

# Utjecaj porasta temperature na pokazatelje stresa u listovima jabuke

---

Majtan, Maja

Master's thesis / Diplomski rad

2023

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:*

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek /  
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:192183>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-25**



Sveučilište Josipa Jurja  
Strossmayera u Osijeku

**Fakultet  
agrobiotehničkih  
znanosti Osijek**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Agrobiotechnical  
Sciences Osijek - Repository of the Faculty of  
Agrobiotechnical Sciences Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Maja Majtan

Diplomski sveučilišni studij Bilinogojstvo

Smjer Ishrana bilja i tloznanstvo

**UTJECAJ PORASTA TEMPERATURE NA POKAZATELJE  
STRESA U LISTOVIMA JABUKE**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2023.**

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Maja Majtan

Diplomski sveučilišni studij Bilinogojstvo

Smjer Ishrana bilja i tloznanstvo

**UTJECAJ PORASTA TEMPERATURE NA POKAZATELJE  
STRESA U LISTOVIMA JABUKE**

**Diplomski rad**

Stručno povjerenstvo za obranu

1. prof.dr.sc. Tihana Teklić, predsjednik
2. prof.dr.sc Miroslav Lisjak, mentor
3. prof.dr.sc. Tomislav Vinković, član

**Osijek, 2023.**

# SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. PREGLED LITERATURE.....	4
3. MATERIJALI I METODE.....	9
3.1. Određivanje sadržaja kloroplastnih pigmenata .....	10
3.2. Određivanje ukupnih fenola .....	10
3.3. Određivanje sadržaja prolina.....	11
3.4. Određivanje sadržaja flavonoida.....	12
3.5. Određivanje ukupne antioksidativne aktivnosti .....	13
3.6. Statistička obrada podataka.....	13
4. REZULTATI .....	14
4.1. Sadržaj kloroplastnih pigmenata u listovima jabuke .....	14
4.2. Sadržaj prolina, fenola, flavonoida i antioksidativna aktivnost u listovima jabuke. .....	21
5. RASPRAVA .....	30
6. ZAKLJUČAK.....	36
7. POPIS LITERATURE.....	37
8. SAŽETAK .....	43
9. SUMMARY .....	44
10. POPIS TABLICA .....	45
11. POPIS SLIKA.....	46
12. POPIS GRAFIKONA .....	47
TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA	
BASIC DOCUMENTATION CARD	

## 1. UVOD

Jabuka je jedna od važnijih drvenastih kultura čiji je plod, ovisno o vrsti, zelene, žute ili crvene boje, slatkastog okusa i sastoji se od dvije do pet plodnica koje se nalaze u mesnatom omotaču. Pripada porodici Rosaceae, vrste *Malus domestica* Borkh. (Korban i Skirvin, 1984.).



Slika 1. Plod jabuke

Izvor: <https://www.google.com/search>

Jabuke su se pojavile još u prapovijesno doba, a danas diljem svijeta raste veliki broj različitih sorata. Prema podacima postoji više od 7500 sorti jabuka (Dobranzski i sur., 2006.). Najviše im odgovara umjerena, tropska i suptropska klima, sjeverno i južno od 35 stupnjeva geografske širine (Palmer i sur., 2003.). Vodeći svjetski proizvođač jabuka je Iran, koji proizvede preko 2,5 milijuna tona godišnje (FAO, 2007.).

Stablo jabuke ovisno o vrsti, uvjetima i području u kojem se nalazi može izrasti od 2 do 12 metara, s time da su najviša stabla divljih jabuka. Listovi su većinom srcolikog oblika i zelene boje a cvjetovi cvatu u proljeće i bijelo ružičaste su boje, dok plodovi sazrijevaju u kasno ljeto ili ranu jesen.

Danas se jabuke najčešće koriste u prehrambenoj ali i u farmaceutskoj industriji, pošto posjeduju ljekovita svojstva.

Jabuka ima vrlo složeni kemijski sastav te dobra nutritivna svojstva. Najveći udio ploda je voda, oko 82 %, suha tvar između 15-19 %, a od šećera najzastupljeniji su fruktoza, tj. voćni šećer i glukoza s udjelom između 9-16 % mase jabuke te ostale organske i mineralne tvari. Biološki značajne tvari u jabuci su vitamini koji imaju antioksidativna djelovanja. Najznačajniji je vitamin C koji se nalazi u svim dijelovima ploda, dok su od drugih tvari značajno zastupljene aminokiseline, tanini, karoteni i ostalo (Cassano i sur., 2003.).

Plod jabuke u tržište i prehrambenu industriju najčešće dolazi u svježem obliku ali se i prerađuje u sokove, džemove, marmelade. Od sekundarnih prerađevina poznat je i jabučni ocat koji se dobiva vrenjem jabuka a poznat je po blagotvornom djelovanju na organizam pošto sadrži velike količine kalija i ostalih korisnih spojeva sintetiziranih tijekom procesa fermentacije.

Kora sadrži antocijane koji daju crvenu boju i imaju protuupalno djelovanje na organizam. Također plod sadrži i taninsku kiselinu koja pozitivno djeluje na metabolizam masti kroz sprječavanje njihovog nakupljanja u jetri.

Fizikalna svojstva jabuke kao što su veličina ploda, gustoća, boja, masa ploda i sl., također su bitna komercijalna svojstva ploda jabuke u ocjenjivanju njezine kvalitete. Fizikalna svojstva ploda ponajviše ovise o klimatskim uvjetima uzgojnog područja. Mehanička svojstva poput tvrdoće i čvrstoće također određuju kvalitetu ploda (Vursavus i sur., 2006.) te su vrlo važna kod berbe, pakiranja i transporta.

Pri zasnivanju nasada jabuka bitno je voditi brigu o gustoći nasada odnosno razmaka između stabala zbog širenja korijenja u tlu a u kasnijim fazama je bitno obrezivanje te zaštita od štetnika i bolesti biljaka. Bolesti koje nastaju i štetočine koje napadaju biljke većinom su specifične za svako područje i klimatske uvjete u kojima se nasad uzgaja.

Jedna od poznatijih bolesti na jabuka je krastavost (*Venturia inaequalis*) koja napada listove i plodove jabuka, pojavljuju se smeđe mrlje koje kasnije uzrokuju odumiranje plodova i dijelova koje je bolest zahvatila. Pojavljuje se u svim klimatskim uvjetima, dok je najčešća u kišnom razdoblju. Uzrokuje velike štete i treba ju kemijski tretirati kako bi se šteta spriječila. Prvo sredstvo za suzbijanje krastavosti jabuka bila je bordoška juha koja se sastojala od vode, bakrenog sulfata i hidratiziranog vapna i koristila se dugi niz godina. Nakon toga počinje se koristiti vapneni sumpor. U današnje vrijeme ima više vrsta fungicida koji su manje štetni za okoliš, a učinkoviti za sprječavanje bolesti, neki od njih su i selektivni fungicidi (Köller, 1999.).

Pri zasnivanju nasada i uzgoju jabuka bitno je voditi brigu jesu li uvjeti u kojima će se zasnivati trajni nasad pogodni za njih, odnosno da li je dostatna količina i raspored oborina na uzgojnom području, pojavljuju li se učestala sušna razdoblja, koje su prosječne te minimalne i maksimalne temperature, da li se pojavljuju kasni mrazovi a štetni se učinak može izbjeći i pravilnim odabirom uzgojnog sortimenta.

Cilj ovog diplomskog rada je istražiti fiziološki odgovor lista 33 sorte jabuke uzgajane u različitim mikroklimatskim uvjetima na lokalitetima Osijek i Donja Zelina, na visoku temperaturu i sušu tijekom ljetnog razdoblja. U svrhu određivanja fiziološkog odgovora analiziran je sadržaj klorofila, prolina, fenola, flavonoida i ukupna antioksidativna aktivnost u listu.

## 2. PREGLED LITERATURE

Biljke su osjetljive na velike promjene klimatskih uvjeta poput velikih vrućina ili hladnoće, nedostatka vode ili prevelike količine vode i sl. Iako su svi navedeni činitelji važni za rast i razvoj, njihova velika oscilacija izaziva stanje stresa u biljkama (Boyer, 2004.). Kako bi biljke preživjele nepovoljne uvjete okoline moraju biti prilagodljive kroz promjenu fizioloških reakcija, a tu važnu ulogu imaju biljni hormoni (Wolters i Jurgens, 2009.; Wani i sur., 2016.). Biljni hormoni tj. fitohormoni se nalaze u malim količinama u biljkama i svaki hormon ima određenu ulogu u ublažavanju abiotičkog stresa koji djeluje na biljku (Wani i sur., 2016.). Neki fitohormoni su apscizinska kiselina, etilen, auksini, brasinosteroidi, salicilna kiselina i dr. (Kim i sur., 2016.).

Kod visokih temperatura i suše u području s polusuhom klimom u jabukama dolazi do abiotičkog stresa i promjena na biokemijskoj i fiziološkoj razini, što se očituje kroz morfološke i histološke promjene na plodovima jabuke, koje nastaju djelovanjem sunca, tj. fotooksidativnim i toplinskim stresom. Biljka gubi vodu, povećava se količina šećera što rezultira promjenom boje ploda koji postaje smeđi (Torres i sur., 2017.). Dolazi do nakupljanja kompatibilnih osmolita nakon što je biljka bila izložena visokoj temperaturi te se pojačava regulacija antioksidativnog sustava, sinteza i nakupljanje karotenoida i fenilpropanoida (Chen i sur., 2019.; Felicetti i Schrader, 2008.; Yuri i sur., 2022.; Tartachnyk i sur., 2012.).

Dugotrajni nedostatak pristupačne vode u tlu još je jedan od razloga pojave abiotičkog stresa u biljkama. Kada u tlu nedostaje voda mijenja se fotosintetska aktivnost biljaka, što djeluje i na fluorescenciju klorofila. Fluorescencija je povratno zračenje svjetlosti za vrijeme dana, koja je dobar pokazatelj stresa izazvanog nedostatkom vode.

Song i sur. (1997.) su istraživali fluorescenciju klorofila u listovima jabuke u uvjetima jake sunčeve svjetlosti i pri visokim temperaturama (između 38 °C i 46 °C) i kod voćki koje su bile zasjenjene te pri nižoj temperaturi od 35 °C. Listovi jabuka koje su bile zasjenjene nisu pokazali promjene u fluorescenciji, dok su jabuke koje su bile izložene visokim temperaturama imale znatno povećanu fluorescenciju klorofila. Pri visokim temperaturama i jakom osvjetljenju fotosinteza nije stabilna te se pod utjecajem energije fotona, ekscitirani elektroni upućuju u druge fotodinamičke procese koji su štetni pošto izazivaju oksidaciju molekula u sklopu fotosustava (Schrader i sur., 2006.).



Toplinsko zračenje zagrijava površinu lista i temperatura lista je puno veća od temperature njegove okoline (Kalcsits i sur., 2017.). Posljedično, toplinski stres negativno utječe na enzime koji sudjeluju u procesima fotosinteze. Prvi korak fotosinteze je enzim RuBisCO koji je odgovoran za fiksaciju ugljičnog dioksida, a u uvjetima toplinskog stresa, karboksilazna aktivnost tog enzima je deaktivirana (Salvucci i Crafts- Brandner, 2004.). Također, dolazi do značajne promjene omjera fotosinteze i fotorespiracije. Kako je enzim RuBisCO glavni enzim u tamnoj fazi fotosinteze, pokreće se njegova oksigenazna aktivnost i proces fotorespiracije, kojim se na enzim veže kisik umjesto ugljičnog dioksida, što rezultira razgradnjom organske tvari čime se smanjuje učinkovitost fotosinteze (Sharkey, 2015.).

Isto tako, pri velikoj radijaciji čija se energija ne može u potpunosti iskoristiti u procesu fotosinteze dolazi do procesa koji se naziva fotoinhibicija, tj. dolazi do prezasićenja fotosintetskog aparata što se često događa kod mladih listova koji nisu u potpunosti razvijeni (Taiz i Zeiger, 2002.; Steyn i sur., 2002.).

Nedostatak pristupačne i fiziološki aktivne vode, također je vrlo česti problem koji se javlja u poljoprivrednoj proizvodnji, naročito u aridnim predjelima. Osmotski stres najčešće uzrokuje nedostatak vode, tj. suša, a može se javiti i uslijed povišenog saliniteta ili previsokih temperatura (Zhu i sur., 2016.).

Tako je istraživanjem na listovima jabuka sorte Jonathan, utvrđeno da se u uvjetima osmotskog stresa u listovima uzrokovanog nedostatkom vode, povećava sadržaj fruktoze, glukoze i sorbitola, dok se sadržaj škroba i saharoze smanjuje (Hasio, 1973.; Morgan, 1984.; Turner, 1986.). Zbog toga dolazi do velikih gubitaka u proizvodnji jabuka u sušnim područjima. Sušni stres djeluje na nakupljanje šećera, rast stanice, asimilaciju ugljičnog dioksida (Robinson i sur., 2011.), te potiče sintezu abscizinske kiseline (Cornish i Zeevaart, 1984.). U takvim uvjetima biljke se moraju prilagoditi na osmotski stres, tj. uvjete suše. Jedna od ekofizioloških morfoloških prilagodbi je i smanjenje veličine listova odnosno transpiracijske površine s ciljem smanjenja gubitka vode. Metabolizam biljaka u uvjetima stresa reguliran je u pravcu akumulacije topive suhe tvari (Landsberg i Jones, 1981.; Morgan, 1984.) te je jedna od glavnih strategija povećanja osmotskog tlaka u listovima i korijenju povećanje koncentracije topivih šećera (Turner i sur., 1978.).

U stablima jabuka glavna komponenta odgovorna za prilagodbu biljke na osmotski stres je ugljikohidrat sorbitol (Bialeski, 1969.; Hansen i Grauslund, 1978.). Sintetizira se u

razvijenim i većim listovima uslijed čega se povećava osmotski potencijal stanica lista čime se biljka prilagođava na manjak vode, a sorbitol se također može transportirati u mlado lišće (Bialeski i Redgwell, 1985.). Na taj način održava se unutarnji tlak u stanicama i smanjuje negativan učinak nedostatka vode (Morgan 1984; Jones i sur. 1985.).

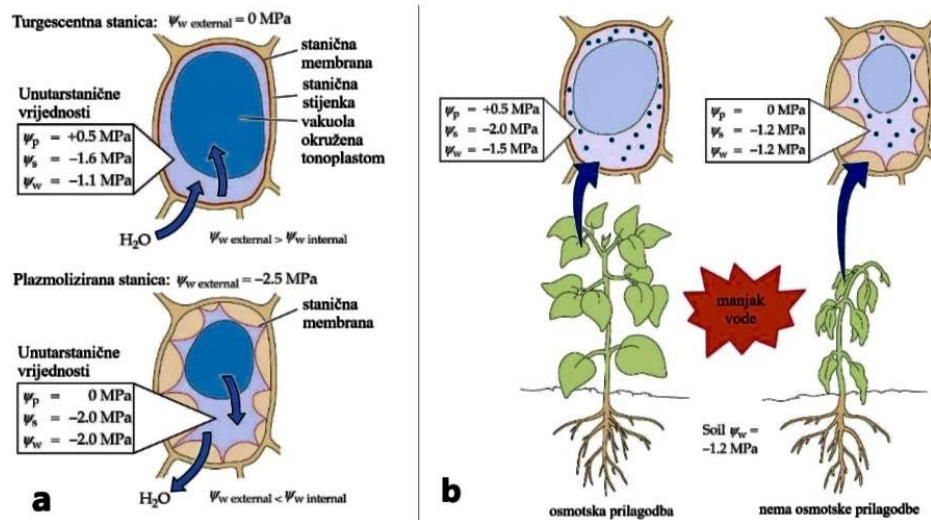
Pošto plod sadrži velike količine vode, naglim smanjenjem ili povećanjem sadržaja vode mijenjaju se i svojstva ploda. Kada nema dovoljno vode u plodu stanice usporavaju rast te se plod ne može normalno razvijati. Pri prevelikoj količini vode dolazi do smanjenja udjela šećera te plod mijenja svoja senzorska svojstva, čime gubi na kvaliteti što predstavlja direktni gubitak za proizvođače (Coombe, 1988.).

Kod dozrijevanja plodova jabuke dolazi do razgradnje pigmenata pod utjecajem svjetlosti te dolazi do promjene u omjerima klorofila i karotenoida. Kod zelenih, mladih plodova dolazi do potpune razgradnje klorofila, dok su žuti plodovi zbog zastupljenosti karotenoida, otporniji na negativne utjecaje sunčevog zračenja.

Nedostatak vode i povišene temperature povećavaju stvaranje slobodnih kisikovih radikala koji utječu na metabolizam biljke, što rezultira povećanjem sinteze topivih ugljikohidrata i aminokiselina poput prolina (Hanson i Hitz, 1982; Chaves, 2003.). Sadržaj i omjeri pigmenata u listovima su pouzdani pokazatelji stresa (Darrall i Jager, 1984.). U uvjetima oksidativnog stresa povećava se sadržaj karotenoida i aminokiselina koji imaju zaštitnu ulogu u fotosintetskom aparatu (Šircelj i sur., 2005.).

Prolin je aminokiselina koja se ubraja u nepolarne alifatske aminokiseline i ima značajnu ulogu u odgovoru na abiotske uzročnike stresa (Kemble i Macpherson, 1954.). Kada je biljka izložena određenom osmotskom i solnom stresu dolazi do akumulacije prolina koji djeluje kao kompatibilni osmolit.

U sušnim uvjetima potencijal vode u tlu se smanjuje te se voda kreće od sustava s višim vodenim potencijalom prema nižem, što onemogućuje ulazak vode u stanicu ili dolazi do dehidracije biljke, a akumulacija slobodnog prolina može smanjiti negativne učinke stresa. Prolin djeluje kao kompatibilni osmolit, tj. omogućuje biljci da prima vodu i da voda ostaje unutar biljne stanice, što se naziva osmotska prilagodba stanice. Sintezom, transportom i akumulacijom prolina i ostalih kompatibilnih osmolita u različitim biljnim stanicama različitih organa, snižava se potencijal vode što omogućuje pojačano usvajanje vode unatoč nedostatku u tlu (Chen i Jiang, 2010.).



Uloga kompatibilnih osmolita u osmotskoj prilagodbi stanice - a) plazmoliza stanice uzrokovana promjenom vodnog potencijala tla u odnosu na vodni potencijal stanice; b) osmotska prilagodba biljne stanice pomoću biosinteze osmolita koji snižuju vodni potencijal stanice i omogućuju primanje vode iz tla u uvjetima manjka vode ili povišenog saliniteta tla; preuzeto i prilagođeno prema Buchanan i sur. (2002).

Slika 2. Uloga kompatibilnih osmolita u osmotskoj prilagodbi stanice

Izvor : <https://www.bib.irb.hr/>

Također i kod visokih temperatura prolin djeluje na stabilizaciju različitih enzima, sprječava nastanak štetnih reaktivnih kisikovih jedinica te kao i kod suše ima ulogu osmolita.

Fenoli su organski spojevi, produkti sekundarnog metabolizma biljaka. Sastoje se od aromatičnog prstena i barem jedne hidroksilne skupine (Bohn, 2014.; Santana-Gálvez i Jacobo-Velázquez, 2018.; Durazzo i sur., 2019.). Kemijska klasifikacija fenolnih spojeva ovisi o broju aromatičnih prstena ugljika ili hidroksilnih skupina, topljivosti i dr. U biljkama se sintetizira veliki broj različitih vrsta fenola koji imaju pozitivnu ulogu u metabolizmu kroz antioksidacijska svojstva, sposobnost keliranja metalnih iona, fenoli također imaju svojstva slabih organskih kiselina, dok je njihova hidroksilna skupina dobar donor vodika. Fenoli se nalaze u mnogim biljnim vrstama te daju boju određenim

dijelovima biljaka, štite ih od UV zračenja ali sudjeluju i u obrambenom odgovoru u uvjetima abiotskog i biotskog stresa (Cheynier i sur., 2013.).

U biljkama, pojačana sinteza i akumulacija fenolnih spojeva najčešće je povezana s odgovorom na okolišne, vanjske ili unutarnje čimbenike (Stitt i Gibon, 2014.). Biljni hormoni također sudjeluju u kontroli sinteze i akumulacije fenolnih spojeva naročito onih koji biljnim dijelovima daju specifično obojenje (Koyama i sur., 2018.). Tako je i sinteza fenola različita u pojedinim fazama razvoja biljke, od klijanja pa sve do sazrijevanja plodova.

Flavonoidi su biljni sekundarni metaboliti koji se sintetiziraju u polipropanoidnom putu iz fenilalanina. Specifično bojaju biljne dijelove, naročito cvjetove, a obojenje nastaje zbog kemijskih svojstava skupine flavonoidnih spojeva koju nazivamo antocijanini. Djeluju i kao zaštitna sredstva u uvjetima biotskog stresa uslijed napada različitih insekata (Harborne i sur., 2000.).

Kod jabuka najzastupljeniji flavonoid je kvercetin, odnosno kvercetin glikozid. Utvrđeno je da dužim skladištenjem plodova jabuka, sadržaj flavonoida ostaje isti (Van Der Sluis i sur., 1997.). Osim cvjetovima, antocijanini daju i specifičnu crvenu boju plodu jabuke. Utvrđeno je da antocijanini apsorbiraju dio spektra sunčeve svjetlosti te na taj način štite fotosintetski aparat od štetnog učinka prejake svjetlosti što može uzrokovati fotooksidaciju klorofila (Solovchenko i Schmitz-Eiberger, 2003.).

### 3. MATERIJALI I METODE

Istraživanje je provedeno s trideset i tri sorte jabuke koje pripadaju različitim grupama dozrijevanja, na dva geografski i mikroklimatski različita lokaliteta, Donja Zelina u Zagrebačkoj županiji (Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu) i lokalitet Tenja (Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek). Oba nasada jabuke zasnovana su 2020. godine te posađena po metodi slučajnog bloknoeg rasporeda s postavljenom zaštitnom mrežom i navodnjavanjem. Uzorci lista koji se analizirani u ovom istraživanju uzorkovani su 30.06.2021. i 30.6.2022.

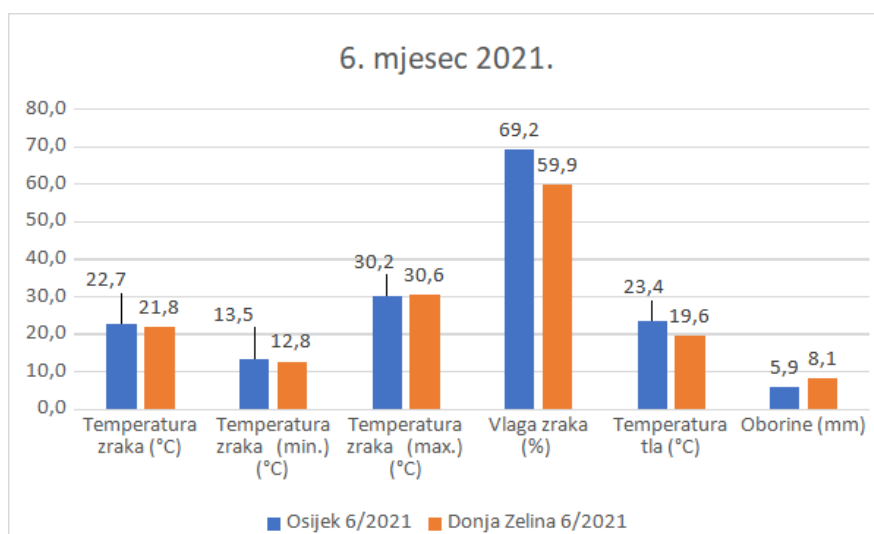
#### Uzorkovanje

Listovi 33 sorte jabuke uzorkovani su na oba lokaliteta u dvije godine. Termini uzorkovanja određeni su prema vremenskim uvjetima, u periodu s manje oborina i tijekom suše i visokih temperatura. Nakon prikupljanja, listovi su čuvani za potrebe laboratorijskih analiza u zamrzivaču pri temperaturi  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

#### Klimatološki pokazatelji

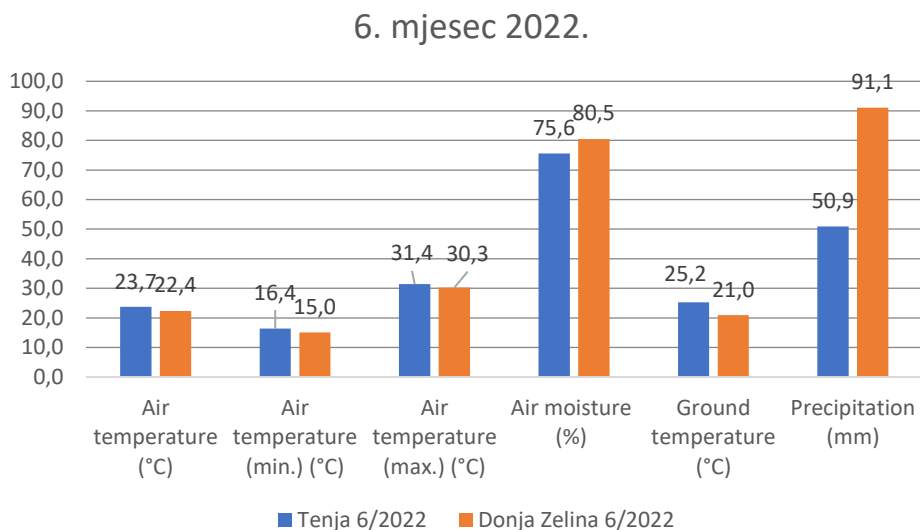
Na lokacijama Osijek i Donja Zelina praćeni su meteorološki podaci za vrijeme pokusa pomoću meteoroloških stanica.

U lipnju 2021. godine temperatura zraka je bila veća u Osijeku za prosječno  $1\text{ }^{\circ}\text{C}$  nego u Donjoj Zelini, dok je temperatura tla u Osijeku također bila značajno veća. Relativna vlaga zraka je bila veća u Osijeku za 10 %, zbog viših temperatura tla i veće evapotranspiracije.



Grafikon 1. Meteorološki podaci za lipanj 2021. godine

U lipnju 2022. godine u odnosu na prethodnu godinu u istom vremenskom periodu, klimatološki pokazatelji, temperatura tla i zraka bili su veći za 1 °C na oba lokaliteta, dok je količina oborina veća u odnosu na lipanj 2021. godine, a više oborina je bilo na lokalitetu Donja Zelina.



Grafikon 2. Meteorološki podaci za lipanj 2022. godine

Na prikupljenim uzorcima listova jabuka, spektrofotometrijskim analitičkim metodama, određen je sadržaj kloroplastnih pigmenata, ukupnih fenola, prolina, flavonoida i ukupna antioksidativna aktivnost.

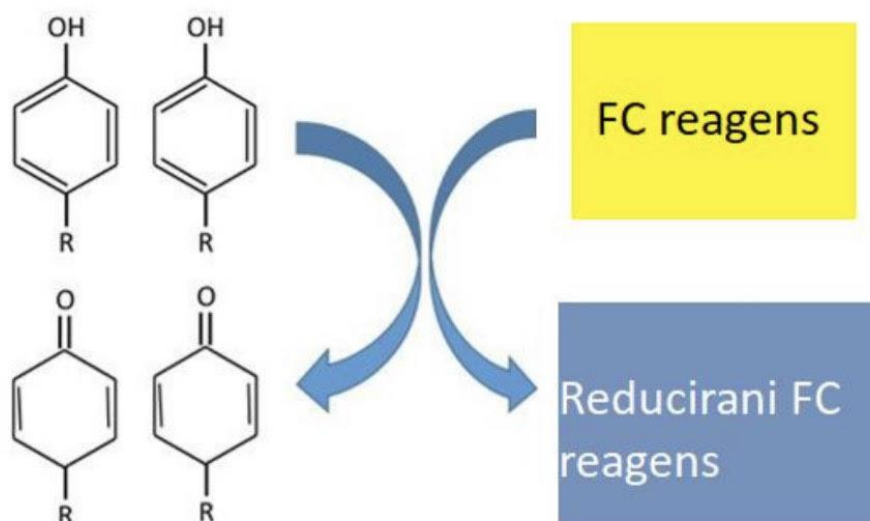
### 3.1. Određivanje sadržaja kloroplastnih pigmenata

Sadržaj kloroplastnih pigmenata određen je spektrofotometrijski metodom po Holmu i Wettsteinu (Holm, 1954.; Wettstein, 1957.). Pomoću tekućeg duška usitnjeni su listovi jabuka, odvagano je 0,05 g macerata na analitičkoj vagi u plastičnu epruvetu od 15 mL. U epruvetu je dodano 10 mL acetona i magnezijev karbonat ( $MgCO_3$ ) u prahu za neutralizaciju kiselosti. Uzorci su promućkani na vrtložnoj tresilici. Nakon toga uzorci su centrifugirani 10 minuta pri 6000 g i 4 °C te je supernatant pipetiran u kivete u kojima je mjerena apsorpcija svjetlosti valnih duljina 662, 440 i 644 nm. Dobivene vrijednosti uvrštene su u Holm-Wettsteinove jednadžbe za izračunavanje koncentracije pigmenata klorofila a (Chl a), klorofila b (Chl b), ukupnog klorofila (Chl a+b) i karotenoida (Car).

### 3.2. Određivanje ukupnih fenola

Ukupni fenoli određeni su metodom po Singleton i Rossi (1965.), koristeći Folin-Ciocalteu reagens. Standardna otopina pripremljena je s galnom kiselinom. U epruvetu je

odvagano 200 mg macerata listova i dodano je 2 mL 70 %-tnog etanola te je uzorak promućkan na vrtložnoj treskalici. Zatim su ekstrahirani fenoli na 48 sati pri -20 °C. Nakon ekstrakcije uzorci su centrifugirani 15 minuta pri 4 °C i 6000 g, te je dekantiran supernatant. U epruvete od 2 mL pipetirano je 100 µL ekstrakta i dodano 100 µL Folin-Ciocalteu reagensa, 1,5 mL demineralizirane vode i promiješano na vrtložnoj treskalici. Dodano je 300 µL zasićene otopine Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> te su uzorci inkubirani 60 minuta pri 37 °C, nakon čega je izmjerena apsorpcija pri 765 nm. Za slijepu probu korišten je 70 % etanol. Koncentracije ukupnih fenola izračunate su pomoću jednadžbe pravca baždarne krivulje dobivene mjerenjem apsorpcije poznatih koncentracija otopine galne kiseline. Rezultati su izraženi u µg galne kiseline u 100 µg svježe tvari.



Slika 3. Redukcija Folin – Ciocalteu reagensa.

Izvor: <https://zir.nsk.hr/>

### 3.3. Određivanje sadržaja prolina

Sadržaj prolina je određen pomoću metode po Carillo i Gibon (2011.). Odvagano je 0,5 g macerata u kivetu te je dodano 1,5 mL 70 %-tnog etanola te su uzorci promiješani na vrtložnoj treskalici i centrifugirani na 6000 g 10 minuta pri 4 °C. 100 µL uzorka je pipetirano u plastične epruvete od 2 mL i dodano je 200 µL reakcijske smjese koja se sastoji od 60 % octene kiseline, 20 % etanola i 1 % ninhidrinske kiseline. Nakon toga uzorci su inkubirani u vodenoj kupelji pri 95 °C, 20 minuta. Nakon hlađenja izmjerena je koncentracija prolina na čitaču mikrotitarskih pločica pri 520 nm te su koncentracije

preračunate iz jednadžbe pravca baždarne krivulje dobivene od serije standarda koji su sadržavali poznate koncentracije prolina.



Slika 4. Mikrotitarska pločica

Izvor: <https://www.labmanager.com/>



Slika 5. Čitač mikrotitarskih pločica

Izvor: <https://www.labmanager.com/>

#### 3.4. Određivanje sadržaja flavonoida

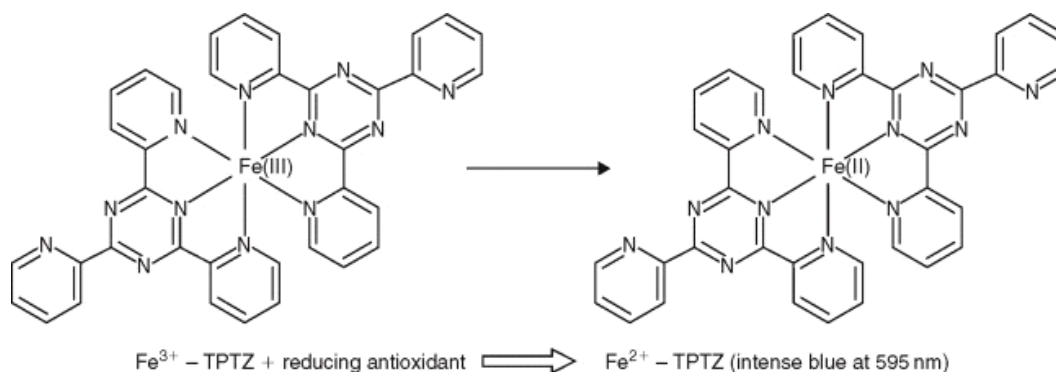
Flavonoidi se određuju iz etanolnih ekstrakata iz listova jabuka metodom po Ordonez i sur. (2006.), a reagens za obojenje je aluminij klorid. Na 200 mg macerata dodano je 100  $\mu$ L 4 % aluminijevog klorida i 100  $\mu$ L 96 % etanola, te su uzorci promiješani na vrtložnoj treskalici i inkubirani u tami 60 minuta pri sobnoj temperaturi. Nakon toga izmjerena je apsorbancija na 415 nm, a za izradu baždarne krivulje korištene su standardne otopine kvercetina.



### 3.5. Određivanje ukupne antioksidativne aktivnosti

Ukupna antioksidativna aktivnost utvrđena je FRAP metodom (*eng. Potassium ferricyanide reducing power assay*), koja se bazira na reakciji redukcije  $\text{Fe}^{3+}$  u  $\text{Fe}^{2+}$  u prisustvu antioksidanasa (Benzie i Strain, 1996.). Tvari s potencijalnom redukcijskom sposobnošću reagiraju s kalijevim fericijanidom i nastaje kalijev ferocijanid koji reagira s željezovim (III) kloridom što daje plavo obojeni kompleks.

FRAP reagens priprema se koristeći acetatni pufer pH 3,6, TPTZ (TPTZ. 2,4,6-TRI[2-piridil]-s-triazin), željezni klorid i deioniziranu vodu. Kao standardna otopina korištena je 1 M otopina željezovog (II) sulfata koncentracija u rasponu od 0-1 mmol/L.



Slika 6. Reakcija  $\text{Fe}^{3+}$  s TPTZ

U epruvetu od 2 mL odvagano je 50  $\mu\text{L}$  macerata listova jabuke i dodano 1000  $\mu\text{L}$  70 % etanola, te je promiješano na vrtložnoj miješalici i centrifugirano 15 minuta na 6000 g pri 4  $^{\circ}\text{C}$ , a nakon čega je supernatant dekantiran. U epruvetu od 2 mL pipetirano je 100  $\mu\text{L}$  ekstrakta i dodano 1000  $\mu\text{L}$  FRAP reagensa. Nakon inkubacije od 4 minute u vodenoj kupelji pri 37  $^{\circ}\text{C}$  u mraku mjerena je apsorbancija pri 593 nm.

### 3.6. Statistička obrada podataka

Statističke analize provedene su pomoću softvera Enterprise Guide, verzija 7.1 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Korištene statističke metode su analiza varijance (ANOVA), F test i Fisher LSD test na razini značajnosti 0,05.

## 4. REZULTATI

### 4.1. Sadržaj kloroplastnih pigmenata u listovima jabuke

Tablica 1. Prosječne koncentracije kloroplastnih pigmenata (klorofila a (kl a), klorofila b (kl b) i karotenoida (kar)) te njihovi omjeri u listovima jabuka uzorkovanih 30.6.2021. i 30.6.2022.

Godina	Lokalitet	Svojstvo	Mean $\pm$ Std Error
2021.	Donja Zelina	kl a (mg/g Sv.T.)	0,501 $\pm$ 0,011
		kl b (mg/g Sv.T.)	0,165 $\pm$ 0,009
		kl a+ b (mg/g Sv.T.)	0,667 $\pm$ 0,016
		kar (mg/g Sv.T.)	0,434 $\pm$ 0,011
		kl a/kl b	3,316 $\pm$ 0,052
		kl/kar	1,648 $\pm$ 0,062
	Osijek	kl a (mg/g Sv.T.)	0,552 $\pm$ 0,013
		kl b (mg/g Sv.T.)	0,175 $\pm$ 0,008
		kl a+ b (mg/g Sv.T.)	0,727 $\pm$ 0,018
		kar (mg/g Sv.T.)	0,410 $\pm$ 0,014
		kl a/kl b	3,344 $\pm$ 0,040
		kl/kar	2,037 $\pm$ 0,079
2022.	Donja Zelina	kl a (mg/g Sv.T.)	0,623 $\pm$ 0,013
		kl b (mg/g Sv.T.)	0,197 $\pm$ 0,005
		kl a+ b (mg/g Sv.T.)	0,820 $\pm$ 0,018
		kar (mg/g Sv.T.)	0,366 $\pm$ 0,009
		kl a/kl b	3,207 $\pm$ 0,026
		kl/kar	2,313 $\pm$ 0,043
	Osijek	kl a (mg/g Sv.T.)	0,593 $\pm$ 0,009
		kl b (mg/g Sv.T.)	0,200 $\pm$ 0,004
		kl a+ b (mg/g Sv.T.)	0,793 $\pm$ 0,012
		kar (mg/g Sv.T.)	0,326 $\pm$ 0,008
		kl a/kl b	3,005 $\pm$ 0,028
		kl/kar	2,533 $\pm$ 0,043

Tablica 2. Sadržaj klorofila a u listu jabuke (mg/g Sv.T.  $\pm$  Std Error) na lokaciji Osijek po sortama i godinama.

<b>Sorta</b>	<b>2021.</b>	<b>2022.</b>
Allegro	0,495 $\pm$ 0,028	0,679 $\pm$ 0,080
B. Lochbuie	0,818 $\pm$ 0,051	0,700 $\pm$ 0,050
B. Mariri Red	0,530 $\pm$ 0,105	0,661 $\pm$ 0,044
Bay 3341	0,550 $\pm$ 0,088	0,512 $\pm$ 0,037
Collina	0,502 $\pm$ 0,031	0,566 $\pm$ 0,062
CrimsonCrisp	0,464 $\pm$ 0,065	0,531 $\pm$ 0,024
Freya	0,538 $\pm$ 0,045	0,482 $\pm$ 0,028
Fuji Fubrax	0,707 $\pm$ 0,033	0,759 $\pm$ 0,068
G. DarkAnn	0,413 $\pm$ 0,028	0,585 $\pm$ 0,007
G. Galaxy	0,539 $\pm$ 0,059	0,598 $\pm$ 0,041
G. S. Schniga	0,651 $\pm$ 0,033	0,573 $\pm$ 0,041
G. Smoothee	0,359 $\pm$ 0,110	0,556 $\pm$ 0,025
Gala Schnicored	0,501 $\pm$ 0,036	0,612 $\pm$ 0,010
Galaval	0,641 $\pm$ 0,035	0,531 $\pm$ 0,048
Goldrush	0,821 $\pm$ 0,054	0,703 $\pm$ 0,032
Granny Smith	0,430 $\pm$ 0,055	0,454 $\pm$ 0,040
J. Novajo	0,424 $\pm$ 0,058	0,673 $\pm$ 0,033
Jeromine	0,548 $\pm$ 0,094	0,559 $\pm$ 0,037
Karneval	0,560 $\pm$ 0,070	0,570 $\pm$ 0,034
Merkur	0,512 $\pm$ 0,027	0,616 $\pm$ 0,033
Opal	0,425 $\pm$ 0,039	0,584 $\pm$ 0,029
Orion	0,601 $\pm$ 0,056	0,675 $\pm$ 0,023
Pinova	0,603 $\pm$ 0,065	0,608 $\pm$ 0,029
R. Idared	0,692 $\pm$ 0,103	0,668 $\pm$ 0,053
R. Topaz	0,595 $\pm$ 0,027	0,494 $\pm$ 0,027
Reglindis	0,430 $\pm$ 0,114	0,599 $\pm$ 0,010
Roats King R. D.	0,467 $\pm$ 0,081	0,550 $\pm$ 0,014
Rozela	0,569 $\pm$ 0,054	0,586 $\pm$ 0,037
S. C. Sandidge	0,546 $\pm$ 0,057	0,666 $\pm$ 0,043
Santana	0,514 $\pm$ 0,031	0,571 $\pm$ 0,057
Sirius	0,709 $\pm$ 0,078	0,564 $\pm$ 0,051
Topaz	0,576 $\pm$ 0,045	0,523 $\pm$ 0,031
W. Jonaprince	0,492 $\pm$ 0,026	0,558 $\pm$ 0,033

Tablica 3. Sadržaj klorofila a u listu jabuke (mg/g Sv.T.  $\pm$  Std Error) na lokaciji Donja Zelina

<b>Sorta</b>	<b>2021.</b>	<b>2022.</b>
Allegro	0,517 $\pm$ 0,045	0,513 $\pm$ 0,153
B. Lochbuie	0,473 $\pm$ 0,047	0,708 $\pm$ 0,069
B. Mariri Red	0,489 $\pm$ 0,009	0,710 $\pm$ 0,052
Bay 3341	0,460 $\pm$ 0,064	0,616 $\pm$ 0,034
Collina	0,484 $\pm$ 0,040	0,593 $\pm$ 0,021
CrimsonCrisp	0,672 $\pm$ 0,112	0,549 $\pm$ 0,043
Freya	0,462 $\pm$ 0,052	0,544 $\pm$ 0,028
Fuji Fubrax	0,569 $\pm$ 0,048	0,574 $\pm$ 0,048
G. DarkAnn	0,501 $\pm$ 0,103	0,581 $\pm$ 0,047
G. Galaxy	0,457 $\pm$ 0,056	0,680 $\pm$ 0,041
G. S. Schniga	0,401 $\pm$ 0,013	0,613 $\pm$ 0,110
G. Smoothee	0,526 $\pm$ 0,028	0,459 $\pm$ 0,137
Gala Schnicored	0,571 $\pm$ 0,034	0,669 $\pm$ 0,092
Galaval	0,423 $\pm$ 0,046	0,624 $\pm$ 0,017
Goldrush	0,568 $\pm$ 0,039	0,644 $\pm$ 0,041
Granny Smith	0,411 $\pm$ 0,044	0,604 $\pm$ 0,029
J. Novajo	0,695 $\pm$ 0,074	0,684 $\pm$ 0,052
Jeromine	0,591 $\pm$ 0,060	0,687 $\pm$ 0,064
Karneval	0,516 $\pm$ 0,048	0,460 $\pm$ 0,123
Merkur	0,601 $\pm$ 0,036	0,550 $\pm$ 0,017
Opal	0,426 $\pm$ 0,054	0,588 $\pm$ 0,016
Orion	0,478 $\pm$ 0,036	0,830 $\pm$ 0,109
Pinova	0,462 $\pm$ 0,055	0,653 $\pm$ 0,034
R. Idared	0,466 $\pm$ 0,022	0,693 $\pm$ 0,015
R. Topaz	0,446 $\pm$ 0,033	0,630 $\pm$ 0,019
Reglindis	0,659 $\pm$ 0,088	0,745 $\pm$ 0,013
Roats King R. D.	0,547 $\pm$ 0,090	0,747 $\pm$ 0,049
Rozela	0,408 $\pm$ 0,031	0,533 $\pm$ 0,026
S. C. Sandidge	0,485 $\pm$ 0,025	0,852 $\pm$ 0,076
Santana	0,451 $\pm$ 0,035	0,562 $\pm$ 0,042
Sirius	0,441 $\pm$ 0,070	0,631 $\pm$ 0,037
Topaz	0,390 $\pm$ 0,053	0,425 $\pm$ 0,123
W. Jonaprince	0,505 $\pm$ 0,033	0,597 $\pm$ 0,033

Tablica 4. Sadržaj klorofila b u listu jabuke (mg/g Sv.T.  $\pm$  Std Error) na lokaciji Donja Zelina

<b>Sorta</b>	<b>2021.</b>	<b>2022.</b>
Allegro	0,142 $\pm$ 0,011	0,170 $\pm$ 0,050
B. Lochbuie	0,161 $\pm$ 0,016	0,226 $\pm$ 0,021
B. Mariri Red	0,162 $\pm$ 0,002	0,225 $\pm$ 0,014
Bay 3341	0,132 $\pm$ 0,016	0,203 $\pm$ 0,013
Collina	0,134 $\pm$ 0,009	0,200 $\pm$ 0,007
CrimsonCrisp	0,186 $\pm$ 0,032	0,182 $\pm$ 0,015
Freya	0,127 $\pm$ 0,018	0,156 $\pm$ 0,012
Fuji Fubrax	0,187 $\pm$ 0,018	0,180 $\pm$ 0,015
G. DarkAnn	0,172 $\pm$ 0,028	0,178 $\pm$ 0,017
G. Galaxy	0,146 $\pm$ 0,016	0,221 $\pm$ 0,018
G. S. Schniga	0,127 $\pm$ 0,004	0,196 $\pm$ 0,040
G. Smoothee	0,216 $\pm$ 0,072	0,155 $\pm$ 0,047
Gala Schnicored	0,184 $\pm$ 0,010	0,212 $\pm$ 0,036
Galaval	0,130 $\pm$ 0,013	0,191 $\pm$ 0,006
Goldrush	0,168 $\pm$ 0,013	0,189 $\pm$ 0,014
Granny Smith	0,128 $\pm$ 0,014	0,185 $\pm$ 0,009
J. Novajo	0,191 $\pm$ 0,025	0,219 $\pm$ 0,017
Jeromine	0,180 $\pm$ 0,021	0,227 $\pm$ 0,020
Karneval	0,399 $\pm$ 0,240	0,140 $\pm$ 0,037
Merkur	0,250 $\pm$ 0,059	0,146 $\pm$ 0,003
Opal	0,111 $\pm$ 0,016	0,186 $\pm$ 0,004
Orion	0,172 $\pm$ 0,028	0,263 $\pm$ 0,037
Pinova	0,129 $\pm$ 0,019	0,185 $\pm$ 0,010
R. Idared	0,176 $\pm$ 0,026	0,226 $\pm$ 0,005
R. Topaz	0,169 $\pm$ 0,056	0,173 $\pm$ 0,006
Reglindis	0,258 $\pm$ 0,101	0,225 $\pm$ 0,007
Roats King R. D.	0,166 $\pm$ 0,029	0,305 $\pm$ 0,024
Rozela	0,109 $\pm$ 0,008	0,158 $\pm$ 0,014
S. C. Sandidge	0,147 $\pm$ 0,008	0,313 $\pm$ 0,026
Santana	0,131 $\pm$ 0,010	0,186 $\pm$ 0,014
Sirius	0,125 $\pm$ 0,021	0,188 $\pm$ 0,011
Topaz	0,100 $\pm$ 0,016	0,111 $\pm$ 0,032
W. Jonaprince	0,142 $\pm$ 0,009	0,187 $\pm$ 0,011

Tablica 5. Sadržaj klorofila b u listu jabuke (mg/g Sv.T.  $\pm$  Std Error) na lokaciji Osijek

<b>Sorta</b>	<b>2021.</b>	<b>2022.</b>
Allegro	0,158 $\pm$ 0,010	0,204 $\pm$ 0,025
B. Lochbuie	0,252 $\pm$ 0,016	0,242 $\pm$ 0,020
B. Mariri Red	0,161 $\pm$ 0,030	0,244 $\pm$ 0,021
Bay 3341	0,162 $\pm$ 0,026	0,162 $\pm$ 0,016
Collina	0,147 $\pm$ 0,010	0,182 $\pm$ 0,016
CrimsonCrisp	0,139 $\pm$ 0,017	0,172 $\pm$ 0,006
Freya	0,144 $\pm$ 0,011	0,144 $\pm$ 0,010
Fuji Fubrax	0,204 $\pm$ 0,011	0,259 $\pm$ 0,024
G. DarkAnn	0,123 $\pm$ 0,012	0,204 $\pm$ 0,003
G. Galaxy	0,214 $\pm$ 0,071	0,202 $\pm$ 0,016
G. S. Schniga	0,200 $\pm$ 0,012	0,199 $\pm$ 0,014
G. Smoothee	0,181 $\pm$ 0,101	0,195 $\pm$ 0,012
Gala Schnicored	0,153 $\pm$ 0,011	0,209 $\pm$ 0,007
Galaval	0,197 $\pm$ 0,012	0,191 $\pm$ 0,024
Goldrush	0,244 $\pm$ 0,018	0,227 $\pm$ 0,014
Granny Smith	0,131 $\pm$ 0,015	0,157 $\pm$ 0,012
J. Novajo	0,126 $\pm$ 0,018	0,225 $\pm$ 0,007
Jeromine	0,159 $\pm$ 0,027	0,169 $\pm$ 0,021
Karneval	0,175 $\pm$ 0,023	0,188 $\pm$ 0,013
Merkur	0,140 $\pm$ 0,012	0,188 $\pm$ 0,012
Opal	0,329 $\pm$ 0,200	0,179 $\pm$ 0,009
Orion	0,172 $\pm$ 0,014	0,241 $\pm$ 0,010
Pinova	0,161 $\pm$ 0,020	0,208 $\pm$ 0,013
R. Idared	0,225 $\pm$ 0,033	0,229 $\pm$ 0,021
R. Topaz	0,155 $\pm$ 0,006	0,149 $\pm$ 0,011
Reglindis	0,119 $\pm$ 0,035	0,189 $\pm$ 0,004
Roats King R. D.	0,139 $\pm$ 0,025	0,200 $\pm$ 0,022
Rozela	0,157 $\pm$ 0,015	0,195 $\pm$ 0,009
S. C. Sandidge	0,173 $\pm$ 0,020	0,272 $\pm$ 0,053
Santana	0,227 $\pm$ 0,068	0,217 $\pm$ 0,017
Sirius	0,205 $\pm$ 0,023	0,190 $\pm$ 0,014
Topaz	0,157 $\pm$ 0,014	0,163 $\pm$ 0,009
W. Jonaprince	0,139 $\pm$ 0,006	0,205 $\pm$ 0,014

Tablica 6. Sadržaj karotenoida u listu jabuke (mg/g Sv.T.  $\pm$  Std Error) na lokaciji Donja Zelina

<b>Sorta</b>	<b>2021.</b>	<b>2022.</b>
Allegro	0,223 $\pm$ 0,014	0,261 $\pm$ 0,079
B. Lochbuie	0,517 $\pm$ 0,051	0,451 $\pm$ 0,059
B. Mariri Red	0,551 $\pm$ 0,057	0,427 $\pm$ 0,025
Bay 3341	0,446 $\pm$ 0,024	0,334 $\pm$ 0,032
Collina	0,385 $\pm$ 0,038	0,413 $\pm$ 0,035
CrimsonCrisp	0,450 $\pm$ 0,084	0,256 $\pm$ 0,023
Freya	0,418 $\pm$ 0,032	0,368 $\pm$ 0,019
Fuji Fubrax	0,736 $\pm$ 0,102	0,360 $\pm$ 0,048
G. DarkAnn	0,512 $\pm$ 0,068	0,501 $\pm$ 0,056
G. Galaxy	0,344 $\pm$ 0,033	0,460 $\pm$ 0,019
G. S. Schniga	0,352 $\pm$ 0,022	0,471 $\pm$ 0,060
G. Smoothee	0,273 $\pm$ 0,042	0,246 $\pm$ 0,071
Gala Schnicored	0,492 $\pm$ 0,019	0,507 $\pm$ 0,064
Galaval	0,378 $\pm$ 0,031	0,451 $\pm$ 0,017
Goldrush	0,564 $\pm$ 0,069	0,330 $\pm$ 0,010
Granny Smith	0,514 $\pm$ 0,041	0,305 $\pm$ 0,028
J. Novajo	0,372 $\pm$ 0,011	0,268 $\pm$ 0,025
Jeromine	0,531 $\pm$ 0,038	0,392 $\pm$ 0,028
Karneval	0,407 $\pm$ 0,084	0,306 $\pm$ 0,082
Merkur	0,450 $\pm$ 0,049	0,358 $\pm$ 0,034
Opal	0,346 $\pm$ 0,054	0,373 $\pm$ 0,022
Orion	0,451 $\pm$ 0,060	0,327 $\pm$ 0,043
Pinova	0,355 $\pm$ 0,027	0,410 $\pm$ 0,018
R. Idared	0,361 $\pm$ 0,031	0,381 $\pm$ 0,014
R. Topaz	0,440 $\pm$ 0,043	0,353 $\pm$ 0,016
Reglindis	0,566 $\pm$ 0,020	0,465 $\pm$ 0,026
Roats King R. D.	0,566 $\pm$ 0,042	0,349 $\pm$ 0,011
Rozela	0,373 $\pm$ 0,012	0,292 $\pm$ 0,009
S. C. Sandidge	0,452 $\pm$ 0,027	0,449 $\pm$ 0,023
Santana	0,439 $\pm$ 0,033	0,356 $\pm$ 0,029
Sirius	0,394 $\pm$ 0,044	0,302 $\pm$ 0,025
Topaz	0,397 $\pm$ 0,033	0,259 $\pm$ 0,081
W. Jonaprince	0,272 $\pm$ 0,035	0,309 $\pm$ 0,044

Tablica 7. Sadržaj karotenoida u listu jabuke (mg/g Sv.T.  $\pm$  Std Error) na lokaciji Osijek

<b>Sorta</b>	<b>2021.</b>	<b>2022.</b>
Allegro	0,431 $\pm$ 0,043	0,307 $\pm$ 0,039
B. Lochbuie	0,316 $\pm$ 0,018	0,461 $\pm$ 0,031
B. Mariri Red	0,208 $\pm$ 0,037	0,410 $\pm$ 0,052
Bay 3341	0,500 $\pm$ 0,041	0,240 $\pm$ 0,029
Collina	0,560 $\pm$ 0,062	0,349 $\pm$ 0,048
CrimsonCrisp	0,558 $\pm$ 0,012	0,269 $\pm$ 0,019
Freya	0,419 $\pm$ 0,013	0,231 $\pm$ 0,024
Fuji Fubrax	0,295 $\pm$ 0,022	0,435 $\pm$ 0,040
G. DarkAnn	0,316 $\pm$ 0,023	0,371 $\pm$ 0,039
G. Galaxy	0,323 $\pm$ 0,059	0,345 $\pm$ 0,043
G. S. Schniga	0,424 $\pm$ 0,015	0,410 $\pm$ 0,052
G. Smoothee	0,137 $\pm$ 0,025	0,245 $\pm$ 0,015
Gala Schnicored	0,288 $\pm$ 0,031	0,372 $\pm$ 0,040
Galaval	0,600 $\pm$ 0,007	0,353 $\pm$ 0,063
Goldrush	0,398 $\pm$ 0,027	0,375 $\pm$ 0,034
Granny Smith	0,176 $\pm$ 0,028	0,228 $\pm$ 0,020
J. Novajo	0,482 $\pm$ 0,043	0,337 $\pm$ 0,026
Jeromine	0,564 $\pm$ 0,040	0,291 $\pm$ 0,045
Karneval	0,657 $\pm$ 0,034	0,364 $\pm$ 0,035
Merkur	0,316 $\pm$ 0,018	0,305 $\pm$ 0,026
Opal	0,505 $\pm$ 0,093	0,376 $\pm$ 0,007
Orion	0,300 $\pm$ 0,018	0,317 $\pm$ 0,027
Pinova	0,451 $\pm$ 0,030	0,292 $\pm$ 0,029
R. Idared	0,369 $\pm$ 0,081	0,351 $\pm$ 0,049
R. Topaz	0,428 $\pm$ 0,040	0,309 $\pm$ 0,038
Reglindis	0,323 $\pm$ 0,124	0,305 $\pm$ 0,015
Roats King R. D.	0,483 $\pm$ 0,020	0,313 $\pm$ 0,037
Rozela	0,468 $\pm$ 0,010	0,264 $\pm$ 0,032
S. C. Sandidge	0,281 $\pm$ 0,038	0,353 $\pm$ 0,060
Santana	0,627 $\pm$ 0,097	0,349 $\pm$ 0,041
Sirius	0,448 $\pm$ 0,033	0,266 $\pm$ 0,050
Topaz	0,583 $\pm$ 0,073	0,290 $\pm$ 0,035
W. Jonaprince	0,285 $\pm$ 0,048	0,272 $\pm$ 0,030



4.2. Sadržaj prolina, fenola, flavonoida i antioksidativna aktivnost u listovima jabuke

Tablica 8. Prosječne koncentracije prolina (PRO), fenola (PHE), flavonoida (FLA) i antioksidativna aktivnost (FRAP) u listovima jabuka.

<b>Godina</b>	<b>Lokalitet</b>	<b>Svojstvo</b>	<b>Mean ± Std Error</b>
2021.	Donja Zelina	PRO (uM/g Sv.T.)	0,475 ± 0,011
		PHE (mg GA/mg Sv.T.)	0,565 ± 0,009
		FLA (mg QC/mg Sv.T.)	0,069 ± 0,001
		FRAP (mM FeSO <sub>4</sub> /g Sv.T.)	1,481 ± 0,021
	Osijek	PRO (uM/g Sv.T.)	0,283 ± 0,006
		PHE (mg GA/mg Sv.T.)	0,614 ± 0,009
		FLA (mg QC/mg Sv.T.)	0,050 ± 0,001
		FRAP (mM FeSO <sub>4</sub> /g Sv.T.)	1,431 ± 0,019
2022.	Donja Zelina	PRO (uM/g Sv.T.)	0,480 ± 0,021
		PHE (mg GA/mg Sv.T.)	0,614 ± 0,007
		FLA (mg QC/mg Sv.T.)	0,053 ± 0,001
		FRAP (mM FeSO <sub>4</sub> /g Sv.T.)	1,449 ± 0,020
	Osijek	PRO (uM/g Sv.T.)	0,369 ± 0,010
		PHE (mg GA/mg Sv.T.)	0,619 ± 0,008
		FLA (mg QC/mg Sv.T.)	0,045 ± 0,001
		FRAP (mM FeSO <sub>4</sub> /g Sv.T.)	1,326 ± 0,019

Tablica 9. Sadržaj prolina u listu jabuke ( $\mu\text{M/g Sv.T.} \pm \text{Std Error}$ ) na lokaciji Donja Zelina po sortama i godinama.

<b>Sorta</b>	<b>2021.</b>	<b>2022.</b>
Allegro	0,410 $\pm$ 0,026	0,309 $\pm$ 0,026
B. Lochbuie	0,434 $\pm$ 0,018	0,535 $\pm$ 0,091
B. Mariri Red	0,709 $\pm$ 0,024	0,566 $\pm$ 0,039
Bay 3341	0,522 $\pm$ 0,036	0,286 $\pm$ 0,025
Collina	0,516 $\pm$ 0,053	0,377 $\pm$ 0,032
CrimsonCrisp	0,310 $\pm$ 0,022	0,162 $\pm$ 0,037
Freya	0,403 $\pm$ 0,057	0,380 $\pm$ 0,074
Fuji Fubrax	0,487 $\pm$ 0,006	0,512 $\pm$ 0,036
G. DarkAnn	0,431 $\pm$ 0,033	0,889 $\pm$ 0,058
G. Galaxy	0,328 $\pm$ 0,034	0,878 $\pm$ 0,072
G. S. Schniga	0,380 $\pm$ 0,025	0,350 $\pm$ 0,029
G. Smoothee	0,339 $\pm$ 0,011	0,414 $\pm$ 0,036
Gala Schnicored	0,458 $\pm$ 0,019	0,778 $\pm$ 0,016
Galaval	0,311 $\pm$ 0,018	0,383 $\pm$ 0,008
Goldrush	0,666 $\pm$ 0,036	0,608 $\pm$ 0,092
Granny Smith	0,739 $\pm$ 0,026	0,862 $\pm$ 0,198
J. Novajo	0,367 $\pm$ 0,019	0,297 $\pm$ 0,074
Jeromine	0,510 $\pm$ 0,008	0,417 $\pm$ 0,063
Karneval	0,578 $\pm$ 0,010	0,253 $\pm$ 0,030
Merkur	0,327 $\pm$ 0,023	0,289 $\pm$ 0,009
Opal	0,473 $\pm$ 0,014	0,290 $\pm$ 0,044
Orion	0,384 $\pm$ 0,016	0,694 $\pm$ 0,052
Pinova	0,612 $\pm$ 0,051	0,667 $\pm$ 0,065
R. Idared	0,471 $\pm$ 0,025	0,330 $\pm$ 0,045
R. Topaz	0,428 $\pm$ 0,021	0,293 $\pm$ 0,028
Reglindis	0,544 $\pm$ 0,016	0,316 $\pm$ 0,060
Roats King R. D.	0,496 $\pm$ 0,036	0,511 $\pm$ 0,039
Rozela	0,551 $\pm$ 0,031	0,708 $\pm$ 0,194
S. C. Sandidge	0,455 $\pm$ 0,042	0,540 $\pm$ 0,118
Santana	0,568 $\pm$ 0,025	0,228 $\pm$ 0,021
Sirius	0,617 $\pm$ 0,014	0,737 $\pm$ 0,100
Topaz	0,419 $\pm$ 0,013	0,303 $\pm$ 0,050
W. Jonaprince	0,433 $\pm$ 0,032	0,687 $\pm$ 0,095

Tablica 10. Sadržaj prolina u listu jabuke ( $\mu\text{M/g Sv.T.} \pm \text{Std Error}$ ) na lokaciji Osijek

<b>Sorta</b>	<b>2021.</b>	<b>2022.</b>
Allegro	0,322 $\pm$ 0,024	0,179 $\pm$ 0,006
B. Lochbuie	0,314 $\pm$ 0,020	0,353 $\pm$ 0,022
B. Mariri Red	0,297 $\pm$ 0,019	0,550 $\pm$ 0,069
Bay 3341	0,300 $\pm$ 0,019	0,288 $\pm$ 0,017
Collina	0,384 $\pm$ 0,011	0,335 $\pm$ 0,023
CrimsonCrisp	0,231 $\pm$ 0,025	0,312 $\pm$ 0,016
Freya	0,310 $\pm$ 0,015	0,343 $\pm$ 0,017
Fuji Fubrax	0,256 $\pm$ 0,018	0,295 $\pm$ 0,027
G. DarkAnn	0,327 $\pm$ 0,017	0,464 $\pm$ 0,063
G. Galaxy	0,379 $\pm$ 0,018	0,256 $\pm$ 0,023
G. S. Schniga	0,375 $\pm$ 0,037	0,229 $\pm$ 0,019
G. Smoothee	0,208 $\pm$ 0,032	0,301 $\pm$ 0,004
Gala Schnicored	0,384 $\pm$ 0,032	0,372 $\pm$ 0,076
Galaval	0,445 $\pm$ 0,019	0,323 $\pm$ 0,026
Goldrush	0,232 $\pm$ 0,014	0,548 $\pm$ 0,017
Granny Smith	0,272 $\pm$ 0,015	0,507 $\pm$ 0,023
J. Novajo	0,203 $\pm$ 0,018	0,318 $\pm$ 0,008
Jeromine	0,287 $\pm$ 0,009	0,400 $\pm$ 0,053
Karneval	0,267 $\pm$ 0,034	0,333 $\pm$ 0,022
Merkur	0,295 $\pm$ 0,012	0,291 $\pm$ 0,019
Opal	0,230 $\pm$ 0,022	0,315 $\pm$ 0,023
Orion	0,236 $\pm$ 0,024	0,272 $\pm$ 0,016
Pinova	0,233 $\pm$ 0,013	0,411 $\pm$ 0,010
R. Idared	0,260 $\pm$ 0,026	0,496 $\pm$ 0,043
R. Topaz	0,201 $\pm$ 0,020	0,554 $\pm$ 0,025
Reglindis	0,278 $\pm$ 0,019	0,329 $\pm$ 0,018
Roats King R. D.	0,293 $\pm$ 0,017	0,314 $\pm$ 0,044
Rozela	0,285 $\pm$ 0,022	0,318 $\pm$ 0,022
S. C. Sandidge	0,289 $\pm$ 0,026	0,356 $\pm$ 0,042
Santana	0,309 $\pm$ 0,024	0,403 $\pm$ 0,019
Sirius	0,205 $\pm$ 0,009	0,385 $\pm$ 0,025
Topaz	0,208 $\pm$ 0,008	0,574 $\pm$ 0,018
W. Jonaprince	0,210 $\pm$ 0,010	0,451 $\pm$ 0,028

Tablica 11. Sadržaj fenola u listu jabuke (mg/g Sv.T. ± Std Error) na lokaciji Donja Zelina

<b>Sorta</b>	<b>2021.</b>	<b>2022.</b>
Allegro	0,519 ± 0,021	0,501 ± 0,021
B. Lochbuie	0,411 ± 0,034	0,506 ± 0,031
B. Mariri Red	0,443 ± 0,037	0,597 ± 0,045
Bay 3341	0,564 ± 0,027	0,553 ± 0,020
Collina	0,725 ± 0,041	0,670 ± 0,043
CrimsonCrisp	0,518 ± 0,054	0,702 ± 0,031
Freya	0,511 ± 0,037	0,526 ± 0,022
Fuji Fubrax	0,523 ± 0,044	0,532 ± 0,015
G. DarkAnn	0,568 ± 0,020	0,683 ± 0,042
G. Galaxy	0,739 ± 0,032	0,702 ± 0,024
G. S. Schniga	0,720 ± 0,015	0,585 ± 0,015
G. Smoothee	0,690 ± 0,029	0,712 ± 0,013
Gala Schnicored	0,616 ± 0,059	0,642 ± 0,046
Galaval	0,576 ± 0,028	0,645 ± 0,026
Goldrush	0,655 ± 0,045	0,645 ± 0,032
Granny Smith	0,517 ± 0,050	0,633 ± 0,011
J. Novajo	0,620 ± 0,043	0,680 ± 0,010
Jeromine	0,418 ± 0,017	0,560 ± 0,012
Karneval	0,522 ± 0,025	0,573 ± 0,016
Merkur	0,546 ± 0,057	0,659 ± 0,036
Opal	0,597 ± 0,026	0,641 ± 0,029
Orion	0,639 ± 0,027	0,604 ± 0,015
Pinova	0,456 ± 0,053	0,530 ± 0,025
R. Idared	0,485 ± 0,040	0,651 ± 0,017
R. Topaz	0,577 ± 0,050	0,631 ± 0,006
Reglindis	0,504 ± 0,023	0,554 ± 0,037
Roats King R. D.	0,508 ± 0,066	0,710 ± 0,041
Rozela	0,599 ± 0,028	0,538 ± 0,020
S. C. Sandidge	0,546 ± 0,015	0,550 ± 0,029
Santana	0,511 ± 0,023	0,664 ± 0,019
Sirius	0,671 ± 0,038	0,613 ± 0,009
Topaz	0,545 ± 0,015	0,637 ± 0,013
W. Jonaprince	0,609 ± 0,047	0,633 ± 0,019

Tablica 12. Sadržaj fenola u listu jabuke (mg/g Sv.T. ± Std Error) na lokaciji Osijek

<b>Sorta</b>	<b>2021.</b>	<b>2022.</b>
Allegro	0,446 ± 0,015	0,497 ± 0,016
B. Lochbuie	0,537 ± 0,023	0,575 ± 0,021
B. Mariri Red	0,580 ± 0,022	0,611 ± 0,052
Bay 3341	0,536 ± 0,036	0,515 ± 0,014
Collina	0,652 ± 0,032	0,664 ± 0,053
CrimsonCrisp	0,705 ± 0,030	0,765 ± 0,015
Freya	0,429 ± 0,034	0,527 ± 0,038
Fuji Fubrax	0,680 ± 0,025	0,552 ± 0,032
G. DarkAnn	0,640 ± 0,023	0,605 ± 0,023
G. Galaxy	0,675 ± 0,019	0,626 ± 0,042
G. S. Schniga	0,457 ± 0,066	0,640 ± 0,055
G. Smoothee	0,686 ± 0,031	0,670 ± 0,019
Gala Schnicored	0,642 ± 0,025	0,498 ± 0,025
Galaval	0,588 ± 0,052	0,548 ± 0,052
Goldrush	0,722 ± 0,008	0,643 ± 0,019
Granny Smith	0,624 ± 0,041	0,677 ± 0,007
J. Novajo	0,744 ± 0,034	0,702 ± 0,045
Jeromine	0,497 ± 0,024	0,539 ± 0,035
Karneval	0,674 ± 0,022	0,618 ± 0,036
Merkur	0,549 ± 0,030	0,612 ± 0,048
Opal	0,693 ± 0,007	0,692 ± 0,027
Orion	0,720 ± 0,027	0,603 ± 0,019
Pinova	0,664 ± 0,025	0,613 ± 0,012
R. Idared	0,588 ± 0,030	0,653 ± 0,029
R. Topaz	0,731 ± 0,013	0,760 ± 0,030
Reglindis	0,650 ± 0,046	0,510 ± 0,020
Roats King R. D.	0,473 ± 0,026	0,594 ± 0,036
Rozela	0,600 ± 0,020	0,549 ± 0,027
S. C. Sandidge	0,442 ± 0,016	0,609 ± 0,058
Santana	0,642 ± 0,009	0,734 ± 0,057
Sirius	0,690 ± 0,018	0,713 ± 0,029
Topaz	0,655 ± 0,012	0,710 ± 0,034
W. Jonaprince	0,667 ± 0,025	0,605 ± 0,055

Tablica 13. Sadržaj flavonoida u listu jabuke (mg QC/mg Sv.T.  $\pm$  Std Error) na lokaciji Donja Zelina

<b>Sorta</b>	<b>2021.</b>	<b>2022.</b>
Allegro	0,073 $\pm$ 0,003	0,030 $\pm$ 0,002
B. Lochbuie	0,052 $\pm$ 0,003	0,038 $\pm$ 0,002
B. Mariri Red	0,055 $\pm$ 0,002	0,044 $\pm$ 0,002
Bay 3341	0,074 $\pm$ 0,004	0,055 $\pm$ 0,003
Collina	0,108 $\pm$ 0,006	0,047 $\pm$ 0,005
CrimsonCrisp	0,038 $\pm$ 0,003	0,045 $\pm$ 0,002
Freya	0,075 $\pm$ 0,006	0,050 $\pm$ 0,004
Fuji Fubrax	0,071 $\pm$ 0,006	0,042 $\pm$ 0,002
G. DarkAnn	0,082 $\pm$ 0,004	0,057 $\pm$ 0,003
G. Galaxy	0,072 $\pm$ 0,008	0,059 $\pm$ 0,004
G. S. Schniga	0,091 $\pm$ 0,005	0,038 $\pm$ 0,003
G. Smoothee	0,058 $\pm$ 0,003	0,059 $\pm$ 0,002
Gala Schnicored	0,093 $\pm$ 0,008	0,056 $\pm$ 0,002
Galaval	0,088 $\pm$ 0,002	0,044 $\pm$ 0,003
Goldrush	0,087 $\pm$ 0,007	0,064 $\pm$ 0,005
Granny Smith	0,072 $\pm$ 0,009	0,055 $\pm$ 0,003
J. Novajo	0,050 $\pm$ 0,005	0,048 $\pm$ 0,001
Jeromine	0,056 $\pm$ 0,003	0,062 $\pm$ 0,002
Karneval	0,063 $\pm$ 0,004	0,057 $\pm$ 0,002
Merkur	0,083 $\pm$ 0,008	0,080 $\pm$ 0,004
Opal	0,070 $\pm$ 0,005	0,068 $\pm$ 0,003
Orion	0,062 $\pm$ 0,002	0,050 $\pm$ 0,000
Pinova	0,062 $\pm$ 0,007	0,054 $\pm$ 0,002
R. Idared	0,060 $\pm$ 0,004	0,056 $\pm$ 0,002
R. Topaz	0,065 $\pm$ 0,005	0,065 $\pm$ 0,001
Reglindis	0,069 $\pm$ 0,002	0,062 $\pm$ 0,004
Roats King R. D.	0,065 $\pm$ 0,008	0,062 $\pm$ 0,001
Rozela	0,069 $\pm$ 0,003	0,061 $\pm$ 0,002
S. C. Sandidge	0,055 $\pm$ 0,003	0,053 $\pm$ 0,003
Santana	0,061 $\pm$ 0,002	0,047 $\pm$ 0,002
Sirius	0,069 $\pm$ 0,004	0,049 $\pm$ 0,002
Topaz	0,072 $\pm$ 0,001	0,063 $\pm$ 0,003
W. Jonaprince	0,058 $\pm$ 0,001	0,040 $\pm$ 0,003

Tablica 14. Sadržaj flavonoida u listu (mg QC/mg Sv.T.  $\pm$  Std Error) na lokaciji Osijek

<b>Sorta</b>	<b>2021.</b>	<b>2022.</b>
Allegro	0,055 $\pm$ 0,003	0,046 $\pm$ 0,001
B. Lochbuie	0,042 $\pm$ 0,002	0,033 $\pm$ 0,003
B. Mariri Red	0,046 $\pm$ 0,003	0,036 $\pm$ 0,002
Bay 3341	0,045 $\pm$ 0,002	0,043 $\pm$ 0,001
Collina	0,071 $\pm$ 0,003	0,064 $\pm$ 0,002
CrimsonCrisp	0,044 $\pm$ 0,003	0,041 $\pm$ 0,002
Freya	0,047 $\pm$ 0,002	0,042 $\pm$ 0,002
Fuji Fubrax	0,045 $\pm$ 0,002	0,033 $\pm$ 0,003
G. DarkAnn	0,067 $\pm$ 0,002	0,044 $\pm$ 0,002
G. Galaxy	0,050 $\pm$ 0,002	0,044 $\pm$ 0,002
G. S. Schniga	0,060 $\pm$ 0,010	0,045 $\pm$ 0,003
G. Smoothee	0,048 $\pm$ 0,001	0,052 $\pm$ 0,001
Gala Schnicored	0,061 $\pm$ 0,004	0,042 $\pm$ 0,001
Galaval	0,063 $\pm$ 0,003	0,049 $\pm$ 0,002
Goldrush	0,052 $\pm$ 0,001	0,047 $\pm$ 0,001
Granny Smith	0,045 $\pm$ 0,004	0,039 $\pm$ 0,003
J. Novajo	0,046 $\pm$ 0,002	0,042 $\pm$ 0,003
Jeromine	0,038 $\pm$ 0,002	0,053 $\pm$ 0,004
Karneval	0,056 $\pm$ 0,003	0,045 $\pm$ 0,001
Merkur	0,062 $\pm$ 0,001	0,057 $\pm$ 0,002
Opal	0,058 $\pm$ 0,002	0,054 $\pm$ 0,001
Orion	0,046 $\pm$ 0,004	0,046 $\pm$ 0,002
Pinova	0,046 $\pm$ 0,002	0,040 $\pm$ 0,002
R. Idared	0,046 $\pm$ 0,003	0,046 $\pm$ 0,002
R. Topaz	0,062 $\pm$ 0,002	0,050 $\pm$ 0,002
Reglindis	0,044 $\pm$ 0,006	0,041 $\pm$ 0,002
Roats King R. D.	0,036 $\pm$ 0,002	0,048 $\pm$ 0,002
Rozela	0,046 $\pm$ 0,002	0,048 $\pm$ 0,001
S. C. Sandidge	0,053 $\pm$ 0,003	0,046 $\pm$ 0,001
Santana	0,049 $\pm$ 0,001	0,045 $\pm$ 0,002
Sirius	0,040 $\pm$ 0,002	0,038 $\pm$ 0,002
Topaz	0,050 $\pm$ 0,002	0,053 $\pm$ 0,002
W. Jonaprince	0,041 $\pm$ 0,003	0,036 $\pm$ 0,003

Tablica 15. Ukupna FRAP antioksidativna aktivnost u listu jabuke (mM FeSO<sub>4</sub>/g Sv.T. ± Std Error) na lokaciji Donja Zelina

<b>Sorta</b>	<b>2021.</b>	<b>2022.</b>
Allegro	1,302 ± 0,061	1,580 ± 0,022
B. Lochbuie	1,196 ± 0,051	1,386 ± 0,124
B. Mariri Red	1,423 ± 0,076	1,312 ± 0,066
Bay 3341	1,613 ± 0,058	1,470 ± 0,110
Collina	1,715 ± 0,060	1,859 ± 0,181
CrimsonCrisp	1,853 ± 0,137	1,579 ± 0,056
Freya	1,574 ± 0,029	1,463 ± 0,058
Fuji Fubrax	1,235 ± 0,033	1,359 ± 0,063
G. DarkAnn	1,440 ± 0,055	1,567 ± 0,113
G. Galaxy	1,227 ± 0,030	1,626 ± 0,056
G. S. Schniga	1,483 ± 0,056	1,420 ± 0,267
G. Smoothee	1,266 ± 0,086	1,380 ± 0,049
Gala Schnicored	1,426 ± 0,117	1,488 ± 0,125
Galaval	1,533 ± 0,090	1,280 ± 0,158
Goldrush	1,839 ± 0,102	1,615 ± 0,101
Granny Smith	1,762 ± 0,062	1,340 ± 0,108
J. Novajo	1,372 ± 0,202	1,396 ± 0,083
Jeromine	1,454 ± 0,015	1,275 ± 0,032
Karneval	1,547 ± 0,066	1,329 ± 0,037
Merkur	1,557 ± 0,093	1,818 ± 0,134
Opal	1,359 ± 0,105	1,463 ± 0,114
Orion	1,252 ± 0,068	1,315 ± 0,046
Pinova	1,523 ± 0,058	1,522 ± 0,049
R. Idared	1,487 ± 0,125	1,372 ± 0,101
R. Topaz	1,609 ± 0,078	1,491 ± 0,032
Reglindis	1,589 ± 0,050	1,546 ± 0,064
Roats King R. D.	1,457 ± 0,027	1,267 ± 0,079
Rozela	1,550 ± 0,041	1,325 ± 0,054
S. C. Sandidge	0,904 ± 0,089	1,225 ± 0,011
Santana	1,560 ± 0,096	1,383 ± 0,073
Sirius	1,687 ± 0,056	1,469 ± 0,021
Topaz	1,689 ± 0,140	1,202 ± 0,040
W. Jonaprince	1,405 ± 0,039	1,695 ± 0,032



Tablica 16. Ukupna FRAP antioksidativna aktivnost u listu (mM FeSO<sub>4</sub>/g Sv.T. ± Std Error) na lokaciji Osijek

<b>Sorta</b>	<b>2021.</b>	<b>2022.</b>
Allegro	1,307 ± 0,061	1,285 ± 0,051
B. Lochbuie	1,242 ± 0,052	1,163 ± 0,048
B. Mariri Red	1,071 ± 0,061	0,863 ± 0,253
Bay 3341	1,286 ± 0,027	1,400 ± 0,073
Collina	1,600 ± 0,074	1,755 ± 0,058
CrimsonCrisp	1,543 ± 0,065	1,379 ± 0,080
Freya	1,046 ± 0,082	1,298 ± 0,037
Fuji Fubrax	1,342 ± 0,156	1,308 ± 0,133
G. DarkAnn	1,414 ± 0,044	1,412 ± 0,111
G. Galaxy	1,599 ± 0,061	1,363 ± 0,040
G. S. Schniga	1,537 ± 0,113	1,494 ± 0,153
G. Smoothee	1,383 ± 0,094	1,318 ± 0,100
Gala Schnicored	1,365 ± 0,068	1,266 ± 0,094
Galaval	1,510 ± 0,077	1,366 ± 0,100
Goldrush	1,537 ± 0,045	1,411 ± 0,025
Granny Smith	1,451 ± 0,072	1,305 ± 0,103
J. Novajo	1,423 ± 0,075	1,333 ± 0,024
Jeromine	1,197 ± 0,042	1,244 ± 0,048
Karneval	1,611 ± 0,064	1,311 ± 0,069
Merkur	1,531 ± 0,052	1,271 ± 0,056
Opal	1,639 ± 0,059	1,458 ± 0,100
Orion	1,539 ± 0,057	1,402 ± 0,090
Pinova	1,555 ± 0,059	1,268 ± 0,068
R. Idared	1,473 ± 0,068	1,042 ± 0,047
R. Topaz	1,649 ± 0,053	1,099 ± 0,049
Reglindis	1,285 ± 0,044	1,480 ± 0,097
Roats King R. D.	1,231 ± 0,056	1,356 ± 0,062
Rozela	1,140 ± 0,039	1,253 ± 0,035
S. C. Sandidge	1,326 ± 0,077	1,275 ± 0,049
Santana	1,653 ± 0,064	1,493 ± 0,095
Sirius	1,586 ± 0,084	1,216 ± 0,077
Topaz	1,823 ± 0,056	1,475 ± 0,069
W. Jonaprince	1,341 ± 0,084	1,406 ± 0,105

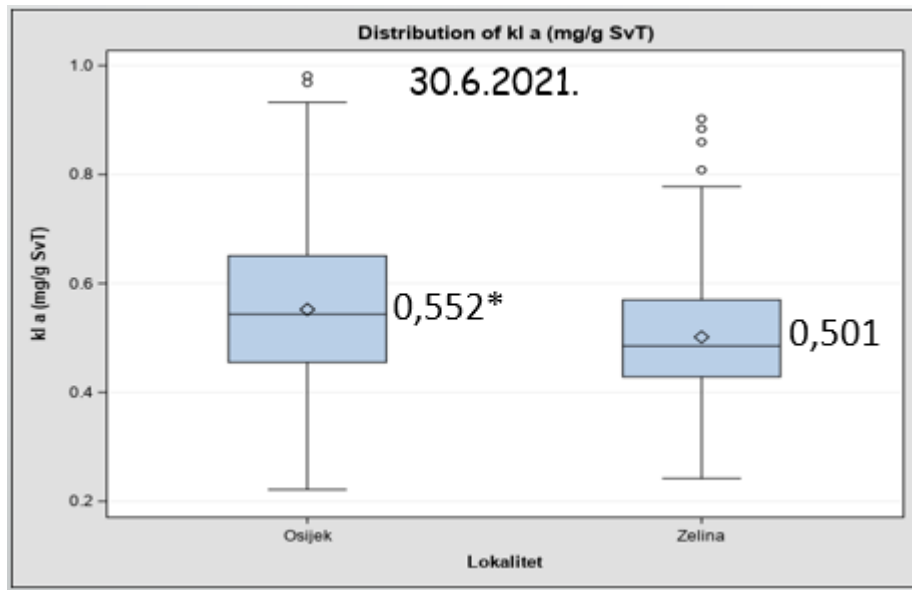
## 5. RASPRAVA

Jabuke se najčešće uzgajaju u toplijim krajevima i kao što je već rečeno, pri zasnivanju nasada potrebno je odabrati sorte koje su otporne i stabilne u uvjetima toplinskog i sušnog stresa kao i u ostalim vrstama abiotskog i biotskog stresa.

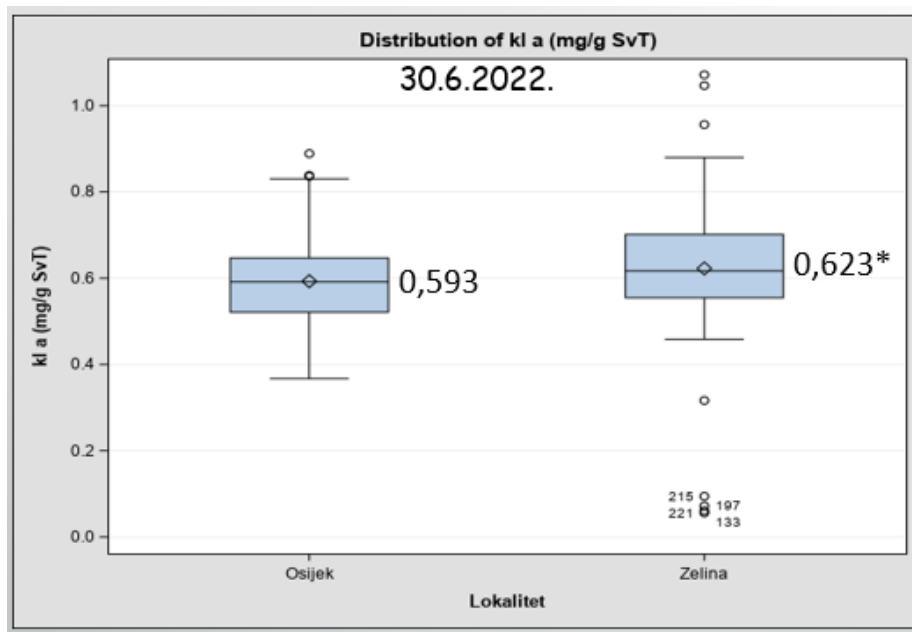
Pri intenzivnijoj radijaciji praćenju s višim temperaturama dolazi do povećanja stope fotosinteze međutim do određenog optimuma, a nakon toga povećanje temperature izaziva toplinski stres, što je vidljivo kroz pad ukupne produktivnosti fotosinteze (Wahid i sur., 2007.). Najvažniji kloroplastni pigmenti uključeni u proces fotosinteze kod viših biljaka su klorofil a i b te karotenoidi. Klorofil a je zadužen za apsorpciju valnih duljina, dok su karotenoidi i klorofil b pomoćni pigmenti koji djeluju tako da klorofil b prenosi svoju energiju klorofilu a, a karotenoidi djeluju kada klorofili ne mogu apsorbirati svjetlosnu energiju (Pevalek i Kozlina, 2003.). Sunčeva svjetlost zagrijava plod i listove te je temperatura biljke veća nego temperature okoline te dolazi do oštećenja plodova i listova jabuke što ujedno znači i teže preživljavanje za biljku (Racsko i Schrader, 2012.). Mupambi i sur. (2018.) su istraživali utjecaj zaštitne mreže i visokih temperatura na produktivnost procesa fotosinteze u listovima jabuke Honeycrisp. Zaključili su kako zasjena koju pruža zaštitna mreža smanjuje temperaturu površine listova čime se povećava efikasnost procesa fotosinteze, bez obzira što na površinu listova dopire manja količina sunčevog zračenja. Smanjenjem količine dozračene svjetlosti smanjuje se pojava ožegotina na listu, smanjena je degradacija klorofila uslijed fotooksidacije, bolja je izmjena plinova a time i veća neto fotosintetska produktivnost. Očuvanje kloroplastnih pigmenata i integriteta fotosustava jedna je od strategija uspješnog preživljavanja u uvjetima toplinskog i sušnog stresa.

U prikazanim istraživanjima, u prosjeku za sve sorte, u 2021. godini utvrđen je značajno veći sadržaj klorofila a u listovima jabuka na lokalitetu Osijek dok je 2022. godine veći sadržaj klorofila a utvrđen na lokalitetu Donja Zelina (Grafikoni 3. i 4.). Vidljivo je da je na lokaciji Donja Zelina došlo do povećanja sadržaja klorofila a u 2022. godini, pošto se radi o drugoj vegetacijskoj sezoni od podizanja mladog nasada 2021. godine (Tablica 1.). Najveći sadržaj klorofila a u 2021. godini na lokaciji Osijek utvrđen je u listovima sorata Braeburn Lochbuie i Goldrush dok je u 2022. godini najveći sadržaj imala sorta Fuji Fubrax (Tablica 2.). Na lokaciji Donja Zelina, 2021. najviši sadržaj klorofila a utvrđen je

kod sorata Crimson Crisp i Jonagold Novajo, a u 2022. godini kod sorte Orion (Tablica 3.).



Grafikon 3. Sadržaj klorofila a u listovima jabuka uzorkovanim 2021. godine na lokalitetima Osijek i Donja Zelina u prosjeku za sve sorte



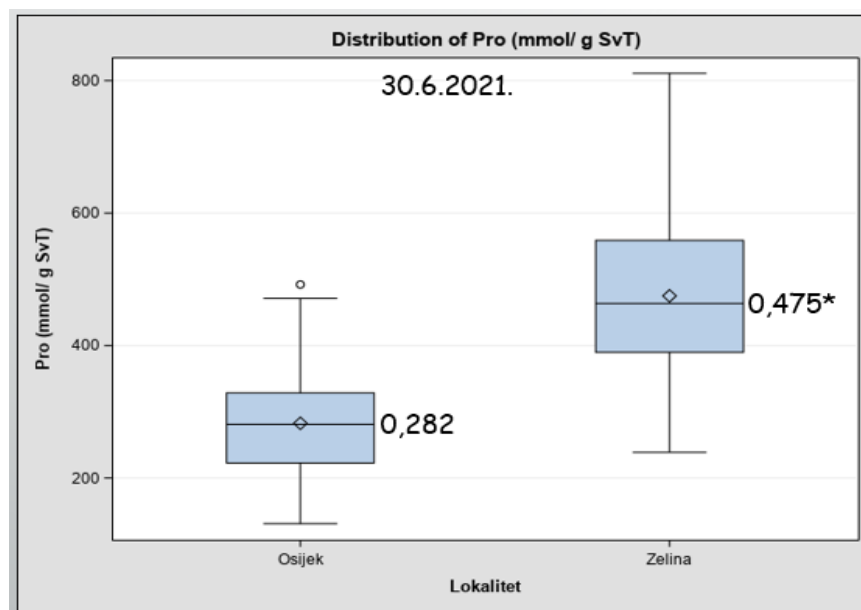
Grafikon 4. Sadržaj klorofila a u listovima jabuka uzorkovanim 2022. godine na lokalitetima Osijek i Donja Zelina u prosjeku za sve sorte

U 2021. godini na lokaciji Donja Zelina najveći sadržaj klorofila b utvrđen je kod sorte Karneval (Tablica 4.) a na lokaciji Osijek kod sorte Opal (Tablica 5.). Na oba lokaliteta,

u 2022. godini nije bilo značajnih odstupanja u sadržaju klorofila b. Na lokaciji Osijek, sorta Karneval isticala se najvećim sadržajem karotenoida u 2021. godini (Tablica 7.), na lokaciji Donja Zelina najveći sadržaj utvrđen je u listovima sorte Fuji Fubrax (Tablica 6.).

Poznato je da je prolin osmotski regulator koji može poboljšati otpornost biljke na sušne uvjete. Jie i sur. (2010.) su istraživali utjecaj bioregulatora na nakupljanje prolina u listovima jabuka (*Malus domestica Borkh* cv. Rehd Fuji/ *Malus hupehensis* (Pamp) Rehd.) za vrijeme suše. Dokazali su da bioregulatori pozitivno djeluju na povećanje koncentracije prolina u uvjetima suše što rezultira dužim zadržavanjem vode u biljci.

U obje godine istraživanja, u prosjeku za sve ispitivane sorte, utvrđen je značajan utjecaj lokaliteta na sadržaj prolina te je na lokalitetu Donja Zelina sadržaj prolina u listovima jabuka bio značajno veći u usporedbi sa lokalitetom Osijek. Naročito je izražena razlika u 2021. godini kada je vrijednost navedenog parametra na lokalitetu Donja Zelina iznosila 0,475 uM/g Sv.T a na lokalitetu Osijek 0,282 uM/g Sv.T (Grafikon 5., Tablica 8.). Bez obzira što je u obje godine pala veća količina oborina na lokalitetu Donja Zelina, razlog veće akumulacije prolina u listovima može biti otežano usvajanje vode zbog težeg tla na lokalitetu Donja Zelina i znatno veći nagib voćnjaka u usporedbi s lokalitetom Osijek, zbog čega je moguće da je infiltracija vode u tlo, bez obzira na količinu oborina, bila znatno manja.



Grafikon 5. Sadržaj prolina u listovima jabuka uzorkovanim 2021. godine na lokalitetima Osijek i Donja Zelina u prosjeku...

Najveći sadržaj prolina na lokalitetu Donja Zelina u 2021. godini utvrđen je u listovima sorata Braeburn Mariri Red i Granny Smith koja je imala visok sadržaj prolina i 2022. godine kao i sorte Gala Dark Ann i Gala Galaxy (Tablica 9.). Na lokalitetu Osijek u 2021. godini najveći sadržaj prolina ima sorta Galaval, a u 2022. godini se ističu sorte Topaz, Braeburn Mariri Red i Goldrush. Značajna razlika u akumulaciji prolina između sorata, na oba lokaliteta, upućuje na to da je ovo svojstvo također i genetski uvjetovano.

U uvjetima sušnog i toplinskog stresa, biljka sintetizira endogene bioregulatory, poput prolina, koji pomažu u adaptaciji biljke na stresne uvjete. U građi stanične stijenke biljaka biljni proteini bogati prolinom imaju važnu ulogu u zaštiti biljaka od različitih tipova stresa (Szekely i sur., 2008.).

Pošto su biljke sesilni organizmi, razvile su širok spektar mehanizama otpornosti na sušu. Antioksidativni odgovor na stresne uvjete uključuje pojačanu sintezu različitih spojeva s antioksidativnim djelovanjem, a među kojima se nalaze fenoli i flavonoidi koji imaju također vrlo značajnu ulogu u obrani, te se ugrađuju u stanične stijenke (Pizzi i Cameron, 1986.).

U lipnju 2022. godine na oba lokaliteta sadržaj fenola u listovima jabuke gotovo je identičan, međutim sadržaj fenola u listovima jabuke u lipnju 2021. godine na lokaciji Osijek bio je veći (0,614 mg GA/mg Sv.T.) u usporedbi sa lokalitetom Donja Zelina (0,565 mg GA/mg Sv.T.) (Tablica 8., Tablica 17.).

Tablica 17. Sadržaj fenola (PHE) i flavonoida (FLA) u listovima jabuka uzorkovanim 2021. i 2022. godine na lokalitetima Osijek i Donja Zelina, u prosjeku za sve sorte.

datum uzorkovanja	lokalitet	PHE mg GA / mg Sv.T.	FLA mg QC / mg Sv.T.
30.6.2021.	Osijek	0,615*	0,0503
	Zelina	0,565	0,0690*
	F test	35,34	345,65
	p	0,0000	0,0000
30.6.2022.	Osijek	0,619	0,0451
	Zelina	0,614	0,0533*
	F test	0,43	183,24
	p	0,5139	0,0000

Najveću koncentraciju fenola tijekom prvog uzorkovanja 2021. godine na lokalitetu Donja Zelina imale su sorte Collina, Gala Galaxy i Gala Schnitzer Schinga (Tablica 11.). U 2022. godini u istom vremenskom periodu na navedenom lokalitetu, koncentracije fenola u listovima jabuke su bile prilično ujednačene. Na lokalitetu Osijek u 2021. godini, najveće koncentracije fenola utvrđene su kod sorata Goldrush, Orion i Red Topaz koja je uz sortu Crimson Crisp, imala najviši sadržaj fenola i u 2022. godini (Tablica 12.).

Flavonoidi su skupina sekundarnih metabolita kod biljaka sa izraženim antioksidativnim i antimikrobnim djelovanjem. Njihova povećana sinteza utvrđena je kod stresa izazvanog sušom. Flavonoidi su također dobri „hvatači“ reaktivnih kisikovih jedinki te također sudjeluju u mehanizmima obrane od fotooksidacije uslijed intenzivne radijacije (Gould i sur., 2002; Tattini i sur., 2004.). Također, imaju važnu ulogu i u obrani od biotskih tipova stresa kod jabuka. U obrani protiv napada različitih fitopatogena, poput gljive *Venturia inaequalis*, utvrđeno je da su otpornije sorte jabuka one koje u lišću sintetiziraju i akumuliraju veće količine flavanola koji se pojačano nakupljaju na mjestu stvaranja kraste (Mayr i sur., 1998.). Istraživanja dokazuju da su za antioksidativnu djelovanje u kori jabuke najvećim dijelom zaslužni fenoli, naročito kvercetin koji je antioksidativni flavonoid.

U prosjeku za sve ispitivane sorte, utvrđen je značajan utjecaj lokaliteta na sadržaj ukupnih flavonoida u listu jabuke u obje godine uzorkovanja te je veći sadržaj navedene skupine metabolita utvrđen na lokalitetu Donja Zelina (Tablica 17.). Najveći sadržaj flavonoida na obje lokacije u 2021. godini, utvrđen je kod sorte Collina, a u 2022. godini kod sorte Merkur na lokaciji Donja Zelina (Tablica 13. i 14.). Na lokaciji Osijek, za obje godine uzorkovanja vidljiva je znatno manja varijabilnost u sadržaju flavonoida u listovima jabuka (Tablica 14.). Nasad na lokaciji Osijek je od zasnivanja do uzorkovanja puno brže napredovao te su biljke bile razvijenije i moguće da je izostala velika razlika u pokazateljima antioksidativnog odgovora upravo zbog bolje prilagodbe stabala uvjetovane bržim razvojem i rastom.

Zastupljenost i omjer pojedinih fenola u jabukama je vrlo različita i neki od njih su nestabilni i podložni brzom raspadanju uslijed oksidacije, što često utječe na njihovu ukupnu koncentraciju utvrđenu analizom (Burda i sur., 1990.). Osim toga, sklonost sinteze i akumulacije fenola je ovisna o sorti, što upućuje na genetski uvjetovano svojstvo,

dok je sinteza i akumulacija flavonoida ovisna o okolišnim čimbenicima te razvojnoj fazi biljke (Hahlbrock i Grisebach, 1979.).

Antioksidativna aktivnost utvrđena FRAP metodom je u obje godine i na oba lokaliteta bila vrlo stabilno svojstvo s malim odstupanjem od prosjeka svih sorata (Tablica 8., 15. i 16.), te je najniža vrijednost utvrđena kod sorte S. C. Sandidge na lokalitetu Donja Zelina, 2021. godine.

## 6. ZAKLJUČAK

1. Fiziološko-metabolička profilacija daje pouzdani odgovor o sintezi i odnosu specifičnih metabolita u listu jabuke uključenih u mehanizme zaštite od stresa te je dobar pokazatelj adaptabilnosti sorte na uvjete uzgoja.
2. U ovom istraživanju utvrđen je značajan utjecaj lokaliteta i sorte na sadržaj fotosintetskih pigmenata i metabolita uključenih u antioksidativni odgovor u listu jabuke u uvjetima visoke temperature.
3. Kod nekih pokazatelja odgovora na stres, poput sadržaja fenola i akumulacije prolina u listu, vidljiva je velika razlika između pojedinih sorata što upućuje na potencijalno genetski uvjetovano svojstvo.
4. Pri odabiru sorte za uzgoj u pojedinim klimatskim uvjetima, potrebno je osim osnovnih agronomskih pokazatelja i pomoloških svojstava, uzeti u obzir i adaptabilnost sorte na specifične mikroklimatske uvjete uvažavajući stabilnost nutritivne kvalitete plodova.
5. U daljnjim istraživanjima potrebno je statistički testirati razlike između sorata na svakom pojedinom lokalitetu, utvrditi da li postoje razlike između sorata po grupama zriobe, utvrditi da li postoje veze između pokazatelja stresa u listu i pomoloških svojstava ploda te utvrditi da li je nutritivna kvaliteta u korelaciji s pokazateljima stresa u listu jabuke.



## 7. POPIS LITERATURE

1. Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239(1), 70-76.
2. Bielecki, R. L. (1969). Accumulation and translocation of sorbitol in apple phloem. *Australian Journal of Biological Sciences*, 22(3), 611-620.
3. Bielecki, R. L., & Redgwell, R. J. (1985). Sorbitol versus sucrose as photosynthesis and translocation products in developing apricot leaves. *Functional Plant Biology*, 12(6), 657-668.
4. Bohn, T. (2014). Dietary factors affecting polyphenol bioavailability. *Nutrition reviews*, 72(7), 429-452.
5. Boyer, J., & Liu R. H. (2004). Apple phytochemicals and their health benefits. *Nutrition journal*, 3, 1-15.
6. Burda, S., Oleszek, W., Lee, C.Y. (1990). Phenolic compounds and their changes in apple during maturation and cold storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 38: 945.
7. Carillo, P., & Gibon, Y. (2011). PROTOCOL: Extraction and Determination of Proline.
8. Cassano, A., Drioli, E., Galaverna, G., Marchelli, R., Di-Silvestra, G., Cagnasso P. (2003). Clarification and concentration of citrus and carrot juices by integrated membrane processes. *Journal of Food Engineering*, 57 (2), 21-30.
9. Chaves, M. M., Maroco, J. P., Pereira, J. S. (2003). Understanding plant responses to drought—from genes to the whole plant. *Functional plant biology*, 30(3), 239-264.
10. Chen, H., & Jiang, J. G. (2010). Osmotic adjustment and plant adaptation to environmental changes related to drought and salinity. *Environmental Reviews*, 18(NA), 309-319.
11. Chen, K., Song, M., Guo, Y., Liu, L., Xue, H., Dai, H., Zhang, Z. (2019). Md MYB 46 could enhance salt and osmotic stress tolerance in apple by directly activating stress-responsive signals. *Plant biotechnology journal*, 17(12), 2341-2355.
12. Cheynier, V., Comte, G., Davies, K. M., Lattanzio, V., Martens, S. (2013). Plant phenolics: recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. *Plant physiology and biochemistry*, 72, 1-20.

13. Coombe, B. G. (1988). Fruit setting, development and ripening. In: Australian Temperate Fruits Review Conference 240 (pp. 209-216).
14. Cornish, K., & Zeevaart, J. A. (1984). Abscisic acid metabolism in relation to water stress and leaf age in *Xanthium strumarium*. *Plant Physiology*, 76(4), 1029-1035.
15. Darrall, N. M., & Jager, H. J. (1984). Biochemical diagnostic tests for the effect of air pollution on plants. In: Gaseous air pollutants and plant metabolism. 1st International symposium, Oxford, UK. 333-349.
16. Dobránszki J., & Teixeira da Silva J.A. (2006). Micropropagation of apple - A review. *Biotechnology Advances*, 28: 462–488.
17. Durazzo, A., Lucarini, M., Novellino, E., Daliu, P., Santini, A. (2019). Fruit-based juices: Focus on antioxidant properties—Study approach and update. *Phytotherapy Research*, 33(7), 1754-1769.
18. Felicetti, D. A., & Schrader, L. E. (2008). Photooxidative sunburn of apples: Characterization of a third type of apple sunburn. *International journal of fruit science*, 8(3), 160-172.
19. Gould K. S., McKelvie J., Markham K. R. (2002). Do anthocyanins function as antioxidants in leaves? Imaging of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in red and green leaves after mechanical injury. *Plant, Cell and Environment*, 25, 1261-1269.
20. Hahlbrock, K., & Grisebach, H. (1979). Enzymic controls in the biosynthesis of lignin and flavonoids. *Annual Review of Plant Physiology*, 30(1), 105-130.
21. Hansen, P., & Grauslund, J. (1978). Levels of sorbitol in bleeding sap and in xylem sap in relation to leaf mass and assimilate demand in apple trees. *Physiologia Plantarum*, 42(1), 129-133.
22. Hanson, A. D., & Hitz, W. D. (1982). Metabolic responses of mesophytes to plant water deficits. *Annual Review of plant physiology*, 33(1), 163-203.
23. Harborne, J. B., & Williams, C. A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55(6), 481-504.
24. Holm, G. (1954): Chlorophyll mutations in barley. *Acta Agriculture Scandinavica* ,4, 457 – 461.
25. Jie, Z., Yao Y., John G. S., David C. F. (2010). Influence of soil drought stress on photosynthesis, carbohydrates and the nitrogen and phosphorus absorb in different section of leaves and stem of Fuji/M. 9EML, a young apple seedling. *African Journal of Biotechnology*, 9(33) 5320-5325.

26. Jones, M. M., & Turner, N. C.(1978). Osmotic adjustment in leaves of sorghum in response to water deficits. *Plant Physiology*. 61, 122– 126.
27. Kalcsits, L., Musacchi, S., Layne, D. R., Schmidt, T., Mupambi, G., Serra, S., Espinoza, C. Z. (2017). Above and below-ground environmental changes associated with the use of photoselective protective netting to reduce sunburn in apple. *Agricultural and forest meteorology*, 237, 9-17.
28. Kemble, A. R., & MacPherson H. T. (1954). Liberation of amino acids in perennial rye grass during wilting. *Biochemical Journal*, 58, 46-59.
29. Kim, B., Baek, M. S., Lee, Y., Paik, J. K., Chang, M. I., Rhee, G. S., Ko, S. (2016). Estimation of apple intake for the exposure assessment of residual chemicals using Korea National Health and nutrition examination survey database. *Clinical Nutrition Research*, 5(2), 96-101.
30. Köller, W. 1999. Chemical approaches to managing plant pathogens. In: Handbook of Pest Management. J. R. Ruberson, ed. Marcel Dekker Inc., New York. 337-376.
31. Korban, S. S., & Skirvin, R. M. (1984). Nomenclature of the cultivated apple. *HortScience*, 19(2), 177-180.
32. Koyama, T. (2018). A hidden link between leaf development and senescence. *Plant Science*, 276, 105-110.
33. Landsberg, J. J., & Jones, H. G. (1981). Apple orchards. *Water deficits and plant growth*, 6, 419-469.
34. Mayr, U., Michalek, S., Treutter, D., Feucht, W. (1997). Phenolic compounds of apple and their relationship to scab resistance. *Journal of Phytopathology*, 145(2-3), 69-75.
35. Morgan J. M. (1984). Osmoregulation and water stress in higher plants. *Annual Review Plant Physiology*, 35, 299–319.
36. Mupambi, G., Musacchi, S., Serra, S., Kalcsits, L. A., Layne, D. R., Schmidt, T. (2018). Protective netting improves leaf-level photosynthetic light use efficiency in ‘Honeycrisp’ apple under heat stress. *HortScience*, 53(10), 1416-1422.
37. Ordonez, A. A. L., Gomez, J. D., Vattuone, M. A., Isla, M. I. (2006). Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq.) Swart extracts. *Food Chemistry*, 97, 452–458.
38. Palmer, S., Metcalfe, J. J., Ellison, B., Wright, T. K., Sadler, L., Hinojosa, K., Prescott, M. P. (2021). The efficacy and cost-effectiveness of replacing whole apples with sliced in the national school lunch program. *International journal of environmental research and public health*, 18(24), 13157

39. Pevalek-Kozlina, B. (2003). Fiziologija bilja. Udžbenici Sveučilišta u Zagrebu Manualia Universitatis studiorum Zagrabiensis. Str.?
40. Pizzi, A., & Cameron, F. A. (1986). Flavonoid tannins—structural wood components for drought-resistance mechanisms of plants. *Wood Science and Technology*, 20(2), 119-124.
41. Racsko, J., & Schrader, L. E. (2012). Sunburn of apple fruit: Historical background, recent advances, and future perspectives. *Critical Review in Plant Science*, 31(6), 455-504.
42. Robinson, T. (2011). Advances in apple culture worldwide. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 33, 37-47.
43. Salvucci, M. E., & Crafts-Brandner, S. J. (2004). Relationship between the heat tolerance of photosynthesis and the thermal stability of Rubisco activase in plants from contrasting thermal environments. *Plant physiology*, 134(4), 1460-1470.
44. Santana-Gálvez, J., & Jacobo-Velázquez, D. A. (2018). Classification of phenolic compounds. In: Phenolic Compounds in Food (pp. 3-20). CRC press.
45. Schrader, L., Sun, J., Zhang, J., Felicetti, D., & Tian, J. U. N. (2006, August). Heat and light-induced apple skin disorders: Causes and prevention. In XXVII International Horticultural Congress-IHC2006: International Symposium on Enhancing Economic and Environmental 772 (pp. 51-58).
46. Sharkey, T. D. (2015). What gas exchange data can tell us about photosynthesis. *Plant, Cell & Environment*, 39(6), 1161-1163.
47. Singleton, V.L., & Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdc-Phosphotungstic Acid Reagent. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
48. Solovchenko, A., & Schmitz-Eiberger, M. (2003). Significance of skin flavonoids for UV-B-protection in apple fruits. *Journal of experimental botany*, 54(389), 1977-1984.
49. Song, J., Deng, W., Beaudry, R. M., Armstrong, P. R. (1997). Changes in chlorophyll fluorescence of apple fruit during maturation, ripening, and senescence. *HortScience*, 32(5), 891-896.
50. Steyn, W. J., Wand, S. J. E., Holcroft, D. M., Jacobs, G. 2002: Anthocyanins in vegetative tissues: a proposed unified function in photoprotection. *New Phytologist*, 155, 349–361.

51. Stitt, M., & Gibon, Y. (2014). Why measure enzyme activities in the era of systems biology?. *Trends in Plant Science*, 19(4), 256-265.
52. Szekely, G., Abraham, E., Cseplo, A., Rigo, G., Zsigmond, L., Csiszar, J., Ayaydin, F., Strizhov, N., Jasik, J., Schmelzer, E., Koncz, C., Szabados, L. (2008). Duplicated P5CS genes of Arabidopsis play distinct roles in stress regulation and developmental control of proline biosynthesis. *Plant Journal*, 53, 11-28.
53. Širčelj, H., Tausz, M., Grill, D., Batič, F. (2005). Biochemical responses in leaves of two apple tree cultivars subjected to progressing drought. *Journal of plant physiology*, 162(12), 1308-1318.
54. Taiz, L., & Zeiger, E. 2002: Plant Physiology, 3. izdanje, Sinauer Associates, Sunderland, SAD. Str?
55. Tartachnyk, I., Kuckenber, J., Yuri, J. A., Noga, G. (2012). Identifying fruit characteristics for non-invasive detection of sunburn in apple. *Scientia horticulturae*, 134, 108-113.
56. Tattini M., Galardi C., Pinelli P., Massai R., Remorini D., Agati G. (2004). Differential accumulation of flavonoids and hydroxycinnamates in leaves of *Ligustrum vulgare* under excess light and drought stress. *New Phytologist*, 163, 547-561.
57. Torres, C. A., Sepúlveda, G., Kahlaoui, B. (2017). Phytohormone interaction modulating fruit responses to photooxidative and heat stress on apple (*Malus domestica* Borkh.). *Frontiers in Plant Science*, 8, 2129.
58. Turner, N. C. (1986). Adaptation to water deficits: A changing perspective. *Australian Journal of Plant Physiology*, 13, 175–19.
59. Van der Sluis, A. A., Dekker, M., Jongen, W. M. F. (1997). Flavonoids as bioactive components in apple products. *Cancer Letters*, 114(1-2), 107-108.
60. Vursavuş, K., Kelebek, H., Selli, S. (2006). A study on some chemical and physico-mechanic properties of three sweet cherry varieties (*Prunus avium* L.) in Turkey. *Journal of Food Engineering*, 74(4), 568-575.
61. Wahid, A., Gelani, S., Ashraf, M., Foolad, M. R. (2007). Heat tolerance in plants: an overview. *Environmental and experimental botany*, 61(3), 199-223.
62. Wani, S. A., Chand, S., Wani, M. A., Ramzan, M., Hakeem, K. R. (2016). Azotobacter chroococcum—a potential biofertilizer in agriculture: an overview. *Soil science: agricultural and environmental prospectives*, 333-348.
63. Wettstein, D. (1957): Chlorophyll – letale und der submikroskopische Formwechsel

- der Plastiden. *Experimental Cell Research*, 12, 427 – 487.
64. Wolters, H., & Jürgens, G. (2009). Survival of the flexible: hormonal growth control and adaptation in plant development. *Nature Reviews Genetics*, 10(5), 305-317.
65. Yuri, J. A., Palma, M., Sepúlveda, Á., Moya, M. (2022). Water retention on the surface of apples and sweet cherry leaves and fruits. *Journal of Plant Protection Research*, 136-144.
66. Zhu, Z., Lu, Z., Wang, D., Tang, X., Yan, Y., Shi, W., Dong, H. (2016). Construction of high-dispersed Ag/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/g-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub> photocatalyst by selective photo-deposition and improved photocatalytic activity. *Applied Catalysis B: Environmental*, 182, 115-122.

#### **POPIS INTERNET STRANICA**

1. FAO, 2007. FAO Corporate Document Repository.  
<http://www.fao.org/docrep/w8079e/w8079e01.htm>.

## **8. SAŽETAK**

Nedostatak oborina i dugotrajne visoke temperature negativno utječu na procese asimilacije kroz smanjenje sinteze kloroplastnih pigmenata u listu jabuke. Jedna od obrambenih strategija u uvjetima toplinskog stresa je sinteza i akumulacija prolina te intenziviranje procesa antioksidativnog odgovora kroz povećanu sintezu fenola i flavonoida, što doprinosi ukupnom antioksidativnom statusu biljaka. Cilj istraživanja bio je utvrditi sadržaj kloroplastnih pigmenata, prolina, fenola i flavonoida te antioksidativnu aktivnost u listovima 33 sorte jabuke uzgajane na dva klimatski različita lokaliteta u Hrvatskoj, Osijek i Donja Zelina. Listovi su uzorkovani krajem mjeseca lipnja 2021. i 2022. godine, nakon dugotrajnog razdoblja visokih temperatura. Utvrđen je značajan utjecaj sorte i lokaliteta na sve navedene parametre. Daljnja istraživanja trebalo bi usmjeriti prema povezivanju pokazatelja oksidacijskog stresa u listu s parametrima kvalitete ploda kako bi proizvođači mogli odabrati najstabilniju sortu za svoje uzgojne uvjete.

## **9. SUMMARY**

The lack of precipitation and long-term high temperatures negatively affect the assimilation processes by reducing the synthesis of chloroplast pigments in the apple leaf. One of the defense strategies in conditions of heat stress is the synthesis and accumulation of proline and the intensification of the antioxidant response process through increased synthesis of phenols and flavonoids, which contributes to the overall antioxidant status of plants. The aim of the research was to determine the content of chloroplast pigments, proline, phenols and flavonoids and the antioxidant activity in the leaves of 33 apple varieties grown in two climatically different localities in Croatia, Osijek and Donja Zelina. The leaves were sampled at the end of June 2021 and 2022, after a long period of high temperatures. A significant influence of variety and locality on all mentioned parameters was determined. Further research should be directed towards linking the indicators of oxidative stress in the leaf with parameters of fruit quality so that producers can choose the most stable variety for their growing conditions.



## 10. POPIS TABLICA

Tablica 1. Prosječne koncentracije kloroplastnih pigmenata (klorofila a (kl a), klorofila b (kl b) i karotenoida (kar)) te njihovi omjeri u listovima jabuka za uzorkovanih 30.6.2021. i 30.6.2022. (str. 14.)

Tablica 2. Sadržaj klorofila a u listu jabuke (mg/g Sv.T.  $\pm$  Std Error) na lokaciji Osijek (str. 15.)

Tablica 3. Sadržaj klorofila a u listu jabuke (mg/g Sv.T.  $\pm$  Std Error) na lokaciji Donja Zelina (str. 16.)

Tablica 4. Sadržaj klorofila b u listu jabuke (mg/g Sv.T.  $\pm$  Std Error) na lokaciji Donja Zelina (str. 17.)

Tablica 5. Sadržaj klorofila b u listu jabuke (mg/g Sv.T.  $\pm$  Std Error) na lokaciji Osijek (str. 18.)

Tablica 6. Sadržaj karotenoida u listu jabuke (mg/g Sv.T.  $\pm$  Std Error) na lokaciji Donja Zelina (str. 19.)

Tablica 7. Sadržaj karotenoida u listu jabuke (mg/g Sv.T.  $\pm$  Std Error) na lokaciji Osijek (str. 20.)

Tablica 8. Prosječne koncentracije prolina (PRO), fenola (PHE), flavonoida (FLA) i antioksidativna aktivnost (FRAP) u listovima jabuka (str. 21.)

Tablica 9. Sadržaj prolina u listu jabuke ( $\mu$ M/g Sv.T.  $\pm$  Std Error) na lokaciji Donja Zelina (str. 22.)

Tablica 10. Sadržaj prolina u listu jabuke ( $\mu$ M/g Sv.T.  $\pm$  Std Error) na lokaciji Osijek (str. 23.)

Tablica 11. Sadržaj fenola u listu jabuke (mg/g Sv.T.  $\pm$  Std Error) na lokaciji Donja Zelina (str. 24.)

Tablica 12. Sadržaj fenola u listu jabuke (mg/g Sv.T.  $\pm$  Std Error) na lokaciji Osijek (str. 25.)

Tablica 13. Sadržaj flavonoida u listu jabuke (mg QC/mg Sv.T.  $\pm$  Std Error) na lokaciji Donja Zelina (str. 26.)

Tablica 14. Sadržaj flavonoida u listu (mg QC/mg Sv.T.  $\pm$  Std Error) na lokaciji Osijek (str. 27.)

Tablica 15. Ukupna FRAP antioksidativna aktivnost u listu jabuke (mM FeSO<sub>4</sub>/g Sv.T.  $\pm$  Std Error) na lokaciji Donja Zelina (str. 28.)

Tablica 16. Ukupna FRAP antioksidativna aktivnost u listu (mM FeSO<sub>4</sub>/g Sv.T.  $\pm$  Std Error) na lokaciji Osijek (str. 29.)

Tablica 17. Sadržaj fenola (PHE) i flavonoida (FLA) u listovima jabuka uzorkovanim 2021. i 2022. godine na lokalitetima Osijek i Donja Zelina (str. 33.)

## **11. POPIS SLIKA**

Slika 1. Plod jabuke (str 1.)

Slika 2. Uloga kompatibilnih osmolita u osmotskoj prilagodbi stanice (str. 7.)

Slika 3. Redukcija Folin – Ciocalteu reagensa (str. 11.)

Slika 4. Mikrotitarska pločica (str. 12.)

Slika 5. Čitač mikrotitarskih pločica (str. 12.)

Slika 6. Reakcija  $\text{Fe}^{3+}$  s TPTZ (str. 13.)

## **12. POPIS GRAFIKONA**

Grafikon 1. Meteorološki podaci za lipanj 2021. godine (str. 9.)

Grafikon 2. Meteorološki podaci za lipanj 2022. godine (str. 10.)

Grafikon 3. Sadržaj klorofila a u listovima jabuka uzorkovanim 2021. godine na lokalitetima Osijek i Donja Zelina (str. 31.)

Grafikon 4. Sadržaj klorofila a u listovima jabuka uzorkovanim 2022. godine na lokalitetima Osijek i Donja Zelina (str. 31.)

Grafikon 5. Sadržaj prolina u listovima jabuka uzorkovanim 2021. godine na lokalitetima Osijek i Donja Zelina (str 32.)

**Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku**  
**Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek**  
**Sveučilišni diplomski studij, smjer Ishrana bilja i tloznanstvo**

**UTJECAJ PORASTA TEMPERATURE NA POKAZATELJE STRESA U LISTOVIMA**  
**JABUKE**  
Maja Majtan

**Sažetak:**

Nedostatak oborina i dugotrajne visoke temperature negativno utječu na procese asimilacije kroz smanjenje sinteze kloroplastnih pigmenta u listu jabuke. Jedna od obrambenih strategija u uvjetima toplinskog stresa je sinteza i akumulacija prolina te intenziviranje procesa antioksidativnog odgovora kroz povećanu sintezu fenola i flavonoida, što doprinosi ukupnom antioksidativnom statusu biljaka. Cilj istraživanja bio je utvrditi sadržaj kloroplastnih pigmenta, prolina, fenola i flavonoida te antioksidativnu aktivnost u listovima 33 sorte jabuke uzgajane na dva klimatski različita lokaliteta u Hrvatskoj, Osijek i Donja Zelina. Listovi su uzorkovani krajem mjeseca lipnja 2021. i 2022. godine, nakon dugotrajnog razdoblja visokih temperatura. Utvrđen je značajan utjecaj sorte i lokaliteta na sve navedene parametre. Daljnja istraživanja trebalo bi usmjeriti prema povezivanju pokazatelja oksidacijskog stresa u listu s parametrima kvalitete ploda kako bi proizvođači mogli odabrati najstabilniju sortu za svoje uzgojne uvjete.

**Rad je izrađen pri:** Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

**Mentor:** prof.dr.sc. Miroslav Lisjak

**Broj stranica:** 47

**Broj slika i grafikona:** 11

**Broj tablica:** 17

**Broj literaturnih navoda:** 66

**Broj priloga:** 0

**Jezik izvornika:** Hrvatski

**Ključne riječi:** agroekološki uvjeti, oksidacijski stres, sorte jabuke ,

**Datum obrane:** 29.09.2023.

**Stručno povjerenstvo za obranu**

**1. prof.dr.sc. Tihana Teklić, predsjednik**

**2. prof.dr.sc Miroslav Lisjak, mentor**

**3. prof.dr.sc. Tomislav Vinković, član**

**Rad je pohranjen u:** Knjižnica Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište u Osijeku, Vladimira Preloga 1.

## **BASIC DOCUMENTATION CARD**

**Graduate thesis**

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek**  
**Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek**  
**University Graduate Studies, course Plant nutrition and soil science**

### **EFFECT OF TEMPERATURE INCREASE ON STRESS INDICATORS IN APPLE LEAVES**

Maja Majtan

#### **Summary:**

The lack of precipitation and long-term high temperatures negatively affect the assimilation processes by reducing the synthesis of chloroplast pigments in the apple leaf. One of the defense strategies in conditions of heat stress is the synthesis and accumulation of proline and the intensification of the antioxidant response process through increased synthesis of phenols and flavonoids, which contributes to the overall antioxidant status of plants. The aim of the research was to determine the content of chloroplast pigments, proline, phenols and flavonoids and the antioxidant activity in the leaves of 33 apple varieties grown in two climatically different localities in Croatia, Osijek and Donja Zelina. The leaves were sampled at the end of June 2021 and 2022, after a long period of high temperatures. A significant influence of variety and locality on all mentioned parameters was determined. Further research should be directed towards linking indicators of oxidative stress in the leaf with parameters of fruit quality so that producers can choose the most stable variety for their growing conditions.

**Thesis performed at:** Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

**Mentor:** Miroslav Lisjak, PhD, full professor

**Number of pages:** 47

**Number of figures:** 11

**Number of tables:** 17

**Number of references:** 66

**Number of appendices:** 0

**Original in:** Croatian

**Key words:** agroecological conditions, oxidative stress, apple varieties

**Thesis defended on date:** 29<sup>th</sup> of September 2023

#### **Reviewers:**

**1. Tihana Teklić, PhD, full professor**

**2. Miroslav Lisjak, PhD, full professor**

**3. Tomislav Vinković, PhD, full professor**

**Thesis deposited at:** Library, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Vladimira Preloga 1.