: 203-211
137. Sánchez-Rodríguez E, Rubio-Wilhelmi M, Cervilla LM, Blasco B, Rios JJ, Rosales MA, Romero L, Ruiz JM (2010) Genotypic differences in some physiological parameters symptomatic for oxidative stress under moderate drought in tomato plants. *Plant Sci* 178: 30-40
138. Sarker AM, Rahman MS, Paul NK (1999) Effect of soil moisture on relative leaf water content, chlorophyll, proline and sugar accumulation in wheat. *J Agr Crop Sci* 183: 225-229
139. Saruhan N, Terzi R, Saglam A, Kadioglu A (2009) The relationship between leaf rolling and ascorbate-glutathione cycle enzymes in apoplastic and symplastic areas of *Ctenanthe setosa* subjected to drought stress. *Biol Res* 42: 315-326
140. SAS Institute (2004) SAS Version 9.1. SAS Institute, Cary, NC, USA.

141. Schansker G, Tóth SZ, Strasser RJ (2005) Methylviologen and dibromothymoquinone treatments of pea leaves reveal the role of photosystem I in the Chl a fluorescence rise OJIP. *Biochim Biophys Acta* 1706: 250-261
142. Schenk RU, Hildebrandt A (1972) Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. *Can J Bot* 50: 199–204
143. Schlötterer C, Tautz D (1992) Slippage synthesis of simple sequence DNA. *Nucleic Acids Res* 20(2): 211-215
144. Schreiber U, Bilger W, Neubauer C (1994) Chlorophyll fluorescence as a noninvasive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis. *Ecol Stu* 100: 49-70
145. Schreiber U (2004) Pulse-Amplitude-Modulation (PAM) fluorimetry and saturation pulse method: An overview *U: Papageorgiou GC, Govindjee (ur) Chlorophyll a fluorescence a signature of photosynthesis: Advances in photosynthesis and respiration. Vol 19, Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, 279-319*
146. Shao R, Wang K, Shanguan Z (2010) Cytokinin-induced photosynthetic adaptability of *Zea mays* L. to drought stress associated with nitric oxide signal: Probed by ESR spectroscopy and fast OJIP fluorescence rise. *J Plant Physiol* 167: 472-479
147. Shiran B, Amirbakhtiar N, Kiani S, Mohammadi Sh, Sayed-Tabatabaei BE, Moradi H (2007) Molecular characterisation and genetic relationship among almond cultivars assessed by RAPD and SSR markers. *Sci Hort* 111: 280-292
148. Smethurst CF, Garnett T, Shabala S (2005) Nutritional and chlorophyll fluorescence responses of lucerne (*Medicago sativa*) to waterlogging and subsequent recovery. *Plant Soil* 270: 31-45
149. Sorkheh K, Shiran B, Gradziel TM, Epperson BK, Martínez-Gómez P, Asadi E (2007) Amplified fragment length polymorphism as a tool for molecular characterisation of almond germplasm: genetic diversity among cultivated genotypes and related wild species of almond, and its relationships with agronomic traits. *Euphytica* 156(3): 947-961
150. Sosinski B, Gannavarapu M, Hager LD, Beck LE, King GJ, Ryder CD, Rajapase S, Baird WV, Ballard RE, Abbott AG (2000) Characterisation of microsatellite markers in peach [*Prunus persica* (L) Batsch]. *Theor Appl Genet* 101: 421-428
151. Stefanov D, Petkova V, Denev ID (2011) Screening for heat tolerance in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) lines and cultivars using *JIP*-test. *Sci Hort* 128: 1-6

152. Steyn WJ, Wand SJE, Holcroft DM, Jacobs G (2002) Anthocyanins in vegetative tissues: a proposed unified function in photoprotection. *New Phytol* 155: 349-361
153. Stirbet A, Govindjee (2011) On the relation between the Kautsky effect (chlorophyll *a* fluorescence induction) and Photosystem II: Basic and applications of the OJIP fluorescence transient. *J Photoch Photobio B* 104: 236-257
154. Strasser RJ, Srivastava A, Tsimilli-Michael M (2000) The fluorescent transient as a tool to characterise and screen photosynthetic samples. *U: Yunus M, Pathre U, Mohanty P (ur) Probing photosynthesis: Mechanisms, regulation and adaptation*. Taylor and Francis, London, 445-483
155. Strasser RJ, Srivastava A, Tsimilli-Michael (2004) Analysis of chlorophyll *a* fluorescence transient. *U: Papageorgiou GC, Govindjee (ur) Chlorophyll *a* fluorescence a signature of photosynthesis: Advances in photosynthesis and respiration*. Vol 19, Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, 321-362
156. Strasser BJ, Strasser RJ (1995) Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: The JIP test. *U: Mathis P (ur) Photosynthesis: From light to biosphere*. Vol 5, Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, 977-980
157. Subrahmanyam D, Subash N, Haris A, Sikka AK (2006) Influence of water stress on leaf photosynthetic characteristics in wheat cultivars differing in their susceptibility to drought. *Photosynthetica* 44(1): 125-129
158. Šatović Z (1999) Genetski biljezi i njihova uporaba u biljnoj genetici, oplemenjivanju i sjemenarstvu. *Sjemenarstvo* 16(1-2): 73-95
159. Šircelj H, Tausz M, Grill D, Batič F (2007) Detecting different levels of drought stress in apple trees (*Malus domestica* Borkh.) with selected biochemical and physiological parameters. *Sci Hort* 113: 362-369
160. Taiz L, Zeigler E (1998) *Plant physiology*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts, 155-193
161. Tambussi EA, Bartoli CG, Guiamet JJ, Beltrano J, Araus JL (2004) Oxidative stress and photodamage at low temperatures in soybean (*Glycine max* L. Merr.) leaves. *Plant Sci* 167: 19-26
162. Tautz D, Renz M (1984) Simple sequences are ubiquitous repetitive component of eukaryotic genomes. *Nucleic Acids Res* 12(10): 4127-4138

163. Tavaud M, Zanetto A, David JL, Laigret F, Dirlewanger E (2004) Genetic relationship between diploid and allotetraploid cherry species (*Prunus avium*, *Prunus*×*gondouinii* and *Prunus cerasus*). *Heredity* 93: 631-638
164. Tezara W, Mitchell VJ, Driscoll SD, Lawlor DW (1999) Water stress inhibits plant photosynthesis by decreasing coupling factor and ATP. *Nature* 401: 914-917
165. Vaughan SP, Russell K (2004) Characterisation of novel microsatellites and development of multiplex PCR for large-scale population studies in wild cherry, *Prunus avium*. *Mol Ecol Notes* 4: 429-431
166. De Vicente MC, Truco MJ, Egea J, Burgos L, Arus P (1998) RFLP variability in apricot (*Prunus armeniaca* L.). *Plant Breed* 117: 153-158
167. Venturi S, Dondini L, Donini P, Sansavini S (2006) Retrotransposon characterisation and fingerprinting of apple clones by S-SAP markers. *Theor Appl Genet* 112: 440-444
168. Viruel MA, Messeguer R, de Vicente MC, García-Mas J, Puigdomènech P, Vargas F, Arus P (1995) A linkage map with RFLP and isozyme markers for almond. *Theor Appl Genet* 91: 964-971
169. Voet D, Voet JG (2004) *Biochemistry*. John Wiley & Sons, Inc., New York, 871-908
170. Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, van de Lee T, Hornes M, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M, Zabeau M (1995) AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucl Acid Res* 23: 4407-4414
171. Wagner A, Michalek W, Jamiolkowska A (2006) Chlorophyll fluorescence measurements as indicators of fusariosis severity in tomato plants. *Agron Res* 4: 461-464
172. Wang D, Karle R, Brettin TS, Iezzoni AF (1998) Genetic linkage map in sour cherry using RFLP markers. *Theor Appl Genet* 97: 1217-1224
173. Wang Y, Georgi LL, Zhebentyayeva TN, Reighard GL, Scorza R, Abbott AG (2002) High-throughput targeted SSR marker development in peach (*Prunus persica*). *Genome* 45: 319-328
174. Wang H, Wang F, Wang G, Majourhat K (2007) The responses of photosynthetic capacity, chlorophyll fluorescence and chlorophyll content of nectarine (*Prunus persica* var. *Nectarina* Maxim) to greenhouse and field grown conditions. *Sci Hort* 112: 66-72
175. Welsh J, McClelland M (1990) Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Res* 18(24): 7213-7218

176. Winer BJ (1971) *Statistical Principles in Experimental Design*. Second Edition, McGraw-Hill, New York, USA
177. Wünsch A (2009) Cross-transferable polymorphic SSR loci in *Prunus* species. *Sci Hort* 120: 348-352
178. Xuan H, Wang R, Büchele M, Möller O, Hartmann W (2009) Microsatellite markers (SSR) as a tool to assist in identification of sweet (*Prunus avium*) and sour cherry (*Prunus cerasus*). *Acta Hort (ISHS)* 839: 507-514
179. Zhang Q, Yan G, Dai H, Zhang X, Li C, Zhang Z (2008) Characterisation of Tomentosa cherry (*Prunus tomentosa* Thunb.) genotypes using SSR markers and morphological traits. *Sci Hort* 118: 39-47
180. Zhou L, Kappel F, Hampson C, Wiersma PA, Bakkeren G (2002) Genetic analysis and discrimination of sweet cherry cultivars and selection using amplified fragment length polymorphism fingerprints. *J Amer Soc Hort Sci* 127(5): 786-792
181. Zlatev ZS, Yordanov IT (2004) Effects of soil drought on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in bean plants. *Bulg J Plant Physiol* 30(3-4): 3-18
182. Živčák M, Brestič M, Olšovská K, Slamka P (2008) Performance index as a sensitive indicator of water stress in *Triticum aestivum* L. *Plant Soil Environ* 54(4): 133-139
183. www.faostat.fao.org

9. SAŽETAK

Višnja je u Hrvatskoj značajno zastupljena u plantažnom uzgoju. U postojećim nasadima prevladava sorta Oblačinska unutar koje je uočena fenotipska heterogenost. U ovom radu istražena je genetska varijabilnost ukupno 22 genotipa višnje, i to sorti Oblačinska, Maraska, Cigančica te standardnih sorti Kelleris 14, Kelleris 16, Kereška, Rexelle i Heimann konzervna. Korištena su dva tipa molekularnih biljega: mikrosatelitski biljezi (SSR) s ciljem identifikacije sorti i AFLP biljezi s ciljem identifikacije genotipova unutar sorte. Upotrebom 12 SSR biljega utvrđena je mala genetska udaljenost između sorti Maraska i Oblačinska dok je sorta Cigančica u vrlo bliskom srodstvu sa sortom Oblačinska. Sorte Oblačinska, Cigančica i Maraska genetički su okarakterizirane u odnosu na standardne sorte. AFLP biljezima nije potvrđena značajna varijabilnost genotipova unutar sorte Oblačinska koja je dokazana na morfološkoj, pomološkoj i kemijskoj razini. Uočena je značajna korelacija između SSR i AFLP biljega u određivanju genetske varijabilnosti višnje.

Identifikacijom sorti višanja tolerantnih na sušu omogućit će se održivost proizvodnje voća s obzirom na predviđene klimatske promjene u budućnosti. U tu svrhu ispitivana je tolerancija na sušu sedam odabranih genotipova višnje (Kelleris 16, Maraska, Cigančica i Oblačinska zastupljena sa 4 genotipa: OS, 18, D6 i BOR) kako bi se izdvojili genotipovi sa željenim svojstvima. U plasteničkom pokusu, biljke višnje bile su izložene stresu uzrokovanom sušom. Relativni sadržaj vode u listu, parametri OJIP testa koji opisuju učinkovitost fotosintetskog sustava na osnovi mjerenja fluorescencije klorofila *a* te koncentracija fotosintetskih pigmenata mjereni su tijekom pokusa kao biljezi kojima se uspješno može utvrditi tolerancija genotipova na sušu. Indeks fotosintetske učinkovitosti (PI_{ABS}) obuhvaća tri ključna događaja u reakcijskom središtu fotosustava II o kojima ovisi fotosintetska aktivnost: apsorpciju energije, hvatanje ekscitona i pretvorbu ekscitacijske energije uslijed odvajanja naboja što pokreće elektronski transport. Uslijed nedostatka vode, vrijednosti PI_{ABS} , relativnog sadržaja vode u listu i sadržaja fotosintetskih pigmenata su se uglavnom smanjivale ovisno o genotipu. Prema izmjerenim parametrima sorta Oblačinska, uključujući sva 4 ispitana genotipa među kojima se OS istakao kao najtolerantniji genotip, pokazala je veću toleranciju na sušu u odnosu na sorte Maraska, Cigančica i Kelleris 16.

10. SUMMARY

Sour cherry is important fruit in Croatian orchards. Cultivar Oblačinska is predominant in existing orchards with noted intracultivar phenotypic heterogeneity. In this study, the genetic variability of 22 genotypes of cvs. Oblačinska, Maraska and Cigančica, as well as standard cvs. Kelleris 14, Kelleris 16, Kereška, Rexelle and Heimann conserved was investigated. Two types of molecular markers were used: microsatellite markers (SSR) in order to identify intercultivar, and AFLP in order to identify intracultivar variabilities. A set of 12 SSR markers revealed small genetic distance between cvs. Maraska and Oblačinska while cv. Cigančica is affined to cv. Oblačinska. Furthermore, cvs. Oblačinska, Cigančica and Maraska were characterized in comparison to standard ones. AFLP markers didn't confirm significant intracultivar variability of cv. Oblačinska although variability has been approved on the morphological, chemical and pomological level. Significant correlation between SSR and AFLP markers was found.

Identification of sour cherry cultivars tolerant to drought will enable the sustainability of fruit production with respect to the climate change in the future. For this purpose, the tolerance of seven sour cherry genotypes (cvs. Kelleris 16, Maraska, Cigančica and Oblačinska represented by 4 genotypes: OS, 18, D6 and BOR) to drought conditions was tested in order to isolate genotypes with the desired properties. In the greenhouse experiment, cherry plants were exposed to drought stress. The leaf relative water content, OJIP test parameters which specify efficiency of the photosynthetic system based on measurements of chlorophyll *a* fluorescence, and concentrations of photosynthetic pigments during the experiment were measured as markers of drought tolerance. Photosynthetic performance index (PI_{ABS}) comprise three key events in the reaction center of photosystem II affecting the photosynthetic activity: the absorption of energy, trapping excitons and the conversion of excitation energy due to charge separation that drives electron transport. Water deficiency generally caused certain decrease of PI_{ABS} , leaf relative water content, and photosynthetic pigments content depending of genotype. Accordingly, cv. Oblačinska, including all investigated genotypes with particular respect to OS, was proved to be the most tolerant one to drought stress in comparison to the cvs. Maraska, Cigančica and Kelleris 16.

11. PRILOZI

Tablica 27. Ishodišna matrica umnoženih mikrosatelitskih lokusa.

Tablica 28. Matrica genetske sličnosti na temelju SSR biljega (Dice-ov koeficijent).

Tablica 29. Matrica genetske sličnosti na temelju AFLP biljega (Dice-ov koeficijent).

Tablica 30. Matrica genetske sličnosti na temelju SSR i AFLP biljega (Dice-ov koeficijent).

Tablica 31. Srednje vrijednosti i standardne devijacije relativnog sadržaja vode (RWC) u listovima biljaka tretmana sušom i kontrolnog tretmana sedam genotipova višnje tijekom deset dana pokusa izraženog kao postotak RWC-a u odnosu na vrijednost 0. dana pokusa.

Tablica 32. Srednje vrijednosti i standardne devijacije maksimalnog prinosa kvanta PSII (F_v/F_m) u listovima biljaka tretmana sušom i kontrolnog tretmana sedam genotipova višnje tijekom deset dana pokusa.

Tablica 33. Srednje vrijednosti i standardne devijacije indeksa fotosintetske učinkovitosti (PI_{ABS}) u listovima biljaka tretmana sušom i kontrolnog tretmana sedam genotipova višnje tijekom deset dana pokusa.

Tablica 34. Srednje vrijednosti i standardne devijacije omjera koncentracije klorofila reakcijskih središta i koncentracije antena klorofila (RC/ABS) u listovima biljaka tretmana sušom i kontrolnog tretmana sedam genotipova višnje tijekom deset dana pokusa.

Tablica 35. Srednje vrijednosti i standardne devijacije omjera hvatanja ekscitona i disipacije energije (TR_0/DI_0) u listovima biljaka tretmana sušom i kontrolnog tretmana sedam genotipova višnje tijekom deset dana pokusa.

Tablica 36. Srednje vrijednosti i standardne devijacije transporta elektrona dalje od primarnog akceptora Q_A ($ET_0/(TR_0-ET_0)$) u listovima biljaka tretmana sušom i kontrolnog tretmana sedam genotipova višnje tijekom deset dana pokusa.

Tablica 37. Srednje vrijednosti i standardne devijacije gustoće aktivnih reakcijskih središta (RC/CS₀) u listovima biljaka tretmana sušom i kontrolnog tretmana sedam genotipova višnje tijekom deset dana pokusa.

Tablica 38. Srednje vrijednosti i standardne devijacije apsorpcije po aktivnom reakcijskom središtu (ABS/RC) u listovima biljaka tretmana sušom i kontrolnog tretmana sedam genotipova višnje tijekom deset dana pokusa.

Tablica 39. Srednje vrijednosti i standardne devijacije “trapping”-a po aktivnom reakcijskom središtu (TR₀/RC) u listovima biljaka tretmana sušom i kontrolnog tretmana sedam genotipova višnje tijekom deset dana pokusa.

Tablica 40. Srednje vrijednosti i standardne devijacije elektronskog transporta po aktivnom reakcijskom središtu (ET₀/RC) u listovima biljaka tretmana sušom i kontrolnog tretmana sedam genotipova višnje tijekom deset dana pokusa.

Tablica 41. Srednje vrijednosti i standardne devijacije disipacije po aktivnom reakcijskom središtu (DI₀/RC) u listovima biljaka tretmana sušom i kontrolnog tretmana sedam genotipova višnje tijekom deset dana pokusa.

Tablica 42. Vrijednosti F testa i razine vjerojatnosti u analizi varijance genotipa KEL 16 za: F₀ - intenzitet fluorescencije pri 50 μs; F_m - maksimalni intenzitet fluorescencije; V_j - varijabilna fluorescencija na J stupnju; V_i - varijabilna fluorescencija na I stupnju; t_{max} - vrijeme potrebno da se postigne F_m; S_m - normalizirana komplementarna površina iznad OJIP krivulje; M₀ - ukupna brzina zatvaranja reakcijskih središta; N - prometni broj.

Tablica 43. Vrijednosti F testa i razine vjerojatnosti u analizi varijance genotipa OS za: F₀ - intenzitet fluorescencije pri 50 μs; F_m - maksimalni intenzitet fluorescencije; V_j - varijabilna fluorescencija na J stupnju; V_i - varijabilna fluorescencija na I stupnju; t_{max} - vrijeme potrebno da se postigne F_m; S_m - normalizirana komplementarna površina iznad OJIP krivulje; M₀ - ukupna brzina zatvaranja reakcijskih središta; N - prometni broj.

Tablica 44. Srednje vrijednosti i standardne devijacije osnovnih podataka mjerenja fluorescencije klorofila *a* u listovima genotipova KEL 16 i OS tretmana sušom i kontrolnog tretmana tijekom 10. dana pokusa; statistički značajne razlike između dana ($p < 0,05$) označene su različitim slovima; LSD test je napravljen za svaki genotip posebno; F_o - intenzitet fluorescencije pri 50 μ s; F_m - maksimalni intenzitet fluorescencije; V_j - varijabilna fluorescencija na J stupnju; V_i - varijabilna fluorescencija na I stupnju; t_{max} - vrijeme potrebno da se postigne F_m ; S_m - normalizirana komplementarna površina iznad OJIP krivulje; M_o - ukupna brzina zatvaranja reakcijskih središta; N - prometni broj.

Tablica 45. Vrijednosti F testa i razine vjerojatnosti u analizi varijance fotosintetskih pigmenta u listovima sedam genotipova višnje nultog i osmoga dana pokusa.

Tablica 46. Srednje vrijednosti i standardne devijacije fotosintetskih pigmenta u listovima sedam genotipova višnje nultog i osmoga dana pokusa; statistički značajne razlike između genotipova nultoga dana pokusa dobivene LSD testom ($p < 0,05$) označene su različitim slovima.

Tablica 27. Ishodišna matrica umnoženih mikrosatelitskih lokusa.

Genotip / SSR lokus	EMPA 001	EMPA 004	EMPA 005	EMPA 014	EMPA 015	EMPA	PMS2	PMS3	PMS40	PMS49	PMS67	PceGA25	PceGA59
6	DFH	ABDG	A	BC	ABCD	BC	CGK	ABDE	ABD	AB	BD	ABCD	
11	DFH	ABDG	A	BC	ABCD	BC	BGK	ABDE	ABD	AB	BD	ABCD	
15	DGH	ABDF	A	BC	ABCD	BC	BGK	ABDE	ABD	AB	BD	ABCD	
16	DFH	ABDG	A	BC	ABCD	BC	BGK	ABDE	ABD	AB	BD	ABCD	
18	DFH	ABDG	A	BC	ABCD	BC	BGK	ABDE	ABD	AB	BD	ABCD	
OS	DFH	ABDG	A	BC	ABCD	BC	BGK	ABDE	ABD	AB	BD	ABCD	
BOR	DFH	ABDG	A	BC	ABCD	BC	BGK	ABDE	ABD	AB	BD	ABCD	
VS 10-13	DFH	ABDG	A	BC	ABCD	BC	BFK	ABDE	ABD	AB	BD	ABCD	
VN2-28	DFH	ABDG	A	BC	ABCD	BC	BFK	ABDE	ABD	AB	BD	ABCD	
VN12-23	DFH	ABDG	A	BC	ABCD	BC	BFK	ABDE	ABD	AB	BD	ABCD	
D4	DFH	ABDG	A	BC	ABCD	BC	BGK	ABDE	ABD	AB	BD	ABCD	
D6	DFH	ABDG	A	BC	ABCD	BC	BGK	ABDE	ABD	AB	BD	ABCD	
D9	DFH	ABDG	A	BC	ABCD	BC	BDGK	ABDE	ABD	AB	BD	ABCD	
JA-2	DFH	ABDG	A	BC	ABCD	BC	BGK	ABDE	ABD	AB	BD	ABCD	
CG	DFH	ABDG	A	BCE	ABCD	BC	BFK	ABDE	ABD	AB	BD	ABCD	
MA	CFH	ACDG	A	BC	ABCD	BC	BFK	ABDE	ABD	AB	BD	ABCD	
ST	CFH	ACDG	A	BC	ABCD	BC	BFK	ABDE	ABD	AB	BD	ABCD	
KER	AFI	AG	B	ABD	ABD	BC	CEJ	ABFH	ABC	AC	BF	ABCD	
KEL14	AF	F	A	ACD	BD	BC	BFJ	BF	ABE	AB	BF	ABCD	
KEL16	FHI	ADF	AB	BC	ABD	BC	CEI	ABDH	BD	AB	BDF	ACD	
REX	BEF	BDH	A	C	BD	ACD	AGH	ACFG	BDE	AB	ACE	ABD	
HAJ	BEF	BDH	A	C	BD	ACD	AGH	CFG	BDE	AB	ACE	ABD	

Tablica 28. Matrica genetske sličnosti na temelju SSR biljega (Dice-ov koeficijent).

Genotip	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	
1 6	1,000																						
2 11	0,939	1,000																					
3 15	0,879	0,938	1,000																				
4 16	0,939	1,000	0,938	1,000																			
5 18	0,939	1,000	0,938	1,000	1,000																		
6 OS	0,939	1,000	0,938	1,000	1,000	1,000																	
7 BOR	0,939	1,000	0,938	1,000	1,000	1,000	1,000																
9 VN 2-28	0,909	0,969	0,906	0,969	0,969	0,969	0,969	1,000	1,000														
10 VN 12-23	0,909	0,969	0,906	0,969	0,969	0,969	0,969	1,000	1,000	1,000													
11 D4	0,939	1,000	0,938	1,000	1,000	1,000	1,000	0,969	0,969	0,969	1,000												
12 D6	0,939	1,000	0,938	1,000	1,000	1,000	1,000	0,969	0,969	0,969	1,000	1,000											
13 D9	0,925	0,985	0,923	0,985	0,985	0,985	0,985	0,954	0,954	0,954	0,985	0,985	1,000										
14 JA-2	0,939	1,000	0,938	1,000	1,000	1,000	1,000	0,969	0,969	0,969	1,000	1,000	0,985	1,000									
15 CG	0,896	0,954	0,892	0,954	0,954	0,954	0,954	0,985	0,985	0,985	0,954	0,954	0,939	0,954	1,000								
16 MA	0,848	0,906	0,844	0,906	0,906	0,906	0,906	0,938	0,938	0,938	0,906	0,906	0,892	0,906	0,923	1,000							
17 ST	0,848	0,906	0,844	0,906	0,906	0,906	0,906	0,938	0,938	0,938	0,906	0,906	0,892	0,906	0,923	1,000	1,000						
18 KER	0,606	0,594	0,531	0,594	0,594	0,594	0,594	0,594	0,594	0,594	0,594	0,594	0,585	0,594	0,585	0,594	0,594	1,000					
19 KEL 14	0,557	0,610	0,610	0,610	0,610	0,610	0,610	0,644	0,644	0,644	0,610	0,610	0,600	0,610	0,633	0,644	0,644	0,678	1,000				
20 KEL 16	0,738	0,730	0,730	0,730	0,730	0,730	0,730	0,730	0,730	0,730	0,730	0,730	0,719	0,730	0,719	0,730	0,730	0,698	0,586	1,000			
21 REX	0,523	0,540	0,508	0,540	0,540	0,540	0,540	0,508	0,508	0,508	0,540	0,540	0,531	0,540	0,500	0,476	0,476	0,381	0,483	0,484	1,000		
22 HAJ	0,500	0,516	0,484	0,516	0,516	0,516	0,516	0,484	0,484	0,484	0,516	0,516	0,508	0,516	0,476	0,452	0,452	0,355	0,491	0,459	0,984	1,000	

Tablica 29. Matrica genetske sličnosti na temelju AFLP biljega (Dice-ov koeficijent).

Genotip	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	
1 6	1,000																						
2 11	0,998	1,000																					
3 15	0,963	0,965	1,000																				
4 16	0,989	0,991	0,965	1,000																			
5 18	0,984	0,982	0,970	0,987	1,000																		
6 OS	0,976	0,973	0,974	0,973	0,982	1,000																	
7 BOR	0,982	0,980	0,972	0,984	0,993	0,985	1,000																
8 VS10-13	0,960	0,958	0,959	0,967	0,976	0,972	0,978	1,000															
9 VN 2-28	0,944	0,941	0,921	0,950	0,946	0,934	0,949	0,940	1,000														
10 VN 12-23	0,980	0,977	0,961	0,986	0,982	0,969	0,980	0,962	0,950	1,000													
11 D4	0,982	0,980	0,954	0,989	0,980	0,967	0,977	0,960	0,948	0,989	1,000												
12 D6	0,982	0,980	0,954	0,989	0,980	0,967	0,977	0,960	0,948	0,989	1,000	1,000											
13 D9	0,971	0,969	0,948	0,977	0,973	0,960	0,971	0,958	0,942	0,982	0,984	0,984	1,000										
14 JA-2	0,969	0,967	0,959	0,966	0,976	0,972	0,973	0,969	0,935	0,967	0,964	0,964	0,971	1,000									
15 CG	0,971	0,969	0,961	0,977	0,982	0,969	0,976	0,971	0,942	0,978	0,975	0,975	0,973	0,984	1,000								
16 MA	0,971	0,973	0,960	0,982	0,978	0,969	0,980	0,976	0,946	0,977	0,975	0,975	0,973	0,980	0,986	1,000							
17 ST	0,977	0,975	0,954	0,984	0,984	0,967	0,982	0,969	0,952	0,984	0,982	0,982	0,975	0,978	0,984	0,989	1,000						
18 KER	0,902	0,900	0,881	0,909	0,910	0,897	0,903	0,899	0,873	0,905	0,906	0,906	0,900	0,899	0,914	0,909	0,911	1,000					
19 KEL 14	0,870	0,867	0,862	0,871	0,877	0,869	0,875	0,862	0,839	0,867	0,868	0,868	0,858	0,866	0,868	0,871	0,882	0,907	1,000				
20 KEL 16	0,872	0,869	0,855	0,868	0,875	0,871	0,872	0,869	0,851	0,869	0,866	0,866	0,865	0,873	0,879	0,878	0,875	0,891	0,904	1,000			
21 REX	0,886	0,883	0,864	0,887	0,889	0,876	0,886	0,883	0,874	0,888	0,889	0,889	0,884	0,882	0,888	0,892	0,899	0,892	0,876	0,883	1,000		
22 HAJ	0,888	0,886	0,862	0,885	0,887	0,874	0,884	0,881	0,872	0,886	0,887	0,887	0,882	0,880	0,886	0,890	0,897	0,889	0,874	0,881	0,988	1,000	

Tablica 30. Matrica genetske sličnosti na temelju SSR i AFLP biljega (Dice-ov koeficijent).

Genotip	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	
1 6	1,000																						
2 11	0,990	1,000																					
3 15	0,952	0,962	1,000																				
4 16	0,982	0,992	0,961	1,000																			
5 18	0,979	0,984	0,966	0,988	1,000																		
6 OS	0,971	0,977	0,970	0,977	0,985	1,000																	
7 BOR	0,977	0,982	0,967	0,986	0,994	0,987	1,000																
8 VS 10-13	0,954	0,959	0,953	0,967	0,975	0,971	0,977	1,000															
9 VN 2-28	0,939	0,945	0,919	0,953	0,949	0,938	0,951	0,948	1,000														
10 VN 12-23	0,971	0,976	0,954	0,984	0,980	0,969	0,978	0,967	0,957	1,000													
11 D4	0,976	0,982	0,952	0,990	0,982	0,971	0,980	0,961	0,950	0,986	1,000												
12 D6	0,976	0,982	0,952	0,990	0,982	0,971	0,980	0,961	0,950	0,986	1,000	1,000											
13 D9	0,965	0,971	0,945	0,978	0,975	0,963	0,973	0,958	0,943	0,978	0,984	0,984	1,000										
14 JA-2	0,965	0,971	0,956	0,971	0,979	0,975	0,977	0,969	0,940	0,967	0,969	0,969	0,973	1,000									
15 CG	0,961	0,967	0,952	0,974	0,979	0,967	0,973	0,973	0,947	0,978	0,972	0,972	0,969	0,981	1,000								
16 MA	0,955	0,964	0,946	0,972	0,969	0,961	0,971	0,971	0,945	0,972	0,966	0,966	0,963	0,971	0,978	1,000							
17 ST	0,961	0,966	0,940	0,974	0,974	0,959	0,972	0,965	0,950	0,978	0,972	0,972	0,965	0,969	0,976	0,990	1,000						
18 KER	0,864	0,861	0,837	0,869	0,870	0,859	0,864	0,861	0,837	0,865	0,866	0,866	0,860	0,861	0,872	0,869	0,870	1,000					
19 KEL 14	0,831	0,836	0,832	0,840	0,846	0,839	0,843	0,837	0,816	0,840	0,837	0,837	0,827	0,836	0,839	0,844	0,854	0,880	1,000				
20 KEL 16	0,854	0,851	0,839	0,851	0,857	0,854	0,854	0,851	0,835	0,851	0,848	0,848	0,846	0,855	0,858	0,859	0,857	0,866	0,866	1,000			
21 REX	0,838	0,839	0,819	0,843	0,844	0,834	0,842	0,835	0,827	0,839	0,844	0,844	0,838	0,839	0,838	0,838	0,844	0,825	0,828	0,852	1,000		
22 HAJ	0,838	0,839	0,815	0,838	0,840	0,830	0,838	0,831	0,823	0,835	0,840	0,840	0,834	0,835	0,834	0,834	0,840	0,821	0,828	0,827	0,987	1,000	

Tablica 31. Srednje vrijednosti i standardne devijacije relativnog sadržaja vode (RWC) u listovima biljaka tretmana sušom i kontrolnog tretmana sedam genotipova višnje tijekom deset dana pokusa izraženog kao postotak RWC-a u odnosu na vrijednost 0. dana pokusa.

Tretman sušom							
Dan	KEL 16	CG	MA	OS	18	D6	BOR
0.	100,000±5,448	100,000±5,395	100,000±5,805	100,000±8,936	100,000±5,855	100,000±3,869	100,000±9,395
2.	84,665±3,931	95,984±3,219	91,792±12,058	93,438±7,554	101,788±10,141	104,933±4,414	100,354±4,418
4.	87,381±19,737	90,904±9,930	79,465±9,628	92,821±5,287	92,935±4,355	94,032±12,922	96,023±7,739
6.	48,991±19,926	48,924±14,606	46,494±14,265	88,213±18,223	87,149±7,115	89,184±26,689	89,134±16,837
8.	43,770±10,283	37,632±3,963	38,637±9,730	90,705±5,740	61,014±25,889	53,794±9,513	42,898±12,290
10.	35,310±5,331	33,621±5,797	34,526±5,564	35,270±2,808	32,330±13,007	35,302±7,276	32,804±5,035
Kontrolni tretman							
Dan	KEL 16	CG	MA	OS	18	D6	BOR
0.	100,000±5,878	100,000±5,272	100,000±3,691	100,000±2,659	100,000±3,550	100,000±6,778	100,000±11,767
2.	91,164±7,370	102,067±4,654	93,751±5,411	88,998±10,713	94,993±6,891	108,275±2,364	99,417±6,882
4.	94,731±5,069	106,966±6,466	94,412±12,729	101,144±3,866	93,339±20,927	94,683±18,785	100,120±7,812
6.	91,707±13,675	102,365±20,135	101,273±5,160	96,721±2,561	100,518±11,408	112,234±4,288	111,570±2,256
8.	110,140±3,575	105,906±8,682	112,306±8,165	112,194±5,888	98,599±6,157	111,559±10,536	123,605±4,513
10.	97,929±11,557	89,113±7,852	107,227±6,491	90,699±4,500	94,535±4,359	103,683±6,696	95,902±11,786

Tablica 32. Srednje vrijednosti i standardne devijacije maksimalnog prinosa kvanta PSII (F_v/F_m) u listovima biljaka tretmana sušom i kontrolnog tretmana sedam genotipova višnje tijekom deset dana pokusa.

Tretman sušom							
Dan	KEL 16	CG	MA	OS	18	D6	BOR
0.	0,829±0,008	0,816±0,006	0,812±0,010	0,794±0,009	0,816±0,009	0,815±0,017	0,816±0,013
1.	0,825±0,006	0,816±0,009	0,829±0,012	0,802±0,019	0,827±0,010	0,829±0,015	0,826±0,012
2.	0,830±0,006	0,828±0,007	0,829±0,007	0,806±0,014	0,823±0,012	0,831±0,008	0,824±0,009
3.	0,826±0,008	0,826±0,007	0,823±0,014	0,808±0,016	0,830±0,008	0,814±0,012	0,824±0,012
4.	0,833±0,010	0,823±0,014	0,824±0,010	0,815±0,009	0,830±0,020	0,830±0,010	0,820±0,014
5.	0,814±0,015	0,819±0,012	0,817±0,015	0,816±0,013	0,834±0,009	0,826±0,010	0,827±0,009
6.	0,775±0,032	0,773±0,038	0,803±0,017	0,805±0,014	0,825±0,014	0,811±0,021	0,815±0,011
7.	0,580±0,064	0,734±0,032	0,760±0,025	0,816±0,014	0,817±0,014	0,804±0,025	0,792±0,025
8.	0,381±0,200	0,616±0,070	0,692±0,078	0,806±0,026	0,725±0,043	0,703±0,064	0,676±0,100
9.	0,067±0,028	0,076±0,048	0,108±0,037	0,803±0,015	0,435±0,050	0,197±0,047	0,299±0,110
10.	0,043±0,029	0,033±0,014	0,038±0,015	0,765±0,036	0,098±0,027	0,059±0,014	0,032±0,022
Kontrolni tretman							
Dan	KEL 16	CG	MA	OS	18	D6	BOR
0.	0,825±0,011	0,820±0,012	0,810±0,010	0,802±0,009	0,818±0,017	0,819±0,021	0,821±0,014
1.	0,828±0,010	0,823±0,017	0,821±0,014	0,812±0,013	0,825±0,019	0,829±0,008	0,830±0,008
2.	0,831±0,006	0,824±0,011	0,824±0,010	0,814±0,015	0,828±0,012	0,831±0,010	0,825±0,008
3.	0,837±0,003	0,825±0,009	0,822±0,014	0,813±0,013	0,837±0,009	0,826±0,010	0,831±0,010
4.	0,836±0,009	0,832±0,007	0,831±0,010	0,820±0,007	0,826±0,011	0,833±0,011	0,835±0,016
5.	0,835±0,007	0,836±0,006	0,829±0,010	0,816±0,007	0,837±0,007	0,835±0,011	0,841±0,005
6.	0,835±0,008	0,837±0,010	0,828±0,015	0,814±0,021	0,837±0,011	0,837±0,006	0,844±0,005
7.	0,833±0,007	0,832±0,014	0,828±0,015	0,820±0,012	0,839±0,007	0,832±0,013	0,839±0,008
8.	0,838±0,007	0,839±0,007	0,832±0,009	0,821±0,009	0,840±0,009	0,844±0,006	0,841±0,005
9.	0,840±0,006	0,842±0,007	0,838±0,009	0,827±0,007	0,844±0,004	0,841±0,011	0,841±0,006
10.	0,837±0,007	0,842±0,007	0,823±0,012	0,826±0,005	0,838±0,007	0,840±0,007	0,841±0,006

Tablica 33. Srednje vrijednosti i standardne devijacije indeksa fotosintetske učinkovitosti (PI_{ABS}) u listovima biljaka tretmana sušom i kontrolnog tretmana sedam genotipova višnje tijekom deset dana pokusa.

Tretman sušom							
Dan	KEL 16	CG	MA	OS	18	D6	BOR
0.	2,192±0,314	1,688±0,384	1,466±0,237	1,038±0,170	1,514±0,227	1,507±0,387	1,818±0,376
1.	3,113±0,747	3,133±0,392	3,966±1,024	1,879±0,403	2,906±0,353	2,851±0,498	3,295±0,904
2.	2,557±0,338	2,462±0,500	2,301±0,281	1,611±0,508	2,317±0,480	2,155±0,655	2,061±0,352
3.	1,718±0,336	1,720±0,398	1,442±0,397	1,504±0,407	1,984±0,355	1,287±0,321	1,707±0,504
4.	2,277±0,440	2,248±0,528	2,089±0,484	1,549±0,263	2,317±0,421	2,071±0,449	1,836±0,595
5.	1,938±0,640	2,165±0,577	2,004±0,539	1,677±0,235	2,310±0,437	1,696±0,404	2,052±0,449
6.	1,133±0,467	1,086±0,446	1,274±0,385	1,383±0,237	2,238±0,264	1,264±0,396	1,843±0,418
7.	0,195±0,081	0,471±0,127	0,726±0,199	1,795±0,123	1,970±0,360	1,051±0,294	1,239±0,394
8.	0,074±0,073	0,239±0,127	0,420±0,163	1,617±0,404	0,545±0,138	0,393±0,152	0,327±0,160
9.	0,003±0,002	0,004±0,003	0,005±0,003	1,455±0,261	0,069±0,027	0,014±0,006	0,036±0,028
10.	0,002±0,001	0,001±0,001	0,001±0,001	0,730±0,214	0,005±0,002	0,002±0,000	0,001±0,001
Kontrolni tretman							
Dan	KEL 16	CG	MA	OS	18	D6	BOR
0.	2,202±0,389	1,685±0,390	1,462±0,294	1,068±0,304	1,539±0,434	1,557±0,430	1,900±0,568
1.	3,105±0,834	3,070±0,953	3,855±1,492	1,937±0,380	2,961±1,167	2,898±1,074	3,322±0,478
2.	2,549±0,516	2,434±0,346	2,220±0,421	1,667±0,397	2,348±0,653	2,188±0,489	2,123±0,544
3.	2,316±0,434	1,828±0,423	1,522±0,474	1,536±0,257	2,204±0,514	1,554±0,417	1,907±0,730
4.	2,793±0,604	2,729±0,513	2,345±0,301	1,844±0,488	2,098±0,459	2,725±0,670	3,277±0,815
5.	2,838±0,419	2,644±0,534	2,228±0,270	1,852±0,334	2,522±0,498	2,228±0,546	2,826±0,698
6.	2,852±0,529	2,634±0,524	2,631±0,350	1,837±0,441	2,625±0,676	2,292±0,560	3,208±0,494
7.	3,118±0,545	2,780±0,713	2,697±0,712	2,168±0,503	2,985±0,619	2,410±0,475	3,223±0,394
8.	3,092±0,694	3,061±0,537	2,852±0,657	2,241±0,556	2,836±0,578	3,440±0,486	3,352±0,494
9.	3,319±0,509	3,121±0,551	2,906±0,347	2,322±0,293	3,108±0,442	3,280±0,650	2,722±0,565
10.	3,635±0,682	3,308±0,605	2,395±0,571	2,326±0,303	3,149±0,432	3,059±0,513	3,396±0,299

Tablica 34. Srednje vrijednosti i standardne devijacije omjera koncentracije klorofila reakcijskih središta i koncentracije antena klorofila (RC/ABS) u listovima biljaka tretmana sušom i kontrolnog tretmana sedam genotipova višnje tijekom deset dana pokusa.

Tretman sušom							
Dan	KEL 16	CG	MA	OS	18	D6	BOR
0.	0,448±0,024	0,415±0,031	0,400±0,017	0,374±0,028	0,407±0,023	0,372±0,026	0,401±0,030
1.	0,453±0,050	0,429±0,021	0,447±0,050	0,378±0,036	0,444±0,028	0,425±0,037	0,443±0,057
2.	0,448±0,025	0,429±0,020	0,399±0,017	0,378±0,041	0,413±0,015	0,396±0,034	0,389±0,028
3.	0,418±0,029	0,401±0,026	0,383±0,037	0,395±0,021	0,418±0,021	0,358±0,028	0,410±0,035
4.	0,434±0,024	0,419±0,025	0,397±0,019	0,384±0,014	0,401±0,018	0,394±0,025	0,396±0,031
5.	0,429±0,020	0,415±0,023	0,409±0,024	0,384±0,024	0,416±0,023	0,401±0,029	0,434±0,012
6.	0,399±0,029	0,376±0,022	0,381±0,030	0,359±0,023	0,409±0,022	0,353±0,024	0,409±0,023
7.	0,272±0,033	0,337±0,022	0,367±0,021	0,393±0,021	0,409±0,024	0,344±0,026	0,383±0,019
8.	0,196±0,083	0,298±0,052	0,331±0,031	0,396±0,012	0,346±0,011	0,311±0,043	0,313±0,036
9.	0,048±0,019	0,059±0,038	0,068±0,021	0,391±0,020	0,229±0,030	0,112±0,026	0,166±0,056
10.	0,037±0,018	0,026±0,011	0,035±0,024	0,321±0,025	0,068±0,016	0,043±0,006	0,020±0,014
Kontrolni tretman							
Dan	KEL 16	CG	MA	OS	18	D6	BOR
0.	0,446±0,017	0,415±0,034	0,404±0,020	0,374±0,029	0,403±0,030	0,398±0,021	0,406±0,019
1.	0,457±0,040	0,437±0,023	0,457±0,042	0,404±0,026	0,437±0,038	0,423±0,036	0,427±0,031
2.	0,440±0,027	0,438±0,022	0,420±0,017	0,393±0,024	0,410±0,029	0,418±0,022	0,422±0,040
3.	0,437±0,030	0,404±0,034	0,397±0,026	0,371±0,030	0,418±0,033	0,400±0,028	0,419±0,048
4.	0,448±0,018	0,435±0,026	0,413±0,025	0,405±0,027	0,406±0,029	0,417±0,023	0,445±0,019
5.	0,438±0,016	0,437±0,023	0,433±0,012	0,413±0,025	0,420±0,021	0,426±0,028	0,446±0,015
6.	0,446±0,019	0,432±0,025	0,430±0,013	0,409±0,020	0,429±0,022	0,432±0,020	0,460±0,024
7.	0,454±0,029	0,425±0,019	0,419±0,028	0,428±0,024	0,426±0,020	0,418±0,023	0,452±0,024
8.	0,466±0,019	0,455±0,018	0,448±0,025	0,434±0,023	0,440±0,024	0,445±0,020	0,452±0,014
9.	0,478±0,029	0,466±0,016	0,449±0,019	0,444±0,017	0,453±0,015	0,463±0,029	0,456±0,014
10.	0,456±0,017	0,459±0,016	0,425±0,024	0,425±0,023	0,439±0,021	0,438±0,018	0,453±0,011

Tablica 35. Srednje vrijednosti i standardne devijacije omjera “trapping”-a i disipacije energije (TR_0/DI_0) u listovima biljaka tretmana sušom i kontrolnog tretmana sedam genotipova višnje tijekom deset dana pokusa.

Tretman sušom							
Dan	KEL 16	CG	MA	OS	18	D6	BOR
0.	4,847±0,285	4,441±0,184	4,317±0,262	3,861±0,206	4,433±0,258	4,431±0,474	4,461±0,380
1.	4,713±0,208	4,451±0,281	4,874±0,370	4,076±0,454	4,791±0,332	4,871±0,493	4,760±0,402
2.	4,887±0,197	4,831±0,240	4,870±0,233	4,166±0,360	4,685±0,382	4,921±0,257	4,691±0,289
3.	4,767±0,264	4,762±0,234	4,675±0,406	4,245±0,424	4,905±0,271	4,383±0,356	4,698±0,359
4.	5,005±0,356	4,683±0,425	4,707±0,324	4,426±0,267	4,934±0,561	4,907±0,309	4,595±0,418
5.	4,397±0,428	4,553±0,345	4,495±0,434	4,468±0,373	5,039±0,354	4,776±0,339	4,789±0,306
6.	3,528±0,617	3,504±0,645	4,106±0,454	4,161±0,384	4,742±0,432	4,338±0,526	4,435±0,343
7.	1,424±0,314	2,809±0,465	3,211±0,398	4,477±0,394	4,505±0,423	4,164±0,599	3,856±0,551
8.	0,822±0,756	1,679±0,471	2,431±0,850	4,228±0,655	2,713±0,579	2,508±0,759	2,354±1,008
9.	0,073±0,033	0,085±0,057	0,123±0,047	4,098±0,359	0,782±0,159	0,250±0,079	0,458±0,236
10.	0,046±0,032	0,034±0,015	0,040±0,016	3,340±0,587	0,109±0,034	0,063±0,016	0,033±0,024
Kontrolni tretman							
Dan	KEL 16	CG	MA	OS	18	D6	BOR
0.	4,731±0,380	4,589±0,370	4,278±0,273	4,059±0,242	4,530±0,496	4,577±0,604	4,608±0,428
1.	4,824±0,337	4,681±0,551	4,601±0,416	4,328±0,378	4,756±0,608	4,871±0,291	4,909±0,283
2.	4,930±0,215	4,690±0,353	4,711±0,332	4,401±0,390	4,851±0,415	4,926±0,348	4,739±0,272
3.	5,153±0,128	4,743±0,290	4,660±0,431	4,361±0,341	5,141±0,324	4,767±0,328	4,937±0,355
4.	5,114±0,336	4,973±0,251	4,938±0,344	4,577±0,227	4,776±0,364	5,021±0,414	5,114±0,528
5.	5,065±0,257	5,108±0,212	4,865±0,334	4,443±0,214	5,152±0,264	5,082±0,392	5,283±0,206
6.	5,057±0,277	5,143±0,368	4,859±0,489	4,423±0,597	5,177±0,413	5,138±0,219	5,425±0,209
7.	5,013±0,271	4,969±0,473	4,850±0,516	4,573±0,348	5,205±0,272	4,974±0,447	5,222±0,290
8.	5,194±0,250	5,234±0,287	4,981±0,332	4,604±0,278	5,272±0,359	5,432±0,238	5,304±0,187
9.	5,277±0,235	5,324±0,265	5,178±0,329	4,800±0,232	5,422±0,186	5,317±0,403	5,316±0,226
10.	5,143±0,275	5,331±0,285	4,685±0,389	4,762±0,156	5,187±0,248	5,247±0,261	5,316±0,234

Tablica 36. Srednje vrijednosti i standardne devijacije transporta elektrona dalje od primarnog akceptora Q_A ($ET_0/(TR_0-ET_0)$) u listovima biljaka tretmana sušom i kontrolnog tretmana sedam genotipova višnje tijekom deset dana pokusa.

Tretman sušom							
Dan	KEL 16	CG	MA	OS	18	D6	BOR
0.	1,005±0,085	0,909±0,153	0,849±0,130	0,719±0,114	0,836±0,068	0,903±0,143	1,012±0,131
1.	1,443±0,289	1,640±0,132	1,817±0,388	1,219±0,171	1,376±0,210	1,404±0,310	1,546±0,244
2.	1,167±0,097	1,183±0,186	1,180±0,081	1,002±0,191	1,195±0,202	1,086±0,243	1,128±0,157
3.	0,857±0,128	0,893±0,144	0,789±0,118	0,879±0,149	0,965±0,133	0,811±0,128	0,866±0,145
4.	1,040±0,100	1,132±0,136	1,104±0,172	0,911±0,136	1,164±0,102	1,062±0,148	0,994±0,233
5.	1,004±0,242	1,128±0,215	1,069±0,164	0,975±0,072	1,095±0,129	0,881±0,161	0,982±0,170
6.	0,776±0,169	0,784±0,187	0,796±0,115	0,923±0,083	1,156±0,098	0,806±0,155	1,006±0,144
7.	0,504±0,154	0,492±0,065	0,610±0,109	1,026±0,082	1,063±0,083	0,721±0,100	0,825±0,149
8.	0,436±0,091	0,460±0,112	0,527±0,081	0,955±0,116	0,576±0,030	0,495±0,040	0,450±0,111
9.	0,808±0,193	0,777±0,399	0,583±0,055	0,906±0,119	0,376±0,062	0,476±0,070	0,454±0,118
10.	0,844±0,172	0,896±0,191	0,876±0,262	0,670±0,080	0,709±0,084	0,827±0,202	1,068±0,585
Kontrolni tretman							
Dan	KEL 16	CG	MA	OS	18	D6	BOR
0.	1,039±0,128	0,881±0,149	0,843±0,140	0,693±0,140	0,824±0,091	0,847±0,175	0,994±0,201
1.	1,391±0,224	1,475±0,331	1,780±0,551	1,108±0,179	1,375±0,323	1,379±0,400	1,584±0,180
2.	1,167±0,175	1,183±0,118	1,120±0,184	0,952±0,134	1,161±0,198	1,054±0,163	1,049±0,186
3.	1,024±0,140	0,945±0,146	0,806±0,125	0,947±0,089	1,016±0,158	0,805±0,137	0,889±0,183
4.	1,210±0,177	1,254±0,166	1,150±0,094	0,984±0,204	1,073±0,128	1,283±0,167	1,422±0,237
5.	1,276±0,145	1,181±0,197	1,061±0,135	1,006±0,131	1,158±0,147	1,017±0,153	1,188±0,236
6.	1,259±0,195	1,180±0,153	1,262±0,142	1,007±0,132	1,166±0,166	1,027±0,226	1,282±0,142
7.	1,368±0,199	1,298±0,203	1,307±0,178	1,095±0,179	1,336±0,184	1,151±0,129	1,364±0,109
8.	1,266±0,199	1,280±0,166	1,268±0,221	1,106±0,175	1,214±0,145	1,419±0,146	1,395±0,161
9.	1,311±0,118	1,252±0,175	1,247±0,082	1,088±0,103	1,262±0,152	1,319±0,135	1,116±0,182
10.	1,539±0,177	1,341±0,162	1,202±0,259	1,145±0,091	1,382±0,150	1,324±0,161	1,411±0,115

Tablica 37. Srednje vrijednosti i standardne devijacije gustoće aktivnih reakcijskih središta (RC/CS₀) u listovima biljaka tretmana sušom i kontrolnog tretmana sedam genotipova višnje tijekom deset dana pokusa.

Tretman sušom							
Dan	KEL 16	CG	MA	OS	18	D6	BOR
0.	182,41±7,33	169,17±10,54	165,87±7,61	160,75±10,98	173,60±8,14	160,25±11,78	161,24±10,35
1,	214,59±16,66	198,31±6,04	194,73±20,55	177,25±20,24	210,47±20,09	187,21±9,51	194,09±15,19
2,	194,45±10,60	190,41±6,63	163,99±7,74	162,22±17,53	175,61±4,31	169,86±8,57	172,18±7,90
3,	188,48±12,23	173,44±8,11	165,39±10,19	169,70±13,57	177,14±9,22	163,37±9,89	171,30±6,61
4,	194,56±5,86	195,08±11,29	182,43±5,80	180,06±10,06	177,91±5,86	176,15±4,23	184,36±13,78
5,	189,39±10,20	176,96±7,09	174,15±8,88	170,45±10,98	183,58±10,84	183,66±16,00	188,23±8,16
6,	163,74±8,35	155,45±6,28	152,91±6,14	145,51±4,99	159,95±5,69	151,57±7,38	154,28±5,21
7,	120,18±12,65	132,94±8,98	134,99±6,37	125,51±12,58	130,55±5,42	120,22±6,44	135,63±7,34
8,	78,79±24,82	101,31±13,83	104,66±7,84	105,41±8,72	111,05±4,51	103,41±11,96	102,64±12,49
9,	22,66±9,99	25,08±17,68	33,30±12,96	105,65±6,48	86,42±8,94	52,79±12,87	68,29±15,58
10,	15,73±7,53	9,98±3,97	14,01±10,51	94,06±9,03	26,58±6,39	17,69±3,66	7,14±4,73
Kontrolni tretman							
Dan	KEL 16	CG	MA	OS	18	D6	BOR
0,	177,75±7,64	169,98±10,98	166,26±10,54	164,43±7,65	170,96±5,88	170,63±6,58	163,61±6,55
1,	215,68±15,92	202,01±9,48	205,45±12,45	192,26±14,38	204,74±12,43	193,07±14,23	187,17±10,67
2,	194,50±8,10	184,98±9,31	176,12±10,66	170,18±10,17	179,19±9,84	179,11±8,68	172,92±8,91
3,	183,92±7,45	173,04±8,39	171,51±8,66	155,40±12,90	173,16±9,33	169,94±9,82	170,33±12,56
4,	199,98±8,07	185,12±5,25	181,08±13,70	182,75±9,83	178,01±15,88	177,47±7,93	185,60±11,98
5,	186,54±3,27	184,83±7,56	188,21±13,45	178,82±10,81	181,32±10,40	191,76±3,89	184,18±5,69
6,	158,77±8,13	155,47±8,45	151,82±6,71	156,14±8,81	160,83±3,92	162,78±9,71	162,83±4,48
7,	138,24±6,13	130,92±9,45	127,38±5,04	130,15±8,47	129,50±5,64	128,06±4,23	131,91±6,41
8,	117,13±4,73	111,77±3,81	111,98±6,26	110,77±5,41	110,42±3,94	108,07±6,37	108,83±3,22
9,	120,42±8,79	112,44±5,48	107,67±6,91	110,56±7,08	111,15±3,46	112,33±5,88	110,42±6,92
10,	109,03±4,64	110,91±3,86	102,84±6,65	103,43±3,52	104,80±4,67	105,42±3,27	106,28±3,52

Tablica 38. Srednje vrijednosti i standardne devijacije apsorpcije po aktivnom reakcijskom središtu (ABS/RC) u listovima biljaka tretmana sušom i kontrolnog tretmana sedam genotipova višnje tijekom deset dana pokusa.

Tretman sušom							
Dan	KEL 16	CG	MA	OS	18	D6	BOR
0.	2,235±0,117	2,423±0,192	2,501±0,108	2,685±0,205	2,466±0,136	2,696±0,178	2,508±0,199
1.	2,230±0,256	2,338±0,114	2,260±0,243	2,668±0,250	2,259±0,138	2,366±0,198	2,295±0,317
2.	2,240±0,122	2,338±0,106	2,508±0,116	2,675±0,309	2,425±0,091	2,541±0,217	2,582±0,184
3.	2,400±0,180	2,500±0,164	2,637±0,272	2,537±0,135	2,396±0,121	2,812±0,224	2,458±0,228
4.	2,313±0,133	2,393±0,142	2,522±0,126	2,607±0,094	2,499±0,114	2,545±0,161	2,536±0,201
5.	2,334±0,114	2,414±0,140	2,450±0,144	2,613±0,158	2,408±0,136	2,503±0,183	2,308±0,067
6.	2,521±0,185	2,669±0,161	2,638±0,219	2,798±0,185	2,451±0,122	2,840±0,189	2,449±0,142
7.	3,728±0,548	2,980±0,190	2,736±0,159	2,551±0,131	2,452±0,148	2,921±0,223	2,617±0,129
8.	5,979±2,468	3,455±0,638	3,046±0,294	2,528±0,075	2,889±0,091	3,264±0,417	3,235±0,405
9.	24,430±11,679	36,881±44,003	16,216±5,573	2,563±0,125	4,441±0,585	9,246±1,788	6,675±2,320
10.	41,493±41,189	56,504±54,991	37,071±18,083	3,130±0,268	15,541±3,853	23,874±3,302	110,802±130,0
Kontrolni tretman							
Dan	KEL 16	CG	MA	OS	18	D6	BOR
0.	2,246±0,088	2,422±0,201	2,478±0,120	2,687±0,212	2,491±0,189	2,517±0,138	2,470±0,117
1.	2,206±0,199	2,293±0,117	2,204±0,205	2,486±0,159	2,306±0,222	2,380±0,194	2,353±0,167
2.	2,281±0,140	2,289±0,115	2,386±0,098	2,556±0,167	2,449±0,182	2,401±0,131	2,390±0,232
3.	2,300±0,162	2,489±0,214	2,530±0,163	2,712±0,220	2,407±0,172	2,512±0,169	2,414±0,277
4.	2,237±0,088	2,303±0,132	2,430±0,154	2,481±0,167	2,477±0,176	2,406±0,134	2,251±0,102
5.	2,284±0,083	2,294±0,128	2,312±0,062	2,429±0,149	2,388±0,127	2,359±0,156	2,245±0,079
6.	2,244±0,096	2,323±0,142	2,325±0,071	2,449±0,113	2,338±0,119	2,319±0,107	2,180±0,110
7.	2,209±0,129	2,358±0,107	2,397±0,166	2,341±0,128	2,349±0,107	2,399±0,138	2,218±0,111
8.	2,151±0,089	2,202±0,088	2,236±0,121	2,309±0,129	2,278±0,123	2,250±0,102	2,215±0,072
9.	2,101±0,126	2,147±0,071	2,229±0,095	2,255±0,091	2,207±0,072	2,167±0,137	2,197±0,072
10.	2,197±0,083	2,180±0,076	2,358±0,136	2,360±0,131	2,284±0,111	2,285±0,096	2,209±0,053

Tablica 39. Srednje vrijednosti i standardne devijacije “trapping”-a po aktivnom reakcijskom središtu (TR_0/RC) u listovima biljaka tretmana sušom i kontrolnog tretmana sedam genotipova višnje tijekom deset dana pokusa.

Tretman sušom							
Dan	KEL 16	CG	MA	OS	18	D6	BOR
0.	1,853±0,104	1,977±0,148	2,029±0,081	2,131±0,161	2,011±0,106	2,196±0,147	2,046±0,150
1.	1,839±0,206	1,908±0,091	1,876±0,218	2,138±0,202	1,869±0,129	1,959±0,144	1,893±0,243
2.	1,859±0,098	1,936±0,091	2,080±0,096	2,154±0,239	1,996±0,056	2,110±0,169	2,127±0,147
3.	1,984±0,155	2,065±0,127	2,167±0,192	2,049±0,087	1,990±0,097	2,286±0,163	2,023±0,157
4.	1,926±0,099	1,968±0,102	2,078±0,095	2,126±0,095	2,074±0,095	2,112±0,116	2,079±0,139
5.	1,899±0,087	1,977±0,098	2,000±0,093	2,132±0,114	2,008±0,116	2,069±0,161	1,909±0,070
6.	1,953±0,143	2,059±0,059	2,116±0,153	2,253±0,146	2,022±0,104	2,303±0,158	1,997±0,110
7.	2,138±0,161	2,186±0,147	2,081±0,150	2,083±0,124	2,004±0,129	2,346±0,164	2,071±0,102
8.	1,880±0,299	2,091±0,166	2,090±0,104	2,038±0,101	2,093±0,121	2,280±0,236	2,160±0,192
9.	1,392±0,162	1,400±0,391	1,571±0,103	2,058±0,108	1,911±0,156	1,755±0,122	1,776±0,119
10.	1,163±0,426	1,352±0,388	1,365±0,572	2,395±0,216	1,444±0,194	1,379±0,230	1,907±0,954
Kontrolni tretman							
Dan	KEL 16	CG	MA	OS	18	D6	BOR
0.	1,852±0,070	1,985±0,139	2,007±0,107	2,154±0,154	2,035±0,116	2,059±0,096	2,026±0,075
1.	1,825±0,161	1,885±0,086	1,808±0,159	2,017±0,124	1,900±0,171	1,973±0,152	1,954±0,147
2.	1,895±0,112	1,884±0,075	1,967±0,093	2,079±0,129	2,027±0,128	1,994±0,100	1,972±0,175
3.	1,926±0,135	2,054±0,169	2,079±0,113	2,205±0,189	2,013±0,136	2,074±0,132	2,004±0,210
4.	1,870±0,073	1,917±0,103	2,020±0,135	2,035±0,124	2,046±0,138	2,003±0,088	1,880±0,083
5.	1,907±0,074	1,918±0,112	1,917±0,061	1,981±0,109	1,998±0,099	1,969±0,119	1,887±0,064
6.	1,872±0,076	1,943±0,124	1,926±0,074	1,991±0,090	1,957±0,083	1,940±0,082	1,840±0,088
7.	1,841±0,112	1,960±0,087	1,983±0,125	1,920±0,105	1,970±0,089	1,994±0,104	1,861±0,092
8.	1,803±0,063	1,848±0,071	1,861±0,101	1,896±0,099	1,914±0,106	1,900±0,091	1,864±0,061
9.	1,766±0,104	1,807±0,062	1,867±0,075	1,866±0,072	1,863±0,060	1,822±0,106	1,848±0,059
10.	1,838±0,055	1,835±0,059	1,941±0,105	1,950±0,106	1,914±0,086	1,918±0,077	1,859±0,044

Tablica 40. Srednje vrijednosti i standardne devijacije elektronskog transporta po aktivnom reakcijskom središtu (ET₀/RC) u listovima biljaka tretmana sušom i kontrolnog tretmana sedam genotipova višnje tijekom deset dana pokusa.

Tretman sušom							
Dan	KEL 16	CG	MA	OS	18	D6	BOR
0.	0,928±0,067	0,932±0,081	0,928±0,099	0,888±0,121	0,913±0,037	1,037±0,112	1,025±0,092
1.	1,068±0,116	1,184±0,078	1,193±0,108	1,169±0,123	1,078±0,116	1,133±0,166	1,140±0,132
2.	0,999±0,044	1,043±0,081	1,124±0,052	1,062±0,076	1,079±0,088	1,081±0,119	1,123±0,107
3.	0,911±0,111	0,968±0,085	0,947±0,079	0,950±0,070	0,973±0,087	1,016±0,095	0,929±0,055
4.	0,978±0,028	1,040±0,021	1,081±0,052	1,009±0,100	1,113±0,059	1,081±0,078	1,023±0,145
5.	0,937±0,116	1,037±0,072	1,025±0,043	1,051±0,066	1,045±0,049	0,963±0,127	0,940±0,092
6.	0,842±0,096	0,894±0,128	0,931±0,073	1,077±0,046	1,082±0,071	1,018±0,132	0,996±0,079
7.	0,700±0,140	0,719±0,090	0,783±0,097	1,052±0,047	1,031±0,076	0,979±0,113	0,929±0,100
8.	0,557±0,055	0,650±0,114	0,716±0,047	0,993±0,095	0,765±0,066	0,755±0,096	0,656±0,121
9.	0,609±0,061	0,560±0,169	0,576±0,017	0,976±0,106	0,516±0,043	0,563±0,055	0,543±0,058
10.	0,516±0,165	0,628±0,176	0,610±0,240	0,956±0,087	0,593±0,050	0,609±0,097	1,014±0,762
Kontrolni tretman							
Dan	KEL 16	CG	MA	OS	18	D6	BOR
0.	0,940±0,063	0,925±0,115	0,910±0,067	0,871±0,089	0,915±0,041	0,935±0,108	0,998±0,103
1.	1,053±0,082	1,110±0,119	1,120±0,123	1,053±0,095	1,078±0,076	1,117±0,154	1,193±0,070
2.	1,013±0,067	1,020±0,072	1,033±0,075	1,009±0,085	1,080±0,089	1,016±0,075	0,999±0,096
3.	0,968±0,057	0,988±0,059	0,921±0,034	1,071±0,109	1,008±0,100	0,918±0,095	0,927±0,046
4.	1,018±0,052	1,062±0,092	1,078±0,070	0,997±0,094	1,055±0,091	1,120±0,045	1,094±0,090
5.	1,067±0,079	1,031±0,082	0,984±0,080	0,990±0,088	1,068±0,074	0,986±0,071	1,014±0,086
6.	1,036±0,057	1,048±0,072	1,071±0,053	0,997±0,101	1,048±0,059	0,971±0,113	1,031±0,065
7.	1,057±0,081	1,099±0,068	1,116±0,031	0,998±0,111	1,121±0,064	1,065±0,083	1,071±0,041
8.	1,000±0,058	1,034±0,076	1,032±0,083	0,987±0,040	1,046±0,072	1,111±0,049	1,081±0,026
9.	0,999±0,048	1,001±0,086	1,035±0,056	0,971±0,062	1,035±0,043	1,033±0,058	0,968±0,069
10.	1,111±0,049	1,047±0,039	1,049±0,109	1,038±0,034	1,107±0,054	1,088±0,033	1,086±0,029

Tablica 41. Srednje vrijednosti i standardne devijacije disipacije po aktivnom reakcijskom središtu (DI_0/RC) u listovima biljaka tretmana sušom i kontrolnog tretmana sedam genotipova višnje tijekom deset dana pokusa.

Tretman sušom							
Dan	KEL 16	CG	MA	OS	18	D6	BOR
0.	0,383±0,024	0,446±0,047	0,472±0,037	0,553±0,051	0,455±0,038	0,500±0,059	0,462±0,059
1.	0,391±0,053	0,430±0,033	0,385±0,031	0,530±0,076	0,391±0,021	0,407±0,062	0,402±0,078
2.	0,381±0,027	0,401±0,024	0,428±0,027	0,521±0,081	0,429±0,043	0,431±0,051	0,455±0,045
3.	0,417±0,033	0,435±0,040	0,470±0,085	0,488±0,064	0,407±0,032	0,526±0,068	0,435±0,071
4.	0,387±0,040	0,424±0,052	0,444±0,040	0,481±0,017	0,426±0,058	0,433±0,050	0,458±0,068
5.	0,435±0,048	0,437±0,049	0,450±0,060	0,481±0,057	0,400±0,032	0,434±0,034	0,399±0,017
6.	0,568±0,101	0,610±0,142	0,522±0,078	0,545±0,058	0,429±0,041	0,537±0,071	0,453±0,044
7.	1,590±0,501	0,794±0,122	0,655±0,073	0,468±0,037	0,448±0,042	0,575±0,101	0,546±0,079
8.	4,099±2,642	1,363±0,513	0,956±0,338	0,490±0,064	0,796±0,136	0,984±0,312	1,075±0,449
9.	23,038±11,677	35,482±43,957	14,645±5,634	0,505±0,045	2,530±0,532	7,491±1,780	4,899±2,416
10.	40,330±41,130	55,152±54,795	35,706±17,771	0,735±0,134	14,097±3,821	22,495±3,380	108,895±129,137
Kontrolni tretman							
Dan	KEL 16	CG	MA	OS	18	D6	BOR
0.	0,394±0,032	0,437±0,064	0,470±0,029	0,533±0,061	0,456±0,075	0,457±0,070	0,444±0,053
1.	0,380±0,044	0,408±0,053	0,396±0,057	0,469±0,049	0,406±0,068	0,407±0,046	0,398±0,027
2.	0,385±0,031	0,405±0,043	0,419±0,024	0,476±0,057	0,422±0,059	0,407±0,041	0,419±0,058
3.	0,374±0,028	0,435±0,051	0,451±0,060	0,507±0,048	0,394±0,042	0,437±0,046	0,410±0,068
4.	0,367±0,027	0,387±0,033	0,410±0,032	0,446±0,046	0,431±0,047	0,402±0,048	0,371±0,044
5.	0,377±0,020	0,376±0,020	0,395±0,023	0,447±0,042	0,389±0,032	0,390±0,044	0,358±0,020
6.	0,371±0,027	0,379±0,030	0,399±0,034	0,457±0,062	0,381±0,042	0,379±0,028	0,340±0,025
7.	0,368±0,023	0,398±0,041	0,413±0,055	0,422±0,038	0,379±0,026	0,404±0,049	0,357±0,026
8.	0,348±0,028	0,354±0,025	0,375±0,030	0,413±0,036	0,364±0,028	0,350±0,018	0,352±0,016
9.	0,335±0,026	0,340±0,018	0,362±0,029	0,390±0,025	0,344±0,016	0,345±0,039	0,348±0,019
10.	0,359±0,029	0,345±0,024	0,417±0,043	0,410±0,029	0,370±0,029	0,367±0,026	0,350±0,017

Tablica 42. Vrijednosti F testa i razine vjerojatnosti u analizi varijance genotipa KEL 16 za: F_o - intenzitet fluorescencije pri 50 μ s; F_m - maksimalni intenzitet fluorescencije; V_j - varijabilna fluorescencija na J stupnju; V_i - varijabilna fluorescencija na I stupnju; t_{max} - vrijeme potrebno da se postigne F_m ; S_m - normalizirana komplementarna površina iznad OJIP krivulje; M_o - ukupna brzina zatvaranja reakcijskih središta; N - prometni broj.

Parametar	Izvor variranja	St, slobode	F vrijednost	Vjerojatnost > F
F_o	Tretman	1	125,97	<0,0001
	Dan	5	41,20	<0,0001
	Tretman \times dan	5	33,41	<0,0001
F_m	Tretman	1	130,83	<0,0001
	Dan	5	377,15	<0,0001
	Tretman \times dan	5	35,83	<0,0001
V_j	Tretman	1	153,61	<0,0001
	Dan	5	18,26	<0,0001
	Tretman \times dan	5	28,36	<0,0001
V_i	Tretman	1	71,61	<0,0001
	Dan	5	5,79	0,0001
	Tretman \times dan	5	9,38	<0,0001
t_{max}	Tretman	1	0,00	0,9562
	Dan	5	5,13	0,0003
	Tretman \times dan	5	4,22	0,0018
S_m	Tretman	1	74,04	<0,0001
	Dan	5	9,65	<0,0001
	Tretman \times dan	5	9,71	<0,0001
M_o	Tretman	1	19,99	<0,0001
	Dan	5	11,65	<0,0001
	Tretman \times dan	5	9,52	<0,0001
N	Tretman	1	77,76	<0,0001
	Dan	5	12,64	<0,0001
	Tretman \times dan	5	11,75	<0,0001

Tablica 43. Vrijednosti F testa i razine vjerojatnosti u analizi varijance genotipa OS za: F_o - intenzitet fluorescencije pri 50 μ s; F_m - maksimalni intenzitet fluorescencije; V_j - varijabilna fluorescencija na J stupnju; V_i - varijabilna fluorescencija na I stupnju; t_{max} - vrijeme potrebno da se postigne F_m ; S_m - normalizirana komplementarna površina iznad OJIP krivulje; M_o - ukupna brzina zatvaranja reakcijskih središta; N - prometni broj.

Parametar	Izvor variranja	St, slobode	F vrijednost	Vjerojatnost > F
F_o	Tretman	1	10,93	0,0014
	Dan	5	275,89	<0,0001
	Tretman \times dan	5	4,04	0,0024
F_m	Tretman	1	6,90	0,0102
	Dan	5	247,79	<0,0001
	Tretman \times dan	5	1,64	0,1587
V_j	Tretman	1	16,30	0,0001
	Dan	5	12,63	<0,0001
	Tretman \times dan	5	8,09	<0,0001
V_i	Tretman	1	7,16	0,0089
	Dan	5	4,71	0,0007
	Tretman \times dan	5	7,41	<0,0001
t_{max}	Tretman	1	1,06	0,3069
	Dan	5	3,14	0,0118
	Tretman \times dan	5	2,44	0,0407
S_m	Tretman	1	15,64	0,0001
	Dan	5	8,31	<0,0001
	Tretman \times dan	5	8,40	<0,0001
M_o	Tretman	1	32,82	<0,0001
	Dan	5	9,22	<0,0001
	Tretman \times dan	5	9,65	<0,0001
N	Tretman	1	1,29	0,2600
	Dan	5	12,13	<0,0001
	Tretman \times dan	5	4,91	0,0005

Tablica 44. Srednje vrijednosti i standardne devijacije osnovnih podataka mjerenja fluorescencije klorofila *a* u listovima genotipova KEL 16 i OS tretmana sušom i kontrolnog tretmana tijekom 10 dana pokusa; statistički značajne razlike između dana ($p < 0,05$) označene su različitim slovima; LSD test je napravljen za svaki genotip posebno; F_o - intenzitet fluorescencije pri 50 μ s; F_m - maksimalni intenzitet fluorescencije; V_j - varijabilna fluorescencija na J stupnju; V_i - varijabilna fluorescencija na I stupnju; t_{max} - vrijeme potrebno da se postigne F_m ; S_m - normalizirana komplementarna površina iznad OJIP krivulje; M_o - ukupna brzina zatvaranja reakcijskih središta; N - prometni broj.

Parametar	Dan	Kel 16		OS	
		Tretman sušom	Kontrolni tretman	Tretman sušom	Kontrolni tretman
F_o	0.	407,125±11,704bc	398,750±11,348c	430,000±20,100c	440,500±16,327bc
	2.	434,750±16,060ab	443,000±21,922a	430,000±25,818c	433,875±20,117bc
	4.	450,375±35,383a	468,625±13,458a	446,875±14,307a	453,250±36,236ab
	6.	411,875±22,900bc	355,875±16,548d	406,750±22,563d	382,000±22,501e
	8.	421,500±63,543abc	251,750±10,807e	342,500±16,379g	255,250±6,453gh
	10.	429,250±59,899ab	239,500±12,410e	293,125±22,668f	243,875±11,667h
F_m	0.	2380,750±138,397c	2287,125±192,896cd	2089,500±116,234d	2226,12571,343b
	2.	2558,875±116,474b	2627,000±162,028ab	2215,875±120,022bc	2338,000±121,539b
	4.	2699,250±194,308ab	2732,625±175,907a	2541,375±118,678a	2523,875±169,238a
	6.	1858,250±211,610e	2154,375±115,813d	2096,375±154,189cd	2063,875±177,185d
	8.	733,625±205,082g	1559,000±86,649f	912,625±135,539ef	1429,625±63,437e
	10.	449,000±65,223h	1470,000±76,539f	1261,875±104,456f	1405,125±73,927e
V_j	0.	0,499±0,021c	0,492±0,031cd	0,584±0,039a	0,594±0,047a
	2.	0,462±0,020cde	0,464±0,039cde	0,504±0,048bcd	0,515±0,036bc
	4.	0,491±0,024cd	0,455±0,035de	0,526±0,039b	0,509±0,052bc
	6.	0,568±0,052b	0,446±0,040e	0,521±0,023b	0,500±0,033bcd
	8.	0,699±0,045a	0,444±0,039e	0,689±0,052bc	0,478±0,040cd
	10.	0,547±0,056b	0,396±0,028f	0,600±0,029a	0,467±0,020d
V_i	0.	0,835±0,023b	0,820±0,027b	0,856±0,016cd	0,866±0,027bc
	2.	0,825±0,025b	0,821±0,025b	0,829±0,026e	0,844±0,024cde
	4.	0,841±0,024b	0,817±0,029b	0,853±0,019cd	0,856±0,031cd
	6.	0,915±0,021a	0,827±0,023b	0,868±0,021bc	0,858±0,012bcd
	8.	0,933±0,030a	0,811±0,034bc	0,903±0,039b	0,854±0,033cd
	10.	0,910±0,095a	0,779±0,023c	0,910±0,010a	0,838±0,021de

Tablica 44. Srednje vrijednosti i standardne devijacije osnovnih podataka mjerenja fluorescencije klorofila *a* u listovima genotipova KEL 16 i OS tretmana sušom i kontrolnog tretmana tijekom 10 dana pokusa; statistički značajne razlike između dana ($p < 0,05$) označene su različitim slovima; LSD test je napravljen za svaki genotip posebno; F_o - intenzitet fluorescencije pri 50 μ s; F_m - maksimalni intenzitet fluorescencije; V_j - varijabilna fluorescencija na J stupnju; V_i - varijabilna fluorescencija na I stupnju; t_{max} - vrijeme potrebno da se postigne F_m ; S_m - normalizirana komplementarna površina iznad OJIP krivulje; M_o - ukupna brzina zatvaranja reakcijskih središta; N - prometni broj (nastavak).

Parametar	Dani	Kel 16		OS	
		Tretman sušom	Kontrolni tretman	Tretman sušom	Kontrolni tretman
t_{max}	0.	315,000±53,984abc	322,500±71,863abc	282,500±12,817bc	283,750±9,161bc
	2.	291,250±9,910c	305,000±38,914bc	312,500±56,252bc	308,750±37,201bc
	4.	280,000±22,678c	302,500±39,551bc	285,000±9,258bc	286,250±9,161bc
	6.	426,250±144,710a	300,000±41,404bc	272,500±21,213c	303,750±63,005bc
	8.	410,000±340,294ab	292,500±8,864c	397,500±177,019ab	335,000±75,970ab
	10.	87,625±55,389d	280,000±15,119c	388,750±130,651a	288,750±12,464bc
S_m	0.	20,985±2,553ab	23,638±3,301a	19,214±2,030bcde	18,391±2,703def
	2.	21,894±2,287ab	22,866±2,759ab	22,600±3,601a	21,384±2,147ab
	4.	19,351±1,837b	22,419±3,116ab	18,549±1,475def	18,717±3,009cdef
	6.	13,123±3,503c	21,446±3,080ab	16,985±2,302ef	18,700±1,287cdef
	8.	12,378±11,164c	22,703±3,238ab	11,258±4,400ef	20,529±3,192abcd
	10.	5,451±0,843d	23,534±1,684a	13,183±1,171abc	20,904±1,750g
M_o	0.	0,925±0,061cd	0,912±0,074cd	1,243±0,109bc	1,283±0,174b
	2.	0,861±0,072cde	0,882±0,113cd	1,092±0,210de	1,071±0,108de
	4.	0,948±0,093c	0,852±0,092cde	1,117±0,092cde	1,037±0,148ef
	6.	1,111±0,153b	0,836±0,102cde	1,176±0,120bcd	0,994±0,048efg
	8.	1,323±0,293a	0,802±0,090de	1,044±0,060e	0,909±0,121g
	10.	0,647±0,285f	1,439±0,170ef	0,728±0,064a	0,912±0,086fg
N	0.	38,788±4,569a	43,764±6,089a	40,827±4,055bc	39,514±5,817c
	2.	40,633±3,847a	43,263±5,101a	48,119±4,694a	44,302±3,190ab
	4.	37,158±2,646a	41,923±6,022a	39,436±3,682c	37,928±5,274cd
	6.	25,723±7,196b	40,122±5,590a	38,023±3,396cd	37,243±3,223cd
	8.	23,112±20,215b	40,874±5,568a	23,707±10,117de	38,679±4,461c
	10.	6,316±2,502c	43,268±3,475a	31,704±4,879e	40,620±1,931bc

Tablica 45. Vrijednosti F testa i razine vjerojatnosti u analizi varijance fotosintetskih pigmentata u listovima sedam genotipova višnje nultog i osmoga dana pokusa.

Parametar	Izvor variranja	St, slobode	F vrijednost	Vjerojatnost > F
Klorofil a	Genotip	6	30,11	<0,0001
	Tretman	2	312,29	<0,0001
	Genotip × Tretman	12	18,81	<0,0001
Klorofil b	Genotip	6	18,47	<0,0001
	Tretman	2	75,70	<0,0001
	Genotip × Tretman	12	20,56	<0,0001
Klorofil a+b	Genotip	6	29,86	<0,0001
	Tretman	2	216,06	<0,0001
	Genotip × Tretman	12	21,18	<0,0001
Klorofil a / klorofil b	Genotip	6	21,84	<0,0001
	Tretman	2	100,85	<0,0001
	Genotip × Tretman	12	24,89	<0,0001

Tablica 46. Srednje vrijednosti i standardne devijacije fotosintetskih pigmenata u listovima sedam genotipova višnje nultog i osmoga dana pokusa; statistički značajne razlike između genotipova nultoga dana pokusa dobivene LSD testom ($p < 0,05$) označene su različitim slovima.

		0, dan		8, dan	
		Genotipovi	Skupni uzorak	Kontrolni tretman	Tretman sušom
Klorofil a (mg/g suhe tvari)	KEL 16		3,250±0,173 bc	3,720±0,225	2,477±0,122
	CG		3,414±0,084 b	4,057±0,263	2,426±0,064
	MA		2,998±0,143 d	3,770±0,110	2,548±0,059
	OS		2,899±0,075 d	2,966±0,070	2,265±0,050
	18		3,697±0,115 a	3,394±0,033	3,189±0,145
	D6		3,058±0,078 cd	3,299±0,120	2,784±0,074
	BOR		3,785±0,275 a	3,334±0,224	2,494±0,124
Klorofil b (mg/g suhe tvari)	KEL 16		0,922±0,069 b	1,112±0,057	1,106±0,114
	CG		0,726±0,061 c	1,261±0,157	0,837±0,049
	MA		0,387±0,105 d	1,227±0,056	0,955±0,061
	OS		0,819±0,015 bc	0,971±0,044	0,766±0,053
	18		1,096±0,066 a	1,125±0,037	1,049±0,029
	D6		0,905±0,054 b	1,016±0,045	0,937±0,036
	BOR		1,109±0,115 a	1,011±0,048	1,027±0,146
Klorofil a+b (mg/g suhe tvari)	KEL 16		4,172±0,235 b	4,832±0,253	3,584±0,027
	CG		4,140±0,123 b	5,318±0,394	3,263±0,109
	MA		3,385±0,229 d	4,997±0,134	3,502±0,088
	OS		3,718±0,087 c	3,938±0,114	3,031±0,096
	18		4,793±0,171 a	4,519±0,042	4,238±0,170
	D6		3,964±0,129 bc	4,315±0,165	3,721±0,060
	BOR		4,895±0,387 a	4,346±0,270	3,521±0,161
Klorofil a / klorofil b	KEL 16		3,531±0,142 c	3,349±0,201	2,264±0,330
	CG		4,725±0,345 b	3,237±0,262	2,902±0,108
	MA		8,096±1,724 a	3,076±0,148	2,677±0,174
	OS		3,537±0,058 c	3,056±0,067	2,967±0,173
	18		3,377±0,134 c	3,019±0,112	3,038±0,087
	D6		3,383±0,126 c	3,247±0,036	2,975±0,166
	BOR		3,420±0,121 c	3,296±0,090	2,467±0,385

12. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 10. prosinca 1980. godine u Našicama. Osnovnu školu sam pohađala u Donjem Miholjcu kao i Opću gimnaziju koju sam završila 1999. Iste godine upisujem Pedagoški fakultet u Osijeku, smjer Biologija-kemija. Diplomirala sam 24. lipnja 2004. godine s temom diplomskoga rada „Učinkovitost fotosintetskog sustava u klorotičnim iglicama smreke“ pod mentorstvom prof.dr.sc. Vere Cesar i prof.dr.sc. Hrvoja Lepeduša i time stekla zvanje profesora biologije i kemije. Tijekom cijeloga studiranja bila sam stipendistica Ministarstva znanosti, obrazovanja i športa Republike Hrvatske, a 2004. godine sam dobila Dekanovu nagradu.

Od rujna 2004. do svibnja 2006. radila sam kao profesorica kemije u osnovnoj i srednjoj školi, a 2005. godine sam položila stručni ispit za zanimanje profesora kemije i biologije. Od svibnja 2006. godine zaposlena sam na Odjelu Agrokemijski laboratorij Poljoprivrednog instituta Osijek kao znanstvena novakinja na projektu „Procjena kakvoće ratarskih kultura“ (0073009), a od 2007. godine na projektu „Biotehnološke metode u identifikaciji, selekciji i razmnožavanju voćaka“ (073-1781844-1930) u sklopu programa „Očuvanje i revitalizacija autohtonih sorti vinove loze i voćaka“, sufinanciranim od Ministarstva znanosti, obrazovanja i športa.

Tijekom svoga dosadašnjeg rada u svojstvu znanstvenoga novaka 2006. godine sam završila metodološki tečaj „DNA i RNA“ u organizaciji Instituta Ruđer Bošković. Od 25. kolovoza do 19. rujna 2008. godine boravila sam u Biotehnološkom laboratoriju Centra za oplemenjivanje voća (CFBVI) pri DCA (Dipartimento di Colture Arboree), Facolta di Agraria, Università di Bologna na stručnom usavršavanju. Tijekom tog perioda radila sam u istraživačkoj skupini prof.dr.sc. S. Sansavina pod vodstvom dr.sc. S. Venturi koja se bavi identifikacijom genotipova i proučavanjem filogeneze voćaka pomoću molekularnih biljega.

Član sam Hrvatskoga društva za biljnu biologiju i Hrvatskoga društva za biokemiju i molekularnu biologiju.

Sudjelovala sam na nekoliko domaćih i međunarodnih znanstvenih i stručnih skupova. Kao autor i koautor objavila sam slijedeće radove:

Znanstveni radovi objavljeni u CC časopisima:

1. Lepeduš H, Gaća V, Viljevac M, Kovač S, Fulgosi H, Šimić D, Jurković V, Cesar V (2011) Changes in photosynthetic performance and antioxidative strategies during the maturation of Norway maple (*Acer platanoides* L.) leaves. *Plant Physiol Biochem* 49: 368-376
2. Viljevac M, Dugalić K, Štolfa I, Đermić E, Cvjetković B, Sudar R, Kovačević J, Cesar V, Lepeduš H, Jurković Z (2009) Biochemical basis of apple leaf resistance to *Erwinia amylovora* infection. *Food Technol Biotechnol* 47(3): 281-287
3. Lepeduš H, Viljevac M, Cesar V, Ljubešić N (2005) Functioning of the photosynthetic apparatus under low and high light conditions in chlorotic spruce needles as evaluated by in vivo chlorophyll fluorescence. *Russ J Plant Physl* 52(2): 165-170

Znanstveni radovi objavljeni u drugim časopisima:

1. Jurković Z, Dugalić K, Viljevac M, Piližota I, Vokurka A, Puškar B, Pejić I (2008) Preliminary report on the use of biotechnology in sweet and sour cherry research. *Acta Agron Hung* 56(4): 417-420

Stručni radovi u drugim časopisima:

1. Mihaljević I, Tomaš V, Dugalić K, Jurković Z, Viljevac M, Puškar B (2012) Učinci natrij-hipoklorita (NaClO) i živinog (II) klorida (HgCl₂) na površinsku sterilizaciju pupova Oblačinske višnje u kulturi *in vitro*. *Pomologia Croatica* 17(1-2) 51-56

Znanstveni radovi u zbornicima skupova s međunarodnom recenzijom:

1. Viljevac M, Lepeduš H, Dugalić K, Mihaljević I, Puškar B, Šimić D, Sudar R, Jurković Z (2012) Maximum quantum yield of photosystem II and chlorophyll content in leaves of sour cherry cultivars challenged by drought. 47. hrvatski i 7. međunarodni simpozij agronoma, Zbornik radova, Pospišil M (ur), Zagreb, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet Zagreb, Hrvatska, 817-820
2. Sudar R, Jurković Z, Dugalić K, Tomac I, Jurković V, Viljevac M (2011) Sorbitol and sugar composition of plum fruit during ripening. 46. hrvatski i 6. međunarodni

simpozij agronoma, Zbornik radova, Pospišil M (ur), Zagreb, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet Zagreb, Hrvatska, 1067-1071

Sažeci u zbornicima skupova:

1. Dugalić K, Puškar B, Jurković Z, Viljevac M, Jurković V, Tomaš V, Pejić I (2011) Nove selekcije oblačinske višnje. 6. znanstveno-stručno savjetovanje hrvatskih voćara s međunarodnim sudjelovanjem, Zbornik sažetaka, Čuljat V (ur), 32-32
2. Viljevac M, Jurković Z, Dugalić K, Puškar B, Vokurka A, Pejić I (2009) Učinkovitost SSR i AFLP biljega pri određivanju unutar sorte varijabilnosti oblačinske višnje (*Prunus cerasus* L.). Hrvatsko oplemenjivanje bilja, sjemenarstvo i rasadničarstvo i Europske integracije, Matotan Z (ur), Zagreb, 50
3. Jurković Z, Dugalić K, Jurković V, Viljevac M (2008) Sadržaj ukupnih fenola u šljivi (*Prunus domestica* L.). 43. hrvatski i 3. međunarodni simpozij agronoma, Zbornik sažetaka, Pospišil M (ur), Zagreb, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet Zagreb, Hrvatska, 300-301
4. Puškar B, Jurković Z, Viljevac M, Piližota I (2008) Klonska selekcija oblačinske višnje. 3. znanstveno-stručno savjetovanje hrvatskih voćara s međunarodnim sudjelovanjem, Zbornik sažetaka, Čuljat V (ur), Zadar, 56-57
5. Viljevac M, Dugalić K, Štolfa I, Jurković Z, Cvjetković B, Sudar R, Kovačević J, Cesar V, Lepeduš H (2008) Biochemical basis of apple leaf resistance on *Erwinia amylovora* infection. Kongres hrvatskog društva za biokemiju i molekularnu biologiju, Zbornik sažetaka, Strelec I, Glavaš-Obrovac Lj (ur), Hrvatsko društvo za biokemiju i molekularnu biologiju, Osijek, 140-141
6. Jurković Z, Čmelik Z, Dugalić K, Špoljarić J, Kopic M, Viljevac M, Jurković V (2007) Mikropropagacijom do voćnih sadnica. 2. znanstveno-stručno savjetovanje hrvatskih voćara s međunarodnim sudjelovanjem, Zbornik sažetaka, Čuljat V (ur), Zadar, 64-65

