

UDK 634.11:547.973

Gordana Šebek¹

**DINAMIKA SADRŽAJA UKUPNIH ANTOCIJANA
KOD AUTOHTONIH SORTI JABUKE I ODABRANIH
TIPOVA ŠUMSKE JABUKE
DYNAMICS OF CONTENT OF TOTAL ANTHOCYANINS
OF AUTOCHTHONAUS SORTS OF APPLE AND
SELECTED TYPES OF WILD APPLES**

Izvod

U radu su izneti trogodišnji rezultati sadržaja i dinamike ukupnih antocijana u kori jednogodišnjih grančica u periodu zimskog mirovanja. Istraživanja su rađena na četiri autohtone sorte jabuka (senabija, arapka, pašinka i šarenika) i devet odabranih tipova šumske jabuke (*Malus silvestris* L.) sa područja opštine Bijelo Polje.

Rezultati istraživanja su pokazali da je sadržaj i dinamika ukupnih antocijana genetska karakteristika sorte odnosno tipa koja utiče na otpornost prema niskim temperaturama, što je značajno sa aspekta proizvodnje generativnih podloga.

Ključne reči: autohtone sorte, šumska jabuka, generativna podloga, antocijani

Abstract

The work presents the results of three - years studying of content and dynamics of total anthocyanins in the root of one - year old fruiting wood in the period of winter dormancy. The research was done on four autochthonaus sorts of apples (senabija, arapka, pašinka i šarenika) and nine selected types of wild apples (*Malus silvestris* L.) in the area of Bijelo Polje.

The results of this research showed that the content and dynamics of the total anthocyanins was genetic characteristics of the sort, namely the type which influences the resistance to low temperatures, and that is important from the aspect of generative rootstocks production.

¹ Dr Gordana Šebek, Biotehnički institut - Podgorica

Key words: autochthonous sorts, wild apple, generative rootstock, anthocyanins.

UVOD

Generativne podloge za jabuku se u svetu sve više koriste zbog bolje prilagodljivosti raznih vrsta roda *Malus* Mill. veoma raznolikim uslovima sredine, često i izrazito surovim (Galota, 1985.) Šumska jabuka (*Malus silvestris* L.) je najvažnija generativna podloga u svetu, a u našoj zemlji jedina. Korenov sistem šumske jabuke strada pri golomrazici na $-14,3\text{ C}^{\circ}$, dok njeni nadzemni delovi mogu da izdrže bez oštećenja do -37 C° .

U našem istraživanju smo želeli da merljivim pokazateljima utvrdimo i međusobno uporedimo nivoe činioca otpornosti prema mrazu kod odabranih tipova šumske jabuke i autohtonih sorti jabuke.

Činioci otpornosti prema mrazu mogu biti: anatomski, biohemijski i fiziološki. Jedan od vrlo važnih biohemijsko-fizioloških činioca otpornosti prema mrazu je akumulacija rezervnih organskih materija u tkivima i organima voćaka (Lučić, Džamić, Cerović, Nenadović-Mratinić 1997).

Prema istraživanjima Leončenka i Hana (1988) u strukturi rezervnih materija veoma važna uloga se pripisuje akumulaciji bojnih materija, pre svega antocijana, a u okviru njih dominantnom prisustvu cijanidina (Cy-3-G, Cy -3-3 G, Cy-3-R). Napred navedeni autori ističu da je ustanovljena dovoljno jasna direktna korelaciona veza između sadržaja ukupnih cianidina u kori grančica posle kalemljenja i njihove otpornosti prema mrazu.

Nenadović-Mratinić Evica, Vulić, T. (1994) su ispitivali sadržaj antocijana 60 sorti jabuke (5 standardnih i 55 autohtonih sorti). Uočena su variranja sadržaja antocijana kod iste sorte u toku zimskog mirovanja i velike razlike između ispitivanih sorti.

MATERIJAL I METODE

Materijal u našem istraživanju su izdvojeni tipovi šumske jabuke (devet) i četiri autohtone sorte jabuka (in situ).

Otpornost prema niskim temperaturama i mrazu ocenjivana je na osnovu dinamike sadržaja ukupnih antocijana u periodu zimskog mirovanja u kori jednogodišnjih grančica. Korišćena je modifikovana metoda Leončenka i Hana, 1988.

Za određivanje sadržaja ukupnih antocijana u kori drveta potrebno je mesečno uzeti uzorak jednogodišnjih grančica (po 5-6 grančica) iz različitih delova krune i to u periodu od decembra do marta meseca. U laboratoriji sa grančica skinuti koru drveta. Od pripremljene kore odmeriti 0,5 g. To preneti u normalan sud zapremine 100 ml. Naliti do 1/3 suda sa rastvorom HCl čiji je

pH 1. Nakon toga doliti rastvor HCl do crte, promućkati i uzimati po 2 probe za očitavanje antocijana. Rastvor se sipa u specijalne kivete, koje se potom stavljaju u spektrofotometar i na taj način se očitava količina određenog antocijana (na određenoj talasnoj dužini). Dobijeni rezultati se posle uz pomoć krive za očitavanje preračunavaju u g/l i obračunava zbirni iznos (ukupni cijanidini).

Analiza antocijana je utvrđena metodom jednodimenzionalne ulazne tankoslojne hromatografije po Nyboma (1968), modifikovane od Harbone i Hall (1964) i Harbone (1967).

Analiza rezultata izvršena je pomoću standardne dvofaktorijalne analize varijanse, a ocena značajnosti primenom LSD testa.

REZULTATI I DISKUSIJA

Sadržaj ukupnih antocijana u kori jednogodišnjih grančica, kod ispitivanih autohtonih sorti odnosno odabranih tipova (in situ), bio je različit kako po sortama odnosno tipovima tako i po godinama i mesecima istraživanja (tab. 1).

Prosečan sadržaj antocijana u kori jednogodišnjih grančica je bio od 0,26 g/l kod tipa 7 do 0,52 g/l kod tipa 6 (tab. 1).

Analiza varijanse, za pokazatelj sadržaj antocijana u kori jednogodišnjih grančica, je pokazala vrlo značajnu statističku razliku kod sorti odnosno tipa kao izvora varijacije. To znači da i u budućnosti sa verovatnoćom od 99% možemo očekivati takav nivo antocijana u kori jednogodišnjih grančica kod ispitivanih sorti odnosno tipova. Kod godine, kao izvora varijacije, nije bilo statistički značajne razlike. To potvrđuje ispravnost našeg predhodnog zapažanja da je nivo antocijana na samom početku perioda zimskog mirovanja uslovljen klimatskim karakteristikama godine, dok klimatske karakteristike godine statistički gledano značajno ne utiču na prosečan sadržaj antocijana kod ispitivanih sorti odnosno tipova u godinama istraživanja. Dakle, prosečne vrednosti umanjuju stvarne razlike u nivou ukupnih antocijana a koje su najveće na samom početku perioda mirovanja.

Koeficijent varijacije je dosta visok 38,47% , što znači da je nivo antocijana veoma promenljiv u okviru sorte odnosno tipa u datom periodu.

Kod interakcije sorta x godina nije bilo statistički značajne razlike što znači da godine ne utiču na razlike između sorti. Ovo ukazuje na činjenicu da je sadržaj antocijana u kori jednogodišnjih grančica, a samim tim i stepen otpornosti na niske temperature genetska karakteristika ispitivanog tipa, odnosno sorte. Dakle, klimatske karakteristike godine ne utiču na razlike između sorti odnosno tipova u pojedinoj godini istraživanja.

Kod autohtonih sorti jabuka istraživanja u drugoj i trećoj godini pokazuju određenu sličnost. U decembru 1997 najviše antocijana je bilo kod sorte pašinke (0,591 g/l a najmanje kod sorte arapke (0,275 g/l). Takođe je u decembru 1998 najviše antocijana bilo kod sorte pašinke (0,523 g/l) a najmanje kod sorte arapke (0,312 g/l). Međutim, u toku prve godine istraživanja sadržaj antocijana u kori u decembru mesecu kod sorte pašinke je bio znatno niži (0,092 g/l), čak najniži u odnosu na sve ispitivane sorte. Ovo nas navodi na zaključak da su uslovi sredine u prvoj godini kod sorte pašinke uticali na smanjenu vrednost sadržaja ukupnih antocijana u odnosu na drugu odnosno treću godinu. Zima 1996/97 (prva godina istraživanja) je došla rano i bila je izuzetno oštra i hladna. Zima 1998/99 (treća godina istraživanja) je prema podacima o minimalnim i maksimalnim temperaturama kao i srednjim dnevnim temperaturama Meteorološkog zavoda u Podgorici, a za opštinu Bijelo Polje, je bila prosečna dok je zima 1997/98 god. (druga godina istraživanja) bila veoma blaga pa su čak u februaru mesecu zabeležene dosta visoke maksimalne i minimalne kao i prosečne dnevne temperature za to doba godine, što je izuzetak za severni deo Crne Gore.

Zaključili smo da su razlike u temperaturama u zimskom periodu verovatno bile jedan od uzroka različitog sadržaja ukupnih antocijana, na početku perioda zimskog mirovanja, gledano po godinama kod autohtonih sorti jabuke. Istakli bi, dakle, da su ispitivane sorte imale različit sadržaj antocijana, na početku perioda zimskog mirovanja, u zavisnosti od klimatskih karakteristika godine u kojoj su vršena istraživanja. Sorta šarenika kao i sorta arapka su u decembru 1996 imale veći sadržaj antocijana (0,608 g/l; 0,592 g/l), nego u decembru 1997 (0,456 g/l; 0,275 g/l) i decembru 1998 (0,425 g/l; 0,445 g/l). Kod sorte senabije razlike po godinama nisu tako velike ako posmatramo početak zimskog mirovanja (decembar i januar). Međutim, u toku februara i marta 1996/97 godine je zabeležen maksimum sadržaja antocijana za ovu sortu (0,542 g/l; 0,846 g/l), dok je u februaru i martu 1998 (druga godina istraživanja) odnosno 1999 (treća godina istraživanja) godine taj sadržaj znatno niži (0,183 g/l ; 0,321g/l) odnosno (0,275g/l; 0,584g/l).

Gledajući u celini nivo antocijana po pojedinim godinama vidi se da su tri autohtone sorte (senabija, arapka i šarenika) imale viši nivo sadržaja antocijana, na početku perioda zimskog mirovanja, u toku prve godine u odnosu na drugu i treću. Takođe je u prvoj godini, kod ove tri sorte, najveća razlika između maksimalnih i minimalne vrednosti za sadržaj antocijana. Npr. ako izračunamo razliku između maksimuma koji je na kraju perioda mirovanja (mart) i minimuma koji je u januaru ili februaru dobijamo sledeće rezultate po sortama:

Senabija - 0,705 g/l u prvoj godini, 0,138 g/l u drugoj godini i 0,309 g/l u trećoj godini.

Arapka - 0,280 g/l u prvoj godini, 0,105 g/l u drugoj godini i 0,122 g/l u trećoj godini.

Šarenika - 0,255 g/l u prvoj godini, 0,078 g/l u drugoj godini i 0,130 g/l u trećoj godini.

Dakle, prema našim istraživanjima, kod sorti senabije, arapke i šarenike i njihovih sejanaca postoji izvesna međusobna zavisnost između sadržaja antocijana na početku perioda zimskog mirovanja i oštine zime tj. što je zima oštrija veći je nivo sadržaja antocijana i veća je amplituda variranja između maksimalnih i minimalnih vrednosti sadržaja ukupnih antocijana.

Problem je sorta pašinka koja je izuzetak među ispitivanim autohtonim sortama, jer je njeno ponašanje u smislu sadržaja antocijana na početku perioda zimskog mirovanja različito u odnosu na tri napred navedene sorte. Ako za objašnjenje ovakvog ponašanja odbacimo eventualnu eksperimentalnu grešku možemo se pozabaviti hipotezom da je pašinka kao sorta nesposobna da u slučaju oštih zima, koje kalendarski rano i intenzivno nastupe, biohemijske procese dovoljnom brzinom usmeri u pravcu stvaranja veće količine ukupnih antocijana što joj uspeva kod uslovno prosečno hladnih i blagih zima. Ipak, do kraja perioda zimskog mirovanja (februar, mart), u prvoj godini istraživanja, sorta pašinka je uspeła da znatno poveća nivo akumulacije bojenih materija (0,291 g/l; 0,366 g/l) tj. da usmeri biohemijske procese u smeru stvaranja i akumulacije istih. Tako da je vrednost nivoa sadržaja antocijana u mesecu martu 1997. godine (0,366 g/l) apsolutni maksimum za mart mesec u toku tri godine istraživanja.

Što se tiče mesečnog kolebanja sadržaja antocijana u kori jednogodišnjih grančica autohtonih sorti jabuke u zimskom periodu mogu se primetiti dva maksimuma i jedan minimum. Prvi maksimum je na početku perioda zimskog mirovanja, a drugi na kraju istog. Minimum se javlja u januaru ili u februaru mesecu. Izuzetak je sorta pašinka kod koje se u februaru druge i treće godine istraživanja ne javlja očekivani skok sadržaja antocijana već se nastavlja dalji blagi pad sadržaja antocijana.

Kod ispitivanih tipova šumske jabuke primećene su takođe razlike u sadržaju antocijana, kako po tipovima, tako i po godinama istraživanja i mesecima. Rezultati sadržaja antocijana po tipovima su približniji kod druge i treće godine istraživanja, dok prva godina znatnije odstupa.

Maksimalni sadržaj antocijana u decembru 1996/97 (prva godina istraživanja) je imao tip 6 (0,608 g/l) a minimalni tip 4 (0,131 g/l). Maksimalni sadržaj antocijana u decembru 1997/98 (druga godina istraživanja) je imao tip 9 (0,696 g/l) a minimalni tip 7 (0,104 g/l). Maksimalni sadržaj antocijana u

decemru 1998/99 (treća godina istraživanja) je imao takođe tip 9 (0,612 g/l), a minimalni tip 5 (0,221 g/l) dok je tip 7 takođe bio na niskom nivou sadržaja antocijana (0,283 g/l).

Veća odstupanja po godinama u sadržaju antocijana u okviru tipa su prisutna u rezultatima analiza jednogodišnjih grančica (tip 4, tip 6, tip 8 i tip 9).

Tab. 1. Sadržaj ukupnih antocijana u kori jednogodišnjih grančica (g/l)

Tab. 1. Content of total antocyanins in the bark of one year old fruiting woods (g/l)

God. Year	Tip / Sorta Type / Sort	Mjesec / Monat				Prosek 96/97
		XII	I	II	III	
1996/97	Tip 1	0,521	0,109	0,645	0,476	0,44
	Tip 2	0,313	0,225	0,458	0,346	0,34
	Tip 3	0,273	0,298	0,537	0,256	0,34
	Tip 4	0,131	0,321	0,137	0,152	0,19
	Tip 5	0,309	0,722	0,131	0,434	0,40
	Tip 6	0,608	0,691	0,844	0,604	0,69
	Tip 7	0,368	0,119	0,186	0,546	0,30
	Tip 8	0,192	0,405	0,782	0,399	0,44
	Tip 9	0,152	0,051	0,681	0,311	0,30
	Senabija	0,354	0,141	0,542	0,846	0,47
	Arapka	0,592	0,689	0,181	0,461	0,48
	Pašinka	0,092	0,061	0,291	0,366	0,20
Šarenika	0,608	0,046	0,311	0,566	0,38	
1997/98		XII	I	II	III	Prosek 97/98
	Tip 1	0,351	0,538	0,549	0,449	0,47
	Tip 2	0,441	0,559	0,425	0,595	0,50
	Tip 3	0,439	0,202	0,449	0,501	0,40
	Tip 4	0,549	0,362	0,146	0,385	0,36
	Tip 5	0,383	0,168	0,155	0,467	0,29
	Tip 6	0,304	0,186	0,729	0,546	0,44
	Tip 7	0,104	0,205	0,183	0,243	0,18
	Tip 8	0,494	0,498	0,714	0,452	0,54
	Tip 9	0,696	0,595	0,656	0,729	0,69
	Senabija	0,353	0,281	0,183	0,321	0,28
	Arapka	0,275	0,337	0,261	0,366	0,31
	Pašinka	0,591	0,307	0,289	0,164	0,34
	Šarenika	0,456	0,383	0,461	0,461	0,44

Nastavak tabele 1.

	XII		I	II	III	Prosek 98/99	Prosek Average
	1998/99	Tip 1	0,321	0,421	0,528	0,463	0,43
	Tip 2	0,427	0,481	0,413	0,471	0,45	0,43
	Tip 3	0,512	0,283	0,501	0,378	0,42	0,39
	Tip 4	0,583	0,405	0,233	0,269	0,37	0,31
	Tip 5	0,312	0,221	0,275	0,451	0,31	0,34
	Tip 6	0,328	0,241	0,612	0,575	0,44	0,52
	Tip 7	0,238	0,283	0,281	0,395	0,3	0,26
	Tip 8	0,501	0,398	0,592	0,426	0,48	0,49
	Tip 9	0,585	0,612	0,483	0,521	0,55	0,51
	Senabija	0,412	0,321	0,275	0,584	0,4	0,38
	Arapka	0,312	0,445	0,292	0,414	0,37	0,39
	Pašinka	0,531	0,391	0,317	0,284	0,38	0,32
	Šarenika	0,421	0,425	0,384	0,514	0,44	0,42
LSD		0,05	0,01				
Sorta / Sort		0,12	0,16				
Godina / Year		0,06	0,08				
Sorta x Godina / Sort x Year		0,21	0,28				
Izvori varijacije	DF	SS	MS	F			
Sorta / Sort	12	0,94824	0,07902	3,366	**		
Godina / Year	2	0,02115	0,01058	0,45056	ns		
Sorta x Godina / Sort x Year	24	0,87593	0,03650	1,554	ns		
Greška / Mistik	117	2,746	0,02347				
Ukupno / Total	155	4,603					
	CV=38,47%	***) P<0,01	*) P<0,05	ns) P>0,05			

I kod ispitivanih tipova šumske jabuke možemo primetiti dva modela ponašanja pri akumulaciji bojenih materija. Tip 1, tip 6 i tip 7 imaju više bojenih materija (antocijana) na početku perioda zimskog mirovanja u godini istraživanja sa ostrim klimatskim karakteristikama i tada je amplituda između minimuma i maksimuma kod njih veća, dok tip 2, tip 3, tip 4, tip 5, tip 8 i tip 9 stvaraju više antocijana na početku perioda mirovanja u godinama sa prosečnim i blagim zimama, što nismo očekivali da ćemo dobiti pri proučavanju tipova šumske jabuke

Međutim ako pratimo nivo antocijana kod napred navedenih tipova i u februaru i martu primetićemo da u prvoj godini istraživanja tip 2, tip 3, tip 5, tip 8 i tip 9 imaju u toku februara i marta meseca znatno povećanje sadržaja antocijana. Npr. tip 8 i tip 9 koji u decembru prve godine istraživanja imaju sadržaj antocijana 0,192 g/l odnosno 0,152 g/l u februaru mesecu stižu do apsolutnih maksimuma za dati period istraživanja 0,782 g/l odnosno 0,681 g/l). Ovaj nagli skok nivoa antocijana u prvoj godini istraživanja u februaru mesecu može se objasniti osobinom napred navedenih tipova da u godinama sa naglim i

oštrim zimama uspevaju da nešto niži nivo sadržaja antocijana u decembru mesecu nadoknade brзом i eksplozivnom biohemijskom reakcijom u cilju stvaranja bojenih materija kao zaštitnog faktora u odnosu na niske temperature.

Što se tiče mesečne dinamike sadržaja antocijana kod ispitivanih tipova šumske jabuke i njihovih sejanaca u većini slučajeva se raspored minimalnih i maksimalnih vrednosti formira u vidu krive sa dva maksimuma i dva minimuma. Ima izuzetaka kod pojedinih tipova u pojedinim godinama istraživanja.

ZAKLJUČAK

Prosečan sadržaj ukupnih antocijana u kori jednogodišnjih grančica, kod ispitivanih autohtonih sorti odnosno odabranih tipova (in situ), bio je različit kako po sortama odnosno tipovima, tako i po godinama istraživanja.

Prosečan sadržaj ukupnih antocijana je od 0,26 g/l kod tipa 7 do 0,52 g/l kod tipa 6.

Tip 6 treba izdvojiti kao početni materijal za hibridizaciju u cilju dobijanja kvalitetnih generativnih podloga u smislu otpornosti na niske temperature zbog višeg nivoa ukupnih antocijana (cijanidina) u kori u odnosu na sve ostale ispitivane tipove odnosno sorte (0,52 g/l).

Na osobinu, prosečnog sadržaja ukupnih antocijana u kori jednogodišnjih grančica, klimatske karakteristike godine nemaju značajan uticaj tj. ispitivana osobina zavisi od genetskih karakteristika sorte, odnosno tipa.

Koeficijenti varijacije kod osobine sadržaj ukupnih antocijana u kori jednogodišnjih grančica su dosta visoki što ukazuje na velika variranja tokom ogleđa (period zimskog mirovanja) sadržaja ukupnih antocijana. Dakle, prosečan nivo sadržaja antocijana u kori jednogodišnjih grančica varira prvenstveno u zavisnosti od genotipa ispitivane sorte odnosno tipa, dok trenutni nivo sadržaja zavisi od trenutka u kojem je merenje izvršeno, tj. da li se radi o početku ili kraju perioda zimskog mirovanja.

LITERATURA

- Galot, G. J., Lamb, C. R., Aldwinckle, S. H. (1985): Resistance to Powdery Mildew from some Small-fruited Malus Cultivars, Hort. Science, 20.
- Harbone, J. B. (1967): Comparative Biochemistry of the Flavonoides. London.
- Harbone, J. B. Hall, E. (1964): Plant Polyphenols XII. The systematic Distribution and Origin of Anthocyanin Containing Branched Trisaccharides.

- Lučić P., Džamić Ružica, Cerović R., Nenadović-Mratinić Evica (1997): Aktuelna istraživanja u fiziologiji voćaka. Jugoslovensko voćarstvo, Vol.31, br.117-118, str 3-9, Čačak.
- Leončenko V. T., Hanna, N. P. (1988): Sadovodstvo, 2, 26-27, Moskow, 1988.
- Mratinić-Nenadović, E., Vulić, T. (1944): Ocena otpornosti voćaka prema mrazu na osnovu sadržaja antocijana-cijanidina u kori drveta. Tema u okviru projekta Saveznog ministarstva za nauku: Genetičko-fiziološke osnove otpornosti voćaka prema ekološkim i patogenim agensima, Beograd.
- Nybom, N. (1968): Cellulose thin layres for anthocyanin analysis, with special reference to the anthocyanins of black raspberries. Journal of chromatgraphy, 38, p.382-387.

***DYNAMICS OF CONTENT OF TOTAL ANTHOCYANINS
OF AUTOCHTHONAUS SORTS OF APPLE AND
SELECTED TYPES OF WILD APPLES***

by

Šebek Gordana, Biotechnical institute - Podgorica

Summary

The average content of total anthocyanins in the bark is the lowest in the type 7 (0,26 g/l) and the highest content is in the type 6 (0,52 g/l).

We must point out the type 6 as the beginning materijal for the produktion of qualitative generative rootstocks (main tree) in the sence of resistant characteristic on low temperatures, because of higher level of total anthocyanins in the bark of one year old fruiting woods in the perid of winter dormancy.