

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Vlasta CUNJA

**DOLOŽNJE ANJE ANTOCIANOV V VENČNIH LISTIH CVETOV
RAZLIČNIH VRST SADNEGA DREVJA**

MAGISTRSKO DELO
Magistrski študijski program - 2. stopnja

**DETERMINATION OF ANTHOCYANS IN PETALS OF DIFFERENT
SPECIES OF FRUIT TREES**

M. SC. THESIS
Master Study Programmes

Ljubljana, 2012

Magistrsko delo je zaključek magistrskega študija 2. stopnje Hortikultura. Rastlinski material za poskus je bil nabran v Hortikulturnem centru Biotehniške fakultete in v sadovnjaku Biotehniške fakultete v Ljubljani. Analiza vzorcev in statistična obdelava podatkov sta bili opravljene na Katedri za sadjarstvo, vinogradništvo in vrtnarstvo Oddelka za agronomijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Za mentorja magistrskega dela je bil imenovan prof. dr. Franci ŠTAMPAR.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: izr. prof. dr. Marijana JAKŠE,
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

lan: prof. dr. Franci ŠTAMPAR,
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

lan: prof. dr. Dominik VODNIK,
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Datum zagovora:

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

Vlasta CUNJA

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD Du2
DK UDK 634.11:634.25:634.13:581.145.1:547.973(043.2)
KG sadjarstvo/jablana/hruška/breskev/cvetovi/antociani
AV CUNJA, Vlasta, dipl. inž. agr. in hort.
SA ŠTAMPAR, Franci (mentor)
KZ SI-1111 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
LI 2012
IN DOLOČANJE ANTOCIANOV V VENIH LISTIH CVETOV RAZLIČNIH VRST SADNEGA DREVJA
TD Magistrsko delo (Magistrski študijski program – 2. stopnja)
OP IX, 32, [5] str., 9 pregl., 5 sl., 4 pril., 37 vir.
IJ sl
JI sl/en
AI V poskusu smo proučevali vsebnost antocianov (v obliki antocianinov) in barvo venih listov treh sadnih vrst med razvojem cveta. Sadne vrste so bile: breskev (sorti 'Maria Marta' in 'Norman'), hruška (sorta 'Abate Fetel') in jablana (sorte 'Zlati delišes', 'Red Elstar', 'Topaz' in 'Maypole'). Vsebnost antocianinov smo določili s tekoinsko kromatografijo visoke ločljivosti in masnim spektrometrom. Barvo cvetnih listov smo spremljali kolorimetrično v fazi popka in v fazi odprtega cveta, izmerili smo parametre a^* , b^* , L^* in h° . Pri sortah breskev smo določili: cianidin-3-galaktozid, cianidin-3-glukozid, cianidin-3-rutinozid, cianidin-3-ramnozid, pelargonidin-3-glukozid in peonidin-3-glukozid. Vsebnost skupnih antocianinov se pri sortah breskev med razvojem cveta ni statistično spreminjala. Sorta 'Maria Marta' je imela višjo vsebnost antocianinov kot sorta 'Norman'. Pri hruški smo določili le cianidin-3-galaktozid. Pri sortah jablane smo odkrili le antocianine na bazi cianidina: cianidin-3-arabinozid, cianidin-3-galaktozid, cianidin-3-glikozid in cianidin-3-ksilozid. Vsebnost skupnih antocianinov je bila pri vseh sortah jablane pri odprtih cvetovih znatno manjša kot v popkih. Pri sortah 'Zlati delišes', 'Red Elstar' in 'Topaz' smo skladno s tem opazili tudi zmanjšanje parametra a^* . 'Topaz' je bila sorta z najmanjšo vsebnostjo skupnih antocianinov, imela pa je najsvetlejšo veno ne liste (največja vrednost parametra L^*). Pri sorti 'Maypole' je bilo ravno obratno (najvišja vsebnost skupnih antocianinov in najtemnejši veni listi).

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Du2
DC UDC 634.11:634.25:634.13:581.145.1:547.973(043.2)
CX Fruitgrowing/apple/pear/peach/flowers/anthocyanins
AU CUNJA, Vlasta
AA ŠTAMPAR, Franci (supervisor)
PP SI-1111 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Agronomy
PY 2012
TI DETERMINATION OF ANTHOCYANINS IN PETALS OF DIFFERENT SPECIES OF FRUIT TREES
DT M. Sc. Thesis (Master Study Programmes)
NO IX, 32, [5] p., 9 tab., 5 fig., 4 ann., 37 ref.
LA sl
AL sl/en
AB Petal coloration and anthocyanin composition (in the form of anthocyanins) during flower development of three species of fruit trees was investigated. The three fruit species were: peach (cultivars 'Maria Marta' and 'Norman'), pear (cultivar 'Abate Fetel') and apple (cultivars 'Golden Delicious', 'Red Elstar', 'Topaz' and 'Maypole'). The anthocyanin content was quantified using high performance liquid chromatography/mass spectrometry. The color change in petals was monitored colorimetrically at two stages of flower development (bud and fully opened flower) and parameters a^* , b^* , L^* and h° were measured. In peach cultivars the following anthocyanins were identified: cyanidin-3-galactoside, cyanidin-3-glucoside, cyanidin-3-rutinoside, cyanidin-3-rhamnoside, pelargonidin-3-glucoside and peonidin-3-glucoside. Total anthocyanin (TA) levels did not change in peach cultivars during flower development. Cultivar 'Maria Marta' had a higher concentration of TA than cultivar 'Norman'. Only cyanidin-3-galactoside was detected in the pear cultivar. In apple cultivars only cyanidin based anthocyanins were detected: cyanidin-3-arabinoside, cyanidin-3-galactoside, cyanidin-3-glycoside and cyanidin-3-xyloside. The TA level in apple cultivars was significantly lower in fully opened flower petals. Together with lower TA levels, a^* parameter decreased in cultivars 'Golden Delicious', 'Red Elstar' and 'Topaz'. The latter had the lowest level of TA and the most light-colored petals. In 'Maypole' the opposite trend was detected.

KAZALO VSEBINE

	str.
Ključna dokumentacijska informacija (KDI)	III
Key Words Documentation (KWD)	IV
Kazalo vsebine	V
Kazalo preglednic	VII
Kazalo slik	VIII
Kazalo prilog	IX
1 UVOD	1
1.1 POVOD ZA RAZISKAVO	1
1.2 DELOVNA HIPOTEZA	1
1.3 NAMEN RAZISKAVE	1
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 BARVILA	3
2.2 ANTOCIANI	3
2.2.1 Osnovna struktura antocijanov	4
2.2.2 Modifikacije	5
2.2.3 Spremembne odvisne od pH	6
2.2.4 Terciarnе strukture in kopigmentacija	6
2.2.5 Oblika celic	7
2.3 BIOSINTEZA ANTOCIANOV	7
2.4 KOLORIMETRIČNE MERITVE	9
2.5 OPRAŠEVALCI IN BARVA CVETOV	11
3 MATERIAL IN METODE DELA	14
3.1 MATERIAL	14
3.1.1 Rastlinski material	14
3.2 METODE DELA	14
3.2.1 Zasnova poskusa	14
3.2.2 Merjenje barve ven njih listov	14
3.2.3 Suha snov	15
3.2.4 Določanje vsebnosti antocijaninov v ven njih listih	15
3.2.5 Statistična analiza	16
4 REZULTATI	17
4.1 DOLŽINA, ŠIRINA IN KOLORIMETRIČNI PARAMETRI VEN NIH LISTOV	17
4.1.1 Breskev	17
4.1.2 Hruška	18
4.1.3 Jablana	18
4.2 VSEBNOST SUHE SNOVI	21
4.3 VSEBNOST ANTOCIANINOV	21
4.3.1 Breskev	21
4.3.2 Hruška	23

4.3.3	Jablana	23
5	RAZPRAVA	25
6	SKLEPI	27
7	POVZETEK	29
8	VIRI	30
	ZAHVALA	
	PRILOGE	

KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Preglednica 1: Barvila cvetov in opráševalci (Harborne, 1988; cit. po Larcher, 1995: 25)	12
Preglednica 2: Povprečna dolžina (mm) in širina (mm) ven njih listov cvetov ± standardna napaka pri sortah breskve 'Maria Marta' in 'Norman' glede na fazo odprtosti cveta. Različne rke označujejo statistično značilne razlike med obravnavanji ($p < 0,05$), $n = 16$	17
Preglednica 3: Vrednost kolorimetričnih parametrov ven njih listov ± standardna napaka glede na fazo odprtosti cveta pri sortah breskve 'Maria Marta' in 'Norman'. Različne rke označujejo statistično značilne razlike med obravnavanji ($p < 0,05$), $n = 16$	17
Preglednica 4: Povprečna dolžina (mm) in širina (mm) ven njih listov ± standardna napaka ter vrednosti kolorimetričnih parametrov v dveh fazah odprtosti cveta pri hruški sorte 'Abate Fetel'. Različne rke označujejo statistično značilne razlike med obravnavanji ($p < 0,05$), $n = 16$	18
Preglednica 5: Povprečna dolžina (mm) in širina (mm) ven njih listov ± standardna napaka različnih sort jablane glede na fazo odprtosti cveta. Različne rke označujejo statistično značilne razlike med obravnavanji ($p < 0,05$), $n = 16$	20
Preglednica 6: Vrednost kolorimetričnih parametrov ven njih listov ± standardna napaka različnih sort jablane glede na fazo odprtosti cveta. Različne rke označujejo statistično značilne razlike med obravnavanji ($p < 0,05$), $n = 16$	20
Preglednica 7: Primerjava vsebnosti posameznih antocianinov v ven njih listih ± standardna napaka različnih sort breskev glede na fazo odprtosti cveta. Različne rke označujejo statistično značilne razlike med obravnavanji ($p < 0,05$), $n = 5$	22
Preglednica 8: Vsebnosti cianidin-3-galaktozida (mg ekv. Cy-glu/100 g sveže mase) ± standardna napaka pri sorti hruške 'Abate Fetel' med posameznimi fazami odprtosti cveta. Različne rke označujejo statistično značilne razlike med obravnavanji ($p < 0,05$), $n = 5$	23
Preglednica 9: Vsebnosti posameznih antocianinov v ven njih listih ± standardna napaka različnih sort jablane glede na fazo odprtosti cveta. Različne rke označujejo statistično značilne razlike med obravnavanji ($p < 0,05$), $n = 5$	24

KAZALO SLIK

	str.
Slika 1: Struktura antocijana (R4 je OH skupina) (Kong in sod., 2003: 924)	4
Slika 2: Shema biosintezne poti antocijanov in drugih flavonoidov. PAL - fenilalanin amonijak lijaza; CHS - halkon sintaza; CHI - halkon izomeraza; DFR - dihidroflavonol 4-reduktaza; F3H - flavanon 3-hidroksilaza; F3'H - flavanon 3'-hidroksilaza; F3'5'H - flavanon 3'5'-hidroksilaza; ANS - antocijanidin sintaza; UFGT - flavonoid glukozil transferaza (Petroni in Tonelli, 2011)	8
Slika 3: CIE Lab barvni prostor (CIELAB, 2012)	10
Slika 4: Vsebnost skupnih antocijaninov (mg /100 g sveže mase) v venjih listih pri sortah breskve 'Maria Marta' in 'Norman' v dveh fazah odprtosti cvetov	22
Slika 5: Vsebnost skupnih antocijaninov (mg /100 g sveže mase) v venjih listih cvetov pri sortah jabolane 'Zlati delišes', 'Red Elstar', 'Topaz' in 'Maypole' v dveh fazah odprtosti cvetov	24

KAZALO PRILOG

- PRILOGA A1: Povprečna dolžina (mm) in širina (mm) venenih listov \pm standardna napaka v dveh fazah odprtosti cvetov pri sortah breskve 'Maria Marta' in 'Norman'. Različne reke označujejo statistično značilne razlike med obravnavanji ($p < 0,05$), $n = 16$
- PRILOGA A2: Vrednosti kolorimetričnih parametrov venenih listov \pm standardna napaka v dveh fazah odprtosti cveta pri sortah breskev 'Maria Marta' in 'Norman'. Različne reke označujejo statistično značilne razlike med obravnavanji ($p < 0,05$), $n = 16$
- PRILOGA B1: Povprečna dolžina (mm) in širina (mm) venenih listov \pm standardna napaka glede na fazo odprtosti cvetov pri posameznih sortah jabolane. Različne reke označujejo statistično značilne razlike med obravnavanji ($p < 0,05$), $n = 16$
- PRILOGA B2: Vrednosti kolorimetričnih parametrov venenih listov \pm standardna napaka glede na fazo odprtosti cvetov pri posameznih sortah jabolane. Različne reke označujejo statistično značilne razlike med obravnavanji ($p < 0,05$), $n = 16$
- PRILOGA C1: Vsebnost suhe snovi (%) v venenih listih \pm standardna napaka sorte hruške 'Abate Fetel'. Različne reke označujejo statistično značilne razlike med obravnavanji ($p < 0,05$), $n = 5$
- PRILOGA C2: Vsebnost suhe snovi (%) v venenih listih \pm standardna napaka sort jabolane. Enake reke pomenijo, da med obravnavanji pri posameznih sortih ni bilo statističnih razlik ($p < 0,05$), $n = 5$
- PRILOGA D1: Vsebnosti posameznih antocianinov v venenih listih med dvema fazama odprtosti cvetov \pm standardna napaka pri posameznih sortah breskve. Različne reke označujejo statistično značilne razlike med obravnavanji ($p < 0,05$), $n = 5$
- PRILOGA D2: Vsebnosti posameznih antocianinov v venenih listih \pm standardna napaka glede na fazo odprtosti cveta pri posameznih sortah jabolane. Različne reke označujejo statistično značilne razlike med obravnavanji ($p < 0,05$), $n = 5$

1 UVOD

1.1 POVOD ZA RAZISKAVO

Antociani so flavonoidna barvila, ki so v rastlinah najpogostejša in najbolj razširjena. V naravi jih najdemo v glavnem v obliki antocianinov. So vodotopni in praviloma prisotni v vakuolah rastlinskih celic. Najdemo jih v vseh organih oziroma tkivih višjih rastlin, največ v cvetovih in plodovih, prisotni pa so tudi v listih, steblih, koreninah in semenih. Odgovorni so za rdeče, rožnate, vijolične in modre barvne odtenke rastlinskih delov (Cooper-Driver, 2000).

Antociani so za rastline življenjskega pomena, saj z različnimi barvami cvetov in plodov privabljajo živali, ki delujejo kot opraševalci in raznašalci semen (Taiz in Zeiger, 2006).

Poleg tega sodelujejo pri varovanju rastlinskih tkiv pred ultravijoličnim sevanjem, nizkimi temperaturami in sušnim stresom. Vlogo naj bi imeli tudi pri obrambi rastlin pred boleznimi in škodljivci (Petroni in Tonelli, 2011)

Privabljanje opraševalcev je zelo pomembno tudi za sadjarje, saj je večina sadnih vrst žužkocvetk in je pridelek odvisen od aktivnosti opraševalcev.

V literaturi najdemo nekaj podatkov o zgradbi antocianov v venenih listih pri posameznih vrstah, vendar gre večinoma za okrasne rastline. Podatkov o zgradbi in vsebnosti antocianov v venenih listih cvetov izbranih vrst in sort sadnega drevja doslej še ni bilo.

1.2 DELOVNA HIPOTEZA

Postavili smo naslednje delovne hipoteze:

- vsebnost posameznih antocianov v venenih listih popkov in odprtih cvetov se med vrstami in sortami kvalitativno in kvantitativno razlikuje;
- vsebnost antocianov v venenih listih se spreminja s starostjo cvetov;
- skladno z vsebnostjo antocianov v venenih listih se spreminjajo tudi kolorimetrični parametri.

1.3 NAMEN RAZISKAVE

Namen raziskave je bil ugotoviti, katere in koliko antocianov najdemo v venenih listih pri naslednjih vrstah sadnega drevja:

- breskve (sorti 'Maria Marta' in 'Norman');
- jabolana (sorte 'Zlati delišes', 'Red Elstar', 'Topaz' in 'Maypole');
- hruška (sorta 'Abate Fetel').

Poleg tega smo želeli ovrednotiti tudi kolorimetrične parametre venilih listov izbranih vrst in sort. Želeli smo ugotoviti tudi, kako se ti parametri in vsebnost antocianov spreminjajo med razvojem cvetov. V literaturi smo poiskali, kako barva vpliva na privabljanje opraševalcev.

2 PREGLED OBJAV

2.1 BARVILA

Barvila so organske molekule, ki absorbirajo energijo svetlobe in jo zadržijo za nekaj nano/mikrosekund. Svetloba se zadrži zaradi številnih ogljikovih atomov, ki so povezani z dvojno vezjo (Miller in sod., 2011).

Zaznana barva je odvisna od sposobnosti dojetja opazovalca. Vidni spekter človeka predstavlja svetlobo valovnih dolžin od 380 nm do 730 nm (vijolična, modra, zelena, rumena, oranžna, rdeča). Barva cvetov je rezultat selektivne absorpcije in odboja svetlobe v tkivu cvetnih listov. Klorofil najbolje absorbira svetlobo pri valovnih dolžinah 430 nm (vijolična, modra) in 680 nm (rdeča), svetloba ostalih valovnih dolžin se odbije in jo zaznamo kot zeleno barvo. Barva, ki jo zaznamo, je pogosto sestavljena iz različnih valovnih dolžin. Barvo antocianov, ki absorbirajo rumeno zelene valovne dolžine svetlobe (od 520 nm do 530 nm), sestavlja odbita svetloba oranžnih, rdečih in modrih valovnih dolžin (Kevan in sod., 1996; Davies, 2004).

Glavna barvila, ki sodelujejo pri barvi cvetov so (Kevan in sod., 1996):

- flavonoidi (barvo dajejo antociani, halkoni, auronin in flavonoli),
- karotenoidi (ksantofili in karoteni),
- betalaini (betaksantini in betacianini).

Dejavniki, ki vplivajo na barvo cvetov so (Cooper-Driver, 2000):

- vrsta barvila,
- koncentracija posameznega barvila,
- strukturna variacija znotraj barvila,
- modifikacije zaradi vezave različnih organskih spojin (najpogosteje sladkorjev),
- spremembe pH v vakuoli,
- oblika celic.

2.2 ANTOCIANI

Antociani so najbolj razširjena in najpogostejša skupina flavonoidnih barvil (fenolne snovi). Odgovorni so za večino rdečih, rožnatih, vijoličnih do modrih in modro-rdečih barv, ki jih najdemo v rastlinskih delih (Schwinn in Davies, 2004; Taiz in Zeiger, 2006).

Antociani omogočajo različne barve cvetov in plodov in so za rastline življenjskega pomena, saj privabljajo živali, ki delujejo kot opraševalci in raznašalci semen (Taiz in Zeiger, 2006).

2.2.1 Osnovna struktura antocianov

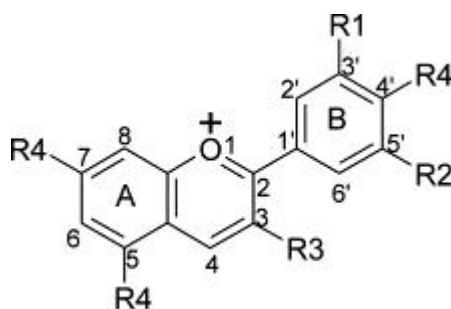
Pojhem antocian vklju uje antocianine in antocianidine. Antocianidini so aglikoni antocianinov, predstavljajo osnovno strukturo antocianina brez vezanih sladkornih enot (Taiz in Zeiger, 2006).

Osnovni ogljikov skelet je pri flavonoidih sestavljen iz petnajstih ogljikovih atomov. Ti atomi sestavljajo dva aromati na (fenilna) obro a (imenujemo jih A in B), ki sta povezana z mostom treh ogljikovih atomov. Ta most obi ajno tvori še tretji tako imenovani C obro . Ta struktura je odraz dveh lo enih biosinteznih poti: šikimske in malonske. Razli ne flavonoide lo imo med seboj po stopnji oksidacije C obro a (Schwinn in Davies, 2004; Taiz in Zeiger, 2006).

Ve ina antocianinov je izpeljanih iz treh osnovnih antocianidinskih tipov: pelargonidina, cianidina in delfinidina. Razlike med njimi so v številu hidroksilnih skupin vezanih na B obro u. V glavnem lahko barvo cvetov dobro povežemo s tem, kateri tip antociana se prevladujejo e akumulira. Najpogostejši antocianidini so 3-hidroksiantocianidini (slika 1), ki imajo na mestu 3 v C obro u vezano hidroksilno (OH) skupino. To so (Schwinn in Davies, 2004):

- pelargonidin (R1=H; R2=H),
- cianidin (R1=OH; R2=H),
- delfinidin (R1= OH; R2=OH),
- peonidin (R1=OCH₃; R2=H),
- petunidin (R1=OCH₃; R2=OH),
- malvidin (R1=OCH₃; R2=OCH₃).

Ti antocianidini se razlikujejo v številu hidroksilnih skupin vezanih na B obro u. Ve je število hidroksilnih skupin pomeni bolj modro barvo antociana (Schwinn in Davies, 2004).



Slika 1: Struktura antociana (R4 je OH skupina) (Kong in sod., 2003: 924)

Cianidin povezujemo z magenta barvo, pelargonidin z rožnatimi in oranžnimi toni, malvidin pa daje svetlo vijoli ne do škrlatne barve. Delfinidin je najpogostejši antocianidin v modrih cvetovih. Poznamo pa tudi vrste, ki imajo modre cvetove kljub temu, da ga ne sintetizirajo. Tako imata vrsti *Centaurea cyanus* in *Pharbitis nil* modre cvetove s cianidin in peonidin glukozidom, vrsta *Meconopsis betonicifolia* pa le na osnovi cianidina. Pri takih vrstah je potrebnih ve flavonskih pomožnih barvil kot pri vrstah z delfinidinom, da dobimo modro barvo (Harborne in Williams, 2000).

Manj pogosti so 3-deoksiantocianidini (na poziciji 3 v C atomu imajo vezan vodik) (Schwinn in Davies, 2004):

- apigeninidin oz. apigenidin (R1=H; R2=H),
- luteolinidin (R1=OH; R2=H),
- tricetinidin (R1=OH; R2=OH).

Zaradi odsotnosti hidroksilne skupine na C obro u, ti antocianidini drugače absorbirajo svetlobo. Običajno dajejo omenjena barvila rumeno oranžno do svetlo rdečo barvo (Schwinn in Davies, 2004).

2.2.2 Modifikacije

Modifikacije antocianidinov običajno vključujejo glikolizacijo, acilacijo in metilacijo. Vezave se zgodijo na eni ali več njihovih hidroksilnih skupinah antocianidina ali pa na substituentih, ki so vezani na te hidroksilne skupine. Hidroksilne skupine so običajno v obro u C na mestu C-3, v obro u B na mestu C-4' in v obro u A na mestu C-5 in C-7. Nekateri antocianidini imajo hidroksilno skupino vezano tudi na mestu C-3' lahko pa hkrati še na C-5' (Schwinn in Davies, 2004).

2.2.2.1 Glikolizacija

Glikolizacija pri 3-hidroksiantocianidinih poteka na C-3 poziciji (C obro u). Najpogosteje se veže glukoza, najdemo pa tudi druge sladkorje (galaktoza, ramnoza, glukuronska kislina ipd.). Po začetni vezavi sladkorne enote se lahko druge nadalje vežejo na jedro antocianidina ali pa na že vezane sladkorne enote. Večina antocianinov je 3-glikozidov ali 3,5-glikozidov (Schwinn in Davies, 2004).

Na barvo antocianina vpliva mesto vezave sladkorne enote. Ugotovljeno je bilo, da pri nekaterih okrasnih rastlinah (*Pelargonium* sp., *Petunia* sp.) 3,5-glikozidi povzročijo intenzivnejšo barvo kot 3-glikozidi (Forkmann, 1991). Vezava sladkornih enot na druga mesta je manj pogosta. Pri rdečih čebulicah (*Allium cepa*) so odkrili, da lahko glikolizacija poteka tudi na 4' mestu (Fossen in sod., 2003).

2.2.2.2 Acilacija

Pri acilaciji se na sladkorne ostanke vežejo acilne skupine. Lahko se vežejo ostanki aromatičnih (hidroksicimetova, hidroksibenzojska) ali alifatskih kislin (malonska, jantarna, etanojska). Acilacija ima pomembno vlogo pri tvorjenju stabilnih struktur (Schwinn in Davies, 2004).

2.2.2.3 Metilacija

Metilacija najpogosteje poteka na hidroksilnih skupinah B obročka. Metilacija povzroča rahlo rdečo obarvanje, ki pa je lahko zamaskirano, saj na barvo cvetov vplivajo še drugi dejavniki (Schwinn in Davies, 2004).

2.2.3 Spremembne odvisne od pH

Odtonek barve in njegova intenzivnost se pri antocianinih spreminjata v odvisnosti od pH. Antocianin je v stabilni obliki (stabilne barve) le pri kislem pH. Takrat je molekula v obliki flavilijevega kationa, ki je rdeča ali oranžna barva. Pri višjem pH se tvorijo druge barve/oblike, ki so pogosto nestabilne. Ko se pH približuje nevtralnemu, se tvorijo nevtralne kinonske baze, običajno purpurne barve, ki jim sledi tvorba modrih anionskih kinonskih baz pri alkalnem pH (Schwinn in Davies, 2004).

V rahlo kislem okolju (pH 4 do 6) obstajajo antocianini v brezbarvni obliki. V tem območju pH strukturne oblike antocianinov obstajajo v ravnotežju (flavilijev kation, kinonske baze, halkoni) (Cooper-Driver, 2000).

V takih razmerah na flavilijevem kationu pogosto poteka hidracija (hidroksilacija) in reakcija spremeni flavilijeve ione v hemiacetalne in kasnejše halkonske oblike. Antocianini se večinoma kopičijo v vakuoli, kjer je pri mnogih vrstah v venih listih rahlo kislo okolje (Schwinn in Davies, 2004).

2.2.4 Terciarnе strukture in kopigmentacija

Do tvorbe terciarnih struktur prihaja zaradi inter- in intramolekulskih interakcij in so ključnega pomena za stabilizacijo antocianinov. Pripomorejo tudi k raznovrstnosti barv, saj se s povezovanjem v terciarne strukture spremeni količina in kakovost svetlobe, ki se absorbira (Schwinn in Davies, 2004).

Molekule antocianinov se povežejo s pomožnimi barvili, ki so običajno drugi flavonoidi (flavonoli in flavoni). Gre za fenomen intermolekularne kopigmentacije. Na to interakcijo vpliva strukturna zgradba antocianinov pa tudi struktura pomožnega barvila in njegova relativna koncentracija. Poleg vezave s pomožnimi barvili lahko pride tudi do vertikalnega nalaganja antocianinskih molekul ene nad drugo (ang. izraz 'self-association'). Pri nekaterih rastlinskih vrstah se kompleksi antocianinov s pomožnimi barvili povezujejo še s kovinskimi ioni (železo, aluminij, magnezij). To je še posebej pomemben proces pri tvorbi stabilnih modrih barvil (Schwinn in Davies, 2004).

2.2.5 Oblika celic

Na izražanje barve cvetov pomembno vpliva tudi struktura obarvanega tkiva in posamezna oblika celic. Ali je celica konična ali sploščena, vpliva na lom in odboj svetlobe (Mol in sod., 1998).

Noda in sod. (1994) so ugotovili, da so pri divjem tipu *Antirrhinum majus* (veliki odolin, zajki) epidermalne celice konične oblike, cvetovi pa imajo žameten izgled in bolj močno barvo kot recesivni mutanti *mixta*, ki imajo sploščene epidermalne celice. Podobno so Mol in sod. (1998) odkrili tudi pri mutantih *Petunia hybrida* (oblika celic je pod vplivom gena *mybPhl*, ki je homologen *mixta* genu).

Whitney in sod. (2009) navajajo, da pri večini žužkocvetk pri venenih listih prevladuje konična oblika epidermalnih celic. V raziskavi ugotavljajo, da taka oblika celic opravevalcem olajša oprijem, s tem pa jim omogoča lažje iskanje hrane in prenos cvetnega prahu.

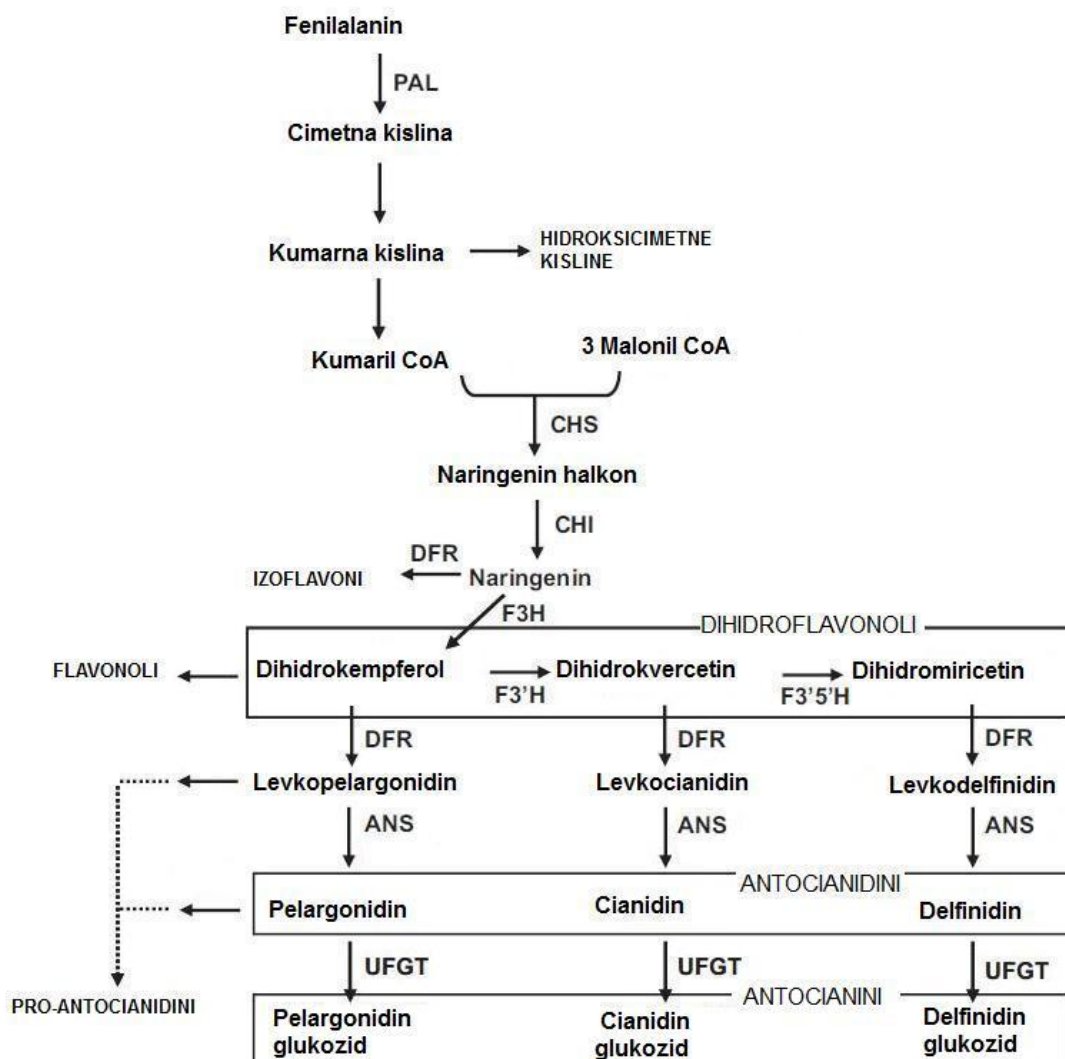
2.3 BIOSINTEZA ANTOCIANOV

Izhodišča za sintezo fenolnih spojin je aminokislina fenilalanin (slika 2). Iz nje ob pomoči encima fenilalanin amonijak lijaza (PAL) nastaja cimetna kislina, ki s hidroksilacijo daje *p*-kumarno kislino. Z vezavo koencima A (CoA) na kumarno kislino se tvori *p*-kumaril CoA, ki je vhodna spojina pri sintezi flavonoidov. Prvi korak sinteze flavonoidov katalizira encim halkon sintaza (CHS). Ob njegovi pomoči se kondenzirajo tri molekule malonil-CoA in ena molekula *p*-kumaril CoA, tako da nastane tetrahidroksihalkon (naringenin halkon). Pri naslednjem koraku se, ob pomoči encima halkon izomeraze (CHI), tvori tako imenovani C-obroč, nastane prvi flavanon, naringenin. Flavononi predstavljajo pomembno točko v biosintezi flavonoidov, saj so prekursorji za flavone, izoflavone ter dihidroflavonole, iz katerih nastajajo flavonoli in antocijanidini (Cooper-Driver, 2000; Croteau in sod., 2009).

Iz flavanonov z encimom flavanon 3-hidroksilazo (F3H) nastaja dihidroflavonoli. Najprej iz naringenina nastane dihidrokempferol. Le tega encim flavanon 3'-hidroksilaza (F3'H) pretvarja v dihidrokvercetin, ki se ob pomoči encima flavanon 3'5'-hidroksilaze pretvarja v dihidromiricetin. Dihidroflavonoli se ob pomoči encima dihidroflavonol 4-reduktaze (DFR) reducirajo do levkoantocijanidinov (flavan-3,4-*cis*-dioli). Iz dihidrokempferola nastaja levkopelargonidin, iz dihidrokvercetina nastaja levkocianidin in iz dihidromiricetina nastaja leukodelfinidin (Petroni in Tonelli, 2011; Cooper-Driver, 2000).

Končna pretvoba levkoantocijanidinov v antocijanidine poteka ob pomoči encimov antocijanidin sintaze (ANS). K vezavi sladkornih enot in sintezi antocijaninov pripomore encim flavonoid glukozil transferaza (UFGT) (Petroni in Tonelli, 2011; Cooper-Driver, 2000).

Biosinteza antocijanov poteka v citosolu, njihova končna barva pa se polno izrazi šele ob skladiščenju v vakuoli (Schwinn in Davies, 2004).



Slika 2: Shema biosintezne poti antocijanov in drugih flavonoidov. PAL - fenilalanin amonijak lijaza; CHS - halkon sintaza; CHI - halkon izomeraza; DFR - dihidroflavonol 4-reduktaza; F3H - flavanon 3-hidroksilaza; F3'H - flavanon 3'-hidroksilaza; F3'5'H - flavanon 3'5'-hidroksilaza; ANS - antocijanidin sintaza; UFGT - flavonoid glukozil transferaza (Petroni in Tonelli, 2011)

Nobena vrsta ne sintetizira vseh možnih antocijanov. Vrste nimajo vseh encimov ali pa je encim modificiran tako, da ne sprejema specifičnih snovi za substrat (Mol in sod., 1998).

Gottlieb (1982, cit. po Harborne in Williams, 2000) navaja, da je modra barva omejena na bolj razvite družine kritosemenk. Primitivne kritosemenke vsebujejo predvsem cianidine (barve od rdeče do magente), to pa pojasni tudi zakaj družine kot rožnice (Rosaceae) in rodovi kot *Rosa* ne razvijejo modrih cvetov z delfinidinom (Harborne in Williams, 2000).

Dong in sod. (1998) so med razvojem cvetov jablane 'Royal Gala' proučevali ekspresijo šestih genov, ki sodelujejo pri sintezi antocijaninov (PAL, CHS, CHI, F3H, DFR in ANS). V venih listih so izmerili najvišje koncentracije šestih mRNK v zgodnji fazi razvoja

cvetov, nato pa so se vrednosti zmanjšale, ko so se cvetovi odprli. Največjo aktivnost CHI in največjo koncentracijo antocianinov so zabeležili en dan po največjih vrednostih mRNA. Ekspresija genov se je zmanjšala, biosinteza antocianinov pa je bila zavrnjena, če so pred brstenjem blokirali UV ali naravno svetlobo. Brez UV svetlobe so se razvili rožnati cvetovi, brez naravne svetlobe pa povsem beli cvetovi. Popolnoma beli cvetovi niso bili zmožni ponovne resinteze antocianinov po naknadni izpostavitvi naravni svetlobi. To kaže, da je aktivnost teh genov in sinteza antocianinov pogojena z razvojno fazo in svetlobo, ki je pomembna v zgodnji fazi razvoja.

Antociane najdemo skoraj v vseh cvetovih rastlinah in so zato primerni za taksonomske študije na nivoju družine in rodu. Mnoge družine in rodovi imajo namreč značilne modifikacije antocianidinov. Antociane najdemo v vegetativnih in reproduktivnih tkivih tako kritičnih kot golosemenk, sporadično pa se pojavljajo pri drugih skupinah rastlin (antocianom podobna barvila so našli v mahovih in jetrenjakih, derivate pelargonidina in cianidina pa so našli tudi pri praproti *Davallia divaricata*) (Cooper-Driver, 2000).

Antocianine v cvetovih so določeni ali pri kalanhoji (Nielsen in sod., 2005), veliki kapucinki (Garzón in Wrolstad, 2009), vitezovi zvezdi (Byamukama in sod., 2006), tulipanu (Torskangerpoll in sod., 1999, Torskangerpoll in sod., 2005), forsitiji (Rosati in sod., 1998) in drugih, predvsem okrasnih, rastlinah.

2.4 KOLORIMETRIČNE MERITVE

Vsako barvo lahko opišemo s tremi parametri: barvitost oz. odtenek barve (barvni ton), nasičenost (koliko barve je prisotne) in svetlost (oziroma koliko je barva temna) (Schoefs, 2005; Štefan, 2012).

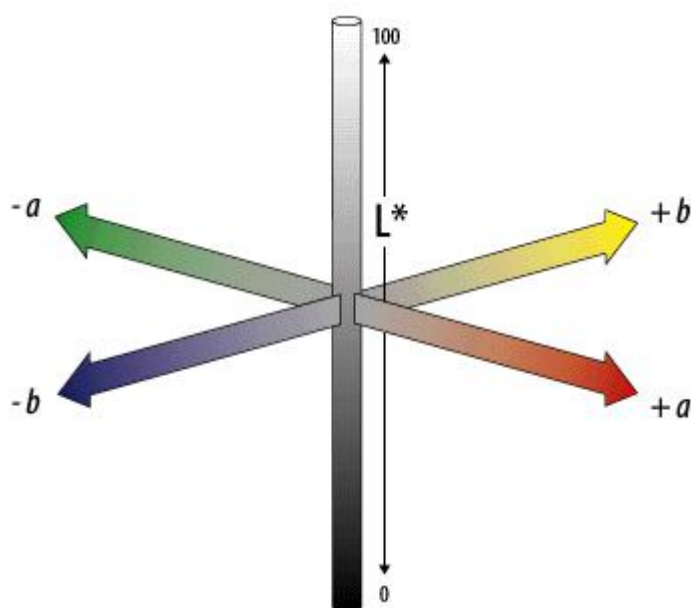
Leta 1976 je Mednarodna komisija za razsvetljavo (Commission Internationale de l'Eclairage - CIE) postavila standardno metodo za določanje/preračunavanje barvnih komponent, znano kot CIE Lab barvni prostor (slika 3) (Schoefs, 2005).

Metoda temelji na standardizirani svetlobi in standardiziranem opazovalcu. Vsaka barva je definirana s točko v prostoru, ki je definiran s koordinatami a^* , b^* in L^* . Ravnino predstavljata osi a^* in b^* . Vrednosti parametra a^* so v razponu od -60 do +60 in opisujejo odtenke barve od zelene (negativne vrednosti) do rdeče (pozitivne vrednosti). Pravokotno na a^* je os b^* . Vrednosti so prav tako med -60 in +60, podajo pa nam odtenke barve od modre (negativne vrednosti) do rumene (pozitivne vrednosti). V izhodišču je barva akromatična – siva (vrednosti $a^* = 0$ in $b^* = 0$). Pravokotno in navpično na ta koordinatni sistem je še tretja os L^* . Parameter L^* opisuje svetlost barve in zavzema vrednosti od 0 (nič), ki pomeni črna barva, do 100, ki pomeni bela barva (Lancaster in sod., 1997; Schoefs, 2005).

Iz parametrov lahko izpeljemo še naslednja indikatorja: kroma ali nasičenost (C) in barvitost (h°) (Lancaster in sod., 1997).

S kromom opisujemo, koliko je površina nasičena z določeno barvo (barvnim tonom). Na primer: tempera barve imajo veliko kromo, akvarelne barve pa majhno. Rdeča, bela in sive barve so nenasičene in nimajo krome (Štefan, 2012). Rečemo, da je barva mrtva (ubita), če ima majhno kromo, ali živa, če ima veliko kromo.

Barvitost oz. barvni ton (h°) je določen z ravninskim kotom (azimut) v stopinjah od 0 do 360 ($h^\circ = \arctan(b^*/a^*)$). Tako ima rdeča barva vrednosti okoli 0° (360°), rumena je opisana s kotom 90° , zelena ima vrednosti okoli 180° (-180°), modra pa okoli 270° (-90°) (Torskangerpoll in sod., 2005).



Slika 3: CIE Lab barvni prostor (CIELAB, 2012)

O povezavi med kolorimetričnimi meritvami in sestavo barvil so mnjenja različna. Če do spremembe barve ne pride, to še ne pomeni, da se ni spremenila sestava barvil (Schoefs, 2005).

Lancaster in sod. (1997) v poskusu primerjave vsebnosti barvil in barve kože različnih vrst sadja in zelenjave ugotavljajo, da lahko podobne vrednosti L^* , a^* , b^* in h° dajejo vzorci tkiv, ki vsebujejo različne kombinacije barvil. To pomeni, da ena točka v barvnem prostoru ne ustreza točno določeni kombinaciji barvil. Če prevladuje eno barvilo oziroma je samo eno barvilo prisotno, je lahko povezava med barvo in vsebnostjo barvila značilna. V članku so ugotovili linearno korelacijo med vsebnostjo antocianov v vzorcu in parametrom h° , razmerje med parametrom a^* in vsebnostjo antocianov pa ni bilo očitno.

Korelacijo med vsebnostjo antocianov in kolorimetričnimi parametri so pri različnih sortah potonik (*Paeonia lactiflora*) ugotavljali Jia in sod. (2008). Katori in sod. (2002) so določili antociane in kolorimetrične parametre veninah listov lotusa (*Nelumbo* spp.).

Schmitzer in sod. (2009) so obravnavali spremembe v vsebnosti fenolov pri rdečih cvetnih vrtnici 'KORcrissett' med razvojem cveta. Ugotovili so, da se med razvojem cveta vrednost

parametrov a^* in b^* zmanjšuje, pove uje pa se vrednost parametra L^* (svetlost). Kolorimetri ni parametri (a^* , b^* , L^* in h°) so bili v tesni povezavi z vsebnostjo prevladujo ih (pelargonidin-3,5-di-glukozid in cianidin-3,5-di-glukozid) in skupnih antocianinov. Poleg naštetih so ugotovili tudi antocianine: pelargonidin-3-glukozid, cianidin-3-glukozid in peonidin-3-glukozid. Vsebnost opazovanih antocianinov se je z razvojem cveta zmanjševala.

Prav tako so Schmitzer in sod. (2010) prou evali spremembe barve in vsebnosti fenolov med razvojem cveta, poleg drugih rde ih sort, tudi pri belih in rožnatih sortah pokrovnih vrtnic. Ugotovili so pove anje svetlosti (L^*) ven njih listov med razvojem cveta in, pri rde ih in rožnatih sortah, zmanjšanje parametra a^* . Vsebnost skupnih antocianinov je pri vseh sortah naraš ala od faze popka do odprtega cveta, nato pa se je s staranjem cvetov vrednost zmanjšala (enako so opazili tudi pri vsebnosti vode). Pri vseh prou evanih sortah so ugotovili povezavo med vsebnostjo skupnih antocianinov in parametrom a^* .

2.5 OPRAŠEVALCI IN BARVA CVETOV

Najpomembnejši opraševalci so žuželke, predvsem ebele (Hymenoptera: Apoidea). Cvetovi oddajajo signale, ki omogo ajo opraševalcu, da cvet zazna, prepozna in si ga zapomni kot potencialen vir hrane. Barva cvetov je najvažnejši signal pri zaznavanju in prepoznavanju cvetov na daljavo (Kevan in sod., 1996).

Opraševalce privablja prisotnost barvil v cvetovih. Ker imata od tega koristi tako rastlina kot žival, te privabilne molekule delujejo kot sinomoni (Larcher, 1995).

Nekateri cvetovi vsebujejo le karotenoide, ve ina pa jih poleg njih vsebuje vsaj še eno drugo skupino barvil. Isti cvet tako lahko vsebuje karotenoide in flavonoide. Vsebnost teh barvil se lahko med razvojem cveta pove uje, nekatera svetlejša barvila se med razvojem razvijejo v temnejša. Betalaini so prisotni le pri redu Caryophyllales, njihova sinteza izklju uje sintezo antocianov, lahko pa se pojavljajo skupaj s karotenoidi (Miller in sod., 2011).

Vidni spekter svetlobe, ki jo zaznavajo žuželke, sega v ultravijoli no obmo je, pri ve ini vse do valovne dolžine 300 nm. Na nasprotnem koncu spektra, ve ina žuželk, vklju no z ve ino ebel, zaznava valovne dolžine do 630 nm (rde a) (Kevan in sod., 1996).

Karotenoidi in nekateri antociani ultravijoli no svetlobo odbijajo, kar povzro a lesk (ve kot je takega barvila, bolj se površina lesketa, svetlika). Za flavonoide pa velja, da UV svetlobo v glavnem absorbirajo, kar povzro i temne madeže (Kevan in sod., 1996; Miller in sod., 2011).

Vsak opraševalec ima svoje preference. Popolna povezava med cvetnimi barvili in svetlobnim spektrom, ki ga zaznajo opraševalci, naj ne bi obstajala. Poleg barve so za privabljanje opraševalcev namre pomembni tudi drugi dejavniki, kot npr.: kontrast med listjem in cvetovi, kontrast med ven nimi listi in cvetnim prahom, simetrija, poleg tega pa še taktilne in olfaktorne zaznave. Prav tako pa imajo flavonoidi, karotenoidi in betalaini v

venilih listih verjetno tudi funkcije, ki so nepovezane z opraševanjem. Kljub temu se zdi, da je barva prednost pri privabljanju večinoma opraševalcev in prav maksimiranje privabljanja opraševalcev je glavna naloga cvetov (Miller in sod., 2011).

Cvetovi, ki jih oprašujejo ebele so ponavadi modri ali rumeni (preglednica 1), redko rdeči, ker naj bi ebele rdečo barvo videle kot rjavo. Ebele ne vidijo barv kot ljudje, ampak so sposobne gledanja v ultravijolični svetlobi. Tako vidijo zeleno kot odtenke sive, svetle ebesketajo e cvetove, ki odbijajo UV svetlobo (zaradi karotenoidov) in rjave pege tam, kjer se UV svetloba absorbira (zaradi flavonoidov) (Miller in sod., 2011).

Da je modra barva pri ebelah bolj cenjena, navajata tudi Harborne in Williams (2000). Tako naj bi bila pri flori zmernega pasu, kjer so ebele glavni opraševalci, očitna evolucija v smer modre barve cvetov.

Preglednica 1: Barvila cvetov in opraševalci (Harborne, 1988; cit. po Larcher, 1995: 25)

Barva	Bravila	Pogostnost, primeri	Opraševalci
Bela, kremasta	levkoantocianini, kvercetini	pogosti	predvsem ebele
Rumena	karotenidi, flavonoli, halkoni	pogosti	ebele, metulji, ptičji
Rumena / škrlatna	betalaini	Caryophyllales	ebele, metulji
Oranžna	karotenoidi, pelargonidin + avron	<i>Lilium</i> , <i>Antirrhium</i>	ebele, metulji, ptičji
Rožnata	peonidin	<i>Paeonia</i> , <i>Rosa rugosa</i>	(ebele ^a), dvokrilci, metulji, ptičji
Rdeča / škrlatna	pelargonidin, cianidin (tudi s karotenoidi)	pogosti	(ebele ^a), dvokrilci, metulji, ptičji
Modra	cianidin, delfinidin (kopigment Al/Fe ³⁺)	<i>Centaurea</i> , <i>Gentiana</i>	ebele, metulji, ptičji
Vijolična	delfinidin	pogosti	ebele, metulji
Zelena	klorofili	<i>Helleborus</i> , <i>Dorstenia</i>	diptera, netopirji

^a ebele in drugi kožekrilci (Hymenoptera) so neobčutljivi na rdečo, na rdeče cvetove jih privabljaajo ultravijolični nektarski vodiki in rumeni ali modri prašniki

Cvetovi, ki jih oprašujejo hrošči, so običajno beli ali zamolkli, saj naj bi hrošči imeli slabo razvita vizualna očutila. Cvetovi, ki jih oprašujejo muhe, so običajno zamolklo rdeče ali rjave barve, verjetno naj bi posnemali barvo mesa. Običajno taki cvetovi tudi oddajajo vonj po gnjenem mesu, ki naj bi dodatno privabljal muhe. Cvetovi, ki jih oprašujejo večerke, so beli ali rumeni, kar jim zagotavlja, da v mraku, ko so večerke aktivne, izstopajo. Metulji lahko zaznavajo več barv kot ebele in tako obiskujejo zelo raznoliko obarvane cvetove, tudi rdeče. Kolibriji za iskanje cvetov primarno uporabljajo vid, zato so jim vse veliki živo rdeči ali rumeni cvetovi, ki imajo veliko nektarja in oddajajo malo vonjav. Cvetovi, ki jih oprašujejo netopirji, so zamolklih barv, vendar veliki oziroma sestavljajo velika socvetja (Miller in sod., 2011).

Cvetove lahko oprašujejo različne skupine živali in med njimi lahko prihaja do tekmovalnosti za nektar (npr. med ebelami in hrošči) (Miller in sod., 2011).

V literaturi je celo nekaj raziskav, ki povezujejo določeno vrsto antociana z opraševalcem. Harborne in Smith (1978) ugotavljata, da vrste iz družine Polemoniaceae, ki jih oprašujejo kolibriji, vsebujejo večinoma pelargonidin in cianidin, medtem ko vrste iz te družine, ki vsebujejo večinoma delphinidin. Vrste iz družine Polemoniaceae, ki jih oprašujejo metulji imajo v cvetovih cianidin oziroma mešanico cianidina in delphinidina. Povezavo med tipom antociana, barvo cvetov in opraševalci pri ustnaticah (Lamiaceae) sta ugotavljala Saito in Harborne (1992). Wilbert in sod., (1997) pa so ta razmerja proučevali pri dveh vrstah iz rodu *Mimulus*.

3 MATERIAL IN METODE DELA

3.1 MATERIAL

3.1.1 Rastlinski material

V poskus so bile vključene tri sadne vrste: jabolana, hruška in breskev. Pri breskvi smo vzorili ali cvetove sorte 'Maria Marta' in 'Norman', pri jablani smo izbrali sorte 'Zlati delišes', 'Red Elstar', 'Topaz' ter 'Maypole', sorta hruške je bila 'Abate Fetel'.

Pri breskvah ločimo dva tipa cvetov: rožastega in zvonastega. Zvonast tip cveta ima nekoliko zakrnelih ven na listih in se večinoma pojavlja pri sortah brez cvetnega prahu (Štampar in sod., 2005). Sorta 'Norman' ima rožast tip cveta, sorta 'Maria Marta' pa zvonastega.

Sorta jabolane 'Maypole' je križanec *Malus x domestica* 'McIntosh Wicik' in *Malus* 'Baskatong'. Gre za stebričasto sorto jabolane, ki ima škrlatne cvetove, jeseni pa razvije plodove, ki so temno rdeči z rožnatim mesom in so primerni za pripravo želejev (Columnar ..., 2012)

Breskove poganjke s cvetovi smo nabrali v Hortikulturnem centru Biotehniške fakultete (Križčijan pri Novi Gorici) 21. marca 2012 in jih v hladilni torbi prepeljali v laboratorij Katedre za sadjarstvo, vinogradništvo in vrtnarstvo, kjer smo jih naslednji dan vzorili. Cvetove sorte 'Abate Fetel' smo prav tako nabrali v Hortikulturnem centru Biotehniške fakultete 30. marca 2012 in jih vzorili še isti dan. Jablanove cvetove smo nabrali v sadovnjaku Biotehniške fakultete v Ljubljani 18. aprila 2012 in jih vzorili isti dan.

3.2 METODE DELA

3.2.1 Zasnova poskusa

Analizirali smo cvetove v dveh fazah odprtosti: v fazi popka in ko je bil cvet popolnoma odprt. Posamezne cvetove smo potrgali s poganjkov in jih ločeno ali glede na fazo ter nato ročno potrgali venne liste. Pri vsakem obravnavanju (faza odprtosti cvetov) smo tako dobili en mešan vzorec, ki smo ga del porabili za določanje suhe snovi, del pa je bil porabljen za analizo vsebnosti antocianinov.

3.2.2 Merjenje barve ven in listov

Pri vsakem obravnavanju smo šestnajstim venam in listom izmerili dolžino in širino s kljunastim pomicnim merilom ter barvo s prenosnim kolorimetrom (CR-10 Chroma;

Minolta, Osaka, Japonska), ki izmeri CIE LAB parametre: a^* , b^* , L in h° . Barvo smo merili na zunanji strani venenih listov.

3.2.3 Suha snov

Pri hruški in jablani smo del vzorca oddvojili za analizo suhe snovi. Za vsako fazo cvetov smo naredili pet ponovitev. Venne liste smo spravili v papirnate vrečke. Zabeležili smo maso prazne vrečke in vrečke skupaj s svežimi venenimi listi. Nato se je material sušil na 105 °C 24 ur. Vrečke smo prenesli v eksikator, da so se ohladile, nato smo jih stekali. Izmeritev smo izračunali vsebnost suhe snovi in delež vode v venenih listih.

3.2.4 Določanje vsebnosti antocianinov v venenih listih

Za vsako fazo cvetov smo vzorec venenih listov razdelili na pet delov, da smo dobili pet ponovitev. Venne liste smo shranili v papirnate vrečke in jih zamrznili (-20 °C) za kasnejšo analizo vsebnosti antocianinov.

3.2.4.1 Priprava vzorcev za analizo s HPLC-MS

Venne liste smo v terilnici zmelili v fin prah. Pri tem smo si pomagali s tekočim dušikom. V centrifugirke smo zatehtali 0,2 g materiala in ga prelili z 2 ml ekstrakcijske raztopine: metanol, ki mu je dodano 3 % mravljinčne kisline in 1 % BHT (2,6-di-*tert*-butil-4-metilfenol, butil hidroksi toluen). Ekstrakcija je potekala v ledeni ultrazvočni kopeli eno uro. Po tem smo vzorce centrifugirali sedem minut pri 10 000 obratih na minuto in jih prefiltrirali skozi Chromafil[®] AO-20/25 poliamidni filter v vialo. Do HPLC-MS analize smo jih shranili v zamrzovalniku na -20 °C.

3.2.4.2 HPLC-MS analiza

Analiza vsebnosti antocianinov s pomočjo tekoinske kromatografije visoke ločljivosti je bila izvedena na Katedri za sadjarstvo, vinogradništvo in vrtnarstvo na Biotehniški fakulteti v Ljubljani, na tekoinskem kromatografu Thermo Finnigan Surveyor (Thermo Scientific, San Jose, ZDA). Antocianini so bili analizirani pri valovni dolžini 530 nm. Uporabljena je bila kolona Gemini C18 (150 x 4,6 mm, 3 μm, Phenomenex, Torrance, ZDA) s predkolono (Phenomenex, Torrance, ZDA), analiza je potekala pri 25 °C. Hitrost pretoka je bila 1 ml/min, volumen iniciranega vzorca je bil 20 μl. Za mobilno fazo sta bila uporabljena mravljinčna kislina in acetonitril. Vzorci so bili izpirani po linearnem gradientu, ki so ga uporabili Marks in sod. (2007). Koncentracija antocianinov v vzorcu je bila določena s površino vrhov, ki je bila ovrednotena z umeritveno krivuljo standardne raztopine cianidin-3-glukozida in peonidin-3-glukozida.

Antocianine smo kvalitativno določili z uporabo masnega spekrometra (LCQ Deca XP MAX, Thermo Scientific) z 'elektro sprej' ionizacijo (ESI). Značilni MS^2 so se pozitivni

ioni detektirali v razponu m/z od 115 do 800. Pretok je bil 1 ml/min, volumen iniciranega vzorca pa 10 μ l. Temperatura kapilare je bila 250 °C. Napetost kapilare je bila 26 V, napetost spreja pa 4 V.

3.2.5 Statistična analiza

Podatki so bili urejeni s programom Microsoft Office Excel 2003, statistična analiza je bila narejena s programom Statgraphics Plus za Windows 4.0. Narejena je bila enosmerna analiza variance (ANOVA), razlike med obravnavanji so bile ocenjene z Duncanovim testom pri 5 % tveganju (statistične značilne razlike pri $p < 0,05$). Obravnavanja, ki se med seboj statistično razlikujejo, so označena z različnimi črkami.

4 REZULTATI

4.1 DOLŽINA, ŠIRINA IN KOLORIMETRIČNI PARAMETRI VENIH LISTOV

4.1.1 Breskev

Pri sorti 'Maria Marta' je bila povprečna dolžina venih listov popka 9,4 mm, širina pa 7,2 mm (preglednica 2, priloga A1). Povprečna dolžina in širina venih listov popkov pri sorti 'Norman' je bila statistično večja, to je 15,2 mm in 11,6 mm. Tako je bilo tudi pri odprtih cvetovih. Pri sorti 'Norman' so bili venih listi povprečno daljši (18,4 mm) in širši (14,4 mm) kot pri sorti 'Maria Marta' (povprečna dolžina 12,4 mm, širina 9,4 mm).

Preglednica 2: Povprečna dolžina (mm) in širina (mm) venih listov cvetov ± standardna napaka pri sortah breskve 'Maria Marta' in 'Norman' glede na fazo odprtosti cveta. Različne rke označujejo statistično značilne razlike med obravnavanji ($p < 0,05$), $n = 16$

Faza	Sorta	Dolžina (mm)	Širina (mm)
Popok	'Maria Marta'	9,4 ± 1,5 b	7,2 ± 0,3 b
	'Norman'	15,2 ± 0,4 a	11,6 ± 0,1 a
Odprt	'Maria Marta'	12,4 ± 1,1 b	9,4 ± 0,2 b
	'Norman'	18,4 ± 0,4 a	14,4 ± 0,3 a

Pri sorti 'Maria Marta' so bili venih listi odprtih cvetov statistično bolj rdeče obarvani od venih listov v popku: parameter a^* je bil pri odprtih cvetovih v povprečju večji (24,2) kot pri popkih (18,8) (preglednica 3, priloga A2). Pri parametru b^* ni bilo statističnih razlik med obravnavanji. Glede na vrednost parametra L^* so bili odprti cvetovi sorte 'Maria Marta' statistično značilno svetlejši (50,4) kot popki (25,6). Pri parametru h° pa so bili popki statistično bolj rumeni (22,8) kot odprti cvetovi (5,6).

Kot pri 'Maria Marta' so bili tudi pri sorti breskve 'Norman', glede na parameter a^* , venih listi odprtih cvetov bolj rdeči (16,8) glede na venih liste v popku (11,8). Za razliko od sorte 'Maria Marta' so bile pri sorti 'Norman' statistične razlike med obravnavanji pri parametru b^* : venih listi odprtih cvetov so bili bolj modre barve (-3,6) kot venih listi v popku (2,3). Tako je statistična razlika med obravnavanjema pri sorti 'Norman' tudi pri parametru h° : venih listi odprtih cvetov so bili statistično značilno bolj modre barve (347,3) kot popki (13,6). Statistične razlike so bile tudi pri parametru L^* : venih listi popkov so bili svetlejšje barve (62,3) kot venih listi odprtih cvetov (58,5).

Preglednica 3: Vrednost kolorimetričnih parametrov venih listov ± standardna napaka glede na fazo odprtosti cveta pri sortah breskve 'Maria Marta' in 'Norman'. Različne rke označujejo statistično značilne razlike med obravnavanji ($p < 0,05$), $n = 16$

Faza	Sorta	a^*	b^*	L^*	h°
Popok	'Maria Marta'	18,8 ± 1,2 a	-2,8 ± 3,1 a	25,6 ± 1,8 b	22,8 ± 3,5 a
	'Norman'	11,8 ± 0,6 b	2,3 ± 0,5 a	62,3 ± 0,7 a	13,6 ± 2,3 b
Odprt	'Maria Marta'	24,2 ± 0,8 a	2,8 ± 0,4 a	50,4 ± 0,7 b	5,6 ± 0,8 b
	'Norman'	16,8 ± 1,3 b	-3,6 ± 0,3 b	58,5 ± 1,4 a	347,3 ± 1,5 a

Med sortama breskev so bile statisti ne razlike pri parametru a^* (preglednica 3). Ven ni listi sorte 'Maria Marta' so bili pri obeh obravnavanjih bolj rde i od ven nih listov sorte 'Norman'. Tudi pri parametru b^* so se pojavile statisti ne razlike med sortama, vendar le pri fazi odprtih cvetov. Sorta 'Norman' je imela bolj modre cvetove (-3,6) kot sorta 'Maria Marta', pri kateri so bili cvetovi bolj rumeni (2,8).

Tudi pri parametrih L^* in h° so bile med sortama statisti ne razlike (preglednica 3). Sorta 'Norman' je imela pri obeh fazah odprtosti cvetov ven ne liste svetlejše kot sorta 'Maria Marta'. Glede na parameter h° so bili ven ni listi popkov sorte 'Maria Marta' bolj rumeni kot pri sorti 'Norman'. Pri odprtih cvetovih so bili ven ni listi sorte 'Norman' bolj modri kot pri sorti 'Maria Marta', katere ven ni listi so bili bolj rde i.

4.1.2 Hruška

Ven ni listi cvetov hruške sorte 'Abate Fetel' so bili v fazi popka v povpre ju dolgi 13,9 mm in povpre no 10,5 mm široki. V fazi odprtih cvetov so bili ven ni listi povpre no 16,8 mm dolgi in 12,0 mm široki (preglednica 4).

Glede na parametre a^* , b^* in h° ni bilo statisti nih razlik v barvi petalov med posameznima fazama odprtosti cvetov (preglednica 4). So pa bili ven ni listi popka statisti no svetlejši kot ven ni listi odprtega cveta (povpre na vrednost parametra L^* je bila pri prvih 73,2, pri drugih pa 69,3).

Preglednica 4: Povpre na dolžina (mm) in širina (mm) ven nih listov \pm standardna napaka ter vrednosti kolorimetri nih parametrov v dveh fazah odprtosti cveta pri hruški sorte 'Abate Fetel'. Razli ne rke ozna ujejo statisti no zna ilne razlike med obravnavanji ($p < 0,05$), $n = 16$

Parametri	Faza	Vrednosti
Dolžina (mm)	popkek	$13,9 \pm 0,2$ b
	odprt	$16,8 \pm 0,4$ a
Širina (mm)	popkek	$10,5 \pm 0,2$ b
	odprt	$12,0 \pm 0,3$ a
a^*	popkek	$2,6 \pm 0,3$ a
	odprt	$1,8 \pm 0,4$ a
b^*	popkek	$5,0 \pm 0,5$ a
	odprt	$5,9 \pm 0,8$ a
L^*	popkek	$73,2 \pm 0,6$ a
	odprt	$69,3 \pm 0,6$ b
h°	popkek	$64,9 \pm 3,4$ a
	odprt	$58,1 \pm 6,2$ a

4.1.3 Jablana

Pri sorti jablane 'Zlati delišes' so bili ven ni listi v fazi popka v povpre ju 15,2 mm dolgi in 10,3 mm široki (priloga B1, preglednica 5). V fazi odprtih cvetov so bili ven ni listi dolgi povpre no 20,2 mm in široki 13,6 mm.

Pri kolorimetri nih parametrih so bile statisti ne razlike med obravnavanjema pri parametrih a^* , L^* in h° (priloga B2, preglednica 6). Pri parametru b^* ni bilo statisti nih razlik med obravnavanjema. Vrednosti parametra a^* so bile v povpre ju ve je pri ven nih listih iz faze popka (povpre no 26,9). Ven ni listi v popku so bili torej bolj rde e obarvani kot ven ni listi odprtih cvetov, kjer je bil parameter a^* manjši (povpre no 5,9).

Ven ni listi popkov so bili temnejši kot ven ni listi odprtih cvetov. Parameter L^* je bil pri popkih manjši (povpre no 48,3) kot pri odprtih cvetovih (62,3). Vrednost parametra h° je bila pri ven nih listih odprtih cvetov ve ja kot pri ven nih listih iz popka (povpre na vrednost 42,6 pri odprtih in 11,6 pri popkih). To pomeni, da so bili ven ni listi odprtih cvetov pri sorti 'Zlati delišes' bolj rumeni kot ven ni listi v popku. Ti so bili glede na vrednost h° bolj rde e obarvani.

Pri sorti jablane 'Red Elstar' je bila izmerjena povpre na dolžina ven nih listov v fazi popka 15,6 mm in širina 10,6 mm. Pri odprtih cvetovih je bila povpre na izmerjena dolžina ven nih listov 18,9 mm in širina 13,0 mm (priloga B1, preglednica 5).

Sorta 'Red Elstar' je bila edina sorta jablane, pri kateri so bile med obravnavanjema statisti no zna ilne razlike pri vseh merjenih kolorimetri nih parametrih. Tako kot pri sorti 'Zlati delišes' so bili ven ni listi v popku sorte 'Red Elstar' statisti no zna ilno bolj rde e obarvani kot ven ni listi odprtih cvetov. Pri ven nih listih iz popka je bila povpre na vrednost parametra a^* 23,7, pri ven nih listih odprtih cvetov pa 6,9. Glede na parameter b^* so bili ven ni listi odprtih cvetov bolj modro obarvani (povpre na vrednost 3,7) kot ven ni listi popkov (povpre na vrednost 5,8). Tudi pri sorti 'Red Elstar' so imeli ven ni listi odprtih cvetov ve ji parameter L^* (62,6), kar pomeni, da so bili svetlejši od ven ni listov iz popka (vrednost L^* pri popku 46,5). Tudi parameter h° kaže na to, da so ven ni listi v popku bolj rde e obarvani od ven nih listov v odprtih cvetovih, saj je vrednost tega parametra pri popku manjša (povpre no 9,0) kot pri odprtih cvetovih (povpre no 24,7), kar nakazuje na bolj rumeno obarvanost.

Povpre na dolžina ven nih listov popkov pri sorti 'Topaz' je bila 15,2 mm, širina pa 9,8 mm. Ven ni listi odprtih cvetov so bili daljši (povpre na vrednost 19,1 mm) in širši (11,7 mm).

Statisti no zna ilne razlike med obravnavanjema glede barvnih parametrov pri sorti 'Topaz' so se pojavile le pri parametru a^* . Ven ni listi popkov so bili statisti no bolj rde e obarvani kot ven ni listi odprtih cvetov, saj je bila povpre na vrednost a^* pri popkih ve ja (13,9) kot pri odprtih cvetovih (8,1). Pri parametrih b^* , L^* in h° ni bilo statisti no zna ilnih razlik med ven nimi listi iz popkov in iz odprtih cvetov.

Sorta jablane 'Maypole' je imela ven ne liste popkov povpre no dolge 16,3 mm in široke povpre no 11,0 mm. Pri odprtih cvetovih so bili ven ni listi dolgi 21,1 mm in 13,8 mm široki. Pri kolorimetri nih parametrih ni bilo statisti no zna ilnih razlik med ven nimi listi popkov in odprtih cvetov.

Pri primerjavi dolžine ven nih listov sort jablane (preglednica 5) se je izkazalo, da med vrstami ni statisti no zna ilnih razlik pri popkih. Pri odprtih cvetovih pa je imela sorta

'Maypole' statistično najdaljše ven ne liste. Statistično najbolj široke ven ne liste pri popku je imela sorta 'Maypole'. Najožji so bili ven ni listi popkov sorte 'Topaz'. Ta sorta je imela tudi pri odprtih cvetovih najožje ven ne liste.

Preglednica 5: Povprečna dolžina (mm) in širina (mm) venih listov ± standardna napaka različnih sort jablane glede na fazo odprtosti cveta. Različne rdečke označujejo statistično značilne razlike med obravnavanji ($p < 0,05$), $n = 16$

Faza	Sorta	Dolžina (mm)	Širina (mm)
Popok	'Zlati delišes'	15,2 ± 0,5 a	10,3 ± 0,3 bc
	'Red Elstar'	15,6 ± 0,3 a	10,6 ± 0,2 ab
	'Topaz'	15,2 ± 0,5 a	9,8 ± 0,3 c
	'Maypole'	16,3 ± 0,4 a	11,0 ± 0,2 a
Odprt	'Zlati delišes'	20,2 ± 0,5 ab	13,6 ± 0,3 a
	'Red Elstar'	18,9 ± 0,4 b	13,0 ± 0,3 ab
	'Topaz'	19,1 ± 0,6 b	11,7 ± 0,4 b
	'Maypole'	21,1 ± 0,5 a	13,8 ± 0,3 a

Pri primerjavi parametra a^* so se med sortami pokazale statistične razlike (preglednica 6). Najbolj rdeče obarvani so bili ven ni listi sorte 'Maypole', tako v fazi popka, kot v fazi odprtih cvetov. Sorte 'Zlati delišes' in 'Red Elstar' se pri vrednostih parametra a^* nista razlikovali med seboj. Sorta 'Topaz' se je po vrednosti parametra a^* pri venih listih popkov statistično razlikovala od ostalih sort. Imela je najmanj rdeče obarvane popke. Pri odprtih cvetovih sorte 'Topaz' pa se vrednosti parametra a^* niso razlikovale od sort 'Zlati delišes' in 'Red Elstar'.

Preglednica 6: Vrednosti kolorimetričnih parametrov venih listov ± standardna napaka različnih sort jablane glede na fazo odprtosti cveta. Različne rdečke označujejo statistično značilne razlike med obravnavanji ($p < 0,05$), $n = 16$

Faza	Sorta	a^*	b^*	L^*	h^*
Popok	'Zlati delišes'	26,9 ± 2,2 b	7,6 ± 1,1 a	48,3 ± 2,3 b	11,6 ± 1,4 a
	'Red Elstar'	23,7 ± 1,9 b	5,8 ± 0,7 ab	46,5 ± 1,8 b	9,0 ± 1,0 a
	'Topaz'	13,9 ± 1,8 c	1,7 ± 0,3 b	60,6 ± 1,9 a	10,3 ± 1,7 a
	'Maypole'	36,2 ± 1,3 a	4,5 ± 0,7 ab	36,5 ± 1,4 c	9,3 ± 0,9 a
Odprt	'Zlati delišes'	5,9 ± 0,8 b	5,7 ± 0,9 a	62,3 ± 1,1 a	42,6 ± 4,3 a
	'Red Elstar'	6,9 ± 1,2 b	3,7 ± 0,5 ab	62,6 ± 1,6 a	24,7 ± 5,8 ab
	'Topaz'	8,1 ± 1,5 b	1,6 ± 0,3 b	64,5 ± 1,2 a	9,4 ± 1,9 b
	'Maypole'	32,5 ± 1,5 a	5,9 ± 0,6 a	32,8 ± 1,7 b	9,0 ± 0,6 b

Pri parametru b^* je tako pri fazi odprtih cvetov kot pri popkih najbolj izstopala sorta 'Topaz' (preglednica 6). Pri obeh obravnavanjih je imela sorta najmanjše vrednosti parametra b^* , kar pomeni najbolj modro obarvane ven ne liste.

Tudi pri svetlosti venih listov (parameter L^*) so se pojavile statistične razlike med obravnavanji (preglednica 6). Statistično najsvetlejši ven ne liste v fazi popka je imela sorta 'Topaz'. Ven ni listi popkov sort 'Zlati delišes' in 'Red Elstar' se med seboj niso statistično razlikovali po svetlosti. Najtemnejši so bili ven ni listi popkov sorte 'Maypole'. Ta sorta je imela najtemnejše ven ne liste tudi ko so se cvetovi odprli. Ostale sorte se po svetlosti venih listov odprtih cvetov niso značilno razlikovale med seboj.

Pri venjih listih v fazi popkov med sortami jablan ni bilo razlik v vrednosti parametra h° . Pri odprtih cvetovih sta imele najmanjše vrednosti parametra h° sorti 'Maypole' in 'Topaz' (bolj rdeče obarvani venji listi), največje pa sorta 'Zlati delišes'.

4.2 VSEBNOST SUHE SNOVI

Vsebnost suhe snovi v venjih listih smo izmerili pri sorti hruške 'Abate Fetel' in sortah jablane 'Zlati delišes', 'Red Elstar', 'Topaz' in 'Maypole'. Rezultati so v prilogi C.

Pri sorti hruške 'Abate Fetel' smo ugotovili statistično značilne razlike v vsebnosti suhe snovi glede na fazo cvetov (priloga C1). V venjih listih odprtih cvetov je bila povprečna vsebnost suhe snovi manjša (9,4 %) kot pri venjih listih popkov (11,5 %).

Pri posameznih sortah jablane ni bilo statističnih razlik v vsebnosti suhe snovi med venjimi listi popkov in venjimi listi odprtih cvetov (priloga C2).

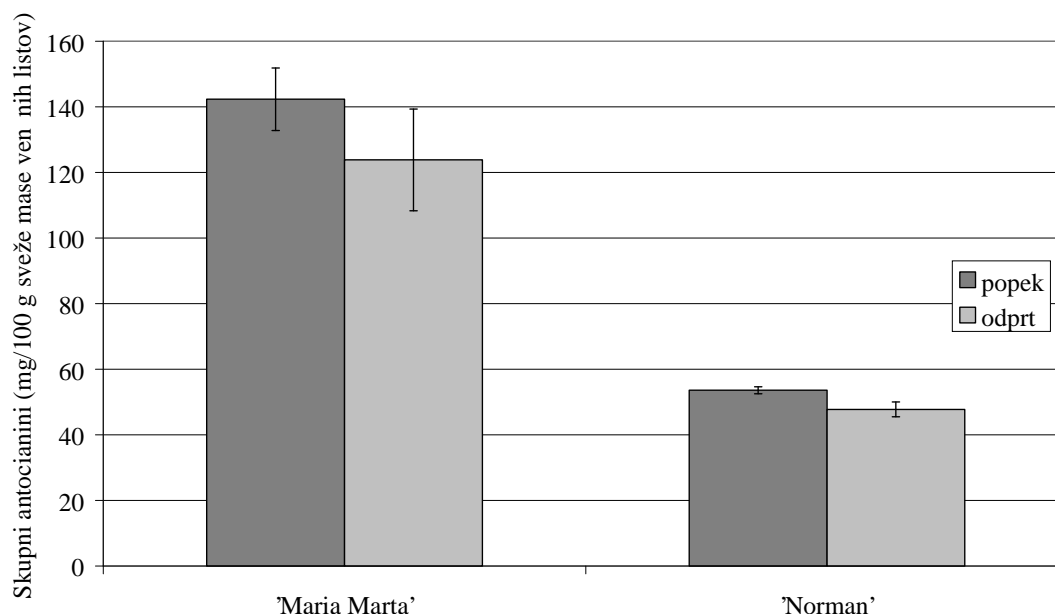
4.3 VSEBNOST ANTOCIANINOV

4.3.1 Breskeve

Pri sortah breskve 'Maria Marta' in 'Norman' so bili identificirani naslednji antocijanini: cianidin-3-galaktozid, cianidin-3-glukozid, cianidin-3-rutinozid, cianidin-3-ramnozid, peonidin-3-glukozid in pelargonidin-3-glukozid. Vsebnost cianidinov in pelargonidina je izražena v mg ekvivalenta cianidin-3-glukozida /100 g sveže mase venjih listov, peonidin pa v mg ekvivalenta peonidin-3-glukozida /100 g sveže mase venjih listov.

Pri sorti 'Maria Marta' so se med obravnavanema statistično razlikovali vsebnosti cianidin-3-rutinozida, cianidin-3-ramnozida in pelargonidin-3-glukozida ter peonidin-3-glukozida (priloga D1, preglednica 7). Pri prej naštetih antocijaninih je bila povprečna vsebnost v venjih listih odprtih cvetov statistično manjša kot pri venjih listih popkov. Venji listi popkov in odprtih cvetov se glede povprečne vsebnosti cianidin-3-galaktozida in cianidin-3-glukozida niso statistično razlikovali.

Pri sorti 'Norman' so bile med obravnavanema ugotovljene statistične razlike v povprečni vsebnosti cianidin-3-galaktozida, cianidin-3-rutinozida in cianidin-3-ramnozida. Tako kot pri sorti 'Maria Marta', so bile povprečne vsebnosti cianidin-3-ramnozida in cianidin-3-rutinozida v venjih listih popkov sorte 'Norman' večje kot v venjih listih odprtih cvetov. Povprečna vsebnost cianidin-3-galaktozida pa je bila v venjih listih popkov manjša kot pri odprtih cvetovih. Pri antocijaninih cianidin-3-glukozid, pelargonidin-3-glukozid in peonidin-3-glukozid se povprečna vsebnost v venjih listih sorte 'Norman' ni statistično razlikovala med fazami odprtosti cveta.



Slika 4: Vsebnost skupnih antocianinov (mg /100 g sveže mase) v venih listih pri sortah breskve 'Maria Marta' in 'Norman' v dveh fazah odprtosti cvetov

Povprečna vsebnost skupnih antocianinov se pri obeh sortah breskev med venimi listi popka in odprtih cvetov ni statistično razlikovala (slika 4). Pri obeh sortah in obravnavanjih so bile najvišje vsebnosti cianidin-3-glukozida.

Ob primerjavi venih listov popkov sort breskev 'Maria Marta' in 'Norman' smo ugotovili statistične razlike v povprečni vsebnosti cianidin-3-galaktozida, cianidin-3-glukozida ter cianidin-3-rutinozida (preglednica 7). Skladno s tem je tudi povprečna vsebnost skupnih antocianinov v venih listih popkov sorte 'Maria Marta' statistično višja kot pri sorti 'Norman'. Pri povprečni vsebnosti cianidin-3-ramnozida, peonidin-3-glukozida in pelargonidin-3-glukozida se popki obeh sort statistično ne razlikujejo.

Preglednica 7: Primerjava vsebnosti posameznih antocianinov v venih listih \pm standardna napaka različnih sort breskev glede na fazo odprtosti cveta. Različne črke označujejo statistično značilne razlike med obravnavanji ($p < 0,05$), $n = 5$

Faza	Sorta	Cy-gal	Cy-glu	Cy-rut	Cy-rham	Pel-glu	Peo-glu
Popok	'Maria Marta'	2,08 \pm 0,33 a	84,13 \pm 6,18 a	41,04 \pm 2,35 a	10,45 \pm 0,60 a	1,74 \pm 0,09 a	2,86 \pm 0,18 a
	'Norman'	1,23 \pm 0,42 b	28,90 \pm 1,54 b	6,25 \pm 0,24 b	9,16 \pm 0,42 a	2,11 \pm 0,17 a	3,49 \pm 0,26 a
Odprt	'Maria Marta'	2,20 \pm 0,095 a	82,80 \pm 10,48 a	27,38 \pm 3,06 a	6,35 \pm 0,60 a	1,28 \pm 0,08 a	1,86 \pm 0,14 b
	'Norman'	3,22 \pm 0,65 a	29,62 \pm 2,65 b	5,10 \pm 0,32 b	5,34 \pm 0,22 a	1,59 \pm 0,18 a	2,89 \pm 0,35 a

Cy-gal (cianidin-3-galaktozid), Cy-glu (cianidin-3-glukozid), Cy-rut (cianidin-3-rutinozid), Cy-rham (cianidin-3-ramnozid) in Pel-glu (pelargonidin-3-glukozid) izraženi v mg ekv. Cy-glu / 100 g sveže mase venih listov. Peonidin-glukozid (Peo-glu) izražen v mg ekv. Peo-glu / 100 g sveže mase venih listov

Tako kot pri venenih listih popkov je tudi pri venenih listih odprtih cvetov povprečna vsebnost skupnih antocijaninov pri sorti 'Maria Marta' večja kot pri sorti 'Norman'. Statistične razlike v povprečni vsebnosti antocijaninov v venenih listih odprtih cvetov so pri cianidin-3-glukozidu, cianidin-3-rutinozidu ter peonidin-3-glukozidu. Vsebnost slednjega je pri sorti 'Norman' večja kot pri sorti 'Maria Marta', medtem ko je pri drugih dveh antocijaninih vsebnost pri sorti 'Maria Marta' statistično večja. Glede vsebnosti cianidin-3-galaktozida, cianidin-3-ramnozida in pelargonidin-3-glukozida se veneni listi odprtih cvetov pri sortah 'Maria Marta' in 'Norman' statistično ne razlikujejo.

4.3.2 Hruška

Pri sorti hruške 'Abate Fetel' je bil najden le en antocijanin, in sicer cianidin-3-galaktozid. Njegova vsebnost v venenih listih popka in odprtih cvetov se ni značilno razlikovala (preglednica 8).

Preglednica 8: Vsebnosti cianidin-3-galaktozida (mg ekv. Cy-glu/100 g sveže mase) ± standardna napaka pri sorti hruške 'Abate Fetel' med posameznimi fazami odprtosti cveta. Različne oznake označujejo statistično značilne razlike med obravnavanji ($p < 0,05$), $n = 5$

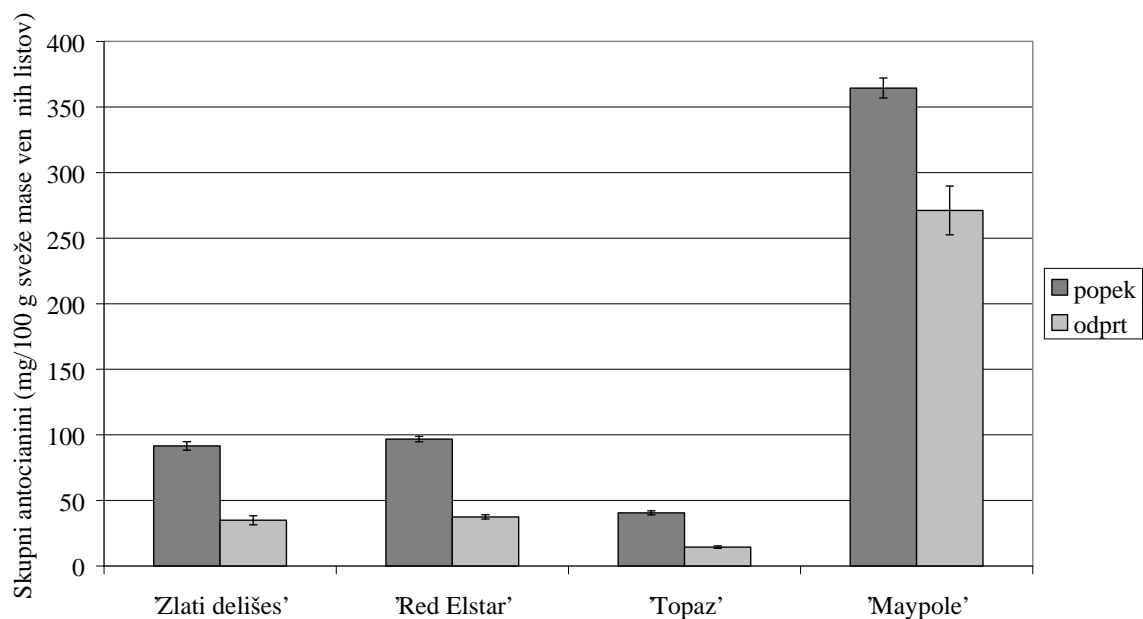
Sorta	Faza	Cy-gal
'Abate Fetel'	popok	$0,47 \pm 0,14$ a
	odprt	$0,34 \pm 0,07$ a

4.3.3 Jablana

Pri sortah jablane so bili v venenih listih določeni naslednji antocijanini: cianidin-3-arabinozid, cianidin-3-galaktozid, cianidin-3-glikozid in cianidin-3-ksilozid. Vsi so izraženi v mg ekvivalentnih cianidin-3-glukozida/100 g sveže mase venenih listov.

Pri vseh sortah jablane v poskusu je bila povprečna vsebnost posameznih določenih antocijaninov v venenih listih odprtih cvetov statistično manjša kot pri venenih listih popkov (priloga D2). Skladno s tem je bila tudi vsebnost skupnih antocijaninov v venenih listih odprtih cvetov značilno manjša kot pri venenih listih popkov (slika 5).

Pri primerjavi vsebnosti antocijaninov pri posameznem obravnavanju so bile med sortami jablan ugotovljene razlike (preglednica 9). Sorta 'Maypole' je imela pri obeh obravnavanjih največjo vsebnost tako posameznih kot skupnih antocijaninov v primerjavi z ostalimi sortami. Sorta s statistično najmanjšo vsebnostjo posameznih antocijaninov v venenih listih popkov je bila sorta 'Topaz'. Sorti 'Red Elstar' in 'Zlati delišes' se v vsebnosti antocijaninov v venenih listih popkov nista razlikovali.



Slika 5: Vsebnost skupnih antocijaninov (mg /100 g sveže mase) v venjih listih cvetov pri sortah jabolane 'Zlati delišes', 'Red Elstar', 'Topaz' in 'Maypole' v dveh fazah odprtosti cvetov

Pri vsebnosti posameznih antocijaninov v venjih listih odprtih cvetov med sortami 'Zlati delišes', 'Red Elstar' in 'Topaz' ni bilo statističnih razlik; enako tudi pri vsebnosti skupnih antocijaninov v venjih listih odprtih cvetov.

Preglednica 9: Vsebnosti posameznih antocijaninov v venjih listih \pm standardna napaka različnih sort jabolane glede na fazo odprtosti cveta. Različne črke označujejo statistično značilne razlike med obravnavanji ($p < 0,05$), $n = 5$

Faza	Sorta	Cy-ara	Cy-gal	Cy-gly	Cy-xyl
Popek	'Zlati delišes'	1,80 \pm 0,06 b	81,61 \pm 2,55 b	6,84 \pm 0,72 b	1,36 \pm 0,04 b
	'Red Elstar'	1,19 \pm 0,04 b	84,56 \pm 1,90 b	6,45 \pm 0,38 b	3,54 \pm 0,06 b
	'Topaz'	0,87 \pm 0,04 c	35,33 \pm 1,38 c	2,57 \pm 0,17 c	1,74 \pm 0,07 c
	'Maypole'	7,70 \pm 0,40 a	268,87 \pm 5,43 a	37,09 \pm 1,35 a	47,73 \pm 1,78 a
Odprt	'Zlati delišes'	0,72 \pm 0,07 b	31,26 \pm 3,07 b	2,21 \pm 0,22 b	0,71 \pm 0,07 b
	'Red Elstar'	0,76 \pm 0,04 b	32,59 \pm 1,39 b	2,55 \pm 0,18 b	1,55 \pm 0,06 b
	'Topaz'	0,51 \pm 0,10 b	11,73 \pm 0,61 b	1,26 \pm 0,21 b	0,91 \pm 0,10 b
	'Maypole'	4,68 \pm 0,62 a	210,93 \pm 14,77 a	24,13 \pm 1,65 a	27,49 \pm 3,66 a

Cy-ara (cianidin-3-arabinozid), Cy-gal (cianidin-3-galaktozid), Cy-gly (cianidin-3-glikozid) in Cy-xyl (cianidin-ksilozid) izraženi v mg ekv. Cy-glu / 100 g sveže mase venjih listov

5 RAZPRAVA

Namen našega poskusa je bil ovrednotiti kolorimetrične parametre venih listov treh sadnih vrst in določiti, katere in koliko antocianov ti veni listi vsebujejo. Pri izbranih sadnih vrstah doslej o tem še ni bilo podatkov. Zanimalo nas je tudi, kako se parametri in vsebnost antocianov spreminja med razvojem cvetov, zato smo vzorci ali cvetove v dveh fazah: v fazi popka in v fazi odprtega cveta.

Pri breskvi smo vzorci ali veni liste dveh sort: 'Maria Marta' in 'Norman'. Sorta 'Norman' je imela značilno daljše in širše veni liste, kar je bilo pri akovano, saj ima rožast tip cvetov, sorta 'Maria Marta' pa zvonastega (veni listi so nekoliko zakrneli).

Pri obeh sortah breskev smo med fazama razvoja cvetov ugotovili značilne razlike pri kolorimetričnih parametrih a^* , L^* in h° . Pri sorti 'Maria Marta' nismo ugotovili značilnih razlik med popki in odprtimi cvetovi pri parametru b^* , medtem ko so pri sorti 'Norman' razlike bile pri vseh parametrih.

Pri obeh sortah breskev so bile vrednosti parametra a^* večje pri odprtih cvetovih. Odprti cvetovi so bili torej bolj rdeči kot popki. To kažejo tudi vrednosti h° , ki se je pri odprtih cvetovih značilno zmanjšala (od oranžnih do bolj rdečih in vijoličnih odtenkov). Glede na to, da rdeče barve ne vidijo dobro (Harborne in Williams, 2000; Miller in sod., 2011), bi lahko rekli, da so odprti cvetovi pravzaprav za njih manj privlačni. Seveda tega ne moremo trditi, saj se opraševalci za cvetove odločajo tudi na podlagi drugih zaznav (Miller in sod., 2011). Odprti cvetovi sorte 'Maria Marta' so bili svetlejši kot popki (vrednost L^* se je povečala), pri sorti 'Norman' pa je bilo ravno obratno, popki so bili svetlejši. Zanimivo je, da se je pri sorti 'Maria Marta' parameter a^* v odprtih cvetovih povečal (cvetovi so bili bolj rdeči), hkrati pa so bili veni listi odprtih cvetov tudi bolj svetli. Pri vrtnicah, ki jih uvrščamo v isto družino kot breskev, jablano in hruško (družina rožnic – Rosaceae), so Schmitzer in sod. (2009, 2010) ugotovili drugačno povezavo: skladno s povečanjem parametra a^* se je parameter L^* zmanjšal (cvetovi so bili temnejši).

Sorta 'Maria Marta' je imela v primerjavi s sorto 'Norman' bolj rdeče obarvane veni liste v obeh fazah (večji parameter a^*), skladno s tem pa so bili tudi temnejši (parameter L^* je bil manjši). To lahko povežemo z vsebnostjo skupnih antocianinov, ki je bila pri sorti 'Maria Marta' značilno večja kot pri sorti 'Norman'. Povezavo med parametrom a^* in skupnimi antocianini so pri cvetovih potonik ugotavljali Jia in sodelavci (2008) in ugotovili za roza sorte pozitivno povezavo, za škrlatne sorte pa negativno povezavo. Prav tako so ugotovili negativno povezavo med kolorimetričnim parametrom L^* in vsebnostjo skupnih antocianinov. Schmitzer in sod. (2010) so med parametrom a^* in vsebnostjo skupnih antocianinov ugotovili zelo dobro pozitivno povezavo pri rdečih in rožnatih cvetovih vrtnicah.

Pri obeh sortah breskev smo s HPLC-MS metodo določili šest različnih antocianinov: cianidin-3-galaktosid, cianidin-3-glukozid, cianidin-3-rutinosid, cianidin-3-ramnosid, pelargonidin-3-glukozid in peonidin-3-glukozid. Pri obeh sortah je bil v največji meri zastopan cianidin-3-glukozid.

Kljub značilnim razlikam v vrednosti kolorimetričnih parametrov a^* , h° in L^* venilih listov popkov in odprtih cvetov pri obeh sortah breskev, se vsebnost skupnih antocianinov med fazami pri posamezni sorti ni razlikovala.

Prejšnje razlike pa so bile v vsebnosti skupnih antocianinov med sortama. Sorta 'Maria Marta' je imela tako v popkih kot v odprtih cvetovih statistično značilno večjo vsebnost kot sorta 'Norman'. Razlike v vsebnosti pa se niso pojavile pri vseh antocianinih. Glavne razlike so bile pri popkih v vsebnosti cianidin-3-glukozida, cianidin-3-rutinozida in cianidin-3-galaktozida. Pri vseh je bila vsebnost pri sorti 'Maria Marta' večja. Pri odprtih cvetovih pa je bila razlika v vsebnosti cianidin-3-glukozida in cianidin-3-rutinozida, ki ga je bilo več pri sorti 'Maria Marta', ter peonidin-3-glukozida. Slednjega je bilo več v venilih listih odprtih cvetov sorte 'Norman'. Zanimivo je, da se je vsebnost cianidin-3-galaktozida pri sorti 'Norman' z odpiranjem cvetov statistično značilno povečala.

Pri sorti hruške 'Abate Fetel' smo določili ali samo en antocianin, in sicer cianidin-3-galaktozid. Vsebnost v popkih in odprtih cvetovih se ni statistično razlikovala. Prav tako niso bile ugotovljene statistične razlike pri kolorimetričnih parametrih a^* , b^* in h° . Statistična razlika je bila edino pri parametru L^* . V nasprotju s pričakovanju so bili venilih listi odprtih cvetov statistično značilno temnejši. Pri hruški smo izmerili tudi vsebnost suhe snovi v venilih listih. Venilih listi popkov in odprtih cvetov so se statistično razlikovali: v odprtih cvetovih je bila vsebnost suhe snovi značilno manjša kot pri popkih.

Pri sortah jablane smo tudi izmerili suho snov, vendar pri sortah ni bilo značilnih razlik med fazami razvoja cveta. Določili smo štiri antocianine: cianidin-3-arabinozid, cianidin-3-galaktozid, cianidin-3-glikozid in cianidin-3-ksilozid. Cianidin-3-galaktozid je bil pri vseh sortah jablan zastopan v največji količini. Je tudi antocianin, ki smo ga določili ali pri vseh treh vrstah v poskusu.

Po vsebnosti antocianinov je najbolj izstopala sorta 'Maypole'. Vsebnost skupnih antocianinov je bila pri tej sorti največja tako pri venilih listih popkov kot odprtih cvetov. Popki in odprti cvetovi te sorte so bili najtemnejši (najmanjša vrednost parametra L^*) in so imeli najbolj rdeče venilih liste (največja vrednost parametra a^*) v primerjavi z ostalimi sortami jablan.

Pri vseh sortah jablan se je vsebnost skupnih antocianinov z odpiranjem cvetov zmanjševala. Pri sortah 'Zlata delišes', 'Red Elstar' in 'Topaz' lahko skladno s tem opazimo tudi zmanjšanje parametra a^* (odprti cvetovi so bili bolj zeleni kot popki), pri sortah 'Zlata delišes' in 'Red Elstar' pa lahko ugotovimo tudi večjo vrednost parametra L^* (odprti cvetovi so bili svetlejši). Podobno zvezo so pri vrtnicah ugotovili Schmitzer in sod. (2010). Pri sorti 'Topaz' kljub zmanjšanju vsebnosti skupnih antocianinov ni zaznati sprememb pri ostalih kolorimetričnih parametrih (b^* , L^* in h°), pri sorti 'Maypole' pa med različnimi odprtimi cvetovi ni statistično značilnih razlik v vrednosti kolorimetričnih parametrov.

6 SKLEPI

Glavni namen raziskave je bil ugotoviti, katere in koliko antocianov najdemo v venih listih treh sadnih vrst: breskev (sorti 'Maria Marta' in 'Norman'), hruška (sorta 'Abate Fetel') in jabolana (sorte 'Zlati Delišeš', 'Red Elstar', 'Topaz' in 'Maypole'). Zanimalo nas je tudi, kako se vsebnost antocianinov spreminja med razvojem cvetov iz popkov v odprte cvetove. Podatke smo dopolnili tudi z meritvami kolorimetričnih parametrov a^* , b^* , L^* in h° . V literaturi doslej za izbrane sadne vrste in sorte o preučevanih lastnostih še ni bilo podatkov.

Ugotovili smo, da se venih listih izbranih vrst sadnega drevja med seboj razlikujejo glede na to kakšen tip antocianinov vsebujejo. Pri obeh sortah breskev smo v venih listih popkov in odprtih cvetov ugotovili šest antocianinov, pri sortah jabolane štiri, pri sorti hruške pa le en antocianin. Barva venih listov sort breskev temelji tako na derivatih cianidina kot pelargonidina in peonidina, medtem ko barva venih listov izbranih sort jabolane in hruške temelji le na derivatih cianidina.

Pri vseh izbranih sortah jabolane je količina posameznih (s tem pa tudi skupnih) antocianinov povezana z razvojno fazo cvetov. Pri venih listih odprtih cvetov je bila vsebnost posameznih in skupnih antocianinov značilno manjša kot pri venih listih popkov.

Pri sortah breskve so se med fazama odprtosti cvetov pojavile razlike le pri nekaterih antocianinih, vsebnost skupnih antocianinov pa se med venih listih popkov in odprtih cvetov pri posamezni sorti ni razlikovala. Tudi pri venih listih hruške ni bilo razlike v vsebnosti antocianina med fazama odprtosti cvetov.

Kolorimetrične meritve so pri namiznih sortah jabolane ('Zlati delišeš', 'Red Elstar' in 'Topaz') pokazale, da so venih listih popkov bolj rdeči in obarvani kot venih listih odprtih cvetov in so tudi temnejši. Pri sorti jabolane 'Maypole' in sorti hruške med razvojem cvetov ni prišlo do statistično značilne spremembe barve. Pri obeh sortah breskve so se za bolj rdeče in obarvane izkazali venih listih odprtih cvetov.

Sorta jabolane 'Topaz' je imela najsvetlejšo venih listo, ki so imeli najmanjšo vsebnostjo skupnih antocianinov, medtem ko je imela sorta jabolane 'Maypole' najtemnejšo venih listo, vsebnost skupnih antocianinov pa je bila največja.

Povezanost kolorimetričnih parametrov in vsebnost antocianinov se je pri sortah breskev težje razbralo kot pri sortah jabolane, verjetno zaradi tega, ker temeljijo antocianini breskev na treh različnih tipih antocianidinov.

V nadaljnjih raziskavah bi bilo potrebno vključiti tudi meritve pH vrednosti, saj je barva antocianinov odvisna tudi od kislosti/bazičnosti vakuole. Poleg tega je lahko barva venih listov odvisna tudi od drugih barvil (fenoli, karotenoidi), katerih vsebnost bi bilo zanimivo preučiti.

Nadaljnje raziskave bi lahko razvijali v dveh smereh. Z drugačnim načinom vzorčenja in močnejšo statistično analizo bi se lahko bolj osredotočili na povezavo med vsebnostjo posameznih antocianinov in kolorimetričnimi parametri. Po drugi strani pa bi lahko raziskavo nadaljevali v smeri ekološkega pomena barve v povezavi z opraševalci.

7 POVZETEK

Antocijani so najbolj zastopana barvila v venih listih žužkocvetk. V poskusu smo proučili vsebnost antocijaninov in barvo venih listov treh sadnih vrst med razvojem cveta. V poskus smo vključili sorte breskve 'Maria Marta' in 'Norman', sorte hruške 'Abate Fetel' in sorte jabolane 'Zlati delišes', 'Red Elstar', 'Topaz' in 'Maypole'.

Vsebnost antocijanov (v obliki antocijaninov) in kolorimetrične parametre smo določili v dveh fazah razvoja cveta (popki, odprti cvet). Za določanje vsebnosti antocijaninov s tekoinsko kromatografijo visoke ločljivosti smo pripravili po pet vzorcev za vsako fazo razvoja. Kvalitativno določanje antocijaninov je potekalo z masnim spektrometrom. Pri vsaki fazi smo izmerili tudi kolorimetrične parametre a^* , b^* , L^* in h° na zunanjem delu venih listov. Ponovitev je bilo šestnajst.

Pri breskvah smo v venih listih določili naslednje antocijanine: cianidin-3-galaktozid, cianidin-3-glukozid, cianidin-3-rutinozid in cianidin-3-ramnozid ter peonidin-3-glukozid in pelargonidin-3-glukozid. Sorte breskve 'Maria Marta' je imela večjo vsebnost skupnih antocijaninov kot sorta 'Norman'. Vsebnost skupnih antocijaninov se pri sortah breskev med razvojem cveta ni značilno spreminjala.

Pri hruški smo določili le cianidin-3-galaktozid. Njegova vsebnost se v popkih in odprtih cvetovih ni statistično razlikovala. Tudi pri barvnih parametrih a^* , b^* in h° ni bilo statističnih razlik med fazama. Popki so se izkazali za značilno svetlejši od odprtih cvetov.

Pri jabolani so bili najdeni štiri antocijanini: cianidin-3-arabinozid, cianidin-3-galaktozid, cianidin-3-glikozid in cianidin-3-ksilozid. Vsebnost skupnih antocijaninov je bila pri vseh sortah jabolane pri odprtih cvetovi značilno manjša kot v popkih.

S starostjo se je spreminjala tudi barva. Skladno z zmanjšanjem skupnih antocijaninov se je zmanjšala tudi vrednost parametra a^* pri sortah 'Zlati delišes', 'Red Elstar' in 'Topaz'. Pri sorti 'Maypole' z razvojem cvetov ni prišlo do statistično značilne spremembe barve. Ta sorta je imela tudi največjo vsebnost skupnih antocijaninov in je imela najtemnejše venne liste (najmanjša vrednost parametra L^*). Sorte 'Topaz' pa je imela najsvetlejši popki pa tudi najmanjšo vsebnost skupnih antocijaninov.

V poskusu smo kvalitativno in kvantitativno določili vsebnost antocijaninov pri izbranih sadnih vrstah in sortah. V nadaljnjih raziskavah bi bilo potrebno vključiti tudi meritve pH celičnega soka, saj kislost/bazičnost vpliva na izražanje barve antocijaninov. Zanimivo bi raziskati tudi vsebnost drugih barvil (fenolov, karotenoidov) v venih listih teh vrst in sort. Magistrska naloga je lahko temelj za nadaljnja preučevanja povezanosti vsebnosti antocijaninov in kolorimetričnih parametrov ter ekološkega pomena barve cvetov sadnega drevja.

8 VIRI

- Byamukama R., Jordheim M., Kiremire B., Namukobe J., Andersen Ø.M. 2006. Anthocyanins from flowers of *Hippeastrum* cultivars. *Scientia Horticulturae*, 109, 3: 262-266
- CIELAB. 2012. Technical guides. Adobe Systems Incorporated.
http://dba.med.sc.edu/price/irf/Adobe_tg/models/cielab.html (9. avg. 2012)
- Columnar apple tree - Maypole variety. 2012. Patentgenius.
<http://www.patentgenius.com/patent/PP6184.html> (9. avg. 2012)
- Cooper-Driver G. A. 2000. Contributions of Jeffrey Harborne and co-workers to the study of anthocyanins. *Phytochemistry*, 56, 3: 229-236
- Croteau R., Kutchan T. M., Lewis N. G. 2009. Natural products (Secondary metabolites). V: *Biochemistry & molecular biology of plants*. Buchanan B. B., Grissem W., Jones R. L. (ed.). Rockville, American Society of Plant Physiologists: 1250-1315
- Davies K. M. 2004. An introduction to plant pigments in biology and commerce. V: *Plant pigments and their manipulation*. Davies K. M. (ed.). Oxford, Blackwell Publishing (Annual Plant Reviews, 14): 1 - 22
- Dong Y.-H., Beuning L., Davies K., Mitra D., Morris B., Kootstra A. 1998. Expression of pigmentation genes and photo-regulation of anthocyanin biosynthesis in developing Royal Gala apple flowers. *Australian Journal of Plant Physiology* 25, 2: 245–252
- Forkmann G. 1991. Flavonoids as flower pigments: the formation of the natural spectrum and its extension by genetic engineering. *Plant Breeding*, 106, 1: 1-26
- Fossen T., Slimestad R., Anderson Ø. M. 2003. Anthocyanins with 4'-glucosidation from red onion, *Allium cepa*. *Phytochemistry*, 64, 8: 1367 - 1374
- Garzón G.A., Wrolstad R.E. 2009. Major anthocyanins and antioxidant activity of *Nasturtium* flowers (*Tropaeolum majus*). *Food Chemistry*, 114, 1: 44-49
- Harborne J.B., Smith D.M. 1978. Correlations between anthocyanin chemistry and pollination ecology in the polemoniaceae. *Biochemical Systematics and Ecology*, 6, 2:127-130
- Harborne J. B., Williams C. A. 2000. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55, 6: 481-504
- Jia N., Shu Q.-Y., Wang L.-S., Du H., Xu Y.-J., Liu Z.-A. 2008. Analysis of petal anthocyanins to investigate coloration mechanism in herbaceous peony cultivars. *Scientia Horticulturae*, 117, 2: 167-173

- Katori M., Watanabe K., Nomura K., Yoneda K. 2002. Cultivar differences in anthocyanin and carotenoid pigments in the petals of the flowering lotus (*Nelumbo* spp.). *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 71,6: 812-817
- Kevan P., Giurfa M., Chittka L. 1996. Why are so many and so few white flowers? Trends in plant science perspectives. 1, 8: 280-284
- Kong J.-M., Chia L.-S., Goh N.-K., Chia T.-F., Brouillard R.. 2003. Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, 64, 5: 923-933
- Lancaster J. E., Lister C. E., Reay P. F., Triggs C. M. 1997. Influence of pigment composition on skin color in a wide range of fruit and vegetables. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 122, 4: 594 - 598
- Larcher W. 1995. *Physiological plant ecology: ecophysiology and stress physiology of functional groups*. 3rd edition. Berlin, Springer: 506 str.
- Marks S. C., Mullen W., Crozier A. 2007. Flavonoid and chlorogenic acid profiles of English cider apples. *Journal of the science of food and agriculture*. 87, 4: 719-728
- Miller R., Owens S. J., Rorslet B. 2011. *Plants and colour: flowers and pollinators*. *Optics & Laser technology*, 43: 282-294
- Mol J., Grotewold E., Koes R. 1998. How genes paint flowers and seeds. *Trends in plant science*, 3, 6: 212-217
- Nielsen A.H., Olsen C. E., Møller B.L. 2005. Flavonoids in flowers of 16 *Kalanchoë blossfeldiana* varieties. *Phytochemistry*, 66, 24: 2829-2835
- Noda K.-I., Glover B. J., Linstead P., Martin C. 1994. Flower colour intensity depends on specialized cell shape controlled by Myb-related transcription factor. *Nature*, 369, 6482: 661-664
- Petroni K., Tonelli C. 2011. Recent advances on the regulation of anthocyanin synthesis in reproductive organs. *Plant Science*, 181: 219-229
- Rosati C., Cadic A., Duron M., Amiot M.-J., Tacchini M., Martens S., Forkmann G. 1998. Flavonoid metabolism in *Forsythia* flowers. *Plant Science*, 139, 2: 133-140
- Saito N., Harborne J. B. 1992. Correlations between anthocyanin type, pollinator and flower colour in the labiatae. *Phytochemistry*, 31, 9, 3009-3015
- Schmitzer V., Veberič R., Osterc G., Štampar F. 2010. Color and phenolic compound changes during flower development in groundcover rose. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 135: 195-202

- Schmitzer V., Veberič R., Osterc G., Štampar F. 2009. Changes in the phenolic concentration during flower development of rose 'KORcrisett'. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 134: 491-496
- Schoefs B. 2005. Plant pigments: properties, analysis, degradation. *Advances in Food and Nutrition Research*, Academic Press, 49: 41-91
- Schwinn K. E., Davies K. M. 2004. Flavonoids. V: Plant pigments and their manipulation. Davies K.M. (ed.). Oxford, Blackwell Publishing (*Annual plant reviews*, 14): 92 - 149
- Štampar F., Lešnik M., Veberič R., Solar A., Koron D., Usenik V., Hudina M., Osterc G. 2005. *Sadjarstvo*. Ljubljana, Kmetički glas: 416 str.
- Štefan M. 2012. Barvni geslovnik. Ljubljana, Graficar - Delo d.d.
http://www.graficar.si/index.php?option=com_content&task=view&id=18&Itemid=46 (8. avg. 2012)
- Taiz L., Zaiger E. 2006. *Plant physiology*. 4th edition. USA, Sunderland (Massachusetts), Sinauer Associates: 690 str.
- Torskangerpoll K., Fossen T., Andersen Ø. M. 1999. Anthocyanin pigments of tulips. *Phytochemistry*, 52, 8: 1687-1692
- Torskangerpoll K., Nørbæk R., Nodland E., Øvstedal D.O., Andersen Ø. M. 2005. Anthocyanin content of *Tulipa* species and cultivars and its impact on tepal colours. *Biochemical Systematics and Ecology*, 33, 5: 499-510
- Whitney H. M., Chittka L., Bruce T. J. A., Glover B. J. 2009. Conical epidermal cells allow bees to grip flowers and increase foraging efficiency. *Current Biology*, 19, 11: 948-953
- Wilbert S. M., Schemske D. W., Bradshaw H.D. Jr. 1997. Floral anthocyanins from two monkeyflower species with different pollinators. *Biochemical Systematics and Ecology*, 25, 5: 437-443

ZAHVALA

Hvala mentorju prof. dr. Franci ŠTAMPARJU in dr. Valentini SCHMITZER.

Hvala tudi vsem drugim, ki ste na kakršen koli način pripomogli k nastanku tega magistrskega dela.

PRILOGE

Priloga A

Dolžina, širina in kolorimetrični parametri pri sortah breskve

PRILOGA A1: Povprečna dolžina (mm) in širina (mm) ven njih listov \pm standardna napaka v dveh fazah odprtosti cvetov pri sortah breskve 'Maria Marta' in 'Norman'. Različne rke označujejo statistično značilne razlike med obravnavanji ($p < 0,05$), $n = 16$

Sorta	Faza	Dolžina (mm)	Širina (mm)
'Maria Marta'	popek	$9,4 \pm 1,5$ b	$7,2 \pm 0,3$ b
	odprt	$12,4 \pm 1,1$ a	$9,4 \pm 0,2$ a
'Norman'	popek	$15,2 \pm 0,4$ b	$11,6 \pm 0,1$ b
	odprt	$18,4 \pm 0,4$ a	$14,4 \pm 0,3$ a

PRILOGA A2: Vrednosti kolorimetričnih parametrov ven njih listov \pm standardna napaka v dveh fazah odprtosti cveta pri sortah breskev 'Maria Marta' in 'Norman'. Različne rke označujejo statistično značilne razlike med obravnavanji ($p < 0,05$), $n = 16$

Sorta	Faza	a^*	b^*	L^*	h°
'Maria Marta'	popek	$18,8 \pm 1,2$ b	$-2,8 \pm 3,1$ a	$25,6 \pm 1,8$ b	$22,8 \pm 3,5$ a
	odprt	$24,2 \pm 0,8$ a	$2,8 \pm 0,4$ a	$50,4 \pm 0,7$ a	$5,6 \pm 0,8$ b
'Norman'	popek	$11,8 \pm 0,6$ b	$2,3 \pm 0,5$ a	$62,3 \pm 0,7$ a	$13,6 \pm 2,3$ b
	odprt	$16,8 \pm 1,3$ a	$-3,6 \pm 0,3$ b	$58,5 \pm 1,4$ b	$347,3 \pm 1,5$ a

Priloga B

Dolžina, širina in kolorimetrični parametri pri sortah jablane

PRILOGA B1: Povprečna dolžina (mm) in širina (mm) ven njih listov ± standardna napaka glede na fazo odprtosti cvetov pri posameznih sortah jablane. Različne rke označujejo statistično značilne razlike med obravnavanji ($p < 0,05$), $n = 16$

Sorta	Faza	Dolžina (mm)	Širina (mm)
'Zlati delišes'	popek	15,2 ± 0,5 b	10,3 ± 0,3 b
	odprt	20,2 ± 0,5 a	13,6 ± 0,3 a
'Red Elstar'	popek	15,6 ± 0,3 b	10,6 ± 0,2 b
	odprt	18,9 ± 0,4 a	13,0 ± 0,3 a
'Topaz'	popek	15,2 ± 0,5 b	9,8 ± 0,3 b
	odprt	19,1 ± 0,6 a	11,7 ± 0,4 a
'Maypole'	popek	16,3 ± 0,4 b	11,0 ± 0,2 b
	odprt	21,1 ± 0,5 a	13,8 ± 0,3 a

PRILOGA B2: Vrednosti kolorimetričnih parametrov ven njih listov ± standardna napaka glede na fazo odprtosti cvetov pri posameznih sortah jablane. Različne rke označujejo statistično značilne razlike med obravnavanji ($p < 0,05$), $n = 16$

Sorta	Faza	a^*	b^*	L^*	h^*
'Zlati delišes'	popek	26,9 ± 2,2 a	7,6 ± 1,1 a	48,3 ± 2,3 b	11,6 ± 1,4 b
	odprt	5,9 ± 0,8 b	5,7 ± 0,9 a	62,3 ± 1,1 a	42,6 ± 4,3 a
'Red Elstar'	popek	23,7 ± 1,9 a	5,8 ± 0,7 a	46,5 ± 1,8 b	9,0 ± 1,0 b
	odprt	6,9 ± 1,2 b	3,7 ± 0,5 b	62,6 ± 1,6 a	24,7 ± 5,8 a
'Topaz'	popek	13,9 ± 1,8 a	1,7 ± 0,3 a	60,6 ± 1,9 a	10,7 ± 1,7 a
	odprt	8,1 ± 1,5 b	1,6 ± 0,3 a	64,5 ± 1,2 a	9,4 ± 1,9 a
'Maypole'	popek	36,2 ± 1,3 a	4,5 ± 0,7 a	36,5 ± 1,4 a	9,3 ± 0,9 a
	odprt	32,5 ± 1,5 a	5,9 ± 0,6 a	32,8 ± 1,7 a	9,0 ± 0,6 a

Priloga C

Vsebnost suhe snovi v venenih listih sorte hruške in sort jablane

PRILOGA C1: Vsebnost suhe snovi (%) v venenih listih \pm standardna napaka sorte hruške 'Abate Fetel'. Različne reke označujejo statistično značilne razlike med obravnavanji ($p < 0,05$), $n = 5$

Sorta	Faza	Vsebnost suhe snovi (%)
'Abate Fetel'	popek	11,50 \pm 0,06 b
	odprt	9,39 \pm 0,51 a

PRILOGA C2: Vsebnost suhe snovi (%) v venenih listih \pm standardna napaka sort jablane. Enake reke pomenijo, da med obravnavanji pri posamezni sorti ni bilo statističnih razlik ($p < 0,05$), $n = 5$

Sorta	Faza	Vsebnost suhe snovi (%)
'Zlati delišes'	popek	9,68 \pm 0,61 a
	odprt	9,20 \pm 0,51 a
'Red Elstar'	popek	11,57 \pm 0,49 a
	odprt	11,18 \pm 0,25 a
'Topaz'	popek	9,79 \pm 0,53 a
	odprt	9,32 \pm 0,69 a
'Maypole'	popek	8,39 \pm 0,77 a
	odprt	8,00 \pm 0,40 a

Priloga D

Vsebnost antocianov pri sortah breskve in jabolane

PRILOGA D1: Vsebnosti posameznih antocianinov v venih listih med dvema fazama odprtosti cvetov ± standardna napaka pri posameznih sortah breskve. Različne rke označujejo statistično značilne razlike med obravnavanji ($p < 0,05$), $n = 5$

Sorta	Faza	Cy-gal	Cy-glu	Cy-rut	Cy-rham	Pel-glu	Peo-glu
‘Maria Marta’	popok	2,08 ± 0,33 a	84,13 ± 6,18 a	41,04 ± 2,35 a	10,45 ± 0,60 a	1,74 ± 0,09 a	2,86 ± 0,18 a
	odprt	2,20 ± 0,095 a	82,80 ± 10,48 a	27,38 ± 3,06 b	6,35 ± 0,60 b	1,28 ± 0,08 b	1,86 ± 0,14 b
‘Norman’	popok	1,23 ± 0,42 b	28,90 ± 1,54 a	6,25 ± 0,24 a	9,16 ± 0,42 a	2,11 ± 0,17 a	3,49 ± 0,26 a
	odprt	3,22 ± 0,65 a	29,62 ± 2,65 a	5,10 ± 0,32 b	5,34 ± 0,22 b	1,59 ± 0,18 a	2,89 ± 0,35 a

Cy-gal (cianidin-3-galaktozid), Cy-glu (cianidin-3-glukozid), Cy-rut (cianidin-3-rutinozid), Cy-rham (cianidin-3-ramnozid) in Pel-glu (pelargonidin-3-glukozid) izraženi v mg ekv. Cy-glu / 100 g sveže mase venih listov. Peonidin-glukozid (Peo-glu) izražen v mg ekv. Peo-glu / 100 g sveže mase venih listov

PRILOGA D2: Vsebnosti posameznih antocianinov v venih listih ± standardna napaka glede na fazo odprtosti cveta pri posameznih sortah jabolane. Različne rke označujejo statistično značilne razlike med obravnavanji ($p < 0,05$), $n = 5$

Sorta	Faza	Cy-ara	Cy-gal	Cy-gly	Cy-xyl
‘Zlati delišes’	popok	1,80 ± 0,06 a	81,61 ± 2,55 a	6,84 ± 0,72 a	1,36 ± 0,04 a
	odprt	0,72 ± 0,07 b	31,26 ± 3,07 b	2,21 ± 0,22 b	0,71 ± 0,07 b
‘Red Elstar’	popok	1,91 ± 0,04 a	84,56 ± 1,90 a	6,45 ± 0,38 a	3,54 ± 0,06 a
	odprt	0,76 ± 0,04 b	32,59 ± 1,39 b	2,55 ± 0,18 b	1,55 ± 0,06 b
‘Topaz’	popok	0,87 ± 0,04 a	35,33 ± 1,38 a	2,57 ± 0,17 a	1,74 ± 0,07 a
	odprt	0,51 ± 0,10 b	11,73 ± 0,61 b	1,26 ± 0,21 b	0,91 ± 0,10 b
‘Maypole’	odprt	7,70 ± 0,40 a	268,87 ± 5,43 a	37,09 ± 1,35 a	47,73 ± 1,78 a
	odprt	4,68 ± 0,62 b	210,93 ± 14,77 b	24,13 ± 1,65 b	27,49 ± 3,66 b

Cy-ara (cianidin-3-arabinozid), Cy-gal (cianidin-3-galaktozid), Cy-gly (cianidin-3-glikozid) in Cy-xyl (cianidin-3-ksilozid) izraženi v mg ekv. Cy-glu / 100 g sveže mase

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Vlasta CUNJA

**DOLO ANJE ANTOCIANOV V VEN NIH LISTIH
CVETOV RAZLI NIH VRST SADNEGA DREVJA**

MAGISTRSKO DELO

Magistrski študijski program – 2. stopnja

Ljubljana, 2012