



UNIVERZITET U  
KRAGUJEVCU  
AGRONOMSKI FAKULTET U  
ČAČKU



UNIVERSITY OF  
KRAGUJEVAC  
FACULTY OF  
AGRONOMY  
CACAK

# **XXIV SAVETOVANJE O BIOTEHNOLOGIJI**

sa međunarodnim učešćem

**- ZBORNIK RADOVA 2 -**



---

Čačak, 15 - 16. Mart 2019. godine

# **XXIV SAVETOVANJE O BIOTEHNOLOGIJI**

**sa međunarodnim učešćem**

**- Z b o r n i k r a d o v a 2 -**

## **ORGANIZATOR I IZDAVAČ**

**Univerzitet u Kragujevcu,  
Agronomski fakultet u Čačku**

### **Organizacioni odbor**

Prof. dr Goran Dugalić, prof. dr Biljana Veljković, prof. dr Ljiljana Bošković-Rakočević, prof. dr Drago Milošević, dr Nikola Bokan, dr Milun Petrović, dr Milan Nikolić, dr Ranko Koprivica, dipl. inž. Miloš Petrović

### **Programski odbor**

Prof. dr Snežana Bogosavljević-Bošković, prof. dr Radojica Đoković, prof. dr Milena Đurić, prof. dr Milomirka Madić, prof. dr Leka Mandić, prof. dr Drago Milošević, prof. dr Tomo Milošević, prof. dr Aleksandar Paunović, prof. dr Lenka Ribić-Zelenović, prof. dr Vladeta Stevović, prof. dr Gordana Šekularac, dr Vladimir Kurčubić, vanredni profesor, dr Goran Marković, vanredni profesor, dr Pavle Mašković, vanredni profesor, dr Gorica Paunović, vanredni profesor, dr Snežana Tanasković, vanredni profesor, dr Tomislav Trišović, vanredni profesor, dr Milan Lukić, naučni saradnik, prof. dr Mlađan Garić

### **Tehnički urednici**

Dr Milun Petrović, dipl.inž. Miloš Petrović, dipl.inž. Dušan Marković

**Tiraž:** 180 primeraka

### **Štampa**

*Grafička radnja štamparija Bajić, V. Ignjatovića 12, Trbušani, Čačak  
Godina izdavanja, 2019*

## PREDGOVOR

Promene koje se ubrzano dešavaju na globalnom i lokalnom nivou od naučnih, klimatskih, ekonomskih pa do političkih podstiću potrebu da proučimo njihov uticaj na živi svet i na jednu od najvažnijih ljudskih delatnosti - proizvodnju hrane.

Naša poljoprivreda, naše selo, naši poljoprivredni proizvođači nisu danas ono što su i pre trideset, četrdeset ili manje godina bili, srpsko selo se danas više nego ikad ubrzano i u hodu menja. Poljoprivredna nauka mora preuzeti deo odgovornosti u pogledu proizvodnje dovoljne količine kvalitetne hrane za ljudsku ishranu jer prolaze vremena kada se za svaku lošu žetvu traže opravdanje u klimi.

Sa ciljem da budemo u toku određenih zbivanja, kao i da sami svojim rezultatima utičemo na razvoj poljoprivrede i njenih pratećih delatnosti osim kroz edukaciju studenata, Agronomski fakultet u Čačku organizuje i Savetovanje o biotehnologiji.

Osnovni cilj Savetovanja je upoznavanje šire naučne i stručne javnosti sa rezultatima najnovijih naučnih istraživanja, domaćih i inostranih naučnika iz oblasti osnovne poljoprivredne proizvodnje i prerade i zaštite životne sredine. Na taj način fakultet nastoji da omogući direktni prenos naučnih rezultata široj proizvodnoj praksi, pa pored naučnih radnika, agronoma, tehnologa, na ovogodišnjem Savetovanju biće i značajan broj poljoprivrednih proizvođača, stručnih savetodavaca, nastavnika, itd.

U Zborniku radova XXIV Savetovanja o botecnologiji sa međunarodnim učešćem, predstavljeno je ukupno 126 radova iz oblasti Ratarstva, Povrtarstva i Krmnog bilja, Voćarstva i vinogradarstva, Zootehnikе, Zaštite bilja, proizvoda i životne sredine i Prehrambene tehnologije.

Pokrovitelj za XXIV Savetovanje o biotehnologiji sa međunarodnim učešćem je Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije, a materijalnu i organizacionu podršku su nam pružili grad Čačak, privrednici, dugogodišnji prijatelji Agronomskog fakulteta, kojima se i ovim putem zahvaljujemo.

Kolektivu Agronomskog fakulteta, takođe dugujemo zahvalnost, jer su i ovaj put radnici svih struktura, svako na svoj način, doprineli realizaciji još jednog Savetovanja.

U Čačku, marta 2019. godine

Programski i Organizacioni odbor  
XXIV Savetovanja o biotehnologiji



## SADRŽAJ

### **Sekcija: Voćarstvo i vinogradarstvo**

Aleksandra Korićanac, Gorica Paunović, Jelena Mladenović, Ivan Glišić: PROMENE KVALITETA PLODOVA JABUKE ( <i>Malus domestica</i> Borkh.) TOKOM ČUVANJA U USLOVIMA NORMALNE ATMOSFERE.....	483
Dejan Prvulović, Radenka Kolarov, Marijana Peić Tukuljac, Maja Miodragović, Jovana Dulić, Goran Barać Vladislav Ognjanov: PHENOLIC CONTENT AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF SELECTED RED FRUITS.....	491
Dragan Nikolić, Dragan Milatović, Aleksandar Radović, Jugoslav Trajković: VARIJABILNOST VREMENA CVETANJA I ZAMETANJA PLODOVA KLONOVA OBLAČINSKE VIŠNJE.....	497
Gordana Šebek, Valentina Pavlova: BIOHEMIJSKA I TEHNOLOŠKA SVOJSTVA PLODA ODABRANIH GENOTIPOVA ŠIPURKA SA PODRUČJA BIJELOG POLJA...	505
Gordana Šebek: BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF FRUIT PLANTING MATERIAL GRAFTED ON BA 29 ROOTSTOCK IN MONTENEGRO.....	511
Gordana Šebek: BIOLOŠKE OSOBINE SADNOG MATERIJALA ČAČANSKIH SORTI ŠLJIVE PROIZVEDENOG NA PODRUČJU BIJELOG POLJA.....	517
Ivan Glišić, Tomo Milošević, Radmila Ilić, Gorica Paunović, Nenad Jovančić, Miloš Vujišić: IZMRZAVANJE CVETNIH PUPOLJAKA KAJSIJE ( <i>Prunus armeniaca</i> L.) TOKOM PERIODA MIROVANJA.....	523
Ivana Radojević, Sara Todorović, Ivana Mošić, Zlata Vidanović, Miloš Ristić: EFEKAT FOLIJARNOG ĐUBRIVA NA PRINOS I KVALitet NEKIH STONIH SORTI VINOVE LOZE.....	531
Jelena Živanović, Boris Bošnjak, Ivan Glišić: EFEKTI FOLIJARNE PRIMENE BIOREGULATORA, KALIJUMA I FOSFORA U INTENZIVNOJ PROIZVODNJI JABUKE SORTE GALA.....	537
Miljan Cvetković, Saša Kalamanda, Bojan Životić: EFIKASNOST I STRUKTURA ZIMSKE REZIDBE ŠLJIVE U INTENZIVnim ZASADIMA – STUDIJA SLUČAJA....	545
Mira Milinković, Nebojša Milošević, Darko Jevremović, Svetlana M. Paunović, Olga Mitrović, Žaklina Karaklajić-Stajić, Jelena Tomić: SADRŽAJ MAKRO I MIKROELEMENTATA U ZEMLJIŠTU POD ZASADIMA ŠLJIVE I JABUKE NA PODRUČJU KRAGUJEVCA.....	551
Mirko Kulina, Mirjana Radović, Grujica Vico: FIZIČKO-HEMIJSKE OSOBINE PLODA AUTOHTONIH SORTI JABUKE SA PODRUČJA SARAJEVA.....	559
Mlađan Garić, Miloš Ristić, Vera Vukosavljević: AGROBIOLOŠKA I TEHNOLOŠKA SVOJSTVA SORTE PROKUPAC U TOPLIČKOM REJONU.....	565
Nebojša Milošević, Ivana Glišić, Milena Đorđević, Milan Lukić, Sanja Radičević: ISPITIVANJE NEKİH SORTI ŠLJIVE IZ INSTITUTA ZA VOĆARSTVO, ČAČAK NA TRI LOKALITETA U REPUBLICI SRBIJI.....	571
Siniša Mitić, Zoran Maličević, Miljan Cvetković: DOZIRANJE I ODREĐIVANJE NORME UTOŠKA PESTICIDA U VOĆARSTVU.....	581
Stefan Petrović, Miljana Dubovac, Jelena Mrmošanin, Aleksandra Pavlović, Snežana Tošić: SUVO VOĆE KAO IZVOR ANTIOKSIDANASA.....	587

<i>Tatjana Jovanović-Cvetković, Dragan Đurić, Rada Grbić: UTICAJ PODLOGE NA KARAKTERISTIKE SORTE cv. SYRAH U UKRINSKOM VINOGORJU.....</i>	593
<i>Tatjana Popović, Slavko Mijović, Gordana Šebek, Danijela Raičević, Radmila Pajović: UTICAJ RAZLIČITIH VRSTA ĐUBRIVANA PRINOS I KVALitet GROŽĐA SORTE KRATOŠIJA.....</i>	599
<i>Томо Милошевић, Небојша Милошевић, Иван Глишић ДА ЛИ ЈЕ МОГУЋЕ ГАЈЕЊЕ ТРЕШЊЕ У ГУСТОЈ САДЊИ НА БУЈНОЈ ПОДЛОЗИ ОД ДИВЉЕ ТРЕШЊЕ (<i>Prunus avium L.</i>)?.....</i>	605
<i>Zorica Ranković-Vasić, Dragoljub Žunić, Branislava Sivčev, Vera Rakonjac, Dragan Nikolić: OSOBINE NOVOSTVORENE STONE SORTE VINOVE LOZE-ANTONINA.</i>	615
<b>Sekcija: Zootehnika</b>	
<i>Dušan Radivojević, Biljana Veljković, Ranko Koprivica: POSTUPCI PRI MUŽI I KVALitet MLEKA.....</i>	621
<i>Eldar Tanović, Edina Hajdarević, Alen Bajrić, Avdul Adrović, Amela Tanović: MORFOMETRIJSKI PARAMETRI ERITROCITA CARASSIUS GIBELIO (BLOCH, 1782) IZ JEZERA MODRAC.....</i>	627
<i>Marko R. Cincović, Branislava Belić: ZNAČAJ ODREĐIVANJA KVALITETA KRVI ŽIVOTINJA ZA SPRAVLJANJE MIKROBIOLOŠKIH PODLOGA.....</i>	633
<i>Miloš Ž. Petrović, Radojica Đoković, Marko Cincović, Branislava Belić, Miodrag Radinović, Milun D. Petrović, Vladimir Kurčubić, Zoran Ž. Ilić: UTICAJ METABOLIČKOG STATUSA NA REPRODUKTIVNU EFIKASNOST MLEČNIH KRAVA U PERIPARTALNOM PERIODU.....</i>	639
<i>Milun D. Petrović, Snežana Bogosavljević-Bošković, Simeon Rakonjac, Radojica Đoković, Vladimir Dosković, Miloš Petrović, Biljana Veljković: ORGANSKA PROIZVODNJA MLEKA.....</i>	647
<i>Milun D. Petrović, Simeon Rakonjac, Vladan Bogdanović, Snežana Bogosavljević-Bošković, Radojica Đoković, Vladimir Dosković, Miloš Petrović: PROIZVODNJA MLEKA PO MUZNOM, PRODUKTIVNOM I ŽIVOTNOM DANU KOD KRAVA SIMENTALSKE RASE U ZAVISNOSTI OD ODGAJIVAČKOG PODRUČJA.....</i>	655
<i>Radojica Đoković, Vladimir Kurčubić, Ilić Zoran, Milun D. Petrović, Marko Cincović, Miloš Petrović, Biljana Andelić: KONCENTRACIJE MAKRO I MIKROELEMENTATA U KRVNOM SERUMU KRAVA TOKOM TRANZICIONOG PERIODA I PUNE LAKTACIJE.....</i>	663
<i>Simeon Rakonjac, Snežana Bogosavljević-Bošković, Zdenka Škrbić, Miloš Lukić, Vladimir Dosković, Veselin Petričević, Milun D. Petrović: KVALitet LJUSKE JAJA KOKOŠI NOSILJA IZ RAZLIČITIH SISTEMA GAJENJA.....</i>	669
<i>Tatjana Ždralić, Jelena Nikitović, Miroslav Lalović, Darko Vujičić, Milica Mojević: UTICAJ STAROSTI NOSILJA NA POJEDINE OSOBINE KVALITETA KONZUMNIH JAJA...</i>	675
<i>Dosković Vladimir, Bogosavljević-Bošković Snežana, Škrbić Zdenka, Lukić Miloš, Petrović Milun, Rakonjac Simeon, Petričević Veselin: MINERALNI ADSORBENTI MIKOTOKSINA U ISHRANI DOMAĆIH ŽIVOTINJA.....</i>	683
<b>Sekcija: Prehrambena tehnologija</b>	
<i>Biljana Bojović, Dragana Jakovljević, Milan Stanković: EVALUACIJA ODABRANIH METODA ZA POBOLJŠANJE KLIJAVOSTI I RANE FAZE RAZVIĆA PŠENICE (<i>Triticum aestivum L.</i>).....</i>	691

<i>Dragana Jakovljević, Biljana Bojović, Milan Stanković, Marina Topuzović: BIOTEHNOLOŠKI POTENCIJAL ODABRANIH SORTI BOSILJKA (<i>Ocimum spp.</i> – LAMIACEAE).....</i>	697
<i>Dragana Stanislavlević, Tanja Žugić Petrović, Violeta Mickovski Stefanović, Ivana Mošić, Dragan Veličković, Dejan Davidović, Saša Petrović: MOGUĆNOST PRIMENE HERBE HYSSOPUS OFFICINALIS U PROIZVODNJI RAKIJE.....</i>	703
<i>Dragana S. Šeklić, Milena M. Jovanović, Milan S. Stanković, Marina D. Topuzović, Snežana D. Marković: PROAPOPTOTSKI I ANTIMIGRATORNI EFEKTI <i>Cordyceps sinensis</i> I <i>Ganoderma lucidum</i> NA HCT-116 ĆELIJAMA.....</i>	709
<i>Emilija Pecev-Marinković, Ana Miletić, Aleksandra Pavlović, Snežana Tošić, Ivana Rašić Mišić: PRIMENA KINETIČKE METODE ZA ODREĐIVANJE PESTICIDA ATRAZINA U INFANT FORMULAMA.....</i>	715
<i>Evgenia P. Klyuchka, Alexander D. Lukyanov: THE BIOTECHNOLOGICAL METHOD OF MEDICINAL PLANTS CULTIVATION WITH AEROPONICS AND LED LAMPS.....</i>	721
<i>Jelena Mašković, Lenka Ribić Zelenović, Pavle Mašković, Nataša Radisavljević: KVANTITATIVNA ANALIZA VODE ZAPADNE MORAVE ZA INDUSTRIJSKU PRIMENU.....</i>	729
<i>Jelena Mladenović, Milena Đurić, Ljiljana Bošković-Rakočević, Duško Brković, Mirjana Jeremić, Milan Vesković: ODREĐIVANJE OPTIMALNE METODE EKSTRAKCIJE KORENA <i>POLYGONUM BISTORTA</i> L.....</i>	735
<i>Jelena Popović-Đorđević, Maja Kozarski, Anita Klaus Nebojša Banjac: PRELIMINARY ASSESSMENT OF ANTIOXIDATIVE PROPERTIES OF GLUTARIMIDE DERIVATIVES.....</i>	741
<i>Marijana Kosanić: CANTHARELLUS CIBARIUS AS POTENT SOURCE OF BIOACTIVE COMPOUNDS.....</i>	747
<i>Milena Đurić, Jelena Mladenovoć, Ljiljana Bošković-Rakočević, Gordana Šekularac, Ljiljana Stefanović-Mandić: HEMIJSKA KARAKTERIZACIJA ORGANSKOG KROMPIRA.....</i>	753
<i>Milena Milutinović, Danijela Nikodijević, Milan Stanković, Vuk Maksimović, Snežana Marković: ANTITUMORSKI POTENCIJAL LISTOVA I PLODOVA BILJKE <i>Ligustrum vulgare</i> L. NA SW480 ĆELIJAMA KOLOREKTALNOG KARCINOMA.....</i>	757
<i>Nenad Zlatić, Dragana Jakovljević, Biljana Bojović, Milan Stanković: UTICAJ SALICILNE KISELINE NA RAZVIĆE BELE SLAĆICE U USLOVIMA STRESA INDUKOVANOG KADMIJUMOM I MANGANOM.....</i>	765
<i>Obrenija Kalamanda, Vlatka Đurašinović: PERMAKULTURA I POVRATAK PRIRODI....</i>	771
<i>Olgica Stefanović, Marina Stanković, Jelena Terzić: KONTROLA PATOGENIH BAKTERIJA U HRANI EKSTRAKTIMA ZAČINSKIH BILJAKA.....</i>	779
<i>Sanja Matić, Snežana Stanić, Milica Kanjevac: IN VIVO ANTIGENOTOKSIČNA AKTIVNOST ELAGINSKE I GALNE KISELINE.....</i>	785
<i>Tanja Žugić-Petrović, Mirjana Muruzović, Katarina Mladenović, Dragana Stanislavlević, Sunčica Kocić-Tanackov, Ljiljana Čomić: ANTIFUNGALNI EFEKAT ETARSKOG ULJA BOSILJKA I CRNOG KIMA NA RAST PLESNI <i>PENICILLIUM CORYLOPHILUM</i> NA OVČIJOJ STELJI.....</i>	791
<i>Vladimir Kurčubić, Pavle Mašković, Violeta Kitić: UPOREDNO ISPITIVANJE KVALITETA KAVURME PROIZVEDENE NA TRADICIONALNI NAČIN I U INDUSTRIJSKIM USLOVIMA.....</i>	797

<i>Zoran Broćić, Jelena Popović-Dorđević, Jelena Mutić, Jasmina Oljača, Dobrivoje Poštić, Sina Siavash Moghaddam:</i> CONTENT OF TOXIC ELEMENTS IN POTATO VARIETIES KENNEBEC AND KARLENA.....	803
<i>Zoran Marković, Dženeta Numanović, Marko Antonijević, Dejan Milenković, Edina Avdović, Žiko Milanović:</i> KOMPARATIVNA STUDIJA 7-HIDROKSIKUMARINA I 6,7-DIHIDROKSIKUMARINA.....	809
<i>Zoran Marković, Edina Avdović, Dejan Milenković, Dušan Dimić, Svetlana Jeremić, Jelena Dorović, Žiko Milanović:</i> ISPITIVANJE PROTEIN-LIGAND INTERAKCIJA HUMANE TIROZIL-DNK FOSFODIESTERAZE 1 i 3-(1-(2-HIDROKSIFENIL)AMINO)ETILIDEN) HROMAN-2,4-DIONA.....	815
<i>Zoran Marković, Svetlana Jeremić, Dženana Ferizović, Ana Amić, Jelena Đorović:</i> ISPITIVANJE MEHANIZAMA ANTIOKSIDATIVNE AKTIVNOSTI MALTOLA SA HIDROKSILNIM RADIKALOM.....	821
<i>Tomislav Trišović, Lidija Rafailović, Branimir Grgur, Svetomir Milojević, Milan Nikolić, Trišović Zaga:</i> PRANJE I DEZINFEKCIJA VODOVODNE MREŽE NA RELACIJI UŠĆE ZEMUN-PIRAMIDA NOVI BEOGRAD.....	827
<i>Tomislav Trišović, Branimir Grgur, Lidija Rafailović, Milica Popović, Trišović Zaga:</i> HIPERDEZINFEKCIJA BUNARA ZA VODOSNADBEVANJE TIPA RENI.....	835
<i>IN MEMORIAM Nikola Bokan, Profesor Agronomskog fakulteta.....</i>	845

## **PROMENE KVALITETA PLODOVA JABUKE (*Malus domestica* Borkh.) TOKOM ČUVANJA U USLOVIMA NORMALNE ATMOSFERE**

*Aleksandra Korićanac<sup>1</sup>, Gorica Paunović<sup>2</sup>, Jelena Mladenović<sup>2</sup>, Ivan Glišić<sup>2</sup>*

**Izvod:** U radu su prikazani rezultati senzorne ocene kvaliteta plodova jabuke, kao i hemijske analize koja je obuhvatila određivanje sadržaja rastvorljive suve materije, organskih kiselina, celuloze i vitamina C. Ispitivanja su vršena u dva termina, u decembru 2017. i februaru 2018. godine, a analizirane su sorte Džonagold, Zlatni Delišes, Ajdared i Greni Smit. Cilj istraživanja je bio utvrđivanje kvalitativnih promena plodova jabuke (*Malus domestica* Borkh.) tokom čuvanja u uslovima hladnjače sa normalnom atmosferom. Dobijeni rezultati pokazuju da se kvalitet plodova ispitivanih sorti značajno ne menja, izuzev sorte Zlatni Delišes čije se senzorne osobine pogoršavaju tokom skladištenja.

**Ključne reči:** jabuka, skladištenje, kvalitativne promene.

### **Uvod**

Prilagodavanje uslovima tržišta zahteva plasman svežih plodova jabuke tokom cele godine, što podrazumeva izgradnju i opremanje savremenih skladišnih kapaciteta. Tokom čuvanja plodova ili neposredno nakon njihovog iznošenja iz skladišta, na plodovima se mogu javiti različita fiziološka oboljenja, kao posledica metaboličkih procesa uskladištenog voća ili pak nepravilne tehnologije gajenja i skladištenja.

Prema podacima UN-a za hranu i poljoprivredu gubici u prinosima nakon berbe svežeg voća u 2002. godini kretali su se od 5 do 25% u razvijenim zemljama, a od 20 do 50% u zemljama u razvoju (FAOSTAT, 2018). Kako bi se ovi gubici smanjili, neophodno je stечi znanja o fiziološkim procesima u plodovima tokom rasta i razvoja, u periodu do i nakon berbe, kao i o uticaju faktora spoljašnje sredine na pogoršanje kvaliteta plodova. Proizvođačima voća u Srbiji na raspolaganju su najvećim delom hladnjače sa normalnom atmosferom (regulacija temperature i vlažnosti vazduha) pa je od izuzetnog značaja utvrđivanje kvalitativnih promena plodova jabuke tokom čuvanja u ovakvim objektima. Ukupna ocena kvaliteta plodova zavisi od njegovih spoljašnjih i unutrašnjih, fizičkih i hemijskih karakteristika. Poslednjih desetak godina, nastoji se da se u oceni sorti, uporedno sa hemijskim analizama (Harker et al., 2002a), realizuje i senzorno ocenjivanje (Harker et al., 2002b) kako bi se dobila što preciznija ocena kvaliteta plodova.

Cilj našeg rada je bio komparativna analiza kvaliteta plodova sorti Džonagold, Zlatni Delišes, Ajdared i Greni Smit. Navedene sorte se dugi period uzgajaju i

---

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija ([aleksandra.koricanac@yahoo.com](mailto:aleksandra.koricanac@yahoo.com)), student;

<sup>2</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija.

dominantne su u sortimentu jabuke u Republici Srbiji pa su najčešće zastupljene i u hladnjačama tokom skladištenja.

### Materijal i metode rada

Senzorna ocena kvaliteta plodova urađena je analizom najznačajnijih spoljašnjih i unutrašnjih karakteristika. Kao materijal za istraživanje su poslužili plodovi sorti Džonagold, Zlatni Delišes, Ajdared i Greni Smit, gajenih na području opštine Topola, ubranih u optimalnom vremenu i čuvanih u režimu NA (temperatura 0-2°C, vlažnost vazduha 90-92%). Ispitanici su kvalitet plodova ocenjivali bodovima na skali od 1 do 5 (1 – minimalna, 5 – maksimalna ocena). Kako bi se utvrdilo da li je tokom skladištenja došlo do promena koje ispitanici mogu registrovati, ispitivanje je obavljeno u dva termina ( $T_1$  - 28.12.2017. i  $T_2$  - 28.2.2018.). Sadržaj rastvorljive suve materije određen je refraktometrijski korišćenjem ručnog refraktometra Milwaukee MR 200 (ATC, Rocky Mount, USA). Određivanje organskih kiselina izvršeno je volumetrijskom titracijom rastvorom baze (natrijum-hidroksida) poznate koncentracije, u prisustvu indikatora fenolftaleina; sadržaj celuloze određen je metodom po Šarer – Kiršneru (Scharrer – Kürschner), a za kvantitativno određivanje vitamina C korišćena je metoda po Tilmansu (Tillmans) (Cvijović, Aćamović – Đoković, 2005).

Podaci su statistički obrađeni izračunavanjem srednje vrednosti, a njena apsolutna varijabilnost je definisana uz pomoć standardne greške srednje vrednosti ( $\pm SE$ ).

### Rezultati istraživanja i diskusija

Kvalitet plodova definisan je morfološko-fiziološkim, biohemijskim i organoleptičkim osobinama, pri čemu jabuka svojim karakteristikama treba da zadovolji potrebe, navike i želje potrošača. Osnovni parametri koji utiču na kvalitet ploda su oblik, veličina, boja, ukus, tekstura i čvrstina ploda (Abbott et al., 2004). Oblik ploda je bitna osobina kod jabuke, prevashodno zbog marketinške uloge. Plodovi pravilnog i ujednačenog oblika pogodniji su za sortiranje, a zbog svoje atraktivnosti imaju i veću tržišnu vrednost (Cvetković i sar., 2013). Senzornom analizom oblika ploda ispitanici su dali ujednačene ocene za sve ispitivane sorte (Tabela 1). Ispitanici su, u oba termina evaluacije, kao sortu sa najpovoljnijom veličinom ploda ocenili sortu Greni Smit, dok je najmanju ocenu dobila sorta Džonagold. Na osnovu ocene veličine plodova u drugom terminu, uočava se da su plodovi bili manje atraktivni, što se može objasniti metabolizmom istih tokom skladištenja (Pašalić, 2006). Boja pokožice ploda ima veliki uticaj kod potrošača jer pruža informaciju o identitetu i kvalitetu sorte. Sorta Džonagold je prema oceni ispitanika najslabije obojena, što je i sortni nedostatak. Istovremeno, u prvom terminu analize, visoko su ocenjene jednobojne sorte Zlatni Delišes (3,83) i Greni Smit (3,56) (Tabela 1). Na osnovu senzorne evaluacije spoljašnjih osobina ploda može se zaključiti da sorta Ajdared ima dobar skladišni potencijal što je jedan od razloga za zadržavanje iste u proizvodnji iako je njena zastupljenost u zasadima voćarski razvijenih zapadno-evropskih država svega 1,77% (Milošević i sar., 2007).

Tabela 1. Spoljašnje senzorne karakteristike ploda jabuke  
 Table 1. Outer sensory characteristics of apple fruit

Sorta <i>Cultivar</i>	Oblik <i>Shape</i>		Veličina <i>Size</i>		Boja <i>Color</i>		Prosek <i>Average</i>		Promena <i>Change</i>
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	
Džonagold <i>Jonagold</i>	3,10	3,01	2,95	2,88	2,84	3,20	2,96	3,03	+2,3%
Z. Delišes <i>G. Delicious</i>	3,96	2,63	4,09	3,02	3,83	2,62	3,96	2,75	-30,6%
Ajdared <i>Idared</i>	3,87	3,94	3,86	3,82	4,10	4,28	3,94	4,01	+1,8%
Greni Smit <i>G. Smith</i>	3,94	3,52	4,31	3,54	3,56	3,13	3,94	3,40	-13,7%
Prosek <i>Average</i>	3,72	3,28	3,80	3,32	3,58	3,31	3,70	3,30	
Promena <i>Change</i>	±0,21		±0,29		±0,30		±0,22		
	-11,8%		-12,6%		-7,5%				

Najveća promena spoljašnjih senzornih karakteristika plodova registrovana je kod sorti Zlatni Delišes (-30,6%) i Greni Smit (-13,7%), dok su se spoljašnje senzorne osobine ploda sorti Džonagold i Ajdared neznatno poboljšale u T<sub>2</sub> u odnosu na T<sub>1</sub> (+2,3%, odnosno +1,8%).

Na osnovu podataka iz Tabele 1. može se zaključiti da čuvanje jabuka u uslovima normalne atmosfere u periodu od decembra do februara negativno utiče na promenu veličine (-12,6%) i oblika ploda (-11,8%), dok je degradacija boje izražena u manjoj meri (-7,5%).

Čvrstina, ukus, tekstura i sočnost ploda analizirani su kao bitne unutrašnje osobine ploda, a rezultati senzorne evaluacije prikazani su u Tabeli 2.

Sorta Greni Smit je visoko ocenjena (preko 4 u oba termina) u pogledu senzorne analize čvrstoće ploda, dok sorta Zlatni Delišes ima najmanju ocenu za ovu osobinu (3,58 u prvom, odnosno 2,80 u drugom terminu). Tokom skladištenja dolazi do strukturnih promena polisaharida, što je i osnov promene čvrstine ploda (Pašalić, 2006). Ortiz et al. (2011) su u svom istraživanju dokazali da kalcijum ima važnu ulogu u inhibiciji mekšanja plodova jer utiče na promenu intra- i ekstracelularnih procesa čime se produžava vreme skladištenja. Tokom skladištenja plodova nastavlja se hidroliza skroba do monosaharida što doprinosi nastanku slatkog ukusa. Međutim, na formiranje ukusa, pored šećera utiču i kiseline i to primarno jabučna, kao dominantna kiselina u plodovima jabuke. Prilikom prve senzorne analize najveću ocenu za ukus dobila je sorta Zlatni Delišes (4,14), dok je u februaru ocena za isto svojstvo bila najniža (2,86). Sorta Džonagold je u oba termina dobila visoke ocene za ukus, što je saglasno mišljenju da je Džonagold jedna od najukusnijih sorti jabuke. Najmanje prosečne ocene u prvom terminu evaluacije imala je sorta Greni Smit, a u drugom sorta Zlatni Delišes. Ovi rezultati se mogu objasniti činjenicom da sorta Greni Smit tehnološku (konzumnu)

zrelost postiže tokom čuvanja, dok je sorta Zlatni Delišes tokom čuvanja u uslovima hladnjače sa normalnom atmosferom sklona degradaciji kvaliteta.

Tabela 2. Unutrašnje senzorne karakteristike ploda jabuke  
Table 2. Inner sensory characteristics of apple fruit

Sorta <i>Cultivar</i>	Čvrstina <i>Firmness</i>		Ukus <i>Taste</i>		Tekstura <i>Texture</i>		Sočnost <i>Juiciness</i>		Prosek <i>Average</i>		Promena <i>Change</i>	
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>		
Džonagold <i>Jonagold</i>	3,89	3,76	3,71	3,79	3,75	3,87	4,12	4,08	3,87	3,88	/	
Z. Delišes <i>G. Delicious</i>	3,57	2,80	4,14	2,86	3,79	2,64	3,75	2,60	3,81	2,73	-28,3%	
Ajdared <i>Idared</i>	3,61	3,99	3,10	3,25	3,06	3,62	3,66	3,39	3,36	3,56	+5,9%	
Greni Smit <i>G. Smith</i>	4,06	4,56	2,91	2,35	3,11	3,57	2,79	3,04	3,22	3,38	+4,9%	
Prosek <i>Average</i>	3,78	3,78	3,47	3,06	3,43	3,43	3,58	3,28	3,57	3,39		
Promena <i>Change</i>	/		-11,8%		/		-8,4%					

Prosečna ocena unutrašnjih senzornih osobina plodova sorte Zlatni Delišes u drugom terminu ocenjivanja bila je niža za 28,3%. Kod plodova sorte Džonagold nije uočena promena prosečne ocene unutrašnjih osobina, dok je kod sorti Ajdared i Greni Smit ova promena bila neznatna.

Iz tabelarnih podataka (Tabela 2) može se zaključiti da je ukus ploda najviše podložan degradaciji tokom skladištenja (-11,8%), a razlog tome može biti gubitak lako isparljivih aromatičnih supstanci koje doprinose formiranju ukusa. Takođe, može se zaključiti da se promene čvrstine, ukusa, teksture i sočnosti ploda značajno razlikuju od sorte do sorte. Tako su se ocene svih navedenih osobina kod sorte Zlatni delišes, smanjivale od decembra do februara. Kod Džonagolda su se ocene čvrstine i sočnosti smanjivale, a ukusa i teksture povećavale. Kod Ajdareda se samo ocena sočnosti smanjivala sa dužim skladištenjem, dok su se ocene svih ostalih osobina povećavale.

Hemijski sastav ploda jabuke je vrlo kompleksan. Usled različitih metaboličkih procesa (sinteza etilena, razgradnja skroba, degradacija protopektina...), tokom čuvanja plodova dolazi do intenzivnih promena u hemijskom sastavu.

Najveći sadržaj rastvorljive suve materije u prvom terminu ocenjivanja (19,3%) imala je sorta Džonagold, a najmanji sadržaj sorta Greni Smit (13,0%). U drugom terminu analize zabeležen je veći sadržaj rastvorljive suve materije što je i očekivano uvezši u obzir odvijanje transpiracije tokom skladištenja. Hemijska analiza sadržaja organskih kiselina, celuloze i vitamina C rađena je i u kori i u mezokarpu ploda kod sve četiri ispitivane sorte (Tabela 3).

Tabela 3. Sadržaj RSM, organskih kiselina, celuloze i vitamina C u plodovima jabuke  
 Table 3. The content of soluble solids, organic acids, cellulose and vitamin C in apple fruits

Sorta <i>Cultivar</i>	RSM (%)		Organske kiseline (%)		Celuloza(%)		Vitamin C(mg/100 g)	
	SSC (%)		TA (%)		Cellulose (%)		Vitamin C (mg/100g)	
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>
Džonagold (k) <i>Jonagold (e)</i>	/	/	0,19	0,15	5,35	5,75	7,81	6,92
Džonagold (m) <i>Jonagold (m)</i>	19,3	19,8	0,25	0,21	3,12	3,42	8,90	7,41
Z. Delišes (k) <i>G. Delicious (e)</i>	/	/	0,32	0,27	5,52	5,71	9,21	8,70
Z. Delišes (m) <i>G. Delicious (m)</i>	16,4	16,7	0,19	0,11	3,34	3,43	7,49	7,15
Ajdared (k) <i>Idared (e)</i>	/	/	0,47	0,39	3,64	3,71	9,69	9,60
Ajdared (m) <i>Idared (m)</i>	13,4	13,7	0,12	0,11	2,85	2,87	7,06	7,00
G. Smit (k) <i>G. Smith (e)</i>	/	/	0,99	0,71	5,60	5,69	18,10	14,50
G. Smit (m) <i>G. Smith (m)</i>	13,0	14,4	0,86	0,59	2,20	2,25	12,16	7,25
Prosek	7,80	8,08	0,42	0,32	3,95	4,10	10,05	8,57
Average	±1,54	±1,38	±0,12	±0,08	±0,47	±0,50	±1,28	±0,91
Promena <i>Change</i>	+3,5%		-23,8%		+3,8%		-14,7%	

k-kora; e-exocarp; m-mezokarp (mesocarp);

Plod jabuke sadrži od 0,2 do 0,9% jabučne kiseline (Gvozdenović i Davidović, 1990), a dobijeni rezultati se neznatno razlikuju od navedenih literaturnih. Sorte Džonagold, Zlatni Delišes i Greni Smit u kori imaju ujednačen i veći sadržaj celuloze od sorte Ajdared. Generalno manji sadržaj celuloze u mezokarpu u odnosu na koru je očekivan.

Značajna antioksidativna aktivnost karakteriše plod jabuke, posebno pokožicu. Najveći sadržaj vitamina C registriran je kod sorte Greni Smit. Iz rezultata prikazanih u Tabeli 3. uočava se da kod sorte Greni Smit sadržaj vitamina C značajno opada tokom skladištenja, kako u kori (sa 18,10 na 14,50 mg), tako i u mezokarpu (sa 12,16 na 7,25 mg). Tendencija opadanja sadržaja vitamina C ustanovljena je i kod ostalih sorti.

Tokom čuvanja plodova četiri sorte jabuke u uslovima hladnjače sa NA opada prosečan sadržaj kiselina za 23,8%, kao i sadržaj vitamina C (-14,7%). Uočava se povećanje prosečnog sadržaja celuloze (+3,8%) i RSM (+3,5%) što je posledica gubitka vode tokom skladištenja usled odvijanja metaboličkih procesa.

## Zaključak

Senzorna analiza spoljašnjih karakteristika ukazuje da ispitanici prednost daju sortama krupnih plodova sa izraženom i atraktivnom bojom na što većoj površini ploda. Većina ispitivanih sorti ima ujednačenu ocenu unutrašnjih i spoljašnjih osobina, izuzev sorte Zlatni Delišes, koja je tokom čuvanja u uslovima normalne atmosfere sklna degradaciji kvaliteta ploda. Čuvanje plodova u uslovima normalne atmosfere negativno utiče na oblik, veličinu i ukus plodova, što je posledica transpiracije i isparavanja aromatičnih supstanci, dok se ostale osobine nezнатно menjaju.

Najveći sadržaj rastvorljive suve materije registrovan je kod sorte Džonagold što je saglasno sa senzornom analizom prema kojoj ova sorta ima najbolji ukus. Sorta Greni Smit ima najveći sadržaj organskih kiselina i vitamina C.

U Republici Srbiji su najbrojnije hladnjače sa normalnom atmosferom. Rezultati ovog rada pokazuju da se kvalitet plodova Ajdareda, Džonagolda, Greni Smita, sa izuzetkom sorte Zlatni Delišes, u navedenim uslovima čuvanja ne menja značajno u periodu od decembra do februara. Izgradnjom većeg broja ULO hladnjača bilo bi moguće dodatno smanjiti intenzitet fizioloških procesa uskladištenih plodova, uz celogodišnje snabdevanje tržišta visokokvalitetnim plodovima čak i onih sorti koje su podložne degradaciji kvaliteta tokom čuvanja u uslovima normalne atmosfere.

## Literatura

- Abbott, J.A., Saftner, R. A., Gross, K. C., Vinyard, B. T., Janick, J. (2004): Consumer evaluation and quality measurement of fresh-cut slices of "Fuji", "Golden Delicious", "GoldRush", and "Granny Smith" apples. Postharvest Biology and Technology, 33: 127–140.
- Cvetković, M., Paunović, G., Gjamovski, V. (2013): Senzorna ocena kvaliteta plodova jabuke. XVIII Savetovanje o biotehnologiji sa međunarodnim učešćem – zbornik radova, 18, 20: 257-265.
- Cvijović, M., Acamović – Đoković, G. (2005): Praktikum iz biohemije. Agronomski fakultet u Čačku, Čačak: 91.
- FAOSTAT (2018): Доступно на: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QCA>
- Gvozdenović, D., Davidović, M. (1990): Berba i čuvanje voća, Nolit, Beograd.
- Harker, F.R., Maindonald, J., Murray, S.H., Gunson, F.A., Hallett, I.C., Walker, S.B. (2002a): Sensory interpretation of instrumental measurements 1: texture of apple fruit. Postharvest Biology and Technology, 24: 225–239.
- Harker, F.R., Marsh, K.B., Young, H., Murray, S.H., Gunson, F.A., Walker, S.B. (2002b): Sensory interpretation of instrumental measurements 2: sweet and acid taste of apple fruit. Postharvest Biology and Technology, 24: 241–250.
- Milošević, N., Milošević, T., Zornić, B., Marković, G., Glišić, I. (2007): Biološko-privredne osobine novijih sorti jabuke. Savremena poljoprivreda, 56, 6: 71-77.
- Ortiz, A., Graell, J., Lara, I. (2011): Cell wall-modifying enzymes and firmness loss in ripening 'Golden Reinders' apples: A comparison between calcium dips and ULO storage. Food Chemistry, 128: 1072-1079.

Pašalić, B. (2006): Berba, pakovanje i skladištenje plodova voćaka. Poljoprivredni fakultet Banja Luka: 169.

## CHANGES IN APPLE FRUIT (*Malus domestica* Borkh.) QUALITY DURING A NORMAL ATMOSPHERE STORAGE

Aleksandra Korićanac<sup>1</sup>, Gorica Paunović<sup>2</sup>, Jelena Mladenović<sup>2</sup>, Ivan Glišić<sup>2</sup>

### Abstract

During the research, sensory evaluation of fruit quality was carried out and some selected chemical characteristics were investigated. All analyses were performed in two terms, in December 2017 and February 2018; four apple cultivars (Jonagold, Golden Delicious, Idared, Granny Smith) were examined. The aim of the work was to compare the changes in the qualitative characteristics of apple (*Malus domestica* Borkh.) during storage in a cold room with a normal atmosphere. The obtained results give the possibility to conclude that apple storage in a cold room with a normal atmosphere did not affect significantly qualitative characteristics of examined cultivars.

**Key words:** apple, storage, qualitative changes.

---

<sup>1</sup> University of Kragujevac, Faculty of Agronomy Čačak, Cara Dušana 34, Čačak, Serbia (aleksandra.koricanac@yahoo.com), student

<sup>2</sup> University of Kragujevac, Faculty of Agronomy Čačak, Cara Dušana 34, Čačak, Serbia



## PHENOLIC CONTENT AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF SELECTED RED FRUITS

Dejan Prvulović<sup>1</sup>, Radenka Kolarov<sup>1</sup>, Marijana Peić Tukuljac<sup>1</sup>,  
Maja Miodragović<sup>1</sup>, Jovana Dulić<sup>1</sup>, Goran Barać<sup>1</sup> Vladislav Ognjanov<sup>1</sup>

**Abstract:** The antioxidant activity and the composition of phenolic compounds (total phenolics, tannins, flavonoids and anthocyanins) of methanol extracts of blackthorn, hawthorn and blackberry fruits have been studied. The results showed that hawthorn and blackberry fruits contain significantly higher amount of total phenolics and has higher antioxidant capacity than blackthorn fruits. Blackthorn fruits posses significantly higher concentration of total tannins than other two investigated fruit species.

**Key words:** antioxidant activity, blackberry, blackthorn, hawthorn, phenolics

### Introduction

The term ‘red fruits’ is used to name the small fruits, sweet or bitter, and intensely colored (usually red, purple or blue) that grow in wild bushes or forests (Hidalgo and Almajano, 2017). The interest on the phytochemicals and secondary metabolites in wild-growing fruits increased during past few decades. Numerous studies have revealed antioxidant, antimicrobial, protective and curative activities of different phytochemicals presented in wild-growing fruits. Antioxidants are chemical compounds that inhibit oxidation process by preventing the formation of harmful free radicals in cells (Carlsen et al., 2010).

Blackberry (*Rubus fruticosus* L.) belongs to the family of Rosaceae and is a rich source of different phytochemicals, including minerals, vitamins and phenolic compounds. Blackberry have been grown in Europe for thousands of years and has been known for its medicinal properties. Blackberry fruits are high in antioxidant scavengers of free radicals and have been known to play an important role in reducing cancer risk, cardiovascular diseases etc. (Baby et al., 2017).

Blackthorn (*Prunus spinosa* L.) is a fruit of the Rosaceae family. It is a deciduous shrub native to Europe, western Asia and northwest Africa and grows wild in various regions of Serbia. The fruits are black-bluish in color with astringent taste. Fruits are mostly too bitter for human consumption but can be processed into jams, fruit wines or liqueurs. Liqueurs are used for its laxative, astringent, purgative and diuretic properties (Ruiz-Rodríguez et al., 2014; Aliyaicioglu et al., 2015).

Hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.) belongs to Rosaceae family and grows as a shrub or tree in deciduous forests and underbrush. Species from *Crataesus* genus are native to northern temperature zones. Fruits, leaves and flowers of hawthorn are well known in phytotherapy for the treatment of many cardiovascular diseases. Hawthorn

<sup>1</sup>University of Novi Sad, Faculty of Agriculture, Trg Dositeja Obradovića 8, Novi Sad, Serbia (dejanp@polj.uns.ac.rs)

fruits also could be eaten and processed into wine, jam, candy, compote or juice (Kostić et al., 2012; Tahirović and Bašić, 2014).

The aim of this research was to study the content of main phenolic compounds and antioxidant capacity of fruits of three wild-growing species from eastern Serbia.

## Material and methods

**Plant material:** Fruits of wild growing blackthorn, hawthorn and blackberry were picked up at full maturity in vicinity of town of Žagubica, Eastern Serbia. Samples were kept refrigerated and transferred to laboratory. One gram of edible parts of each fruits was extracted in 70% (v/v) methanol overnight. The extracts were filtered and centrifuged at 8000 rpm for 15 minutes. Extracts were used for further biochemical analysis.

**Phenolic compounds:** The total contents of phenolics (TP) and tannins (TT) was determined using a Folin-Ciocalteu colorimetric method (Nagavani and Raghava Rao, 2010) and the results were expressed in milligrams of quercetin equivalents per 1 g of fresh fruit weight (mg QE/g). Data are reported as means for at least three replications for all performed assays. The total flavonoid (TF) content in the fruit extracts were measured by the aluminum chloride spectrophotometric assay (Saha et al., 2013). Total flavonoid content was determined from the regression equation of the quercetin calibration curve, and expressed as mg quercetin equivalent (QE) gram of fresh weight of selected fruits. The content of total anthocyanins (TA) in the obtained crude extracts of selected fruits was determined spectrophotometrically by measuring the difference in the absorbance between solutions of pH 1.0 and pH 4.5 at absorption on 510 and 700 nm (Giusti and Wrolstad, 2001). Values are expressed as mg cyanidin-3-glucoside equivalents per gram of fresh fruit weight (mg C3GE/g).

**Antioxidant assays:** Scavenging of free radicals was tested in a DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) acetone solution (Lai and Lim, 2011). The degree of decoloration of solution indicates the scavenging efficiency of the substance added. Methanolic solution of known trolox concentrations were used for calibration and the results were expressed as mg trolox equivalents per g of dry plant material (mg TE/g). Ferric-reducing antioxidant power (FRAP) assay was carried out according to the procedure described in the literature (Valentão et al., 2002). The ABTS assay was based on a method developed by Miller et al. (1993). The standard curve was constructed using different concentrations of trolox, and the results were expressed as mg trolox equivalents per gram of dry plant material (mg TE/g).

**Statistical analysis.** Results were expressed as a mean value of determinations of 3 independent samples made in triplicates. Statistical significance was tested by analysis of variance followed by comparison of means by Duncan's multiple range test ( $P < 0.05$ ) calculated using STATISTICA for Windows version 12.0 (StatSoft, Tulsa, OK, USA). Stepwise multiple regression analyses were used to determine correlation among variables.

## Results and discussion

Results of the determination of the main phenolic compounds of blackthorn, hawthorn and blackberry fruits are shown in table 1.

Numerous parameters, like maturity stage, harvesting, fruit species, variety or cultivar, handling conditions and others seriously affect the chemical composition of fruit. The methods of sample preparation (extraction procedure) also influence the obtained results (Prvulović et al., 2011, 2016). From the results presented in table 1, it is obvious that hawthorn had the highest TP content among the investigated fruit species (8.947 mgQE/g), followed by blackberry (6.509 mgQE/g) and blackthorn (3.642 mgQE/g). Other researchers have found similar content of TP in investigated fruit species. Oanacea and Călin (2016) analyzed blackberry fruits purchased from local market and found the same concentration of TP in fruits as presented in this investigation. However, some other researchers reported lower content of TP in blackberry fruits compared with our results (Jakobek et al., 2007; Stajčić et al., 2012). Results about TP content in hawthorn fruits reported in different papers are quite inconsistent. Some researchers found out higher concentration of TP compared with our findings (Kostić et al., 2012; Salmanian et al., 2014), while some others reported lower content of TP (Ruiz-Rodríguez et al., 2014; Tahirović and Bašić, 2014). Differences in the contents of phytochemicals in fresh fruits may be consequence of different growing conditions, the climate in the first place, and also depends on the extraction solvent, extraction methods and extraction time. Total phenolics content in blackthorn fruits could be much higher (Velicković et al., 2014), little bit higher (Sikora et al., 2013), same or lower (Ruiz-Rodríguez et al., 2014) compared with results from this paper.

Tabela 1. Sadržaj fenolnih jedinjenja u plodovima trnjine, gloga i kupine  
*Table 1. Content of phenolic compounds in fruits of blackthorn, hawthorn and blackberry*

Parametar Parameter	Voće Fruit		
	Trnjina Blackthorn	Glog Hawthorn	Kupina Blackberry
Ukupni fenoli <sup>1</sup> <i>Total phenolics<sup>1</sup></i>	3.642 ± 0.533a	8.947 ± 0.658b	6.509 ± 0.538c
Ukupni tanini <sup>1</sup> <i>Total tannins<sup>1</sup></i>	1.233 ± 0.170a	0.535 ± 0.368b	0.347 ± 0.138b
Ukupni flavonoidi <sup>1</sup> <i>Total flavonoids<sup>1</sup></i>	0.540 ± 0.114a	0.401 ± 0.034a	0.186 ± 0.009b
Ukupni antocijani <sup>2</sup> <i>Total anthocynins<sup>2</sup></i>	0.169 ± 0.004a	0.166 ± 0.024a	0.146 ± 0.015a

<sup>1</sup>mg kvercetina/g suvog biljnog materijala  
<sup>1</sup>mg quercecin equivalents/g dry plant material (mg QE/g)  
 a-c vrednosti u okviru istog reda sa različitom slovnom oznakom se statistički značajno razlikuju ( $P < 0,01$ )  
<sup>2</sup>a-c values without the same letter within each row differ significantly ( $P < 0.01$ )

From the results shown in table 1 it can be seen that blackthorn fruits posses more TT (1.233 mgQE/g) compared to fruits of hawthorn (0.535mgQE/g) and blackberry (0.347 mgQE/g).

It is observed that contents of TF in hawthorn (0.401 mgQE/g) and blackthorn (0.540 mgQE/g) are higher than in blackberry (0.186 mgQE/g). Concerning content of TF in fresh fruits results reported by Kostić et al. (2012), Ruiz-Rodríguez et al. (2014), Salmanian et al. (2014) and Tahirović and Bašić (2014) for hawthorn and by Stajčić et al. (2012) for blackberry were similar with our findings. Ruiz-Rodríguez et al. (2014) and Veličković et al. (2014) reported a higher amount of TF in blackthorn fruits compared with our results.

The content of total anthocyanins (TA) were examined and the results are presented in table 1. It is interesting that all three examined fruit species had similar content of TA: 0.169 mgC3GE/g (blackthorn), 0.166 mgC3GE/g (hawthorn) and 0.146 mgC3GE/g (blackberry). These results are in agreement with work of Stajčić et al. (2012) for blackberry, Tahirović and Bašić (2014) for hawthorn and Veličković et al. (2014) for blackthorn. However, some researchers found out higher (Jakobek et al., 2007; Kostić et al., 2012; Oanacea et al., 2015; Salmanian et al., 2014) or lower (Sikora et al., 2013) amount of TA in selected fruits

**Tabela 2. Antioksidativna aktivnost ekstrakata trnjine, gloga i kupine**  
**Table 2. Antioxidant activity of fruits' extracts of blackthorn, hawthorn and blackberry**

Parametar Parameter	Voće Fruit		
	Trnjina <i>Blackthorn</i>	Glog <i>Hawthorn</i>	Kupina <i>Blackberry</i>
DPPH <sup>1</sup>	2.401 ± 0.501a	2.523 ± 0.657a	2.240 ± 0.202a
ABTS <sup>2</sup>	9.741 ± 2.737a	27.148 ± 3.574b	23.095 ± 2.583b
FRAP <sup>1</sup>	6.056 ± 1.356a	16.846 ± 1.917b	15.997 ± 1.802b

<sup>1</sup>mg troloksa/g suvog biljnog materijala;  
<sup>2</sup>mg trolox equivalents/g dry plant material  
a-c vrednosti u okviru istog reda sa različitom slovnom oznakom se statistički značajno razlikuju ( $P < 0,01$ )  
a-c values without the same letter within each row differ significantly ( $P < 0.01$ )

Antioxidant activities of extracts of three selected fruits were determined with three different assays: FRAP, ABTS and DPPH (table 2). These methods are the most used for the evaluation of the antioxidant properties and antiradical activity of natural products. Results revealed that there are no significant difference of different fruit extracts in antioxidant capacity measured by DPPH assay. The results obtained in this work by ABTS and FRAP assays showed that hawthorn and blackberry extract possess significantly higher antioxidant activity compared to the blackthorn extract.

### Conclusion

In this work, the main phenolic compounds and antioxidant capacity of wild-growing blackberry, hawthorn and blackthorn was determined. The hawthorn fruits had

the highest total phenolic content, while the highest total tannins content was determined in fruits of blackberry. Total anthocyanins content was similar in fruits of all three selected species. Antioxidant activity measured by three different assays was higher in fruits of hawthorn and blackberry compared with extracts of blackberry fruits.

### Acknowledgment

The research presented in this article is part of project "Rural development based on knowledge, innovation and competitiveness of the indigenous fruit production and processing" (No. 142-451-2444/2018-03) financially supported by Provincial Secretariat for Higher Education and Scientific Research, Vojvodina, Serbia

### References

- Aliyazicioglu R., Yildiz O., Sahin H., Eyuboglu O.E., Ozkan M.T., Karaoglu S.A., Kolayli S. (2015). Phenolic components and antioxidant activity of *Prunus spinosa* from Gumushane, Turkey. Химия Природных Соединений, 2: 1-3.
- Baby B., Antony P., Vijayan R. (2017). Antioxidant and anticancer properties of berries. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1329198>
- Carlsen M.H., Halvorsen B.L., Holte K., Bøhn S.K., Dragland S., Sampson L., Willey C., Senoo H., Umezono Y., Sanada C., Barikmo I., Berhe N., Willett W.C., Phillips K.M., Jacobs Jr D.R., Blomhoff R. (2010). The total antioxidant content of more than 3100 foods, beverages, spices, herbs and supplements used worldwide. Nutrition Journal, 9: 3.
- Giusti M.M., Wrolstad R.E. (2001). Current Protocols in Food Analytical Chemistry. Schwartz S.J. and Wrolstad R.E. (eds.), New York, USA: John Wiley and Sons.
- Hidalgo G-I., Almajano M.P. (2017). Red fruits: Extraction of antioxidants, phenolic content, and radical scavenging determination: A review. Antioxidants, 6: 7, doi:10.3390/antiox6010007.
- Jakobek L., Šeruga M., Novak I., Medvidović-Kosanović M. (2007). Flavonols, phenolic acids and antioxidant activity of some red fruits. Deutsche Lebensmittel-Rundschau, 103 (8): 369-378
- Kostić D.A., Velicković J.M., Mitić S.S., Mitić M.N., Randelović S.S. (2012). Phenolic content, and antioxidant and antimicrobial activities of *Crataegus oxyacantha* L. (Rosaceae) fruit extract from southeast Serbia. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 11 (1): 117-124.
- Lai H. Y., Lim Y.Y. (2011). Evaluation of antioxidant activities of the methanolic extracts of selected ferns in Malaysia. International Journal of Environmental Science and Development, 2 (6): 442-447.
- Miller N.J., Rice-Evans C., Davies M.J., Gopinathan V., Milner A. (1993). A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring and antioxidant status in premature neonates. Clinical Science, 84: 407-412.

- Nagavani V., Raghava Rao T. (2010). Evaluation of antioxidant potential and identification of polyphenols by RP-HPLC in *Michelia champaca* flowers. Advances in Biological Research, 4 (3): 159-168.
- Oanacea S., Călin F. (2016). Changes in total phenolics and anthocyanins during blackberry, raspberry and cherry jam processing and storage. Romanian Biotechnological Letters, 21 (1): 11232-11237.
- Oanacea S., Grosu C., Ketney O., Stoia M. (2015). Oxidative stabilization of rapeseed oil with synthetic α-tocopherol and anthocyanin extracts of blackberry, bilberry and sweet cherry fruits. Oxidation Communications, 38 (1): 77-84.
- Prvulović D., Malenčić Dj., Barać G., Ljubojević M., Ognjanov V. (2016). The influence of maturity stage and extraction solvents on phenolic content and antioxidant activity of three sweet cherry cultivars. Lucrări Științifice, seria Agronomie, 59 (2): 403-408.
- Prvulović D., Malenčić Dj., Popović M., Ljubojević M., Ognjanov V. (2011). Antioxidant properties of sweet cherries (*Prunus avium* L.)-Role of phenolic compounds. World Academy of Science, Engineering and Technology International Journal of Agricultural and Biosystems Engineering, 5 (11): 676-679.
- Ruiz-Rodríguez B.M., de Ancos B., Sánchez-Moreno C., Fernández-Ruiz V., de Cortes Sánchez-Mata M., Cámaras M., Tardío J. (2014). Wild blackthorn (*Prunus spinosa* L.) and hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.) fruits as valuable sources of antioxidants. Fruits, 69: 61-73.
- Saha A.K., Rahman Md. R., Shahriar M., Saha S.K., Al Azad N., Das S. (2013). Screening of six Ayurvedic medicinal plant extracts for antioxidant and cytotoxic activity. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 2 (2): 181-188.
- Salmanian S., Sadeghi Mahoonak A.R., Alami M., Ghorbani M. (2014). Phenolic content, antiradical, antioxidant, and antibacterial properties of hawthorn (*Crataegus elburensis*) seed and pulp extract. Journal of Agricultural Science and Technology, 16: 343-354.
- Sikora E., Bieniek M.I., Borczak B. (2013). Composition and antioxidant properties of fresh and frozen stored blackthorn fruits (*Prunus spinosa* L.). Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria, 12 (4): 365-372.
- Stajčić S.M., Tepić A.N., Djilas S.M., Šumić Z.M., Čanadanović-Brunet J.M., Ćetković G.S., Vulić J.J., Tumbas V.T. (2012). Chemical composition and antioxidant activity of berry fruits. Acta Periodica Technologica, 43: 93-105.
- Tahirović A., Bašić N. (2014). Phenolic content and antioxidant activity of *Crataegus monogyna* L. fruit extracts. Works of the Faculty of Forestry, University of Sarajevo, 2: 29-40.
- Valentão P., Fernandes E., Carvalho F., Andrade P.B., Seabra R.M., Bastos M.L. (2002). Antioxidative properties of cardoon (*Cynara cardunculus* L.) infusion against superoxide radical, hydroxyl radical, and hypochlorous acid. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50 (17): 4989-4993.
- Veličković J.M., Kostić D.A., Stojanović G.S., Mitić S.S., Mitić M.N., Randelović S.S., Đorđević S.A. (2014). Phenolic composition, antioxidant and antimicrobial activity of the extracts from *Prunus spinosa* L. fruit. Hemisjska Industrija, 68 (3): 297-303.

## VARIJABILNOST VREMENA CVETANJA I ZAMETANJA PLODOVA KLONOVA OBLAČINSKE VIŠNJE

Dragan Nikolić<sup>1</sup>, Dragan Milatović<sup>1</sup>, Aleksandar Radović<sup>1</sup>, Jugoslav Trajković<sup>2</sup>

**Izvod:** U ovom radu, tokom trogodišnjeg perioda ispitivanja, proučavana je varijabilnost vremena cvetanja i zametanja plodova kod 13 klonova Oblačinske višnje. Utvrđeno je da je prosečno za sve tri godine ispitivanja, početak cvetanja bio u periodu od 06.04. do 12.04., puno cvetanje od 09.04. do 15.04., a kraj cvetanja od 18.04. do 23.04. Broj zametnutih plodova, varirao je od 41,09% do 71,61%, a broj ubranih plodova od 16,31% do 47,74%. Najveće učešće genetičke varijabilnosti u ukupnoj fenotipskoj varijabilnosti utvrđeno je za početak cvetanja (64,92%). Koeficijenti genetičke i fenotipske varijacije bili su najveći za broj ubranih plodova (17,99%; 19,36%). Dobijene visoke vrednosti koeficijenata heritabilnosti za proučavane osobine (preko 80%), dokaz su niskog dejstva faktora spoljne sredine na ispoljavanje tih osobina i njihovo moguće poboljšanje putem selekcije.

**Ključne reči:** Oblačinska višnja, cvetanje, zametanje plodova, komponente varijabilnosti, heritabilnost

### Uvod

U komercijalnoj proizvodnji voća u Srbiji višnja zauzima treće mesto, posle šljive i jabuke (Milatović i sar., 2015). U zasadima dominira Oblačinska višnja, na koju otpada oko 60% od ukupnog broja stabala višnje. Oblačinska višnja je naša autohtona sorta koja predstavlja heterogenu populaciju višnje, tj. smešu velikog broja klonova (genotipova). Stančević i Nikolić (1987) navode da unapređenje proizvodnje višnje prvenstveno zavisi od biološke vrednosti sorte, pa tek onda od ekoloških uslova sredine i načina gajenja. Pošto Oblačinska višnja nije čista sorta već smeša velikog broja klonova (genotipova), klomska selekcija ove sorte je veoma važna metoda u izdvajajući i ispitivanju novih genotipova za gajenje i dalji oplemenjivački rad (Nikolić i sar., 2005).

Uspeh klomske selekcije zavisi od broja prikupljenih i izučenih biljaka, kao i posmatranih osobina. Većina ekonomski važnih osobina kod višnje su kvantitativne i njihovo variranje je kontrolisano kombinacijom genetičkih i ekoloških faktora. Da bi se uspešno unapredile kvantitativne osobine moraju se oceniti efekti genetičkih i ekoloških faktora (Dieters i sar., 1995) u nastanku fenotipske varijabilnosti određene osobine. Kod izbora roditelja u oplemenjivanju je veoma važno i poznavanje povezanosti između fenotipske i genotipske vrednosti. Ta povezanost se meri relativnim odnosom ukupne genotipske i fenotipske varijanse i naziva se heritabilnost. Koeficijent heritabilnosti može poslužiti da se utvrdi sa kojom verovatnoćom će određeni fenotipovi dati isto takvo potomstvo. Ukoliko jedna osobina ima veći koeficijent heritabilnosti to se ta

<sup>1</sup>Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Nemanjina 6, 11080 Beograd-Zemun, Srbija (nikolicd@agrif.bg.ac.rs);

<sup>2</sup>Visoka poljoprivredno-prehrambena škola strukovnih studija, Ćirila i Metodija 1, 18400 Prokuplje, Srbija.

osobina može lakše i brže preneti na potomstvo nego osobina sa niskim koeficijentom heritabilnosti (Nyquist, 1991).

Među mnogobrojnim kvantitativnim osobinama višnje značajno mesto zauzimaju vreme cvetanja i zametanje plodova koje u znatnoj meri mogu uticati na stabilne i redovne prinose. Višnja u Srbiji počinje da cveta u toku prve i druge dekade aprila tj. posle breskve i trešnje, a pre jabuke. Sorte višnje po vremenu cvetanja svrstavaju se u tri grupe i to: ranocvetne, srednjecvetne i pozncvetne (Nyéki i sar., 2003). Mišić (2002) navodi da Oblačinska višnja spada u grupu srednjecvetnih sorti.

Za postizanje visokih prinosa kod višnje je potrebno da se pri obilnom cvetanju zametne preko 30% plodova od ukupnog broja cvetova (Máthé i sar., 1996; Nyéki i sar., 2003). Zametanje je sa jedne strane uslovljeno genetskim osobinama sorte, a sa druge strane vremenskim prilikama u periodu cvetanja. Na zametanje plodova u određenoj meri mogu uticati i nepravilnosti za vreme procesa mikrosporogeneze (Cerović, 1991) i dužina efektivnog perioda polinacije (Williams, 1970). Slabo zametanje plodova kod različitih vrsta roda *Prunus* ponekad se dovodi u vezu i sa kratkim periodom vitalnosti semenih zametaka. Stösser i Anvari (1982) povezuju slabu rodnost kod trešnje i višnje i sa slabom vitalnošću primarnih semenih zametaka.

Zbog svega napred navedenog cilj ovog rada bio je proučavanje varijabilnosti i utvrđivanje osnovnih genetičkih parametara za vreme cvetanja i zametanje plodova kod 13 klonova Oblačinske višnje.

### Materijal i metode rada

Sva istraživanja u vezi ovog rada obavljena su u kolepcionom zasadu Oblačinske višnje na Oglednom dobru "Radmilovac" Poljoprivrednog fakulteta, Univerziteta u Beogradu. Zasad je podignut u proleće 1994. godine, sa razmakom sadnje  $4 \times 3$  m. Podloga je magriva (*Prunus mahaleb* L.), a uzgojni oblik je kotlasta kruna. U zasadu su tokom perioda ispitivanja (2010-2012) primenjivane standardne agrotehničke i pomotehničke mere.

Kao materijal za ispitivanje korišćeno je 13 klonova Oblačinske višnje koji su selekcionisani iz proizvodnih zasada u južnoj Srbiji. Ispitivani klonovi su označeni šiframa od 1-13. Svaki klon u zasadu bio je zastupljen sa po tri stabla, koja su predstavljala jedinicu posmatranja, tj. ponavljanje. Kod ispitivanih klonova proučavani su vreme cvetanja i zametanje plodova.

Vreme cvetanja određeno je prema preporukama međunarodne grupe za polinaciju (Wertheim, 1996), pri čemu su ustanovljeni početak, puno i kraj cvetanja. Početak cvetanja je evidentiran kada je na stablima bilo otvoreno 10% cvetova, puno cvetanje kada je bilo otvoreno 80% cvetova, a kraj cvetanja (precvetavanje) kada je otpalo 90% kruničnih listića.

Zametanje plodova utvrđeno je preko broja zametnutih (inicijalno zametanje) i broja ubranih plodova (finalno zametanje). Ovi parametri utvrđeni su na osnovu rezultata slobodnog opršivanja. Na obeleženim granama u fazi cvetanja, izdvojeno je i prebrojano između 200 i 300 cvetova na svakom stablu. Tri nedelje nakon punog cvetanja putem proporcije utvrđen je broj zametnutih plodova, a neposredno pred berbu broj ubranih plodova (Stösser i sar., 1996).

Značajnost uticaja ispitivanih faktora na varijabilnost proučavanih osobina ocenjena je F-testom. Korišćen je metod analize varijanse dvofaktorijalnog slučajnog blok sistema (Hadživuković, 1991). Od rezultata analize varijanse prikazane su sredine kvadrata (MS), a pojedinačno testiranje značajnosti razlika između ispitivanih faktora obavljeno je korišćenjem LSD-testa. Oba testa (F i LSD) primenjena su za nivo verovatnoće  $P<0,05$  (\*) i  $P<0,01$  (\*\*).

Iz modela analize varijanse dvofaktorijalnog slučajnog blok sistema, prema Jovanović i sar. (1992) izračunate su komponente varijanse, koeficijenti genetičke i fenotipske varijacije i koeficijent heritabilnosti u širem smislu. Za potrebe statističke obrade podataka korišćen je softverski paket STATISTICA (StatSoft, Inc., Tulsa, Oklahoma, USA).

### Rezultati istraživanja i diskusija

Podaci prikazani u Tabeli 1 pokazuju da su prosečno najraniji početak cvetanja i puno cvetanje za sve tri godine ispitivanja utvrđeni kod klena 3 (06.04.; 09.04.), a najkasniji kod klena 1 (12.04.; 15.04.). Najraniji kraj cvetanja utvrđen je kod klonova 3 i 11 (18.04.), a najkasniji kod klena 1 (23.04.).

Tabela 1. Osobine cvetanja i zametanja plodova klonova Oblačinske višnje (prosek, 2010-2012)

*Table 1. Flowering and fruit set characteristics of Oblačinska sour cherry clones (average, 2010-2012)*

Klon <i>Clone</i>	Početak cvetanja <i>Start of flowering</i>	Puno cvetanje <i>Full of flowering</i>	Kraj cvetanja <i>End of flowering</i>	Broj zametnutih plodova (%) <i>Number of fruit set (%)</i>	Broj ubranih plodova (%) <i>Number of fruit harvested (%)</i>
1	12.04.	15.04.	23.04.	61,69	37,52
2	10.04.	13.04.	21.04.	66,56	44,96
3	06.04.	09.04.	18.04.	41,09	16,31
4	09.04.	12.04.	20.04.	62,86	39,46
5	09.04.	13.04.	21.04.	65,41	39,34
6	10.04.	13.04.	21.04.	61,81	36,04
7	09.04.	12.04.	20.04.	68,59	42,90
8	08.04.	11.04.	20.04.	71,61	47,74
9	09.04.	12.04.	20.04.	71,48	44,31
10	08.04.	11.04.	20.04.	64,91	40,86
11	07.04.	10.04.	18.04.	67,76	41,96
12	07.04.	10.04.	19.04.	66,28	40,80
13	11.04.	14.04.	22.04.	64,94	38,76
LSD <sub>k 0,05</sub>	0,20	0,32	0,31	5,93	5,67
LSD <sub>k 0,01</sub>	0,26	0,42	0,41	7,86	7,52
LSD <sub>g 0,05</sub>	0,09	0,15	0,15	2,84	2,73
LSD <sub>g 0,01</sub>	0,12	0,20	0,20	3,77	3,61
LSD <sub>kg 0,05</sub>	0,34	0,55	0,54	-	9,81
LSD <sub>kg 0,01</sub>	0,45	0,73	0,71	-	13,01

Rezultati našeg rada vezani za ove tri osobine skoro se poklapaju sa navodima Đorović-a (1985) koji je utvrdio da je početak cvetanja Oblačinske višnje bio 9. aprila, puno cvetanje 13. aprila, a kraj cvetanja 18. aprila i rezultatima Miletić-a (1991) koji je ustanovio da je početak cvetanja ove sorte bio 10. aprila, puno cvetanje 13. aprila, a kraj cvetanja 19. aprila. Fotirić-Akšić i sar. (2013) utvrdili su da je vreme cvetanja kod 41 ispitivanog klena Oblačinske višnje bilo u intervalu od 13. do 20. aprila.

Prosečno najmanji broj zametnutih i broj ubranih plodova utvrđen je kod klena 3 (41,09%; 16,31%), a najveći kod klena 8 (71,61%; 47,74%). Ovi podaci najpričižniji su rezultatima koje su pri slobodnom opršavanju klonova Oblačinske višnje dobili Fotirić (2009) za broj zametnutih plodova (34,67-64,22%) i broj ubranih plodova (18,47%-42,43%) i Fotirić i sar. (2009) za broj zametnutih plodova (49,86%-73,54%) i broj ubranih plodova (30,82%-47,08%). Milutinović i sar. (1998) ispitujući šest sorti višnje utvrdili su da je kod Oblačinske višnje zametanje plodova bilo 37,7%, a Milutinović i sar. (2000) ustanovili da je broj zametnutih plodova dobijen slobodnim opršavanjem ove sorte bio 31,8%, a broj ubranih plodova 28,9%. Rakonjac i Nikolić (2008) kod 10 klonova Oblačinske utvrdili su da je za zametanje plodova interval variranja bio od 26,0% do 47,5%, a za broj ubranih plodova od 19,3% do 40,0%.

Tabela 2. Sredine kvadrata iz analize varijanse za osobine cvetanja i zametanja plodova klonova Oblačinske višnje

*Table 2. Mean squares from the analysis of variance for flowering and fruit set characteristics of Oblačinska sour cherry clones*

Izvori variranja <i>Sources of variation</i>	df	Početak cvetanja <i>Start of flowering</i>	Puno cvetanje <i>Full of flowering</i>	Kraj cvetanja <i>End of flowering</i>	Broj zametnutih plodova <i>Number of fruit set</i>	Broj ubranih plodova <i>Number of fruit harvested</i>
Klon (k) <i>Clone (k)</i>	12	20,493**	21,993**	22,537**	525,28**	521,87**
Godina (g) <i>Year (g)</i>	2	15,624**	75,624**	66,162**	256,36**	272,28**
Interakcija (k×g) <i>Interaction (k×g)</i>	24	2,170**	2,087**	2,533**	64,19	71,53*
Greška <i>Error</i>	76	0,044	0,116	0,110	40,01	36,48

\*P<0,05; \*\*P<0,01

Rezultati analize varijanse (Tabela 2) pokazuju da su za sve ispitivane potfaze vremena cvetanja (početak, puno i kraj), utvrđene veoma značajne razlike između proučavanih klonova, između godina ispitivanja, kao i za interakciju klon × godina. Veoma značajne razlike kako između proučavanih klonova, tako i između godina ispitivanja utvrđene su takođe i za broj zametnutih i broj ubranih plodova. Uticaj interakcije klon × godina bio je značajan u varijabilnosti broja ubranih plodova, dok variranje broja zametnutih plodova nije bilo uslovljeno interakcijom ova dva faktora. Fotirić (2009) takođe je za sve tri potfaze cvetanja (početak, puno i kraj) ustanovila veoma značajne razlike kako između ispitivanih klonova, tako i između godina

istraživanja. Značajan uticaj ispitivanih klonova i godina istraživanja na zametanje plodova utvrdili su i Fotirić-Akšić i sar. (2013).

Iz podataka prikazanih u Tabeli 3 može se videti da je u ukupnoj varijabilnosti početka, punog i kraja cvetanja najviše učestvovala genetička varijabilnost (64,92%; 45,42%; 46,58%), a najmanje varijabilnost uslovljena slučajnim faktorima sredine i greškom u ogledu (1,47%; 2,38%; 2,31%). Varijabilnost uslovljena godinom iznosila je 11,00% za početak cvetanja, 38,71% za puno cvetanje i 34,18% za kraj cvetanja, a varijabilnost uslovljena interakcijom klon × godina bila je 22,61% za početak cvetanja, 13,49% za puno cvetanje i 16,93% za kraj cvetanja.

Tabela 3. Komponente varijanse, koeficijenti genetičke i fenotipske varijacije i heritabilnost za osobine cvetanja i zametanja plodova

Table 3. Variance components, coefficients of genotypic and phenotypic variation and heritability for flowering and fruit set characteristics

Pokazatelj <i>Indicator</i>	Početak cvetanja <i>Start of flowering</i>	Puno cvetanje <i>Full of flowering</i>	Kraj cvetanja <i>End of flowering</i>	Broj zametnutih plodova <i>Number of fruit set</i>	Broj ubranih plodova <i>Number of fruit harvested</i>
$S^2_k (\%)$	64,92	45,42	46,58	49,15	48,42
$S^2_g (\%)$	11,00	38,71	34,18	4,73	4,98
$S^2_{kg} (\%)$	22,61	13,49	16,93	7,73	11,30
$S^2_e (\%)$	1,47	2,38	2,31	38,39	35,30
CV <sub>g</sub> (%)	15,89	12,42	7,45	11,15	17,99
CV <sub>f</sub> (%)	16,78	13,00	7,90	11,89	19,36
$h^2 (\%)$	89,41	90,51	88,78	87,78	86,30

U ukupnoj varijabilnosti broja zametnutih i broja ubranih plodova takođe je najviše učestvovala genetička varijabilnost (49,15%; 48,42%), dok je najmanja varijabilnost bila uslovljena godinom (4,73%; 4,98%). Varijabilnost uslovljena interakcijom klon × godina iznosila je 7,73% za broj zametnutih plodova i 11,30% za broj ubranih plodova, a varijabilnost uslovljena slučajnim faktorima sredine i greškom u ogledu bila je 38,39% za broj zametnutih plodova i 35,30% za broj ubranih plodova.

Koeficijenti genetičke i fenotipske varijacije iznosili su za početak cvetanja 15,89% i 16,78%, za puno cvetanje 12,42% i 13,00%, za kraj cvetanja 7,45% i 7,90%, za broj zametnutih plodova 11,15% i 11,89%, a za broj ubranih plodova 17,99% i 19,36%. Nešto niže vrednosti koeficijenata varijacije za početak i puno cvetanje (12,5%; 8,5%), a više vrednosti za broj zametnutih i broj ubranih plodova (15,2%; 22,3%) ustanovili su Rakonjac i sar. (2010).

Za svih pet ispitivanih osobina utvrđene su prilično ujednačene i relativno visoke vrednosti koeficijenata heritabilnosti koje su iznosile za početak cvetanja 89,41%, za puno cvetanje 90,51%, za kraj cvetanja 88,78%, za broj zametnutih plodova 87,78%, a za broj ubranih plodova 86,30%. Wang i sar. (2000) utvrdili su kod višnje takođe visoku vrednost koeficijenta heritabilnosti za vreme cvetanja (91,00%). Dobijene visoke vrednosti koeficijenata heritabilnosti za proučavane osobine u našem radu, dokaz su niskog dejstva faktora spoljne sredine na ispoljavanje tih osobina, što ukazuje na moguće poboljšanje tih osobina putem selekcije.

## Zaključak

Na osnovu rezultata genetičke analize vremena cvetanja i zametanja plodova kod 13 klonova Oblačinske višnje mogu se izvesti sledeći zaključci.

Na ekspresiju svih ispitivanih osobina, veoma značajan uticaj ispoljili su proučavani klonovi i godine ispitivanja. Uticaj interakcije klon  $\times$  godina bio je veoma značajan u variranju svih ispitivanih potfaza vremena cvetanja (početak, puno i kraj) i značajan u variranju broja ubranih plodova.

Najveće učešće genetičke varijabilnosti u ukupnoj fenotipskoj varijabilnosti utvrđeno je za početak cvetanja (64,92%). Koeficijenti genetičke i fenotipske varijacije bili su najveći za broj ubranih plodova (17,99%; 19,36%). Za sve ispitivane osobine utvrđene su veoma visoke vrednosti koeficijentata heritabilnosti (preko 80%).

Proučavanje genetičke varijabilnosti kombinovano sa saznanjima o koeficijentima heritabilnosti poslužiće kao osnova za određivanje najboljih osobina koje omogućavaju efikasniji proces selekcije.

## Napomena

Istraživanja u ovom radu deo su projekta „Primena novih genotipova i tehnoloških inovacija u cilju unapređenja voćarske i vinogradarske proizvodnje“ (TR 31063) koji finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

## Literatura

- Cerović R. (1991). Cytogenetic properties of sour cherry in relation to pollen. Genetika, 23, 247-258.
- Dieters M.J., White T.L., Littell R.C., Hodge G.R. (1995). Application of approximate variances of variance components and their ratios in genetic tests. Theoretical and Applied Genetics, 91, 15-24.
- Đorović V. (1985). Uticaj podloge na formiranje cvetnih puopljaka, vreme cvetanja, zrenja i rodnost u četiri sorte višnja. Jugoslovensko voćarstvo, 19 (73-74), 263-270.
- Fotirić M. (2009). Klomska selekcija i biologija oplođenja Oblačinske višnje (*Prunus cerasus* L.). Doktorska disertacija. Poljoprivredni fakultet, Beograd.
- Fotirić M., Nikolić D., Rakonjac V. (2009). Stepen zametanja i pomološka svojstva klonova Oblačinske višnje pri slobodnom oprasivanju i samoopršivanju. Arhiv za poljoprivredne nauke, 70 (1), 21-29.
- Fortić-Akšić M., Rakonjac V., Nikolić D., Zec G. (2013). Reproductive biology traits affecting productivity of sour cherry. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 48 (1), 33-41.
- Hadživuković S. (1991). Statistički metodi. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- Jovanović B., Prodanović S., Maletić R. (1992). Estimates of environmental effects in comparative veriaety trials. Review of Research Work at the Faculty of Agriculture, 37, 167-172.

- Máthé A., Szabó Z., Apostol J., Nyéki J. (1996). Numerical expression of the flowering of the sour cherry (*Prunus cerasus* L.) varieties. *Acta Horticulturae*, 410, 155-162.
- Milatović D., Nikolić M., Miletić N. (2015). Trešnja i višnja. Naučno voćarsko društvo Srbije, Čačak.
- Miletić R. (1991). Pomološko-tehnološke karakteristike ploda u nekim sorti višanja, gajenih u Timočkoj krajini. Jugoslovensko voćarstvo, 25 (95-96), 39-43.
- Milutinović M., Rakonjac V., Nikolić D. (1998). Functionality of pollen and fruit set in sour cherry cultivars. *Acta Horticulturae*, 468, 591-594.
- Milutinović M., Rakonjac V., Nikolić D., Fotirić M. (2000). Fruit set and fruit quality at different crossings between sour cherry cultivars. *Acta Horticulturae*, 538 (1), 367-370.
- Mišić D.P. (2002). Specijalno oplemenjivanje voćaka. Institut za istraživanja u poljoprivredi "Srbija" i Partenon, Beograd.
- Nikolić D., Rakonjac V., Fotirić M. (2005). Karakteristike perspektivnih klonova Oblačinske višnje (*Prunus cerasus* L.). Arhiv za poljoprivredne nauke, 66 (1), 51-59.
- Nyéki J., Szabó Z., Soltész M. (2003). Sour cherry (*Prunus cerasus* L.). In: *Floral biology, pollination and fertilisation in temperate zone fruit species and grape*. (Kozma P., Nyéki J., Soltész M., Szabó Z., eds.). Akadémiai Kiadó, Budapest, Hungary, pp. 359-382.
- Nyquist W.E. (1991). Estimation of heritability and prediction of selection response in plant population. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 10 (3), 225-322.
- Rakonjac V., Nikolić D. (2008). Variability and path coefficient analysis of yield components in 'Oblačinska' sour cherry sub-clones. *Journal of the American Pomological Society*, 62 (1), 30-35.
- Rakonjac V., Fotirić-Akšić M., Nikolić D., Milatović D., Čolić S. (2010). Morphological characterization of 'Oblačinska' sour cherry by multivariate analysis. *Scientia Horticulturae*, 125, 679-684.
- Stančević A., Nikolić M. (1987). Oplemenjivanje višnje i osobine odabranih hibrida. Jugoslovensko voćarstvo, 21 (82), 3-9.
- Stösser R., Anvari S.F. (1982). On the senescence of ovules in cherries. *Scientia Horticulturae*, 16, 29-38.
- Stösser R., Hartman W., Anvari S.F. (1996). General aspects of pollination and fertilization of pome and stone fruit. *Acta Horticulturae*, 423, 15-22.
- Wang D., Karle R., Iezzoni A.F. (2000). QTL analysis of flower and fruit traits in sour cherry. *Theoretical and Applied Genetics*, 100, 535-544.
- Wertheim S.J. (1996). Methods for cross pollination and flowering assessment and their interpretation. *Acta Horticulturae*, 423, 237-241.
- Williams R.R. (1970). Factors affecting pollination in fruit trees. In: *Physiology of tree crops* (Luckwill L.C., Cutting C.V., eds.), London, New York, Academic Press, pp. 193-207.

## VARIABILITY OF THE FLOWERING TIME AND FRUIT SET OF OBLAČINSKA SOUR CHERRY CLONES

Dragan Nikolić<sup>1</sup>, Dragan Milatović<sup>1</sup>, Aleksandar Radović<sup>1</sup>, Jugoslav Trajković<sup>2</sup>

### Abstract

In this paper, during the three-year period of testing, the variability of the flowering time and fruit set in 13 Oblačinska sour cherry clones was studied. It was found that on average for all three years of testing, the start of flowering was in the period from 06.04. until 12.04., full flowering from 09.04. until 15.04, and the end of flowering from 18.04. until 23.04. The number of fruit set ranged from 41.09% to 71.61%, and the number of fruit harvested from 16.31% to 47.74%. The greatest share of genetic variability in total phenotypic variability was determined for the start of flowering (64.92%). The coefficients of genetic and phenotypic variation were the highest for the number of fruit harvested (17.99%; 19.36%). The high values of the heritability coefficients for the studied properties (over 80%) are obtained, that evidence of the low effect of the environment factors on the expression of these properties and their possible improvement through selection.

**Key words:** Oblačinska sour cherry, flowering, fruit set, components of variability, heritability

---

<sup>1</sup>University of Belgrade, Faculty of Agriculture, Nemanjina 6, 11080 Belgrade-Zemun, Serbia  
(nikolicd@agrif.bg.ac.rs)

<sup>2</sup>The College of Agriculture and Food Technology, Ćirila i Metodija 1, 18400 Prokuplje, Serbia

## BIOHEMIJSKA I TEHNOLOŠKA SVOJSTVA PLODA ODABRANIH GENOTIPOVA ŠIPURKA SA PODRUČJA BIJELOG POLJA

Gordana Šebek<sup>1</sup> Valentina Pavlova<sup>2</sup>

**Izvod:** Cilj naseg istraživanja je proučavanje izvora germ-plazme šipurka (*Rosa canina* L.) koji postoje u nekim dijelovima Bijelog Polja i identifikacija značajnih biotipova.

Masa ploda rangirana je od 1.25 g do 2.76 g, dužina ploda rangirana je od 1.56 cm do 2.45 cm i širina ploda rangirana je od 0.92 cm do 1.44 cm. Sadržaj kaše od 100 plodova rangiran je od 50.2% do 64,3%, sadržaj rastvorljive suve materije rangiran je od 14% - 19% i sadržaj ukupnih kiselina rangiran je od 1.8% do 3.6 %.

Rezultati ukazuju na visoku i veoma visoku varijabilnost analiziranih parametara.

**Ključne reči:** (*Rosa canina* L.), masa, suva materija, ukupne kiseline

### Uvod

Šipurak ili šipak (*Rosa canina* L.) je žbunasta biljka iz porodice ruža. Drugi nazivi: šipak, divlja ruža, pasja ruža, šipurina, šipurika. Šipurak se koristi kao lekovita biljka (Sharafi, 2010), prehrambena biljka (Özcan, 2002) ali i u kozmetičkoj industriji. Od plodova se dobija pekmez, slatko i sok. Sušeni plodovi se koriste u čajnim mješavinama. Sjeme je dobar izvor vitamina E (tokoferola, tzv. vitamin mladosti) i može se mljeti i miješati sa brašnom. Pored osušenog ploda i suvi listovi se mogu koristiti za čaj (Tucakov, 2014). Koristi se kao podloga za ukrasne ruže (Shirdel , 2013). U ishrani, plod šipurka može poslužiti kao sirovina za dobijanje paste, džema, marmelade za desertnu supu, vino, sokove itd. (Güneş, 2010). U Mađarskoj se plodovi šipka koriste u proizvodnji rakije, a na danskom tržištu su dostupni prah sušenog ploda šipka, a na području Crne Gore (Bijelo Polje) se plodovi ovog voća koriste naročito u domaćinstvima za spravljanje lokalnog pića " Vodnjike ", gde se dodaje smeši od plodova šumske jabuke i kruške (Šebek, 2018). Šipak, se može koristiti za sprečavanje erozije tla i kao zaštitni pojas ili zaštitna ograda (Neštoiu et al., 2008). Plodovi *Rosa canina* bogati su vitaminom C (Roman i sar., 2013) . Plodovi šipurka također sadrže makro i mikroelemente: P, K, Ca, Fe, Cu, Mn, Zn, Na, B, flavonoide, karotenoide i polifenole (Roman i sar., 2013). Ulje sjemena šipurka sadrži masne kiseline poput oleinske, linolne, palmitinske, stearinske i arahidonske (Özcan, 2002; Kazaz, 2009).

Cilj rada je bio da se iz spontane populacije šipurka (*Rosa canina* L.) sa područja Bjelog Polja registruju manje spontane populacije, sa većim brojem jedinki od petnest,

<sup>1</sup>Univerzitet Crne Gore, Biotehnički fakultet, Centar za kontinentalno voćarstvo, Bijelo Polje, C.Gora (sebek@t-com.me).

<sup>2</sup> Tehnološki i tehnički fakultet, Univerziteta Sv. Kliment Ohridski - Bitola, Dimitar Vlahov 59, 1400 Veles, Republika Makedonija.

te da se u okviru tih populacija registruju reprezentativna stabla, koja bi se izdvojila bujnošću, rodnošću, krupnoćom ili kvalitetom plodova za preradu.

### Materijal i metode rada

Detaljnije istraživanje morfoloških i hemijskih osobina ploda sa odabranih reprezentativnih jedinki vršeno je u periodu 2010 - 2013 godina. Istraživanje se učinilo potrebnim zbog činjenice da se u svetu komercijalizuje podizanje zasada i gajenje šipurka, dok se u Crnoj Gori nije uspostavila ta praksa, pa čak nije ni proučen genofond šipurka (*Rosa canina* L.).

Za studiju su sakupljeni plodovi šipurka (*Rosa canina* L.) sa 9 reprezentativnih jedinki iz 9 lokalnih populacija, koji postoje u opštini Bijelo Polje a koje smo registrovali na terenu. Napominjemo, da je pojedinačne jedinke šipurka veoma lako naći, dok je registrovanje manjih grupa od 15 jedinki i više na manjem prostoru bilo znatno teže. Kod odabranih reprezentativnih jedinki praćena je varijabilnost nekih pomoloških parametara (merenje šublerom): dužina ploda (cm), prečnik ploda (cm) i masa ploda (g). Procenat kaše (pulpe) bio je određivan na 100 g svježeg ploda voća. Za određivanje biohemiskog sadržaja analizirani su: rastvorljiva suva materija (TSS), i ukupna kiselost (TA). Sadržaj rastvorljive suve materije (TSS) određena je refraktometrom i procentualno iskazana. Titrirajuća kiselost odredena je 0,1 N NaOH u prisustvu indikatora fenolftaleina do promene boje i takođe iskazana u procentima.

### Rezultati istraživanja i diskusija

Dužina ploda šipurka je parametar sa visokom varijabilnošću. Kod reprezentativnih jedinki (9) iz pronađenih populacija ovaj parametar je bio od  $1.56 \pm 0.068$  cm (Rc genotip 5) do  $2.45 \pm 0.089$  cm (Rc genotip 1) (Tabela 1). Istraživanja drugih autora pokazuju da je dužina plodova rangirana od 1.2 cm do 4.6 cm na jugo-zapadu Rumunije (Soare i sar. 2014). Podaci za dužinu ploda šipurka od selekcionisanih genotipova sa područja Turske (oblast Van) su rangirani od 15.28 mm do 33.83 mm ( Celik i sar. 2009). Dužina ploda iznosila je od 13 mm do 26 mm, na području Azerbejdžana tj. takođe je primećeno variranje kod parametra dužina ploda na ovom području. (Shamsizade i Novruzov, 2005.)

U našem istraživanju, parametar širina ploda je rangiran od  $0.92 \pm 0.044$  cm (Rc genotip 8) do  $1.44 \pm 0.069$  cm (Rc genotip 4) (Tabela 1). U istraživanjima drugih autora širina ploda je rangirana od 0.95 cm do 1.51 cm (Soare i sar. 2014) i od 13.11 mm do 19.26 mm ( Celik i sar. 2009). Na području Azerbejdžana parametar širina ploda varirao je od 10mm do 18mm (Shamsizade i Novruzov, 2005.)

Rangiranje parametra masa ploda u našem istraživanju je bilo od  $1.25 \pm 0.127$  g (Rc genotip 5) do  $2.76 \pm 0.205$  g (Rc genotip 1) (Tabela 1). Drugi autori, prezentiraju podatke za masu ploda u iznosu od 3.25g u Transilvaniji (Roman i sar. 2013) do čak 6.1g u Turskoj (Kazankaya i sar. 2005). Podatak vezano za najveću masu ploda u Turskoj (6.1 g) je mnogo veći u odnosu na našu najveću vrednost za masu ploda (2.76 g) i to čak 2.2 puta. Masa ploda na području Azerbejdžana iznosila je od 0.5 g do 2.8 g (Shamsizade i Novruzov, 2005.) tj. primećeno je variranje i kod parametra masa ploda na ovom

području, ali su maksimalne vrednosti bliže rezultatima iz našeg istraživanja sa područja Bijelog Polja.

Tabela 1. Morfološke osobine ploda šipurka (prosek 2010-2013)

Table 1. *Morphological characteristics of fruit of rosehip (average 2010-2013)*

Reprezentativna jedinka <i>Representative entity</i>	Dužina ploda (cm) <i>Fruits lenght (cm)</i>	Širina ploda (cm) <i>Fruits diameter (cm)</i>	Masa ploda (g) <i>Fruits weight (g)</i>
Rc genotip 1	2.45 ± 0.089	1.35 ± 0.085	2.76 ± 0.205
Rc genotip 2	2.33 ± 0.039	1.34 ± 0.048	2.65 ± 0.148
Rc genotip 3	2.38 ± 0.098	1.28 ± 0.034	2.06 ± 0.135
Rc genotip 4	1.83 ± 0.059	1.44 ± 0.069	2.02 ± 0.152
Rc genotip 5	1.56 ± 0.068	1.05 ± 0.040	1.36 ± 0.086
Rc genotip 6	2.13 ± 0.115	1.14 ± 0.048	1.97 ± 0.132
Rc genotip 7	2.02 ± 0.105	0.97 ± 0.045	1.25 ± 0.127
Rc genotip 8	1.88 ± 0.105	0.92 ± 0.044	1.40 ± 0.112
Rc genotip 9	1.91 ± 0.052	1.05 ± 0.055	1.69 ± 0.149
LSD 0.05	0.14	0.11	0.28
LSD 0.01	0.21	0.15	0.70

Tabela 2. Prosečne vrednosti nekih tehnoloških i biohemijskih parametra ploda

Table 2. *Average values of some technological and biochemical parameters on fruit*

Reprezentativna jedinka <i>Representative entity</i>	Masa 100 plodova (g) <i>100 fruit mass (g)</i>	Procenat kaše od 100g ploda <i>Pulp percentage / 100g fruit</i>	Rastvorljive suve materije (TSS) (%) <i>Soluble dry substance (TSS) (%)</i>	Ukupna kiselost (TA) (%) <i>Titratable acidity (TSS) (%)</i>
Rc genotip 1	277	60.8	17	1.8
Rc genotip 2	263	57	18	2.1
Rc genotip 3	205	58.8	15	1.9
Rc genotip 4	204	62.7	16	1.8
Rc genotip 5	136	50.2	19	3.6
Rc genotip 6	200	56.5	14	3.4
Rc genotip 7	128	51.8	18	3.6
Rc genotip 8	140	64.3	16	3.5
Rc genotip 9	166	52.8	16	2.4
LSD 0.05	6.85	2.40	1.01	0.15
LSD 0.01	7.44	3.10	1.20	0.21

Masa 100 plodova šipurka, kod odabralih genotipova sa područja Bijelog Polja je iznosila od 128g (genotip 7) do 277g (genotip 1) (Tabela 2). Kod drugih istraživača sa

područja Rumunije maksimalni nivo za masu 100 plodova šipurka je bio između 117g i 286 g. (Soare i sar. 2015).

U našem istraživanju, na području opštine Bjelo Polje, sadržaj kaše od 100 plodova rangiran je od 50.2% do 64,3%, sadržaj rastvorljive suve materije rangiran je od 14% - 19% i sadržaj ukupnih kiselina rangiran je od 1.8% do 3.6 %. (Tabela 2). Napominjemo da je sadržaj ukupnih kiselina značajan parameter za ukus produkata tj. prerađevina od šipurka.

Kod drugih istraživača sa područja Rumunije za parameter procenat kaše (pulpe) od 100g ploda, zabeleženo je variranje od 49,2 % do 66,5%. (Soare i sar. 2015). Rezultat za parametar sadržaj rastvorljive suve materije (TSS) kod ispitivanih genotipova u Rumuniji je varirao od 10% - 18%, a parameter ukupne kiseline je varirao od 1.4 do 3.6%. (Soare i sar. 2015). Rezultati ispitivanih parametara (sadržaj kaše, ukupna rastvorljiva suva materija i ukupne kiseline) u Rumuniji imaju izrazitiju varijabilnost u odnosu na naša istraživanja u opštini Bijelo Polje, što možemo objasniti genetičkim faktorom ali i većim arealom istraživanja u odnosu na naš.Napred navedeno korespondira sa činjenicom da se kod šipurka (*Rosa canina L.*), a zbog specifične tzv."canina mejoze" potomstvo nastalo iz semena pokazuje priličnu genotipsku sličnost sa majčinskom biljkom. Genetska raznolikost je visoko signifikantna između populacija, a mala unutar populacije, što je vjerojatno rezultat „canina mejoze“ (Werlemark i Nybom, 2010.). Iz toga se može zaključiti da povećanje genetske raznolikosti raste kako raste promatrano područje.

Istraživači iz Turske za sadržaj kaše (pulpe) navode podatak od 40.47% do 79.98% što je veće variranje u odnosu na naše istraživanje a takođe je njihov podatak za maksimalni procenat kaše (79,98%) najznačajniji koji smo mogli pronaći u literaturnim izvorima.U Turskoj, takođe, parameter rastvorljive suve materije (TSS) je iznosio između 14.8% do 36.2% (Kazankazya i sar.2005).

Dugoročna istraživanja u svetu su pokazala da su biološki aktivne materije pod uticajem stepena zrelosti te da berba šipka prije ili posle optimalnog vremena branja može dovesti do gubitka od 50% u sadržaju istih (Shamssizade i Nevruzov, 2005).

## Zaključak

Rezultati ukazuju na visoku i veoma visoku varijabilnost analiziranih biohemijskih i tehnoloških svojstava ploda odabranih genotipova šipurka (*Rosa canina L.*). Ipak, uži areal istraživanja (opština Bjelo Polje) uticao je na to da imamo manju raznovrsnost u odnosu na podatke istraživača u Rumuniji, Azerbejdžanu i Turskoj.

Kod 9 ispitivanih genotipova masa ploda rangirana je od 1.25 g do 2.76 g, dužina ploda rangirana je od 1.56 cm do 2.45 cm i širina ploda rangirana je od 0.92 cm do 1.44 cm. Sadržaj kaše od 100 plodova rangiran je od 50.2% do 64,3%, sadržaj rastvorljive suve materije rangiran je od 14% - 19% i sadržaj ukupnih kiselina rangiran je od 1.8% do 3.6 %.

Među ispitivanim genotipovima šipurka, sa područja opštine Bijelo Polje, najbolje osobine generalno gledano pokazuje genotip 1 čija je prosečna masa ploda 2,76 g, procenat kaše od 100 plodova je 60,8%, rastvorljive suve materije su 17% a ukupna kiselost 1,8%.

## Literatura

- Celik F., Kazankaya A., Ercisli S. (2009). Fruit characteristics of some selected promising rosehip (*Rosa* spp.) genotypes from Van of Turkey. African Journal of Agricultural Research 4 (3), 236-240.
- Güneş M. (2010). Pomological and phonological characteristics of promising rose hip (*Rosa*) genotypes. African Journal of Biotechnology 9 (38), 301-303.
- Kazankaza A., Turkoglu N., Yilmaz M., Balta MF. (2005). Pomological description of *Rosa canina* selection from Eastern Anatolia. Turkey. International Journal of Botanu 1(1), 100-102.
- Kazaz S., Baydar H., Erbas S. (2009). Variations in chemical composition of *Rosa damascene* Mill. and *Rosa canina* L. fruits. Czech Journal Food Science. (27), 178-184.
- Özcan M. (2002). Nutrient composition of rose (*Rosa canina* L.) Seed and Oils Journal of Medicinal Food 5(3), 137-140.
- Roman I., Stănilă A., Stănilă S. (2013). Bioactive compounds and antioxidant activity of *Rosa canina* L. biotypes from spontaneous flora of Transylvania. Chemistry Central Journal 7, 73.
- Šebek G. (2018). Hemijske karakteristike ploda nekih genotipova šumske jabuke (*Malus sylvestris Miller*) sa područja Bijelog Polja. Green Room Sessions 2018 International GEA (Geo-EcO-Eco Agro) Conference – Book of Proceeedings. .94-98. Podgorica. Crna Gora.
- Shamsizade L.A., Novruzov E.N. (2005). Distribution, Fruit Properties and Productivity of Rosa Species in Great Caucausus, Azerbaijan. Acta Horticulturae, 690,101-105.
- Sharafi Y. (2010). Biological characteristics of pollens in some genotypes of *Rosa canina* as main factors affecting fruit set. Journal of Medicinal Plant Research 4 (20), 173-175.
- Shirdel M., Motallebi-Azar A., Matloobi M., Zaare-Nahandi F. (2013). Effects of nodal position and growth regulators on in vitro growth of dog rose (*Rosa canina*). Journal of Ornamental and Horticultural Plants. 3 (1), 9-17.
- Soare R., Iancu P., Soare M., Bonea D., Manila G., Panita O. (2014). Morfological and biochemical issues to some *Rosa canina* L. populations from the spontaneous flora from SoutWest Romania. Micro and Nano Tehnologies Advances in Biotechnology (1) 432-442.
- Soare R., Bonea D., Iancu P., Niculescu I. (2015). Biochemical and technological properties of *Rosa canina* L. fruits from spontaneous flora of Oltenia, Romania. Bulletin UASVM Horticulture 72(1), 182-186.
- Tucakov J. (1986). *Lečenje biljem*, Beograd,Srbija: Izdavačka radna organizacija "Rad".
- Werlemark G., Nybom, H. (2010). Dogroses: Botany, Horticulture, Genetics, and Breeding. Ch. 4. Horticultural Reviews. (36), 199-255.

## BIOCHEMICAL AND TECHNOLOGICAL PROPERTIES OF FRUIT OF SELECTED GENOTYPES OF ROSEHIP IN THE AREA OF BIJELO POLJE

Gordana Šebek<sup>1</sup>, Valentina Pavlova<sup>2</sup>

### Abstract

The aim of our research is to study the germoplasm of rosehip (*Rosa canina* L.) of sources existent in some areas of Bijelo Polje and to identify valuable biotypes .

The values for fruit weights ranged from 1.25 g to 2.76 g, fruit length ranged from 1.56 cm to 2.45 cm and fruit widths ranged from 0.92 cm to 1.44 cm. The values for pulp percentage per 100 fruits ranged from 50.2% to 64,3%, total soluble solid contents ranged from 14% to 19% and titrable acid contents ranged from 1.8% to 3.6 %.

The results indicate a high and very high variability of the analyzed parameters.

**Key words:** (*Rosa canina* L.), weight, soluble solid, titrable acid.

---

<sup>1</sup>University of Montenegro, Biotechnical faculty Podgorica, Centre for temperate fruits Bijelo Polje  
([sebek@t-com.me](mailto:sebek@t-com.me))

<sup>2</sup>Faculty of Technology and technical sciences, University St. Kliment Ohridski - Bitola, Dimitar Vlahov 59, 1400 Veles, Republic of Macedonia

## BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF FRUIT PLANTING MATERIAL GRAFTED ON BA 29 ROOTSTOCK IN MONTENEGRO

Gordana Šebek<sup>1</sup>

**Abstract:** The paper was written based on a study conducted in a nursery in the north of Montenegro during three successive years. The study had helped author of this paper to examine the possibility of producing one-year old seedlings of autochthonous pear cultivars grafted on quince BA 29 during the first year after bud grafting. The aim of this study is to determine morphological characteristics and compatibility of autochthonous pear seedling sorts with the quince Ba 29 .

**Key words:** biological characteristics, one-year old seedlings, quince BA 29.

### Introduction

Nursery material of high quality is the basic of intensive fruit growing (Baryla and Kaplan 2006). Namely, modern pear orchards are planted at 2000 - 5000 trees per ha  $\circ^1$  on under High Density Planting (HDP), if it is grafted on dwarf or semi-dwarf quince rootstocks, yielding at least 40-50 t per ha $\circ^1$  (Wertheim, 2002). Intensive pear orchards are based on the concept of high density planting, training systems of low tree height and high productivity on the basis of the unit area (ha or m $^2$ ). However, quince is graft incompatible with some of the major pear cultivars such as Bartlett (Tukey, 1978; Hartmann et al., 1997). Vegetative rootstocks that are used for production of pear and quince seedlings are Anžerska quince MA and Provencal Ba 29 (Stančević, 1990). There are other Quince rootstocks in use such as 'Adams', 'Ba29' and the more recently introduced 'EMH' and 'Eline' and it must be assumed for the sake of caution that the incompatibilities mentioned here are probably expressed in some degree in all such Quince rootstock forms. This paper uses practical experience from the conducted study and also literature related to the compatibility of autochthonous varieties of pear with quince rootstocks clone Ba 29.

### Material and methods

The domesticated pear is one of the most important fruit crops, grown extensively in colder and temperate climate. Many consider pear as the fruit above all fruits. Although modern pear varieties and autochthonous cultivars are an essential part of the inheritance of the region, knowledge about the former is becoming rarer. An autochthonous cultivar is a variety with a high capacity to tolerate biotic and abiotic stress, resulting in high yield stability under a low input agricultural system. Agricultural industrialization, Green Revolution technologies and environmental changes have all been cited as factors contributing to the erosion of crop biodiversity, including pear. Changing characteristics of markets – including distance to market, means of transportation, fruit appearance and

<sup>1</sup>University of Montenegro. Biotechnical faculty Podgorica. Centre for temperate fruits, medical and aromatic herbs Bijelo Polje (sebek@t-com.me)

storage requirements – are also contributing towards the old varieties becoming less popular.

The material of this study was autochthonous pears: 'Sijerak', 'Kaličanka', 'Medunak', 'Kačmorka', 'Buzdovanka' and 'Ramaganlja'. These autochthonous varieties of pears are grafted on vegetative rootstocks quince Ba 29.

The experiment was conducted in the village Njegnjevo in the period from the year 2009 to the year 2012. The nursery was located at Njegnjevo near Bijelo Polje ( $43^{\circ}05'N$ ;  $19^{\circ}05'E$ ), North Montenegro.

During the year of 2009, the vegetative rootstocks were cultivated. What we are hoping to accomplish in this project is to determine the compatibility between vegetative rootstocks (Ba 29) and autochthonous varieties of pears. In Montenegro, autochthonous varieties of pears before were only grafted on generative rootstocks. This fact prevents raising of pear orchards with intensive production. Budding of sleeping buds was conducted in the autumn (late August) during the years of 2009, 2010 and 2011. Due to poor production results there were other grafting's that took place in the spring of years 2010, 2011 and 2012, in which the method of 'English linking' was used. Grafting height is 10 cm from the root collar of vegetative rootstock for pear (quince Ba 29). Scions for grafting were collected in the spring before the abrupt movement of buds and stored in the basement until the proper grafting conditions. Acceptance of grafting was monitored during three years of production. The study (2010-2012) includes those morphometric characteristics of plants that are used as basic parameters for their classification according to outward, phenotypic characteristics. Determination of seedling growth indicators was done with a sample of 80 rootstocks. One-year seedling height was measured with a meter. The diameter of seedlings on 3 cm from the seedling grafting point was measured with a micrometer of 0.01 mm precision. The dynamic of evolution of the one-year seedlings (seedling height and thickness) was followed during the growing season treatments: June, July, August and September. The results were analyzed using one-way analysis of variance (statistical program Systat 11) where the middle of treatment compared to the LSD test.

## Results and discussion

The average acceptance of autumn grafting process in the shape of the 'T' letter of autochthonous pear sorts with quince clone BA 29 seedlings (vegetative rootstocks) had been with the following percent of success: 73.30% ('Sijerak'); 90.30% ('Kaličanka'); 51.67% ('Medunak'); 41.00% ('Kačmorka'); 77.00% ('Buzdovanka') and 81.00% ('Ramaganlja'). Due to the results of the grafting process in the shape of the 'T' letter there was a need for repetition of the grafting process (next spring: English linking) for defining causes of low acceptance of seedlings regarding individual sorts and for increasing of production results. When the grafting process was repeated, satisfied results from the aspect of plantation production profitability had been achieved. Achieved percent after the repetition of the grafting process for autochthonous pear sorts with Ba 29 seedlings was: 99.30% ('Sijerak'); 99.00% ('Kaličanka'); 93.67% ('Medunak'); 85.67% ('Kačmorka'); 89.00% ('Buzdovanka') and 89% ('Ramaganlja'). Growth dynamic of one-year-old seedlings (height and corpulence of the seedlings) was

monitored during vegetation in time treatments: June, July and August. Values of the monitored parameters (height and corpulence of the seedlings) showed differences in average values and seedling growth dynamic. By analyzing the data for pear sort 'Sijerak' (rootstocks is quince BA 29), average height of the seedling in June was 33 cm. In the month of the July average height was 58 cm. For August average height was 94 cm. The average corpulence of the seedlings, 10 cm from the grafting spot, of the same sort was 3.20 mm in June. In July, data for the average corpulence was 5.45 mm. In august, corpulence was 9.05 mm. Parallel data for pear sort 'Kaličanka' (rootstocks is quince BA 29), of studied parameters in three different time treatments were following: 36 cm; 61 cm; 98 cm; (height) and 3.30 mm; 6.25 mm; 9.55 mm (corpulence). Parallel data for pears sort 'Medunak' of studied parameters in three different time treatments were following: 41 cm; 65 cm; 113 cm; (height) and 3.80 mm; 7.05 mm; 10.30 mm (corpulence). Parallel data for pears sort 'Kačmorka' of studied parameters in three different time treatments were following: 43 cm; 73.5 cm; 120 cm; (height) and 3.55 mm; 7.80 mm; 11.05 mm (corpulence). Parallel data for pears sort 'Buzdovanka' of studied parameters in three different time treatments were following: 45 cm; 77 cm; 128 cm; (height) and 4.20 mm; 9.30 mm; 14.30 mm (corpulence). Analysis had shown that the average height of pear sort 'Ramaganlija' was 41 cm in June. In July the average height was 72.50 cm. In August average height was 101 cm. The average corpulence of the seedlings, 10 cm from the grafting spot, of the same sort was 3.90 mm in June. In July, data for the average corpulence was 8.40 mm. In august, corpulence was 12.80 mm.

The highest average tree height (172.30 cm) had the variety 'Buzdovanka' grafted on the rootstock quince BA 29 (Table 1). Based on LSD values, we can note that the height of the seedling in interaction between 'Buzdovanka' and the rootstock quince BA 29 was significantly higher compared to other seedling (interactions) height. Seedlings of pears 'Kačmorka' grafted on the rootstock quince BA 29 had in majority of cases significantly higher height than any other seedling grafted on the same rootstock (except 'Buzdovanka'). The corpulence of the seedlings was the greatest in the variety 'Buzdovanka' grafted on the rootstock quince BA 29 (21.50 mm), which is statistically significantly higher than all other (Table 1). The results showed that the low amount of successfully grafted seedlings after the autumn grafting on the rootstock quince BA 29 of cultivars 'Kačmorka' (41%) and 'Medunak' (51.67%) can be significantly improved in next spring grafting (85.67% 'Kačmorka' and 93.67% 'Medunak') (Table 1). The same effect of improving was evidenced in grafting of the variety 'Sijerak', the percentage of successfully grafted seedlings was increased from 73.30% to 99.30%. The lowest effect of improving was evidenced in grafting of the varieties 'Kačmorka' and 'Buzdovanka' (Table 1).

Biological characteristics in development of seedlings are mainly manifested in the first year of cultivating. In designing the research and the experiment we assumed that the morphological characteristics of researched one year old varieties of autochthonous pear seedlings will be interaction between the characteristics of rootstocks and scions. However, literature data (Behmen et al., 2011) have pointed out the complexity of the problem by stating that many studies of interaction rootstock - scion show that the rootstock controls verdure of seedlings, while the scion influences the of growth such as

long or short gains as well as the number of buds that will become a flower. Previous research (Behmen et al., 2011) of relationships between rootstocks and scions determined the effect of intermediate buds (from the scion) on growth and quality of fruit trees.

Tabela 1. Dinamika porasta jednogodišnjih sadnica kruške i procenat kalemljenja  
(podloga je dunja Ba-29)

Table 1. Growth dynamic of one-year-old seedlings of pears and achieved percent of the grafting process (rootstocks is quince Ba-29)

Sorta/podloga <i>Cultivar/ rootstocks</i>	Visina sadnica <i>Height of the seedlings (average)</i>				Debljina sadnica <i>Corpulence of the seedlings (average)</i>			
	VI	VII	VIII	IX	VI	VII	VIII	IX
	cm				mm			
Sijerak/ Ba -29								
Kaličanka/ Ba -29	33	58	94	151.3cb	3.2	5.45	9.05	17.6c
Medunak / Ba -29	36	61	98	149.8c	3.3	6.25	9.55	21.8a
Kačmorka / Ba -29	41	65	113	151.6cb	3.8	7.05	10.3	19b
Buzdovanka/ Ba -29	43	73.5	120.	163.2ab	3.55	7.8	11.05	18.8b
Ramaganlija/ Ba -29	45	77	128	172.3a	4.2	9.3	14.3	c
LSD	0.05			146.0c	3.9	8.4	12.8	21.5a
LSD	0.01			9.3				19.6b
				10.3				1.6
								1.9
Sorta/podloga <i>Cultivar/ rootstocks</i>	Procenat prijema kalema (jesen : oblik slova „T“) <i>Percent of the grafting process (autumn: „T“letter)</i>				Procenat prijema kalema (proleće : Englesko spajanje) <i>Percent of the grafting process (spring: English linking)</i>			
	2009	2010	2011	X	2010	2011	2012	
	% 68 77 75 73.3d				% 98 100 100 99.3a			
Sijerak/ Ba -29	90	87	94	90.3a	99	100	98	99a
Kaličanka/ Ba -29	50	53	52	51.7h	91	94	96	93.67
Medunak / Ba -29	37	44	42	41ij	82	90	85	b
Buzdovanka/ Ba -29	75	80	76	77c	86	93	88	85.67
Ramaganlija /Ba -29	85	82	76	81b	86	91	90	c
LSD	0.05			4.6				89cb
LSD	0.01			6.8				89cb
								3.4
								5.5

The earliest methods used to detect graft incompatibility relied on external symptoms such as graft union malformations, yellowing of foliage, decline in vegetative growth and vigor, and marked differences in growth rate of scion and rootstock (Hartmann et al., 1997), or anatomical abnormalities after grafting. This requires waiting until the symptoms are visible, which may take years. Additionally, early

anatomical observations may not always correlate with long-term graft survival (Andrews and Marguez, 1993).

Mosse (1962) has written that the only certain criterion of incompatibility is the characteristic interruption in cambial and vascular continuity that leads to the spectacular smooth breaks at the point of union, and then only in cases where no normally developed vascular tissue is noticeable at the broken union. The gap thus formed is filled by proliferating ray tissue that does not lignify normally (Santamour, 1988). Whether or not the above quotes (Santamour, 1988) are correct, the failure to reconstitute a structurally sound and physiologically functional continuity of vascular tissue (both xylem and phloem) has to be the cornerstone of the incompatibility in woody plants. Whether this interpretation is too restrictive or not, the failure to normally reconstitute vascular tissue growth has to be the cornerstone of the incompatibility issue.

### **Conclusion**

The research was conducted on 6 different pear cultivars : 'Sijerak', 'Kaličanka', 'Medunak', 'Kačmorka', 'Buzdovanka' and 'Ramaganlija' and that allowed us to obtain important genetically and physiological traits.

1. The most important result of our research is the fact that we determined the compatibility between researched autochthonous cultivars of pears and vegetative rootstocks ('quince Ba 29').
2. The method of re-grafting in spring is very useful because we had higher amount of successfully grafted seedlings on vegetative rootstocks after re-grafting.
3. The results of this research show that the plant height, stem corpulence one-year old seedlings are characteristics of autochthonous pear cultivars, from which rapid growth and uniformity of scions depend.
4. Production of seedling material of autochthonous cultivars with vegetative rootstocks 'Quince Ba 29' will be enormous contribution for even partially saving of fruit genofond that is the unity product of our ecological environment and autochthonous biocenosis.

### **Acknowledgment**

We would like to express our thanks to the company "Agrosjever" from Berane, Montenegro, for allowing us to gather data and helping us to publish this paper. Also, we are most grateful to the co-operant Mr. Tadija Šebek, for the possibility to work and collect valuable data on his nursery and orchards.

### **References**

- Andrews K.P., Marguez C.Z. (1993). Graft incompatibility. Horticultural Reviews. 15, 183-232.

- Baryla P., Kaplan M. (2006). The effect of stocks on the quality of young trees and the nursery efficiency of cherry trees cv. 'Lutowka'. *Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus* 5(1), 45-52.
- Behmen, F., Murtić, S., Aliman, J. (2011). The growth dynamics of apple seedlings depending on the exposure time and the position of the scion bud on it. 46 Croatian and 6 International Symposium on Agriculture. Proceedings 1006 - 1010. Abbey. Croatia.
- Hartmann H.T., Kester, D.E., Davies, Jr. F.T., Geneve, R.L. (1997). The biology of grafting. In: *Plant Propagation: Principles and Practices*. (Eds. H.T. Hartmann, D.E. Kester, F.T. Davies, Jr. and R.L. Geneve), Prentice-Hall, New Jersey, pp. 392-436.
- Mosse B.(1962). In *Graft Incompatibility in Fruit Trees*, Commonwealth Agricultural Bureaux. Farnham Royal. pp. 36 -38. England.
- Santamour F.S. (1988). Graft compatibility in woody plants: an expanded perspective. *J. Environ. Hort.* 6(1), 27-32.
- Stančević A. (1990). Morava – a new quince cultivar. *Yugoslav Fruit* 24, 93. 11-16.
- Tukey, H.B. (1978). Dwarfing rootstocks for pear. In. *Dwarfed Fruit Trees*. (Ed. H.B. Tukey), pp. 182-189. Cornell University Press. USA.
- Wertheim S. J. (2002). Rootstocks for European pear. *Acta Hort.* 596, 299-309.

## BIOLOŠKE OSOBINE SADNOG MATERIJALA ČAČANSKIH SORTI ŠLJIVE PROIZVEDENOG NA PODRUČJU BIJELOG POLJA

Gordana Šebek<sup>1</sup>

**Izvod:** U radu su prikazani rezultati (2015-2017) proučavanja bioloških karakteristika jednogodišnjih sadnica sorti šljive (Čačanska rodna, Čačanska lepotica i Čačanska rana) na podlozi džanarike (*Prunus cerasifera* Erhr.) Sadnice su odgajene u rasadniku u Bijelom Polju (sertifikati br. 060-320/10-0401-473/2 i br. 060-320/10-0401-472/3). Analizirana je visina nadzemnog dela jednogodišnjih sadnica, prečnik sadnica i dužina korena. Primenom statističkih metoda, utvrđivana je varijabilnost morfoloških svojstava navedenih sorti. Prosečan procenat prijema posle prolećnog kalemljenja (englesko spajanje) ispitivanih sorti šlive je bio : 90 % (Čačanska rodna), 82 % (Čačanska lepotica) i 81 % (Čačanska rana).

**Ključne reči:** jednogodišnje sadnice, morfološke karakteristike, sertifikat o priznavanju .

### Uvod

Najrasprostranjenija voćna vrsta u Crnoj Gori je šljiva i njeno gajenje datira još iz antičkih vremena. Uslovi sredine u Crnoj Gori, posebno u regionu Gornjeg Polimla, su određeni umjereno kontinentalnom klimom koja je pogodna za gajenje šljive (Krgović, 2000). U ovom području najzastupljenije je mrko kiselo zemljишte (Fuštić i Đuretić, 2000.). Svaka introdukovana sorta šljive ima svoje specifičnosti, ali im je svima zajedničko to da postavljaju mnogo strožije uslove u pogledu plodnosti zemljишta, pogodnosti položaja, primene pomotehnike i zaštite. Zanemarivanje nekog od ovih faktora može dovesti u pitanje rentabilnost uvođenja novog sortimenta u plantažnim zasadima.

Prema statističkim podacima za Crnu Goru, proizvodnja plodova šljive je na nivou od 11736,8 t ukupno (u plantažnom i ekstenzivnom gajenju), a 2092,9 t u plantažama (Monstat, 2014.) Što se tiče statističkih podataka za proizvodnju sadnica šljive i ostalih vrsta voća nema tačnih podataka, sem konstatacije da je proizvodnja niska i da su raniji statistički podaci odnosno primenjena metodologija upitni (Monstat, 2014.) Smatramo, da će proizvodnja sadnog materijala kod kooperanata ubrzo pasti na još niži nivo, jer većina odustaje od ove proizvodnje zbog administrativnih poteškoća i prepreka, odsustva subvencija i stimulansa i nekooperativnosti stručnih službi tj. administracije za biljnu proizvodnju.

Tokom zadnjih 15 godina desila se postepena modifikacija sortimenta i uvođenje novih, introdukovanih sorti šljive u regionu Polimla što predstavlja određeni korak u povećanju proizvodnje plodova šljive. Takođe, odabir pogodne sorte je osnovni preduslov profitabilne proizvodnje šljiva i u Srbiji (Milatović i sar., 2011). U Polimlu,

<sup>1</sup>Univerzitet Crne Gore, Biotehnički fakultet, Centar za kontinentalno voćarstvo, Bijelo Polje, C.Gora ([sebek@t-com.me](mailto:sebek@t-com.me)).

dominacija autohtonih rakijskih sorti je sve manja, a sve se više gaje Stanley, Čačanska rodna i Čačanska lepotica (Šebek, 2011). Unatoč tome, podizanje mešovitih organskih zasada kontinentalnog voća u kojima bi autohtone rakijske sorte našle svoje mesto u izvesnoj meri kroz komercijalni efekat (rakija), ali i kroz očuvanje biodiverziteta (što je jedan od postulata organske proizvodnje voća) treba osavremeniti proverenim introdukovanim sortama radi proizvodnog i ekonomskog efekta (Šebek, 2011).

Prema preporukama iz udžbenika (Kovačević, 2006) za organske šljivike izdvajaju se novostvorene sorte: Čačansaka rana, Čačanska lepotica, Čačanska najbolja, Čačanska rodna i dve autohtone, rakijske sorte: Crvena ranka i Crveni piskavac. Ono što se u šljivarstvu godinama ne menja je dominacija, a slobodno se može reći i isključivo korišćenje sejanaca džanarike (*Prunus cerasifera* Erhr.) kao podloge, sa velikom raznolikošću njenih tipova (Nikolić, 2007).

### Materijal i metode rada

Materijal istraživanja su sorte šljive: Čačanska rodna, Čačanska lepotica i Čačanska rana. Kao kontrola je korišćena autohtona sorta Crvena ranka radi mogućnosti komparacije morfoloških i proizvodnih osobina komercijalnih sorti i autohtone sorte. Sve sorte su kalemljene na sejancu džanarike (*Prunus cerasifera* Erhr.). Ukupan broj proizvedenih jednogodišnjih sertifikovanih sadnica šljive u periodu 2015 - 2017. godina je iznosio 13204 komada sadnica sorte Čačanska rodna, 413 komada sadnica sorte Čačanska lepotica i 440 komada sadnica sorte Čačanska rana.

Ogled je postavljen u rasadniku u selu Njegnjevu u periodu 2015-2017. Tokom 2014 proizvedene su generativne podloge džanarike. Seme je prikupljano predhodne godine sa lokalnih stabla džanarike, čišćeno od mesa, sušeno i stratifikovano u vlažnom pesku u toku zime 2013/2014.

Isti postupak proizvodnje podloga je ponavljan još dva puta radi omogućavanja još dve proizvodne godine. Sejanci su svakako raznolikih genetskih karakteristika, ali je učinjen pokušaj sužavanja raznolikosti korišćenjem semena sa lokalnih stabla džanarike.

Iskustvo nas je naučilo da biramo džanarike žute pokožice jer su sejanci dobijani od njihovog semena imali manje trnovitih izraštaja u osnovi te je kalemljenje olakšano u odnosu na sejance dobijene od semena od genotipova sa crvenom pokožicom.

Kalemilo se u proleće 2015, 2016 i 2017. godine, metodom engleskog spajanja, na predhodno adekvatno uzgojenu i pripremljenu podlogu. Visina kalemljenja je na 10 cm od korenovog vrata sejanca džanarike. Plemke su odsecane prije kretanja pupoljaka i čuvane u podrumskim uslovima, umotane u vlažnu pamučnu tkaninu, do momenta kalemljenja. Prijem sadnica je praćen tokom tri proizvodne godine.

Istraživanjem (2015-2017) su obuhvaćene one morfometrijske karakteristike sadnica koje se koriste kao osnovni parametri za njihovo klasiranje prema spoljašnjim, fenotipskim obeležjima. Utvrđivanje pokazatelja rasta jednogodišnjih sadnica obavljeno je sa uzorkom od 80 sadnica. Visina stabla i dužina korena (od početka korena do vrha centralne korenove žile) mereni su metrom, a prečnik sadnica na 3cm od mesta kalemljenja mikrometrom preciznosti 0.01 mm. Dobijeni rezultati obrađeni su metodom jednosmerne analize varijanse (statistički program Systat 11) pri čemu su sredine tretmana upoređene na osnovu LSD testa.

## Rezultati istraživanja i diskusija

Sa stanovišta rasadničarske proizvodnje, biološke osobine u razviću korena i stabla u najvećoj meri ispoljavaju se tokom prve godine razvoja podloge (sejanci džanarike) i nadalje tokom prve godine razvoja sadnica. Prilikom koncipiranja istraživanja i postavljanja ogleda predpostavili smo da će morfološke osobine jednogodišnjih sadnica ispitivanih sorti šljive biti interakcija osobina podloge i bujnosti sorte koju kalemimo. Literaturni podaci (Behmen, 2011) ukazivali su na složenost problematike navodeći da mnoga istraživanja interakcije podloga – plemka pokazuju da podloga kontroliše ukupan porast, dok plemka utiče na distribuciju rasta, kao što su dugi ili kratki prirasti isto kao i broj pupoljaka koji će postati cvetni. Dosadašnjim istraživanjem (Behmen, 2011) međusobnih odnosa podloge i plemke, utvrđen je utjecaj i srednjih pupoljaka (sa plemke) na porast i kvalitet voćnih sadnica.

Tablica 1. Prosečne vrednosti ispitivanih morfoloških i proizvodnih pokazatelja jednogodišnjih sadnica sorti šljive

*Table 1. Average values of examined morphological and production indicators of one-year old seedlings of plum cultivars*

Sorta <i>Cultivar</i>	Visina stabla (cm) <i>Height of the seedlings (cm)</i>				Prečnik sadnica (mm) <i>Corpulence of the seedlings (mm)</i>			
	2015	2016	2017	X	2015	2016	2017	X
Čačanska rana	159,3	167,0	174	166,8	18,2	23,2	21,0	20,8
Čačanska lepotica	164,1	172,5	169	168,6	21,9	23,2	26,3	23,8
Čačanska rodna	185,0	181,8	182	182,9	25,6	25,1	25,2	25,3
Crvena ranka	165,0	170,0	168	168,2	20,9	23,2	23,4	22,5
LSD 0,05				3,31				1,32
LSD 0,01				4,32				1,65
Sorta <i>Cultivar</i>	Dužina korena (cm) <i>Root length (cm)</i>				Prijem kalemova (%) <i>Percent of the grafting process (%)</i>			
	2015	2016	2017	X	2015	2016	2017	X
Čačanska rana	67,6	71,9	68,7	69,1	80	83	80	81
Čačanska lepotica	72,9	77,5	76,4	75,6	79	84	83	82
Čačanska rodna	80,2	79,0	76,9	78,7	85	92	93	90
Crvena ranka	60,9	74,0	73,0	69,3	80	87	88	85
LSD 0,05				4,8				2,7
LSD 0,01				5,7				3,3

Na osnovu podataka našeg istraživanja uočava se da je najveća visina jednogodišnji sadnica 182,9 cm bila kod sorte Čačanska rodna i pokazala je značajnu razliku u odnosu

na parametar visina sadnica kod sorti Čačanska lepotica, Čačanska rana i kontrole Crvena Ranka (Tabela 1). Na osnovu LSD vrednosti zapaža se da je visina sadnica kod sorte Čačanska rodna bila statistički značajno veća u odnosu na visinu sadnica ostalih sorti. Jednogodišnje sadnice sorte Crvena ranka (kontrola) imale su visinu (168,2 cm) što je blisko rezultatima za parametar visina sadnica kod sorti Čačanska lepotica (168,6 cm) i Čačanska rana (166,8 cm).

Prečnik sadnica bio je najveći kod sorte Čačanska rodna (25,3 mm) statistički značajno viši u odnosu na sortu Čačanska rana (20,8 mm) i kontrolu tj. autohtonu sortu Crvena Ranka (22,5mm).

Dužina korena ispitivanih sadnica sorti na podlozi džanarike kretala se u intervalu od 69,1 cm (Čačanska rana) do 78,7 cm (Čačanska rodna). Najveću dužinu korena, višu u odnosu na većinu ispitivanih sadnica sorti, imala je Čačanska rodna. Sledi sorta Čačanska lepotica (75,6 cm), koja je imala prosečno duži koren u odnosu na preostale sadnice ispitivanih sorti. Posmatrajući dobijene rezultate vezano za parametar dužina korena može se konstatovati da ima statistički značajne razlike u prosečnoj dužini korena, te da je ova osobina zavisna od korišćene podloge, tj. smeše semena različitih genotipova džanarike. Ta raznolikost genotipova džanarike je dala kolebanja u dužini korena sadnice tj. izbor sorte tu nije imao presudni uticaj. U našem istraživanju džanarika kao izbor za generativnu podlogu sorti Čačanske rodne, Čačanske lepotice i Čačanske rane je dala odlične rezultate. Međutim u literaturu ima i nekih drugojačijih zapažanja vezano za interakciju podloga džanarike (*Prunus cerasifera* Erhr.) i introdukovane sorte. Konkretno se u tom smislu pominju sorte Kalifornijska plava i Stenly. Primećeno je da pojedine sadnica sorte Kalifornijska plava još u rastilu imaju veća zadebljanja na spojnom mestu ili pak, da je velika razlika u debljini između podloga i pitomog dela. Ovakve sadnica se lako lome na spojnom mestu, a ukoliko se zasade na stalno mesto sporo rastu. Sorta Stenley reaguje vidno na heterogenost sejanaca dženerike (*Prunus cerasifera* Erhr.). Ovo se primećuje već u prvim godinama i to tako što se mogu naći jedna pored druge voćke sa idealno lepo sraslim i bez ikakve razlike u debljini na spojnom mestu sa onima gde je sve ovo vrlo izraženo.

Procenat prijema kalemova je imao najvišu vrednost kod sorte Čačanska rodna (90%), a najnižu kod sorte Čačanska rana (81%). Zapažamo da je procenat prijema značajno viši kod kontrole Crvena Ranka (85%) u odnosu na sortu Čačanska lepotica (82%) i sortu Čačanska rana (81%).

### Zaključak

Iz dobijenih rezultata rada na istraživanju morfoloških karakteristika sadnog materijala komercijalnih introdukovanih sorti šlive na području Sjevera Crne Gore mogu se donijeti sljedeći zaključci:

Najveća prosečna visina jednogodišnji sadnica 182,9 cm bila je kod sorte Čačanska rodna, a najniža prosečna visina je bila kod sorte Čačanska rana (166,8 cm). Prosečna visina sadnica kontrole (Crvena ranka) iznosila je 168,2 cm.

Prečnik sadnica bio je najveći kod sorte Čačanska rodna (25,3 mm), statistički značajno viši u odnosu na sve ostale sorte. Najniža vrednost za parametar prečnik

sadnice je zabilježena kod sorte Čačanska rana (20,8mm). Prosečan prečnik sadnica kontrole (Crvena ranka) iznosio je 22,5 mm.

Dužina korena ispitivanih sadnica sorti na podlozi đžanarike kretala se u intervalu od 69,1 cm (Čačanska rana) do 78,7 cm (Čačanska rodna). Najveću dužinu korena imala je Čačanska rodna. Sorta Čačanska lepotica imala je prosečno duži koren (75,6 cm).

Generativna podloga sejanac đžanarike za kalemljenje sorti Čačanska rodna, Čačanska lepotica i Čačanska rana je dala odlične rezultate. Procenat prijema kalemova je imao najvišu vrednost kod sorte Čačanska rodna (90%), a najnižu kod sorte Čačanska rana (81%). Kompatibilnost ispitivanih introdukovanih tzv. čačanskih sorti šljive sa podlogom sejanac đžanarike je bila pozitivna, što se vidi na osnovu napred navedenih rezultata.

Istraživanja treba dopuniti u smislu kvaliteta kalem grančica i kvaliteta i mikrolokacije pupoljaka (bazalni, središnji, vršni) ukoliko bi se odlučili za kalemljenje na spavajući pupoljak - okuliranjem u avgustu.

### Napomena

Zahvaljujemo se kompaniji "Agrosever" iz Berana, Crna Gora, što nam je omogućila da prikupimo podatke i objavimo ovaj rad. Takođe, veoma smo zahvalni kooperantu kompanije Agrosever Tadiji Šebeku, za mogućnost rada i prikupljanja vrijednih podataka iz rasadničke proizvodnje. Zahvalnost i profesorima Biotehničkog fakulteta iz Podgorice na korektnom radu prilikom sertifikacije i fitosanitarne kontrole sadnog materijala.

### Literatura

- Behmen F., Murtić S., Aliman J. (2011). Dinamika rasta sadnica jabuke u zavisnosti od ekspozicije plemke i položaja pupa na njoj. *46 Hrvatski i 6 Internacionalni simpozijum Agrikulture. Zbornik radova 1006 – 1010. Opatija. Hrvatska*
- Fuštić, B., Đuretić, G. (2000). *Pedologija Crne Gore*. Biotehnički Institut, Univerzitet Crne Gore, Podgorica.
- Kovačević D., Nenadović-Mratinic E. (2006). *Organska poljoprivreda*. 91-127. Nolit, Beograd. Srbija.
- Krgović L. (2000). Proizvodnja, prerada i marketing proizvoda od šljiva i šljiva u Crnoj Gori. *Prvi međunarodni simpozijum proizvodnje, prerade i marketing šljiva i proizvoda od šljiva*. Koštunići, str. 155-160. Srbija.
- Milatović, D., Đurović, D., Zec, G. (2011). Testing of table varieties of plums in the Belgrade area. J. Pom., 45(173/174), 15–22.
- Monstat (2014). *Statistical Yearbook of Montenegro*. Statistical Office, Montenegro
- Nikolić D., Rakonjac V. (2007). Divergence of myrobalan (*Prunus cerasifera* Erhr.) types on the territory of Serbia. Genetika 39(3), 333-342.
- Šebek G. (2011): *Organska proizvodnja voća ( Organic fruit production)*. Bijelo Polje. 101 -111. LMOC projekt, which is implemented by the WUS Austrija, and financed by the Austrian Development Agency.

**BIOLOGICAL TRAITS OF THE PLANTING MATERIAL  
OF ČAČAK PLUM CULTIVARS GROWN IN THE AREA OF BIJELO  
POLJE**

Gordana Šebek<sup>1</sup>

**Abstract**

The paper shows the three-year results (2015 - 2017) of the study of the biological characteristics of one-year seedlings of plum cultivars (Čačanska rodna, Čačanska lepotica i Čačanska rana), grafted on cherry plum (*Prunus cerasifera* Erhr) rootstock. The seedlings were grown in environmental conditions of the nursery situated in the area of Bijelo Polje (Njegnjevo). The height of the overground part of the one-year or annual seedlings, the diameter of the seedlings, as well as the length of the root were analyzed. By applying appropriate statistical methods, the variability of the morphological traits of these varieties was determined. The average percentage of successful unions after the spring grafting of the selected plum cultivars was: 90% (Čačanska rodna), 82% (Čačanska lepotica) and 81% (Čačanska rana).

**Key words:** annual seedlings, morphological traits, accreditation certificate

---

<sup>1</sup>University of Montenegro. Biotechnical faculty Podgorica. Centre for temperate fruits, medical and aromatic herbs Bijelo Polje (sebek@t-com.me)

## IZMRZAVANJE CVETNIH PUPOLJAKA KAJSIJE (*Prunus armeniaca* L.) TOKOM PERIODA MIROVANJA

Ivan Glišić<sup>1</sup>, Tomo Milošević<sup>1</sup>, Radmila Ilić<sup>1</sup>, Gorica Paunović<sup>1</sup>,  
Nenad Jovančić<sup>2</sup>, Miloš Vujisić<sup>2</sup>

**Izvod:** U radu su prikazani rezultati izmrzavanja cvetnih pupoljaka 15 sorti kajsije kada je tokom ekološkog mirovanja došlo do pojave temperatura nižih od -10°C. Cvjetni pupoljci proučavanih sorti kajsije su se u tom momentu nalazili u fenofazi od razmicanja ljuspastih listića pupoljka pa do početka crvenog balona. Procenat izmrazavanja pupoljaka se razlikovao u zavisnosti od sorte. Pojedine sorte su imali veoma mali procenat izmrazavanja cvetnih pupoljaka ('Bergeron' i 'Zerdelija'), dok su ranocvetne sorte ('Aurora', 'Tsunami', 'Goldrich', 'Spring Blush', 'Betinka', 'Orange Red') pretrpele najveća oštećenja. Cvjetni pupoljci navedenih sorti su izmrzli preko 90%.

**Ključne reči:** kajsija, izmrzavanje cvetnih pupoljaka.

### Uvod

Komercijalna proizvodnja kajsije u svetu ograničena je na područje između 25 i 50° severne geografske širine i na uzani pojas južne zemljine polulopte koji se prostire u delovima Čilea, Argentine, Južnoafričke Republike, Australije i Novog Zelanda (De Stefano i Rotundo, 1991., Bassi i Karayannis, 1999). Ovakva ograničenost se ne može posmatrati isključivom u okviru napred navedenih granica, jer kajsija u određenim područjima postiže dobre rezultate kako u pogledu prinosa, tako i u pogledu kontinuiteta u plodonošenju, dok je u drugim, geografski bliskim, lokalitetima njenog gajenje skoro onemogućeno. Kao takva, smatra se najboljim primerom voćke mikrolokaliteta (Milošević, 1997).

Srbija se nalazi u području u kome se u zavisnosti od godine i od lokaliteta gajenja postižu različiti rezultati u gajenju kajsije. Pojedinih godina se postiže dobra rodnost, dok u drugim godinama rod može u potpunosti da izostane. Variranje proizvodnje zavisi od većeg broja činilaca. Najznačajniji među njima su pozni prolećni mrazevi (Liczner-Małańczuk i Sosna, 2005a; Guerriero i sar., 2002), pojava iznenadnog sušenja kajsije (Liczner-Małańczuk i Sosna, 2005b), izmrzavanje cvetnih pupoljaka pre cvetanja (Đurić, 1987; Pejkić i sar., 1987; Szabo i sar., 1995; Miletić i sar., 2006), odsustvo odgovarajućih mera nege zasada - rezidba, zaštita od prouzrokovaca bolesti i štetočina (Milošević, 1997). Prema navodima Rodriga i Herrera (2002) variranje proizvodnje kajsije je u najvećoj meri uslovljeno nestabilnim zimskim i rano-prolećnim temperaturama. Variranje proizvodnje je još više izraženo u državama koje se prostiru severnije od Srbije (Mađarska i Češka), dok je najmanje izraženo u Grčkoj, što

<sup>1</sup> Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Srbija (glishoo@yahoo.com);

<sup>2</sup> Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, student.

potvrđuje činjenicu da je areal ove voćne vrste direktno povezan sa opštim klimatskim karakteristikama jedne države (Szalay i Szabo, 1999; Ruiz i Egea, 2008).

Osnovni cilj rada je da se utvrdi odnos između pojave i intenziteta niskih zimskih temperatara, fenofaze u kojoj su se u tom momentu nalazili cvetni populjci kajsije i stepena njihovog oštećenja (izmrzavanja). Takođe, obzirom da je ispitivanjem bilo obuhvaćeno 15 sorti, cilj je bio da se utvrde razlike između sorti u pogledu navedene osobine.

### Materijal i metode rada

Ispitivanja obuhvaćena ovim radom sprovedena su tokom 2018. godine u zasadu kajsije koji se nalazi u selu Gornja Gorevnica 9 km severozapadno od Čačka ( $20^{\circ}57'48''$  N;  $20^{\circ}19'31''$  E; 390 m n. v.). Kao materijal za istraživanje poslužilo je 15 domaćih i stranih sorti kajsije visoko kalemljenih na sejancu džanarike.

Tokom zime 2017/18 praćene su minimalne temperature, kao i dužina njihovog trajanja. Podaci su preuzimani sa automatskih meteoroloških stanica (model iMETOS IMT300, Pessl Instruments, Weiz, Austria) postavljenih na više lokacija na teritoriji opštine Čačak. Najbliža lokalitetu u kome su vršena istraživanja je postavljena na oko 3 km (selo Miokovci) i nalazi se skoro na istoj nadmorskoj visini kao zasad kajsije u kome su vršena ispitivanja, tako da se podaci mogu smatrati relevantnim.

Nakon zahlađenja i temperatura nižih od  $-10^{\circ}\text{C}$  koje su nastupile oko 1. marta 2018. godine uzeti su uzorci rodnih grančica i napravljeni su preseci populjaka. Uz pomoć digitalnog prenosivog mikroskopa marke VKTECH (max. uvećanje  $1000\times$ ) povezanog sa računaram posmatrani su preseci i registrovan je stepen oštećenja.

U periodu cvetanja koje je nastupilo oko 1. aprila vršeno je prebrojavanje cvetnih populjaka koji su se otvorili i onih koji nisu zbog izmrzavanja. Uzorkovano je po sorti ukupno 400 populjaka, raspoređenih u 4 ponavljanja sa po 100 populjaka (jedno stablo – jedno ponavljanje). Navedeni su i datumi početka cvetanja za svaku sortu u cilju utvrđivanja korelativnog odnosa između vremena cvetanja i stepena izmrzavanja.

### Rezultati istraživanja i diskusija

#### Osnovni klimatski parametri tokom zime 2017/2018

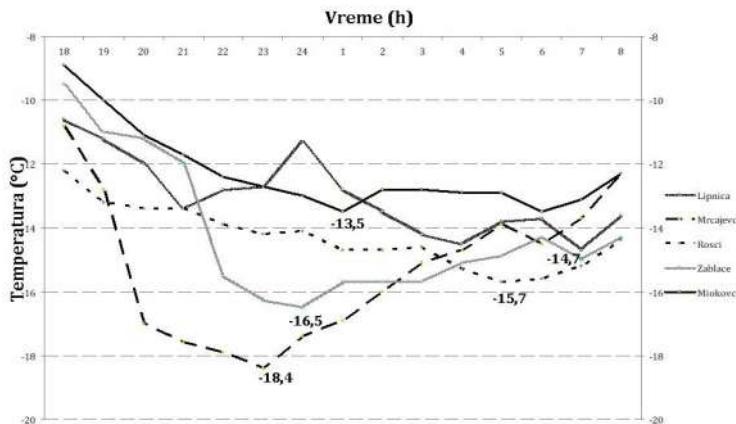
Osnovni klimatski parametri tokom zimskih meseci 2017/18 godine ukazuju na to da su decembar, januar i februar bili sa umereno niskim temperaturama koje su se kretale od  $-8$  do  $+15^{\circ}\text{C}$  (Graf. 1). Nije bilo dana sa temperaturama nižim od  $-18^{\circ}\text{C}$  koji bi mogli da izazovu oštećenje populjaka kajsije u fazi mirovanja (Đurić, 1987; Pejković i sar., 1987). Tokom februara veoma mali broj dana je bio sa temperaturama ispod  $0^{\circ}\text{C}$ , a onda je krajem februara nastupilo nekoliko dana sa temperaturama koje su se spustile ispod  $-10^{\circ}\text{C}$ , i to su bili najhladniji dani zime 2017/2018 (Graf. 1).



Graf. 1. Maksimalne i minimalne temperature tokom zime 2017/2018 godine izmerene na meteorološkoj stanici Miokovci, Čačak.

*Graph. 1. The maximum and minimum temperatures during the winter of 2017/2018 measured at the Miokovci meteorological station, Čačak.*

Najhladnija noć tokom zime 2017/18 godine je bila noć 28. februar/1. mart i temperature tokom te noći na 5 meteoroloških stanica u okolini Čačka su prikazane na Grafikonu 2.



Graf. 2. Temperature tokom noći 28.02./01.03. 2018. godine izmerene na meteorološkim stanicama u blizini Čačka

*Graph. 2. Temperature during the night 28.02./01.03. 2018, measured at meteorological stations near Cacak*

Podaci pokazuju da se temperatura 28. februara/1. marta 2018. godine najniže spustila na meteorološkoj stanici Mrčajevci ( $-18,4^{\circ}\text{C}$ ), zatim Zablaće ( $-16,5^{\circ}\text{C}$ ), pa Rošci ( $-15,7^{\circ}\text{C}$ ), Lipnica ( $-14,7^{\circ}\text{C}$ ), dok je najmanje niska temperatura zabeležena u Miokovcima ( $-13,5^{\circ}\text{C}$ ). Takođe je od značaja i podatak da su tokom čitave noći (od 18-08h) temperature na svim stanicama bile niže od  $-10,0^{\circ}\text{C}$ .

### Izmrzavanje cvetnih pupoljaka sorti kajsije

Cvetni pupoljci kajsije u periodu kada je nastupilo zahlađenje sa temperaturama nižim od -10°C (1. marta 2018. godine) su se nalazili u fazama od razmicanja ljuspastih listića do fenofaze početka crvenog balona (Sl. 1).



Sl. 1. Fenofaze u kojoj su se nalazili cvetni pupoljci kajsije kada je nastupio mraz ispod -10°C (faze 51-59 BBCH skale razvoja cvetnih pupoljaka koštičavog voća (Meier, 2001))

Fig. 1. Fenophase of flower buds of apricot when frost was below -10°C (phases 51-59 BBCH scale of development of flower buds of stone fruits (Meier, 2001))

Izmrzavanje cvetnih pupoljaka prikazano je u tabeli 1.

Tabela 1. Početak cvetanja, početak zrenja i izmrzavanje cvetnih pupoljaka sorti kajsije tokom 2018. godine

Table 1. Onset flowering, start of ripening and freezing of flower buds of apricot cultivars during 2018.

R.b. No.	Sorta Cultivar	Početak cvetanja Onset of flowering	Početak zrenja Start of ripening	% izmrzlih cvetnih pupoljaka % of frozen flower buds
1.	'Aurora'	29. 03.	02. 06.	98,30
2.	'Tsunamy'	29. 03.	02. 06.	95,85
3.	'Goldrich'	29. 03.	25. 06.	99,20
4.	'Spring Blush'	30. 03.	15. 06.	95,33
5.	'Betinka'	30. 03.	26. 06.	95,72
6.	'Orange Red'	30. 03.	23. 06.	91,10
7.	'Mađarska najbolja'	30. 03.	02. 07.	24,90
8.	'Zaklopačka ruža'	31. 03.	05. 07.	21,72
9.	'NS-4'	31. 03.	08. 07.	20,88
10.	'NS-rodna'	31. 03.	08. 07.	22,53
11.	'NS-kasnocvjetna'	31. 03.	10. 07.	12,63
12.	'Roxana'	31. 03.	10. 07.	81,55
13.	'Bergeron'	01.04.	18. 07.	5,20
14.	'Farbaly'	01.04.	01. 08.	55,83
15.	'Zerdelija'	01.04.	28. 06.	0,00

Rezultati pokazuju da su ranocvetne sorte ('Aurora', 'Tsunami', 'Goldrich', 'Spring Blush', 'Betinka', 'Orange Red') pretrpele najveća oštećenja. Cvetni pupoljci navedenih sorti su izmrzli preko 90%. Kod sorti 'Aurora', 'Tsunami' i 'Goldrich' skoro da nije bilo ni jednog cveta.

Kritične temperature, odnosno temperature pri kojima dolazi do oštećenja pupoljaka, nazivaju se letalnim temperaturama. Najčešće se koristi termin LT50 koji označava temperature pri kojima dolazi do oštećenja (uginuća) 50% pupoljaka.

Layne i Gadsby (1995) su kod 27 sorti i selekcija kajsije u uslovima Kanade utvrdili da je prosečna LT50 za cvetne pupoljke u periodu dubokog mirovanja bila -28,7°C. Szalay et al. (2006) su kod 20 sorti kajsije u uslovima Mađarske utvrdili da je vrednost LT50 za cvetne pupoljke u toku dubokog zimskog mirovanja iznosila od -18 do -25°C. Vrednosti LT50 su značajno niže kako se približava fenofaza cvetanja. Szalay et al. (1999) su utvrdili da postoji značajna korelacija između stadijuma mikrosporogeneze i stepena otpornosti cvetnih pupoljaka kajsije na mraz. Nastupanjem mejoze u materinskim ćelijama polena otpornost na mraz se značajno smanjuje. U početnom periodu ekološkog zimskog mirovanja temperature od -18°C mogu izazvati značajna oštećenja, dok su u kasnijoj fazi kritične temperature od -10 do -15°C (Milatović, 2013). U fazi crvenog balona (u kojoj se upravo našao određeni broj sorti kada je nastupio mraz 1. marta) vrednost LT50 je -10,5°C, dok su u toj fazi vrednosti LT90 -13,8°C, a vrednosti LT10 -6,2°C.

Ovim se objašnjavaju razlike u stepenu oštećenja (izmrzavanja) od sorte do sorte. Ranocvetne sorte su u momentu kada je došlo do zahlađenja i temperatura nižih od -10°C bile u fazi početka crvenog balona (Sl.1), ili blizu navedene faze. Kod tih sorti došlo je skoro do potpunog izmrzavanja svih cvetnih pupoljaka (Sl.3).



Sl. 1. Cvetni pupoljak kajsije bez oštećenja od mraza

*Fig. 1. A flower bud of apricot without damage from frost*



Sl. 3. Cvetni pupoljak kajsije koji je potpuno izmrzao

*Fig. 3. A flower bud of apricot that completely frozen*

Sa druge strane, cvetni pupoljci sorti kajsije koje kasnije cvetaju pretrpeli su značajno manja oštećenja (Sl. 2). Manje od 10% izmrzlih cvetova zabeleženo je kod sorte 'Bergeron' (5,20%) i sorte 'Zerdelija' kod koje nije bilo izmrzavanja cvetnih pupoljaka. Izmrzavanje cvetnih pupoljaka kod sorti 'NS-kasnocvetna', 'NS-4', 'NS-rodna', 'Zaklopacha ruža' i 'Mađarska najbolja' se kretalo od 12,63% ('NS-kasnocvetna'), pa do 24,90% ('Mađarska najbolja'). Izuzetak su bile sorte 'Farbaly' i

'Roxana', koje su, iako kasnijeg vremena cvetanja, imale značajan % izmrzavanja cvetnih pupoljaka (55,83%, odnosno 81,55%). Interesantno je da se događalo da su se na istom nodusu mešovite rodne grančice nalazili po jedan pupoljak koji je izmrzao i jedan koji je bio bez ikakvih oštećenja (Sl. 4).



Sl. 4. Tri pupoljka kajsije na istom nodusu - jedan potpuno izmrzao (u sredini), jedan bez oštećenja (desno) i jedan sa potencijalnim oštećenjima (levo)

*Fig. 4. Three buds of apricot on the same nodus - one completely frozen (in the middle), one without damage (right) and one with potential damage (left)*

Ovi rezultati su saglasni sa rezultatima Miletića i sar. (2006) koji navode da je izmrzavanje cvetnih pupoljaka kajsije na više lokaliteta u Opštini Čačak iznosilo od 35,3 do 100% što je u navedenoj godini uslovilo malu obilnost cvetanja i slab konačni prinos.

Navedeni rezultati potvrđuju da je izmrzavanje cvetnih pupoljaka kajsije jedan od značajnih uzročnika variranja proizvodnje ove voćne vrste (Milošević i sar., 2008; Glišić i sar., 2014).

### Zaključak

Izmrzavanje cvetnih pupoljaka kajsije kada su tokom ekološkog mirovanja nastupile temperature niže od  $-10^{\circ}\text{C}$  kretalo se od 0,00 do 99,20%. Značajno veća oštećenja su pretrpele ranocvetne sorte, dok su oštećenja kod sorti koje kasnije cvetaju bila manja, prvenstveno zbog toga što su se cvetni pupoljci kod njih nalazili u fazi razmicanja ljuspastih listića, dok su isti kod ranocvetnih sorti bili u fazi početka crvenog balona.

### Napomena

Ovo istraživanje je deo projekta TR 31064 ("Stvaranje i očuvanje genetskog potencijala kontinentalnih vrsta voćaka") finansijski podržan od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

## **Literatura**

- Bassi D., Karayiannis I. (1999): Apricot Culture. Present and Future. *Acta Hort.*, 488: 35-40.
- De Stefano F., Rotundo G. (1991): Apricot offer: International situation and prospects. *Acta Hort.*, 293: 31-56.
- Đurić B. (1987): Izmrzavanje cvetnih pupoljaka u introdukovanih sorti kajsije u periodu zimskog mirovanja. *Jug. voćarstvo*, 80: 27-33.
- Glišić I., Milošević T., Milošević N., Nikolić R., Paunović G. (2014): Agroeconomic analysis of apricot production in early years after planting. Book of Proceedings Fifth International Scientific Agricultural Symposium «Agrosym 2014» Jahorina, BiH, October 23-26, 2014: 215 - 220.
- Layne, R.E.C., Gadsby, M.F. (1995): Determination of cold hardiness and estimation of potential breeding value of apricot germplasm. *Fruit Varieties Journal*, 49: 242–248.
- Liczner-Małańczuk M., Sosna I. (2005a): Evaluation of several apricot cultivars and clones in the lower Silesia climatic conditions. Part I: Blossoming of trees, yield and fruit quality. *J. Fruit and Ornam Plant Res.*, 13: 39-48.
- Liczner-Małańczuk M., Sosna I. (2005b): Evaluation of several apricot cultivars and clones in the lower Silesia climatic conditions. Part II: Vigor, health and mortality. *J. Fruit and Ornam. Plant Res.*, 13: 49-57.
- Meier, U. (2001): Growth stages of mono and dicotyledonous plants. Phenological growth stages and BBCH identification keys of stone fruit. Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry, Berlin and Braunschweig: 55-57.
- Milatović D., Đurović D., Zec G. (2013): Osjetljivost sorti kajsije na zimski i pozni prolećni mraz. *Zbornik radova IV savetovanja „Inovacije u voćarstvu“*, Beograd: 239-247.
- Milatović, D. (2013): Biologija i ekologija kajsije. U: (Milatović D.). Kajsija. Naučno voćarsko društvo Srbije, Čačak: 43–114.
- Miletić R., Mitrović M., Rakićević M., Blagojević M. (2006): Uticaj niskih zimskih temperatura na izmrzavanje cvetnih pupoljaka breskve i kajsije na području Čačka. *Zbornik radova XXI Savetovanja: Unapređenje proizvodnje voća i grožđa*, Grocka, 12: 10-16.
- Milošević T. (1997): Specijalno voćarstvo, Agronomski fakultet, Zajednica za voće i povrće, Čačak-Beograd, str. 181-214.
- Milošević T., Glišić I., Veljković Biljana, Glišić Ivana, Paunović Gorica, Milošević N. (2008): Osnovni uzroci variranja proizvodnje kajsije. *Zbornik naučnih radova XXIII Savetovanja Unapređenje proizvodnje voća i grožđa*, Grocka, Vol. 14, br. 5.: 21-31.
- Pejkić B., Nenadović-Mratinović E, Vulić T. (1987): Uticaj niskih temperatura na izmrzavanje cvetnih pupoljaka u nekim sorti kajsije, šljive i višnje. *Jug. Voćarstvo*, 80: 19-25.
- Rodrigo M., Herrero J. (2002): Effect of pre-bloosom temperatures on flower development and fruit set in apricot. *Sci. Hort.*, 92: 125-135.

- Szabo Z., Soltesz M., Buban T., Nyeki J. (1995): Low winter temperature injury of apricot flower buds in Hungary. Acta Hort., 384: 273-276.
- Szalay L., Szabo Z. (1999): Blooming time of some apricot varieties of different origin in Hungary. Inter. J. Hort. Sci., 5: 16-20.
- Szalay, L., Papp, J., Pedryc, A., Szabo, Z. (2006): Diversity of apricot varieties based on traits determining winter hardiness and early spring frost tolerance of floral buds. Acta Horticulturae, 701: 131-134.

## **FREEZING FLOWER BUDS OF APRICOT (*Prunus armeniaca* L.) DURING WINTER DORMANCY**

*Ivan Glišić<sup>1</sup>, Tomo Milošević<sup>1</sup>, Radmila Ilić<sup>1</sup>, Gorica Paunović<sup>1</sup>,  
Nenad Jovančić<sup>2</sup>, Miloš Vujisić<sup>2</sup>*

### **Abstract**

The paper presents the results of the freezing of flower buds of 15 apricot cultivars on the end of winter dormancy when temperatures below -10°C were occurred. The flower buds of studied apricot cultivars at that moment were from the beginning of the bud swelling to stage when sepals are clearly visible. The percentage of freezing of flower buds varied from cultivar to cultivar. Some cultivars characterized by very small percentages of freezing flower buds ('Bergeron' and 'Zerdelija'), while cultivars of early flowering ('Aurora', 'Tsunami', 'Goldrich', 'Spring Blush', 'Betinka', 'Orange Red') had the greatest damages. The over 90% flower buds of these cultivars were frozen.

**Key words:** apricot, freezing of flower buds.

---

<sup>1</sup>University of Kragujevac, Faculty of Agronomy Čačak, Cara Dušana 34, Čačak, Serbia  
(glishoo@yahoo.com)

<sup>2</sup> University of Kragujevac, Faculty of Agronomy Čačak, Cara Dušana 34, Čačak, Serbia, students.

## EFEKAT FOLIJARNOG ĐUBRIVA NA PRINOS I KVALITET NEKIH STONIH SORTI VINOVE LOZE

Ivana Radojević<sup>1</sup>, Sara Todorić<sup>1</sup>, Ivana Mošić<sup>2</sup>, Zlata Vidanović<sup>3</sup>, Miloš Ristić<sup>3</sup>

**Izvod:** Intenzivnim gajenjem vinove loze u cilju postizanja visokih i kvalitetnih prinosa postaje aktuelno pitanje optimalne ishrane uz racionalnu primenu đubriva. Đubrenjem se utiče na režim mineralne ishrane koja u značajnoj meri određuje rodnost loze i kvalitet grožđa. Tokom 2018. godine ispitivan je uticaj specijalnog folijarnog đubriva FitoBio 20 na visinu prinosa i kvalitet stonih sorti vinove loze Afus ali, Musat Italija i Muskat Hamburg. Postignuti rezultati ukazuju da se đubrenje pozitivno odrazilo, kako na prinos tako i na sadržaj šećera i kiselina u grožđanom soku. Prosečno najmanji prinos grožđa imala je kontrola (2,5 kg/čokotu), a razlike su uglavnom značajne u korist varijante folijarne prihrane (3,8 kg/čokotu). Varijanta đubrenja je imala veći sadržaj šećera (21,3%) u širi u odnosu na kontrolu (18,6%).

**Ključne reči:** folijarna ishrana, vinova loza, sorta

### Uvod

Poslednjih godina, folijarna ishrana, ishrana preko lista postala je interesantna tema kako za naučne radnike tako i za praktičnu poljoprivredu, s obzirom da je do skoro kod nas jedini način đubrenja vinove loze bio preko zemljista đubrivima u čvrstom stanju. Ishrana biljaka preko lista se koristi kao redovna, dopunska agrotehnička mera, pre svega zato što hranljivi elementi mogu brže da dospeju do hloroplasta, gde se obavlja proces fotosinteze, a stepen iskorišćenja hranljivih materija unetih na ovaj način je izuzetno visok. Folijarnom ishranom izbegava se antagonizam između pojedinih elemenata, međusobno vezivanje jona u oblike koji nisu pristupačni biljkama, kao i fiksacija hraniwa u zemljisu. Može se primeniti više puta u toku vegetativnog perioda. Folijarna primena je neophodna zbog nemogućnosti korenovog sistema da usvoji makro i mikroelemente (oštećen koren, poremećen vodo-vazdušni režim, usled bolesti i napada štetočina i slično) kao i zbog nedostupnosti slabopokretnih ili nepokretnih elemenata (Ca, Fe, B). Prednosti ishrane preko lista je povećanje prinosa, kvaliteta, otpornosti i visok stepen iskorišćenja hranljivih materija. Nedostatak ili višak makro ili mikroelemenata prouzrokuje pojavu raznoraznih neparazitnih bolesti, tj.promene na vinovoj lozi, koje se odražavaju na životni ciklus i adaptivnost vinove loze, na količinu proizvoda i njegovog kvaliteta. Ishrana preko lista dobija na značaju jer ovaj vid aplikacije omogućava obezbeđenje biljaka potrebnim hranivima kada dođe do poremećaja ritma njihovog usvajanja iz zemljista, bržu apsorpciju mineralnih elemenata kao i racionalnije korišćenje hranljivih materija, a posebno mikroelemenata, jer se pri znatno manjim količinama postižu isti efekti.

<sup>1</sup>TMB Diamond doo, Nikole Tesle 2, 26000 Pančevo

<sup>2</sup>Aromatica doo, Jadranska 12, 18000 Niš

<sup>3</sup>PD Centar za vinogradarstvo i vinarstvo, EI Kolonija 6, 18116 Niš

Sorte vinove loze specifično reaguju na mineralnu ishranu. One se međusobno znatno razlikuju, po bujnosti, veličini bobica i grozda, veličini i maljavosti lista itd. (dakle utiču na kvašenje površine lista i vezivanje hranljivih materija a takođe i direktno učestvuju u usvajaju hranljivih materija (Mijović i sar. 2016.). Cilj istraživanja u ovom radu bio je da se ustanovi uticaj folijarne ishrane preparatom Fitobio 20 koji je pokazao i dao dobre rezultate u pogledu prinosa i kvaliteta stonog grožđa.

### Materijal i metode rada

Ogled je izведен u zasadu vinove loze sa stonim sortama, u selu Sićevo, opština Niška Banja. Vinograd po rejonizaciji pripada čegarskom vinogorju. Površina zasada je 0,15 ha. Ispitivanja su obavljena kod stonih sorti vinove loze Afus ali, Musat Italija i Muskat Hamburg. Uzgojni oblik je Karlovački, formiran na 60 cm visine. Rastojanje sadnje je 2,5 x 0,7 m. Nasloni su od drvenih stubova i žice. Za prihranjivanje preko lista primenjene su dve varijante ogleda: FitoBio 20 (Sastav: N – 13,6%, P<sub>2</sub>O – 13,6%, K<sub>2</sub>O – 13,6%, Bor – 0,02%, Cu – 0,0474%, Fe – 0,10%, Mn – 0,4917%, Zn – 0,0468%, ekstrati morskih algi 28%). FitoBio 20 je koncentrovana vodotopiva suspenzija koja sadrži jedinstveni paket nutrijenata, biostimulanata i mikronutrijenata. Ne samo da je idealan kao samostalno đubrivo, već i dokazano iskustvo u poboljšanju stresa i promociji zdravlja biljaka. 2. Kontrola (bez folijarne prihrane). U svakoj varijanti bilo je po 10 čokota raspoređenih u 2 ponavljanja po 5 čokota. Prvo prihranjivanje je obavljeno pre cvetanja, drugo posle cvetanja, treće u fazi šarka. Sva prskanja su obavljena po pretežno suvom i oblačnom vremenu, bez padavina, u ranim jutarnjim časovima. Datum berbe je određen je merenjem suve materije na refraktometru, kao i na osnovu organoleptičke ocene grozda. Prosečan prinos grožđa po čokotu utvrđen je za vreme berbe, merenjem na vagi, na osnovu prosečnog prinosa sa 5 čokota. Sadržaj šećera u grožđanom soku određen je pomoću Ekselovog širomera, a sadržaj ukupnih kiselina u širi direktnim titriranjem sa rastvorom natrijum hidroksida (NaOH) u laboratoriji Centra za vinogradarstvo i vinarstvo u Nišu.

### Rezultati istraživanja i diskusija

Prinos po jedinici površine je značajan pokazatelj svake proizvodnje, jer od njegove visine zavise i ostvareni finansijski rezultati, tako da je cilj svake proizvodnje postizanje što većeg prinosa po jedinci površine. U vinogradarskoj proizvodnji, visina ostvarenog prinosa pre svega, zavisi od usklađenosti sledećih faktora: prirodnih uslova, sortimenta, izabrane podloge, uzgojnog oblika, primenjene agrotehnike itd. Ukoliko se brojni radni procesi i operacije, koje se izvode u procesu proizvodnje grožđa posmatraju kao konstantne veličine, onda se kao najznačajniji faktori koji utiču na visinu prinosa javljaju klimatski uslovi i količina đubriva. Stone sorte grožđa tretirane su folijarnim đubrivom FitoBio 20. Sorta Muskat Italija je postigla veći prinos grožđa po čokotu (3,8 kg/čokotu) u odnosu na kontrolu, a najmanji prinos grožđa po čokotu zabežen je kod sorte Muskat Hamburg (2,5 kg/čokotu) jer se radi o varijanti koja je kontrola tj. nije tretirana folijarnim đubrivom.

Tabela 1. Prosečan prinos grožđa  
*Table 1. The average yield of grapes*

Sorta <i>Cultivar</i>	Prosečna masa 100 bobica (g) <i>The average weight 100 berries</i>		Prosečna masa grozda po čokotu (g) <i>The average weight of the cluster per vine (g)</i>		Prosečan prinos po čokotu (kg) <i>The average yield of grapes per vine</i>	
	Varijanta	Kontrola	Varijanta	Kontrola	Varijanta	Kontrola
Afus ali	420	350	660	505	3,5	3,0
Musat Italija	630	570	700	630	3,8	3,3
Muskat Hamburg	400	370	550	425	3,0	2,5

Sadržaj šećera u grožđanom soku - najveći prosečni sadržaj šećera u grožđanom soku ustanovljen Oechsle-ovim širomerom bio je kod varijante broj 1, tretiranom preparatom FitoBio, iznosio je 21,3% što nije u granicama standardnog šećera kod Muskat Hamburga. Prema navodima Avramova i Žunicu (2002.) sadržaj šećera u grožđanom soku sorte Muskat Hamburg varira od 18 do 20 %, dok Cindrić (2000.) navodi da bobice Muskat Hamburga nemaju mnogo šećera i kiselina (prosečni sadržaj je 17,6%). Varijanta broj 2. (kontrola) imala je 18,6 % šećera u širi. Prema ovom istraživanju možemo zaključiti da su uslovi godine imali veoma značajan uticaj na sadržaj šećera u grožđu.

Tabela 2. Prosečan sadržaj šećera po Oechsle – ovom širomeru  
*Table 2. The average sugar content at Oe °*

Sorta <i>Cultivar</i>	Sadržaj šećera po Oechsle – ovom širomeru <i>Sugar content at Oechsle°</i>	
	Varijanta	Kontrola
Afus ali	18,5	17,5
Musat Italija	17,5	16,5
Muskat Hamburg	21,3	18,6

Sadržaj ukupnih kiselina u grožđanom soku - najveći sadržaj ukupnih kiselina u širi zabeležen je kod varijante 2. koju nismo tretirali sa folijarnim đubrivom, i iznosio je 8,0 g/l kod sorte Muskat Italija. Avramov i Žunić (2002.) navode da sorta Muskat Italija sadrži od 5-6 g/l ukupnih kiselina, dok Cindrić i sar. (2000.) navode da sorta Muskat Italija sadrži 9,9 g/l. Najmanji sadržaj kiselina utvrđen je kod varijante broj 1. tretiranom sa folijarnim đubrivom, i iznosio je 7,0 g/l kod sorte Muskat Hamburg. Kao što se može zaključiti iz tabele, u sadržaju ukupnih kiselina nema velike razlike između varijanti i kontrole.

Tabela 3. Prosečan sadržaj ukupnih kiselina  
*3. Table The average total acid content*

Sorta <i>Cultivar</i>	Sadržaj ukupnih kiselina <i>The total acid content</i>	
	Varijanta	Kontrola
Afus ali	7,3	7,9
Musat Italija	7,8	8,0
Muskat Hamburg	6,5	7,0

### **Zaključak**

Na osnovu prikazanih rezultata istraživanja mogu se izvesti sledeći zaključci:

- Najmanji prinos po čokotu zabilježen je kod varijante broj 2. koja nije tretirana sa preparatom, a iznosio je 2,5 kg/čokotu.
- Najveći prinos je bio kod varijante broj 1. koju smo tretirali sa FitoBio 20 i iznosio je 3,8 kg. Iza njega, sa malom razlikom u težini je varijanta broj 1. koja je tretirana i on je iznosio 3,5 kg.
- Najveći prosečni sadržaj šećera bio je kod varijante broj 1. tretirane sa FitoBio 20, iznosio je 21,30 % kod sorte Muskat Hamburg.
- Najveći sadržaj ukupnih kiselina u širi zabeležen je kod varijante 2. koju nismo tretirali sa folijarnim đubrivom, i iznosio je 8,0 g/l. Najmanji sadržaj kiselina utvrđen je kod varijante broj 1. tretiranom sa FitoBio 20 i iznosio je 6,5 g/l kod sorte Muskat Hamburg.

Folijarna ishrana, ishrana preko lista dobija na značaju jer ovaj vid aplikacije omogućava obezbeđenje biljaka potrebnim hranivima kada dođe do poremećaja ritma njihovog usvajanja iz zemljišta, brzu apsorpciju mineralnih elemenata kao i racionalnije korišćenje hranljivih materija, a posebno mikroelemenata, jer se pri znatno manjim količinama postižu isti efekti.

### **Literatura**

- Avramov, L., (1991.): Vinogradarstvo. "Nolit", Beograd.
- Avramov, L., Žunić, D., (2002.): Posebno vinogradarstvo. "Megrag", Beograd.
- Cindrić, P., Korać, N., Kovač, V., (2000.): Sorte vinove loze. III izdanje, N. Beograd.
- Mijović, S., Ilić, S., Popović, T., (2016.): Uticaj folijarne ishrane na privredno tehnološke karakteristike sorte Kardinal, XXI Savetovanje o biotchnologiji, Zbornik radova, Vol. 21.(23), Čačak.
- Džamić, R., Nikolić, M.,(1994.): Zastupljenost elemenata u organima vinove loze kv rizling italijanski u uslovima optimalne ishrane, IX Savetovanje vinogradara I vinara Srbije, Zbornik radova, UDC:633-1, Beograd.

## THE EFFECT OF FOLIAR FERTILIZER ON YIELD AND QUALITY OF TABLE GRAPE CULTIVARS

Ivana Radojević<sup>1</sup>, Sara Todorić<sup>1</sup>, Ivana Mošić<sup>2</sup>, Zlata Vidanović<sup>3</sup>, Miloš Ristić<sup>3</sup>

### Abstract

The intensive cultivation of grapevine in order to achieve high and high-quality yield is becoming an issue of optimal nutrition, with the rational application of fertilizers. The fertilization affects the regime of mineral nutrition which significantly determines the fertility of the grapevine and the quality of the grapes. During 2018, the yield and the quality of table grape varieties Afus ali, Musat Italy and Muscat De Hambourg was examined, after the application of foliar fertilizer- FitoBio 20. The achieved results indicate that the fertilization had a positive affect, both on yield and on the content of sugar and acids in grape juice. In average, the lowest yield was on the grapevine without FitoBio 20 (2,5 kg/vine). The significant differences were noticed in the yield of plants that were treated with foliar fertilizer (3,8 kg/ vine). The variant with fertilizer had a higher content of sugar (21,3%) in wider comparing to grapevine without FitoBio 20 (18,6%).

**Key words:** foliar nutrition, Vitis vinifera, cultivar

---

<sup>1</sup>TMB Diamond, Nikole Tesle 2, 26000 Pančevo (ivana@tmbdiamond.com);

<sup>2</sup>Aromatika doo, Jadranska 12, 18000 Niš

<sup>3</sup>Center of viticulture and Enology doo, EI Kolonija 6, 18116 Niš.



## EFEKTI FOLIJARNE PRIMENE BIOREGULATORA, KALIJUMA I FOSFORA U INTENZIVNOJ PROIZVODNJI JABUKE SORTE GALA

Jelena Živanović<sup>1</sup>, Boris Bošnjak<sup>2</sup>, Ivan Glišić<sup>3</sup>

**Izvod:** U radu su prikazani rezultati dvogodišnjih ispitivanja delovanja proizvoda Hormovell® bioregulatora na bazi auksina, ekstrakta algi, kalijuma i fosfora u intenzivnoj proizvodnji jabuke sorte Gala. Ispitivanja su vršena u savremenom zasadu jabuke tokom dve uzastopne godine. Dobijeni rezultati pokazuju da folijarna primena proizvoda Hormovell® u 5 tretmana tokom vegetacije u razmaku od 15 dana ima značajan efekat kako na prinos i kvalitet plodova tako i na diferencijaciju cvetnih pupoljaka za narednu godinu.

**Ključne reči:** bioregulatori, jabuka, Gala, NAA, kalijum

### Uvod

Bioregulatori mogu dati značajan doprinos u savremenoj voćarskoj proizvodnji.

Biljni bioregulatori (PBRs) ili biljni regulatori rasta (PGR) su hormoni ili hormonima slične supstance koje podstiču, inhibiraju ili utiču na biološke ili biohemijske procese u biljkama. Oni imaju jedinstvenu osobinu da u nekim slučajevima ista aktivna materija indukuje različit odgovor biljke u zavisnosti od vremena primene i korišćene koncentracije (Dussi, 2011). Tako primena sintetičkih auksina, od kojih je najznačajnija  $\alpha$ -naftil sirćetna kiselina (NAA), u različitim fenofazama jabučastih voćnih vrsta indukuje potpuno različit odgovor biljke.

Otkriće da primena  $\alpha$ -naftil sirćetne kiseline u punom cvetanju inhibira zametanje plodova jabuke koje su 1941. godine objavili Burkholder i McCown predstavljalo je prvi značajni iskorak u primeni bioregulatora za proređivanje cvetova i plodova (Burkholder i McCown, 1941). Kasnije je utvrđeno da NAA bolje rezultate postiže kada se primeni kasnije, oko 15 dana posle cvetanja, pri krupnoći plodova 10-15 mm (Lakso i sar., 2001). U ovoj fenofazi u komercijalnim uslovima NAA se koristi u koncentracijama između 5 i 12 mg l<sup>-1</sup> (Fallahi i Greene, 2010). Ipak Schupp i Greene su 2002. godine objavili rad u kome navode da je primenom NAA u koncentraciji 12,5 mg l<sup>-1</sup> u sorti Roger Macintosh u fazi 80% cvetanja postignuto značajno smanjenje zametanja plodova. Primena NAA za proređivanje cvetova i plodova ograničena je u pojedinim sortama (Gloster i spur tipovi Crvenog Delišesa) jer može usloviti formiranje veoma sitnih plodova ("pygmy" fruit) dok kod drugih sorti ne pokazuje zadovoljavajuću efikasnost (Zlatni Delišes) ukoliko se ne kombinuje sa drugim biostimulatorima (BA-6).

Primena  $\alpha$ -naftil sirćetne kiseline pred berbu značajna je mera sprečavanja opadanja plodova. Jedna primena NAA može odložiti opadanje plodova 10-14 dana posle tretamana (Radivojevic i sar., 2017).

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, student (jelena.zivanovic@pranjanac.rs);

<sup>2</sup>Atos Fructum,Mala Remeta, Srbija (boris@atos-fructum.com);

<sup>3</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Srbija (glishoo@yahoo.com).

Poznato je još da auksini ispoljavaju stimulativni uticaj i na razvoj sočnih delova ploda. Za ispoljavanje ovog efekta u jabuci se preporučuje njihova primena pri krupnoći plodova >20mm.

Pored sintetičkih bioregulatora u primeni su sve više bioregulatori prirodnog porekla kao što su različiti ekstrakti morskih algi. Morske alge su poznate kao izvor biljnih hormona (Jameson, 1993), organskih osmolita (na primer betaina), aminokiselina, mineralnih materija, vitamina i provitamina (Berlyn and Russo, 1990; Blunden i sar., 1985). Pozitivni efekti primene ekstrakta morskih algi je rezultat sinergijskog delovanja svih materija koje sadrže u različitim koncentracijama, međutim sam mehanizam delovanja i dalje je nepoznat (Fornes i sar., 2002).

Kalijum ima ulogu katalizatora u odvijanju biohemičkih procesa u biljkama utičući na metabolizam, sintezu protein, nakupljanje i transport ugljenih hidrata, fotosintezu i disanje. Voće imaju velike zahteve za kalijumom, a većina ih usvaja kalijum u istoj količini kao i azot, neke čak i više (Ubavić i sar., 2016). Kalijum ima značajnu ulogu u povećanju prinosa zbog učešća u sintetskim procesima (nakupljanje i transport ugljenih hidrata, sinteza visokomolekularnih jedinjenja). Povoljno utiče i na kvalitet plodova (usled uticaja na sintezu bojenih materija povećava obojenost plodova, povećavajući sadržaj kiselina utiče na aromu i ukus plodova). Kalijum ima važnu ulogu u diferencijaciji generativnih pupoljaka, pa je sadržaj kalijuma mnogo veći u cvetnim nego u vegetativnim pupoljcima. U nedostatu kalijuma u fazi diferencijacije pupoljaka, smanjiće se broj obrazovanih cvetnih pupoljaka (Ubavić i sar., 2016).

Fosfor je jedan od osnovnih biogenih elemenata koji ima posebno značajnu ulogu u diferencijaciji pupoljaka, tj. obrazovanju cvetnih pupoljaka. Uopšteno se može reći da fosfor ima posebno značajnu ulogu u formiranju reproduktivnih organa. On se naročito intenzivno nakuplja u tkivima koja se diferenciraju. Pored toga, povoljno utiče i na porast korenovog sistema i na otpornost biljaka prema nepovoljnim uslovima spoljašnje sredine, a naročito prema niskim temperaturama (Ubavić i sar., 2016).

Cilj rada je bio da se ispita i oceni efekat primene proizvoda Hormovell® u fenofazama intenzivnog porasta plodova u savremenoj proizvodnji jabuke sorte Gala Shniga.

### Materijal i metode rada

Ispitivanja obuhvaćena ovim radom sprovedena su tokom 2016. i 2017. godine u savremenom voćnjaku „Atos Fructum“ koji se nalazi u Maloj Remeti, na južnim padinama Fruške Gore na nadmorskoj visini od 250 m. U voćnjaku „Atos Fructum“ jabuka se proizvodi na 90 ha, zastupljene su sorte: Zlatni Delišes, Crveni Delišes, Fudži, Breburn, Greni Smit, Gala, Jonaprins i Decosta. U celokupnom voćnjaku „Atos Fructum“ primenjuje se koncept integralne zaštite bilja (IPM). Voćnjak je u celosti pokriven sistemom protivgradnih mreža. Ovaj sistem pruža 100% zaštitu od grada ali i od prejakog sunca što znači da je gubitak kvaliteta na plodu eliminisan. Voćnjak je takođe opremljen sistemom za navodnjavanje "kap po kap" koji omogućava da se vrši dodatno prihranjuvanje optimalnim količinama dubriva i minerala.

Za ogled je izabrana sorta Gala Schniga. Zasađena je 2010. godine i u godini pre postavljanja ogleda (5 vegetacija) ostvaren je prinos  $70 \text{ t ha}^{-1}$  pri čemu je prosečan prečnik plodova bio 60-65 mm.

Sorta Gala, poreklom sa Novog Zelanda, dobijena je ukrštanjem sorti Kidd's Orange Red  $\times$  Golden Delicious. Reč je o srednje bujnoj sorti koja rano prorodi i obilno rađa, te je kao takva sklona prerodevanju i alternativnom rađanju. Gala ima srednje krupan plod odličnog kvaliteta. Početak berbe je krajem avgusta, čuva se max 3-4 meseca u običnim hladnjacama. U cilju popravljanja osobina, pre svega obojenosti, stvoreni su brojni klonovi od kojih je jedan sorta Gala Schniga odnosno Schnitzer Gala (ovaj klon je pronađen u voćnjaku Franca Šnicera (Franc Schnitzer) u Južnom Tirolu kao spontana mutacija sorte Royal Gala). Sorta Gala Schniga je u voćnjaku „Atos Fructum“ kalemljena na podlozi M9 i posadena sa razmakom sadnje  $3,2 \times 0,8 \text{ m}$  (3900 stabala/ha).

Pomenuta sorta je u voćnjaku bila zastupljena na 12 ha od čega je 6 ha tretitirano proizvodom Hormovell®. Hormovell® je bioregulator koji sadrži  $15 \text{ g kg}^{-1}$   $\alpha$ -naftil sirčetne kiseline,  $100 \text{ g kg}^{-1}$  ekstrakta morskih algi (*Ascophyllum nodosum*),  $150 \text{ g kg}^{-1}$  kalijuma ( $\text{K}_2\text{O}$ ) i  $100 \text{ g kg}^{-1}$  fosfora ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ).

Na kontrolonom delu (preostalih 6 ha) ovaj proizvod nije primenjivan. Tehnologija proizvodnje u vidu rezidbe, đubrenja, hemijske prorede i zaštite bila je ista na obe varijante.

Ogled je sproveden u 6 ponavljanja (1 ha - 1 ponavljanje). Tokom 2016. godine proizvod Hormovell® je primenjivan u 5 navrata u dozi  $1 \text{ l ha}^{-1}$ , odnosno ukupno  $5 \text{ l ha}^{-1}$ . Prvi tretman je bio u drugoj polovini juna pri krupnoći plodova 20 do 25 mm. Nakon toga tretman je ponavljan u intervalima od 15 dana tako da je u julu i avgustu bilo po 2 tretmana a poslednji tretman bio je 10 dana pre berbe. U svakom pojedinačnom tretmanu primenjeno je:  $15 \text{ mg l}^{-1}$   $\alpha$ -naftil sirčetne kiseline,  $100 \text{ mg l}^{-1}$  ekstrakta morskih algi (*Ascophyllum nodosum*),  $150 \text{ mg l}^{-1}$  kalijuma ( $\text{K}_2\text{O}$ ) i  $100 \text{ mg l}^{-1}$  fosfora ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ) odnosno ukupno  $75 \text{ mg l}^{-1}$   $\alpha$ -naftil sirčetne kiseline,  $500 \text{ mg l}^{-1}$  ekstrakta morskih algi (*Ascophyllum nodosum*),  $750 \text{ mg l}^{-1}$  kalijuma ( $\text{K}_2\text{O}$ ) i  $500 \text{ mg l}^{-1}$  fosfora ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ).

Tokom 2017. godine sproveden je ogled prema istoj metodologiji kao i u prethodnoj godini.

Kao deo standardne tehnologije proizvodnje u voćnjaku svakodnevnim analizama zrelosti ploda određivan je pravovremeni momenat berbe kako bi se nivo kvaliteta sačuvao i u periodu skladištenja. Tokom obe godine je nakon berbe meren prinos po jedinici površine ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) i ocenjivan prečnik ploda u mm i obojenost u %. Prema Apple descriptor (1982) sortu Gala Schniga odlikuje žuta osnovna boja (4), crvena dopunska boja (3) a spada u grupu klonova sorte Gala sa pramenastom dopunskom obojenošću (1).

Za određivanje prečnika ploda, kao i ocenu obojenosti, uzimano je po 60 plodova po varijanti, raspoređenih u 6 ponavljanja sa po 10 plodova.

Dobijeni podaci su statistički obrađeni primenom Fišerovog modela analize varijanse (MANOVA) dvofaktorijskog ogleda, primenom F testa za  $P \leq 0,05$ . U slučajevima kada je F test bio značajan, testiranje razlika aritmetičkih sredina i njihovog interakcijskog efekta je obavljeno testom najmanje značajnih razlika (LSD test) za prag značajnosti  $P \leq 0,05$ .

### Rezultati istraživanja i diskusija

Sorta Gala sa svojim klonovima danas predstavlja komercijalno najznačajniju sortu u rano jesenjoj epohi dozrevanja. O značaju sorte Gala i njenih klonova govorи veliki broj istraživanja u inostranstvu (Al-Hinai i Roper, 2004; Blažek i Hlušičkova, 2007; Do Amarante i sar., 2008; Treder, 2008) i zemlji (Lukić i sar., 2010). U voćnjaku „Atos fructum“ vreme berbe sorte Gala Schniga u toku 2016. i 2017. godine bilo je u poslednjoj dekadi avgusta i prvoj dekadi septembra.

Rezultati koji se odnose na prinos plodova ( $t\ ha^{-1}$ ) prikazani su u tabeli 1.

Tabela 1. Prinos plodova (kg  $ha^{-1}$ ) u zavisnosti od godine i primene Hormovell-a  
*Table 1. Yield of the fruits (kg  $ha^{-1}$ ) depending of the year and application of Hormovell®*

		Prinos plodova, $t\ ha^{-1}$
<b>Godina (A)</b>		
2016 (1)		81,55±1,13 <sup>a</sup>
2017 (2)		73,76±1,13 <sup>b</sup>
<b>Primena hormovell-a (B)</b>		
<i>Hormovell®</i> (1)		81,18±1,23 <sup>a</sup>
Kontrola (2)		74,12±1,24 <sup>b</sup>
2016	<i>Hormovell®</i>	85,06±0,64
	Kontrola	78,04±0,51
2017	<i>Hormovell®</i>	77,30±0,52
	Kontrola	70,21±0,60
<b>Anova</b>		
A		**
B		**
A x B		ns

Srednje vrednosti po kolonama koje su označene istim slovima ne razlikuju se ( $P>0,05$ ) na osnovu LSD testa

Statistička obrada podataka je pokazala da su razlike između godina istraživanja značajne na nivou značajnosti od 0,05. Što se tiče uticaja primene Hormovell® analiza vrijanse je pokazala visoko značajne razlike između tretiranog dela i kontrole. Interakcijski efekat godine i primjenjenog tretmana nije bio statistički značajan.

Rezultati pokazuju da je prinos po jedinici površine na tretiranom delu u prvoj godini ogleda (2016.) bio 85,06  $t\ ha^{-1}$  dok je na netretiranom delu bio 78,04  $t\ ha^{-1}$ . Odnosno uočeno je povećanje prinosa od 9%. U drugoj godini ogleda (2017) rezultati pokazuju da je prinos po jedinici površine na tretiranom delu bio 77,30  $t\ ha^{-1}$  dok je na netretiranom delu bio 70,21  $t\ ha^{-1}$ . Odnosno uočeno je povećanje prinosa od 10%.

Najveći prinos po jedinici površine (81,55  $t\ ha^{-1}$ ) izmeren je na tretiranom delu tokom prve godine ogleda (2016.) dok je najniži prinos po jedinici površine (73,76  $t\ ha^{-1}$ ) izmeren kontrolnom delu u drugoj godini ogleda (2017). Efekat proizvoda Hormovell® na prinos po jedinici površine potvrđuje stimulativni uticaj α-naftil sirćetne kiseline na

razvoj sočnih delova ploda, značajnu ulogu kalijuma u povećanju prinosa zbog učešća u sintetskim procesima (nakupljanje i transport ugljenih hidrata, sinteza visokomolekularnih jedinjenja) ali i snažno sinergijsko delovanje sintetičkih bioregulatora, bioregulatora prirodnog porekla i makroelemenata (kalijum i fosfor). Neilsen i sar. (2004) navode da je primenom kalijumovih đubriva kod svih sorti jabuke, kod kojih je utvrđen deficit kalijuma uglavnom došlo do povećanja koncentracije kalijuma u listu i plodovima, povećanja prečnika plodova, povećanja prinosa, ukupne kiselosti i crvene obojenosti ploda tokom berbe.

Uzrok smanjenja prosečnog prinosa u 2017. u odnosu na prosečan prinos u 2016. godini za 10,39% na tretiranom delu odnosno 11,43% na kotroli jesu oštećenja nastala usled delovanja pozognog prolećnog mraza na realiazaciju rodnog potencijala.

Rezultati koji se odnose na prečnik i obojenost plodova dati su u tabeli 2.

Tabela 2. Obojenost i prečnik plodova u zavisnosti od godine i primene Hormovell-a  
Table 2. Over colour and diameter of fruitsa depending of the year and application of Hormovell®

	Obojenost plodova, %	Prečnik plodova, mm
<b>Godina (A)</b>		
2016 (1)	59,88±1,45	70,72±0,89
2017 (2)	60,29±1,61	70,39±1,01
<b>Primena hormovell- a (B)</b>		
Hormovell® (1)	65,04±0,22 <sup>a</sup>	73,64±0,19 <sup>a</sup>
Kontrola (2)	55,13±0,44 <sup>b</sup>	67,47±0,21 <sup>b</sup>
<b>Interakcija (AxB)</b>		
2016	Hormovell®	64,67±0,25
	Kontrola	55,08±0,24
2017	Hormovell®	65,42±0,30
	Kontrola	55,17±0,88
<b>Anova</b>		
A	ns	ns
B	**	**
A x B	ns	ns

Srednje vrednosti po kolonama koje su označene istim slovima ne razlikuju se ( $P>0,05$ ) na osnovu LSD test

Statistička obrada podataka je pokazala da razlike u obojenosti plodova između godina istraživanja nisu značajne na nivou značajnosti od 0,05. Što se tiče uticaja primene Hormovell® analiza vrijanse (ANOVA) je pokazala visoko značajne razlike između tretiranog dela i kontrole. Interakcijski efekat godine i primjenjenog tretmana nije bio statistički značajan.

Rezultati pokazuju da je procenat obojenosti plodova na tretiranom delu u prvoj godini ogleda (2016.) bio 64,67% dok je na netretiranom delu procenat obojenosti plodova bio 55,08%. U drugoj godini ogleda (2017.) rezultati pokazuju da je procenat

obojenosti plodova na tretiranom delu bio 65,42% dok je na netretiranom delu procenat obojenosti plodova bio 55,17%.

Obojenost plodova na delu voćnjaka tretiranom proizvodom Hormovell® bila je značajno poboljšana što se smatra efektom primene, pre svega, kalijuma. Primećeno je da phranjivanje voćnjaka kalijumom poboljšava obojenost plodova i sadržaj rastvorljivih suvih materija (Dimitrovski i Cvetković, 1981).

Statistička obrada podataka je pokazala da razlike u prečniku plodova između godina istraživanja nisu značajne na nivou značajnosti od 0,05. Što se tiče uticaja primene Hormovell® analiza vrijanse (ANOVA) je pokazala visoko značajne razlike između tretiranog dela i kontrole. Interakcijski efekat godine i primjenjenog tretmana nije bio statistički značajan.

Rezultati pokazuju da je prosečan prečnik plodova na tretiranom delu u prvoj godini ogleda (2016.) bio 73,58 mm dok je na netretiranom delu prosečan prečnik plodova bio 67,85 mm. U drugoj godini ogleda (2017.) rezultati pokazuju da je prosečan prečnik plodova na tretiranom delu u prvoj godini ogleda (2016.) bio 73,70 mm dok je na netretiranom delu prosečan prečnik plodova bio 67,08 mm.

Na kontroli je tokom obe godine izvođenja ogleda prečnik plodova ostao na nivou od 2015., odnosno bio je 65-70 mm (prosečno 67,47 mm). Na tretiranom delu prečnik plodova bio je 70-75 mm (prosečno 73,64 mm) što predstavlja značajnu kvalitativnu razliku jer plodovi manjeg promera (<70 mm) ne spadaju u prvu klasu čime gube na tržišnoj vrednosti. Efekat proizvoda Hormovell® na prečnik plodova potvrđuje stimulativni uticaju α-naftil sirčetne kiseline na razvoj sočnih delova ploda, značajnu ulogu kalijuma u povećanju prinosa zbog učešća u sintetskim procesima (nakupljanje i transport ugljenih hidrata, sinteza visokomolekularnih jedinjenja) ali i snažno sinergijsko delovanje sintetičkih bioregulatora, bioregulatora prirodnog porekla i makroelemenata (kalijum i fosfor). Neilsen i sar. (2004) da je primenom kalijumuvih đubriva kod svih sorti jabuke, kod kojih je utvrđen deficit kalijuma uglavnom došlo do povećanja koncentracije kalijuma u listu i plodovima, povećanja prečnika plodova, povećanja prinosa, ukupne kiselosti i crvene obojenosti ploda tokom berbe.

Vizuelna zapažanja ukazuju da pored efekta na prinos i kvalitet plodova proizvod Hormovell®, zahvaljujući sadržaju NAA, ima značajan efekat na sprečavanje opadanja plodova pred berbu. Prema literarnim podacima folijarnim tretmanima α-naftil sirčetnom kiselinom može se značajno smanjiti opadanje plodova pre berbe (Basak i Krockocka, 2000; Curry, 2006). Jedna primena NAA može odložiti opadanje plodova 10-14 dana posle tretmana (Radivojević i sar., 2017). U ogledu je to i potvrđeno, na tretiranom delu opadanje plodova pred berbu značajno je smanjeno u odnosu na kontrolu. Međutim za ovaj parametar nemamo egzaktan brojčani pokazateљ jer nije vršeno precizno merenje. Pored toga vizuelna zapažanja ukazuju i na efekat proizvoda Hormovell® na diferencijaciju cvetnih pupoljaka koji potvrđuje važnu ulogu kalijuma i fosfora u diferencijaciji generativnih pupoljaka. Štaviše, razlika u procentualnom smanjenju prinosa na tretiranom i netretiranom delu može se povezati sa efektom primene proizvoda u 2016. godini na diferencijaciju cvetnih pupoljaka.

## Zaključak

Na osnovu rezultata dvogodišnjeg ogleda u savremenom voćnjaku „Atos Fructum“ na jabuci sorte Gala Schniga može se zaključiti da folijarna primena proizvoda Hormovell® u 5 tretmana tokom vegetacije u razmaku od 15 dana ima značajan efekat kako na prinos i kvalitet plodova tako i na diferencijaciju cvetnih pupoljaka za narednu godinu. Primenom prozvoda Hormovell® na opisan način dovela je do povećanja prinosa 9-10% ali i do pobojšanja obojenosti ploda sorte Gala Schniga sa 55% na 65% i povećanja prosečnog prečnika ploda sa 67 na 73 mm. Značajnost postignutih rezultata ogleda se u pružanju efikasnog rešenja za povećanje konkurentnosti proizvodnje kako zbog povećanja prinosa po jedinici površine tako i zbog poboljšanja osobina plodova i njihove tržišne vrednosti.

## Literatura

- Al-Hinai Y. K., Roper T. R. (2004): Rootstock effect on growth and quality of "Gala" apples, HortScience Vol. 39(6)
- Basak A., Krokocka M. (2000): Wpływ preparatów Pomonit Extra 110 SL I Pomonit Super 050 SL na przedzbiorcze opadanie jablek. ZESZ. NAUK. INST. SADOW. KWIAC. 8: 135-140
- Blažek J., Hlušičkova I. (2007): Orchard performance and fruit quality of 50 apple cultivars grown or tested in commercial orchards of the Czech Republic, Hort. Sci. (Prague), Vol. 34, p. 96-106.
- Blunden, G., Gordon, S. M., Smith, B. E. and Fletcher, R. L., (1985). Quaternary ammonium compounds in species of the Fucaceae (Phaeophyceae) from Britain. European Journal of Phycology, 20, 105–108.
- Burkholder, C.L. & McCown, M. 1941. Effect of scoring and of A-naphthyl acetic acid and amide spray upon fruit set and of the spray upon preharvest drop. Proc Amer Soc Hort Sci, 38, 117–120
- Curry E.A. (2006): Changes in ripening physiology of 'Delicious' and 'Fuji' apples treated preharvest with NAA. ACTA HORT. 727: 481-488
- Dimitrovski, T., Cvetkovic, D., (1981): The effect of NPK on the growth, yield and quality of the apricot fruit. Acta Hort. A 85, 481–489
- Do Amarante C. V. T., Steffens C. A., Mafra A. L., Albuquerque J. A. (2008): Yield and fruit quality of apple from conventional and organic production systems, Pesq. agropec. bras., Brasilia, Vol. 43(3), p. 333-340.
- Dussi, M.C. 2011. Sustainable use of plant bioregulators in pear production. Acta Hort. 909:353-368.
- Fallahi, E., Greene, D.W. 2010. The impact of blossom & postbloom thinners on fruit set & fruit quality in apples & stone fruits. Acta Hort. 884.179-188.
- Fornes F, Sánchez-Perales M, Guadiola JL. 2002. Effect of a seaweed extract on the productivity of 'de Nules' Clementine mandarin and navelina orange. Botanica Marina 45, 486–489.

- Jameson, P. E., 1993. Plant hormones in the algae. In: Progress in Phycological Research. Volume 9. (Round, F. E. and Chapman,D. J., Eds.). Biopress Ltd., Bristol, UK. 239 pp
- Lakso, A.N., Robinson, T.L., Goffinet, M.C., White, M.D. 2001. Apple fruit growth responses to varying thinning methods & timing. *Acta Hort.* 557:405-412.
- Lukić M., Marić Slađana, Radičević Sanja, Milošević N., Mitrović M., Glišić Ivana, Karaklajić Stajić Žaklina (2010): Pomološke osobine klonova sorte Gala na području Zapadne Srbije. Petnaesto međunarodno naučno-stručno savjetovanje agronoma Republike Srpske, Trebinje, 2010, str.93.
- Neilsen, G. H., Neilsen, D., Herbert, L. C. and Hogue, E. J. (2004): Response of apple to fertigation of N and K under conditions susceptible to the development of K deficiency. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 129: 2631.
- Radivojević, D., Milivojević, J., Velicković, M. and Oparnica, C., 2017. Primena biljnih bioregulatora kod kontinentalnih vrsta voćaka.
- Treder W. (2008): Relationship between yield, crop density coefficient and average fruit weight of "Gala" apple, *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, Vol. 16, p. 53-63.
- Ubavić, M., Bošković-Rakočević Lj., Paunović G. (2016): Ishrana voćaka. Monografija, Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, 1-244. ISBN 978-86-87611-43-6.
- Watkins, R. and Smith, R.A., (1982): Descriptors list for apple (*Malus*). International Board for Plant Genetic Resources (IBPGR); Commission of the European Communities (CEC).

## **EFFECTS OF FOLIAR APPLICATION OF BIO-STIMULANTS, POTASSIUM AND PHOSPHORUS IN INTENSIVE PRODUCTION OF APPLE VARIETY GALA.**

*Jelena Živanović<sup>1</sup>, Boris Bošnjak<sup>2</sup>, dr Ivan Glišić<sup>3</sup>*

### **Abstract**

The paper presents the results of two year trial which was set with the goal to evaluate the effects of Hormovell® - product based on auxines, seaweeds extract, potassium and phosphorus in intensive production of apple variety Gala. The experiments were carried in contemporary apple orchard over two consecutive years. The obtained results indicate that application of Hormovell® in 5 treatments (first treatment when fruit diameter is 20 do 25 mm) in 15 days interval has significant effect on yield and quality but also on the differentiation of flower buds for following year.

**Key words:** bio-stimulants, apple, Gala, NAA, potassium

<sup>1</sup>University of Kragujevac, Faculty of Agronomy Čačak, student (jelena.zivanovic@pranjanac.rs);

<sup>2</sup>Atos Fructum,Mala Remeta, Srbija (boris@atos-fructum.com);

<sup>3</sup>University of Kragujevac, Faculty of Agronomy Čačak, Serbia (glishoo@yahoo.com).

## EFIKASNOST I STRUKTURA ZIMSKE REZIDBE ŠLJIVE U INTENZIVNIM ZASADIMA – STUDIJA SLUČAJA

*Miljan Cvetković<sup>1</sup>, Saša Kalamanda<sup>2</sup>, Bojan Životić<sup>3</sup>*

**Izvod:** Intenzivan uzgoj šljive u sistemu vretena na džanarici (*Prunus cerasifera* Ehr.) kao podlozi moguć je uz adekvatnu i pravovremenu pomotehniku. U radu je analizirana efikasnost i struktura zimske rezidbe šljive sorti Stenli, Čačanska lepotica i Čačanska rodna. Istraživanje je obavljeno u proizvodnom zasadu starosti 10 godina, tokom perioda jesen - zima 2017 - 2018. godina. Analizom je obuhvaćeno po 30 stabala svake sorte. Za zimsku rezidbu jednog hektara sorte Stenlej potrebno je 115,0 radnih sati, sorte Čačanska rodna 93,6 i sorte Čačanska lepotica 44,1. Više vremena je potrebno za rezidbu donjih u odnosu na vršne delove krošnje, bez obzira na sortu. Procentualno učeće neproduktivnog rada u ukupnoj strukturi vremena potrebnog za rezidbu, obrnuto je proporcionalno dužini rezidbe. Efikasnost zimske rezidbe, uslovljena je bujnošću, kao i karakteristikama rasta (karakter i pozicija novih prirasta) i rodnosti (dominantan tip rodnog drveta) sorte.

**Ključne reči:** sorta, rezidba, vreme, produktivnost, efikasnost

### Uvod

Uvođenje slabo-bujnih podloga u voćarsku proizvodnju, uticalo je na njeno intenziviranje, kroz izmenu sistema gajenja, povećanje gustine sadnje i prinosa po jedinici površine. Bez obzira na iznalaženje vegetativnih podloga za šljivu tokom predhodnih godina, od kojih se neke primenjuju u evropskim zemljama (Gavrilescu et al., 2004; Hrotko et al., 1998) na prostoru Zapadnog Balkana sejanac džanarike (*Prunus cerasifera* Ehr.) još uvek je dominantna podloga. Šljiva se na džanarici kao podlozi, uglavnom gaji u ekstenzivnim ili polointenzivnim zasadima, sa prosečnom gustinom sadnje od 400 do 800 sadnica po hektaru, uz minimalnu primenu pomotehnike. Botu et al., (2012) navode da je jedna od mera za unapređenje gajenja šljive upravo unapređenje i modernizacija čitavog procesa uzgoja, koji će omogućiti redovne prinose na nivou 20 do 30 t/ha. Dosadašnje iskustvo pokazuje da je intenziviranje uzgoja šljive na podlozi džanarika, moguće i opravdano ukoliko se primenjuju sve neophodne pomotehničke mere, posebno u početnim godinama uzgoja (Mićić i sar., 2006; Glišić, 2012; Cvetković et al., 2017; Cvetković and Mićić, 2018). Intenzivni sistemi gajenja šljive zahtevaju veće investicije u početnim godinama uzgoja, zbog većeg broja sadnica po jedinici površine i vremena potrebnog za primenu pomotehničkih tretmana (Rakićević i sar., 2007, Glišić i sar., 2007). Visok nivo investiranja u početnim godinama gajenja kroz veliki broj sadnica i vreme potrebno za pravilnu pomotehniku, glavni su razlog zašto se proizvođači u Srbiji odlučuju za podizanje klasičnih, umesto intenzivnih zasada šljive

<sup>1</sup>Univerzitet u Banjoj Luci Poljoprivredni fakultet, Bulevar vojvode Petra Bojovića 1, Banja Luka, Republika Srpska, Bosna i Hercegovina ([miljan.cvetkovic@agro.unibl.org](mailto:miljan.cvetkovic@agro.unibl.org));

<sup>2</sup>Republička uprava za inspekcijske poslove, Odsek poljoprivredna inspekcija, Banja Luka, Republika Srpska, Bosna i Hercegovina

<sup>3</sup>ZP "Rudnik i Termoelektrana Ugljevik", Ugljevik, Republika Srpska, Bosna i Hercegovina

(Milošević et al., 2008). Sortne specifičnosti imaju značajnu ulogu, imajući u vidu, bujnost, različit habitus rasta i specifičnosti formiranja rodnog drveta (Byrne, 2005). Ove specifičnosti takođe zavise i od starosti zasada i nivoa plodonošenja (Glišić i sar., 2007; Cvetković et al., 2019). Cilj rada je analiza efikasnosti i strukture zimske rezidbe šljive sorte Stenli, Čačanska rodna i Čačanska lepotica u periodu punog plodonošenja, kroz studiju slučaja zasada u sistemu guste sadnje na podlozi džanarika (*Prunus cerasifera* Ehr.).

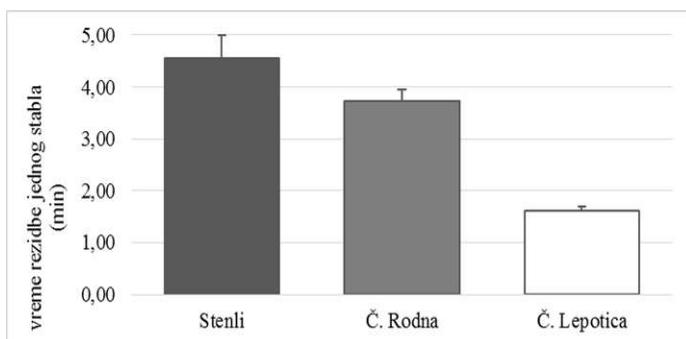
### Materijal i metode rada

Ispitivanje efikasnosti i strukture zimske rezidbe, izvršeno je u proizvodnom zasadu šljive kompanije "Agro-voće" u selu Bakinci, opština Laktaši (Bosna i Hercegovina) podignutom 2008. godine. Sorte u zasadu su kalemnjene na podlozi sejanac džanarike (*Prunus cerasifera* Ehr.). Gustina sadnje je uniformna i iznosi  $4,0 \times 1,8$  m. Uzgojni oblik je vreteno šljive, formirano i održavano uz uvažavanje osnovnih principa ove uzgojne forme (Mićić i sar., 2006). Zemljište u zasadu se održava u sistemu jalovi ugar u međurednom i primenom herbicida u rednom prostoru. Ishrana i zaštita od patogena su u skladu sa pozitivnom poljoprivrednom praksom. Ispitivanja su obavljenia tokom perioda zimske rezidbe (jesen-zima) 2017-2018. godine. Istraživanjem su obuhvaćene sorte Stenli, Čačanska rodna i Čačanska lepotica, koje su najviše zastupljene u zasadu i ujedno od najvećeg ekonomskog značaja u proizvodnji šljive u ovoj regiji. Efikasnost zimske rezidbe analizirana je kroz osnovne parametre učinkovitosti rezača koji redovno obavljaju rezidbu. Analizirana je rezidba tri grupe rezača ujednačenih veština u rezidbi. Grupu čine tri radnika, što predstavlja uobičajenu organizaciju rezidbe. Jedan radnik je zadužen za rezidbu vršnog dela uz upotrebu merdevina, a druga dva radnika su zadužena za rezidbu donjeg dela stabla "sa zemlje". Rezidbu svih sorti su obavile isti rezači u jutarnjim časovima od 8.30 do 9.30 h, kako bi se smanjili subjektivni uticaji na proces rezidbe (premor rezača, zasićenost radom...). Analizirana je efikasnost rezidbe 30 stabala (3 grupe po 10 stabala). Evidentirano je ukupno vreme potrebno za rezidbu jednog stabla i struktura utrošenog vremena: produktivni deo rezidbe (direktna primena pomotehničkih tretmana) i neproduktivni deo rezidbe (neproduktivan rad 1 - manipulacija merdevinama i priprema za rezidbu gornjeg dela stabla; neproduktivan rad 2 - prelaz sa jednog na drugo stablo). Produktivni deo rezidbe je segmentiran na zahvate u donjem delu stabla, zahvate u gornjem delu stabla i povijanje grana bez obzira na njihov položaj na stožini. Dobijeni podaci su obrađeni i izraženi u apsolutnim i procentualnim vrednostima. Obrada podataka izvršena je korišćenjem softverskog paketa Microsoft Office Excel 2013.

### Rezultati istraživanja i diskusija

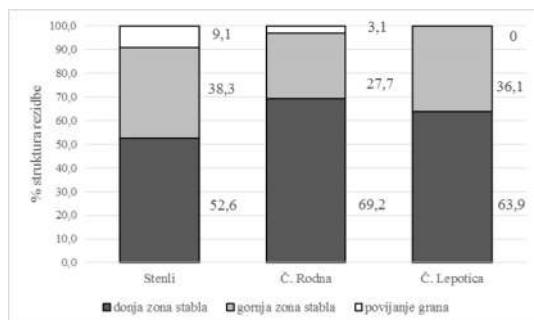
Za rezidbu jednog stabla sorte Stenli u proseku je potrebno 4,56 min (grafikon 1). Za stablo sorte Čačanska rodna, potrebno je nešto manje vremena (3,73 min) u odnosu na sortu Stenli. Značajno manje vremena (1,61 min) je potrebno za rezidbu jednog stabla sorte Čačanska lepotica. Stenli je bujnija sorta sa dobrim obrastanjem novim prirastima. Novoformirani prirasti su obično dugi i predstavljaju kvalitetnu zamenu za

nove nosače rodnog drveta, ali se moraju pravovremeno tretirati - dovesti pod odgovarajući ugao otklona (Cvetković et al., 2017). Iako manje bujna, sorta Čačanska rodna ima priraste pod relativno nepovoljnijim uglom grananja i potrebna je detaljnija rezidba, posebno jednogodišnjih uspravnih prirasta. Njihovim prekraćivanjem na kratke patrljke zadržavaju se tačke rasta na poželjnim pozicijama i inciraju novi prirasti, čime se osigurava adekvatna zamena rodnog drveta. Čačanska lepotica je sorta manje bujnosti u periodu pune rodnosti, posebno u godinama sa izbalansiranom rodnošću. Novoformirani prirasti su slabije bujnosti i u glavnom povoljnog položaja pa samim tim je i rezidba jednostavnija i brža, što ovu sortu čini veoma pogodnom za intenzivne sisteme gajenja (Byrne, 2005; Cvetković and Mićić, 2018). Glišić i sar., (2007) navode da je u prve dve godine utrošak vremena za sprovođenje različitih pomotehničkih tretmana u instenzivnom zasadu kod sorte Čačanska rodna značajno veći (214,9 h/ha) u odnosu na sorte Stenli (145,3 h/ha) i Čačanska lepotica (175,8 h/ha).

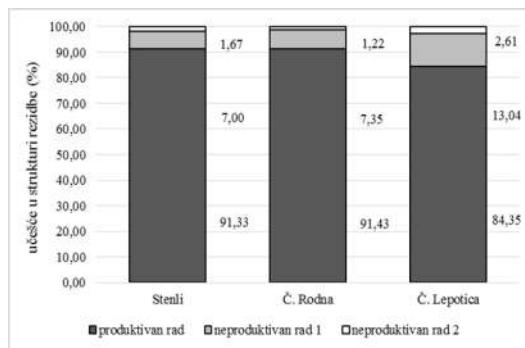


**Grafikon 1.** Vreme (min) potrebito za rezidbu jednog stabla ispitivanih sorti šljive  
**Graph 1.** Time (min) required for pruning of the one tree of the observed plum variety

U strukturi vremena potrebnog za rezidbu (grafikon 2) preovladava vreme koje se utroši za rezidbu donjeg dela stabla. Kod sorte Čačanska rodna ono iznosi 69,2%. Nešto je manje kod sorte Čačanska lepotica (63,9%) a najmanje kod sorte Stenli (52,6%). Znatno veće učešće rezidbe u gornjem delu krošnje kod sorte Stenli (38,3%) povećava ukupno vreme za rezidbu, obzirom da je učinak radnika u gornjem delu koršnje (rad na merdevinama) manji nego pri rezidbi sa zemlje. Povijanje novih prirasta u cilju formiranja nosača, značajnije je zastupljeno jedino kod sorte Stenli (9,1%) dok je kod sorte Čačanska rodna ono značajno manje (3,1%). Kod sorte Čačanska lepotica, nije registrovano povijanje novih prirasta, jer su prirasti bili suviše kratki za povijanje ili pod suviše oštrim uglom u odnosu na centralnu stožinu. Slične tendencije u pogledu povijanja mладара u početnim godinama uzgoja, registrovali su i Glišić i saradnici (2007). U strukturi ukupnog vremena za rezidbu jednog stabla produktivni deo rezidbe ima većeg učešća kod sorti kod kojih rezidba traje duže (grafikon 3). Kod sorte Stenli, produktivni rad čini oko 91,33% utrošenog vremena, dok se ostatak vremena utroši na pripremu za rezidbu i manipulaciju merdevinama u gornjem (7,00%) i manji deo vremena na prelaz sa jednog na drugo stablo (1,67%). Slična struktura vremena ustaljena je i kod sorte Čačanska rodna, uz nešto veće učešće produktivnog rada.



**Grafikon 2.** Struktura vremena rezidbe (%)  
**Chart 2. Structure of the pruning time (%)**



**Grafikon 3.** Procentualno učešće produktivnog i neproduktivnog rada (%)  
**Chart 3. Percentage of the productive and non-productive work (%)**

Neproduktivan rad, kod sorte Čačanska lepotica, ima najveće učešće (16,60%) što ostavlja prostora za dodatno unapređenje organizacije rezidbe i povećanje efikasnosti. Za rezidbu jednog hektara sorte Čačanska lepotica (tabela 1) potrebno je 44,1 radnih sati.

**Tabela 1.** Efikasnost zimske rezidbe ispitivanih sorti

*Table 1. Efficiency of the winter pruning of the observed varieties*

Sorta/Cultivar	Stenli	Č. Rodna	Č. Lepotica
Produktivna rezidba (min / stablo <sup>-1</sup> ) <i>Productive pruning (min / tree<sup>-1</sup>)</i>	4,56	3,73	1,62
Neproduktivna rezidba (min / stablo <sup>-1</sup> ) <i>Nonproductive pruning (min / tree<sup>-1</sup>)</i>	0,43	0,35	0,30
Vreme rezidbe (min / stablo <sup>-1</sup> ) <i>Pruning time (min / tree<sup>-1</sup>)</i>	5,00	4,08	1,92
Vreme rezidbe po jedinici površine (h / ha <sup>-1</sup> ) <i>Pruning time per unit area (h / ha<sup>-1</sup>)</i>	115,0	93,9	44,1
Razlika utroška vremena (% / ha <sup>-1</sup> ) <i>Time consumption difference (% / ha<sup>-1</sup>)</i>	+ 260,8	+ 212,9	-

Za rezidbu sorte Čačanska rodna utrošeno je 93,9 radnih sati. Za rezidbu sorte Stenli potrebno je 115,0 radnih sati. Slične podatke o utrošku radnog vremena u zimskoj rezidbi navode Rakićević i sar., (2007). Prema njihovim rezultatima kod sorte Stenli je bilo potrebno od 64,5 do 114,3 časa po hektaru, kod Čačanske rodne od 64,5 do 119,0 časova po hektaru, a kod Čačanske lepotice od 11,4 do 90,3 časova po hektaru. Učinkovitost u rezidbi sorte Čačanska lepotica, mora se posmatrati i sa aspekta optimalne gustine sadnje, imajući u vidu činjenicu da je posađena na većem razmaku u odnosu na optimalni. Povećanje broja biljaka do optimalnog (smanjenje rednog razmaka sa 1,8 m na 1,5 m, kao i međurednog razmaka sa 4,0 m na 3,6 m) u proseku za 17 - 20%, uticalo bi na povećanje broja biljaka po jedinici površine, a time i na povećanje vremena potrebnog za rezidbu jednog hektara. Gustina sadnje je nešto manja u odnosu na optimalnu i kod sorti Stenli i Čačanska rodna (Cvetković and Mićić, 2019) ali ne toliko izraženo kao što je slučaj kod sorte Čačanska lepotica.

### Zaključak

Zimska rezidba šljive u punoj rodnosti zavisi od sortnih specifičnosti gajenih sorti u pogledu bujnosti i habitusa stabla. Kod sorte Čačanska lepotica ostvarena je značajno veća efikasnost u odnosu na sorte Čačanska rodna (+212,9%) i Stenli (260,8%) zbog povoljnog odnosa rasta i rodnosti i dominantne zastupljenosti kratkog rodnog drveta. Čačanska rodna, zahteva detaljan i specifičan pristup zimskoj rezidbi, uslovljen visokim rodnim potencijalom, kao i morfološkim karakteristikama i pozicijom novih prirasta u krošnji. Povoljan odnos rasta i rodnosti kod sorte Stenli, omogućava kvalitetnu smenu nosača rodnog drveta i mora biti adekvatno balansiran zimskom rezidbom, što utiče na smanjenu efikasnost. Kod sorti sa većim učešćem neproduktivnog rada u rezidbi, potrebno je iznaći modalitete za povećanje efikasnosti.

### Literatura

- Botu, I., Botu, M., Papachatzis, A., Cosmulescu, S., Preda, S. (2012). Evolution of Plum Culture – Constraints and Perspectives. *Acta Horticulturae*, 968: 19-24.
- Byrne, D.H (2005). Trends in Stone Fruit Cultivar Development. Workshop, 494-500. *HortTechnology* 15(3): 494-500.
- Cvetkovic M., Micic N. 2018. Twenty years of experience in intensive plum production on *Prunus cerasifera* Ehrh. rootstock. *Scientific Papers. Series B, Horticulture*. Vol. LXII, 2018. 175-179.
- Cvetkovic M., Đuric G., Mićić N. 2017. Canopy management practices in modern plum (*Prunus domestica* L) production on vigorous rootstocks. *Scientific Papers. Series B, Horticulture*. Vol. LXI, 2017, Print ISSN 2285-5653, 117-122.
- Gavrilescu, E., Cosmulescu, S., Baciu, A., Botu, M. (2004): The influence of cultivar-rootstock combinaton on dinamical physiological proces in prune species. In: 8<sup>th</sup> International Symposium on Plum and Prune Genetics, Breeding and Pomology. Book of Abstracts, 8(112E): 77.

- Glišić I., Milošević T., Glišić Ivana (2007): Utrošak vremena za formiranje uzgojnog oblika kod nekih sorti šljive gajenih u zasadima različite gustine sadnje. Voćarstvo, 41(159): 121-127.
- Hrotkó, K., Magyar, L., Simon, G., Klenyán, T. (1998): Effect of rootstocks on growth of plum cultivars in a young orchard. Acta Horticulturae, 478: 95-98
- Milosevic T, Zornic B, Glisic I (2008) A comparison of low-density plum plantings for differences in establishment and management costs, and in returns over the first three growing seasons - a mini-review. Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 83:539-542.
- Мићић, Н., Ђурић Гордана, Цветковић, М. (2005): Системи гајења и резидба шљиве. Министарство пољопривреде, шумарства и водопривреде Републике Србије, Београд, 1-60.
- Rakićević, M., Miletić, R., Blagojević, M. (2007): Uticaj starosti i rastojanja sadnje šljive na troškove zimske rezidbe. Zbornik naučnih radova 22. Savetovanja o unapređenju proizvodnje voća i grožđa, Grocka, 13(5): 35-39.

## EFFICIENCY AND STRUCTURE OF WINTER PRUNING OF PLUM IN INTENSIVE TRAINING SYSTEM – CASE STUDY

Miljan Cvetković<sup>1</sup>, Saša Kalamanda<sup>2</sup>, Bojan Životić<sup>3</sup>

**Abstract:** Intensive plum production in the spindle training system on Myrobalan (*Prunus cerasifera* Ehr.) rootstock is possible with adequate and timely applied pomotechnical treatments. This case study analyzes efficiency and structure of the winter pruning of plum varieties Stanley, Čačanska lepotica and Čačanska rodna. Research was conducted in 10-year old commercial orchard, during the autumn - winter period of 2017 - 2018. 30 trees of each variety have been observed. Winter pruning of 1ha for the variety Stanley takes 115.0 working hours, for the variety Čačanska rodna 93.6 and for the variety Čačanska lepotica 44.1 working hours. Regardless of the variety, in comparison to the pruning of the upper parts of the habitus, more time is needed for the pruning of the lower parts of the habitus. In the overall structure of the pruning hours, percentage of unproductive work is inversely proportional to the time necessary for the pruning. Efficiency of winter pruning is conditioned by plant vigour and cultivar specifics regarding type and position of new shoots and fruiting potential (dominant type of fruit bearing branches).

**Key words:** variety, pruning, time, productivity, efficiency

<sup>1</sup>University of Banja Luka, Faculty of Agriculture, Bulevar vojvode Petra Bojovića 1, Banja Luka, Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina ([miljan.cvetkovic@agro.unibl.org](mailto:miljan.cvetkovic@agro.unibl.org));

<sup>2</sup>Republic Administration for Inspection Activities, Agricultural Inspection Sector, Banja Luka, Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina;

<sup>3</sup>ZP "Rudnik i Termoelektrana Ugljevik", Ugljevik, Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina;

## SADRŽAJ MAKRO I MIKROELEMENATA U ZEMLJIŠTU POD ZASADIMA ŠLJIVE I JABUKE NA PODRUČJU KRAGUJEVCA

Mira Milinković\*, Nebojša Milošević, Darko Jevremović, Svetlana M. Paunović,  
Olga Mitrović, Žaklina Karaklajić-Stajić, Jelena Tomić

**Izvod:** Ispitivanja su obuhvatila analizu osnovnih parametara plodnosti i sadržaj makro i mikroelemenata u zemljишtu na području Kragujevca. Rezultati analiza zemljишta pod zasadima šljive i jabuke, pokazuju da su zemljишta pod zasadima jabuke bolje obezbeđena lakopristupačnim P, Ca, Mg, Zn i Mn, a zemljишta pod zasadima šljive imaju veći sadržaj lakopristupačnog K, Cu, Fe i Ni. Uticaj na sadržaj hraniva imala je reakcija zemljишta, ali i intenzitet proizvodnje i veća primena hraniva u zasadima jabuke.

**Ključne reči:** šljiva, jabuka, plodnost zemljишta, makroelementi, mikroelementi.

### Uvod

U Srbiji, pod zasadima različitih vrsta voćaka je oko 4.8% poljoprivrednih površina. Više od dve trećine su zasadi koštičavih vrsta voćaka ili oko 67% površina, a u okviru toga dve trećine je pod šljivom. Pored toga, što je šljiva vodeća vrsta voćaka, veliki deo zasada je ekstenzivan, odnosno sa niskim nivom agrotehnike ili čak sa odsustvom bilo kakvih mera u zasadu. Najvažnija jabučasta voćna vrsta, jabuka, druga je po površinama, iza šljive i gaji se na 23.737 ha. U evropskim razmerama, Srbija je po površinama pod jabukom na 12. mestu (Keserović et al., 2014). Poslednjih godina, zasnovane su znatne površine zasada jabuke po savremenim tehnologijama gajenja uključujući primenu hraniva kroz različite sisteme ishrane.

Za uspešno gajenje voćaka potreban je adekvatan izbor zemljишta koji je glavni izvor hranljivih materija potrebnih biljkama za rast i plodošenje. Postoje geografski, geološki, biološki i klimatološki razlozi zbog kojih zemljишta imaju tendenciju da budu ili kisela ili alkalna, a njihovo prirodno stanje može biti u velikoj meri modifikovano ljudskim dejstvima. Hemijska analiza zemljишta važna je za praćenje stanja životne sredine i zakonodavstvo (Merry, 2010), a daje i informacije o stanju plodnosti, dostupnosti hranljivih materija i osnovama za preporuku dubrenja kao i planiranje programa upravljanja hranljivim materijama. Najneophodnija hraniva su azot (N), fosfor (P) i kalijum (K), koji se najčešće analiziraju u grupi osnovnih parametara plodnosti zemljишta. Savremeni sistemi gajenja zahtevaju analizu ostalih važnih nutrijenta: kalcijuma, magnezijuma, sumpora i mikroelemenata: gvožđa, mangana, cinka, bakra, bora i molibdena, koji su biljkama potrebni u manjim količinama od makroelemenata (Rebecca Lines-Kelly, 1992).

Brojna istraživanja ukazuju na uticaj mehaničkog sastava, reakcije zemljишta, sadržaja humusa na dostupnost hraniva. Jako kisela zemljишta su siromašna u

\*<sup>1-7</sup> Institut za voćarstvo, Čačak, Kralja Patra I br.9, 32000 Čačak, ([mmilinkovic@institut-cacak.org](mailto:mmilinkovic@institut-cacak.org)).

pristupačnim oblicima makroelemenata i pojedinih mikroelemenata za biljke, a istovremeno ova zemljišta sadrže veće količine jona Al, Fe i Mn, dostupnih biljkama, koji u visokim koncentracijama imaju toksični uticaj na biljke (Dugalić i sar., 2008). Raspoloživost Fe i Zn, kako je smanjena u zemljištima sa visokim pH. Iako je Fe prisutno u velikim količinama u zemljištu, više od Zn, njegova dostupnost biljkama (u obliku koje biljke mogu usvojiti) ograničena je reakcijama koje formiraju nerastvorna jedinjenja pri visokom pH.

Cilj istraživanja je ispitivanje osnovnih parametara plodnosti i sadržaj makro i mikroelemenata u zemljištu pod zasadima šljive i jabuke na području Kragujevca.

### Materijal i metode rada

Ispitivanja su vršena u septembru 2018. godine uzorkovanjem zemljišta u ruralnom području grada Kragujevca, u zasadima šljive i jabuke na lokalitetima u katastarskim opštinama (KO): Stragari, Vlakča, Čumić i Masloševu. Uzorkovani zasadi su obeleženi GPS koordinatama: N od 44.08551 do 44.11902 i E od 20.37843 do 20.47588. Dubina uzorkovanja je 0-30 i 30-60 cm. Analizirano zemljište je u klasi lakih glinuša sa 32.80-45.0% udela frakcija gline i 59.0-77.80% fizičke gline. Ispitivani lokalitet pod zasadom šljive u KO Vlakča je u klasi glinovite ilovače. Agrohemijiske karakteristike zemljišta su utvrđene u laboratoriji Instituta za voćarstvo, Čačak sledećim metodama: pH vrednost u  $H_2O$  i 1 MKCl-u (potenciometrijski); humus (metodom po Kotzman-u); ukupni azot (metodom po Kjeldahl-u); lakopristupačni fosfor i kalijum (AL metoda,  $P_2O_5$ -kolorimetrijski,  $K_2O$  plamenofotometrijski). Uzorci su predhodno osušeni na sobnoj temperaturi i prosejani kroz sito  $\leq 2$  mm. Ukupan sadržaj makro i mikroelemenata određen je mineralizacijom uzorka zemljišta sa  $HCl$  i  $H_2SO_4$  i očitavanjem na AAS (Perkin Elmer, 2018).

### Rezultati istraživanja i diskusija

Poznavanje pH vrednosti zemljišta pomaže da se identifikuju vrste hemijskih reakcija koje se mogu dogoditi. Posmatrajući profil zemljišta, postoje razlike između slojeva i horizonata u njihovim svojstvima, a mogu biti u celini kiseli ili alkalni. Reakcija zemljišta može se znatno razlikovati između slojeva, mada često površinski slojevi zbog intenzivnije obrade su kiseliji od podpovršinskih slojeva.

Rezultati istraživanja (tab. 1) pokazuju da je analizirano zemljište kisele do slabo alkalne reakcije. Prosečne vrednosti aktivne kiselosti zemljišta ( $pH/H_2O$ ) u humusnom horizontu (0-30cm) pod zasadima šljive je 7.33, a pod zasadima jabuke 7.46 pH jedinica. U podhumusnom horizontu (30-60cm) prosečne vrednosti su 7.28-7.30. U Masloševu prisutna je kisela do slabo kisela reakcija zemljišta. Proces zakišljavanja može se smatrati primarnim uzrokom smanjene produktivnosti poljoprivrednog zemljišta (Mrvić i sar., 2012), koji je u prethodnom periodu značajno ubrzan antropogenim faktorom, prvenstveno povećane emisije i taloženje kiselih zagađivača, neodgovarajuća upotreba mineralnih đubriva i dr. (Sparks i sar., 2002). Obezbedenost humusom je niska do srednja, prosečno viših vrednosti pod zasadima šljive u humusnom horizontu (0-30cm) sa 4.18%. Ukupni azot prosečno je srednjeg do visokog

sadržaja (0.17-0.21%). Zemljišta pod zasadima šljive su manje obezbeđena lakopristupačnim fosforom (1-14.50 mg/100g zemljišta), prosečno 8.61 mg/100g zemljišta humusnog horizonta i 4.86 mg/100g zemljišta podhumusnog horizonta, a u zasadima jabuke u zavisnosti od analizirane parcele od 4.78-15.52 mg/100g zemljišta u tri katastarske opštine i veoma visok sadržaj u Masloševu 35.65-41.13 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/100g zemljišta. U uslovima povećane kiselosti zemljišta fosfor kao jedan od najznačajnijih makronutrijenata u vezanim oblicima sa Al i Fe postaje teško dostupan biljkama (Barber, 1995). U zemljištima sa alkalnom reakcijom, smanjuje se pokretljivost i pristupačnost fosfora i kalijuma. Sadržaj lakopristupačnog kalijuma je od 18.0-46.3 mg/100g zemljišta, pod zasadima šljive prosečno 32.08 mg/100g zemljišta u humusnom horizontu i 23.88 mg/100g zemljišta u podhumusnom horizontu. Pod zasadima jabuke, u humusnom horizontu je prosečno 28.4 mg K<sub>2</sub>O/100g zemljišta i 24.43 mg K<sub>2</sub>O/100g zemljišta u podhumusnom horizontu. Rezultati istraživanja svih analiziranih parametara su u saglasnosti sa rezultatima Milivojević i sar. (2017).

Tabela 1. Osnovna plodnost zemljišta

Table 1. Basic soil fertility

R.br.	KO	Br. uzorka	Dubina (cm)	H <sub>2</sub> O	KCl	CaCO <sub>3</sub>	Humus	Ukupni N	AL-P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	AL-K <sub>2</sub> O	
				pH		%		mg/100g vsz			
1	Stragari	1	0-30	7.57	6.46	0.84	3.89	0.19	10.48	46.3	
		2	30-60	7.64	6.62	0.56	2.42	0.12	3.40	31.1	
2	Vlakča	3	0-30	8.40	7.33	10.47	3.53	0.17	14.50	28.1	
		4	30-60	8.53	7.38	10.33	3.30	0.17	10.19	19.9	
3	Čumić	5	0-30	7.24	6.10	0.84	6.13	0.31	6.32	30.3	
		6	30-60	7.48	6.22	0.84	4.95	0.25	4.83	26.5	
4	Masloševu	7	0-30	6.10	5.05	0.00	3.18	0.16	3.13	23.6	
		8	30-60	5.56	4.51	0.00	2.48	0.12	1.00	18.0	
<b>Prosek</b>			<b>0-30</b>	<b>7.33</b>	<b>6.24</b>	<b>3.04</b>	<b>4.18</b>	<b>0.21</b>	<b>8.61</b>	<b>32.08</b>	
<b>Prosek</b>			<b>30-60</b>	<b>7.30</b>	<b>6.18</b>	<b>2.93</b>	<b>3.29</b>	<b>0.17</b>	<b>4.86</b>	<b>23.88</b>	
5	Stragari	9	0-30	8.01	6.87	1.53	3.04	0.15	5.74	29.7	
		10	30-60	7.98	7.00	1.53	3.18	0.16	4.98	27.6	
6	Vlakča	11	0-30	7.71	6.68	0.72	4.77	0.24	7.37	20.0	
		12	30-60	7.77	6.74	0.84	4.33	0.21	4.78	17.7	
7	Čumić	13	0-30	6.70	5.53	0.84	2.00	0.10	15.52	34.7	
		14	30-60	6.54	5.76	1.40	2.42	0.12	5.48	21.5	
8	Masloševu	15	0-30	7.40	6.26	0.72	4.95	0.25	41.13	29.2	
		16	30-60	6.81	5.75	0.72	3.60	0.18	35.65	30.9	
<b>Prosek</b>			<b>0-30</b>	<b>7.46</b>	<b>6.34</b>	<b>0.95</b>	<b>3.69</b>	<b>0.19</b>	<b>17.44</b>	<b>28.4</b>	
<b>Prosek</b>			<b>30-60</b>	<b>7.28</b>	<b>6.31</b>	<b>1.12</b>	<b>3.38</b>	<b>0.17</b>	<b>12.72</b>	<b>24.43</b>	

\*uzorci zemljišta iz zasad šljive 1-8

\*uzorci zemljišta u zasadima jabuke 9-16

U zemljištima sa alkalnom reakcijom smanjuje se pokretljivost i pristupačnost fosfora, kalijuma, magnezijuma, gvožđa, mangana, bora, kobalta, bakra i cinka. Izuzeci su molibden, sumpor, azot, koji se bolje usvajaju sa povećanjem pH vrednosti rastvora zemljišta. Rezultati sadržaja makro i mikroelemenata prikazani su u tab. 2.

Sadržaj Ca u zasadima šljive i jabuke je približnih vrednosti u humusnom horizontu (0-30cm) 1.96-2.01% i podhumusnom horizontu (30-60 cm) 1.99-2.07%. U KO Stragari

i Vlakča pod zasadima šljive, u humusnom horizontu sadržaj Mg je 0.04-0.08%, a na ostalim lokalitetima je 0.26-0.58%.

Prirodni Cu u zemljištu je uglavnom vezan za minerale kristalne rešetke sa oksidima Mn, Fe i Al. Nekoliko svojstava zemljišta utiče na rastvorljivost Cu i biodostupnost, kao što su pH, oksidacioni i redukcioni potencijal, organska materija zemljišta, tekstura zemljišta, mineralni sastav, temperatura i vodni režim. U slučaju antropogenog unošenja Cu u zemljište, zbog vezivanja sa neorganskom ili organskom materijom, veća je akumulacija u površinskom horizontu zemljišta i odnosu na dublje delove profila (Delas, 1963).

Tabela 2. Sadržaj makro i mikroelemenata u zemljištu  
Table 2. Content of micro and macro-elements in soil

R. br .	KO	Br. uz.	Dubina (cm)	Ca	Mg	Cu	Zn	Fe	Ni	Mn	
				%		mg kg <sup>-1</sup>					
1	Stragari	1	0-30	0.98	0.04	18.5	8.8	105.0	375.3	348.8	
		2	30-60	1.12	0.36	11.2	7.1	64.0	437.1	556.1	
2	Vlakča	3	0-30	2.10	0.08	7.1	3.6	54.0	/	8.4	
		4	30-60	2.28	0.10	7.6	6.0	83.0	/	8.2	
3	Čumić	5	0-30	2.54	0.58	11.0	20.5	113.0	10.9	332.9	
		6	30-60	2.54	0.58	10.2	12.0	102.0	8.3	351.7	
4	Masloševu	7	0-30	2.20	0.52	81.9	34.3	784.0	22.7	423.8	
		8	30-60	2.04	0.50	42.6	21.3	849.0	21.9	285.4	
Prosek			0-30	1.96	0.31	29.63	16.8	264.0	102.22	278.48	
Prosek			30-60	1.99	0.39	17.9	11.6	274.5	116.83	300.35	
5	Stragari	9	0-30	1.44	0.26	9.9	3.5	55.0	141.9	172.6	
		10	30-60	1.46	0.30	11.3	7.2	368.0	163.6	140.6	
6	Vlakča	11	0-30	1.52	0.30	8.8	19.9	103.0	66.6	349.2	
		12	30-60	1.50	0.28	8.8	18.6	91.0	71.1	489.4	
7	Čumić	13	0-30	2.24	0.32	31.3	36.8	617.0	26.0	762.7	
		14	30-60	2.58	0.32	27.8	33.9	351.0	21.1	489.0	
8	Masloševu	15	0-30	2.82	0.50	15.2	42.4	179.0	12.5	264.3	
		16	30-60	2.74	0.60	14.2	38.0	126.0	11.4	319.5	
Prosek			0-30	2.01	0.35	16.3	25.65	238.5	61.75	387.2	
Prosek			30-60	2.07	0.38	15.53	24.43	234.0	66.8	359.63	

\*uzorci zemljišta iz zasad šljive 1-8

\*uzorci zemljišta u zasadima jabuke 9-16

Sadržaj Cu, Zn, Fe je najviši pod zasadom šljive u Masloševu (Cu 42.6-81.9 mg kg<sup>-1</sup>; Zn 21.3-34.3 mg kg<sup>-1</sup>; Fe 784.0-849.0 mg kg<sup>-1</sup>) i pod zasadom jabuke u Čumiću Cu je 27.8-31.3 mg kg<sup>-1</sup> i Fe 351.0-617.0 mg kg<sup>-1</sup>, a Zn pod istim zasadom u Masloševu 38.0-42.4 mg kg<sup>-1</sup>. Sadržaj ukupnog bakra u zemljištima Šumadije, pod vinogradima kretao se od 24,8 mg kg<sup>-1</sup> na kontrolnoj varijanti do 200.1 mg kg<sup>-1</sup> u zasadu vinograda starog više godina. Rezultati naših istraživanja su u skladu sa istraživanjima na kontrolnim

varijantama (Ninkov i sar 2014). Smatra se da su visoke vrednosti sadržaja ukupnog bakra ( $>60 \text{ mg kg}^{-1}$ ) uzrokovane primenom fungicida na bazi bakarnih preparata (Schramel et al., 2000; Pietrzak and McPhail, 2004; Wightwick et al., 2006; Rusjan et al., 2007). Rezultati istraživanja sadržaja ukupnog bakra na smonicama Zapadne Srbije (Milivojević i sar., 2017) iznosili su  $17\text{-}74 \text{ mg kg}^{-1}$ , što je u skladu sa rezultatima za većinu ispitivanih uzoraka.

Visoke vrednosti sadržaja nikla su izmerene u KO Stragari  $141.9\text{-}437.1 \text{ mg kg}^{-1}$  i u Vlakči pod zasadom jabuke ( $66.6\text{-}71.1 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Štetni mikroelementi usled povećane koncentracije  $\text{H}^+$  jona prolaze u lako dostupne oblike (Sauerbeck, 1991). Sadržaj Mn ima najniže vrednosti pod zasadom šljive u Vlakči ( $8.2\text{-}8.4 \text{ mg kg}^{-1}$ ), a na ostalim parcelama i dubinama uzorkovanja sadržaj je od  $140.6\text{-}762.7 \text{ mg kg}^{-1}$ . Rastvorljivost  $\text{Mn}^{+2}$  se povećava 100 puta kada pH opadne sa 5.5 na 4.5 jedinica. Toksični nivoi Mn ometaju normalne procese rasta pojedinih delova biljke, što obično dovodi do zakržljavanja, gubitka boje i nižeg prinosa. Reakcije gvožđa su slične reakcijama  $\text{Al}^{3+}$  i  $\text{Mn}^{2+}$  gde se rastvorljivost  $\text{Fe}^{2+}$  povećava kako se pH zemljišta smanjuje i veoma je nizak pri visokom pH zemljišta (Pagani i sar., 2013). Međutim, toksičnost gvožđa u zemljištu sa niskim pH nije veliki problem za većinu useva (kao što je to za  $\text{Al}^{3+}$  i  $\text{Mn}^{2+}$  toksičnost), ali može onemogućiti usvajanje pojedinih hraniva i pojavu antagonizma.

### Zaključak

Rezultati osnovne plodnosti zemljišta u zasadima šljive i jabuke na području Kragujevca, pokazuju da su ispitivana zemljišta kisele do slabo alkalne reakcije ( $\text{pH}/\text{H}_2\text{O}$ ) i supstituciono kisele do neutralne reakcije, slabo karbonatna na većini lokaliteta, niskog do srednjeg sadržaja humusa i ukupnog azota. Sadržaj lakopristupačnog fosfora je niske do srednje obezbeđenosti, osim zasada jabuke u Masloševu gde je veoma visok sadržaj. Zemljišta su optimalne do visoke obezbeđenosti lakopristupačnim kalijumom. Kislost zemljišta i ostali parametri osnovne plodnosti na većini analiziranih parcela je veća u humusnom (0-30cm) u odnosu na podhumusni horizont (30-60 cm).

Prisustvo makroelemenata je u saglasnosti sa osnovnim parametrima plodnosti. Sadržaj Ca je  $0.98\text{-}2.82\%$  i Mg  $0.04\text{-}0.60\%$ . Vrednosti ukupnog sadržaja Cu su  $7.1\text{-}81.9 \text{ mg kg}^{-1}$ , Zn  $3.5\text{-}42.4 \text{ mg kg}^{-1}$ , Fe  $54.0\text{-}849 \text{ mg kg}^{-1}$ , Ni  $8.3\text{-}437.1 \text{ mg kg}^{-1}$  i Mn  $8.2\text{-}556.1 \text{ mg kg}^{-1}$ .

Zemljišta pod zasadima šljive sadrže više koncentracije Cu, Fe i Ni, dok su zemljišta pod zasadima jabuke bolje obezbeđena Ca, Mg, Zn i Mn. Navedeni rezultati zemljišta pokazuju veću obezbeđenost hraniva u zasadima jabuke usled uvođenja savremenih tehnologija gajenja uključujući i ishranu.

### Napomena

Istraživanja u ovom radu su realizovana sredstvima Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja RS, projekat "Biodiverzitet kao potencijal u ekoremedijacionim tehnologijama oštećenih ekosistema", TR-31080 i kroz projekat finansiran sredstvima

Ministarstva poljoprivrede i zaštite životne RS pod nazivom “Utvrdjivanje potrebe za navodnjavanjem različitih biljnih vrsta na području Šumadije”.

## Literatura

- Barber S.A. (1995). Soil Nutrient Bioavailability. A mechanistic approach. Wiley, New York.
- Delas J. (1963). The toxicity of cooper accumulated in soils. Agrochimica 7, 258-288.
- Dugalić G., Gajić B., Katić S., Stevović V. (2008). Influence of liming on yield and chemical composition of alfalfa on acid soils. Cereal Research Communications, 36, II, 995-998.
- Keserović Z., Magazin N., Kurjakov A., Dorić M., Gošić J. (2014). Popis poljoprivrede 2012. Republički zavod za statistiku Beograd.
- Lines-Kelly R. (1992). From the Soil Sense leaflet 8/92. Agdex 531, produced by Rebecca Lines-Kelly, formerly soils media officer, Wollongbar Agricultural Institute, for CaLM and NSW Agriculture, North Coast region, under the National Landcare Program.
- Merry R.H. (2010). Acidity and alkalinity of soils. In: Sabljic A. (ed) Environmental and ecological chemistry, (2). UNESCO EOLSS, UK.
- Milivojević J., Đekić V., Perišić V., Simić Z., Luković K. (2017). Copper accumulation and availability in Serbian smonitza soil. 2nd International and 14<sup>th</sup> National Congress of Soil Science Society of Serbia, Solutions and projections for sustainable soil management. Congress Proceedings: 15-22.
- Mrvić V., Čakmak D., Sikirić B., Nikoloski M., Delić D., Belanović S., Beloica J. (2012). Uticaj zakišeljavanja na sadržaj vodorastvornog aluminijuma u pseudoglejevima. Ratarstvo i povrtarstvo 49 (3), 257-262.
- Ninkov J., Vasin J., Milic S., Sekulic P., Zeremski T., Milenkovic S. (2014). Copper content and distribution in vineyard soils of central Serbia . Eurasian Journal of Soil Science (3), 131 – 137.
- Pagani A., Sawyer E.J., Mallarino A. (2013). Site-Specific Nutrient Management: For nutrient management planning to improve crop production, environmental quality and economic return. Extension and Outreach Publications, 104-114.
- Pagani A., Sawyer JE, Mallarino A.P. (2013). Site-specific nutrient management for nutrient management planning to improve crop production, environmental quality, and economic return. Iowa State University, International Plant Nutrition Institute, The Fertilizer Institute and Nutrient, USDA-NRCS.
- Pietrzak U., McPhail D.C. (2004). Copper accumulation, distribution and fractionation in vineyard soils of Victoria, Australia. Geoderma 122, 151-166.
- Rusjan D., Strlič M., Pucko D., Korošec-Koruza Z. (2007). Copper accumulation regarding the soil characteristics in SubMediterranean vineyards of Slovenian. Geoderma 141, 111-118.
- Sauerbeck D., Lubben S. (1991). Effects of municipal disposals on soils, soil organisms and plants. In: Berichte aus der okologischen Forschung. (6), edited by Forschungszentrum Julich, 1-32. Julich, Zentralbibliotek.

Sauerbeck D.R. (1991). Plant, element and soils properties governing uptake and availability of heavy metals derived from sewage sludge. Water Air Soil Pollution, 57–58, 227–237.

Schramel O., Michalke B., Kettrup A., (2000). Study of the copper distribution in contaminated soils of hop fields by single and sequential extraction procedures. Science of the Total Environment 263, 11-22.

Sparks D. L. (2002). Environmental Soil Chemistry, Academic Press. San Diego, CA. International Standard Book Number: 0-12-656446-9.

Wightwick A., Mollah M., Smith J., MacGregor A., (2006). Sampling considerations for surveying copper concentrations in Australian vineyard soils. Australian Journal of Soil Research 44, 711-717.

## **CONTENT OF MACRO AND MICROELEMENTS IN SOIL UNDER PLUM AND APPLE PLANTATIONS IN THE AREA OF KRAGUJEVAC**

*Mira Milinković\*, Nebojša Milošević, Darko Jevremović, Svetlana M. Paunović,  
Olga Mitrović, Žaklina Karaklajić-Stajić, Jelena Tomić*

### **Abstract**

Examinations included the analysis of basic fertility parameters and content of macro and microelements in soil in the area of Kragujevac. The results of soil analyses under plum and apple plantations show that soils under apple plantations are better supplied with easily accessible P, Ca, Mg, Zn and Mn, whereas soils under plum plantations have larger content of easily accessible K, Cu, Fe and Ni. Nutrient content was influenced by soil reaction but also by the production intensity and broader application of nutrients in apple plantations.

**Key words:** plum, apple, soil fertility, macroelements, microelements

---

<sup>1</sup>Fruit research Institute, Cacak Cara Dušana 34, Čačak, Serbia (mmilinkovic@institut-cacak.org)



## FIZIČKO-HEMIJSKE OSOBINE PLODOVA AUTOHTONIH SORTI JABUKE SA PODRUČJA SARAJEVA

<sup>1</sup>Mirko Kulina, Mirjana Radović, Grujica Vico

**Izvod:** Zadatak istraživanja je bio da se ispitaju značajnije fizičko–hemijeske osobine plodova autohtonih sorti jabuke sa područja Sarajeva. Determinacijom je utvrđeno da se radilo o plodovima sorte: Petrovača, Lederica i Bjeličnik. Nakon sprovedenih fizičkih i hemijskih analiza, utvrđeno je da su se sorte značajno razlikovale po istraživanim svojstvima. Morfometrijske osobine ploda pokazuju statistički veoma značajne do značajne razlike između proučavanih sorti. Najmanju masu ploda imala je sorta Petrovača, dok je najveća bila kod sorte Bjeličnik. Sorta Petrovača imala je i najmanju dužinu i širinu ploda, a najveću sorta Bjeličnik. Hemski sastav ploda je značajno varirao u zavisnosti od sorte. Sadržaj rastvorljivih suvih materija bio je u intervalu 12,5-17,0%; ukupnih šećera 7,92-8,66%; ukupnih kiselina 0,16-0,56%, dok je pH vrijednost bila 3,23-3,56. Analizirane autohtone sorte jabuke sa područja Sarajeva mogu biti od izuzetnog značaja za integralnu i organsku proizvodnju, ali i kao početni materijal u hibridizaciji za stvaranje novih kvalitetnijih sorti otpornih na pojedine prouzrokovane biljnih bolesti i štetočina.

**Ključne reči:** jabuka, autohtone sorte, Sarajevska regija.

### Uvod

Jabuka (*Malus domestica* L.) pripada porodici *Rosaceae*, rodu *Malus*. U okviru ovog roda postoji između 20 i 50 vrsta i preko 7.500 kultura domaćih jabuka. Predstavlja drvenastu, višegodišnju, izrazito stranooplodnu biljku. Spada u najraširenije i najznačajnije voćne vrste. Jabuka se po proizvodnji, prometu i potrošnji voća u svijetu nalazi na trećem mjestu i dolazi odmah iza citrusa i banana. Na našim prostorima, jabuka je poslije šljive najvažnija voćna vrsta (Mišić, 2002).

Dugogodišnjim selekcionskim radom u svijetu je stvoren veliki broj različitih sorata jabuka, koje se manje ili više razlikuju u morfološkim, fizičko–hemijeskim, organoleptičkim i drugim svojstvima. Na kraju XX vijeka u Evropi je bilo rašireno preko 10.000 sorti jabuke od kojih je najveći broj gajan u specifičnim područjima i bio vezan za lokalna područja i potrebe. Postepeno, krajem prošlog vijeka, a posebno tokom zadnje dekade sve intenzivnije nastalo je gubljenje pojedinih starijih sorti i njihove izvorne varijabilnosti. Izrazito tržišni pristup koji često „kreira“ ukus potrošača postepeno je doveo do stanja da 5 do 7 novostvorenih sorti učestvuje sa preko 40 miliona tona u ukupnoj svjetskoj proizvodnji jabuke. Hecke (2006) navodi da je na evropskom tržištu sortiment jabuka značajno smanjen na najviše deset sorti, što je vrlo mali procenat s obzirom na njihovu brojnost.

<sup>1</sup> Univerzitet u Istočnom Sarajevu, Poljoprivredni fakultet, Vuka Karadžića 30, 71123 Istočno Sarajevo, Republika Srpska, Bosna i Hercegovina

Bosna i Hercegovina obiluje autohtonim sortama i populacijama mnogih vrsta voćaka, zahvaljujući raznolikosti svojih edafskih, klimatskih i geomorfoloških uslova. Međutim stare tradicionalne sorte (autohtone i odomaćene) gotovo su zapostavljene, iako predstavljaju važan dio naše prirodne i kulturne baštine.

Cilj ovog rada je bio da se prouče važnije fizičko-hemijske osobine ploda autohtonih sorti jabuke sa područja Sarajevske regije.

### Materijal i metode rada

Proučavanje važnijih fizičko-hemijskih osobina autohtonih sorti jabuka sa područja Sarajevske regije sprovedeno je tokom 2014. godine. Plodovi za analizu uzorkovani su u periodu njihove pune zrelosti, a brani su sa starih stabala jabuke smještenih na nekoliko lokacija.

Determinacija i opis sorata obavljen je prema deskriptoru za jabuke-UPOV, odnosno IBPGR. Nakon determinacije, od morfometrijskih osobina ploda analizirani su sljedeći parametri: masa ploda (g), dužina ploda (mm), širina ploda (mm), indeks oblika ploda (D/Š), dužina peteljke (cm), broj i masa sjemenki (g) u plodu. Hemijskom analizom plodova utvrđeni su sljedeći parametri: sadržaj ukupnih suvih materija (RSM) - određen sušenjem uzorka na  $105^{\circ}\text{C}$  do konstantne težine; sadržaj šećera (ukupnih i invertnih) - određen metodom po Luff-Schoorl (Džamić, 1989); sadržaj saharoze (%); sadržaj ukupnih kiselina izraženih u jabučnoj kiselini - određen titracijom 0,1 NaOH uz prisustvo fenolftaleina kao indikatora do promene boje ( $\text{pH}=8,1\pm0,2$ ) i pH vrijednost soka ploda određena pomoću pH - metra *CyberScan 510*.

Dobijeni rezultati su obrađeni statistički metodom analize varijanse za monofaktorijsalni ogled, a značajnost razlika između srednjih vrijednosti je utvrđena pomoću *Dankanovog* testa višestrukih intervala za nivo verovatnoće  $P > 0,05$ .

### Rezultati istraživanja i diskusija

Autohtone sorte jabuka su se tokom dugog vremenskog perioda prilagodile postojećim agroekološkim uslovima Republike Srpske, odnosno Bosne i Hercegovine i imaju veliki privredni značaj.

#### **Pomološke osobine ploda**

U tabeli 1 prikazane su najvažnije fizičke osobine ploda (masa ploda, dužina, širina, indeks oblika ploda, dužina peteljke, masa i broj sjemenki) proučavanih sorti jabuke sa područja Sarajevske regije.

Tabela 1. Fizičke osobine ploda proučavanih sorti jabuke  
 Table 1. Physical characteristics of studied cultivars of apple

Sorta Cultivar	Masa ploda (g) <i>Fruit weight (g)</i>	Dimenzijsje ploda <i>Dimensions of the fruit</i>		Indeks oblika ploda (D/S) <i>Index of fruit (L/W)</i>	Dužina peteljke (cm) <i>Length of the petiole (cm)</i>	Broj normalno razvijenih sjemenki <i>Number of seeds</i>	Masa normalno razvijenih sjemenki <i>Weight of seeds</i>
		Dužina (cm) <i>Length (cm)</i>	Širina (cm) <i>Width (cm)</i>				
Petrovača	64,8 c	4,63 c	4,84 c	0,95	2,01 b	5,04	0,33
Lederica	118,0 b	6,37 b	6,16 ab	1,03	2,24 bc	2,42	0,47
Bjeličnik	159,5 a	7,74 a	6,71 a	1,15	3,08 a	6,42	0,58

\*\*Prosjeци označeni istim slovima se ne razlikuju značajno prema Dankanovom testu višestrukih intervala za  $P \leq 0,05$

\*\*Different letters at average values indicate that the cultivars differ significantly in the investigated property according to the LDS test with  $P \leq 0,05$

U ovim proučavanjima masa ploda proučavanih sorti se kretala od 64,8 g kod sorte Petrovača do 159,5 g kod sorte Bjeličnik. Kod ispitivanih sorti zabilježena je statistički veoma značajna razlika u pogledu mase ploda. Prosječne vrijednosti dimenzije ploda su bile u korelaciji sa masom ploda. Rezultati proučavanja prikazanih u tabeli 1 pokazuju da je najveća prosječna dužina ploda bila kod sorte Bjeličnik (7,74 cm), a najmanja vrijednost je zabilježena kod sorte Petrovača (4,63 cm). Širina ploda se kretala u granicama od 4,84 cm kod sorte Petrovača do 6,71 cm kod sorte Bjeličnik. Na osnovu dimenzija ploda izračunat je i indeks oblika ploda. Najveći indeks oblika ploda konstantovan je kod sorte Bjeličnik (1,15%), a najmanji kod sorte Petrovača (0,95%). Dužina i širina ploda su morfološka svojstva sorte koja u najvećem stepenu zavise od genotipa sorte, dok u manjoj mjeri od nivoa primjenjenih pomotehničkih mjera, stepena opterećenja rodom, kao i odnosa ploda prema jedinici asimilacione površine (Mišić, 2002). Dužina peteljke, kao važan parametar za determinaciju sorti, kod ispitivanih sorti kretala se u intervalu od 2,01 cm (Petrovača) do 3,08 cm (Bjeličnik). Dobijeni rezultati istraživanja su pokazali da je najveći prosječan broj sjemenki konstantovan kod sorte Bjeličnik (6,42), nešto manji kod sorte Petrovača (5,04), dok je najmanji bio kod sorte Lederica (2,42). Masa normalno razvijenih sjemenki u plodu proučavanih sorti se kretala od 0,33 g do 0,58 g. Upoređujući podatke, može se zaključiti da su dimenzije ploda u približnim granicama sa rezultatima (Šebek, 2013). Pirlak et al. (2003) su prilikom proučavanja lokalnih sorti jabuke u severoistočnoj Anatoliji u Turskoj prikazali variranje težine ploda u granicama 49,5-152,2 g, dok su Mratinić i Fotirić-Akšić (2012) u svojim istraživanjima u južnoj Srbiji dobili vrijednosti mase ploda u granicama 70,0-193,3 g.

### Hemijske osobine ploda

Komponente hemijskog sastava količinom i međusobnim odnosima formiraju senzorna, nutritivna i biološka svojstva. Hemijski i mehanički sastav specifičan je za svaku vrstu i sortu. Ova specifičnost je okarakterisana variranjem u određenim granicama u zavisnosti od klimatskih uslova, agrotehničkih mjera i stepena zrelosti.

U tabeli 2 prikazane su najvažnije hemijske osobine ploda (sadržaj ukupnih suvih materija, sadržaj šećera (ukupnih i invertnih), ukupan procenat saharoze, sadržaj ukupnih kiselina i pH vrijednost).

Tabela 2. Hemijske osobine ploda proučavanih sorti jabuke  
Table 2. *Chemical characteristics of studied cultivars of apple*

Sorta <i>Cultivar</i>	Sadržaj RSM (%) <i>The content of soluble dry matter (%)</i>	Sadržaj ukupnih šećera (%) <i>Content of total sugar (%)</i>	Sadržaj invertnih šećera (%) <i>Content of invert sugar(%)</i>	Sadržaj saharoze (%) <i>Content of saccharose (%)</i>	Sadržaj ukupnih kiselina(%) <i>Total acid content (%)</i>	pH vrijednost (0-14) <i>pH value</i>
Petrovača	17,0	7,92	6,98	0,89	0,16	3,56
Lederica	14,0	8,67	6,84	1,74	0,56	3,23
Bjeličnik	12,5	8,66	8,04	0,59	0,36	3,50

Najveći prosječan sadržaj rastvorljivih suvih materija (RSM) konstantovan je kod sorte Petrovača (17,0%), dok najmanji kod sorte Bjeličnik (12,5%). Procenat RSM kod analiziranih sorti nalazio se u granicama optimalnih vrednosti, što jasno ukazuje da agroekološki uslovi šireg područja Sarajevske regije povoljno utiču na razvoj ove voćne vrste. Najveći sadržaj ukupnih šećera utvrđen je kod sorte Lederice (8,67%), a najmanji kod sorte Petrovače (7,92%). Dobijeni rezultati pokazuju da je sadržaj ukupnih šećera, kod svih sorti, povoljan i da ne odstupa od standardnih vrijednosti. Dobijeni rezultati istraživanja su pokazali da je najveći procenat invertnih šećera zapažen kod sorte Bjeličnik (8,04%), a najmanji kod sorte Lederica (6,84%). Najveći procenat saharoze konstantovan je kod sorte Lederica (1,74%), a najmanji kod sorte Bjeličnik (0,59%). Svježi plodovi jabuke sadrže od 0,15 do 0,60% organskih kiselina (Mratinić, 1988). Naša istraživanja su pokazala da je najveći sadržaj ukupnih kiselina sadrže plodovi sorte Lederica (0,56%), a najmanji sadržaj plodovi kod sorte Petrovača (0,16%). Određivanjem pH vrijednosti, pomoću pH-metra, ustavljeno je da su najveću pH vrijednosti imali plodovi sorte Petrovača (3,56%), dok je najmanja pH vrijednost ustavljena u plodovima sorte Lederice (3,23%).

Kvalitet ploda jabuke predstavlja kombinaciju velikog broja fizičkih i hemijskih, kao i spoljašnjih i unutrašnjih osobina ploda. Kvalitet plodova zavisi od interakcije nekoliko faktora: genotipa (sorta i podloga), pravilnog izbora sorti oprasivača, sistema uzgoja, fizičkih i hemijskih osobina zemljišta, sadržaja hranljivih materija i vodnog režima zemljišta (Tagliavini i Marangoni, 2002; Militaru et al., 2009).

### Zaključak

Na osnovu dobijenih rezultata proučavanja važnijih fizočko-hemijskih osobina ploda nekih autohtonih sorti jabuke sa područja Sarajevske regije, možemo zaključiti sledeće:

- Najveća prosječna masa ploda utvrđena je kod sorte Bjeličnik (159,5 g), a najmanja kod sorte Petrovača (64,8 g);
- Najveća prosječna dužina ploda konstantovana je kod sorte Bjeličnik (7,74 cm), a najmanja kod sorte Petrovača (4,63 cm);

- Najveća prosječna širina ploda izražena je kod sorte Bjeličnik (6,71 cm), a najmanja kod sorte Petrovača (4,84 cm);
- Najveći indeks oblika ploda utvrđen je kod sorte Bjeličnik (1,15), a najmanji kod sorte Petrovača (0,95);
- Najveća dužina peteljki konstantovana je kod sorte Bjeličnik (3,08 cm), a najmanja kod sorte Petrovača (2,01 cm);
- Najveći prosječni broj sjemenki bio je kod sorte Bjeličnik (6,42), a najmanji kod sorte Lederica (2,42), dok je najveća masa sjemenki utvrđena kod sorte Bjeličnik (0,58), a najmanja masa kod sorte Petrovača (0,33);
- Najveći sadržaj rastvorljivih suvih materija ostvarila je sorta Petrovača (17,0), dok najmanji sadržaj sorte Bjeličnik (12,5);
- Najveći sadržaj ukupnih šećera utvrđen je kod sorte Lederica (8,67), a najmanji kod sorte Bjeličnik (8,66);
- Najveći sadržaj invertnih šećera ostvarila je sorta Bjeličnik (8,04), a najmanji sorta (6,84);
- Najveći sadržaj saharoze utvrđen je kod sorte Lederica (1,74), a najmanji kod sorte Bjeličnik (0,59);
- Najveći sadržaj ukupnih kiselina bio je kod sorte Lederica (0,56), a najmanji kod sorte Petrovača (0,16);
- Najveća prosječna pH vrijenost konstantovana je kod plodova sorte Petrovača (3,56), dok su najmanje vrijednosti utvrđene kod sorte Lederica (3,23);

Plodovi autohtonih starih sorata jabuka sa područja Sarajevske regije značajno se razlikuju fizičko–hemijskim svojstvima. S obzirom na navedeno, kao i na određene prijetnosti gajenja tradicionalnih sorti, važno ih je očuvati, jer se zbog odumiranja starih stabala pojedinih sorti gubi značajan izvor genetskog materijala i osiromašuje asortiman plodova jabuka na tržištu. Analizirane autohtone sorte jabuke mogu biti od izuzetnog značaja za integralnu proizvodnju, ali i kao početni materijal u hibridizaciji za stvaranje novih kvalitetnijih sorti otpornih na pojedine prouzrokovace biljnih bolesti i štetočina. Lokalne populacije i stare sorte su neophodan genetički resurs za obezbeđivanje selekcionog progresa i održive globalne produkcije hrane dobrog kvaliteta i dovoljne količine za današnje i buduće potrebe čovječanstva.

### Literatura

- Džamić M. (1989). Praktikum iz biohemije. Naučna knjiga, Beograd.
- Hecke K., Herberger K., Veberič R., Trobec M., Toplak H., Štampar F., Keppel H., Grill D. (2006). Sugar- acid- and phenol contents in apple cultivars from organic and integrated fruit cultivation. European Journal of Clinical Nutrition, 60, 1136–1140.
- Militaru M., Braniste N., Butac M. (2009). Fruit quality of some autochthonous and foreign apple cultivars grown in Romania. Acta Hort. 825, 547–552.
- Mišić P. (2002). Specijalno oplemenjivanje voćaka. Nolit, str. 1–502.

- Mratinić E., Fotirić-Akšić M. (2012). Phenotypic Diversity of Apple (*Malus* sp.) Germplasm in South Serbia. Brazilian Archives of Biology and Technology, 55 (3), 349–358.
- Nenadović-Mratinić E., Milatović D., Đurović D., Milivojević J. (1998). Biološke osobine jesenjih sorti jabuke. Zbornik radova XV savetovanja agronoma, veterinara i tehnologa, 7 (1), 163–169.
- Pirlak L., Guleryuz M., Aslantas R. A., Esitken A. (2003). Promising native summer apple (*Malus domestica*) cultivars from north-eastern Anatolia, Turkey. New Zeal. J. Crop. Hort. 31, 311–314.
- Šebek G. (2013). Autochthonous cultivars of apple from the area of the upper Polimlje. Agriculture & Forestry, 59 (3), 67–74.
- Tagliavini M., Marangoni B. (2002). Major nutritional issues in deciduous fruit orchards of Northern Italy. Hort Technology, 12 (1), 26–31.
- UPOV (International Union for the Protection of New Varieties of Plants) – „Apple“ - Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability, Geneva. <<http://www.upov.int/edocs/tgdocs/en/tg014.pdf>>. Datum pristupa, oktobar, 2018.

## PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERISTICS OF AUTOCHTHONOUS CULTIVARS OF APPLE FROM SARAJEVO AREA

<sup>1</sup>Mirko Kulina, Mirjana Radović, Grujica Vico

**Abstract:** The aim of research was to examine the more significant physical-chemical properties of the fruits of the autochthonous cultivars of apple from Sarajevo area. Determination found that it was the fruit of cultivars: Petrovača, Lederica and Bjeličnik. Physical and chemical analyzes have determined that the cultivars of apple differed significantly according to the investigated properties. The morphometric characteristics of fruit show statistically significant difference between the studied cultivars.

Cultivar of Petrovaca had the lowest weight of fruit, while cultivar of Bjelčnik had the highest weight of fruit. Cultivar of Petrovaca had the lowest length and width of fruit, while cultivars of Bjelčnik had the highest length and width of fruit. The chemical composition of the fruit varied considerably depending on the cultivar. The content of soluble dry matter was between 12,5-17,0%; the total sugar-7,92-8,66%; total acid-0,16-0,56%, while the pH value was 3,23-3,56.

The analyzed autochthonous cultivars of apple from the Sarajevo area can be of great importance for integral and organic production, but also as a hybridization starting material for the production of new, better cultivar resistant to certain pathogens of plant diseases and pests.

**Key words:** apple, autochthonous cultivars, Sarajevo area.

---

<sup>1</sup> University of East Sarajevo, Faculty of Agriculture, Vuka Karadzica 30, 71123 East Sarajevo, Bosnia and Herzegovina

## AGROBIOLOŠKA I TEHNOLOŠKA SVOJSTVA SORTE PROKUPAC U TOPLIČKOM REJONU

Mladen Garić<sup>1</sup>, Miloš Ristić<sup>2</sup>, Vera Vukosavljević<sup>3</sup>

**Izvod:** U radu su prikazani rezultati proučavanja nekih agrobioloških i tehnoloških svojstava sorte prokupac u uslovima topličkog rejona. Vinograd je podignut 2010. godine i nalazi se u fazi rastuće rodnosti. Razmak sadnje iznosi 2,4 x 0,8 m. U periodu ispitivanja vladali su povoljni meteorološki uslovi za rastenje i razviće vinove loze. Rezultati ispitivanja ukazuju da u topličkom rejону постоје povoljni agroekološki uslovi za gajenje sorte prokupac i postizanje karakterističnog kvaliteta grožđa i vina.

**Ključne reči:** fenološka osmatranja, prinos i kvalitet grožđa

### Uvod

Prokupac je domaća sorta vinove loze. U Srbiji zauzima značajne površine među sortama za obojena vina.

Sreće se pod sinonimima: kameničarka, crnina, prokupka, rskavac, crnka, niševka, zarčin, skopsko crno i dr. Namenjena je proizvodnji kvalitetnih i običnih vina, a koristi se i za potrošnju u svežem stanju.

Cilj našeg rada je bio da proverimo važnija agrobiološka i tehnološka svojstva sorte prokupac u uslovima topličkog rejona.

### Materijal i metode rada

Vinograd je podignut 2010. godine na potesu Donje Jošanice, gde se i nalazi poznata vinarija „DOJA“. Ukupna površina vinograda iznosi 20,683,3 ha. Zastupljene su sledeće sorte: kaberne sovinjon, kaberne frank, merlo, prokupac, širaz, burgundac sivi, šardone, tamjanika bela. Površina pod sortom prokupac iznosi 7,00 ha. Razmak sađenja iznosi 2,4 x 0,8 m, a broj čokota po ha iznosi 5,208.

Uzgajni oblik čokota je roajatska kordunica na kojoj se primenjuje kratka rezidba. Za osmatranje je odabранo 10 čokota približno jednakog vegetativnog potencijala.

Na svakom čokotu je pri rezidbi ostavljano po 4 do 5 kondira sa po 2 okca, što ukupno iznosi 8-10 okaca po čokotu ili 5,20 - 6,25 okaca po m<sup>2</sup>.

### Rezultati istraživanja i diskusija

U periodu istraživanja srednja godišnja temperatura vazduha iznosila je 11,05<sup>0</sup>C, a srednja vegetaciona 17,7<sup>0</sup>C (Tabela 1.).

<sup>1</sup>Univerzitet u Prištini, Poljoprivredni fakultet Priština (Lešak), Kopaonička bb, 38219 Lešak, Srbija (garicm@sbb.rs)

<sup>2</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija

<sup>3</sup>Centar za vinogradarstvo i vinarstvo, Kolonija EI 6, 18105 Niš

Tabela 1. Vrednosti osnovnih klimatskih elemenata (2015-2016)

Table 1. Basic climate indicator values

Red br. No	Pokazatelj-Indicator	Godina -Year		
		2015	2016	Prosek Average
1	Srednja godišnja temperatura vazduha u $^{\circ}\text{C}$	10.4	11.7	11.05
2	Srednja vegetaciona temperatura u $^{\circ}\text{C}$	17.0	18.4	17.70
3	Godišnja količina padavina u mm	548	723	635.50
4	Padavine u vegetaciji u mm	280	370	325

Period vegetacije trajao je u proseku 212 dana. U tom periodu padne oko 325 mm kiše.

Srednje trajanje sunčanog sjaja u periodu vegetacije iznosi oko 1630 h. Bioklimatski indeks ima vrednost 5.20, što se smatra optimalnom vrednošću.

Zemljište na kome je podignut vinograd pripada tipu gajinjače i odlikuje se povoljnim fizičkim i hemijskim osobinama za gajenje vinove loze.

### Fenološka osmatranja

Vreme odvijanja pojedinih fenofaza sorte prokupac u uslovima topičkog vinogradarskog rejona može se sagledati iz podataka prikazanih u tabeli 2 i 2a.

U ovim istraživanjima praćeni su sledeći pokazatelji: fenološka osmatranja, kretanje, razvoj i rodnost okaca i lastara, prinos grožđa po okcu, razvijenom i rodnom lastaru po čokotu i hektaru i kvalitet grožđa. Podaci su statistički obradjeni pomoću analize varianse i LSD testa za ocenu značajnosti ispitivanih razlika.

Vreme odvijanja pojedinih fenofaza sorte prokupac u uslovima topičkog vinogradarskog rejona može se sagledati iz podataka prikazanih u tabelama 2 i 2a.

Tabela 2. Fenofaze razvoja sorte prokupac

Table 2. Phenophases of development of the vine cultivar Prokupac

Godina Year	Bubrenje okaca <i>Begining of bud burst</i>	Cvetanje <i>Begining of flowering</i>	Šarak <i>Verasin</i>	Puna zrelost <i>Full maturity</i>
2015	17. IV	12. VI	12. VIII	15. X
2016	15. IV	10. VI	15.VIII	17.X
Prosek <i>Average</i>	16. IV	11.VI	13. VIII	16.X
Najranije <i>Earliest</i>	55. IV	10. VI	12.VIII	15.IX
Najkasnije <i>Latest</i>	17. IV	12. VI	15. VIII	17.IX

Bubrenje okaca se najranije odvijalo u 2016. godini (15 aprila). Cvetanje je nastupilo u proseku (11.juna). Slične vrednosti navodi i Zirojević za uslove niškog rejona.

Tabela 2a Deskriptori O.I.V. za pojedine fenofaze  
*Table 2a. Description O.I.V. for each phenophases*

Code O.I.V.	Elementi opisa Elements of the description	Ocena Evaluation
301	Otvaranje okaca bubrenje	5
302	Cvetanje	5
303	Početak zrelosti-šarak	7
304	Berba grožđa	7

Šarak je u proseku nastupio (13.avgusta), a puna zrelost grožđa je registrovana u proseku (16.oktobra), što bi odgovaralo IV epohi zrenja (Avramov 1991). U Tabeli 2a prikazani su i deskriptori O.I.V-a za pojedine fenofaze.

### Rodnost okaca i lastara

Rodnost sorte prokupac može se oceniti iz podataka prikazanih u Tabeli 3.

Tabela 3.Osnovni pokazatelji rodnosti sorte prokupac  
*Table 3.Basic production parametres of the vine cultivar Prokupac*

Redni broj <i>No</i>	Pokazatelj <i>Indicator</i>	Godina-Year		Prosek <i>Average</i>	LSD <i>LSD</i>	
		2015	2016		0.05	0.01
1.	Broj okaca po čokotu	10.00	10.00	10.00		
2.	Broj razvijenih lastara	9.00	8.00	8.50	0.62	0.76
3.	Procenat razvijenih latara	90.00	80.0	85.00		
4.	Broj rodnih lastara	8.00	7.00	7.50	0.70	1.05
5.	Procenat rodnih lastara	88.88	87.50	88.19		
6.	Broj grozdova po okcu	1.40	1.20	1.30	0.04	0.07
7.	Broj grozdova po razv. lastaru	1.55	1.50	1.52	0.07	0.10
8.	Broj grozdova po rod.lastaru	1.75	1.71	1.73	0.03	0.12
9.	Broj grozdova po čokotu	14.00	12.00	13.00	2.20	2.40
10.	Masa grozda u g	175.00	231.00	203.00	51.47	65.60

Pri rezidbi je na čokotu ostavljano 8-10 okaca, 4-5 kondira od po 2 okca, što po m<sup>2</sup> vinograda iznosi 5.20 - 6.25. Procenat razvijenih i rodnih lastara bio je visok jer je u proseku samo 10-12 % okaca ostajalo neaktivirano. Između broja ostavljenih okaca po čokotu i broja razvijenih lastara ispoljena je pozitivna zavisnost.

Broj grozdova po ostavljenom okcu, razvijenom i rodnom lastaru varirao je u zavisnosti od vremenskih uslova i položaja okaca na lastaru. Na osnovu broja grozdova po ostavljenom okcu, razvijenom i rodnom lastaru može se konstatovati da je sorta prokupac ispoljila dobru rodnost u ispitivanim godinama. Razlike u broju grozdova između pojedinih godina statistički nisu dokazane kao značajne i vrlo značajne.

Masa grozda je varirala u zavisnosti od vremenskih uslova u pojedinim godinama i u proseku je iznosila (203.00 g). Masa grozda kretala se u granicama vrednosti koje za

ovu sortu navode i mnogi drugi autori: Avramov (1991), Cindrić i sar. (2000), Marković i sar. (2013), Žunić i sar. (2017).

### Prinos i kvalitet grožđa

Na osnovu analize podataka iznetih u tabeli 4. može se konstatovati sledeće. Ostvareni prinos grožđa po ostavljenom okcu i razvijenom lastaru ukazuje na njihovu veliku produktivnost. Ona je rezultat broja grozdova i njihove mase.

Tabela 4. Osnovni elementi prinosa i kvaliteta grožđa sorte prokupac  
*Table 4. Basic elements of grape yield and quality of vine cultivar Prokupac*

Red. br. <i>No</i>	Pokazatelj <i>Indicator</i>	Godina-Year		Prosek <i>Avera ge</i>	LSD	
		2015	2016		0.05	0.01
1	Prinos grožđa po okcu u g	245.00	277.20	261.10	10.13	11.60
2	Prin. grožđa po razvijenom lastaru u g	272.22	346.50	309.36	10.12	11.75
3	Prinos grožđa po rodnom lastaru	306.25	396.00	351.12	11.21	13.34
4	Prinos grožđa po čokotu u kg	2.450	2.772	2.611	1.29	1.92
5	Sadržaj šećera u širi u %	23.80	22.50	22.05	4.03	3.66
6	Sadržaj ukupnih kiselina g/l	7.70	6.84	7.27	0.84	0.90

Prinos grožđa po čokotu i hektaru bio je u zavisnosti od broja grozdova po razvijenom i rodnom lastaru, kao i od ostvarene krupnoće i mase grozdova.

Najveći prinos grožđa po čokotu ostvaren je u 2016. godini (2.772 kg), a nešto manji u 2015. godini (2.450 kg). Prinos grožđa po hektaru u proseku je iznosio 13.598 kg. Razlike u prinosu grožđa po čokotu i hektaru potvrđene su kao statistički značajne i veoma značajne.

Na sadržaj šećera najveći uticaj ispoljili su vremenski uslovi u godinama ispitivanja. Najveći sadržaj šećera je postignut u 2015. godini 23.80 %, a nešto manji u 2016. godini 22.50 %. Sadržaj ukupnih kiselina u širi bio je u zavisnosti od sadržaja šećera i u proseku je iznosio 7.27 g/l. Slične vrednosti za ovu sortu navode i Avramov (1991), Cindrić i sar. (2000), Zirojević (1974), Žunić i sar. (2017).

### Zaključak

Na osnovu analize rezultata ispitivanja važnijih agrobioloških i tehnoloških svojstava sorte prokupac može se izvesti sledeći zaključak:

U ispitivanom periodu u topičkom rejonu vladali su povoljni uslovi za normalan razvoj sorte prokupac.

Rodnost, prinos, kvalitet grožđa i vegetativni potencijal sorte prokupac značajno su varirali pod uticajem vremenskih uslova. Razlike u vrednostima pojedinih ispitivanih pokazatelja potvrđene su kao statistički značajne i veoma značajne.

Broj razvijenih i rodnih lastara na čokotu je bio u direktnoj pozitivnoj zavisnosti od broja ostavljenih okaca pri rezidbi. Od ukupnog broja ostavljenih okaca pri rezidbi 80 - 90% okaca razvijalo se u nove lastare.

Kvalitet grožđa ocenjen na osnovu sadržaja šećera i ukupnih kiselina u širi kao i zdravstvenog stanja grožđa može se oceniti kao veoma dobar.

Na osnovu rezultata ispitivanja o važnijim agrobiološkim i tehnološkim svojstvima sorte prokupac, može se konstatovati da se sorta prokupac može sa uspehom gajiti i širiti na većim površinama u topičkom rejonu.

### Literatura

- Avramov, L. (1988): Savremeno gajenje vinove loze. Nolit, Beograd.
- Avramov, L. (1991): Vinogradarstvo. Nolit, Beograd.
- Avramov, L. (1991): Vinogradarstvo. Nolit. Beograd.
- Cindrić, P., Korać Nada., Medić Mira.(1992):Ispitivanje proizvodnih i tehnoloških osobina crnih vinskih sorti. VI vinogradarsko-vinarski kongres Jugoslavije, Zbornik radova str.301-317., Beograd.
- Cindrić, P., Korać Nada.,Kovač, V.(2000): Sorte vinove loze. Promotej. Novi Sad.
- Marković, N., Atanacković, Z. (2013): Uvometric and technological clonal variation of Serbian black wine cultivar prokupac. 36 th World Congres of vine and wine: "Vine and Wine between Tradition and Modernity" Bucharest-Romania. Proceedings of th 36 th Word Congres of vine and wine. ISBN: 979-10-91799-16-4.
- Zirojević, D. (1974): Poznavanje sorata vinove loze I. Beograd.
- Žunić, D., Garić, M. (2017): Posebno vinogradarstvo. Beograd.

## AGROBIOLOGICAL AND TECHNOLOGICAL PROPERTIES OF VARIETY PROKUPAC IN THE TOPLIC REGION

*Mladjan Garić<sup>1</sup>, Milos Ristić<sup>2</sup>, Vera Vukosavljević<sup>3</sup>*

### Abstract

The paper presents the results of the study of some agrobiological and technological properties of the Prokupac variety in the conditions of the thermal region.

Vineyard was raised in 2010 and is in the stage of growing fertility. The laying distance is 2.4 x 0.8 m. During the test period, favorable meteorological conditions were in place for the growth and development of vineyards.

The results of the study indicate that in the thermal region there are favorable agroecological conditions for cultivating the Prokupac variety and achieving the characteristic quality of the grapes and wine.

**Key words:** phenological observations, grape yield and quality.

<sup>1</sup> University of Pristina, Faculty of Agriculture, Pristina (Lešak), Kopaonička bb, 38219 Lešak, Serbia (garicm@sbb.rs)

<sup>2</sup> Center for Viticulture and Wine, Kolonija EI 6, 18105 Niš

<sup>3</sup> University of Kragujevac, Faculty of Agronomy, Cara Dušana 34, 32000 Čačak, Serbia



## ISPITIVANJE NEKIH SORTI ŠLJIVE IZ INSTITUTA ZA VOĆARSTVO, ČAČAK NA TRI LOKALITETA U REPUBLICI SRBIJI

*Nebojša Milošević, Ivana Glišić, Milena Đorđević, Milan Lukić, Sanja Radičević*

**Izvod:** Cilj ovog rada je bio da se ispituju proizvodne osobine dve novije sorte šljive ‘Nada’ i ‘Krina’, stvorene u Institutu za voćarstvo, Čačak i standardne sorte ‘Čačanska rodna’, gajenih na tri lokaliteta u Čačanskom i Valjevskom kraju, kao veoma značajnim regionima za proizvodnju šljive u Republici Srbiji. Ispitivane su najznačajnije fenološke osobine, morfometrijske i hemijske osobine ploda, bujnost i prinos. Sve ispitivane sorte, na sva tri lokaliteta cvetale su u približno slično vreme. Sorta ‘Nada’ imala je najveću masu ploda i koštice, randman mezokarpa i morfometrijske osobine ploda. Sorta ‘Krina’ je imala najveći sadržaj rastvorljivih suvih materija (RSM), ukupnih i invertnih šećera, kao i najveću pH vrednost soka ploda, dok je kod sorte ‘Čačanska rodna’ utvrđen najveći sadržaj ukupnih kiselina. Takođe, kod ove sorte je utvrđen i najveći prinos, bujnost i koeficijent rodnosti.

**Ključne reči:** šljiva, sorta, lokalitet, fenološke i proizvodne osobine, prinos.

### Uvod

Stvaranje novih sorti šljive boljih proizvodnih osobina, krupnog i kvalitetnog ploda, tolerantnih/otpornih na prouzrokovala ekonomski najznačajnijih bolesti, naročito na virus šarke šljive, predstavlja jedan od najznačajnijih preduslova unapređenja proizvodnje ove vrste voćaka (Milošević et al., 2017a). Nove, kvalitetne sorte u kombinaciji sa odgovarajućom tehnologijom gajenja, garant su visokog i redovnog prinosa, kao i kvaliteta ploda koji zadovoljava vrlo stroge zahteve domaćeg i inostranog tržišta.

Tokom 72 godine postojanja Instituta za voćarstvo, Čačak, planskom hibridizacijom je stvoren veliki broj perspektivnih hibrida šljive, od kojih je do danas priznato 17 novih sorti. Za neke od ovih sorti, kao što su pre svih ‘Čačanska lepotica’ i ‘Čačanska rodna’, nakon 40 godina od njihovog priznavanja, može se reći da predstavljaju okosnicu gajenja šljive u svim zemljama u regionu, ali i u zemljama centralne i zapadne Evrope (Blažek i Pištekova, 2009; Milošević et al., 2017b). Novije sorte, stvorene u poslednjih 15 godina, još uvek nisu u značajnoj meri zaživele u proizvodnim zasadima, ali se sve više gaje i to uglavnom kao dopuna standardnog sortimenta. Da bi se stekao pravi uvid, da li i u kojoj meri nove sorte mogu uz adekvatnu primenu agro- i pomotehničih mera da u potpunosti ostvare svoj genetički potencijal i da se na osnovu toga nadju u proizvodnim zasadima, neophodno je njihovo testiranje u različitim ekološkim uslovima.

Cilj ovog rada je bio da se ispituju proizvodne osobine dve novije sorte šljive ‘Nada’ i ‘Krina’, stvorene u Institutu za voćarstvo, Čačak i standardne sorte ‘Čačanska

rodna', gajenih na tri lokaliteta u Čačanskom i Valjevskom kraju, kao veoma značajnim regionima za proizvodnju šljive u Republici Srbiji.

### Materijal i metode rada

*Biljni materijal.* U toku 2016. godine, ispitivane su tri sorte šljive 'Nada', 'Krina' i 'Čačanska rodna', stvorene u Institutu za voćarstvo, Čačak, kalemljene na podlogu sejanac džanarike.

*Objekat.* Ispitivanja su obavljena na tri različita lokaliteta u čačanskom ('Ljubić' i 'Bresnica') i valjevskom kraju ('Stapar'). Sva tri zasada su podignuta 2004. godine sa rastojanjem sadnje  $5 \times 4$  m, odnosno 500 stabala po hektaru. Sadnja je obavljena po slučajnom blok sistemu, pri čemu je svaka sorta bila zastupljena sa po pet stabala u dva ponavljanja. Uzgojni oblik je piramidalna kruna. U zasadu su primenjivane standardne mere nege u skladu sa zahtevima šljive kao vrste voćaka, izuzev navodnjavanja.

*Agroekološki uslovi.* Grad Čačak sa okolinom odlikuje umerenokontinentalna klima. Prema podacima Republičkog hidrometeorološkog zavoda za 2016. godinu, prosečna godišnja temperatura je bila  $10,9^{\circ}\text{C}$ , prosečna tempeatura za period vegetacije (aprili–oktobar)  $16,6^{\circ}\text{C}$ , prosečna godišnja suma padavina 695,2 mm, a prosečna suma padavina za period vegetacije 502,8 mm. Zemljište na lokalitetima 'Ljubić' i 'Bresnica' na kojima su zasnovani zasadi pripada tipu smonice (USDA Soil Taxonomy, 1999).

Grad Valjevo sa okolinom odlikuje umerenokontinentalna klima. Prema podacima Republičkog hidrometeorološkog zavoda za 2016. godinu, prosečna godišnja temperatura je bila  $12,5^{\circ}\text{C}$ , prosečna tempeatura za period vegetacije (aprili–oktobar)  $17,8^{\circ}\text{C}$ , prosečna godišnja suma padavina 980,4 mm, a prosečna suma padavina za period vegetacije 625,8 mm. Zemljište na lokalitetu 'Stapar' na kom je zasnovan zasad pripada tipu smonice (USDA Soil Taxonomy, 1999).

*Fenološke osobine.* Fenofaze cvetanja su praćene prema preporuci međunarodne radne grupe za polinaciju (Wertheim, 1996). Beležen je datum početka cvetanja (otvoreno 10% cvetova), punog cvetanja (otvoreno 80% cvetova) i precvetavanja (otpalo preko 90% kruničnih listića). Plodovi su ubrani kada su dostigli optimalnu boju i najbolji kvalitet za upotrebu u svežem stanju (Funt, 1998).

*Bujnost.* Bujnost je izražena preko površine poprečnog preseka debla i određena je na kraju vegetacije. Na 10 cm iznad mesta kalemljenja meren je prečnik debla ( $R$ ) uz pomoć kljunastog merila (Inox 1/20 mm, sa tačnošću  $\pm 0,01$  mm) izračunata je površina poprečnog preseka debla uz pomoć obrasca  $(R/2)^2\pi$ .

*Rodnost.* Ispitivanje rodnosti je vršeno određivanjem prinosa po stablu (kg) i hektaru (t) i izračunavanjem koeficijenta rodnosti ( $\text{kg cm}^{-2}$ ). Prinos po stablu je meren uz pomoć elektronske vase ACS System Electronic Scale (Zhejiang, China). Koeficijent rodnosti je izračunat kao količnik prinosa po stablu i površine poprečnog preseka debla.

*Morfometrijske osobine ploda.* Masa 25 plodova i koštica u dva ponavljanja merena je pomoću tehničke vase Ohaus Adventurer (Persippany, NJ, USA). Dimenzije ploda su utvrđene merenjem digitalnim kljunastim merilom Starret, 727 series (Athol, NE, USA).

*Hemiske osobine ploda.* Sadržaj RSM je utvrđen uz pomoć ručnog refraktometra Milwaukee MR 200 (ATC, Rocky Mountain, NC, USA). Sadržaj ukupnih i invertnih

šećera je utvrđen po metodi Luff-Schorl (Schneider, 1979) dok je sadržaj saharoze utvrđen po formuli: sahariza = (ukupni šećeri – invertni šećeri) × 0.95. Vrednosti su izražene u % od sveže materije, osim vrednosti za sadržaj rastvorljivih suvih materija koje su predstavljene u °Brix. Sadržaj ukupnih kiselina, izraženih kao jabučna kiselina je utvrđen neutralizacijom soka ploda sa 0.1N NaOH. Kiselost soka (pH vrednost) je utvrđena pehametrom Cyber Scan 510 (Nijkerk, Netherlands).

*Statistička obrada podataka.* Dobijeni rezultati su statistički obrađeni upotrebom Fišerovog modela analize varijanse (ANOVA) dvofaktorijskog ogleda za prag značajnosti  $P \leq 0.05$ . U slučaju kada je F test bio značajan, testiranje razlika aritmetičkih sredina je obavljeno testom najmanje značajnih razlika (LSD test) za prag značajnosti  $P \leq 0.05$ . U radu su prikazane prosečne vrednosti ispitivanih parametara, kao i standardna greška aritmetičke sredine.

### Rezultati istraživanja i diskusija

Fenofaza cvetanja i vreme sazrevanja ispitivanih sorti šljive na tri lokaliteta u Republici Srbiji prikazani su u Tabeli 1. Sve tri ispitivane sorte ('Nada', 'Krina' i 'Čačanska rodna') su imale približno vreme cvetanja na sva tri lokaliteta ('Ljubić', 'Stapar' i 'Bresnica').

Tabela 1. Fenofaza cvetanja i sazrevanja plodova ispitivanih sorti šljive na tri lokaliteta u 2016. godini.

*Table 1. Flowering and ripening phenophase of studied plum cultivars on three localities in 2016 year.*

Sorta <i>Cultivar</i>	Lokalitet <i>Locality</i>	Vreme cvetanja <i>Blooming time</i>			Vreme sazrevanja <i>Ripening time</i>
		Početak <i>Onset</i>	Puno <i>Full</i>	Kraj <i>End</i>	
'Nada'	'Ljubić'	14.04.	17.04.	23.04.	16.08.
	'Stapar'	16.04.	20.04.	26.04.	18.08.
	'Bresnica'	17.04.	21.04.	27.04.	20.08.
'Krina'	'Ljubić'	15.04.	18.04.	22.04.	26.08.
	'Stapar'	17.04.	20.04.	24.04.	26.08.
	'Bresnica'	18.04.	20.04.	25.04.	29.08.
'Čačanska rodna'	'Ljubić'	15.04.	19.04.	24.04.	24.08.
	'Stapar'	16.04.	19.04.	24.04.	24.08.
	'Bresnica'	18.04.	21.04.	26.04.	27.08.

Najraniji početak cvetanja je zabeležen kod sorte 'Nada' na lokalitetu 'Ljubić', dok je najkasniji početak cvetanja zabeležen kod sorte 'Krina' i 'Čačanska rodna' na lokalitetu 'Bresnica'.

Puno cvetanje je ustanovljeno nakon 3–4 dana od početka cvetanja kod svih ispitivanih sorti, dok je kraj cvetanja ustanovljen nakon 9–10 dana od početka cvetanja

kod sve tri sorte na sva tri lokaliteta. Fenofaza cvetanja je najranije počela i završila se na lokalitetu 'Ljubić', a najkasnije na lokalitetu 'Bresnica'. Slično vreme cvetanja ovih sorti u svojim radovima utvrdili su i Glišić et al. (2016) i Milošević et al. (2017b), dok su Milošević et al. (2012) i Milošević et al. (2018) utvrdili približno vreme cvetanja i drugih sorti u sličnim ekološkim uslovima. Vreme cvetanja ima izuzetno veliki značaj u pogledu izbegavanja pojave poznih prolećnih mrazeva. Kod sve tri ispitivane sorte, vreme sazrevanja ploda je bilo u periodu od 16. do 29. avgusta. Najranije vreme sazrevanja ploda na sva tri lokaliteta imala je sorta 'Nada', a najpoznije sorta 'Krina'. Najranije sazrevanje ploda kod svih sorti nastupilo je na lokalitetu 'Ljubić', a najkasnije na lokalitetu 'Bresnica'.

Tabela 2. Bujnost, prinos i koeficijent rodnosti ispitivanih sorti šljive na tri lokaliteta u 2016. godini.

Table 2. *Tree vigor, yield per tree and yield efficiency of studied plum cultivars on three localities in 2016 year.*

Sorta <i>Cultivar</i>	Lokalitet <i>Locality</i>	Prinos po stablu <i>Yield per tree</i> (kg)	Prinos po hektaru <i>Yield per hectare</i> (t)	PPPD <i>TCSA</i> (cm <sup>2</sup> )	Koeficijent rodnosti <i>Yield efficiency</i>
'Nada'	'Ljubić'	21.81±0.29 a	10.90±0.14 a	118.30±6.66 a	0.19±0.01 a
	'Stapar'	23.33±0.44 a	11.66±0.22 a	111.56±8.74 a	0.24±0.01 a
	'Bresnica'	20.68±0.35 a	10.34±0.18 a	107.98±2.74 a	0.19±0.01 a
Prosek		21.94±0.36 AB	10.97±0.18 AB	112.61±6.05 AB	0.20±0.01 B
'Krina'	'Ljubić'	22.57±0.35 a	11.29±0.17 a	96.04±5.43 a	0.24±0.02 a
	'Stapar'	24.26±0.47 a	12.13±0.24 a	111.39±4.68 a	0.22±0.01 a
	'Bresnica'	20.51±0.27 a	10.25±0.14 a	86.56±6.51 a	0.24±0.02 a
Prosek		20.36±0.31 B	11.22±0.18 B	97.99±5.54 B	0.24±0.01 B
'Č. rodna'	'Ljubić'	31.98±1.30 a	15.99±0.65 a	123.84±9.69 a	0.27±0.02 a
	'Stapar'	33.92±0.83 a	16.96±0.41 a	118.98±4.75 a	0.29±0.01 a
	'Bresnica'	33.82±1.43 a	16.91±0.71 a	119.34±9.93 a	0.30±0.01 a
Prosek		23.61±0.29 A	16.62±0.59 A	120.72±8.12 A	0.29±0.02 A

PPPD – površina poprečnog preseka debla; TCSA – Trunk cross sectional area

Različita mala slova u kolonama označavaju značajne razlike za  $P \leq 0,05$  primenom LSD testa.

The different lower-case letters assigned to columns show significant differences for  $P \leq 0.05$  after applying LSD test.

Površina poprečnog preseka debla predstavlja jedan od najznačajnijih indikatora bujnosti stabla. Podaci prikazani u Tabeli 2 pokazuju da je razlika u bujnosti između sorti bila značajna, dok razlike u bujnosti iste sorte na različitim lokalitetima nisu bile značajne. Takođe, između sorti su postojale značajne razlike u prinosu po stablu i jedinici površine, kao i koeficijentu rodnosti, dok razlike između različitih lokaliteta nisu bile značajne (Tabela 2).

Najveću površinu poprečnog preseka debla, a samim tim i najveću bujnost stabla je imala sorta 'Čačanska rodna'. Ova sorta je imala i najveći prinos po stablu i hektaru (23.61±0.29 kg, odnosno 16.62±0.59 t). Iako su bujnost i prinos, uglavnom u negativnoj korelaciji, bez obzira na najveću utvrđenu bujnost stabla, sorta 'Čačanska rodna' je

imala i najveći koeficijent rodnosti ( $0.29 \pm 0.02$ ). S druge strane, sorta 'Krina' je imala najmanje vrednosti ovih parametara. Bujnost i prinos, zavise pre svega od genetičke predispozicije sorte (Nenadović-Mratinić et al., 2007) što su potvrđili i rezultati u našem radu, ali u značajnoj meri mogu zavisiti i od podloge (Grzyb i Sitarek, 2006; Stefanova et al., 2010) i primenjene tehnologije gajenja (Vitanova et al., 2007). Primjenjene mere nege zasada, takođe mogu umnogome uticati na ove parametre pa se na taj način može objasniti nepostojanje razlika između ovih parametara na različitim lokalitetima, jer su uglavnom primenjivane slične agro i pomotehničke mere. S druge strane, rezultati do kojih su došli Glišić et al. (2016), ukazuju na znatno veći prinos ovih sorti u sličnim uslovima što se može pripisati drugačijoj tehnologiji gajenja, primjenjenim merama nege, ali i starosti zasada.

Tabela 3. Masa ploda i koštice i randman mazokarpa ploda ispitivanih sorti šljive na tri lokaliteta u 2016. godini.

*Table 3. Fruit and stone weight and flesh percentage of studied plum cultivars on three localities in 2016 year.*

Sorta <i>Cultivar</i>	Lokalitet <i>Locality</i>	Masa ploda <i>Fruit weight</i> (g)	Masa koštice <i>Stone weight</i> (g)	Randman mezokarpa <i>Flesh percentage</i> (%)
'Nada'	'Ljubić'	$51.14 \pm 0.50$ a	$1.72 \pm 0.06$ a	$96.63 \pm 0.13$ a
	'Stapar'	$42.02 \pm 0.59$ b	$1.65 \pm 0.03$ b	$96.07 \pm 0.08$ c
	'Bresnica'	$40.93 \pm 1.00$ b	$1.53 \pm 0.07$ c	$96.27 \pm 0.15$ b
Prosek		$44.69 \pm 0.70$ A	$1.63 \pm 0.05$ A	$96.32 \pm 0.12$ A
'Krina'	'Ljubić'	$27.50 \pm 0.23$ b	$1.35 \pm 0.03$ b	$95.09 \pm 0.08$ a
	'Stapar'	$29.22 \pm 0.23$ a	$1.50 \pm 0.01$ b	$94.87 \pm 0.07$ b
	'Bresnica'	$26.65 \pm 0.21$ b	$1.54 \pm 0.01$ a	$94.23 \pm 0.03$ c
Prosek		$27.79 \pm 0.23$ C	$1.46 \pm 0.02$ B	$94.73 \pm 0.06$ C
'Č.rodna'	'Ljubić'	$34.31 \pm 1.03$ a	$1.32 \pm 0.03$ a	$96.14 \pm 0.07$ a
	'Stapar'	$30.09 \pm 0.68$ c	$1.34 \pm 0.02$ a	$95.51 \pm 0.13$ c
	'Bresnica'	$32.57 \pm 0.80$ b	$1.34 \pm 0.03$ a	$95.87 \pm 0.14$ b
Prosek		$32.33 \pm 0.84$ B	$1.33 \pm 0.03$ C	$95.84 \pm 0.11$ B

Različita mala slova u kolonama označavaju značajne razlike za  $P \leq 0.05$  primenom LSD testa.

*The different lower-case letters assigned to columns show significant differences for  $P \leq 0.05$  after applying LSD test.*

Masa ploda i koštice, a samim tim i randman mezokarpa ploda zavise na prvom mestu od sorte. U našem radu, ove vrednosti su bile najveće kod sorte 'Nada' ( $44.69 \pm 0.70$  g,  $1.63 \pm 0.05$  g,  $96.32 \pm 0.12$  %, resp.) (Tabela 3). Ova sorta, kao i sorta 'Čačanska rodna' su imale najveću masu ploda na lokalitetu 'Ljubić' ( $51.14 \pm 0.50$  g, odnosno  $34.31 \pm 1.03$  g), dok je sorta 'Krina' najveću masu ploda imala na lokalitetu 'Stapar' ( $29.22 \pm 0.23$  g). Sličnu masu ploda kod istih sorti u svojim radovima utvrdili su i Milošević et al., 2011; Glišić et al., 2016 i Milošević et al., 2017b, što potvrđuje činjenicu da veliki uticaj na ovu osobinu ima genetička predispozicija sorte (Nergiz i Yıldız, 1997). Sve tri ispitivane sorte se mogu klasifikovati kao sorte srednje krupnog ploda (Blažek i Pištekova, 2009).

Tabela 4. Linearne dimenzije (visina, širina i debljina) ploda ispitivanih sorti šljive na tri lokaliteta u 2016. godini.

*Table 4. Linear fruit dimensions (height, width and thickness) of studied plum cultivars on three localities in 2016 year.*

Sorta <i>Cultivar</i>	Lokalitet <i>Locality</i>	Visina ploda (mm)	Širina ploda (mm)	Debljina ploda (mm)
'Nada'	'Ljubić'	52.44±0.30 a	42.29±0.37 a	39.75±0.48 a
	'Stapar'	48.44±0.21 b	38.18±0.24 b	39.97±0.46 a
	'Bresnica'	47.94±0.37 b	36.64±0.65 b	39.18±0.44 a
Prosek		44.69±0.70 A	44.69±0.70 A	49.47±0.29 A
'Krina'	'Ljubić'	41.25±0.17 a	32.25±0.42 a	29.77±0.09 a
	'Stapar'	39.85±0.20 b	29.77±0.14 b	29.85±0.39 a
	'Bresnica'	39.65±0.28 b	30.97±0.44 ab	30.50±0.19 a
Prosek		27.79±0.23 C	27.79±0.23 C	40.25±0.22 B
'Č.rodna'	'Ljubić'	46.08±0.41 a	35.81±0.23 a	36.81±0.15 a
	'Stapar'	44.79±0.64 b	32.53±0.88 b	34.95±0.27 b
	'Bresnica'	43.83±0.67 b	33.44±0.80 b	35.22±0.13 b
Prosek		32.33±0.84 B	32.33±0.84 B	44.90±0.57 C

Različita mala slova u kolonama označavaju značajne razlike za  $P \leq 0,05$  primenom LSD testa.

*The different lower-case letters assigned to columns show significant differences for  $P \leq 0.05$  after applying LSD test.*

Dimenzije ploda imaju veliki značaj u opisivanju i determinaciji sorti i njihovom uvođenju u pojedine registre (Beyer et al., 2002), kao i pri određivanju veličine otvora na mašinama za klasifikaciju i mašinsku berbu plodova (Jannatizadeh et al., 2008). Među ispitivanim sortama, najveću visinu, širinu i debljinu ploda imala je sorta 'Nada' (49.47±0.29 mm, 40.06±0.37 mm, 38.19±0.46 mm resp.), dok je najmanju visinu imala sorta 'Čačanska rodna' (44.90±0.57 mm), a širinu (35.81±0.23 mm) i debljinu (36.81±0.15 mm) sorta 'Krina' (Tabela 4). Generalno, najveće vrednosti ovih parametara kod sve tri ispitivane sorte utvrđene su na lokalitetu 'Ljubić'. Do sličnih rezultata za iste sorte u sličnim agroekološkim uslovima došli su i Glišić et al., 2016 i Milošević et al., 2017b, što ukazuje da je i na ove osobine ključni uticaj imala sorta.

U Tabeli 5 prikazani su podaci koji se odnose na sadržaj rastvorljivih suvih materija, ukupnih i invertnih šećera u plodu ispitivanih sorti šljive na tri lokaliteta. Najveće prosečne vrednosti svih ovih osobina imala je sorta 'Krina' (20.68±0.22°Brix, 13.44±0.10%, 6.88±0.11%, resp.), dok je sorta 'Nada' imala najmanji sadržaj rastvorljivih suvih materija (17.43±0.36°Brix) i ukupnih šećera (10.95±0.07%), a sorta 'Čačanska rodna' najmanji sadržaj invertnih šećera (6.18±0.18%). Najveći sadržaj rastvorljivih suvih materija i invertnih šećera utvrđen je kod sorte 'Krina' na lokalitetu 'Ljubić' (22.20±0.16°Brix, odnosno 7.17±0.09%), dok je najvići sadržaj ukupnih šećera utvrđen kod sorte 'Nada' na lokalitetu 'Bresnica' (11.47±0.09%).

Tabela 5. Sadržaj rastvorljivih suvih materija, ukupnih i invertnih šećera u plodu ispitivanih sorti šljive na tri lokaliteta u 2016. godini.  
*Table 5. Soluble solids content, total and invert sugars in fruit of studied plum cultivars on three localities in 2016 year.*

Sorta <i>Cultivar</i>	Lokalitet <i>Locality</i>	RSM <i>Soluble solids</i> (°Brix)	Ukupni šećeri <i>Total sugars</i> (%)	Invertni šećeri <i>Invert sugars</i> (%)
'Nada'	'Ljubić'	16.35±0.20 b	10.89±0.02 b	7.25±0.07 a
	'Stapar'	18.68±0.20 a	10.47±0.10 c	6.78±0.04 ab
	'Bresnica'	17.25±0.67 b	11.47±0.09 a	6.42±0.10 b
Prosek		17.43±0.36 B	10.95±0.07 C	6.82±0.07 A
'Krina'	'Ljubić'	22.20±0.16 a	13.28±0.12 b	7.17±0.09 a
	'Stapar'	19.35±0.20 c	13.28±0.13 b	6.54±0.06 b
	'Bresnica'	20.50±0.30 b	13.76±0.06 a	6.92±0.19 ab
Prosek		20.68±0.22 A	13.44±0.10 A	6.88±0.11 A
'Č.rodna'	'Ljubić'	17.71±0.17 a	12.82±0.11 a	5.78±0.23 a
	'Stapar'	17.86±0.28 a	12.23±0.27 b	6.07±0.18 a
	'Bresnica'	18.22±0.20 a	12.40±0.39 b	6.69±0.12 a
Prosek		17.93±0.22 B	12.49±0.26 B	6.18±0.18 B

Različita mala slova u kolonama označavaju značajne razlike za  $P \leq 0,05$  primenom LSD testa.

*The different lower-case letters assigned to columns show significant differences for  $P \leq 0.05$  after applying LSD test.*

Podaci u Tabeli 6. pokazuju da su se vrednosti koje se odnose na sadržaj saharoze i ukupnih kiselina, kao i pH vrednost soka ploda značajno razlikovali kod ispitivanih sorti šljive na tri lokaliteta. Prosečan sadržaj saharoze je bio najveći u plodu sorte 'Nada' (3.92±0.10%), sadržaj ukupnih kiselina najveći u plodu sorte 'Čačanska rodna' (0.72±0.01%), a pH vrednost soka je bila najveća u plodu sorte 'Krina' (3.97±0.03%). Kod sorte 'Čačanska rodna' utvrđen je najmanji prosečan sadržaj saharoze (2.91±0.07%) i najmanja pH vrednost soka ploda (3.65±0.06), dok je najmanji sadržaj ukupnih kiselina utvrđen kod sorte 'Nada' (0.36±0.00%). Kod sorte 'Nada' na lokalitetu 'Bresnica', ustanovljen je najveći sadržaj saharoze, dok je kod sorte 'Čačanska rodna' na lokalitetu 'Ljubić' ustanovljen najveći sadržaj ukupnih kiselina, a kod sorte 'Krina' na istom ovom lokalitetu, najveća pH vrednost soka ploda. Rezultati koji se odnose na hemijske osobine ploda dobijeni u ovom radu su u većoj ili manjoj meri u skladu sa rezultatima koje su za iste sorte dobili Glišić et al., 2016 i Milošević et al., 2017b, odnosno Nenadović-Mratinović et al., 2007 za neke druge sorte, a što se može objasniti sličnim agroekološkim uslovima, merama nege, podlogom i stepenom zrelosti u vreme berbe. Stepen zrelosti ploda prilikom berbe je najznačajniji činilac koji utiče na sadržaj RSM i ukupnih kiselina, čiji odnos predstavlja vrlo bitan faktor pri izboru neke sorte od strane potrošača. Sosna (2010) je utvrdio da sorta šljive ima značajan uticaj na sadržaj RSM i ukupnih i invertnih šećera što su potvrdili i naši rezultati, ali značajan uticaj na ove parametre mogu imati i podloga i klimatski činiovi (Hajagos et al., 2012).

Tabela 6. Sadržaj saharoze, ukupnih kiselina i pH vrednost ploda ispitivanih sorti šljive na tri lokaliteta u 2016. godini.

*Table 6. Content of sucrose and total acids and pH value of fruit of studied plum cultivars on three localities in 2016 year.*

Sorta <i>Cultivar</i>	Lokalitet <i>Locality</i>	Saharozna <i>Sucrose</i> (%)	Ukupne kiseline <i>Total acids</i> (%)	pH vrednost <i>pH value</i>
'Nada'	'Ljubić'	3.45±0.08 b	0.39±0.00 a	3.69±0.07 c
	'Stapar'	3.51±0.13 b	0.38±0.01 a	3.95±0.01 a
	'Bresnica'	4.80±0.08 a	0.33±0.00 b	3.84±0.03 b
Prosek		3.92±0.10 A	0.36±0.00 C	3.83±0.03 B
'Krina'	'Ljubić'	3.32±0.11 a	0.66±0.00 c	4.07±0.02 a
	'Stapar'	3.21±0.14 a	0.74±0.00 a	3.85±0.03 b
	'Bresnica'	3.39±0.17 a	0.69±0.06 b	3.99±0.02 a
Prosek		3.31±0.14 B	0.69±0.02 B	3.97±0.03 A
'Č.rodna'	'Ljubić'	2.72±0.07 a	0.78±0.02 a	3.63±0.04 a
	'Stapar'	2.89±0.05 a	0.71±0.01 b	3.69±0.05 a
	'Bresnica'	3.12±0.09 a	0.69±0.01 c	3.63±0.08 a
Prosek		2.91±0.07 B	0.72±0.01 A	3.65±0.06 C

Različita mala slova u kolonama označavaju značajne razlike za  $P \leq 0,05$  primenom LSD testa.

*The different lower-case letters assigned to columns show significant differences for  $P \leq 0.05$  after applying LSD test.*

## Zaključak

Ispitivane sorte šljive, stvorene u Institutu za voćarstvo, Čačak na tri lokaliteta 'Ljubić', 'Bresnica' i 'Stapar' su u 2016. godini cvetale tokom druge i treće dekade aprila. Sve tri ispitivane sorte su imale umerenu bujnost stable na sva tri lokaliteta. Prinos sorti 'Nada' i 'Krina' je bio neznatno manji od prinosa sorte 'Čačanska rodna' koja važi za izuzetno prinosnu sortu. Sorta 'Nada' je imala najveću masu i dimenzije ploda, na osnovu kojih se ova sorta može svrstati na granicu između sorti srednje krupnog i krupnog ploda. Sorta 'Krina' je imala najveće vrednosti hemijskih karakteristika ploda koje ukazuju na visok kvalitet i mogućnost upotrebe ploda ove sorte za različite vidove potrošnje. Na osnovu dobijenih rezultata u ovom radu, može se reći da sorte 'Nada' i 'Krina' zaslužuju pažnju i mogu biti interesantne za gajenje u komercijalnim zasadima uz dodatna ispitivanja.

## Napomena

Istraživanja u ovom radu su deo projekta TR-31064: „Stvaranje i očuvanje genetičkog potencijala kontinentalnih vrsta voćaka“, koji je finansiran sredstvima Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

## Literatura

- Beyer M., Hahn R., Peschel S., Harz M., Knoche A. (2002). Analyzing fruit shape in sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Scientia Horticulturae*, 96, 139–150.
- Blažek J., Pištěková I. (2009). Preliminary evaluation results of new plum cultivars in a dense planting. *Horticultural Science*, 36, 45–54.
- Funt R.C. (1998). Plums: A guide to selection and use. Ohio State University, Extension Fact Sheet, pp. 1–2.
- Glišić I., Milošević N., Lukić M., Mitrović O., Popović B., Đorđević M. (2016): Phenological and pomological properties of new plum cultivars from Čačak intended for processing. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, 19 (3): 114–130.
- Grzyb S.Z., Sitarek M. (2006). The influence of different rootstocks on the tree growth, yield and fruit quality of plum tree 'Dabrowice Prune' planted in exhausted soil. *Sodinkisté ir Daržininkisté*, 25, 292–295.
- Hajagos A., Spornberger A., Modl P., Vegvari G. (2012). The effect of rootstocks on the development of fruit quality parameters of some sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars, 'Regina' and 'Kordia', during the ripening process. *Acta Universitatis Sapientiae, Agriculture and Environment*, 4, 59–70.
- Jannatizadeh A., Naderi-Boldaji M., Fatahi R., Ghasemi-Varnamkhasti M Tabatabaeefar A., (2008). Some postharvest physical properties of Iranian apricot (*Prunus armeniaca* L.) fruit. *International Agrophysics*. 22 (2), 125–131.
- Milošević T., Milošević N., Glišić I. (2011). Growth, fruit size, yield performance and micronutrient status of plum trees (*Prunus domestica* L.). *Plant, Soil and Environment*, 57 (12), 559–564.
- Milošević N., Mratinić E., Glišić S.I., Milošević T. (2012). Precocity, yield and postharvest physical and chemical properties of plums resistant to sharka grown in Serbian conditions. *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus*, 11, 23–33.
- Milošević N., Glišić I., Paunović A.S., Jevremović D., Milošević T., Glišić I. (2017a): Savremena proizvodnja šljive. Zbornik apstrakata savetovanja „Savremena proizvodnja voća“, Banja Koviljača, 51 (197-198), 15–17.
- Milošević N., Glišić I., Popović B., Mitrović O. (2017b): Productive traits of new cultivar 'Nada' grown on three localities in Serbia. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, 20 (5): 197–207.
- Milošević N., Glišić I., Đorđević M., Lukić M. (2018): Pomološke i proizvodne osobine nekih novijih sorti šljive. *Zbornik radova XXIII savetovanja o biotehnologiji*, Čačak, 1: 154–161.
- Neneadović-Mratinić E., Nikićević N., Milatović D., Đurović D. (2007). Pogodnost autohtonih sorti šljive (*Prunus instititia* L.) za proizvodnju rakije. *Voćarstvo* 41 (160), 159–164.
- Nergiz C., Yıldız H. (1997). Research on chemical composition of some varieties of European plums (*Prunus domestica*) adapted to the Aegean district of Turkey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 2820–2823.

- Schneider F., (1979). Sugar Analysis. Official and Tentative Methods Recommended by the International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis. ICUMSA, Peterborough, 41–73.
- Sosna I., (2010). Effect of pruning time on yielding and fruit quality of several early ripening plum cultivars. *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus* 9 (1), 37–44.
- Stefanova B., Dragoyski K., Dinkova H., Djouvinov V. (2010). The plum cultivar 'Jojo' grown under the conditions of the central Balkan mountains in Bulgaria. *Acta Horticulturae*, 874, 281–288.
- USDA Soil Taxonomy - A basic system of soil classification for making and Interpreting soil surveys, 2<sup>nd</sup> Ed. 1999. Available at: [ftp://ftp-fc.scegov.usda.gov/NSSC/Soil\\_Taxono-my/tax.pdf](ftp://ftp-fc.scegov.usda.gov/NSSC/Soil_Taxono-my/tax.pdf), Natural Resources Conservation Service, n. 436, 1–871. Accessed 4 February 2019.
- Vitanova I., Dinkova H., Dragojski K., Dimkova S. (2007). Biological characteristics of the growth and fruitfulness of the Bulgarian plum cultivar Gabrovska. *Journal of Pomology*, 41, 37–40.
- Wertheim S.J. (1996). Methods for cross pollination and flowering assessment and their interpretation. *Acta Horticulturae*, 423, 237–241.

## EVALUATION OF SOME PLUM CULTIVARS FROM FRUIT RESEARCH INSTITUTE, ČAČAK, AT THREE LOCALITIES IN THE REPUBLIC OF SERBIA

*Nebojša Milošević, Ivana Glišić, Milena Đorđević, Milan Lukić, Sanja Radičević*

**Abstract:** The main objective of this article was to evaluate productive traits of two newly plum cultivars 'Nada' and 'Krina', developed at Fruit Research Institute, Čačak and standard cultivar 'Čačanska Rodna', grown at three localities in Čačak and Valjevo areas, as very important plum production regions in the Republic of Serbia. The most important phenological characteristics, morphometric and chemical properties, tree vigour and yield were evaluated. Flowering time of all examined cultivars, grown at three localities was similar. Cultivar 'Nada' had the largest fruit and stone weight, flesh percentage and morphometric characteristics of the fruit. Cultivar 'Krina' showed the highest soluble solids content, total and invert sugars content, as well as the highest acidity (pH) of fruit, while cultivar 'Čačanska Rodna' had the largest amount of total acids. This cultivar also showed the largest tree vigour, yield and yield efficiency.

**Keywords:** plum, cultivar, locality, phenological and productive traits, yield.

## DOZIRANJE I ODREĐIVANJE NORME UTOŠKA PESTICIDA U VOĆARSTVU

*Siniša Mitrić, Zoran Maličević, Miljan Cvetković*

**Izvod:** Određivanje norme tretiranja i doze pesticida u voćarstvu je složenije u odnosu na ratarstvo, jer imamo stabla različite visine i bujnosti, različitog oblika krošnje, te različite propusnosti (otvorenosti) krošnje, a pošto je u pitanju listopadno drveće imamo i sezonsku varijaciju lisne mase u toku godine. Uniformisanje norme tretiranja (npr. 1000 l/ha) i doze tretiranja (l/ha ili kg/ha) ne mora uvijek obezbijediti adekvatno doziranje sredstva za zaštitu biljaka, a time ostvariti i potrebnu efikasnost pesticida. Stoga je u voćarstvu neophodno da se uvede adaptibilna norma tretiranja i doza tretiranja, na način da će se zapremina radne tečnosti i masa ili zapremina sredstva za zaštitu bilja (doza) prilagođava veličini krošnje i površini lisne mase koja se tretira.

**Ključne reči:** pesticidi, doziranje, norma utroška, voćarstvo

### Uvod

Osnovni uslov za ispoljavanje efikasnosti sredstava za zaštitu biljaka je da normirana masa aktivne materije dospije na jedinicu površine, tj. da se na datu površinu nanese određena doza preparata. Doza (D) predstavlja masu ili zapreminu preparata koja se mora ravnomjerno rasporediti na jedinicu površine. Normirana doza sredstva za zaštitu biljaka se nanosi u obliku radne tečnosti preparata. Radna tečnost predstavlja disperziju preparata u vodi u kojoj se preparat nalazi u odgovarajućoj koncentraciji. Koncentracija preparata u radnoj tečnosti treba da bude takva da se nanošenjem određene zapremine radne tečnosti na određenu površinu postigne potrebna doza preparata.

### Određivanje norme tretiranja ili zapremine radne tečnosti

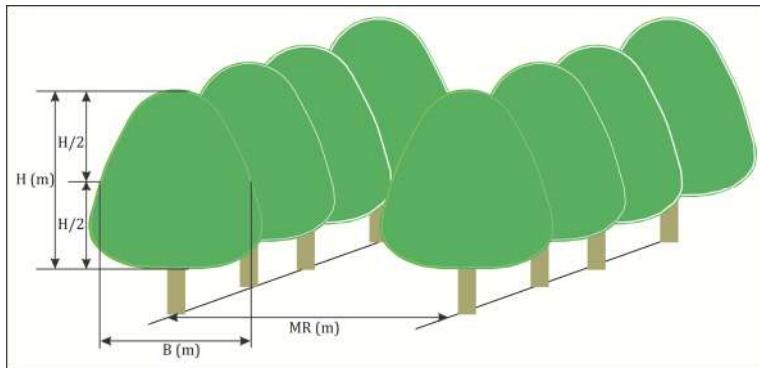
**Određivanje zapremine stabla u redu - TRV.** Norma tretiranja u voćarstvu bi se morala prilagoditi veličini krošnje. Jedan od najpoznatijih metoda određivanja norme tretiranja je preko zapremine stabla u redu (*Tree Row Volume* = TRV). Koncept zapremine stabla u redu su uveli još Byers i sar. (1971, cit. Ruegg i Viret, 1999). Zapremina stabla u redu (TRV) predstavlja zapreminu krošnje po jedinici površine i iskazuje se u (m<sup>3</sup>/ha), a proračun uključuje visinu krošnje - H (m), širinu krošnje - B (m) i međuredni razmak - MR (m), a računa se po obrascu 1.

$$TRV = \frac{H \times B \times 10000}{MR} \quad (\text{m}^3/\text{ha}) \quad (1)$$

*H - visina krošnje (m), B - širina krošnje (m), MR - međuredni razmak (m)*

<sup>1</sup>Univerzitet u Banjoj Luci, Poljoprivredni fakultet Banja Luka, Bulevar Vojvode Petra Bojovića 1A, 78000 Banja Luka, Republika Srpska, Bosna i Hercegovina (sinisa.mitric@agro.unibl.org)

Visina krošnje se mjeri od najnižih listova na stablu, pa do vrha krošnje, dok se širina krošnje obično mjeri na jednoj polovini visine krošnje (slika 1).



Slika 1. Zapremina stabla u redu - TRV  
Figure 1. Volume of the tree in a row - TRV

#### Određivanje norme tretiranja na osnovu TRV

**Određivanje površine lisnog zida krošnje - LWA.** Površina lisnog zida krošnje (*Leaf Wall Areas* - LWA) je veličina koja se mjeri u  $m^2$ , a predstavlja ukupnu površinu koju zauzima krošnja voćke. Ta površina je određena ukupnom dužinom redova na jednom hektaru i dvostrukom visinom krošnje (čokota). Ona se najviše koristi za izražavanje u norme tretiranja u vinogradarstvu. Računa se po obrascu 2, a tipične vrijednosti za LWA su prikazane u tabeli 1:

$$LWA = 2 \times H \times \frac{10000}{MR} \quad (m^2) \quad (2)$$

H - visina krošnje koja se izražava u metrima (m), MR - meduredni razmak (m)

Tabela 1. Standardne vrijednosti za LWA (Izvor: BayerCropScience - Pflanzenschutz Nachrichten, Special Edition, 2007, cit. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 2012)

Table 1. Standard values for LWA (Source: BayerCropScience - Pflanzenschutz Nachrichten, Special Edition, 2007, Bulletin OEPP / EPPO Bulletin, 2012)

	Visina krošnje						
MR (m)	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5
2,5	12000	16000	20000	24000	-	-	-
3,0	10000	13333	16666	20000	23333	-	-
3,5	8571	11428	14286	17143	20000	22857	-
4,0	7500	10000	12500	15000	17500	20000	22500
4,5	6666	8888	11111	13333	15555	17777	20000
5,0	6000	8000	10000	12000	14000	16000	18000

naјčešće tipične vrijednosti, međurednog razmaka, visine krošnje i LWA  
običajene, ali manje česte vrijednosti LWA  
izuzetni slučajevi

### Izračunavanje norme tretiranja

**Metod 1.** Određivanje norme tretiranja korišćenjem vrijednosti TRV i faktora gustine krošnje (FGK) (*Canopy density adjustment*) je definisao Sutton i sar. (1984). Faktor gustine krošnje (FGK) može da varira od 0,7 do 1 i neimenovan je broj. Pored TRV i FGK u proračun se uzima i standardna norma od 1L/7,48 m<sup>3</sup>, koja je definisana tako da je potreban 1 L tečnosti da pokvasti 7,48 m<sup>3</sup> lisne mase, do nivoa oticanja vode sa listova, a neki autori predlažu i vrijednost od 1L/10,67 m<sup>3</sup>. Izračunavanje norme tretiranja preko TRV i faktora gustine krošnje (FGK) obavlja se po obrascu 3. Faktor gustine krošnje (FGK) može da varira od 0,7-1,0 (tabela 2).

$$N = \frac{TRV \times FGK \times 1 L}{7,48 \text{ m}^3} \quad (\text{l/ha}) \quad (3)$$

TRV - zapremina stabla u redu (m<sup>3</sup>/ha), FGK - faktor gustine krošnje

Tabela 2: Vrijednosti faktora gustine krošnje zavisno od karakteristika stabla (Sutton i Unrath, 1984)

Table 2: Values of canopy density factors depending on the characteristics of the tree (Sutton and Unrath, 1984)

Faktor gustine krošnje (FGK)	Karakteristike krošnje stabla
0,70	Stablo ekstremno otvoreno. Lagano prodiranje unutar stabla.
0,75	Stablo vrlo otvoreno. Lagano prodiranje unutar stabla.
0,80	Stablo jako orezano, moguća penetracija tečnosti i svjetla
0,85	Stablo srednje otvoreno. Gustina je takva da onemogućava penetraciju u donje 2/3 krošnje.
0,90	Krošnja minimalno otvorena, sa malo prostora gdje je moguća penetracija tečnosti i svjetla
0,95	Stablo slabo ili nikako orezano. Unutar krošnje prodire veoma malo svjetla.
1,00	Stablo nije orezano. Ekstremno bujno. Svjetlo ne prodire unutar krošnje. Stablo više od 6 m.

**Metod 2.** Norma utroška radne tečnosti može se izračunati korišćenjem vrijednosti TRV i faktora zapremine radne tečnosti - FZT (*Spray Volume Factor*), a što je prikazano u obrascu 4.

$$N = \frac{TRV}{1000 \text{ m}^3} \times FZT \quad (\text{l/ha}) \quad (4)$$

TRV - zapremina stabla u redu (m<sup>3</sup>/ha), FZT - faktor zapremine radne tečnosti (L).

Faktor zapremine tečnosti predstavlja broj litara tečnosti koja se zadrži u 1000 m<sup>3</sup> krošnje, kada se tretman primjenjuje do tačke oticanja i izražava se u litrama (Sutton i sar., 2014). Faktor zapremine krošnje je uveden od strane kompanije Shell Chemical Aust. Pty. Ltd. (cit. Sutton i sar., 2014), a vrijednosti koje može da poprimi su prikazane u tabeli 3.

Tabela 3: Faktor zapremine tečnosti - FZT (L) u zavisnosti od karakteristika krošnje  
(Shell Chemical Aust. Pty. Ltd., cit. Sutton i sar., 2014)

Table 3: Fluid volume factor - FZT (L) according to the canopy characteristics (Shell Chemical Aust. Pty. Ltd., cit. Sutton et al., 2014)

Faktor zapremine tečnosti- FZT (L)	Opis listopadnog drveća
75 L	Zimski period- nema listova
100 L	Lagano olistalo
125 L	Srednje olistalo
150 L	Gusto olistalo

**Metod 3.** Korišćenjem savremenih poboljšanih tipova orosivača i orosivača za selektivnu aplikaciju pesticida može da dođe do značajne redukcije norme utroška. Zbog ciljane i precizne aplikacije može da dođe i do smanjenog utroška pesticida, a da se pri tom задржи efikasnost, jer je sa klasičnim orosivačima i do 60% pesticidne tečnosti nije dospjevalo na tretirani objekat (Sedlar i sar., 2014). Preduslov efikasne primjene klasičnih orosivača podrazumijeva kontrolu i kalibraciju u cilju smanjenja gubitaka, naročito kod mladih zasada, kao i prilagođavanje eksploracionog potencijala uređaja geometriji tretiranog zasada (Maličević i sar., 2014). Ovaj koncept izračunavanja norme utroška takođe zasniva se na korišćenju vrijednosti TRV-a, s tim da se uzima optimalna zapremina tečnosti za TRV od 10000 m<sup>3</sup>, koja se u literaturi označava najčešće sa „v“. Ona ima različito procijenjene vrijednosti i u Švajcarskoj iznosi 400 l/ha, u Austriji 300 l/ha, a u Holandiji je 250 l/ha. Sa ovim pristupom u izračunavanju norme tretiranja koncept velikih normi tretiranja je napušten (Sedlar i sar., 2014). Norma tretiranja, računata na treći način je prikazana u obrscu 5, dok se u Belgiji računa po obrascu 6 (Michielsen i sar. 2015).

$$N = \frac{v}{2} + \frac{v \times TRV}{20.000} \quad (\text{l/ha}) \quad (5) \qquad N = 25 \times \frac{TRV}{1000} \quad (\text{l/ha}) \quad (6)$$

Maličević (2016) navodi da se na području Potkozarja jabuka na podlogi M9 najčešće gaji na razmacima 0,9×3,5 m; 0,9×3,35 m; 0,8×3,35 m; 1,0×4,0 m. Uporedni pregled normi tretiranja izračunatih za stabla određenih visina i širina krošnje, koja se nalaze na međurednom rastojanju od 3,5 m, je prikazana u tabeli 4.

Tabela 4: Norma tretiranja u zavisnosti od vrijednosti TRV i načina izračunavanja pri međurednom rastojanju od 3,5 m (MR=3,5 m) - hipotetički slučaj

Table 4: Treatment norm according to the TRV value and calculation method at a 3.5 m (3.5 m) of interrow distance - hypothetical case

H (m)	W (m)	TRV (m <sup>3</sup> /ha)	Norma tretiranja (L/ha)				
			Metod 1*	Metod 2**	Metod 3		
					v=400	v=300	v=250
2,0	1,2	6857,14	733,4	685,7	337,1	252,86	210,7
2,2	1,3	8171,43	873,9	817,1	363,4	272,57	227,1
2,4	1,4	9600,00	1026,7	960,0	392,0	294,00	245,0
2,6	1,5	11142,86	1191,7	1114,2	422,9	317,14	264,3
2,8	1,6	12800,00	1368,9	1280,00	456,0	342,00	285,0
3,0	1,7	14571,43	1558,4	1457,1	491,4	368,57	307,1
*FGK=0,80; **FZT=100 l; H = visina krošnje (m); W = širina krošnje (m)							

### Doziranje sredstava za zaštitu biljaka

Radna tečnost sredstva za zaštitu biljaka se u voćnjacima i vinogradima usmjerava ka trodimenzionalnim ciljevima, pri tome postoje značajno različite mašine za zaštitu bilja i voćke vrlo različitog habitusa. Način izražavanja doze u evropskim zemljama je vrlo različit i svodi se na sljedeće načine (Koch, 2007):

- $Doza_{L/ha}$  ili  $Doza_{kg/ha}$  se primjenjuje u Francuskoj i izražava se u L/ha ili kg/ha;
- $Doza_{VK}$  se primjenjuje u Njemačkoj i izražava se u kg po metru visine krošnje po hektaru ( $kg/1m\ VK/ha$ ) ili L po metru visine krošnje po hektaru ( $L/1m\ VK/ha$ );
- $Doza_{LWA}$  se koristi u Belgiji i izražava se u  $kg/10000m^2\ LWA$  ili  $L/10000m^2\ LWA$ ;
- $Doza_{TRV}$  se koristi u Švajcarskoj i izražava se u  $kg/10000m^3\ TRV$  ili  $L/10000m^3\ TRV$ ;
- $Doza\%$  ili  $Doza_{HL}$  izražava se koncentraciji preparata (%) ili količini preparata u 100 l vode (1 hektolitar), tj.  $L/100L$  ili  $kg/100L$ , uz navođenje maksimalne količine radne tečnosti po ha i koristi se u Holandiji, Grčkoj, Portugalu, Španiji, a Italiji se koristi isti način doziranja uz navođenje minimalne do maksimalnu količinu radne tečnosti po ha.

### Zaključak

U voćarskoj praksi na našim prostorima postoji mogućnost za značajno unapređenje primjene pesticida. Taj napredak se ne ogleda samo u smislu korišćenja novih uređaja za zaštitu bilja sa selektivnom aplikacijom, već i u prilagođavanju postojećih orušivača, prije svega geometriji krošnje. Takođe značajno treba unaprediti i precizirati određivanje norme utroška radne tečnosti pesticida, a posebno dozu pesticida.

### Literatura

- Bulletin OEPP/EPPO Bulletin (2012). Dose expression for plant protection products. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 42 (3), p. 409–415 (ISSN 0250-8052. DOI: 10.1111/epp.12000)
- Byers, R. E. , Hickey, K.D., Hill, C.H. (1971). Base gallonage per acre. Virginin Fruit 60, 19-23.
- Koch, H. (2007). How to achieve conformity with the dose expression and sprayer function in high crops. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer 60/2007, 1, p. 71-84.
- Malicević, Z., Turan, J., Railić, B., Mitrović, D. (2014). Uticaj kalibracije atomizera savremene koncepcije na kvalitet aplikacije. Savremena poljoprivredna tehnika, Vol. 40, No.1, 19-26,
- Maličević, Z. (2016). Uticaj funkcionalnosti orušivača na kvalitet zaštite zasada jabuke u zavisnosti od norme tretiranja. Doktorska disertacija, Univerzitet u Banjoj Luci, Poljoprivredni fakultet Banja Luka
- Michelsen, J. M., van de Zande, J., Wenneker, M. (2015). Measuring the canopy development of fruit trees for direct spray volume adjustment. SuproFruit 2015 – 13th Workshop on Spray Application in Fruit Growing, Lindau, Germany, p. 78-79.

- Ruegg, J., Viret, O. (1999). Determination of the tree row volume in stone-fruit orchards as a tool for adapting the spray dosage. OEPP/EPPO, Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 29, 95-101
- Sedlar, A., Bugarin, R., Đukić, N. (2014). Tehnika aplikacije pesticida. Univerzitet u Novom sadu, Poljoprivredni fakultet Novi Sad, p. 1-212.
- Sutton, J., Collie, H., Learmonth, S. (2014). Pome and summer fruit orchard spray guide 2014-15. Department of Agriculture and Food, Western Australia, p. 1-91 (dostupno na <https://www.agric.wa.gov.au>)
- Sutton, T.B., Unrath, C.R. (1984). Evaluation of the tree-row-volume concept with density adjustments in relation to spray deposits in apple orchards. Plant disease 68: 480-484.

## DOSAGE AND DETERMINING THE SPRAY VOLUME OF THE PESTICIDE USE AT FRUIT GROWING

*Siniša Mitrić<sup>1</sup>, Miljan Cvetković<sup>1</sup>, Zoran Maličević<sup>1</sup>*

**Abstract:** Determining the spray volume and dosage of the pesticide in fruit growing is more complicated than in crop growing, because there are the trees of the different height and exuberance, different shape of a canopy, different permeability (openness) of the canopy, and since the deciduous trees are concerned there are the season variation of leaf mass during the year. Unfiring of spray volume (e.g. 1000 l/ha) and dosage of treating (l/ha or kg/ha) does not always have to provide the adequate dosage of substances for plant protection and achieve necessary efficiency though. Therefore it is necessary in fruit growing and viticulture to introduce adaptive spray volume and treatment dosage in a way that volume of the working fluid and mass or volume of the substance for the plant protection (dose) adapt the size of canopy and surface of the leaf mass that has been treated.

**Key words:** pesticides, dosage, spray volume, fruit growing;

---

<sup>1</sup>University of Banja Luka, Faculty of agriculture Banja Luka, Bulevar vojvode Petra Bojovića 1A, 78000 Banja Luka, The Republic of Srpska, Bosna i Hercegovina (sinisa.mitric@agro.unibl.org)

## SUVO VOĆE KAO IZVOR ANTOOKSIDANASA

Stefan Petrović, Miljana Dubovac, Jelena Mrmošanin, Aleksandra Pavlović,  
Snežana Tošić

**Izvod:** U ovom radu je određen sadržaj ukupnih polifenola i flavonoida kao i antioksidativna aktivnost sedam uzoraka komercijalno dostupnog suvog voća: kajsija (*Prunus armeniaca*), šljiva (*Prunus domestica*), smokva (*Ficus carica*), brusnice (*Vaccinium macrocarpon*), urma (*Phoenix dactylifera*), belo i crno grožđe (*Vitis vinifera*) primenom UV/VIS spektrofotometrijskih metoda. Dobijeni rezultati pokazuju da uzorak suve smokve ima najmanji sadržaj polifenola i flavonoida i da isto tako pokazuje najmanju antioksidativnu aktivnost za razliku od uzorka belog grožđa sa najvećim sadržajem polifenola, visokim sadržajem flavonoida i sa najvećom antioksidativnom aktivnošću. Dobijeni rezultati su statistički obrađeni i poređeni sa dostupnim literaturnim podacima.

**Ključne reči:** suvo voće, UV/VIS spektrofotometrija, fenoli, flavonoidi, antioksidativna aktivnost

### Uvod

Suvo voće nastaje sušenjem zrelog voća prirodnim putem, suncem i vетrom ili u mašinama - sušarama, koje izvlače vodu iz svežih plodova, čime se obezbeđuje duže čuvanje voća. Suvo voće treba da ima boju, miris i ukus karakterističan za voće od kojeg je nastalo. Sušenje voća ima dugu tradiciju, a najraniji zapisi potiču iz Mesopotamije nekih 4000 god. pre nove ere. U suvom voću u izobilju ima belančevina, vlakana, vitamina, minerala, šećera ("dobrih"), što suvo voće čini prvakom namirnicom sa kojom je preporučljivo početi dan. Za suvo voće se može reći da predstavlja pravu riznicu svega što čoveku treba. Neka istraživanja pokazuju da suvo grožđe, šljive, kajsije i brusnice imaju više fenola u odnosu na sveže primerke, a da suve smokve i urme imaju manje fenola od svežih smokvi i urmi. Polifenolna jedinjenja predstavljaju široko rasprostranjenu grupu biljnih metabolita koja mogu biti vrlo jednostavne strukture, kao što su fenolne kiseline, ili vrlo složene strukture, odnosno, polikondenzovana jedinjenja kao što su tanini. Do sada je iz biljaka izolovano i identifikovano nekoliko hiljada fenolnih jedinjenja. Ova jedinjenja spadaju u sekundarne metabolite i u biljkama se obično ne nalaze u slobodnom obliku, već u obliku estara, glikozida ili kondenzovanih proizvoda. U biljnim organizmima, polifenoli obavljaju niz funkcija koje imaju veliki uticaj na ekofiziologiju biljaka: deluju kao antioksidansi, antimikrobni agensi, fotoreceptori, vizuelni atraktanti nekih insekata važnih za oprasivanje cvetova ili kao zaštita biljnih tkiva od prekomernog UV zračenja (Pietta, 2000.; Fang i sar., 2002.). Polifenolna jedinjenja se smatraju vodećim

jedinjenjima sa antioksidativnim delovanjem. Smatra se da je antioksidativna aktivnost polifenola prvenstveno rezultat njihove sposobnosti da budu donori vodonikovih atoma slobodnim radikalima i da kao takvi uklanjaju slobodne radikale uz formiranje manje reaktivnih fenoksi radikala. Najznačajniji izvori fenolnih jedinjenja, a time i izvori antioksidanasa su razni napici (crno vino, voćni sokovi, zeleni i crni čaj, kafa, pivo), kakao, crna čokolada, jezgrasto voće (lešnik, badem, kikiriki), šljive, grožđe, borovnice, brusnice, kupine, maline, jabuke, masline, soja, integralne žitarice, brokoli, celer itd. Posebno mesto među biljnim polifenolima zauzimaju flavonoidi. Flavonoidi su uglavnom biljni pigmenti, odgovorni za boju cvetova, listova i plodova biljaka. Zbog svoje specifične strukture flavonoidi su potencijalni prirodni antioksidansi. Prisustvo flavonoida dovodi do prekidanja slobodno-radikalnih reakcija. Prevelika produkcija slobodnih radikala ili smanjenje antioksidativnih protektivnih mehanizama organizma, dovodi do oksidativnog stresa i oštećenja ćelija i tkiva. Antioksidansi kao supstance koje, prisutne u malim koncentracijama u odnosu na supstrat (biomolekul) koji se oksiduje, značajno usporavaju ili sprečavaju oksidaciju tog supstrata štite ćelije organizma od štetnog delovanja oksidativnog stresa ili slobodnih radikala (Leposavić, 2008.). Elektron-transfer metode (ET) su veoma korišćene metode za određivanje antioksidativnog kapaciteta *in vitro*. Ove metode podrazumevaju prisustvo dve komponente u reakcionaloj smeši: oksidans (proba) i antioksidans i odvijanje elektron-transfer reakcije. U ovu grupu metoda spadaju: FCR-metoda (*Folin-Ciocalteu Reducing Capacity Assay*); TEAC-metoda (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity, ABTS metoda*); FRAP-metoda (*Ferric Ion Reducing Antioxidant Power Assay*); DPPH-metoda (*Scavenging of 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil Radical Assay*).

### Materijal i metode rada

Po 30 g prethodno usitnjениh uzoraka je preliveno sa  $50 \text{ cm}^3$  rastvarača metanol-mravlja kiselina (97:3, v/v) i zaštićeno od svetlosti. Ekstrakcija je vršena u ultrazvučnom kupatila 30 min. Nakon stajanja od 24 h suspenzija je procedena i dodato je još po  $30 \text{ cm}^3$  rastvarača i ostavljeno da stoji još 72 h. Suspenzije su proceđene, rastvori prebaćeni u normalne sudove i dopunjeni rastvaračem do  $100 \text{ cm}^3$ . Tako pripremljeni rastvori su čuvani na tamnom i hladnom mestu do analiza. Za rad su korišćeni sledeći aparati: Perkin Elmer Lambda 15 UV/VIS spektrofotometar, analitička vaga Mettler Toledo, ultrazvučna kada Sonorex, aparat za dejonizovanu vodu TKA MicroMed, automatske pipete, laboratorijski pribor kao i sledeći reagensi: Folin-Ciocalteu reagens, galna kiselina, katehin, DPPH, trolox,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{NaNO}_2$ ,  $\text{AlCl}_3$ ,  $\text{NaOH}$ , metanol, mravlja kiselina i dejonizovana voda. Sadržaj ukupnih polifenola određen je po metodi Folin-Ciocalteu (Prior i sar., 2005.) a ukupnih flavonoida primenom  $\text{AlCl}_3$  kao reagensa (Zhishen i sar., 1999.). Antioksidativna aktivnost je određena primenom dva testa: DPPH (Brand-Williams i sar., 1995.; Karori i sar., 2007.) i ABTS (Pellegrini i sar., 1999.). Dobijeni rezultati su statistički obrađeni primenom Pirsonove korelacione analize.

### Rezultati istraživanja i diskusija

Za svaku primjenjenu metodu konstruisane su kalibracione prave korišćenjem odgovarajućih standarda i iz dobijenih jednačina prave određen sadržaj ukupnih polifenola (miligram ekvivalenta galne kiseline po gramu uzorka, mg GAE g<sup>-1</sup>), sadržaj flavonoida (miligram ekvivalenta katehina po gramu uzorka, mg CE g<sup>-1</sup>), antioksidativna aktivnost primenom DPPH testa (mikromolovi troloxi ekvivalenta po gramu uzorka, µmol TE g<sup>-1</sup>) i antioksidativna aktivnost primenom ABTS testa (mikromolovi troloxi ekvivalenta po gramu uzorka, µmol TE g<sup>-1</sup>). Dobijeni rezultati, kao srednja vrednost tri merenja sa pripadajućom standardnom devijacijom, prikazani su u Tabeli 1.

Tabela 1. Sadržaj ukupnih polifenola, flavonoida i rezultati određivanja antioksidativne aktivnosti

*Table 1. The content of total polyphenols, flavonoids and results of antioxidant activity determinations*

Uzorak <i>Sample</i>	Ukupni polifenoli <i>Total polyphenols</i> $c_{sr} \pm SD$ mg GAE g <sup>-1</sup>	Ukupni flavonoidi <i>Total flavonoids</i> $c_{sr} \pm SD$ mg CE g <sup>-1</sup>	DPPH test <i>DPPH test</i> $c_{sr} \pm SD$ µmol TE g <sup>-1</sup>	ABTS test <i>ABTS test</i> $c_{sr} \pm SD$ µmol TE g <sup>-1</sup>
kajsija <i>apricot</i>	2,7 ± 0,2	0,68 ± 0,08	2,27 ± 0,04	0,81 ± 0,02
šljiva <i>plum</i>	3,91 ± 0,06	1,6 ± 0,1	4,2 ± 0,3	1,28 ± 0,03
brusnica <i>cranberry</i>	2,8 ± 0,2	0,76 ± 0,07	3,3 ± 0,3	1,010 ± 0,003
smokva <i>fig</i>	1,40 ± 0,05	0,33 ± 0,06	1,07 ± 0,03	0,3582 ± 0,0004
urma <i>date palm</i>	2,60 ± 0,08	0,96 ± 0,02	3,0 ± 0,1	1,06 ± 0,02
belo grožđe <i>white grapes</i>	4,4 ± 0,2	1,52 ± 0,03	4,3 ± 0,2	1,720 ± 0,007
crno grožđe <i>black grapes</i>	3,68 ± 0,06	1,14 ± 0,09	3,09 ± 0,09	0,888 ± 0,008

Na osnovu dobijenih rezultata može se uočiti da se sadržaj ukupnih polifenola kreće u granicama od 1,40 mg GAE g<sup>-1</sup> za smokvu do 4,4 mg GAE g<sup>-1</sup> za belo grožđe; sadržaj ukupnih flavonoida u granicama od 0,33 mg CE g<sup>-1</sup> za smokvu do 1,6 mg CE g<sup>-1</sup> za šljivu; antioksidativna (DPPH) aktivnost u granicama od 1,07 µmol TE g<sup>-1</sup> za smokvu do 4,3 µmol TE g<sup>-1</sup> za belo grožđe i antioksidativna (ABTS) aktivnost u granicama od 0,3582 µmol TE g<sup>-1</sup> za smokvu do 1,720 µmol TE g<sup>-1</sup> za belo grožđe. Analiziranjem

dobijenih rezultata uočava se da uzorak suve smokve ima najmanji sadržaj polifenola i flavonoida i da isto tako pokazuje najmanju antioksidativnu aktivnost određenu primenom oba testa. Takođe se uočava da uzorak belog grožđa ima najveći sadržaj polifenola i visok sadržaj flavonoida, kao i da pokazuje najveću antioksidativnu aktivnost određenu primenom oba testa. Antioksidativni kapacitet svog voća je česta tema istraživanja. U radu Miletić i saradnici (2014.) sadržaj ukupnih polifenola u ispitivanim uzorcima je sledeći: urma 1,67; crno grožđe 1,74; smokva 1,95; brusnica 1,97; belo grožđe 4,00 i šljiva 5,64 mg GAE g<sup>-1</sup>. Upoređujući rezultate dolazi se do zaključka da su sadržaji polifenola istog reda veličine i da se i u ovom istraživanju po sadržaju izdvajaju šljiva i belo grožđe. Sério i saradnici (2014.) su ispitivali fenolni sastav nekoliko vrsta svog grožđa. Vrednosti sadržaja polifenola u datim uzorcima se kreću od 1,10 do 4,06 mg GAE g<sup>-1</sup>. Mehta i saradnici (2014.) su odredili ukupan sadržaj flavonoida u uzorku suve šljive u iznosu od 5,83 mg CE g<sup>-1</sup>. Antioksidativna (DPPH) aktivnost ispitivanog svog voća u radu Miletić i saradnici (2014.) iznosi: smokva 1,29; brusnica 1,39; crno grožđe 1,52; belo grožđe 2,64; kajsija 3,17; urma 3,88 i šljiva 5,03 µmol TE g<sup>-1</sup> a antioksidativna (ABTS) aktivnost: smokva 0,38; urma 0,62; crno grožđe 0,64; brusnica 0,83; kajsija 1,37; belo grožđe 2,18 i šljiva 2,91 µmol TE g<sup>-1</sup>.

Kada se uporede dobijeni rezultati sa drugim literaturnim podacima, uočava se da su vrednosti istog reda veličine a prisutne razlike se mogu objasniti činjenicom da na sadržaj polifenolnih jedinjenja utiču: genotip, tehnika gajenja, razlike u zrelosti biljke, spoljašnji faktori poput svetlosti i temperature, prisustvo hranljivih materija u zemljištu, nadmorska visina itd. (Dixon i Paiva, 1995.).

Tabela 2. Vrednosti Pirsonovih korelacionih koeficijenata  
Table 2. The values of Pirson's correlation coefficients

		flavonoidi <i>flavonoids</i>	DPPH test <i>DPPH test</i>	ABTS test <i>ABTS test</i>
polifenoli <i>polyphenols</i>	Pirsonov koeficijent <i>Pirson's coefficient</i>	0,941	0,921	0,882
	značajnost <i>significance</i>	0,002	0,003	0,009
flavonoidi <i>flavonoids</i>	Pirsonov koeficijent <i>Pirson's coefficient</i>	1	0,933	0,877
	značajnost <i>significance</i>		0,002	0,010
DPPH test <i>DPPH test</i>	Pirsonov koeficijent <i>Pirson's coefficient</i>		1	0,938
	Značajnost <i>significance</i>			0,002

U cilju utvrđivanja nivoa korelacije između dobijenih rezultata urađena je Pirsonova korelaciona analiza primenom statističkog paketa SPSS. Vrednosti dobijenih Pirsonovih koeficijenata su date u Tabeli 2. Iz vrednosti Pirsonovih koeficijenata zapaža se izuzetno visoka korelacija između rezultata dobijenih u postupcima određivanja sadržaja ukupnih polifenola, ukupnih flavonoida i rezultata antioksidativnih testova

(DPPH i ABTS). Posebno su visoke korelacije između sadržaja polifenola i sadržaja flavonoida, sadržaja fenola i DPPH testa, sadržaja flavonoida i DPPH testa. Korelacije sa rezultatima ABTS testa su nešto niže što ukazuje na činjenicu da su prisutni polifenoli odnosno flavonoidi odgovorni za antioksidativnu aktivnost koja prati mehanizam DPPH testa.

### **Zaključak**

Od davnina je poznato da suvo voće predstavlja dobar izvor antikosidansa i da se stoga preporučuje u svakodnevnoj ishrani kao dobra prevencija i dobar lek za mnoge bolesti savremenog doba. Iz rezulata ovog istraživanja može se zaključiti da se, od analiziranih vrsta suvog voća, suvo belo grožđe pokazalo kao najbolji izvor antioksidansa, dok je suva smokva najmanje bogat izvor istih.

### **Napomena**

Istraživanja u ovom radu deo su projekta "Prirodni proizvodi biljaka i lišajeva: izolovanje, identifikacija, biološka aktivnost i primena" br. 172047 finansiran od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

### **Literatura**

- Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Bercet C. (1995). Use of the radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie. 28: 25-30.
- Dixon R. A., Paiva N. L. (1995). Stress-induced phenylpropanoid metabolism, Plant Cell. 7: 1085-1097.
- Fang Y.Z., Yang S. Wu G. (2002). Free radicals, antioxidants, and nutrition. Nutrition. 18 (10): 872-879.
- Karori S.M., Wachira F.N. Wanyoko J.K., Ngure R.M. (2007). Antioxidant capacity of different types of tea products. African Journal of Biotechnology. 6: 2287-2296.
- Leposavić G. (2008). Patološka fiziologija. Farmaceutski fakultet, Beograd.
- Mehta S., Soni N., Satpathy G., Gupta R.K. (2014). Evaluation of nutritional, phytochemical, antioxidant and antibacterial activity of dried plum (*Prunus domestica*). Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 3 (2): 166-171.
- Miletić N., Popović B., Mitrović O., Kandić M., Leposavić A. (2014). Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Dried and Candied Fruits Commonly Consumed in Serbia. Czech Journal of Food Sciences. 32 (4): 360–368.
- Pellegrini Re R., Proteggente A., Pannala A. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology and Medicine, 26 (9-10): 1231-1237.
- Pietta P.G. (2000). Flavonoids as antioxidants. Journal of natural products. 63: 1035-1042.

- Prior R.L., Wu X., Schaich K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53 (10): 4290-4302.
- Sério S., Rivero-Pérez M.D., Correia A.N., António Manuel Jordão A.M., González-San José M.L. (2014). Analysis of commercial grape raisins: phenolic content, antioxidant capacity and radical scavenger activity. *Ciência e Técnica Vitivinícola*. 29 (1): 1-8.
- Zhishen J., Mengcheng T., Jianming W. (1999). The determination of flavonoids content in mulberry and scavenging effect on superoxide radicals. *Food Chemistry*. 64 (4): 555–559.

## DRIED FRUITS AS A SOURCE OF ANTIOXIDANTS

*Stefan Petrović, Miljana Dubovac, Jelena Mrmošanin, Aleksandra Pavlović,  
Snežana Tošić*

### Abstract

In this paper, the content of total polyphenols and flavonoids as well as the antioxidant activity of seven samples of commercially available dried fruits are determined: apricot (*Prunus armeniaca*), plum (*Prunus domestica*), fig (*Ficus carica*), cranberry (*Vaccinium macrocarpon*), date palm (*Phoenix dactylifera*), white and black grapes (*Vitis vinifera*) using UV/VIS spectrophotometric methods. The obtained results show that the dried figs sample has the smallest content of polyphenols and flavonoids and also shows the smallest antioxidant activity, unlike white grape sample with the highest content of polyphenols, a high content of flavonoids and the highest antioxidant activity. The obtained results were statistically processed and compared to the available literature data.

**Key words:** dried fruits, UV/VIS spectrophotometry, phenols, flavonoids, antioxidant activity

## UTICAJ PODLOGE NA KARAKTERISTIKE SORTE cv. SYRAH U UKRINSKOM VINOGORJU

*Tatjana Jovanović-Cvetković<sup>1</sup>, Dragan Đurić<sup>1</sup>, Rada Grbić<sup>1</sup>*

**Izvod:** U radu su prikazani rezultati ispitivanja uticaja podloga Gravesac i 3309C na karakteristike rodnosti i kvaliteta grožđa sorte Syrah u području ukrinskog vinogroja. Ispitivanje je obavljeno tokom 2016. godine u vinogradu, privatne vinarije "Fazan". Prosečna masa grozda sorte Syrah bila je veća na podlozi Gravesac (104,31 g) u odnosu na masu grozda na podlozi 3309C (88,42 g). Prinos grožđa po čokotu bio je ujednačen kod obe podloge. Sadržaj rastvorljive suve materije i sadržaj ukupnih kiselina bio je veći na podlozi 3309C u odnosu na podlogu Gravesac. Dobijeni rezultati, ukazuju na mogućnost uzgoja sorte Syrah u području ukrinskog vinogroja.

**Ključne reči:** sorta, podloga, rodnost, kvalitet

### Uvod

Rešavanje problema sa filokserom procesom kalemljenja, uticalo je na pojavu određenih nedostataka, kao što su inkopatibilnost između američkih vrsta i evropske vinove loze, različita prilagođenost američkih vrsta zemljišnim uslovima, kao i sam pinos i kvalitet grožđa, odnosno vina. Podloge imaju veliki uticaj i na razvoj celih biljaka, akumulaciju biomase i fenologiju (Tandonnet et al., 2010). U kontekstu klimatskih promena, podloge se mogu smatrati ključnim elementom prilagođavanja biljke novonastalim uslovima. Imajući u vidu važnu ulogu podloga u suočavanju sa aktuelnim izazovima za vinogradarstvo, u većem broju država postoje značajni programi oplemenjivanja i stvaranja novih selekcija (Ollat et al., 2016). Renouf (2010) navodi da je upotreba adekvatne podloge od posebnog značaja pri gajenju vinove loze na različitim tipovima zemljišta i da upotreba većeg broja podloga pruža osnov za kreiranje različitih kombinacija sorta/podloga/zemljište u cilju iznalaženja najpodesnije kombinacije. U kvantitativnom smislu neophodno je pratiti karakteristike rasta (vitalnosti) sorte i korišćene podloge, odnosno rezultat njihove interakcije u određenim proizvodnim uslovima, imajući u vidu da kvantitet i kvalitet grožđa upravo zavise od skladnosti tog odnosa (Brighenti et al., 2012). Sorta vinove loze, uzgajna na različitim podlogama ispoljava i različitu rodnost, kvalitet grožđa, bujnost i druga svojstva. U stranoj literaturi su istraživanja o uticaju podloge na kvantitet i kvalitet grožđa, koja za lokalne agroekološke uslove mogu poslužiti kao orijentir. Renouf (2010) navodi da u regiji Bordo, uvažavajući tip zemljišta, indeks kvaliteta u proizvodnji grožđa sorte Merlo najbolje rezultate postiže upotrebom podloga RGM, 3309C, 420A i Gravesac.

Walker (2010) navodi da sorta Syrah na podlozi 140 Ruggeri na zemljištima srednje plodnosti daje prevelik rast (vigor) što uslovljava osrednji kvalitet grožđa. Todić i Bešlić (2010) navode da podloga 3309C pospešuje oplodnju i zametanje bobica, i da

<sup>1</sup>Univerzitet u Banjoj Luci, Poljoprivredni fakultet, Bulevar vojvode Petra Bojovića 1A , Republika Srpska, BiH (tatjana.jovanovic-cvetkovic@agro.unibl.org);

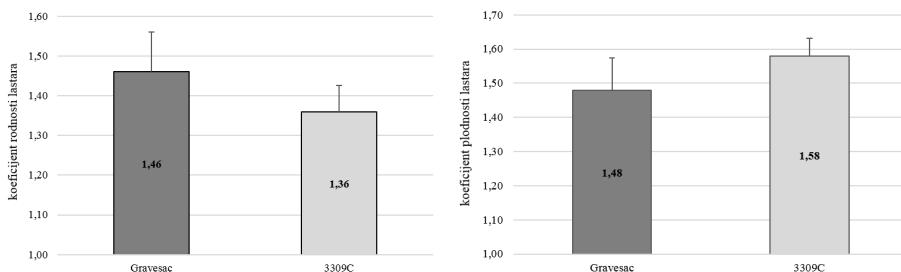
može uticati na prevelik prinos kod mladih čokota. Na području Bosne i Hercegovine ima vrlo malo podataka koji prikazuju uticaj različitih podloga na prinos i kvalitet važnijih internacionalnih sorti. Cilj rada je analiza uticaja podloge Gravesac i 3309C na sortu Syrah u ukrinskom vinogorju (severozapadni deo Republike Srpske). Istraživanje ima poseban značaj imajući u vidu da sorta Syrah nije sorta kontinentalnih područja, kao i da su navedene podloge po prvi put introdukovane u Republici Srpskoj, BiH.

### Materijal i metode rada

Uticaj podloge na tehnološke karakteristike Syrah izvršeno je u vinogradu vinarije "Fazan" tokom 2016. godine. Vinograd je podignut 2010 godine, tako da je u vreme ispitivanja vinograd bio u punoj rodnosti. Predmet ispitivanja je sorta Syrah, koja se tradicionalno uzgaja u toplijim regijama i nije najpogodnija za uzgoj u uslovima kontinentalne klime. Sorta Syrah je kalemljena na podloge Gravesac (161 Couderec x 3309 Couderec) i 3309 C (*Vitis riparia (tomentose)* x *Vitis rupestris* cv. Martin). Syrah je sorta za proizvodnju crvenih vina koja je do 70-ih godina prošlog veka bila relativno zapostavljena, a zadnjih se godina intenzivno sadi i danas se uzgaja u mnogim vinogradarskim zemljama sveta, što dovodi do starnog porasta površina pod ovom sortom. Genetičkim analizama 1999. godine je utvrđeno da potiče iz francuske pokrajine Rhône (Bowers et. al., 2000). Vinogradi sa sortom Syrah zauzimaju ukupnu površinu od 776 900 ha i važi kao 7. sorta po zastupljenosti u svijetu. Sorte kalemljene na podlozi Gravesac imaju srednje do jak porast i ostvaruju stabilnu proizvodnju dobrog kvaliteta. Podloga 3309 C pogodna je za duboka i hladna zemljišta, a slabo je tolerantna na hlorozu prouzrokovana višim sadržajem kreča u zemljištu. Navedene podloge su po prvi put introdukovane na području severozapadnog dela Republike Srpske - BiH. Uzgojni oblik je u potpunosti prilagđen uslovima uzgoja. Reč je o niskom uzgojnem obliku Gobelet (župska rezidba) koje omogućava da se tokom zime lastari poviju i prekriju zaštitnom folijom koja sprečava eventualna oštećenja od niskih temperatura. Kada opasnost od izmrzavanja prođe, folija se uklanja i obavlja rezidba. Rezidbom se ostavlja opterećenje od 10 okaca po čokotu. Razmak sadnje iznosi 1,5 x 2,8. Redni i međuredni prostor se održavaju u sistemu jalovog ugra. Ishrana i zaštita od patogena su u skladu sa iskustvima dobre poljoprivredne prakse. Berba grožđa je izvršena u optimalno vreme. Tokom istraživanja praćeni su sledeći parametri: koeficijent rodnosti, koeficijent plodnosti, mehanički sastav grožđa i bobice kao i kvalitet grožđanog soka.

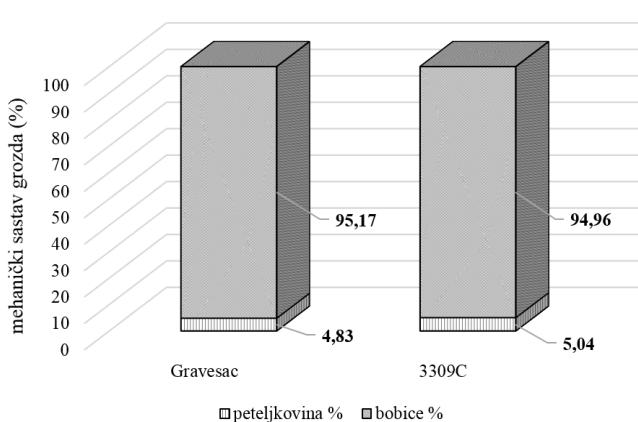
### Rezultati istraživanja i diskusija

Opterećenje čokota okcima, odnosno lastarima ima važnu ulogu u formiranju prinosa i kvaliteta grožđa jedne sorte. Podaci o pokazateljima rodnosti za sortu Širaz na podlozi Gravesac i 3309C prikazana su grafikonima 1 i 2. Sorta Syrah na podlozi Gravesac imala je veći koeficijent rodnosti lastara (1,46%) u odnosu na podlogu 3309C (1,36). Koeficijent plodnosti lastara bio je veći na podlozi 3309C (1,58%) u odnosu na podlogu Gravesac (1,48).



Graf. 1 - 2. Koeficijent rodnosti i plodnosti lastara  
Graph. 1-2. Shoot fertility and fruiting potential coefficient

Za ocenu tehnoloških karakteristika i vrednosti vinskih sorti od značaja su i podaci o mehaničkom sastavu grozda i bobice (grafikon 3 i grafikon 4). Sorta Syrah ima jako visok ideo bobica u grozdu. Nešto veće učešće bobica u grozdu, konstatovano je na podlozi Gravescac (95,17%) u odnosu na podlogu 3309 C (94,96%).



Graf. 3. Mehanički sastav grozda  
Graph. 3. Bunch mechanical properties

Analiza mehaničkog sastava bobice kod sorte Syrah, upućuje na veći uticaj sorte u ekološkim uslovima u odnosu na uticaj samih podloga. Činjenica da je sorta Syrah, sorta toplijeg klimata (Bowers i sar., 2000), uzgoj u kontinentalnoj klimi je mogao uticati na manje povoljan sastav bobice. Mesnati deo bobice (mezokar), kao frakcija pulpe iz koje se cedi šira, direktno utiče na radman šire. Sorta Syrah imala je nešto veći ideo mezokrapi u strukturi bobice na podlozi Gravescac (79,29%) u odnosu na podlogu 3309C (76,68%). Pokazatelji rodnosti i kvalitet grožđa ispitivane sorte prikazani su u tabeli 1.



Graf. 4. Mehanički sastav bobice  
Graph. 4. Berry mechanical properties

Tabela 1. Pokazatelji rodnosti i kvalitet grožđa  
Table 1. Fertility and grape quality indicators

Parametri / Parameters	Gravesac			3309 C			t - test
	X	S <sub>x</sub>	V <sub>k</sub>	X	S <sub>x</sub>	V <sub>k</sub>	
Broj grozdova na čokotu <i>Number of bunches per vine</i>	12,20	0,86	15,98	12,40	0,73	13,10	2,611*
Prosečna masa grozda (g) <i>Bunch average weight (g)</i>	104,31	13,22	28,35	88,42	9,53	24,09	1,155 <sup>nz</sup>
Broj bobica u grozdu <i>Number of berries per bunch</i>	66,30	8,30	28,00	59,20	7,68	29,01	0,732 <sup>nz</sup>
Prinos (kg/čokotu) <i>Yield (kg/vine)</i>	1,27	0,09	15,89	1,20	0,11	20,28	1,017 <sup>nz</sup>
Sadržaj rastvorljive suve materije (% Brix) <i>Total soluble solids content (% Brix)</i>	20,34	0,304	3,34	21,93	0,187	1,90	3,976**
Sadržaj ukupnih kiselina (g/l) <i>Total titratable acidity (g/l)</i>	4,42			4,87			
pH/pH	3,40			3,42			

Broj grozdova na čokotu je bio dosta ujednačen kod obe podloge. Prosečna masa grozda sorte Syrah na podlozi Gravesac iznosila je 104,31g i bila je značajno veća u odnosu na prosečnu masu grozda na podlozi 3309C (88,42 g). Dobijeni rezultati su u skladu sa literaturnim navodima, koje navode drugi autori o masi grozda. Naime, Gil-Muñoz et al. (2009) su utvrdili prosečnu masu sorte Syrah od 118,27g. Keller et al. (2012) navode podatak o masi grozda na podlozi 3309C od 97,0g što je u saglasnosti sa našim istraživanjima. Prosečan broj bobica u grozdu kretao se u rasponu od 59,20 (3309C) do 66,30 (Gravesac) i bio je nešto manji u odnosu na navode Keller et al.

(2012) koji su u svojim istraživanjima ustanovili 76,0 bobica u grozdu. Ostvareni prinos bio je ujednačen kod obe podloge (1,20 - 1,27 kg/čokotu). Literaturni navodi o prinosu sorte Syrah u zavisnosti su od uslova uzgoja, primjenjenih ampelotehničkih mera i željenog kvaliteta grožđa. Gil-Muñoz et al. (2009) u trogodišnjem ispitivanju (2005-2007) su ustanovili prosečan prinos 2,53 kg/čokotu. Wolt et. al. (2003) navode da je prosečan prinos sorte Širaz u periodu (1996-2000) u zavisnosti od uzgojnog oblika kretao u granicama 2,6kg/ čokotu do 4,9kg/čokotu. Keller et al. (2012) navode značajno veći prinos sorte Syrah na podlozi 3309C (7,05 kg/čokotu). Sadržaj rastvorljive suve materije i sadržaj ukupnih kiselina bio je veći na podlozi 3309C u odnosu na podlogu Gravesac. Analiza sadržaja šećera u grožđanom soku (tabela 1), pokazala je značajno veću vrednost kod podloge 3309C (21,93% Brix) u odnosu na podlogu Gravesac (20,34% Brix), što je imalo i visoku statističku značajnost ( $t = 3,976$ ). Prema podacima Keller et al. (2012), sorta Syrah je imala 24,43% šećera i 7,90 g/l ukupnih kiselina, a prema podacima Gil-Muñoz et al. (2009) vrednosti su iznosile 25,05% šećera i 3,22 g/l ukupnih kiselina. Navedeni literaturni podaci su nešto veći u odnosu na dobijene vrednosti parametara kvaliteta grožđa u istraživanju.

### **Zaključak**

Preliminarna ispitivanja uticaja podloga Gravesac i 3309C na karakteristike rodnosti i kvaliteta grožđa sorte Syrah u području ukrinskog vinogroja, ukazuju na mogućnost njenog gajenja. Parametri rodnosti su zadovoljavajući, imajući u vidu opterećenje čokota. Ostvareni prinos grožđa po čokotu, pozitivno se odrazio na kvalitet grožđa. Podloga Gravesac je uslovila nešto veću krupnoću grozda kao i prinos po čokotu, dok je na podlozi 3309C konstatovan bolji kvalitet proizvedenog grožđa. Imajući u vidu ostvarene rezultate, neophodno je nastaviti istraživanje u cilju utvrđivanja ostalih parametara (primarni i sekundarni metaboliti) kao i definisanja optimalne ampelotehnike za gajenje u uslovima kontinentalne klime.

### **Napomena**

Istraživanja u ovom radu su rezultat saradnje Vinarije "Fazan" d.o.o. Prnjavor i Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci.

### **Literatura**

- Bowers J. E., Siret R., Meredith C. P., This P., Boursiquot J. M. (2000): A single pair of parents proposed for a group of grapevine varieties in Northeastern France. *Acta Hort* 528: 129-132.
- Brightenti A. F., Rufato L., Kretzschamar A. A., Schlemper, C. (2011): Viticultural performance of Cabernet sauvignon grafted on different rootstocks in high altitude regions of the state of Santa Catarina. *Revista Brasileira De Fruticultura*, 33(1): 96-102.
- Gil- Muñoz R., Vila-Lopez J.I., Fernadez F., Martinez-Cutillas A. (2009): Effects of cluster thinning on anthocyanin extractability and chromatic parameters of Syrah

- and Tempranillo grapes and wines. *Journal International del Sciences de la Vigne Vin* 43 (1): 45-53.
- Keller M., Mills L., Harbertson J. (2012): Rootstock effects on deficit-irrigated winegrapes in a dry climate: vigor, yield formation and fruit ripening. *American Journal of enology and Viticulture* 63 (1): 29-39.
- Ollat N., Bordenave L., Tandonnet J.P., Boursiquotand J.M., Marguerit E. (2016): Grapevine rootstocks: origins and perspectives. *Acta Hortic.* 1136.ISHS. doi:10.17660/ActaHortic.2016.1136.2
- Renouf V., Tregot O., Roby J. P., Van Leeuwen C. (2010): Soils, rootstocks and grapevine varieties in prestigious Bordeaux vineyards and their impact on yield and quality. *Journal International del Sciences de la Vigne Vin.* 44 (3): 127-134.
- Tandonnet J.P., Cookson S.J., Vivin P., Ollat N. (2010). Scion genotype controls biomass allocation and root development in grafted grapevine. *Australlian Journal of Grape and Wine research.* 16: 290-300.
- Todić S., Bešlić Z. (2010): Proizvodnja lozno sadnog materijala. Monografija. Beograd. ISBN:978-86-6047-027-2.
- Walker R., Blackmore D. H., Clingeleffer P. (2010): Impact of rootstock on yield and ion concentrations in petiole, juice and wine of Shiraz and Chardonnay in different viticultural environments with different irrigation water salinity. *Australlian Journal of Grape and Wine research.* 16: 243-257.
- Wolf T., Dry P., Iland P., Botting D., Dick J., Kennedy U., Ristic R. (2003). Response of Shiraz grapevines to five different training systems in the Barossa Valley, Australia. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 9, 82–95.

## ROOTSTOCK INFLUENCE ON THE GRAPE CHARACTERISTICS OF THE CULTIVAR SYRAH IN THE UKRINA WINE REGION

*Tatjana Jovanović-Cvetković<sup>1</sup>, Dragan Đurić<sup>1</sup>, Rada Grbić<sup>1</sup>*

**Abstract:** This paper analyzes the results of the influence of Gravesac and 3309C rootstocks on the fertility characteristics and grape quality of the cultivar Syrah. Research was conducted in the Ukrina Wine Region, during the season of 2016, in the commercial vineyard of the winery "Fazan". The average bunch weight of the cultivar Syrah was higher on the Gravesac rootstock (104,31g) compared to the rootstock 3309C (88,42 g). The yield per vine was uniform for both rootstocks. The total soluble solids content and the total titratable acidity was higher for rootstock 3309C compared to the Gravesac rootstock. Obtained results indicate the possibility of successful cultivation of the cultivar Syrah in the Ukrina Wine Region.

**Key words:** cultivar, rootstock, yield, grape quality

<sup>1</sup>Univerzitet u Banjoj Luci, Poljoprivredni fakultet, Bulevar vojvode Petra Bojovića 1A, 78000 Banja Luka, Republika Srpska, BiH (tatjana.jovanovic-cvetkovic@agro.unibl.org);

## UTICAJ RAZLIČITIH VRSTA ĐUBRIVANA PRINOS I KVALITET GROŽĐA SORTE KRATOŠIJA

*Tatjana Popović<sup>1</sup>, Slavko Mijović, Gordana Šebek, Danijela Raičević, Radmila Pajović*

**Izvod:** U radu su predstavljeni rezultati dvogodišnjeg proučavanja uticaja mineralnog i različitih vrsta organskih đubriva na prinos i kvalitet grožđa sorte vinove loze kratošija. Istraživanja su obavljena u podgoričkom subregionu, na lokalitetu Lješkopolje. Primjenjeno je 5 različitih varijanti ishrane: Kontrola (bez đubrenja); NPK (8:16:24) - 0,5 t ha-1, goveđi stajnjak - 20 t ha-1, živinski stajnjak - 10 t ha-1 i treset 10 t ha-1. Rezultati istraživanja su pokazali da je primjena pručavanih vrsta đubriva pozitivno uticala na prosječnu masu grozda i prinos grožđa sorte kratošija. Najveću masu grozda i prinos grožđa u dvogodišnjem prosjeku imala je varijanta sa govedim stajnjakom (237g i 3,66 kg/čok). Primjenjena đubriva su značajno uticala i na kvalitet grožđa. Najveći sadržaj šećera i kiselina u širi imala je varijanta sa primjenom treseta (23,90 % i 6,65 g/l).

**Ključne riječi:** Kratošija, đubrenje, prinos, kvalitet grožđa

### Uvod

Crnogorsko mediteransko područje, naročito bazen Skadarskog jezera, odavnina je poznato kao veoma povoljna oblast za uzgoj vinove loze. U strukturi vinskog sortimenta veoma značajno mjesto zauzima sorta kratošija od koje se dobija grožđje vrhunskog kvaliteta. Ova sorta je uvedena u kulturu znatno prije vranca i u staroj Crnoj Gori bila je najrasprostranjenija sorta vinove loze (Savić, 2003). Prema brojnim literaturnim podacima kratošija je crnogorska autohtona sorta koja se vjekovima užgaja u Crnoj Gori (Maraš, 2012).

S obzirom da većina vinograda podignutih na skeletnim, pretežno neplodnim zemljištima južnog dijela Crne Gore vegetira i donosi rod u uslovima nedovoljne obezbjedenosti osnovnim elementima ishrane to primjena mineralnih i organskih đubriva predstavlja jedan od najvažnijih agrotehničkih zahvata u proizvodnji ove važne kulture (Popović, 2007).

U konvencionalnoj poljoprivrednoj proizvodnji ishrana vinove loze je bazirana na đubrenju sa mineralnim lakotopivim sintetičkim đubrivima jer se na taj način najefikasnije i najbrže nadoknađuje deficit pojedinih hranjiva. Međutim, treba imati u vidu da njihova dugotrajna i nekontrolisana primjena može izazvati određene ekološke probleme (zagadenje zemljišta, vode i vazduha), ali i dovesti do pogoršanja strukture zemljišta i smanjenja zemljišne mikroflore (Korać, 2011). U poređenju sa mineralnim đubrovima, organska đubriva imaju manju važnost u ishrani vinove loze jer su elementi ishrane u njima hemijski vezani za organsku materiju iz koje se postepeno oslobođaju u

<sup>1</sup>Univerzitet Crne Gore, Biotehnički fakultet, Mihaila Lalića 1, 81000 Podgorica

procesu mineralizacije (Džamić, 2000). Međutim, stvarni značaj organskih đubriva je daleko veći jer se njima značajno popravlja struktura zemljišta, vazdušni, vodni i topotni režim (Sial i sar., 2007). Zbog svega navedenog, ali i mogućih negativnih efekata koje može da izazove nekontrolisana primena mineralnih đubriva, organska đubriva predstavljaju veoma važan oslonac proizvodnje zdravstveno bezbjedne sirovine, pogodne za izvoz (Ghobrial, 2006).

Obzirom na nedostatak iskustava i rezultata o uticaju organskih đubriva na prinos i kvalitet grožđa sorte kratošija, postavljeni su ogledi sa ciljem da se odaberu najbolje vrste đubriva, čijom bi se primjenom osigurali redovni i kvalitetni prinosi ove za Crnu Goru veoma važne crvene sorte vinove loze.

### Materijal i metod rada

Ispitivanja su obavljena u periodu 2015-2016 godine na oglednom imanju Biotehničkog fakulteta u Podgorici. Ispitivanja su obavljena na sorti kratošija koja je kalemljena na podlozi Kober 5BB. Razmak između redova vinove loze iznosio je 2,5 m, a razmak između čokota u redu 1 m. Uzgajni oblik je dvokraka kordunica visine oko 80 cm.

Ogledom su obuhvaćene sljedeće varijante:

1. Kontrola - bezđubrenja,
2. NPK (8:16:24)-0,5 t ha-1,
3. Govedistajnjak- 20 t ha-1,
4. Živinskstajnjak-10 t ha-1 i
5. Treset-10 t/ha.

Ogledi su izvedeni u tri ponavljanja, sa po šest čokota u svakoj varijanti ispitivanja. Odabrani čokoti u svim godinama istraživanja su orezivani po istom kriterijumu, primjenom mješovite rezidbe sa po dva luka od 8 okaca i dva kondira od po dva okca.

Prinos grožđa je dobijen mjeranjem ubranog grožđa, amasa grozda je utvrđena iz odnosa ostvarenog prinsa sa šest čokota i broja grozdova. Kvalitet grožđa utvrđen je na osnovu sadržaja šćerica i ukupnih kiselina u širi. Udio šćerica u grožđanom soku određen je areometrijski (Ekslovim širomjerom), a udio ukupnih kiselina u grožđanom soku neutralizacijom svih kiselina i njihovih soli n/10 rastvorom NaOH primjenom indikatora bromtimol plavo. Podaci su obrađeni analizom varijanse za potpuno slučajan blok sistem. Značajnost razlika utvrđena je pomoću lsd testa.

### Rezultati i diskusija

**Prinos grožđa** kao absolutni pokazatelj rodnosti zavisi od velikog broja činilaca među kojima se kao najvažniji izdvajaju biološka osobenost sorte, uslovi ishrane i ekološki uslovi koji vladaju u rejonima proizvodnje (Popović, 2012). Najveći prinos grožđa u proučavanom periodu imale su varijante sa govedim stajnjakom (3,66 kg/čok) i živinskim stajnjakom (3,50 kg/čok), dok je najmanji prinos utvrđen kod varijante bez đubrenja-3,10 kg/čok. Na površinama đubrenim sa mineralnim đubrivotom ostvaren je prinos od 3,34 kg/čok.

Tab. 1. Prinos grožđa (kg/čok)  
*Tab. 1. Grape yield (kg/vine)*

God. <i>Year</i>	Kontrola <i>Control</i>	NPK 8:16:24	Govedi stajnjak <i>Cattle manure</i>	Živinski stajnjak <i>Poultry manure</i>	Treset <i>Peat</i>
2015.	3,20	3,43	3,80	3,60	3,30
2016.	3,00	3,25	3,50	3,40	3,18
Prosjek/Average	3,10	3,34	3,66	3,50	3,24
Prinosgrožđa/ <i>Grape yield</i>	2015.		2016.		2015-2016
	LSD 0,05	LSD 0,01	LSD 0,05	LSD 0,01	LSD 0,05
	0,418	-	0,336	-	0,381

I pored ispoljenih razlika u prinosima grožđa između različitih varijanti ishrane, samo je varijanta sa govedim stajnjakom imala značajno veći prinos u odnosu na kontrolu i varijantu sa tresetom, dok su ostale razlike bile bez statističke značajnosti. Prinos grožđa kod svih varijanti ishrane bio je u granicama koje za sortu kratošija navode brojni autori Pejović (1988), Uličević (1966), Burić (1995).

**Masa grozda** je u osnovi biološko svojstvo sorte koje u značajnoj mjeri zavisi od agroekoloških uslova proizvodnog rejona (Cindrić, 2000). Variranje ovog obilježja u zavisnosti od varijante ishrane predstavljeno je u tabeli 2. Kontrola je u dvogodišnjem prosjeku imala najmanju prosječnu masu grozda od svega 198 g, dok je najveća masa grozda bila kod varijante sa govedim stajnjakom (237 g).

Tab. 2. Masa grozda (g)  
*Tab. 2. Grape cluster weight (g)*

God. <i>Year</i>	Kontrola <i>Control</i>	NPK 8:16:24	Govedi stajnjak <i>Cattle manure</i>	Živinski stajnjak <i>Poultry manure</i>	Treset <i>Peat</i>
2015.	202	216	249	221	217
2016.	194	203	229	208	210
Prosjek/Average	198	209	237	214	213
Masagrozda/ <i>Grape cluster weight</i>	2015.		2016.		2015-2016
	LSD 0,05	LSD 0,01	LSD 0,05	LSD 0,01	LSD 0,05
	10,649	14,556	10,304	14,084	10,9

Na površini đubrenoj sa mineralnim đubrivom ostvarena je masa grozda od 209 g što je za 11 g više od kontrole i razlika je ocjenjena kao statistički značajna. Značajna je i razlika između svih pručavanih varijanti sa organskim đubrивимa u odnosu na varijantu bez đubrenja.

Prosječna masa grozda u ovim istraživanjima bila je na nivou vrijednosti koje za sortu kratošija u istim agroekološkim uslovima navodi Uličević (1966), Pejović (1988), Maraš i sar. (2012). Prema Buriću (1995) prosječna masa grozda sorte kratošija kreće se u granicama od 200 do 270 g, što je u ovim proučavanjima i potvrđeno.

**Sadržaj šećera u širi**-Optimalna mineralna ishrana je od suštinskog značaja za postizanje većeg sadržaja ugljenih hidrata u grožđu. Od makroelemenata najveći značaj imaju kalijum i fosfor, a u određenim optimalnim granicama i azot (Popović, 2007). Iz rezultata datih u tabeli 3. može se vidjeti da su u proučavanim godinama primjenjena đubriva značajno uticala na hemijski sastav bobice, odnosno na sadržaj šećera i kiselina u širi. U dvogodišnjem projektu varijanta bez đubrenja je imala najmanji sadržaj šećera-22,25%, dok je najveći sadržaj izmjerena kod varijanti sa tresetom-23,90% i živinskim stajnjakom-23,40%. Varijanta sa tresetom imala je značajno veći sadržaj šećera u odnosu na sve ispitivane varijante ishrane. Kod varijante sa živinskim stajnjakom sadržaj šećera u širi bio značajno veći u odnosu na kontrolu i varijantu sa primjenom mineralnog đubriva (22,80%).

Tab. 3. Sadržaj šećera u širi (%)  
Tab. 3. Sugar content in must(%)

God. Year	Kontrola <i>Control</i>	NPK 8:16:24	Govedi stajnjak <i>Cattle manure</i>	Živinski stajnjak <i>Poultry manure</i>	Treset <i>Peat</i>
2015.	22,60	23,00	23,10	23,80	24,20
2016.	21,90	22,60	22,80	23,00	23,60
Projek/Average	22,25	22,80	22,95	23,40	23,90
Sadržaj šećera u širi/ Sugar content in must		2015.	2016.	2015-2016	
		LSD 0,05	LSD 0,01	LSD 0,05	LSD 0,01
		0,681	0,290	0,591	0,806
				0,418	0,572

Na površini koja je đubrema govedim stajnjakom sadržaj šećera je iznosio 22,95% i bio je značajno veći samo u odnosu na kontrolu. Rezultati istraživanja su u saglasnosti sa rezultatima Popović (2010) koja je kod sorte Vranac takođe utvrdila značajno povećanje sadržaja šećera u širi pri upotrebi organskih đubriva.

**Sadržaj kiselina u širi** je važan pokazatelj kvaliteta od kojeg zavisi ukus i harmoničnost grožđa (Popović, 2012). Zbog specifičnih pedoklimatskih uslova grožđe proizvedeno u južnim dijelovima Crne Gore odlikuje se visokim sadržajem šećera i niskim sadržajem kiselina. Podaci prikazani u tab. 4 pokazuju da su različite varijante ishrane pokazale značajan uticaj na sadržaj ukupnih kiselina u širi.

U dvogodišnjem projektu statistički značajno povećanje kiselina u širi utvrđeno je na varijantama sa primjenom organskih đubriva (treset - 6,65 g/l i živinski stajnjak-6,40 g/l). Najmanji sadržaj izmjerena je na varijanti bez đubrenja (5,75 g/l). Na površini đubrenoj mineralnim đubrovom sadržaj kiselina iznosio je 6,0 g/l. Do sličnih rezultata došla je i Popović (2010) ispitujući uticaj različitih vrsta i kombinacija đubriva na kvalitet grožđa sorte Vranac.

Rezultati ovih ispitivanja pokazali su da je prosječan sadržaj kiselina u širi bio u granicama koje za ovu sortu, u istim agroekološkim uslovima, navode i drugi autori Pajović i sar. (2014) i Maraš i sar. (2012).

Tab. 4. Sadržaj kiselina u širi (g/l)

Tab. 4. Acid content in must (g/l)

God. Year	Kontrola <i>Control</i>	NPK 8:16:24	Govedi stajnjak <i>Cattle manure</i>	Živinski stajnjak <i>Poultry manure</i>	Treset <i>Peat</i>
2015.	5,80	6,10	6,30	6,45	6,80
2016.	5,70	5,95	6,10	6,35	6,50
Prosjek/Average	5,75	6,00	6,20	6,40	6,65

Sadržajkiselina u širi/ Acid content in must	2015.		2016.		2015-2016	
	LSD 0,05	LSD 0,01	Ilsd 0,05	Ilsd 0,01	Ilsd 0,05	Ilsd 0,01
	0,661	-	0,591	-	0,468	0,638

### Zaključak

- Na prinos grožđa različite varijante ishrane su ispoljile značajan uticaj. Prinosi grožđa po varijantama ishrane bili su zadovoljavajući za odgovarajući način špalirskog gajenja sorte kratošija. Najveći prinos imala je varijanta sa govedim stajnjakom, dok je najmanji prinos zabilježen kod kontrole.
- Primjena mineralnog, kao i različitih vrsta organskih đubriva je pozitivno uticala na prosječnu masu grozda sorte kratošija. Sve varijante ishrane imale su veću prosječnu masu grozda u odnosu na kontrolu. Najveću masu grozda u trogodišnjem projektu imala je varijanta sa govedim stajnjakom.
- Sve varijante sa primjenom organskih i mineralnog đubriva ispoljile su pozitivan efekat na sadržaj šećera i kiselina u grožđanom soku.
- S obzirom na veoma mali broj dostupnih informacija vezanih za đubrenje vinove loze organskim đubrivima ova istraživanja treba nastaviti i u narednom periodu.

### Literatura

- Burić, D. (1995). Savremeno vinogradarstvo. Nolit. Beograd.
- Cindrić, P., Nada Korać, Kovač, V. (2000). Sorte vinove loze, Novi Sad.
- Džamić Ružica, Stevanović, D. (2000). Agrohemija, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Beogradu.
- Gobrial, S. F. (2006). Minimizing mineral fertilizers in vineyards to reduce the chemical residues in grapes. M. Sc. thesis. Institute of Environmental studies and Research. Ain Shams Univ. Egypt. pp: 67.
- Korać, N. (2011). Organsko vinogradarstvo. Zadužbina Andrejević. Beograd. Serbia. 55
- Maraš V. (2012). Yield and oenological potential of Montenegrin autochthonous grape varieties 'kratošija' and 'žižak', Journal of Hygienic Engineering and Design, vol. 8, pp. 158-162.
- Pajović R., Raičević D., Sivilotti Popović T., Lisjak K., Vanco A. (2014). Polyphenol Characterisation of Vranac, Kratosija and Cabernet sauvignon (*Vitis vinifera L. cv.*) Grapes and Wines from Vineyard Locations in Montenegro. Afr. J. Enol. Vitic. 35, (1), 134-143.

- Pejović Lj. (1988). Ampelografska proučavanja varenjeteta kratošije. Jugoslovensko vinogradarstvo i vinarstvo, br. 3-4, Beograd, Serbia.
- Popović, T. (2007). Uticaj đubrenja i navodnjavanja na biološke i tehnološke osobine vinove loze sorte vranac. Doktorska disertacija. Univerzitet u Novom Sadu. Poljoprivredni fakultet.
- Popović Tatjana (2010). Uticaj đubrenja i navodnjavanja na visinu i kvalitet prinosa sorte vranac, Zbornik radova, str. 363-370, Neum.
- Popović, T., S. Mijović, D. Raičević and R. Pajović (2012). Effect of fertilization and irrigation on the elements of yield of the wine grape variety Vranac. Journal of Agricultural sciences. 57 (2): 81-89. University of Belgrade. Faculty of Agriculture.
- Savić S. (2003). Ekološki uslovi i autohtone sorte vinove loze u Crnoj Gori. Plantaže, Podgorica, Montenegro, pp. 242-266.
- Sial, R. A, E. H. Chuadhy, S. Hussain, M. Naveed (2007). Effect of organic manures and chemical fertilizers on grain yield of maize in rainfed area. Soil Environ. 26.
- Uličević, M. (1966). Prilog proučavanju osobina najvažnijih sorata vinove loze u SR Crnoj Gori. Doktorska disertacija. Arhiv za poljoprivredne nauke, Beograd.

## THE INFLUENCE OF DIFFERENT TYPES OF FERTILIZERON YIELD AND QUALITY OF VINE VARIETY KRATOŠIJA

*Tatjana Popović<sup>1</sup>, Slavko Mijović, Gordana Šebek, Danijela Raičević, Radmila Pajović*

**Abstract:** The paper presents the results of a two - year study of the influence of mineral fertilizer and various types of organic fertilizers on the yield and quality of grapes of the variety Kratosija. Research was carried out in the sub-region of Podgorica, at the site of Lesjepolje. Five different variants of nutrition were applied: Control (without fertilization); NPK (8:16:24)-0.5 t ha<sup>-1</sup>, cattle manure - 20 t ha<sup>-1</sup>, poultry manure - 10 t ha<sup>-1</sup> and peat 10 t ha<sup>-1</sup>. The results of the research have shown that the application of fertilizers has positively influenced the average mass of the grape cluster and the yield of grapes of the kratosija variety. The highest cluster weight and yield of grapes in the two-year average had a variant with cattle manure (237g and 3.66 kg /plant). The applied fertilizers significantly influenced the quality of grapes. The highest content of sugar and acid in the must had variants with the use of peat (23.90% and 6.65 g/l).

**Key words:** Kratosija, fertilization, yield, grape quality

---

<sup>1</sup>Univerzitet Crne Gore, Biotehnički fakultet Podgorica, MihailaLalića 1, 81000 Podgorica

## ДА ЛИ ЈЕ МОГУЋЕ ГАЈЕЊЕ ТРЕШЊЕ У ГУСТОЈ САДЊИ НА БУЈНОЈ ПОДЛОЗИ ОД ДИВЉЕ ТРЕШЊЕ (*Prunus avium* L.)?

Томо Милошевић<sup>1\*</sup>, Небојша Милошевић<sup>2</sup>, Иван Глишић<sup>1</sup>

**Извод:** У раду су представљени резултати који се односе на давање одговора на питање о могућности комерцијалног гајења трешње у тзв. густој садњи (>1000 стабала  $\text{ha}^{-1}$ ) на бујној подлози од дивље трешње (*Prunus avium* L.). Одговори су тражени кроз деценијско (2008–2018. година) праћење вегетативног раста, продуктивности и основних физичких особина плода. Резултати за 2018. годину су показали да су сорте New Star, Summit и Lapins имале најбујнија стабла, док су најслабији вегетативни раст имале сорте Stark Hardy Giant и Sunburst. Највећи принос по стаблу и хектару је био код сорте Summit, а следе је Lapins и New Star, док је најмањи утврђен у сорте Stark Hardy Giant. Најбољи кумулативни принос је утврђен у сортаменту New Star и Sunburst, а најгори у сортаменту Stark Hardy Giant. Сорта Sunburst је имала најбољи коефицијент родности, а Summit и Germersdorfer најгори. Sunburst и Hedelfinger су сорте са најмањом крупноћом плода, а Summit и New Star са највећом. Утврђен је јак утицај генотипа на облик плода.

**Кључне речи:** бујност стабла, крупноћа плода, подлога, принос, сорта, трешња

### Увод

Према подацима FAOSTAT (2019), у свету је 2017. године произведено 2.443.407 t плодова трешње са 416.445 ha површина. Према истом извору, првих "топ 10" земаља највећих производача су Турска (627.132 t), САД (398.140 t), Иран (141.081 t), Узбекистан (136.609 t), Чиле (126.642 t), Италија (118.259 t), Шпанија (114.433 t), Грчка (89.600 t), Украјина (70.860 t) и Румунија (55.490 t). Према истом извору, те године је у Србији произведено 27.323 t на 4.613 ha.

У последњих двадесет година у нашој земљи су подигнути многи плантажни засади ове врсте воћа јер постоји интерес производача за њеним гајењем пошто је извозни артикал, пре свега на Руско тржиште, по релативно високој цени за килограм плодова. Примера ради, на територији града Чачка последњих година је посађено преко 53.000 стабала на близу (можда и више) 130 ha (Milošević i Milošević, 2017). У новим засадима, примењује се боља технологија гајења, сортимент је донекле модернизован, а подлоге су шаролике – од сејанаца дивље трешње и магриве, затим Colt па до неких из Gisela серије (Gisela 5 и 6), MaxMa 14, Piku серија (1, 4) и др. Ипак, и даље као подлоге доминирају сејанци од дивље трешње. Садни материјал на тзв. светским подлогама је углавном из иностранства или земаља у окружењу (Хрватска) чиме се чини значајан допринос њиховом

<sup>1</sup>Катедра за воћарство и виноградарство, Агрономски факултет у Чачку, Универзитет у Крагујевцу, Цара Душана 34, 32000 Чачак, Република Србија ([tomomilosevic@kg.ac.rs](mailto:tomomilosevic@kg.ac.rs));

<sup>2</sup>Одељење за помологију и оплемењивање воћака, Институт за воћарство Чачак, Краља Петра I/9, 32000 Чачак, Република Србија.

платном билансу ([лична комуникација](#)). Оправдање је да се у Србији не могу набавити саднице на тим подлогама.

Одсуство знања и искуства који повлаче за собом одступање од потребних технолошких мера, пре свега технике резидбе, наводњавања и исхране, изазвало је добијање релативно високих приноса, али са ситним плодовима који не задовољавају захтеве тржишта у погледу крупноће, односно минималног пречника плода за раније ( $\geq 21$  mm) или  $\geq 24$  mm за средње и позне сорте трешње ([Milošević et al., 2014](#)).

У новим комерцијалним засадима трешње у Европи, САД, Чилеу, Аустралији и др. дефинитивно је учињен прелазак на тзв. полугусту и густу садњу, наравно уз употребу средње бујних, а посебно кркљавих подлога. Разлози за подизање засада са бројем биљака  $>1.000$  су бројни, а најзначајнији су: 1) растуће плате (наднице) радницима, 2) велики засади, а мало стручног особља, 3) недостатак радне снаге, посебно за резидбу и бербу, 4) механизована резидба и проређивање плодова, 5) лакша заштита од града, мраза, кишне и трешњине муве (противградне мреже), и 6) бољи резултати примењених пестицида и фолијарних ћубрива ([Balmer, 2016](#)). Узгојни облици у поменутим земљама и континентима су различите модификације вретена (Steep Leader, Tall Spindle Axe, Super Slender Axe), Шпански грм (Spanish Bush), његова аустралијска модификација (Kum Green Bush), UFO (Upright Fruiting Offshoots), UFO-Y trellis, Vogel Central Leader у САД или Zahn Spindle у Немачкој и др. ([Сл. 1](#)) ([Long et al., 2015; Balmer, 2016](#)).

Узимајући у обзир претходне наводе, основни циљ овог рада је да се утврди у ком степену је могућа контрола бујности стабала осам сорти трешње на подлози од дивље трешње у густој садњи, њихове продуктивности и основних физичких особина плода у еколошким условима Чачка у десетој години после садње.

## Материјал и методе рада

Засад у коме је заснован оглед је подигнут крајем октобра 2008. у селу Прислоница ( $43^{\circ}33'N$  и  $16^{\circ}21'E$ , 300 m n/m) недалеко од Чачка. За садњу су употребљене једногодишње саднице осам сорти трешње [Stark Hardy Giant (SHG), June Early, Hedelfinger, New Star, Summit, Lapins, Sunburst и Germersdorfer] на подлози од дивље трешње (*Prunus avium* L.). Размак садње је  $4 \times 2$  m, а узгојни облик је Zahn-ovo vreteno ([Zahn, 1991](#)). Огледом је обухваћено 6 стабала сваке сорте у четири понављања. Рутинске мере неге засада су примењене од почетка реализације огледа изузев наводњавања.

Земљиште у засаду је смоница киселе реакције ( $pH_{KCl}$  4.71), релативно добро обезбеђено органском материјом и укупним азотом, сиромашно садржајем P, K, Ca, Mg, В и Zn, док је садржај Mn, Cu и Fe био изнад оптималних вредности. Основни климатски чиниоци за наведени период су се кретали у границама вишедеценијских просека, изузев 2012. и 2014. године, када је регистрован екстремни изостанак, односно велики сувишак падавина, током вегетације.

Испитивањима у десетој години по садњи је обухваћена оцена бујности праћена преко површине попречног пресека дебла ( $cm^2$ ), затим приносне категорије - принос по стаблу (kg) и хектару (t), кумултивни принос за период

2010-2018. година (kg), коефицијент родности ( $\text{kg cm}^{-2}$ ) и главне физичке особине плода – маса (g), пречник (cm), рандман (%) и сферичност (облик плода).

Целокупна мерења су обављена употребом потребне опреме и уређаја и на начин и по методологији описаној у нашим претходним радовима на трешњи (Milošević et al., 2014, 2016). Обзиром да су резултати истраживања за период 2008-2017. година публиковани у нашим ранијим радовима (Milošević i Milošević, 2017), овом приликом су представљени они из 2018., изузев кумулативног приноса који је утврђен за период 2010-2018. година.

Добијени подаци су обрађени једносмерном анализом варијансе (ANOVA), а средине су тестиране тестом најмање значајних разлика (LSD) за  $P \leq 0.05$  коришћењем софтверског пакета Microsoft Corp., Redmond, WA, USA.

## Резултати истраживања и дискусија

### Бујност стабла и продуктивност

Подаци приказани у таб. 1 показују да се стабла сорти трешње значајно разликују по бујности. Далеко највећа вредност је утврђена код сорте New Star, затим код сорти Summit и Lapins, док су најкркљавија стабла после 10 година од садње имале сорте Stark Hardy Giant и Sunburst. Са тог становишта, последње две сорте од испитиваних 8 сорти имају најбољи потенцијал за гајење на овај начин.

Табела 1. Површина попречног пресека дебла, принос по стаблу и хектару и кумулативни принос

Table 1. Trunk cross sectional area, yield per tree and hectare and cumulative yield

Сорта <i>Cultivar</i>	ПППД* <i>TCSA</i> ( $\text{cm}^2$ ) Година – Year 2018	Принос по стаблу <i>Yield per</i> <i>tree</i> (kg) Година – Year 2018	Принос по хектару <i>Yield per</i> <i>hectare</i> (t) Година – Year 2018	Кумулативни принос <i>Cumulative</i> <i>yield</i> (t) (2010–2018)
Stark H. Giant	98.93 ± 4.30 f	2.88 ± 0.20 e	3.60 ± 0.25 e	19.82 ± 0.48 e
Early June	130.32 ± 2.84 d	5.39 ± 0.33 d	6.74 ± 0.41 d	24.18 ± 0.83 c
Hedelfinger	112.70 ± 5.69 e	5.43 ± 0.33 d	6.78 ± 0.41 d	32.97 ± 1.16 b
New Star	168.95 ± 3.45 a	7.81 ± 0.41 b	9.76 ± 0.51 b	42.92 ± 1.95 a
Summit	157.31 ± 2.86 b	11.93 ± 0.36 a	14.91 ± 0.44 a	23.06 ± 1.39 cd
Lapins	156.93 ± 3.18 b	7.87 ± 0.39 b	9.84 ± 0.49 b	30.55 ± 1.04 b
Sunburst	94.70 ± 5.50 g	6.40 ± 0.25 c	8.00 ± 0.31 c	41.77 ± 1.05 a
Germersdorfer	151.29 ± 2.55 c	6.30 ± 0.21 c	7.87 ± 0.26 c	22.19 ± 0.75 d

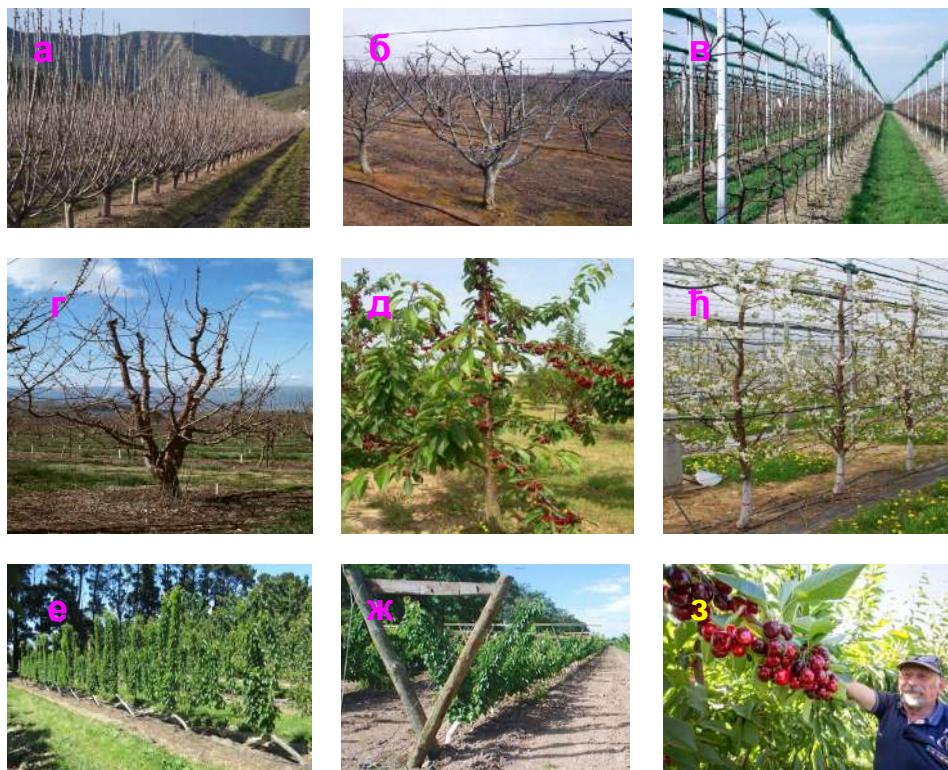
\*ПППД: површина попречног пресека дебла

\*TCSA: trunk-cross sectional area

Иста мања слова у колони означавају случајне разлике између средина по LSD тесту за  $P \leq 0.05$

Same small letter(s) in column indicate non significant differences between means by LSD test at  $P \leq 0.05$

Слична тенденција бујности стабала поменутих сорти је забележена и у млађим фазама раста што говори о њиховој генетској предиспозицији за ову особину (Milošević i Milošević, 2017).



Сл. 1. Модерни узгојни облици за трешњу: а) Kym Green Bush, б) Spanish Bush, в) Super Slender Axe, г) Steep Leader, д) Central Leader (Vogel Central Leader), ђ) Tall Spindle Axe, е) Upright Fruiting Offshoots (UFO), ж) UFO-Y trellis, з) родна гранична са плодовима (Long et al. 2015).

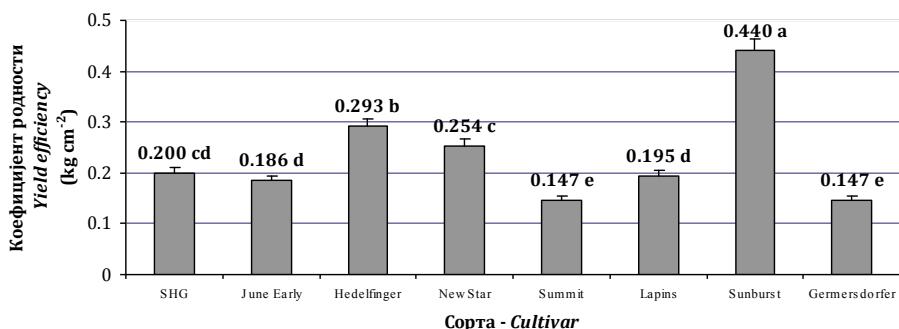
*Picture 1. Modern training system of sweet cherry: a) Kym Green Bush, b) Spanish Bush, v) Super Slender Axe, g) Steep Leader, d) Central Leader (Vogel Central Leader), đ) Tall Spindle Axe, e) Upright Fruiting Offshoots (UFO), ж) UFO-Y trellis, з) bearing shoot with fruits (Long et al. 2015).*

Сорте са бујним стаблом на овој подлози могу се препоручити за гајење на замореним земљиштима, затим на оним слабијих продуктивних особина или у монокултури, односно поновној садњи на истом месту (Cantin et al., 2010).

Највећи принос по стаблу и јединици површине у последњој години огледа утврђен је неочекивано код сорте Summit јер је у претходним годинама показивала слабу родност (таб. 1). Ова особина је раније констатована у поменуте

сорте што значи да она споро улази у фазу економски оправдане родности (Santos et al., 2004). Добар принос је констатован и у сорти Lapins и New Star, а изненађујуће најслабији у сорте SHG која је у условима Шпаније показала солидне производне резултате на бујним подлогама (Cantín et al., 2010). Обзиром на то, чини се да еколошки фактор, у овом случају земљиште, сем подлоге и мера неге, у значајној мери одређује продуктивност одређеног генотипа трешње. López-Ortega et al. (2016) такође наводе добар принос сорте New Star у условима Шпаније. Иначе, варирање приноса из године у годину за период 2010-2018. година је варирало између сорти, али и код исте сорте у значајној мери (подаци нису приказани). Иначе, пројектован принос по стаблу за размак садње коришћен у овом огледу би требало да се креће између 14 и 16 kg (Mićić i sar., 2008).

Коефицијент родности је значајан показатељ продуктивности трешње и осталих врста воћа који комбинује принос и бујност. Веће вредности показују боље продуктивне особине и обрнуто.



Граф. 1. Кумулативни принос испитиваних сорти трешње

Fig. 1. Yield efficiency of evaluated sweet cherry cultivars

Најбоља вредност коефицијента родности је утврђена код сорте Sunburst, а најгора и статистички истоветна код сорти Summit и Germersdorfer (Граф. 1). Слично понашање је утврђено и у ранијим годинама (Milošević et al., 2016, Milošević i Milošević, 2017), што је у складу са резултатима до којих су дошли и други аутори посебно за сорту Summit на дивљој трешњи која је у условима области Виља Реал (Португалија) имала ниске вредности коефицијента родности од четвртог до шестог листа (Santos et al., 2004).

### Физичке особине плода

Подаци приказани у таб. 2 показују да су главне физичке особине плода значајно варирале по сортама. Као што је одавно познато, маса плода је најзначајнија помошњка и генетички контролисана особина од које посредно и непосредно зависе и остale, а посебно принос и прихватљивост од стране потрошача (Crisosto et al., 2003). По дефиницији је у негативној корелацији са

приносом иако у литератури постоје подаци да није било корелације између ових особина код трешње ([Cantin et al., 2010](#)). Последњих година прошлог века идеална маса плода која је тржишно прихватљива требало је да се креће између 11 и 12 g ([Kappel et al., 1996](#)), међутим, према најновијим тржишним тенденцијама, пожељне су сорте са масом  $\geq 13$  g.

У нашем раду највећу и сличну масу плода су имале сорте Summit и New Star, а најмању и такође статистички сличну масу су имале сорте Hedelfinger и Sunburst. То значи да ниједна од испитиваних сорти у нашем раду није имала горе поменуте масе плода. [Lopez-Ortega et al. \(2016\)](#) наводе да је просечна маса плода сорте New Star у условима Мурсије у Шпанији имала просечну масу између 7.3 и 9.4 g, док [Lanauskas et al. \(2012\)](#) истичу да је просечна маса плода сорте Lapins у условима Литваније износила 7 g што је у оба случаја мање од наших вредности. Слично је и са сортом Summit која је у условима Јалове у Турској имала масу плода од 9.94 g ([Hayaloglu i Demir, 2015](#)).

Табела 2. Физичке особине плода трешње

*Table 1. Fruit physical properties of sweet cherry*

Сорта <i>Cultivar</i>	Маса плода <i>Fruit weight</i> (g)	Пречник плода <i>Fruit diameter</i> (mm)	Рандман плода <i>Flesh rate</i> (%)	Облик плода <i>Sphericity</i>
Stark H. Giant	$9.30 \pm 0.17$ bc	$26.98 \pm 0.19$ c	$95.26 \pm 0.17$ c	$1.06 \pm 0.00$ a
Early June	$8.44 \pm 0.17$ de	$25.56 \pm 0.18$ d	$95.66 \pm 0.17$ bc	$1.00 \pm 0.00$ d
Hedelfinger	$6.61 \pm 0.17$ f	$22.92 \pm 0.18$ e	$95.13 \pm 0.19$ cd	$0.97 \pm 0.01$ e
New Star	$10.06 \pm 0.20$ ab	$28.13 \pm 0.22$ b	$96.93 \pm 0.16$ a	$1.04 \pm 0.00$ b
Summit	$10.28 \pm 0.26$ a	$28.67 \pm 0.29$ a	$96.02 \pm 0.11$ b	$1.01 \pm 0.00$ cd
Lapins	$9.21 \pm 0.23$ cd	$26.79 \pm 0.24$ c	$95.41 \pm 0.15$ c	$1.02 \pm 0.00$ c
Sunburst	$6.56 \pm 0.29$ f	$22.25 \pm 0.38$ e	$94.72 \pm 0.27$ d	$0.93 \pm 0.01$ f
Germersdorfer	$8.38 \pm 0.16$ e	$25.39 \pm 0.19$ d	$96.00 \pm 0.14$ b	$1.01 \pm 0.00$ cd

Иста мала слова у колони означавају случајне разлике између средина по LSD тесту за  $P \leq 0.05$   
*Same small letter(s) in column indicate non significant differences between means by LSD test at  $P \leq 0.05$*

Много значајнија особина у трговини плодовима трешње је пречник (дијаметар) плода ([Whiting et al., 2005; Hajagos et al., 2012](#)). Ова особина је толико важна, при чему разлика од само 2 mm за свеже плодове трешње може донети финансијску разлику између добити и губитка ([Whiting et al., 2005](#)). У нашем раду, највећа је била код сорте Summit, затим код New Star, а најмања и слична код сорти Hedelfinger и Sunburst што се доводи у везу са позитивном корелацијом између масе и пречника плода. Према [UNECE Standard \(2007\)](#) на међународном нивоу све више су цењене сорте са крупним плодовима, јер се само плодови пречника  $\geq 26$  mm могу сврстати у I квалитетну категорију, узимајући у обзир и време зрења. Наиме, по правилу сорте ранијег периода зрења имају мању крупноћу плода. Међутим, новије информације показују још оштрије критеријуме, односно пречник  $\geq 28$  mm. У условима Српског тржишта, бар за 2018. годину, још увек су владали нижи стандарди, односно  $\geq 21$  mm за Burlat и

сорте сличног времена зрења, односно  $\geq 24$  mm за остале (примедба аутора). У нашем раду плод код две сорте је имао пречник  $\geq 28$  mm, код 5 сорти  $\geq 26$  mm, односно 6 сорти је имало пречник плода  $\geq 24$  mm.

Већи рандман мезокарпа је пожељна категорија од стране потрошача, посебно ако се плодови користе у преради (Milošević et al., 2014). Најбоље вредности су утврђене код сорте New Star, а најслабије код сорте Sunburst. Сличне вредности рандмана мезокарпа за неке сорте, као што је примера ради Lapins, наводе и остали аутори (Usenik et al., 2010).

Облик плода је у основи детерминисан његовом сферичношћу, односно представља индекс његове заобљености (Mohsenin, 1980). Неколико сорти као што су Early June, Summit и Germersdorfer имају округласт плод пошто је вредност индекса око 1, док сорте Hedelfinger и Sunburst имају благо издужен срчаст облик плода, јер је вредност овог индекса  $<1$ . Остале сорте имају благо спљоштен облик плодова ( $>1$ ). Највећа вредност овог индекса у нашем раду је утврђена у сорте SHG, а најмања у сорте Sunburst. Неке студије показују да су међу потрошачима пожељне сорте трешње чији плодови имају крађу петельку, крупан и спљоштен плод и сјајно црвену покожицу (Crisosto et al., 2003; Pérez-Sánchez et al., 2010).

### Закључак

Резултати добијени у овом раду показују статистички значајна варирања бујности стабла, продуктивности и најзначајнијих физичких особина плода, односно веома јак утицај генотипа на ове особине. После 10. година од садње бујност се у засаду држи под контролом, висина стабала је 3.5-4.0 m у просеку, а принос као и крупноћа плода су на релативно задовољавајућем нивоу. Мишљења смо да је овај модел гајења испитиваних сорти трешње на подлози од дивље трешње могућ у пракси али у сличним еколошким условима. Такође сматрамо да је уз корекцију технике резидбе и примену наводњавања и исхране, посебно фолијарне, у периоду од прецветавања до пред бербу могуће побољшати продуктивност и крупноћу плода. На крају, резидба и берба су значајно олакшани.

### Литература

- Balmer M. 2016. Training options and rootstock choice for modern sweet cherry orchards. Czech Sweet Cherry Day, 29-30 June 2016, Holovousy, Czech Republic.
- Cantín C.M., Pinochet J., Gogorcena Y., Moreno M.A. 2010. Growth, yield and fruit quality of 'Van' and 'Stark Hardy Giant' sweet cherry cultivars as influenced by grafting on different rootstocks. *Scientia Horticulturae*, 123 (3):329–335.
- Crisosto C.H., Crisosto G.M., Metheney P. 2003. Consumer acceptance of Brooksand Bing cherries is mainly dependent on fruit SSC and visual skin color. *Postharvest Biology and Technology*, 28:159–167.
- FAOSTAT. 2019. Available at: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> () .
- Hajagos A., Spornberger A., Modl P., Vegvari G. 2012. The effect of rootstocks on the development of fruit quality parameters of some sweet cherry (*Prunus avium* L.)

- cultivars, 'Regina' and 'Kordia', during the ripening process. *Acta Universitatis Sapientiae, Agriculture and Environment*, 4:59–70.
- Hayaloglu A.A., Demir N. 2015. Physicochemical characteristics, antioxidant activity, organic acid and sugar contents of 12 sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars grown in Turkey. *Journal of Food Science*, 80:564–570.
- Kappel F., Fisher-Fleming B., Hogue E. 1996. Fruit characteristics and sensory attributes of an ideal sweet cherry. *HortScience*, 31 (3): 443–446.
- Long L., Lang G., Musacchi S., Whiting M. 2015. Cherry training system. A Pacific Northwest Extension Publication, PNW 667, Oregon State University, pp. 1–63.
- López-Ortega G., García-Montiel F., Bayo-Canha A., Frutos-Ruiz C., Frutos-Tomás D. 2016. Rootstock effects on the growth, yield and fruit quality of sweet cherry cv. 'Newstar' in the growing conditions of the Region of Murcia. *Scientia Horticulturae*, 198:326–335.
- Milošević T., Milošević N. (2017). Bujnost stabla, prinos i krupnoća ploda trešnje (*Prunus avium* L.) u gustoj sadnji. Zbornik naučnih radova sa XXXI Savetovanja "Unapredjenje proizvodnje voća i grožđa", Institut PKB Agroekonomik, Beograd, 23 (5):1–8.
- Milošević T., Milošević N., Milivojević J., Glišić I., Nikolić R. 2014. Experiences with Mazzard and Colt sweet cherry rootstocks in Serbia which are used for high density planting system under heavy and acidic soil conditions. *Scientia Horticulturae*, 176 (12): 261–272.
- Milošević T., Milošević N., Glišić I. 2016. The Behavior of Some Sweet Cherry Cultivars on Mazzard Rootstock on Heavy and Acidic Soil. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 81 (2):71–76.
- Mićić N., Đurić G., Cvetković M., Marinković D. 2008. Savremeni sistemi gajenja trešnje. Zbornik naučnih radova sa XXIII Savetovanja "Unapredjenje proizvodnje voća i grožđa", Institut PKB Agroekonomik, Beograd, 14 (5):33–47.
- Mohsenin N.N. 1980. Physical Properties of Plant and Animal Materials. Gordonand Breach Science Publishers Inc., New York, pp. 51–87.
- Pérez-Sánchez R., Gómez-Sánchez M.A., Morales-Corts M.R. 2010. Description and quality evaluation of sweet cherries culture in Spain. *Journal of Food Quality*, 33:490–506.
- Santos A., Santos-Ribeiro R., Cavalheiro J., Cordeiro V., Lousada J.-L. 2004. Initial growth and fruiting of 'Summit' sweet cherry (*Prunus avium*) on five rootstocks. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 34 (3):269–277.
- UNECE Standard. 2007. FFV-13 concerning the marketing and commercial quality control of cherries. New York, Geneva.
- Usenik V., Fajt N., Mikulic-Petkovsek M., Slatnar A., Stampar F., Veberic R. 2010. Sweet cherry pomological and biochemical characteristics influenced by rootstock. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58:4928–4933.
- Whiting M.D., Lang G., Ophardt D. 2005. Rootstock and training system affect sweet cherry growth, yield, and fruit quality. *HortScience* 40:582–586.
- Zahn, F.G. 1991. Intensiver Steinobstanbau durch starkenbezogene aumbehandlung. Erfahrungen mit der Freien pindel im Anbau von Suesskirschen. *Gartenbau*, 37: 33–37.

## DOES THE GROWING OF SWEET CHERRY IS POSSIBLE IN A HIGH DENSITY ON THE VIGOUR MAZZARD ROOTSTOCK (*Prunus avium* L.)?

Tomo Milošević<sup>1\*</sup>, Nebojša Milošević<sup>2</sup>, Ivan Glišić<sup>1</sup>

### Abstract

The article presents the results related to the answer to the question of the possibility of commercial cultivation of sweet cherry in the so-called high dense planting system ( $> 1000 \text{ trees ha}^{-1}$ ) on a vigour Mazzard (*Prunus avium* L.) rootstock. Responses were asked over the decade (2008-2018) to the monitoring of vegetative growth, productivity and main fruit physical characteristics. The results showed that New Star, Summit and Lapins had the most vigorous trees, while the weakest vegetative growth had Stark Hardy Giant and Sunburst. The highest yield per tree and per hectare in 2018 was in Summit, followed by Lapins and New Star, while the smallest was found in Stark Hardy Giant. The best cumulative yield was found in New Star and Sunburst, and the worst in the Stark Hardy Giant. The Sunburst had the best yield efficiency coefficient, and Summit and Germersdorfer were the worst. Sunburst and Hedelfinger are the cultivars with the smallest fruits, and Summit and New Star with the largest. A strong influence of the genotype on the fruit shape was established.

**Key words:** tree vigour, fruit size, rootstock, yield, cultivar, sweet cherry

---

<sup>1</sup>Department of Fruit Growing and Viticulture, Faculty of Agronomy in Čačak, University of Kragujevac, Cara Dušana 34, 32000 Čačak, Republic of Serbia ([tomomilosevic@kg.ac.rs](mailto:tomomilosevic@kg.ac.rs));

<sup>2</sup>Department of Pomology and Fruit Breeding, Fruit Research Institute Čačak, Kralja Petra I/9, 32000 Čačak, Republic of Serbia.



## **OSOBINE NOVOSTVORENE STONE SORTE VINOVE LOZE - ANTONINA**

*Zorica Ranković-Vasić<sup>1</sup>, Dragoljub Žunić, Branislava Sivčev,  
Vera Rakonjac, Dragan Nikolić*

**Izvod:** Tokom trogodišnjeg perioda ispitivanja proučavane su najvažnije ampelografske i proizvodne karakteristike novostvorene stone sorte vinove loze Antonina, koja je dobijena iz kombinacije ukrštanja Muskat hamburg × Sejanac 108. Ona je u odnosu na proučavane osobine upoređivana sa standardnom sortom Muskat hamburg. Sorta Antonina znatno se razlikovala od sorte standard u pogledu pojedinih ampelografskih osobina. Od proizvodnih osobina, značajne razlike sorte Antonina u odnosu na sortu standard utvrđene su za dužinu grozda, širinu grozda i širinu bobice. Sorta Antonina ima poluotvoren vrh mladog lastara, trodelan list, hermafroditan tip cveta, rastresit grozd, usko eliptičan oblik bobice, plavo crnu boju pokožice i neutralan ukus. Prinos grožđa bio je 1,63 kg/m<sup>2</sup>, masa grozda 319,6 g, a masa bobice 3,46 g. Sadržaj šećera i ukupnih kiselina u širi iznosili su 17,7% odnosno 6,8 g/l. Sorta Antonina, kao interspecies hibrid, ispoljila je veoma visoku otpornost prema izazivačima najvažnijih gljivičnih bolesti (*Plasmopara viticola*; *Uncinula necator*; *Botrytis cinerea*). Zbog niza pozitivnih osobina, prvenstveno lepog i atraktivnog izgleda grozda i bobice i otpornosti na bolesti, od sorte Antonina se očekuje njeno širenje u proizvodne vinograde Srbije.

**Ključne reči:** vinova loza, nova sorta, prinos, kvalitet, otpornost

### **Uvod**

Stvaranje sorti sa izvesnom otpornošću na gljivične bolesti i štetočine može omogućiti uspešno gajenje vinove loze sa manje pesticida, čistiju čovekovu sredinu i dobijanje zdravijih plodova. Interspecies hibridizacija danas najznačajnija i najraširenija metoda za stvaranje novih sorti vinove loze u različitim oplemenjivačkim programima u svetu (Nikolić i sar., 2009; Gray i sar., 2014). Rad na stvaranju novih sorti vinove loze na Poljoprivrednom fakultetu, Univerziteta u Beogradu započet je još šezdesetih godina prošlog veka. U 2017. godini priznato je 5 novih sorti vinove loze među kojima je i sorta Antonina namenjena za stonu potrošnju.

Cilj ovog rada bio je da se prouče najvažnije ampelografske i proizvodne karakteristike sorte Antonina u uporednim ispitivanjima sa standardnom sortom Muskat hamburg, na osnovu kojih bi se preporučilo njeno širenje u vinogradima Srbije.

### **Materijal i metode rada**

---

<sup>1</sup>Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Nemanjina 6, 11080 Beograd-Zemun, Srbija (zoricarv@agrif.bg.ac.rs).

Kao materijal za ispitivanje korišćena je novostvorena stona sorte vinove loze Antonina koja je dobijena iz kombinacije ukrštanja Muskat hamburg × Sejanac 108. Najvažnije ampelografske i proizvodne karakteristike ove sorte upoređivane su sa sortom Muskat hamburg koja je poslužila kao standard. Ispitivane sorte su okalemljene na podlozi *Berlandieri* x *Riparia* Kober 5BB i posadene na rastojanju od 3,0 x 1,0 m u proleće 2012. godine na oglednom dobru „Radmilovac“, Poljoprivrednog fakulteta, Univerziteta u Beogradu. Na čokotima je formiran Gijov jednogubi uzgojni oblik, a u vinogradu su primenjivane standardne agro- i ampelotehničke mere. Svaka sorta u ogledu je bila zastupljena sa po 6 čokota koja su predstavljala ponavljanja. Ispitivanja su obavljena tokom tri proizvodne godine (2015-2017).

Ampelografske osobine mladog lastara, odraslog lista, cveta, grozda i bobice, kao i otpornost na bolesti utvrđene su pomoću odgovarajućih deskriptora za vinovu lozu (UPOV, 2008; OIV, 2009). Vreme zrenja određeno je na osnovu datuma berbe tj. vremena kada su bobice imale maksimalan sadržaj šećera. Prinos grožđa po jedinici površine utvrđen je računskim putem, na osnovu ukupnog broja čokota po hektaru i prosečnog prinosa grožđa po čokotu. Masa grozda određena je merenjem 10 grozdova na tehničkoj vagi (CAS-Shollex tip SHRE-122), a masa bobice merenjem 100 bobica na analitičkoj vagi (Tecator-6110 Ballance). Dužina i širina grozda utvrđene su merenjem pomoću lenjira, a dužina i širina bobice merenjem šublerom. Sadržaj šećera u širi određen je uz pomoć digitalnog refraktometra (PocketPAL-1, Atago, Japan), a sadržaj ukupnih kiselina u širi postupkom titracije sa rastvorom n/4 NaOH.

Otpornost na bolesti ispitivana je pod uslovima prirodne infekcije. Stepen otpornosti prema *Plasmopara viticola* određen je vizuelno tri nedelje posle početka cvetanja na osnovu procenata oštećenja svih listova sa 6 čokota. Napad *Uncinula necator* na plodu, na svim grozdovima sa 6 čokota, utvrđivan je pre početka sazrevanja i pre berbe grožđa. Pre berbe grožđa, na svim grozdovima sa 6 čokota utvrđena je i različita zastupljenost *Botrytis cinerea* na plodu.

Testiranje značajnosti razlika srednjih vrednosti sorte Antonina i sorte standard obavljeno je primenom t-testa, za nivoe značajnosti  $P < 0,05$  i  $P < 0,01$ . Analiza podataka je obavljena korišćenjem statističkog softverskog paketa Statistica, Version 8 (StatSoft, Inc., Tulsa, Oklahoma, USA).

### Rezultati istraživanja i diskusija

U pogledu ampelografskih osobina ispitivane sorte znatno su se razlikovale, ali su za neke osobine utvrđene i sličnosti među njima. Sorta Antonina imala je poluotvoren vrh mladog lastara, trodelan list, hermafroditan tip cveta, rastresit grozd, usko eliptičan oblik bobice, plavo crnu boju pokožice i neutralan ukus. Sa druge strane Muskat hamburg je imao otvoren vrh mladog lastara, petodelan list, jajast oblik bobice i muskatni ukus, po kojima se znatno razlikovao od sorte Antonina.

Vrednovanje standardnih ampelografskih karakteristika novih genotipova vinove loze na osnovu UPOV i OIV deskriptora na sličan način izvršili su i Nikolić i sar. (2015) i Dumitru i Antoce (2016), a ampelografski opis pojedinih organa sorte Muskat hamburg odgovara opisu koji su za ovu sortu dali Zirojević (1974), Cindrić i sar. (1994b) i Avramov i Žunić (2001). Oprea i sar. (1989) i Fangmei i Fengqin (1990)

navode da se pri stvaranju sorti sa krupnim grozdovima i bobicama i povišenim sadržajem šećera u ukrštanjima veoma mnogo koristi i sorta Muskat hamburg, koja pored navedenih uspešno predaje potomstvu i druge značajne osobine, što se pokazalo uspešnim i pri stvaranju sorte Antonina.

Iz podataka prikazanih u Tabeli 1 može se videti da je sorta Antonina imala približno slično vreme zrenja (18.09.) u poređenju sa sortom Muskat hamburg (16.09.). Uporedivanjem prinosa grožđa sorti Antonina i Muskat hamburg čije je ispitivanje izvršeno u jednakim uslovima gajenja može se videti da je prosečan prinos grožđa kod sorte Antonina iznosio  $1,63 \text{ kg/m}^2$ , i nije se značajnije razlikovalo od prinosa grožđa sorte Muskat hamburg koji je iznosio  $1,82 \text{ kg/m}^2$ . Ovo su sasvim zadovoljavajući prinosi za ove dve sorte, s obzirom da se radi o početnoj rodnosti koja je ispitivana u prvim godinama nakon sadnje. Masa grozda sorte Antonina (319,6 g) takođe se nije značajno razlikovala od mase grozda sorte Muskat hamburg (310,2 g). Sa druge strane, dužina i širina grozda sorte Antonina (21,9 cm; 15,3 cm) bili su značajno viši od dužine i širine grozda sorte Muskat hamburg (19,1 g; 14,2 cm).

Tabela 1. Vreme zrenja, prinos i osobine grozda novostvorene sorte Antonina i sorte standard (prosek, 2015-2017)

*Table 1. Ripening time, grape yield and bunch properties of newly created cultivar Antonina and standard cultivar (average, 2015-2017)*

Sorta Cultivar	Vreme zrenja Ripening time	Prinos grožđa (kg/m <sup>2</sup> ) Grape yield (kg/m <sup>2</sup> )	Masa grozda (g) Bunch weight (g)	Dužina grozda (cm) Bunch length (cm)	Širina grozda (cm) Bunch width (cm)
Antonina	18.09.	1,63	319,6	21,9**	15,3*
Muskat hamburg	16.09.	1,82	310,2	19,1	14,2

\*  $p<0,05$ ; \*\*  $p<0,01$ ; srednje vrednosti praćene zvezdicama pokazuju značajnost razlika sorte Antonina u odnosu na standard utvrđenih pomoću t-testa

\*  $p<0,05$ ; \*\*  $p<0,01$ ; means followed by stars show the significance of difference Antonina cultivar in relation to standard determined by t-test

Tabela 2. Osobine bobice i kvalitet šire novostvorene sorte Antonina i sorte standard (prosek, 2015-2017)

*Table 2. Berry properties and must quality of newly created cultivar Antonina and standard cultivar (average, 2015-2017)*

Sorta Cultivar	Masa bobice (g) Berry weight (g)	Dužina bobice (mm) Berry length (mm)	Širina bobice (mm) Berry width (mm)	Sadržaj šećera (%) Sugar content (%)	Sadržaj ukupnih kiselina (g/l) Total acid content (g/l)
Antonina	3,46	17,5	14,6**	17,7	6,8
Muskat hamburg	3,68	17,6	16,0	17,4	6,2

\*\*  $p<0,01$ ; srednje vrednosti praćene zvezdicama pokazuju značajnost razlika sorte Antonina u odnosu na standard utvrđenih pomoću t-testa

\*\*  $p<0.01$ ; means followed by stars show the significance of difference Antonina cultivar in relation to standard determined by t-test

Podaci prikazani u Tabeli 2 pokazuju da se prosečna masa bobice sorte Antonina (3,46 g) nije značajno razlikovala od mase bobice standardne sorte Muskat hamburg (3,68 g). Što se tiče dužine bobice ona je kod sorte Antonina iznosila 17,5 mm i bila je skoro na istom nivou sa dužinom bobice koja je utvrđena za sortu Muskat hamburg (17,6 mm), dok je širina bobice kod sorte Antonina (14,6 mm) bila značajno niža od širine bobice sorte Muskat hamburg (16,0 mm). Sadržaj šećera i ukupnih kiselina u širi sorte Antonina (17,7%; 6,8 g/l) nisu se značajno razlikovali od sadržaja šećera i ukupnih kiselina u širi sorte standard (17,4%; 6,2 g/l). Dobijeni odnos sadržaja šećera i ukupnih kiselina ukazuje na dobar kvalitet i ukus grožđa obe sorte.

Tabela 3. Otpornost na bolesti novostvorene sorte Antonina  
i sorte standard (prosek, 2015-2017)

Table 3. Resistance to deseases of newly created cultivar  
Antonina and standard cultivar (average, 2015-2017)

Sorta <i>Cultivar</i>	Osobina <i>Property</i>		
	Otpornost na <i>Plasmopara viticola</i> (list) <i>Resistance to</i> <i>Plasmopara viticola</i> (leaf) (OIV 452)	Otpornost na <i>Uncinula necator</i> (grozd) <i>Resistance to</i> <i>Uncinula necator</i> (cluster) (OIV 456)	Otpornost na <i>Botrytis cinerea</i> (grozd) <i>Resistance to</i> <i>Botrytis cinerea</i> (cluster) (OIV 459)
Antonina	Veoma visoka <i>Very high</i> 9	Veoma visoka <i>Very high</i> 9	Visoka ili veoma visoka <i>High or very high</i> 7-9
Muskat hamburg	Niska <i>Little</i> 3	Niska ili srednja <i>Little or medium</i> 3-5	Niska ili srednja <i>Little or medium</i> 3-5

Iz rezultata prikazanih u Tabeli 3 može se videti da se sorta Antonina odlikovala veoma visokom otpornošću na *Plasmopara viticola* i *Uncinula necator* i visokom do veoma visokom otpornošću na *Botrytis cinerea*. Sorta Muskat hamburg je bila dosta osjetljivija i pokazala je nisku otpornost na *Plasmopara viticola* i nisku do srednju otpornost na *Uncinula necator* i *Botrytis cinerea*.

Dobijeni rezultati u ovom radu, uz dosadašnje rezultate oplemenjivačkog rada u svetu i kod nas su pokazali da je moguće u istom genotipu kombinovati otpornost na više gljivičnih bolesti i dobar kvalitet grožđa (Eibach i sar., 1989; Cindrić i sar., 1994a; Avramov i sar., 1997; Kozma Jr., 2000; Korać i sar., 2002a, b). To pokazuje da se ove sorte pa samim tim i sorta Antonina mogu gajiti bez hemijske zaštite od gljivičnih bolesti.

### **Zaključak**

Na osnovu ispitivanja najvažnijih ampelografskih i proizvodnih karakteristika novostvorene stone sorte vinove loze Antonina sa standardnom sortom Muskat hamburg mogu se izvesti sledeći zaključci.

Sorta Antonina pokazala je značajne razlike u pogledu pojedinih ampelografskih i proizvodnih osobina u odnosu na sortu standard.

Lep i atraktivn izgled grozda i bobice sa plavo crnom bojom pokožice i visoka otpornost na bolesti kvalifikuju sortu Antonina za gajenje u uslovima Beogradskog rejona (Gročansko vinogorje), kao i u drugim sličnim rejonoma i vinogorjima Srbije.

### **Napomena**

Istraživanja u ovom radu deo su projekta „Primena novih genotipova i tehnoloških inovacija u cilju unapređenja voćarske i vinogradarske proizvodnje“ (TR 31063) koji finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

### **Literatura**

- Avramov L., Tadijanović Đ., Polak V., Žunić D., Sivčev B., Gašić N. (1997). Novi genetički kapaciteti vinove loze Poljoprivrednog fakulteta u Zemunu. Savremena poljoprivreda, 47 (5-6), 79-84.
- Avramov L., Žunić D. (2001). Posebno vinogradarstvo. Poljoprivredni fakultet, Beograd.
- Cindrić P., Korać N., Medić M., Kovač V. (1994a). "Mila" i "Petra"-nove sorte vinove loze za aromatična vina. Savremena poljoprivreda, 42 (3), 5-10.
- Cindrić P., Korać N., Kovač V. (1994b). Sorte vinove loze. Prometej, Novi Sad.
- Dumitru E., Antoce O.A. (2016). A new early ripening table grape cultivar obtained in Pietrosa research station: *Vitis vinifera* L. cv. Mihaela. Agriculture and Agricultural Science Procedia, 10, 215-221.
- Eibach R., Diehl H., Alleweldt G. (1989). Untersuchungen zur Vererbung von Resistenz-eigenschaften bei Reben gegen *Oidium tuckeri*, *Plasmopara viticola* und *Botrytis cinerea*. Vitis, 28 (4), 209-228.
- Fangmei L., Fengqin Z. (1990). Grape breeding in China. Proceedings of the 5<sup>th</sup> International Symposium on Grape Breeding 12-16 September 1989 St. Martin/Pfalz, FR of Germany, pp. 212-216.
- Gray D.J., Li Z.T., Dhekney S.A. (2014). Precision breeding of grapevine (*Vitis vinifera* L.) for improved traits. Plant Science, 228, 3-10.
- Korać N., Cindrić P., Kovač V., Kozma P. (2002a). Novostvorenna sorta vinove loze - Kosmopolita. Savremena poljoprivreda, 51 (1-2), 35-40.
- Korać N., Cindrić P., Kovač V., Medić M. (2002b). Nova sorta vinove loze - Petka. Zbornik naučnih radova sa XVI savetovanja agronoma, veterinara i tehologa, 8 (1), 269-274.

- Kozma Jr., P. (2000). Winegrape breeding for fungus disease resistance. *Acta Horticulturae*, 528 (2), 505-510.
- Nikolić D., Milutinović M., Rakonjac V., Fotirić M. (2009). Evaluation of resistance to low temperatures in promising interspecies grapevine hybrids. *Acta Horticulturae*, 827, 461-464.
- Nikolić D., Ranković-Vasić Z., Atanacković Z. (2015). New Serbian grapevine genotypes for red wine production. *Vitis*, 54, 165-168.
- OIV (2009). OIV Descriptor list for grape varieties and *Vitis* species (2<sup>nd</sup> ed.). Organisation Internationale de la Vigne et du Vin, Paris, France.
- Oprea S., Pamfil D., Olaru B. (1989). Aplicatii genetice în ameliorarea vitei de vie. Cercetari de Genetica Vegetala si Animala, 1, 247-263.
- UPOV (2008). Grapevine Upov code Vitis: Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability. International Union for the Protection of New Varieties of Plants, Geneva, Switzerland.
- Zirojević D. (1974). Poznavanje sorata vinove loze I. Nolit, Beograd.

## PROPERTIES OF NEWLY CREATED TABLE GRAPEVINE CULTIVAR - ANTONINA

*Zorica Ranković-Vasić<sup>1</sup>, Dragoljub Žunić, Branislava Sivčev,  
Vera Rakonjac, Dragan Nikolić*

### Abstract

During the three-year period of the study, the most important ampelographic and production characteristics of the newly created table grape cultivar Antonina, which was obtained from the crossing combination of the Muscat Hamburg × Seedling108, were studied. In relation to the studied properties, it was compared with the standard cultivar Muscat Hamburg. The Antonina cultivar differed considerably from the standard cultivar in terms of some ampelographic properties. From the production traits, significant differences of the cultivar Antonina in relation to the standard cultivar were determined for the bunch length, bunch width and berry width. The Antonina cultivar has a half open tip of young shoot, three number of lobes in mature leaf, hermaphrodite type of flower, loose bunches, narrow ellipsoid shape of berry, blue black color of skin and neutral flavor. The grape yield was 1.63 kg/m<sup>2</sup>, bunch weight was 319.6 g, and berry weight was 3.46 g. The sugar and total acids content in the must were ranged 17.7% and 6.8 g/l. The cultivar Antonina, as an interspecies hybrid, exhibited very high resistance to the most important fungal diseases (*Plasmopara viticola*; *Uncinula necator*; *Botrytis cinerea*). Due to a number of positive features, primarily a nice and attractive appearance of bunches and berries and resistance to diseases, it is expected that Antonina cultivar will expand in vineyards of Serbia.

**Key words:** grapevine, new cultivar, yield, quality, resistance

## POSTUPCI PRI MUŽI I KVALITET MLEKA

Dušan Radivojević<sup>1</sup>, Biljana Veljković<sup>2</sup>, Ranko Koprivica<sup>2</sup>

**Izvod:** Dobra organizacija procesa muže zahteva pravilan izbor sistema za mužu u skladu sa proizvodnim kapacitetima farmi kao i pravilno održavanje i rukovanje ovim sistemima. Sprovođenje higijenskih mera pre, za vreme i posle muže treba da postanu rutina na farmama obzirom da se problemi održavanja higijene vimena kod krava i uređaja za mužu javljaju kako na manjim tako i na većim farmama. U radu su data istraživanja kvaliteta proizvedenog mleka na porodičnim farmama, koje su prema broju krava podeljene u grupe, kao i analizu muzne opreme i uslova u kojima se proces muže odvijao.

**Ključne reči:** mleko, muža, aparat za mužu, klase kvaliteta

### Uvod

Ukoliko se postupci pripreme tokom muže izvode pravilno, kvalitetnim, ispravnim i čistim uređajima može se dobiti mleko prema utvrđenim standardima, bez obzira na sisteme za mužu koji se koriste. Nepravilni rad muzača sa oštećenim, neispravnim uređajima i lošom higijenom vimena i sistema za mužu, može dovesti do povećanog broja mikroorganizama, somatskih ćelija i pojave mastitisa (Koprivica i sar., 2013). Sličnim istraživanjima bavili su se Rodrigues et al. (2005) o uticaju mastitisa na nivo mikroorganizama i somatskih ćelija u mleku. U procesu muže veoma su važni i postupci pripreme vimena i higijenske mere koje se preduzimaju, a prema autorima Petrovsky i Eden (2005) uticaj ovih faktora na kvalitet mleka može biti od 6-20%. Određivanje ukupnog broja mikroorganizama u sirovom mleku je značajno zbog razvrstavanja mleka u određene klase na osnovu kojih se formiraju i koriguju otkupne cene mleka (Radivojević i sar., 2011; Veljković i sar., 2013b).

Istraživanja Lenza i Pereira (2012), Dang i Anand (2007) pokazuju da je visok mikrobiološki kvalitet mleka ostvaren najpre u izmuzištima, pa kod stacioniranih sistema, a nizak kvalitet kod pokretnih sistema. Takođe, prema istraživanjima Filipovic-a i Kokaj-a (2009), najbolji mikrobiološki kvalitet mleka dobijen je u izmuzištima, zatim kod stacioniranih sistema, a znatno lošiji u pokretnim sistemima tzv. muža u kante.

Prema istraživanju Koprivice i sar. (2014) sa povećanjem broja grla na farmi povećava se i svest i briga proizvođača o potrebi za kontrolom kvaliteta mleka, a pravilna nega i dezinfekcija vimena se obavezno sprovode prema standardima i postaju rutina. Higijenski postupci bitno utiču na kvalitet mleka, bez obzira na sisteme za mužu koji su u upotrebi kao i veličinu farmi. Da bi proizvedeno mleko bilo u ekstra klasi potrebno je da su rizici od eventualnog zagađenja mleka (biološkog, fizičkog,

<sup>1</sup> Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Nemanjina 6, 11080 Beograd Zemun, Srbija (rdusan@agrif.bg.ac.rs);

<sup>2</sup> Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija;

hemijskog) tokom procesa muže kao i u daljim postupcima manipulacije mleka svedeni na minimum (Veljković i sar., 2013a).

### Materijal i metode rada

Ispitivan je kvalitet mleka na farmama na kojima je primenjen standard Globalgap. Farme su podeljene u 4 grupe po 7 farmi u zavisnosti od primenjenih muznih uređaja (pokretni, polustabilni i stabilni mlekovod i izmuzište). U svakoj grupi zastupljena su dva proizvođača muzne opreme (Westfalia i DeLaval). Muža se odvijala dva puta na dan kod svakog ispitivanog tipa uređaja, a podaci su prikupljeni u periodu od IV-VIII meseca. Na svim muznim aparatima izvršeno je detaljno pranje i dezinfekcija puteva mleka, kao i probno testiranje, podešavanje i eventualne popravke. Pre uzimanja uzorka sirovog mleka uzorkivač je izvršio vizuelni pregled čistoće mleka, boje i mirisa i ukoliko nema vidnih promena mleko bi išlo na dalju analizu. Merenje broja bakterija i somatskih ćelija rađeno je pomoću Bactoscan i Fossomatik (FOSS) tehnologije. Sirovo mleko je prema kvalitetu u zavisnosti od ukupnog broja mikroorganizama i bakterija razvrstano na: mleko Ekstra (E) klase - sadrži do 100000 cfu/ml; mleko I klase - sadrži od 100001 do 400000 cfu/ml; i mleko II klase - sadrži više od 400000 cfu/ml mikroorganizama.

### Rezultati istraživanja i diskusija

Ukoliko se postupci pripreme za mužu, sama muža i završne operacije izvode pravilno, sa sigurnošću se može dobiti mleko vrhunskog kvaliteta, bez obzira koji od ispitivanih tipova muznih uređaja je korišćen. Veoma je važno da muzač bude edukovan, da poznaje proces i moguće izvore kontaminacije mleka pre, u toku i posle muže. Nije redak slučaj da se muža obavlja bez masaže ili izmuzivanja prvih mlazeva mleka kao i izostavljanje poslednjih mlazeva mleka što se direktno odražava na kvalitet mleka.

Tabela 1. Izvori kontaminacije sirovog mleka  
Table 1. Sources of contamination of raw milk

Izvor kontaminacije	Saurens	Listerija /Salmonella	E.coli	M.bovis	M.para.TB
koža vimena	+	-	-	-	-
vime fekalna kont.	-	+	+++	-	++
uslovi držanja	-	+	+++	-	++
muža	+	-	++	-	-
voda	-	+	++	-	++
mastitis	+++	-	-	-	++

Održavanje higijene vimena pre, za vreme i posle muže predstavlja još uvek značajan problem, kako kod individualnih proizvođača, tako i na velikim farmama. Razlike se uočavaju samo u stepenu kontaminacije mleka. Kolebanja u kvalitetu mleka

izazvana su upravo iz higijenskih razloga i praćena su kod svih tipova korišćenih muznih sistema, a u Tabeli 1. dati su i mogući izvori kontaminacije mikroorganizmima.

Kod prve ispitivane grupe farmera koji za mužu koriste pokretne muzne uređaje kvalitet mleka je u većem broju slučajeva bio u extra klasi. Kod svih farmera koji su uključeni u kontrolu, uveden je sistem Globalgap. Farmeri su obučeni za primenu tog standarda, posebno po pitanju higijene muže. Međutim, kod nekoliko farmera utvrđene su oscilacije kvaliteta mleka po sadržaju CFU i SĆ (broj bakterija i somatskih ćelija). Promene kvaliteta mleka iz ostvarene extra klase u I i II klasu, utvrđen je kod farmera pod šifrom 5, 6 i 7. U aprilu mesecu farmeri pod šifrom 5, 6, 7 su ostvarili kvalitet koji odgovara I klasi. Broj CFU se kretao od 106.000 – 188.000/ml, a broj SĆ od 214.000–252.000/ml. U narednim mesecima, kod proizvođača pod šifrom 5, utvrđen je značaniji napredak u kvalitetu. Broj CFU i SĆ se smanjio sa 115.000 na 45.000/ml. U toku naredna dva meseca nivo CFU i SĆ je bio u granicama koji odgovaraju standardu za extra kvalitet (CFU od 36.000-67.000, broj SĆ od 141.000 do 230.000/ml). Kod proizvođača pod šifrom 6, u mesecu maju je značajno popravljen kvalitet mleka i prelaz iz kategorije I klase u extra klasu (CFU 78.000, SĆ 272.000/ml) da bi se u naredna dva meseca stanje pogoršalo i kvalitet mleka vratio u I klasu.

Usled neredovne primene mera higijene vimena pre muže, ali i samog uređaja došlo je do promene u kvalitetu mleka. U maju su mere predviđene Globalgapom o higijeni muže, sprovedene na pravi način i rezultat je očigledan. U narednim mesecima, ukoliko bi postupci muže odstupili od propisanog standarda, kvalitet mleka bi se pogoršao. Najlošiji kvalitet mleka je bio kod proizvođača pod šifrom broj 7. Broj CFU i SĆ se kretao u granicama kvaliteta koji odgovara II klasi (SFU 440.000 do 704.000/ml, a broj SĆ 284.000 do 617.000/ml). Posebno veliki broj CFU i SĆ je utvrđen u mesecu avgustu, kada su loša higijena i izostanak pravilnih postupaka pred mužu, kao i higijena muznog uređaja, uzrokovali narušavanje kvaliteta mleka do granice III klase (Tabela 2).

U drugoj grupi farmera koji su koristili polustabilni muzni uređaj kod većine je ostvaren nivo extra kvaiteta mleka i taj nivo je održavan za ceo posmatrani period. Broj CFU i SĆ u mleku u extra klasi, tokom aprila, bio je u granicama od 20.000/ml, a SĆ od 88.000–164.000/ml. Kod farmera pod šifrom 8, 12 i 13 utvrđena su odstupanja od kategorije extra klase na početku posmatranog perioda. Broj SFU kod farmera broj 8 je iznosio u aprilu mesecu 107.000/ml, a SĆ 256.000/ml. Kod farmera pod šifrom 13, broj CFU je u aprilu iznosio 142.000/ml, a SĆ 478.000/ml. Kod farmera pod brojem 8, posle intervencije na poboljšanju higijene muže, sadržaj CFU I SĆ se smanjio. Od maja meseca do kraj avgusta, kvalitet mleka sa higijenskog aspekta je vraćen u extra klasu.

Ukupan broj CFU se kretao u tom periodu od 39.000 do 20.000/ml, a ukupan broj SĆ se kretao od 71.000 do 137.000/ml. Kolebanja u kvalitetu mleka su se pojavila i kod farmera pod brojem 12 naročito u periodu od juna do avgusta. Utvrđene promene su nastale zbog izostanka pravilnog sprovođenja ukupne higijene muže, posebno postupaka pred mužu i higijene vimena. Kod farmera pod šifrom 13, broj CFU u toku posmatrnog perioda se kretao od 121.000/ml do 175.000/ml. Broj SĆ se kretao od 315.000 do 478.000/ml. Kod ovog farmera se kao poseban problem istču loši higijenski uslovi u staji, i nedovoljna higijena, kako krava tako i uređaja (Tabela 2).

Tabela 2. Kvalitet mleka kod I i II grupe farmera pri muži sa pokretnim i polustabilnim muznim uređajima

*Table 2. Milk quality in I and II group of farmers at milking with moving and semi-stable milking equipment*

R.b.	Tip muznog uredaja	april			maj			juni			juli			avgust		
		CFU	SČ	klasa	CFU	SČ	klasa	CFU	SČ	klasa	CFU	SČ	klasa	CFU	SČ	klasa
<b>I grupa farmi pokretni uredaji za mužu</b>																
1.	Pokretni	20	304	extra	20	327	extra	69	395	extra	69	386	extra	38	408	extra
2.	Pokretni	42	154	extra	20	109	extra	64	167	extra	64	154	extra	20	155	extra
3.	Pokretni	20	143	extra	54	87	extra	54	111	extra	40	73	extra	78	117	extra
4.	Pokretni	93	337	extra	32	236	extra	32	356	extra	32	195	extra	64	287	extra
5.	Pokretni	115	252	I klasa	45	476	extra	37	164	extra	67	141	extra	36	237	extra
6.	Pokretni	106	221	I klasa	78	272	extra	296	215	I klasa	296	215	I klasa	161	163	I klasa
7.	Pokretni	188	214	I klasa	189	284	IIklasa	443	395	IIklasa	637	495	IIklasa	704	617	IIklasa
<b>II grupa farmi polustabilni uredaji za mužu</b>																
8.	Polustabilni	107	256	I klasa	58	253	extra	39	137	extra	39	71	extra	20	112	extra
9.	Polustabilni	20	164	extra	20	152	extra	20	149	extra	20	150	extra	20	267	extra
10.	Polustabilni	20	102	extra	39	239	extra	67	238	extra	34	107	extra	20	105	extra
11.	Polustabilni	20	114	extra	20	122	extra	33	233	extra	20	213	extra	20	167	extra
12.	Polustabilni	20	156	extra	47	127	extra	108	124	I klasa	325	166	I klasa	393	215	I klasa
13.	Polustabilni	142	478	I klasa	121	376	I klasa	129	356	I klasa	132	315	I klasa	175	478	I klasa
14.	Polustabilni	20	88	extra	73	79	extra	73	79	extra	73	79	extra	139	67	I klasa

Tabela 3. Kvalitet mleka kod III i IV grupe farmera pri muži sa stabilnim muznim uređajima (mlekovod i izmuzište)

*Table 3. Milk quality in I and II group of farmers at milking with stable milking equipment, milk pipeline and milk line*

R.b.	Tip muznog uredaja	april			maj			jun			jul			avgust		
		CFU	SČ	klasa	CFU	SČ	klasa	CFU	SČ	klasa	CFU	SČ	klasa	CFU	SČ	klasa
<b>III grupa farmi stabilni uredaji mlekovod</b>																
15.	Stabilni mlekovod	20	369	extra	36	334	extra	119	545	I klasa	55	57	I klasa	33	503	I klasa
16.	Stabilni mlekovod	35	138	extra	20	174	extra	20	111	extra	20	122	extra	20	201	extra
17.	Stabilni mlekovod	20	111	extra	36	193	extra	36	237	extra	20	148	extra	20	164	extra
18.	Stabilni mlekovod	20	349	extra	35	276	extra	20	297	extra	37	220	extra	37	257	extra
19.	Stabilni mlekovod	20	364	extra	20	287	extra	20	196	extra	20	128	extra	56	491	extra
20.	Stabilni mlekovod	20	96	extra	20	111	extra	20	178	extra	20	198	extra	76	179	extra
21.	Stabilni mlekovod	22	101	extra	24	126	extra	21	143	extra	25	157	extra	54	143	extra
<b>IV grupa farmi stabilni uredaji izmuzište</b>																
22.	Stabilni izmuzište	34	145	extra	45	260	extra	45	229	extra	45	250	extra	33	257	extra
23.	Stabilni izmuzište	71	198	extra	20	232	extra	39	184	extra	63	200	extra	32	284	extra
24.	Stabilni izmuzište	20	203	extra	20	176	extra	20	131	extra	20	114	extra	20	155	extra
25.	Stabilni izmuzište	20	143	extra	34	129	extra	36	111	extra	57	156	extra	38	387	extra
26.	Stabilni izmuzište	32	98	extra	32	114	extra	20	135	extra	39	154	extra	39	194	extra
27.	Stabilni izmuzište	93	70	extra	20	43	extra	20	32	extra	35	24	extra	35	24	extra
28.	Stabilni izmuzište	50	230	extra	22	110	extra	20	105	extra	34	120	extra	35	100	extra

U trećoj grupi farmera koji su koristili stabilni sistem za mužu sa vakuumvodom i mlekovodom, odnosno zatvoreni sistem u kojem se muža obavlja vakuumom iz cevi u cev mlekovoda, nije bilo značajnih odstupanja u klasi mleka. Izuzetak je farmer pod šifrom 15. U prva dva meseca kontrole primene visokog nivoa higijene muže, kod ovog proizvođača se broj CFU kretao od 20.000-36.000/ml. Broj SČ u tom periodu se kretao od 360.000-334.000 /ml. U narednim mesecima došlo je do narušavanja opšte higijene muže i do promena kvaliteta mleka. Broj SČ se kretao od 503.000-573.000/ml. Broj CFU se u tom periodu kretao od 33.000-119.000/ml. Razlog treba tražiti u izostanku higijene kao i u prethodnim slučajevima (Tabela 3).

Četvrta grupa farmera koristi stabilni muzni sistem izmuzište tipa RK Euroklasic 1200. Kod ovih proizvođača zbog sistema muže, vrlo jednostavno ali kvalitetno, se održava higijena muže. Primenom nove tehnologije higijene vimena i uređaja, kao i sredstava za pranje unutrašnje instalacije sistema, doprinelo je da se kod ovih proizvođača kvalitet mleka održava u extra klasi za ceo ispitivani period (Tabela 3).

### **Zaključak**

Praćenjem muže na farmama utvrđeno je da su neadekvatna muža i subjektivni faktori doveli do lošijeg kvaliteta mleka. Sprovedene higijenske mere pri muži direktno utiču na bakteriološki kvalitet mleka. Primenom pravilne muže na farmama uz stimulativne, higijenske mere procedure pripreme vimena, izvođenja same muže, kao i procedura nakon muže kontrole održavanja higijene aparata za mužu, dobijeno mleko je bilo u ekstra klasi.

### **Napomena**

Istraživanja su deo projekta TR31051 finansiranog od strane Ministarstva prosvete nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

### **Literatura**

- Dang A. K., Anand S. K. (2007). Effect of milking systems on the milk somatic cell counts and composition. *Livestock research for rural development* 19, 6 <http://www.lrrd.org/lrrd19/6/dang19074.htm>
- Filipovic D, Kokaj M. (2009). The comparasion of hand and machine milking on small family dairy farms in central Croatia. *Livestock research for rural development* 21(5). <http://www.lrrd.org/lrrd21/5/cont2105.htm>
- Lenza A., Pereira J. (2012). Relation ship between operational parameters of milking machines and hygienik quality of milk in 623 Galician dairy farms. International conference of agricultural engineering CIGR-AGENG2012 Valencia Conference Centre July 8-12. Valencia.Spain
- Koprivica Ranko, Veljković Biljana, Radivojević Dušan, Petrović Milun, Barać Saša (2014). Milk quality on family farms as affected by milking system and hygienic practices, *Journal of Hygienic Engineering and Design JHED* vol..6 pp.69-75.
- Koprivica, R., Biljana Veljkovic, Radivojević, D., Petrović, M., Barać, S., Marić Marina (2013). Milk quality on family farms depending on the proper function of milking system, *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, vol. 16, 4, 847-862.
- Petrovsky K.R., Eden M.T. (2005). The role of the milking machine in the aetiology and epidemiology of bovine mastitis. *Dairy Vets Newsletter* 23, 19-24.
- Radivojević Dušan, Ivanović Sanjin, Veljković Biljana, Koprivica Ranko, Radojičić Dušan, Božić Steva (2011). Uticaj različitih muznih sistema na kvalitet mleka u toku muže krava, *Poljoprivredna tehnika*, Vol.36, No.4, str.1-9.
- Rodrigues, A.Co., Caraviello, D.Z., Ruegg, P.L. J. (2005). *Dairy Sci.*, 90:1159-1167

Veljković Biljana, Koprivica Ranko, Radivojević Dušan, Petrović Milun (2013).

Prerequisites for the implementation of quality standards on dairy farms, 23 International Symposium, New technologies in contemporary animal production, 19-21 June Novi Sad, Proceedings pp.63-65.

Veljković Biljana, Koprivica Ranko, Radivojević Dušan, Ivanović Sanjin (2013).

Analiza kvaliteta i otkupnih cena mleka na porodičnim farmama, XVIII Svetovanje o biotehnologiji, Agronomski fakultet, Čačak, Zbornik radova vol. 18, br.20, str. 391-397,

## MILKING PROCEDURE OF COWS AND MILK QUALITY

*Dušan Radivojević<sup>1</sup>, Biljana Veljković<sup>2</sup>, Ranko Koprivica<sup>2</sup>*

**Abstract:** Good organization milking procedures request adequate to use of milking systems for farm cow capacities, as well as proper maintenance and handling of these systems. Effective hygiene before, during and after milking should become a routine practice on farms, given the occurrence of udder hygiene and milking device maintenance problems on both small- and large- scale farms. This study involved analysis of milk quality, milking equipment and milking conditions on family farms grouped according to the number of cows.

**Key words:** milk, milking, milking equipment, quality

---

<sup>1</sup> University of Belgrade, Faculty of Agriculture, Nemanjina 6, 11080 Beograd

<sup>2</sup> University of Kragujevac, Faculty of Agronomy Čačak, Cara Dušana 34, 32000 Čačak

## MORFOMETRIJSKI PARAMETRI ERITROCITA *CARASSIUS GIBELIO* (BLOCH, 1782) IZ JEZERA MODRAC

Eldar Tanović<sup>1</sup>, Edina Hajdarević<sup>2</sup>, Alen Bajrić<sup>2</sup>, Avdul Adrović<sup>2</sup>,  
Amela Tanović<sup>3</sup>

**Izvod:** Ribe posjeduju eritrocite ovalnog do elipsoidnog oblika sa nukleusom u centralnom dijelu. Povećan broj eritrocita uslovljava njihovu smanjenu veličinu i obratno. Morfometrijska analiza normalnih eritrocita može poslužiti kao osnova izrade referentnih vrijednosti za pojedine vrste riba. Sprovedeno istraživanje je obuhvatilo analizu morfometrijskih parametara eritrocita kod 20 jedinki vrste *Carassius gibelio* iz jezera Modrac (BiH). Izmjereni su morfometrijski parametri: duža osa eritrocita, kraća osa eritrocita, duža osa jedra i kraća osa jedra, na osnovu kojih su utvrđene površina eritrocita i površina jedra eritrocita. Utvrđeno je da *Carassius gibelio* iz jezera Modrac odlikuje prosječna vrijednost duže ose eritrocita od 13,72 µm, kraće ose eritrocita 10,18 µm, duže ose jedra 5,65 µm, kraće ose jedra eritrocita 3,48 µm, površina eritrocita 109,68 µm<sup>2</sup> i prosječne površine jedra eritrocita 15,46 µm<sup>2</sup>.

**Ključne reči:** *Carassius gibelio*, morfometrija, eritrociti, jezero Modrac

### Uvod

Glavna funkcija eritrocita je transport kisika i ugljičnog dioksida. Veličina i oblik eritrocita ukazuju na vrijednost raspoložive površine za izmjenu gasova. Istraživanje eritrocita kod različitih vrsta omogućava usporedbu veličine eritrocita, u odnosu na njihove aktivnosti i životne navike (Hartman and Lessler, 1964). Veličina i građa eritrocita zavise od vrste, spola i uslova sredine. Varijacije u veličini jedra i strukturi unutar vrste su manje u odnosu na interspecijske razlike (Najah et al., 2008). Obzirom da eritrociti riba uglavnom posjeduju jedro, intenzitet metabolizma u njima je povišen, jer troše više kisika za svoje potrebe. Povećan broj eritrocita znači smanjenu veličinu istih i obratno. U krvi riba se, uz zrele eritrocite, mogu zapaziti i mladi oblici eritrocitne loze, kao i stariji eritrociti. Broj zrelih eritrocita se smanjuje u stanjima anemije, dok kod mlađih riba nalazimo povećanje količine mlade eritrocitne loze (Treer i sar., 1995).

Eritrociti različitih vrsta riba, iako imaju iste morfološke karakteristike ćelija s jedrom, znatno se razlikuju u veličini i obliku, uz fiziološke varijacije unutar svake vrste. Morfometrijska analiza normalnih eritrocita, kao objektivnih kvantitativnih pokazatelja, može poslužiti kao osnova izrade referentnih vrijednosti za pojedine vrste riba. Također, mjerenje dimenzija eritrocita omogućuje njihovo svrstavanje u različite razvojne forme, što je veoma važno, jer povećanje broja mlađih, nezrelih eritrocita često ukazuje na djelovanje nekog sredinskog stresora (Dekić i sar., 2012).

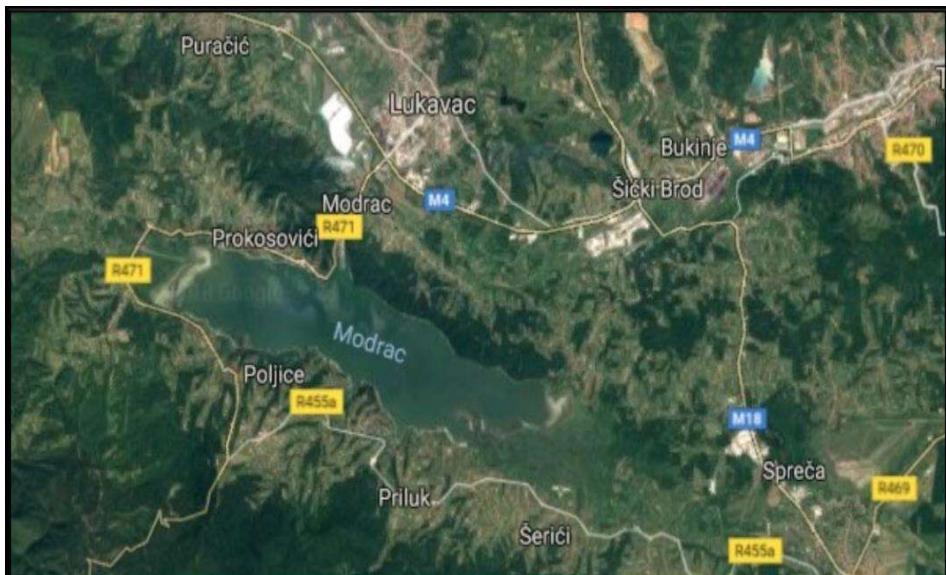
<sup>1</sup> JP Elektroprivreda BiH d.d. Sarajevo, ZD Rudnici "Kreka" d.o.o. Tuzla, Pogon "Rekultivacija" Šiški Brod, Mije Keroševića Guje br.1, 75000 Tuzla, Bosna i Hercegovina (eldartana@gmail.com)

<sup>2</sup> Univerzitet u Tuzli, Prirodno-matematički fakultet, Univerzitetska 4, 75000 Tuzla, Bosna i Hercegovina

<sup>3</sup> Bachelor inžinjer agronomije.

Babuška je slatkovodna riba jezera i sporotekućih rijeka sa nešto višom temperaturom vode. Mrijesti se od maja do jula, pri temperaturi vode od 14-16 °C. Ikru odlaže na plitkim mjestima na biljke. Omnivorna je vrsta. Pradomovina babuške je Kina, odakle je prvo prenesena u evropski dio Rusije (1948), nakon čega se vrlo brzo proširila u gotovo sve dijelove Evrope. U Bosni i Hercegovini je prisutna u vodama Crnomorskog sliva, takođe i u akumulacionim jezerima Neretve i Trebišnjice, te Buškom jezeru. Smatra se da babuška, kao izuzetno invazivna vrsta, ima negativan uticaj na autohtone vrste riba (Sofradžija, 2009).

Jezero Modrac je jedno od najvećih vještačkih jezera u Bosni i Hercegovini. Nastalo je izgradnjom brane na rijeci Spreći (Slika 1). U jezeru obitava raznovrstan riblji fond. Jedna od brojnijih vrsta koje nastanjuju jezero Modrac je babuška *Carassius gibelio* (Bloch, 1782).



Slika 1. Jezero Modrac (Google maps)

Figure 1. Lake Modrac (Google maps)

### Materijal i metode rada

Istraživanjem je obuhvaćeno 20 jedinki babuške (*Carassius gibelio*) iz jezera Modrac. Krv je uzeta punkcijom iz srca, sa mesta koje je prethodno dezinficirano, pomoću sterilne široke igle promjera 1,1 mm. Krvni razmazi su obojeni metodom po *Pappenheimu*. Za svaku jedinku određena su kvantitativna svojstva 100 eritrocita.

Za sve eritrocite su izmjerene vrijednosti: duža osa eritrocita, kraća osa eritrocita, duža osa jedra i kraća osa jedra. Na osnovu dobijenih vrijednosti odredena je površina jedra eritrocita i površina eritrocita. Navedeni morfometrijski parametri su izmjereni pomoću električnog mikroskopa tipa Motic Optic-pro, korištenjem programa Optica view.

Površina eritrocita izračunata je na osnovu slijedeće formule:

$$CA = \pi * (CLD/2) * (CSD/2) \text{ gdje je:}$$

CA = površina eritrocita

CLD = duža osa eritrocita

CSD = kraća osa eritrocita

Na isti način izračunata je i površina jedra:

$$NA = \pi * (NLD/2) * (NSD/2) \text{ gdje je:}$$

NA = površina jedra

NLD = duža osa jedra

NSD = kraća osa jedra

(<http://www.genomesize.com/cellsizes/fish.htm>)

### Rezultati istraživanja i diskusija

Vrijednosti dobijene analizom morfometrijskih parametara eritrocita *Carassius gibelio* iz hidroakumulacije Modrac prikazane su u Tabeli 1.

Tabela 1. Vrijednosti morfoloških karakteristika eritrocita *Carassius gibelio* iz jezera Modrac

Table 1. The values of morphological characteristics of *C. gibelio* erythrocytes (Lake Modrac)

Parametri <i>Parameters</i>	Prosječna vrijednost <i>The avarage value</i>	Minimum <i>Minimum</i>	Maksimum <i>Maximum</i>	Standardna devijacija <i>The standard deviation</i>	Koeficijent variranja <i>Coefficient of variation</i>
Duža osa eritrocita (μm) <i>Longer axis of erythrocytes (μm)</i>	13,72	11,38	16,03	0,86	6,24
Kraća osa eritrocita (μm) <i>Shorter axis of erythrocytes (μm)</i>	10,18	7,93	12,38	0,74	7,25
Duža osa jedra (μm) <i>Longer axis of nucleus (μm)</i>	5,65	4,36	9,91	0,76	13,34
Kraća osa jedra (μm) <i>Shorter axis of nucleus (μm)</i>	3,48	2,30	6,25	0,55	15,86
Površina eritrocita (μm <sup>2</sup> ) <i>Area of erythrocytes (μm<sup>2</sup>)</i>	109,68	78,39	141,23	10,44	9,54
Površina jedra eritrocita (μm <sup>2</sup> ) <i>Area of erythrocyte nucleus (μm<sup>2</sup>)</i>	15,46	9,99	37,43	3,62	23,17

Utvrđeno je da se jedinke vrste *Carassius gibelio* iz hidroakumulacije Modrac odlikuju prosječnom vrijednošću duže ose eritrocita u iznosu 13,72 μm, kraće ose

eritrocita od 10,18  $\mu\text{m}$ , duže ose jedra eritrocita od 5,65  $\mu\text{m}$ , kraće ose jedra od 3,48  $\mu\text{m}$ , površine eritrocita od 109,68  $\mu\text{m}^2$  i površine jedra eritrocita od 15,46  $\mu\text{m}^2$ .

Nikolov, Boyadzieva – Doichinova (2010) utvrdili su da *Carassius gibelio* ima prosječne vrijednosti duže ose eritrocita u iznosu 13,30  $\mu\text{m}$ , kraće ose eritrocita 7,80  $\mu\text{m}$ , duže ose jedra eritrocita 7,80  $\mu\text{m}$  i kraće ose jedra eritrocita od 3,71  $\mu\text{m}$ . *Carassius gibelio* iz jezera Modrac se odlikuje nešto većim prosječnim vrijednostima duže i kraće ose eritrocita u odnosu na vrijednosti koje su dobili navedeni autori. Istovremeno, babušku iz jezera Modrac odlikuju manje prosječne vrijednosti duže i kraće ose jedra eritrocita.

Poređenjem dobijenih rezultata sa rezultatima koji su dobili Hajdarević i sar. (2015) u svom istraživanju morfometrijskih odlika eritrocita babuške iz jezera Vidara, utvrđeno je da babušku iz jezera Vidara odlikuju prosječne vrijednosti duže ose eritrocita u iznosu 14,51  $\mu\text{m}$ , kraće ose eritrocita od 9,06  $\mu\text{m}$ , duže ose jedra eritrocita 5,89  $\mu\text{m}$  i kraće ose jedra eritrocita od 3,58  $\mu\text{m}$ . *Carassius gibelio* iz jezera Modrac se odlikuje nešto manjim prosječnim vrijednostima svih analiziranih morfoloških parametara eritrocita, izuzev vrijednosti kraće ose eritrocita, u odnosu na babušku iz jezera Vidara.

### Zaključak

Eritrociti babuške iz jezera Modrac odlikuju se prosječnom vrijednošću duže ose eritrocita u iznosu od 13,72  $\mu\text{m}$ , kraće ose eritrocita od 10,18  $\mu\text{m}$ , duže ose jedra eritrocita od 5,65  $\mu\text{m}$ , kraće ose jedra od 3,48  $\mu\text{m}$ , površine eritrocita od 109,68  $\mu\text{m}^2$ , te površine jedra eritrocita od 15,46  $\mu\text{m}^2$ . Komparacijom dobijenih vrijednosti sa dostupnim literaturnim podacima utvrdili smo da postoji određena odstupanja u dobijenim vrijednostima analiziranih parametara.

### Literatura

- Dekić R., Ivanc A., Lukač M., Krnić J. (2012). Morfometrijske karakteristike eritrocita *Telestes metohiensis* (Steindachner, 1901). Veterinaria 61 (3-4), 115-127, Sarajevo.
- Hajdarević E., Hasanović T., Omeragić A., Adrović A., Skenderović I., Bajrić A. (2015). Karakteristike eritrocita babuške (*Carassius gibelio*) iz jezera Vidara. XX Savetovanje o biotehnologiji, Zbornik radova 20 (22), 435 – 439, Čačak.
- Hartman F. A., Lessler A. (1964). Erythrocyte measurements in fishes, amphibia, and reptiles. The Biological Bulletin, 126 (1), 83-88.
- <http://www.genomesize.com/cellsizes/fish.htm>
- <https://www.google.com/maps/@44.5099779,18.539337,9029m/data=!3m1!1e3>
- Najah M., Nadirah M., Marina H., Lee S.W., Nazaha W.H. (2008). Quantitative comparision of erythrocyte morphology in healthy freshwater fish species from Malaysia. Res. J. Fisheries & Hydrobiol., 3(1), 32-35.
- Nikolov B., Boyadzieva – Doichinova D. (2010). Parameters of the red blood cell count in three species of carp fishes. Bulgarian Journal of Agricultural Science, 16 (3), 307-310.
- Sofradžija A. (2009): *Slatkovodne rive Bosne i Hercegovine*. Vijeće kongresa bošnjačkih intelektualaca. Sarajevo.

Treer T., Safner R., Aničić I., Lovrinov M. (1995). *Ribarstvo*. Nakladni Zavod Globus, Zagreb.

## MORPHOMETRIC PARAMETERS OF ERYTHROCYTES OF *CARASSIUS GIBELIO* (BLOCH, 1782) FROM MODRAC LAKE

Eldar Tanović<sup>1</sup>, Edina Hajdarević<sup>2</sup>, Alen Bajrić<sup>2</sup>, Avdul Adrović<sup>2</sup>,  
Amela Tanović<sup>3</sup>

### Abstract

The fishes contain erythrocytes of oval to ellipsoidal shape with a nucleus in the central part. An increased number of erythrocytes indicates their reduced size and vice versa. The morphometric analysis of normal erythrocytes can serve as the basis for making reference values for individual fish species. The conducted research included an analysis of the morphometric parameters of erythrocytes in 20 individuals of *Carassius gibelio* from the Lake Modrac. The following morphometric parameters were measured: a long axis of the erythrocytes, a short axis of the erythrocytes, a long axis of the nucleus and a short axis of the nucleus, on the basis of which the area of the erythrocytes and the area of the erythrocyte nucleus were determined.

After the conducted research, it has been established that *Carassius gibelio* from the Lake Modrac is characterized by an average value of the long axis of the erythrocyte of 13.72 µm, the short axis of the erythrocytes of 10.18 µm, the long axis of the nucleus of 5.65 µm, the short axis of the erythrocyte nucleus of 3.48 µm, the area of the erythrocytes of 109.68 µm<sup>2</sup> and the average area of the erythrocyte nucleus of 15.46 µm<sup>2</sup>.

**Key words:** *Carassius gibelio*, morphometry, erythrocytes, Modrac Lake

---

<sup>1</sup> JP Elektroprivreda BiH d.d. Sarajevo, ZD Rudnici "Kreka" d.o.o. Tuzla, Pogon Rekultivacija Šiški Brod, Mije Keroševića Guje br.1, 75000 Tuzla, Bosnia and Herzegovina (eldartana@gmail.com)

<sup>2</sup> University of Tuzla, Faculty of Sciences, Univerzitetska 4, 75000 Tuzla, Bosnia and Herzegovina

<sup>3</sup> Bachelor engineer of agronomy



## ZNAČAJ ODREĐIVANJA KVALITETA KRVI ŽIVOTINJA ZA SPRAVLJANJE MIKROBIOLOŠKIH PODLOGA

Marko R. Cincović<sup>1</sup>, Branislava Belić<sup>1</sup>

**Izvod:** Mikrobiološke podloge sa dodatkom ovčije krvi predstavljaju izuzetno važne podloge za datekciju velikog broja bakterija. Rezultati su pokazali da je ovčija krv najprihvativija za veliki broj analiza. Životinjska krv sadrži nižu koncentraciju hemoglobina od humane, pa se dobijaju prepoznatljive crvene boje podloge na kojima se lepo uočavaju hemolize. Parametri kvaliteta krvi koji se mogu ispitati u cilju dobijanja većeg prinosa krvi i kvalitetnijih mikrobioloških podloga su: stabilnost hematoloških i biohemski parametara krvi tokom čuvanja, parametri hemolize uzoraka krvi, deformacija eritrocita, sklonost krvi ka in vitro koagulaciji. Ove metode se mogu primeniti kroz sledeće faze rada sa krvlju: primarni uzorci krvi uzeti za hematološku i biohemsku analizu i za test krosreaktivnosti, uzorci krvi uzeti u kesu i spremni za čuvanje do momenta aplikovanja u podlogu, uzorci krvi na kraju ciklusa čuvanja i posle mešanja sa drugim uzorcima krvi a neposredno pre stavljanja u mikrobiološku podlogu. Sve navedeno ukazuje da je neophodno da se u rutinski rad sa spravljanjem mikrobioloških podloga uključiti i hematološka i biohemiska laboratorija posebno ako se radi o industrijskoj serijskoj proizvodnji.

**Ključne reči:** krv, mikrobiološke podloge, kvalitet, hemoliza, koagulacija.

### Uvod

Mikrobiološka analiza predstavlja neizostavnu dijagnostičku proceduru prilikom donošenja zaključaka o različitim bolestima životinja i ljudi. Pravljenje mikrobioloških podloga zahteva veliku pažnju, kako bi se tokom postupka spravljanja očuvalo kvalitet podloga, njena sterilnost i dugovečnost. Mikrobiološke podloge mogu biti prirodne ili veštačke. Veštačke mikrobiološke podloge maju poznat hemijski sastav i za njihovo spremanje koriste se razna jedinjenja. U podloge se dodaje krv, najčešće ovčija, kako bi se obezbedila diferencijacija bakterija na osnovu hemolize. Cilj ovog rada je da se prikažu važnije osobine podloga i parametri njihovog kvaliteta, te da se analizirajući literaturne podatke i dostupne tehnologije daju predlozi koji su to parametri kvaliteta krvi ovaca koje se moraju kontrolisati kako bi se doble najkvalitetnije podloge.

### Mikrobiološke podloge i njihove osobine

Hranljive podloge se klasificuju na osnovu konzistencije i na osnovu funkcije i primene (Stošić, 2012). Na osnovu konzistencije: 1. Tečne podloge – ne sadrže agar, u svom nazivu obično nose naziv voda ili bujon (npr. mesna voda, mesno-peptonski bujon

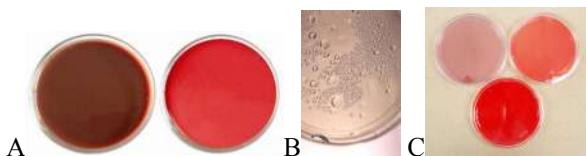
<sup>1</sup>Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Departman za veterinarsku medicinu-Laboratorija za patološku fiziologiju, Trg Dositeja Obradovića 8, 2100 Novi Sad, Srbija ([mcincovic@gmail.com](mailto:mcincovic@gmail.com))

– MPB), služe za obilan rast mikroorganizama. 2. Čvrste podloge – sadrže 2% agar, u svom nazivu nose naziv agar (npr. mesno-peptonski agar – MPA, hranljivi agar i sl.). Na ovim podlogama se lakše proučavaju karakteristike bakterijskih kolonija. Koriste se za izolaciju čistih bakterijskih kultura, lakše posmatranje mešanih kultura itd. 3. Polučvrste (polutečne) podloge – sadrže 0,5-0,15% agara, koriste se za ispitivanje pokretljivosti mikroorganizama, primer je SIM medijum. Na osnovu funkcije i primene: 1. Osnovna podloga – jednostavna podloga koja omogućava rast velikom broju mikroorganizama. Primer su peptonska voda, hranljivi agar, hranljivi bujon. 2. Obogaćena podloga – čini je osnovna podloga u koju se dodaju i hranljive materije poput krvi, seruma, jaja, zavisno od potreba mikroorganizama koji se kultivise. Primer su krvni agar, čokoladni agar itd. 3. Selektivna podloga – sadrži određene materije koje omogućavaju rast i razmnožavanje jednoj grupi mikroorganizama, a onemogućavaju razvoj drugih grupa (npr. Selenit F bujon koji omogućava rast bakterijama roda *Salmonella* i *Shigella*). 4. Diferencijalna, indikatorska podloga – omogućava rast više grupe mikroorganizama, gde ih je zbog prisustva određenih supstanci ili indikatora moguće razlikovati. Primer je krvni agar na kome se mogu razlikovati tipovi hemolize kod streptokoka. Postoje i kombinovane podloge – istovremeno su i selektivne i diferencijalne. Primeri kombinovanih podloga su Endo agar, MSA (Manitol Salt Agar), Mc Conkey agar i dr. 5. Transportna podloga – služi za transport uzetih uzoraka do laboratorije. Omogućava preživljavanje mo tokom transporta, sprečava prevelik rast organizama koji mogu da zagade uzorak, sprečavaju isušivanje uzorka itd. Primer je Stjuartov medijum. 6. Anaerobna podloga – za rast anaerobnih organizama koji rastu bez kiseonika. Primer je tioglikolat podloga.

Podloga sa dodatkom ovčje krvi koja se najčešće koristi je Columbia agar sa dodatkom 5% ovčje krvi (BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood, 2013). Ellner i sar. (1966) prijavili su razvoj nove formule krvnog agara koji je nazvan agar Columbia. BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood poseduje izvrsna svojstva koja stimulišu rast zahvaljujući kombinaciji dva peptona i ekstraktu kvasca koji opskrbљuje podlogu vitaminima B kompleksa. Kukuruzni skrob uključen je radi apsorpcije nusproizvoda sadržanih u uzorku te služi kao izvor energije za organizme koji sadrže alfa-amilaze. Ovčja krv omogućuje otkrivanje hemolitičkih reakcija i opskrbљuje podlogu faktorom X (heme) potrebnim za rast mnogih patogenih vrsta. Na ovoj podlozi kolonije su obično veće, a njihov rast je bogatiji nego na podlozi koja sadrži druge baze krvnog agara. Krvni agar Columbia preporučuje se kao podloga za primarnu izolaciju u standardima MiQ i u drugim dijagnostičkim priručnicima.

Mikrobiološke podloge moraju biti određenog kvaliteta. Procenat podloga koja nije bila adekvatnog kvaliteta za sve medije kretala se od 0,10% do 9,87% (prosečno 1,01%). Razlozi za loš kvalitet bili su izostanak rasta (39,9%), bez inhibicije (18,6%), nesterilne (17,9%), hemolize (7,2%) i postojanje površinskog defekta (16,3%) (Basu i sar., 2005). Hemoliza u podlozi je od posebnog značaja, jer razvoj hemolize onemogućuje adekvatnu detekciju bakterija i čini podloge u potpunosti neupotrebljivim. Problemi koji se odnose na izmenjenu prozirnost ili dobijanje suviše tamnog ili razvodnjjenog agara dešava se kod pregrevanja agara iznad 50°C ili kod neadekvatne pH vrednosti prilikom izrade podloga. Veliki problem može biti kondenzacija u Petrijevoj

ploči, kao i nestabilnost boje krvnog agar-a, koja se može značajno izmeniti tokom vremena (Integra Biosciences, 2019; Thermo Scientific, 2019). Pogledati sliku 1.



Slika 1. A – Hemolizirani krvni agar (levo) i podloga očekivane boje (desno); B – kondenzat u petrijevoj šolji posle razливanja podloge; C – Različite boje krvnog agar-a, bledilo agar-a smanjuje upotrebljivost.

*Picture 1. A – Hemolized blood agar (left) and standard color of agar (right); B – a condensate in a Petri dish after the substrate was poured; C – Different colors of blood agar, pale agar reduces usability.*

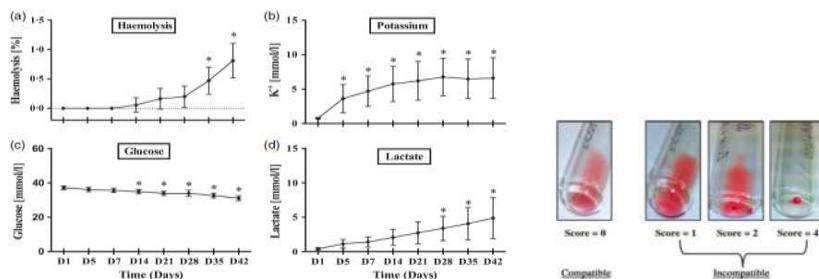
### Kontrola kvaliteta krvi za proizvodnju agar-a

Krv od različitih životinjskih vrsta se može koristiti za dodavanje u mikrobiološke podloge. Uticaj porekla krvi na rezultate mikrobioloških ispitivanja utvrđeno je u nekoliko istraživanja (Tenny i sar., 2014; Yeh i sar., 2009; Anand i sar., 2000; Gratten i sar., 1994; Pitigalage i sar., 2012; Sooriyar i sar., 2015). Rezultati su pokazali da je ovčja krv najprihvatljivija za veliki broj analiza, te da je mnogo kvalitetnija u odnosu na humanu krv koja se koristi iz banaka, a da joj mogu komparirati goveda, kozja i svinjska krv. Nalazi u mnogome zavise od toga koje vrste mikroorganizama su izolovane u ogledu. Životinjska krv sadrži nižu koncentraciju hemoglobina od humane, pa se dobijaju prepoznatljive crvene boje podloge na kojima se lepo uočavaju hemolize.

Da bi smo mogli da detektujemo koji su to kvalitativni faktori u krvi koje treba ispitati kako bi se osigurao kvalitet podloga treba u najkraćim crtama predstaviti tehnologiju proizvodnje ovčije krvi za spravljanje podloga. Krv se uzima od ovnava adekvatnog hranidbenog i zdravstvenog statusa. Krv može biti defibrinisana ili se može uzimati u kesu sa citratom. Krv se potom čuva do upotrebe na odgovarajućoj temperaturi. Pre upotrebe krv se meša sa krvi drugih ovnava, adekvatno se greje i kroz peristaltičku pumpu se dodaje određena količina (5%) u svaku od Petrijevih ploča. Osnovni problemi koji se ovde mogu javiti mogu se podeliti na tri nivoa: 1) kvalitet primarnih uzoraka krvi i njihova kompatibilnost; 2) uticaj čuvanja na kvalitet krvi; 3) hemoliza i koagulacija krvi prilikom mešanja i stavljanja u peristaltičku pumpu.

U primarnim uzorcima je značajno odrediti parametre koji ukazuju na stepen hemolize uzorka, jer što je intenzitet hemolize veći i stabilnost eritrocita manja, to je uzorak krvi manje upotrebljiv za spravljanje mikrobioloških podloga. Rezultati ispitivanja Simonova i sar. (2014) su pokazali kako se menjaju indeksi hemolize u ovčjoj krvi koja se čuva 42 dana. Rezultati pokazuju da % hemolize raste od prve nedelje posle uzorkovanja i konstantno raste do 42. dana, a menja se koncentracija laktata, kalijuma i glukoze (Grafikon 1). Isti istraživači su u navedenom radu prikazali koji je nivo inkompatibilnosti krvi u populaciji ovaca. Izvršena je analiza 76 parova krvi i pokazano je da je 17,6% krvi inkompatibilno. Inkompatabilnost bi mogla da bude

veoma važna stvar prilikom spravljanja mikrobioloških podloga, jer se zbog potrebe proizvodnje često mešaju dva ili više uzoraka krvi u jednoj boci, pa se ta smeša dalje koristi sa sipanje u podlogu u proizvodnom procesu. Na Grafikonu 2 su prikazani rezultati testa ukrštanja krvi kod ovaca. Pored koagulacije u testu ukrštanja kod ovaca jednak je ili čak nešto više prisutna i hemoliza, pa je potrebno tokom testa očekivati obe pojave (Thrall i sar., 2012).



Grafikon 1. Uticaj čuvanja ovčije krvi na parametre hemolize. Graf. 2. Rezultati testa inkompatibilnosti ovčije krvi (Simonov i sar., 2014)

*Graph.1.Influence of storage of sheep blood on hemolitic parameters. Graph.2. Results of crossmatch testing of ovine blood (Simonov et al., 2014)*

Kako hemoliza može značajno da skrati vek upotrebljivosti uzorka krvi za potrebe spravljanja mikrobioloških podloga, a sa druge strane može smanjiti vek upotrebljivosti podloga ukoliko se u iste doda nestabilna krv, autori predlažu uvođenje postupaka koji bi omogućili merenje otpornosti eritrocita i stepena hemolize posle čuvanja, a neposredno pre stavljanja u podloge. U Laboratoriji za patološku fiziologiju Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu ispituje se stepen mehaničke fragilnosti pomoću rolera i rokera, kao i test osmotske otpornosti eritrocita, a iz svakog uzorka krvi pravi se razmaz i ispituje % ehinocita, obzirom da prisustvo ehinocita ukazuje na smanjen turgor i stabilnost eritrocita. Novija istraživanja koja su sproveli Ziegler i sar. (2017) pokazuju da se navedene metode mogu koristiti podjednako kod malih i velikih zapremina krvi, a da mehanička otpotnost zavisi od hematokrita i koncentracije proteina. Metode za ocenu deformabilnosti eritrocita opisane su i upoređenje u radu Wiegmann-a i sar (2017).

Na kraju jedan od posebnih problema može biti i koagulacija uzorka u primarnoj kesi, koagulacija posle filtriranja, posle mešanja više uzorka ili tokom prolaska kroz peristaltičku pumpu, te tokom izlaganja višim temperaturama agaru i dr. Zbog toga je potrebno ispitati moguće faktore koji dovode do in vitro koagulacije krvi. U svom istraživanju Shastry i Das (2016) navode veliki broj faktora koji dovode do koagulacije uzorka krvi, a koji se mogu podeliti na faktore vezane za osoblje koje uzima krv, mašine za monitoring, materijale i tehniku. Jedan od značajnih orijentira je da se odredi vreme sakupljanja krvi u primarnom uzorku, koje ne bi trebalo da prelazi 10-15 minuta. Potrebno je poznavati različite faktore koji mogu dovesti do koagulacije krvi u vezi sa njenim protokom (Rana i Neeves, 2016). Ovde se u obzir moraju uzeti različiti faktori koagulacije i fibrin, a potrebno je pronaći jednostavan i primenjiv metod i indikator koji pokazuje da je krv sklona stvaranju in vitro koagulum, pre nego se nađe u peristaltičkoj pumpi i pre nego što uđe u finalni proizvod a to je mikrobiološka podloga.

## Zaključak

Biološke osobine životinja koje služe za proizvodnju krvи, te moguće posledice čuvanja krvi kao i *in vitro* mešanje različitih uzoraka krvi i odgovor na prolazak kroz peristaltičku pumpu mogu dovesti do promena u mikrobiološkim podlogama koje su obogaćenje krvlju. Zbog toga je potrebno ispitati i kvantifikovati hematološke, biohemijske i fizičke parametre kvaliteta krvi koji ukazuju na to da se krv može koristiti ili odbaciti pre stavljanja u razliveni agar, što zahteva dodatna istraživanja.

## Napomena

Istraživanja u ovom radu deo su projekta TR31062 koji finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja R.Srbije i projekta Fonda za inovacionu delatnost Srbije, a nastali u saradnji sa kompanijom ProReady-ProMedia Kikinda.

## Literatura

- Anand C., Rhonda Gordon, Helene Shaw, et al. (2000). Pig and Goat Blood as Substitutes for sheep blood in Blood – Supplemented agar media, Journal of Clinical Microbiology, 2, 591-594.
- Basu, S., Pal, A., & Desai, P. K. (2005). Quality control of culture media in a microbiology laboratory. Indian journal of medical microbiology, 23, 159.
- BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood, 2013, Uputstvo za upotrebu. PA-254005.06
- Gratten, M., D. Battistutta, P. Torzillo, et al. (1994). Comparison of goat and horse blood as culture medium supplements for isolation and identification of *Haemophilus influenzae* and *Streptococcus pneumoniae* from upper respiratory tract secretions. J. Clin. Microbiol. 32, 2871–2872.
- Integra Biosciences, <https://www.integra-biosciences.com/global/en/media-preparation/mediajet>.
- Pitigalage NJ, Jayatilleke SK. (2012). Comparison of cattle blood with sheep, rabbit and human blood in blood supplemented media. The bulleting of the Sri Lanka College of Microbiologists, 10:31.
- Rana K., Neeves K.B. (2016). Blood flow and mass transfer regulation of coagulation. Blood reviews, 30(5), 357-68.
- Shastry, S., & Das, S. (2016). Root-cause analysis for clot in blood bag. Asian journal of transfusion science, 10(1).
- Simonova, G., Tung, J. P., Fraser, J. F., Do, H. L., Staib, A., Chew, M. S., & Fung, Y. L. (2014). A comprehensive ovine model of blood transfusion. Vox Sanguinis, 106(2), 153-160.
- Sooriyar UV, Jayatilleke K. (2015). Usefulness of cattle blood as an enrichment substance in blood supplemented culture media, in the clinical microbiology laboratory. The Bulletin of the Sri Lanka College of Microbiologists, 13, 17.
- Stošić Z. (2012): Priručnik za pripremu i korišćenje hranljivih podloga. Veterinarski specijalistički institut Šabac.
- Tenny O. Egwuatu, Folasade T. Ogunsola, Isi M. Okodugha, et al. (2014). Effect of blood agar from different animal blood on growth rates and morphology of common pathogenic bacteria, Advanced Microbiology, 4, 237-124.

- Thermo scientific- <http://www.oxoid.com/UK/blue/techsupport/its.asp?itsp=faq&faq=tsfaq012&cat=culture+media%2C+supplements+and+raw+materials&lang=EN&c=UK>, pristupio 20.01.2019.
- Thrall, M. A., Weiser, G., Allison, R., & Campbell, T. (Eds.). (2012). Veterinary hematology and clinical chemistry. John Wiley & Sons.
- Yeh E., Benjamin A. Pinsky, Niaz Banaei, Ellen Jo Baron (2009). Hair sheep blood, citrated or defibrinated, fulfils all requirements of Blood Agar for diagnostic Microbiology laboratory tests, PLoS ONE; 4(7): e6141.
- Wiegmann, L., De Zélicourt, D. A., Speer, O., Muller, A., Goede, J. S., Seifert, B., & Kurtcuoglu, V. (2017). Influence of Standard Laboratory Procedures on Measures of Erythrocyte Damage. Frontiers in physiology, 8, 731.
- Ziegler, L. A., Olia, S. E., & Kameneva, M. V. (2017). Red blood cell mechanical fragility test for clinical research applications. Artificial organs, 41(7), 678-682.

## **INFLUENCE OF QUALITY CONTROL OF ANIMAL'S BLOOD FOR MICROBIOLOGY AGAR PLATE PREPARATION**

*Marko R. Cincović<sup>1</sup>, Branislava Belić<sup>1</sup>*

### **Abstract**

Microbiological blood agar with the addition of sheep's blood are very important basis for the listing of a large number of bacteria. The results showed that sheep blood is the most acceptable for a large number of analyzes. Animal blood contains a lower concentration of hemoglobin than human, so you can get recognizable red colors of the substrate on which the hemolyses are well spotted. Blood quality parameters that can be examined in order to obtain higher blood yields and better microbiological bases are: stability of haematological and biochemical parameters of blood during storage, parameters of hemolysis of blood samples, deformation of erythrocytes, inclination of blood to in vitro coagulation. These methods can be applied through the following phases of blood work: primary blood samples taken for haematological and biochemical analysis and for cross-activity test, blood samples taken in the bag and ready for storage up to the time of application in the substrate, blood samples at the end of the storage cycle and after mixing with other blood samples and immediately before placing them in the microbiological basis. All of the above indicates that it is necessary to include hematological and biochemical laboratory in the routine work with the preparation of microbiological blood agar, especially in the case of industrial serial production.

**Key words:** blood, agar, quality, hemolysis, coagulation.

---

<sup>1</sup>University of Novi Sad, Faculty of Agriculture, Department of veterinary medicine – Laboratory of pathophysiology, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad, Srbija ([mcincovic@gmail.com](mailto:mcincovic@gmail.com))

## UTICAJ METABOLIČKOG STATUSA NA REPRODUKTIVNU EFIKASNOST MLEČNIH KRAVA U PERIPARTALNOM PERIODU

Miloš Ž. Petrović<sup>1</sup>, Radojica Đoković<sup>1</sup>, Marko Cincović<sup>2</sup>, Branislava Belić<sup>2</sup>,  
Miodrag Radinović<sup>2</sup>, Milun D. Petrović<sup>1</sup>, Vladimir Kurčubić<sup>1</sup>, Zoran Ž. Ilić<sup>3</sup>

**Izvod:** Peripartalni period kod mlečnih krava obuhvata 3 nedelje ante partum i 3 nedelje post partum (eng., transition period). Predstavlja najkritičniju fazu u životu mlečnih krava, jer se u organizmu odigravaju metaboličke, endokrinološke, imunološke i reproduktivne promene, koje utiču na ekonomičnost proizvodnje. U tranzicionom periodu (kasna bremenitost i rana laktacija) povećavaju se potrebe organizma za energijom, glukozom, aminokiselinama i drugim hranljivim materijama, a unos hrane je smanjen. Zbog toga se negativni energetski bilans NEBAL, javlja kao glavni uzrok smanjenja plodnosti.

**Ključne reči:** Peripartalni period, metabolički stres, reproduktivni period, mlečne krave

### Uvod

Peripartalni period obuhvata 3 nedelje ante partum i 3 nedelje post partum. Predstavlja najrizičniji period kod mlečnih krava, jer se metabolizam krava suočava sa nizom promena u homeostazi sa endokrinološkim promenama, metaboličkim stresom i brojnim patofiziološkim mehanizmima (inflamacija, insulinska rezistencija i metabolička adaptacija) koji se razvijaju tokom metaboličkog stresa u peripartalnom periodu kod mlečnih krava (Petrović i sar., 2018.).

Prelazak iz stanja graviditeta i zasušenja u period rane laktacije metabolički opterećuje krave, pa se broj novoobolelih krava (masna jetra, ketoza, zaostajanje posteljice, metritis, ciste jajnika, mastitisi) povećava u ovom periodu.

Dobra i efikasna reprodukcija na farmi kod mlečnih krava je od velikog ekonomskog značaja. Međutim, povećana proizvodnja mleka zajedno sa lošim menadžmentom farme (loša ishrana ili reprodukcija) može da utiče na smanjenu plodnost kod životinja. Naime, selekcija u govedarstvu je veoma uspešna u smeru povećanja proizvodnje mleka. Ali, fenotip mlečnosti nasledan je svega 25%. Uticaj paragenetskih faktora na osobine mlečnosti bez obzira da li su po svojoj prirodi fiksni (odgajivačko područje godina i sezona rođenja, sezona telenja, laktacija po redu) ili kontinuelni (uzrast pri prvoj oplodnji i telenju) vrlo je izražen i značajan te ih je neophodno uključiti u modele za ocenu priplodne vrednosti mlečnih krava (Petrović i sar., 2005, 2006, 2009, 2010, 2012, 2015, 2016; Bogdanović i sar., 2012.)

Nažalost, postoji jasna negativna korelacija između prinosa mleka i plodnosti, prisustva i detekcije mastitisa, dužine života i drugih zdravstvenih osobina. Smanjena

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija (petrovic.milos87@kg.ac.rs);

<sup>2</sup>Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Trg Dositeja obradovića 8, 21000 Novi Sad, Srbija;

<sup>3</sup>Univerzitet u Prištini, Poljoprivredni fakultet Lešak, 38219 Lešak, Srbija;

plodnost a samim tim i broj oteljenih grla je i isključivo povezana sa rastom proizvodnje mleka (Gábor i sar., 2016a.).

Zbog toga, je veoma važno shvatiti fiziologiju reproduktivnog ciklusa i njegovu vezu sa metaboličkim statusom kod krava u ranoj laktaciji (Đoković i sar., 2014a.).

### **Reproduktivni ciklus i reproduktivna efikasnost krava**

Osnovni ciljevi savremene stočarske proizvodnje su povećanje plodnosti priplodnih grla, produženje vremena njihovog iskoriščavanja, uvećanje dobiti i odgajivanje što većeg broja genetski kvalitetnih potomaka. Ostvarenje navedenih ciljeva zavisi od faktora koji određuju genetski potencijal reproduktivnih osobina priplodnih grla i faktora spoljne sredine (paragenetski faktori), koji omogućuju fenotipsko ispoljavanje reproduktivnih karakteristika (Košarcic i sar., 2003.; Petrović i sar., 2013a, 2013b, 2013c.).

Osnovne reproduktivne funkcije krava su: (1) polno sazrevanje, (2) estrusni ciklus, (3) proces oplodnje (fertilizacije), (4) bremenitost (graviditet), (5) porođaj (partus), (6) sinteza i izlučivanje mleka (laktacija) i (7) uspostavljanje estrusnog ciklusa posle partusa. Sve reproduktivne funkcije su kontrolisane složenim neuro-endokrinim mehanizmima, na osnovi centralni nervni sistem (CNS)-hipotalamus-hipofiza-jajnik (Stančić, 2014.).

Reproduktivni ciklus krava se može posmatrati sa dva najvažnija osnovna aspekta: estrusni ciklus i gravidnost sa porođajem. Ukoliko se reproduktivni ciklus krava odvija u optimalnom vremenskom periodu govorimo o dobroj reproduktivnoj efikasnosti krava.

Sa postizanjem optimalne reproduktivne efikasnosti na farmi povećava se proizvodnja mleka, broj teladi, smanjuje se broj neproizvodnih dana krave, smanjuju se troškovi lečenja i sl. Parametri koji nam ukazuju na reproduktivnu efikasnost krava na farmi i njihove optimalne vrednosti date su u tabeli 1.

Tabela 1. Parametri reproduktivne efikasnosti krava  
Table 1. Parameters of reproductive efficiency of cows

Parametar <i>Parameter</i>	Optimalna Vrednost <i>Optimal value</i>	Vrednosti koje ukazuju na problem <i>Values that point to a problem</i>
Medutelidbeni interval, meseci <i>Inter-calving interval, months</i>	12,5-13	>14
Od teljenja do prvog primećenog estrusa, dani <i>From calving to the first observed estrus, days</i>	<40	>60
Krave kod kojih je estrus otkriven u prvih 60 dana po teljenju <i>Cows in which estrus is detected in the first 60 days after calving</i>	>90%	<90%
Broj praznih dana do prvog osemenjavanja <i>Number of empty days until the first insemination</i>	45-60	>60
Broj osemenjavanja po konceptciji	<1,7	>2,5

<i>Number of inseminations per conception</i>		
Koncepcija od prvog osemenjavanja krava <i>The conception of the first insemination of cows</i>	50-60%	<40%
Koncepcija od prvog osemenjavanja junica <i>The conception of the first insemination of heifers</i>	65-70%	<60%
Krave koje su koncipirale posle manje od tri osemenjavanja <i>Cows that are conceptioned after less than three insemination</i>	>90%	<90%
Krave koje imaju 18-24 dana između pojedinih osemenjavanja (regularni estrus) <i>Cows which have 18-24 days between each of insemination (regular estrus)</i>	>85%	<85%
Prosečno trajanje servis perioda, dani <i>Average duration of service period, days</i>	85-110	>140
Krave sa servis periodom dužim od 120 dana <i>Cows with a service period longer than 120 days</i>	<10%	>15%
Pojava abortusa <i>The occurrence of abortion</i>	<5%	>10%
Isključenje sa farme zbog reproduktivnih problema <i>Exclusion from the farm because of reproductive problems</i>	<10%	>10%

Kada se radi o parametrima reproduktivne efikasnosti treba znati da je stepen njihove heritabilnosti vrlo nizak i iznosi od 5 do 30%. To znači da veći broj minor gena definiše reproduktivne osobine krava, a da će konačno ispoljavanje reproduktivnih osobina krave zavisiti od faktora kako njene unutrašnje sredine (homeostaze) tako i od faktora spoljašnje sredine ishrane i nege (Đoković R. i sar.2014b.).

### Metabolički faktori i reproduktivna efikasnost

Najveći problem kod postpartalnih krava je neravnoteža između telesnih rezervi i proizvodnje mleka. Metabolički procesi u tranzpcionom periodu su prilagođeni da obezbede potrebnu energiju i prekursore za sintezu mlečnih jedinjenja (Grummer 1995.; Overton i Valdron, 2004.). Shodno tome, u ranoj laktaciji zbog smanjenog unosa hrane, javlja se negativan bilans energije (negative energy balance – NEBAL). Naročito je izražena povećana mobilizacija lipida iz telesnih depoa, kako bi se masti koristile u energetske svrhe, ali krave postaju skljone razvoju ketoze i masne jetre (Cincović i sar., 2012.; Đoković i sar., 2014c.). Kao posledica lipolize u masnom tkivu povećava se koncentracija neesterifikovanih masnih kiselina (NEFA) i betahidroksibutirata (BHB) u krvotoku. Ovaj fenomen se javlja kao posledica endokrinih i metaboličkih promena, prvenstveno zbog prisustva insulinske rezistencije (Cincović i sar., 2014.). NEFA se deponuju u hepatocitima u obliku triglicerida (TGC), formiraju se masne vakuole i time menjaju histološke, morfometrijske i metaboličke karakteristike hepatocita (Đoković i sar., 2011.).

Kao rezultat toga, lipomobilizacija intenzivira ketogenezu i lipogenezu u jetri i kao posledica toga, smanjuje se koncentracija glukoze, triglicerida i ukupnog holesterola u krvi (Sevinc i sar., 2003.; Đoković i sar., 2007, 2009, 2010.).

Pošto tranzicioni (prelazni) period obuhvata najvažnije fiziološke promene u vremenu oko teljenja, teljenje i početak muže deluju kao stresni faktori za krave, i utiču na metaboličke i hormonalne promene (Gábor i sar., 2016b.).

U osnovi svih ovih poremećaja je negativan bilans energije na početku laktacije. U uslovima NEBAL, organizam troši sopstvene rezerve energije, najpre rezerve glikogena, zatim masti, a onda i proteina. Kao posledica toga nastaju zamašćenje jetre, mršavljenja različitog stepena, smanjenja proizvodnih i reproduktivnih sposobnosti, a u nekim slučajevima i uginuće životinje (Đoković i sar., 2014a.).

Reprodukтивna efikasnost krava u tom periodu zavisi s jedne strane od uspostavljanja estrusa i svojstava estrusnog ciklusa, a sa druge strane od uspostavljanja gravidnosti i preživaljavanja embriona.

Vidljivost estrusa i razvoj tipičnih znakova estrusnog ciklusa je u vezi sa adekvatnom koncentracijom FSH i LH hormona i razvojem dominantnog folikula. Tokom postpartalnog perioda, neophodna je brza i ujednačena involucija materice, rano vraćanje normalne aktivnosti jajnika i tačno detektovani estrus. Većina krava razvija blagi nepatološki endometritis u ranoj puerperalnoj fazi. Ovo fiziološko stanje, zajedno sa smanjenom imunokompetencijom zbog visoke proizvodnje mleka, NEBAL i loša higijena telenja, može izazvati puerperalni endometritis. Metritis uzrokuje oštećenje endometrijuma, što može odložiti koncepciju (Thatcher i sar., 2011.).

Embrionalno preživljavanje i održavanje graviditeta zavise od brojnih faktora, a posebno od koncentracije progesterona. Hormoni se moraju proizvesti u dovoljnoj količini. Proizvodnja hormona je anabolički proces, što znači da će se za njihovu proizvodnju trošiti određena količina energije. Energija se nadoknađuje hranom, pa se tako u uslovima NEBAL-a i metaboličkog stresa javlja veliki broj poremećaja u reprodukciji krava. Hormoni, metaboliti i hranljive materije deluju na hipotalamus, koji luči gonadostimulišuće faktore (GnRF) za FSH i LH, a takođe deluje na jajnik i uterus. Nedostatak FSH i LH dovode do tihih estrusa i izostanka ovulacije, a nedovoljno energije i anaboličkih hormona uz delovanje hormona stresa dovodi do razvoja cista na jajniku, a izražena inflamacija kao posledica katabolizma tkiva i slab unos hrane dovode do smanjene involucije uterusa posle teljenja i nastanak upalnih procesa.

Kod krava koje su pod stresom raste koncentracija adenokortikotropnog hormona (ACTH), koji stimuliše lučenje kortizola iz *zone fasciculate* – kore nadbubrega, kao glavnog medijatora stresa. Međutim, ACTH vrši i stimulaciju lučenja progesterona. Progesteron iz *zone reticularis* - nadbubrega koči odavanje gonadooslobadajućih hormona iz hipotalamusa, a kortizol smanjuje broj receptora za LH na jajniku i lučenje estradiola iz antralnog folikula. Na taj način slabi povratna sprega hipotalamusa i jajnika čime se blokira ovulacija a na jajniku ostaju nedovoljno razvijeni folikuli, koji se transformišu u ciste.

Neki istraživači su dokazali da povećane koncentracije neesterifikovanih masnih kiselina (NEFA) i betahidroksibutirata (BHB), deluju toksično na jajne ćelije, a sličan efekat je pokazala i povišena koncentracija uree u krvi. Značajan gubitak telesne mase u ranoj laktaciji kod krava dovodi do blokiranja sekrecije gonadostimulišućeg hormona.

Takođe, hipoglikemija i povišena koncentracija hormona rasta postpartalno, utiče negativno na reproduktivnu efikasnost krava.

Metaboličke promene u toku graviditeta su u vezi sa potrebama fetusa i hormonskim promenama. Potrebe u materiji i energiji moraju biti uvećane za potrebe razvoja fetusa. Fetus koristi glukozu kao izvor energije, ali može da koristi i aminokiseline, laktat i ketonska tela. Masne kiseline ne prolaze kroz placentu u fetus, ali majčin LDL holesterol je značajan prekursor sinteze steroida placente. Placenta sekretuje polipeptidni hormon laktogen, estradiol i progesteron. Laktogen stimuliše lipolizu u masnom tkivu, a steroidni hormoni izazivaju stanje gladovanja od negravidne. Koncentracija glukoze, aminokiselina i insulina brzo opadaju, a raste koncentracija glukagona koji stimuliše lipolizu i ketogenezu (Đoković i sar., 2014b).

Da bi se smanjili metabolički stresovi kod krava u peripartalnom periodu, neophodno je da se obezbede dobro izbalansirani obroci, kako u zasušenju tako i u svim fazama laktacije.

### **Zaključak**

Prelazak iz stanja graviditeta i zasušenja u period rane laktacije metabolički opterećuje krave. Glavni problem kod krava postpartalno je neravnoteža između telesnih depoa i proizvodnje mleka i kao posledica toga javlja se Nebal. Smatra se kao glavni uzrok smanjene fertilitnosti životinja, što se odražava na povećanje novoobolelih krava (masna jetra, ketoza, zaostajanje posteljice, metritisi, ciste jajnika, mastitis) u ovom periodu. Zato mlečnim kravama treba redovno obezbediti sva hraniva (preko izbalansiranih obroka), kako u zasušenju tako i u svim fazama laktacije.

### **Napomena**

Istraživanja u ovom radu deo su projekta „Ekološki pristup i uvodenje savremenih biotehnologija kao osnova unapređenja tehnologije proizvodnje gajenih preživara“ - TR 31001, koji finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

### **Literatura**

- Miloš Ž. PETROVIĆ, Radojica D. ĐOKOVIĆ, Marko R. CINCOVIĆ, Branislava BELIĆ, Milun D. PETROVIĆ, Vladimir KURĆUBIĆ, Zoran Ž. ILIĆ, Miodrag Radinović (2018). Family of heat shock proteins of 70 kDa in the peripartal period in dairy cows. IX International Scientific Agriculture Symposium "Agrosym 2018", Jahorina, October 04 - 07, 2018., p. 1063. ISBN 978-99976-718-5-1.
- PETROVIĆ D.M., SKALICKI Z., BOGDANOVIĆ V., PETROVIĆ M.M., KURĆUBIĆ V. (2005): The Effect of Paragenetic Factors on Performance Traits in Complete Lactations in Simmental Cows. 8<sup>th</sup> International Symposium Modern Trends In Livestock Production. Belgrade Zemun, Serbia and Montenegro, 5.-8.10.2005. Biotechnology in Animal Husbrandy 21 (5-6), p 7-12.

- PETROVIĆ D.M., ĐOKOVIĆ R., BOGOSAVLJEVIĆ-BOŠKOVIĆ SNEŽANA., KURĆUBIĆ V. (2006): Uticaj paragenetskih faktora na proizvodne osobine standardnih laktacija kod krava simentalske rase. Savremena poljoprivreda, Vol.55, 1-2, Str. 138-143, Novi Sad.
- PETROVIĆ D.M., SKALICKI Z., PETROVIĆ M.M., BOGDANOVIĆ V.(2009): The Effect of Systematic Factors on Milk Yield in Simmental Cows Over Complete Lactations. Biotechnology in Animal Husbandry 25(1-2), p 61-71, Belgrade-Zemun.
- PETROVIĆ D.M., BOGDANOVIĆ V., PETROVIĆ M.M., SNEŽANA BOGOSAVLJEVIĆ-BOŠKOVIĆ (2010): Uticaj paragenetskih faktora na proizvodnju 4% mast-korigovanog mleka u celim i standardnim laktacijama. XV savetovanje o biotehnologiji. Zbornik radova Vol.15(17), str. 585-590. Agronomski fakultet, Čačak.
- M.D. PETROVIĆ, Z. SKALICKI, V. BOGDANOVIĆ, M.M. PETROVIĆ, S. BOGOSAVLJEVIĆ-BOŠKOVIĆ, R. ĐOKOVIĆ, S. RAKONJAC (2012): The Effect of Geographical Region on Lifetime Milk Yield in Simmental Cows. Proceedings of the First International Symposium on Animal Science. November 8-10<sup>th</sup>, Belgrade, Serbia. Book I, p. 103-110. ISBN 978-86-7834-164-9, ISBN 978-86-7834-166-3.
- BOGDANOVIĆ V., ĐEDOVIĆ R., STANOJEVIĆ D., PETROVIĆ D.M., BESKOROVAJNI R., RUŽIĆ-MUSLIĆ D., PANTELIĆ V.(2012): Regional Differences in Expression of Milk Production Traits in Simmental Cows. Proceedings of the First International Symposium on Animal Science. November 8-10<sup>th</sup>, Belgrade, Serbia. Book I, p. 223-230.
- Gábor, G., Balogh, O.G., Kern, L., Gábor, P.R. andFébel, H. (2016): Nutrition, Metabolic Status and Reproductive Efficiency in Dairy Herds. Open Journal of Animal Sciences, 5, 75-84.
- Радојица Д. Ђоковић, Нектариос Д. Гиадинис, Стаматис Аргироудис, Јован А. Ђоковски, (2014а): Здравствена заштита преживара. 24-26. Чачак, Србија, Агрономски факултет у Чачку.
- GRUMMER R.R. (1995): Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cows. J. Anim. Sci., 73: 2820-2833.
- OVERTON T.R., WALDRON. M.R. (2004): Nutritional management of transition dairy cows: Strategies to optimize metabolic health. J.Dairy Sci., 87: E105-E119.
- Cincović M.R., Belić B., Radojičić B., Hristov S., Đoković R. (2012). Influence of lipolysis and ketogenesis to metabolic and hematological parameters in dairy cows during periparturient period. Acta veterinaria (Beograd), 62(4), 429-444.
- Djoković R., Cincović, M., Kurcubic, V., Petrović, M., Lalović, M., Jašović, B., Stanimirović, Z. (2014c). Endocrine and Metabolic Status of Dairy Cows during Transition Period. Thai Journal of Veterinary Medicine, 44(1), 59-66.
- Cincović M.R., Belić B., Đoković R., Toholj B., Hristovska T., Delić B., Došenović M. (2014). Insulin resistance in cows during dry period and early lactation. Contemporary agriculture, 63, 1-2, 98-105.
- Djoković, R., Z. Ilić, V. Kurćubić, M. Petrović, V. Dosković (2011). Functional and morphological state of the liver in Simmental dairy cows during transitional period. Revue de medecine veterinaire, 162, 574-579.

- Ђоковић Радојица, Џинцовић Марко, Белић Бранислава (2014б): Физиологија и патофизиологија метаболизма крава у перипарталном периоду. 59-64. Нови Сад, Пољопривредни факултет Нови Сад, Универзитет у Новом Саду.
- SEVINC M., BASOGLU A., GUZELBEKTA H. (2003): Lipid and lipoprotein levels in dairy cows with fatty liver. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 27: 295-299.
- ĐOKOVIC R., ŠAMANC H., JOVANOVIC M., NIKOLIC Z. (2007): Blood concentrations of thyroid hormones and lipids in the liver in dairy cows in transitional period. *Acta Vet. Brno*, 76:525-532.
- ĐOKOVIĆ R., ILIĆ Z., BOGOSAVLJЕVIĆ-BOŠKOVIĆ S., PETROVIĆ M. (2009): The functional state of liver cells in dairy cows in postpartal period and during lactation. *Contemporary agriculture* (Novi Sad), 58 (3-4)37-43.
- ĐOKOVIĆ R., ILIĆ Z., KURČUBIĆ V., DOSKOVIĆ V. (2010): The values of organic and inorganic blood parameters in dairy cows during the peripartal period. *Contemporary agriculture* (Novi Sad), 59 (1-2)30-36.
- Košarcic D, Košarcic S, Grubac S. (2003): Uloga i znacaj biotehnologija u reprodukciji domaćih životinja." Savremena poljoprivreda" vol. 52, 3-4, str. 209-213, Novi Sad
- M.D. Petrović, M.M. Petrović, V. Bogdanović, S. Bogosavljević-Bošković, R. Đedović, S. Rakonjac (2013a): Effect Of Fixed And Continuous Non-Genetic Factors On Length Of Service Period In Simmental Cows. Proceedings of the 10<sup>th</sup> International Symposium Modern Trends in Livestock Production. Belgrade, Serbia, October 2-4, 2013. p. 48-56. ISBN 978-86-82431-69-5.
- Petrović M.D., Bogdanović V., Bogosavljević-Bošković S., Petrović M.M., Đoković R., Rakonjac S., Dosković V. (2013b): Effect of Fixed and Continuous Non-genetic Factors on Calf Birth Weight. 23<sup>rd</sup> International symposium "New Technologies in Contemporary Animal Production", Novi Sad (Serbia), 19-21 Jun, 2013, p. 50-52, ISBN 978-86-7520-271-4.
- M. D. Petrović, M.M. Petrović, V. Bogdanović, R. Đedović, R. Đoković, V. Dosković, S. Rakonjac (2013c): Effect of Fixed and Continuous Non-genetic Factors on length of Calving Interval in Simmental cows. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, Vol 16, 4. p. 880-895. Published by Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture Trojan, Bulgaria, pp. ISSN 1311-0489.
- Ivan B. Stančić (2014): Reprodukcija domaćih životinja, 30-37. Novi Sad, Srbija, Poljoprivredni fakultet Novi Sad.
- Thatcher, W.W., Santos, J.E.P. and Staples, C.R. (2011): Dietary Manipulations to Improve Embryonic Survival in cattle. *Theriogenology*, 76, 1619-1631. <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.06.005>

## THE INFLUENCE OF METABOLIC STATUS ON THE REPRODUCTIVE EFFICIENCY OF DAIRY COWS IN PERIPARTUM

*Miloš Ž. Petrović<sup>1</sup>, Radojica Đoković<sup>1</sup>, Marko Cincović<sup>2</sup>, Branislava Belić<sup>2</sup>, Miodrag Radinović<sup>2</sup>, Milun D. Petrović<sup>1</sup>, Vladimir Kurčubić<sup>1</sup>, Zoran Ž. Ilić<sup>3</sup>*

### Abstract

Peripartal period in dairy cows includes 3 weeks ante partum and 3 weeks post partum (transition period). It represents the most critical stage in the life of dairy cows, because the organism occurring metabolic, endocrine, immune and reproductive changes, which affect the profitability of production. In the transition period (late pregnancy and early lactation) increase the intake of energy, glucose, amino acids and other nutrients, and food intake is reduced. Therefore, the negative energy balance of NEBAL appears as the main cause of fertility reduction.

**Key words:** Peripartal period, metabolic stress, reproductive period, dairy cows

---

<sup>1</sup>University of Kragujevac, Faculty of Agronomy Čačak, Cara Dušana 34, Čačak, Serbia  
(name.lastname@kg.ac.rs)

<sup>2</sup>Institute of Field and Vegetable Crops, Maksima Gorkog 30, 21000 Novi Sad, Srbija

<sup>3</sup>Institute of Barley and Malt Sciences, PO Box 6050, Fargo, North Dakota, USA ...

## ORGANSKA PROIZVODNJA MLEKA

*Milun D. Petrović<sup>1</sup>, Snežana Bogosavljević-Bošković<sup>1</sup>, Simeon Rakonjac<sup>1</sup>, Radojica Đoković<sup>1</sup>, Vladimir Dosković<sup>1</sup>, Miloš Petrović<sup>1</sup>, Biljana Veljković<sup>1</sup>*

**Izvod:** Metode gajenja i izbor vrste i rase životinja za organsku proizvodnju mleka je ključno pitanje za organizovanje uspešne organske proizvodnje. Pravilnik o metodama organske stočarske proizvodnje naglašava da se u organskoj proizvodnji mleka koriste vitalne vrste i rase životinja koje su adaptirane na lokalne uslove odgajivanja i bolesti, da bi se izbegli zdravstveni problemi ili specifične bolesti karakteristične za vrste i rase koje se koriste u intenzivnoj stočarskoj proizvodnji (stres sindrom, BSE, spontani abortus, težak partus koji zahteva carski rez itd.).

Ovakva poljoprivreda obezbeđuje amortizaciju negativnih efekata društvenog razvoja na ekosferu i ljudsku populaciju u celini.

**Ključne reči:** organsko mleko, metod gajenja, izbor vrste, izbor rase.

### Uvod

Proizvodnja dovoljne količine zdrave hrane za sve veći broj stanovnika na planeti predstavlja jedno od najvažnijih pitanja za opstanak savremenog društva. Jedno od najranijih predviđanja tmurne budućnosti ja na ovu temu postavio profesor Jon Bedington, kada je u svom radu izneo pretpostavku da će porast svetske populacije do 2030. godine zahtevati rast proizvodnje hrane za 50% (Bedington, 2009). Kolika je važnost hrane za pojedinca, ali i društvo u celini, objasnio je poznati sociolog Abraham Maslow, kreator „piramide potreba“. On je istakao da je potreba za hranom osnovna potreba ličnosti, i da je pre svega neophodno zadovoljiti tu potrebu, a tek nakon toga sve ostale (Maslow, 1954). Očuvanje životne sredine i intenzivna poljoprivreda nisu komatibilne i zato je organska poljoprivreda prepoznata kao važna mogućnost u rešavanju ovih značajnih problema u svetu.

Sa spoznajom negativnih efekata intenzivne industrijske poljoprivredne proizvodnje kao i posledice koje može da ima konzumiranje proizvoda iz iste sa aspekta zdravlja potrošača (Laurence, 1991; Passille, 1997) raste interesovanje za nekonvencionalnu, a posebno organsku proizvodnju. Sve ovo uticalo je da se tokom poslednje decenije obim organske proizvodnje u svetskim razmerama znatno poveća. Širenu organske proizvodnje doprineli su i standardi definisani kroz zakonske propise i regulative koji obezbeđuju okvir za omogućavanje dobrih životnih uslova za domaće životinje. Ovi minimalni standardi, ipak, nisu nužno i garancija za dobro stanje po pitanju dobrobiti životinja i njihovog zdravstvenog stanja (Sundrum, 2001; Kijstra i Eick, 2006).

Organska poljoprivreda je sistem upravljanja koji teži ekološki i etički prihvatljivoj, zdravstveno bezbednoj, socijalno pravednoj i ekonomski isplativoj poljoprivrednoj proizvodnji. To nije samo proizvodnja visokovredne hrane i drugih produkata poljoprivrede, već podrazumeva specifičan i kvalitetan odnos prema prirodnim

<sup>1</sup> Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, 32 000 Čačak, Republika Srbija, (milunp@kg.ac.rs)

resursima, njihovom korišćenju u zadovoljenju potreba za hranom, kao i ekonomskoj isplativosti i održivosti proizvodnje (Pavlović i sar., 2011; Nikolić i sar., 2013).

### **Izbor vrste i rase domaćih životinja za organsku proizvodnju mleka**

Izbor životinja za organsku proizvodnju mleka je ključno pitanje za organizovanje uspešne proizvodnje. Pravilnik o metodama organske stočarske proizvodnje naglašava da se u organskoj proizvodnji koriste vitalne vrste i rase životinja koje su adaptirane na lokalne uslove odgajivanja i bolesti, da bi se izbegli zdravstveni problemi ili specifične bolesti karakteristične za vrste i rase koje se koriste u intenzivnoj stočarskoj proizvodnji (stres sindrom, BSE, spontani abortus, težak partus koji zahteva carski rez itd.) (Petrović D.M. i sar., 2017).

**Izbor vrste.** Iskustva iz zemalja u kojima organsko stočarstvo već ima dužu tradiciju pokazuju da organizacija organskog uzgoja preživara čija se ishrana bazira na pašnjacima i kabastoj hrani (goveda, ovce i koze), ne predstavlja veći problem (Petrović D.M. i sar., 2017). Takođe, olakšavajući faktor u gajenju preživara odnosno organskoj proizvodnji mleka je veća otpornost i jednostavnija zdravstvena zaštita preživara.

Upravo proizvodnja mleka bilo da je reč o organskom ili konvencionalnom stočarstvu bazira se na gajenju preživara, odnosno goveda, ovaca i koza.

**Izbor rase.** Još uvek ne postoje specijalizovane rase ili linije goveda, ovaca i koza namenjene isključivo za organsku proizvodnju mleka.

Proizvodnja organskog mleka se bazira na držanju i gajenju uobičajenih rasa goveda, ovaca i koza koje su zastupljene i u konvencionalnom stočarstvu.

Ipak, prednost se daje:

- autohtonim rasama domaćih životinja,
- lokalno adaptiranim rasama, kao i
- kombinovanim rasama.

Autohtone rase imaju niz pogodnosti za gajenje u sistemima organske poljoprivrede kao što su:

- izuzetna adaptabilnost i aklimatizovanost uslovima sredine,
- dobro iskorišćavanje i konverzija kabastih hraniva,
- velika otpornost na bolesti i lošije uslove ishrane i smeštaja,
- davanje animalnih proizvoda posebnog kvaliteta za ishranu ljudi, koji ne sadrže rezidue različitih antibiotika i sredstava za zaštitu bilja.

Ekonomskim korišćenjem autohtonih i lokalno adaptiranih rasa postiže se:

- očuvanje diverziteta odnosno raznolikosti domesticiranih vrsta životinja, i
- obezbeđenje izvora genofonda koji može da se upotribe za poboljšanje oslabele konstitucije i otpornosti intenzivnih rasa koja postoji kako sada tako se može javiti i u bliskoj ili dalekoj budućnosti.

**Rase za organsku proizvodnju mleka u govedarstvu.** Pri izboru rasa za organsku proizvodnju mleka prednost se daje prvenstveno lokalno adaptiranim rasama i rasama sa dobro izraženim funkcionalnim osobinama (dugovečnost, životna proizvodnja, izdržljivost, otpornost). Zastupljenost rasa u organskoj proizvodnji mleka, prema

pisanju Čengić-Džomba, 2014, je različita u pojedinim zapadnoevropskim zemljama. Tako na primer:

- u Velikoj Britaniji dominira holštajn frizijska, džerzej, gernzej i ajršir rasa,
- u Švajcarskoj je najzastupljenija simentalska rasa i njeni melezi sa crvenim holštajnom (68%), braonsvis (29%) i samo 3% holštajn frizijska rasa,
- u Danskoj dominira danska holštajn frizijska rasa, zatim crvena danska i danska crveno bela rasa,
- u Nemačkoj je najzastupljenija holštajn (45%) i simentalska rasa (33%), zatim sledi melezi holštajna sa braonsvis i montbeliard rasom, kao i melezi holštajna sa nemačkim autohtonim rasama.

Seleksijski ciljevi u organskoj proizvodnji kravlje mleka se bitno razlikuju od ciljeva u konvencionalnoj proizvodnji. Funkcionalne osobine se favorizuju u odnosu na proizvodne. Rezultati istraživanja sprovedenih u Velikoj Britaniji (Roderick, 2008) pokazuju da od 28 osobina koje treba da poseduju muzne krave u organskoj proizvodnji, prvih 10 se odnosi na zdravlje, plodnost i dugovečnost. Na prvom mestu je otpornost prema bolestima generalno, zatim sledi otpornost prema mastitisu, dugovečnost, sadržaj somatskih ćelija i plodnost krava, dok je količina proizvedenog mleka tek na 17. mestu. Krave većih okvira su poželjnije. Prema istom autoru, istraživanja u drugim zemljama (Kanada, Švajcarska, Austrija, Holandija) dala su slične rezultate. Pored navedenih osobina, navode se još izdržljivost nogu i papaka, zdravlje vimena, sadržaj masti i proteina u mleku, veći broj laktacija, odnosno duži proizvodni vek krava. Kapacitet konzumacije hrane je takođe visoko rangirana osobina zato što veći kapacitet podrazumeva veću konzumaciju voluminozne hrane.

Generalno, selekcija muznih krava u organskoj proizvodnji treba da se bazira na sledećim elementima:

- davanju prednosti funkcionalnim svojstvima u odnosu na proizvodna,
- isključivanju iz priploda krava koje imaju probleme pri teljenju,
- korišćenju lokalnih dobro adaptiranih rasa,
- selekciji bikova na nizak nivo somatskih ćelija kod ženskih potomaka,
- favorizovanju životne u odnosu na laktacijsku proizvodnju mleka.

Redosled (rang) najznačajnijih osobina, koje određuju kvalitet mlečnih goveda u organskoj proizvodnji, u pojedinim evropskim zemljama, prema pisanju Haas-a, 2004, Naut-a et al., 2006 i SAC, 2006, je sličan i konkretno u Švajcarskoj najviše rangirana osobina je plodnost, zatim broj somatskih ćelija, dugovečnost, proizvodnja mleka iz kabastih hraniva, sadržaj proteina i masti u mleku; u Škotskoj najznačajnija osobina je otpornost prema bolestima, zatim otpornost prema mastitisu, dugovečnost, sadržaj somatskih ćelija, plodnost, kapacitet konzumiranja hrane, izdržljivost ekstremiteta i papaka, otpornost prema laminitisu, otpornost na parazite i robusnost grade; dok je u Holandiji najznačajnija osobina plodnost, zatim zdravlje vimena, dugovečnost, visoka proizvodnja mleka, sadržaj proteina i masti u mleku, konformacija vimena i izdržljivost ekstremiteta.

Najznačajnije rase goveda koje se koriste u organskoj proizvodnji mleka u Evropi i kod nas su: crno bela, džerzej, gernzej, ajršir, braonsvis, simentalska I melezi sa autohtonim rasama

**Izbor rase u ovčarstvu.** Na izbor rase za organsku proizvodnju u ovčarstvu utiče više faktora a najvažniji su prilagođenost rase lokalnim uslovima držanja, proizvodni pravac i zahtevi tržišta.

Za područje balkanskog poluostrva najpogodnije rase za organsku proizvodnju mesa i mleka su: različiti sojevi pramenke i njihovi melezi sa proizvodnjim rasama, cigaja, virtemberg.

Specijalizovane rase za proizvodnju mleka, kao što su istočno-frizijska rasa, (zbog svoje loše aklimatizacije na uslove gajenja izvan Frizije gde je i nastala), ne preporučuju se za organsku proizvodnju mleka u ovčarstvu.

Organska proizvodnja mleka u našim uslovima bazira se na prethodno pomenutim kombinovanim rasama.

**Izbor rase u kozarstvu.** Organska proizvodnja u kozarstvu bazira se na proizvodnji kvalitetnog kozijeg mleka i različitih vrsta sireva (beli meki sir, tvrdi sir, sir u maslinovom ulju) gajenjem specijalizovanih mlečnih i autohtonih rasa i njihovih meleza koje se odlikuju dobrom otpornošću, dugovečnošću, mlečnošću i odličnim iskorišćavanjem voluminozne hrane.

U organskoj proizvodnji kozijeg mleka i sireva najčešće se koriste: sanska koza, alpina koza, balkanska koza i melezi (*autohtone rase (balkanska koza) sa uvezenim plemenitim rasama (sanska i alpska)*).

### Sistem gajenja u organskoj proizvodnji mleka

Sistemi gajenja u organskoj proizvodnji mleka moraju biti usklađeni sa prirodnim potrebama životinja i baziraju se na gajenju životinja u većem delu godine na otvorenom uz korišćenje pašnjaka i ispusta ukoliko je reč o zatvorenom odnosno štalskom načinu gajenja uvažavajući osnovna načela ponašanja, dobrobiti i zaštite životinja. Otuda je u sistemima organske proizvodnje izraženiji uticaj paragenetskih faktora na proizvodne, reproduktivne i funkcionalne osobine gajenih životinja u odnosu na konvencionalnu stočarsku proizvodnju u kojoj je, takođe, veoma značajno njihovo delovanje (Petrović D.M., 2016).

**Sistem gajenja u organskoj proizvodnji kravljeg mleka.** U organskoj proizvodnji kravljeg mleka, u zavisnosti od klimatskih prilika, najčešće je prisutan *pašni i mešoviti sistem gajenja*.

*Pašni sistem gajenja* podrazumeva boravak goveda tokom cele godine na pašnjacima uz korišćenje nastrešnica za zaštitu životinja od sunca i atmosferskih padavina. Broj životinja na pašnjacima usklađen je sa njihovom površinom uz poštovanje principa nitratne direktive.

Kod *mešovitog sistema gajenja* goveda za proizvodnju mleka oko pola godine (druga polovina proleća, leto i prva polovina jeseni) drže se na pašnjacima, a drugi deo godine (druga polovina jeseni, zima i prva polovina proleća) drže se u objektima koji moraju biti prilagođeni standardima organske proizvodnje.

Organska proizvodnja mleka danas doživljava najveću ekspanziju u poređenju sa ostalim animalnim proizvodnjama. Povećani zahtevi tržišta prema organskim proizvodima (mleko, sir, kajmak) naveli su veliki broj farmera na prelazak sa konvencionalne na organsku proizvodnju. Farmeri se pri ovome suočavaju sa brojnim

izazovima, uzimajući u obzir da je organska proizvodnja mleka fokusirana na kreiranje takvog proizvodnog sistema koji, pored ostvarivanja ekonomske dobiti, ima za cilj i očuvanje zemljišta, kao i zdravlja biljaka i životinja. Ovakav pristup zahteva značajne promene uobičajene proizvodne prakse u načinu držanja životinja, povećanju pašnjaka površina, proizvodnji i izboru ratarskih kultura, načinu lečenja, načinu ishrane, izboru rase itd.



**Slika 1.** *Organska proizvodnja sira (Holandija, Wageningen, 2014)*

Organska proizvodnja mleka bazira se na korišćenju pašnjaka površina u jednom delu godine uz poštovanje principa nitratne direktive (1 ha za dve muzne krave). Objekti za držanje krava moraju biti prilagođeni standardima organske proizvodnje, odnosno moraju imati dovoljno prostora za hranjenje, odmaranje i kretanje, pri čemu pristup vodi i hrani mora biti slobodan. Ovo podrazumeva slobodni način držanja uz korišćenje prostornih ispusta.



**Slika 2.** *Organska proizvodnja mleka (Holandija, Wageningen, 2014)*

**Sistem gajenja u organskoj proizvodnji ovčijeg i kozijeg mleka.** Sistemi gajenja u ovčarstvu i kozarstvu bazirani su na ispaši ekstenzivnih pašnjaka koji su, po svojim karakteristikama, veoma bliski organskim tako da je njihova konverzija u organske pašnjake veoma laka. S druge strane, pašni sistem se može značajnije intenzivirati primenom različitih agrotehničkih mera (irigacija, usijavanje i dr.) pri čemu se mora držati osnovnih načela organske poljoprivrede kao što je nitratna direktiva (do 14 ovaca ili koza po hektaru).

Iako su po proizvodnim karakteristikama veoma slične, ovce i koze se značajno razlikuju u pogledu ishrane. Koze su tzv. „browser“ (izbirači, pregledači) tip i u svojoj ishrani u značajnoj meri koriste rastinje i nisko drveće (brst), dok su ovce više „grazer“ (pašni) tip životinja i oslonjene su na iskorišćavanje pašnjaka trav i leguminoza. Ovo omogućava veoma razvijenu praksu simultanog iskorišćavanja pašnjaka od strane ovaca i koza.

U organskoj ovčarskoj proizvodnji dominira proizvodnja jagnjećeg mesa dok je proizvodnja mleka znatno manje prisutna i veoma retka.

Za razliku od organske proizvodnje u ovčarstvu gde dominira proizvodnja mesa, u organskom kozarstvu najzastupljenija je organska proizvodnja mleka i mlečnih proizvoda prvenstveno kvalitetnih kozjih sireva (beli meki sir, tvrdi sir i sir u maslinovom ulju).



**Slika 3.** Pašni način gajenja koza



**Slika 4.** Štalski način gajenja koza



**Slika 5.** Proizvodnja kozjih sireva

Pored toga prisutna je i organska proizvodnja jarećeg mesa, koja se javlja kao prateći vid proizvodnje organskog mleka i mlečnih proizvoda. Sistem gajenja najčešće predstavlja kombinaciju pašnog (letnja polovina godine) i štalskog načina gajenja (zimska polovina godine).

### **Zaključak**

Rastuće saznanje o poremećajima ekosistema i ugroženosti živog sveta u celosti nametnulo je potrebu da se preispitaju do sada primenjivane tehnologije i metode za ubrzavanje proizvodnog rasta u svim ljudskim delatnostima uključujući i poljoprivrednu. Bez obzira na činjenicu da se u svetu i kod nas gaji veliki broj individua koje pripadaju različitim vrstama domaćih životinja sve više se uočava objektivna opasnost od njihovog naglog iščezavanja zbog opadanja adaptacionih sposobnosti.

Prednost organske proizvodnje mleka sastozi se u tome što je zasnovana na mešovitom sistemu gajenja više vrsta domaćih životinja i polikultura koja se obezbeđuje na manjim površinama omogućava da se uspostave biološki zakonite interakcije i ciklusi kruženja materije između divljih i domaćih vrsta, zemljišta i voda unutar staništa. Ovakva poljoprivreda obezbeđuje amortizaciju negativnih efekata društvenog razvoja na ekosferu i ljudsku populaciju u celini.

Zbog napred navedenog može se zaključiti da se kao razvojne šanse za nerazvijene zemlje moraju tražiti one oblasti za koje postoje prirodni potencijali zemlje, mogućnosti za poštovanje održivog razvoja i zaštite životne sredine. Za Srbiju takvu šansu upravo predstavlja i koncept organske proizvodnje mleka.

### **Literatura**

- Bedington J. (2009): Food, energy, water and the climate: A perfect Storm of Global Events? [www.bis.gov.uk/assets/geoscience/docs/p/perfect-storm=paper.pdf](http://www.bis.gov.uk/assets/geoscience/docs/p/perfect-storm=paper.pdf).
- Hass G. (2004): Swiss organic dairy farmer survey, 2003. FIBL Animal Husbandry and Animal Breeding Division Research, Institute of Organic Agriculture, CH-Frick.
- Kijlstra A., Eijck I.A.J.M. (2006): Animal health in organic livestock production systems; a review. NJAS Wageningen Journal of live Sciences, 54 (1): 77-94.
- Laurence E. A. (1991): Relevance of social science to Veterinary Medicine. Journal of American Medical Association, 199: 1018-1020.
- Maslow A. (1954): Motivation and Personality. New York: Harper.
- Nauta W.J., Saatkamp H., Baars T., Roep D. (2006): Breeding in organic farming different strategies, different demands. Paper presented at Joint Organic Congress, Odense, Denmark, May 30-31.
- Nikolić O., Jovanović Lj., Jelić M., Milovanović M., Pavlović M. (2013): Variability of Serbian winter wheat genotypes and their evaluation in terms of sustainable agriculture. The Journal agriculture and forestry, 58(2), 19-26.
- Passille de A.M.B. (1997): Le lait écologique fait son nid. Le Bulletin des Agriculteurs, 3: 51-54.
- Pavlović M., Nikolić O., Jovanović Lj. (2011): Strna žita u funkciji organskog stočarstva. Ecologica, 18 (64): 671-676.

- Petrović M.D. (2016): Izvori varijabilnosti za reproduktivne, proizvodne i funkcionalne osobine krava. Poglavlje 4 u monografiji: „Optimizacija tehnoloških postupaka i zootehničkih resursa na farmama u cilju unapređenja održivosti proizvodnje mleka“, urednik V. Bogdanović, Univerzitet u Beogradu – Poljoprivredni fakultet, Beograd, 2016: 81-102.
- Petrović M., Bogosavljević-Bošković S., Rakonjac S., Đoković R., Dosković V., Petrović M., Veljković B. (2017): Metode gajenja i genetskog unapređenja u organskom stočarstvu. XXII Savetovanje o Biotehnologiji, Čačak, 10-11. mart 2017. Zbornik radova, Vol. 22: 697-703.
- Roderick S. (2008): Dairy cow breeding for organic farming DeFRA Res. Project OFO 347.
- Scottish Agricultural College (SAC)(2006): The welfare of dairy cows in organic milk production systems. Project report for DEFRA. [www.sac.ac.uk/research/animalhealth-welfare/dairy/breeding/organics/](http://www.sac.ac.uk/research/animalhealth-welfare/dairy/breeding/organics/)
- Čengić-Džomba S. (2014): Organsko stočarstvo. Poglavlje u monografiji Organska proizvodnja. Urednik Nataša Mirecki, Podgorica, 2014.
- Sundrum A. (2001): Organic livestock farming A critical review. Livestock Production Science, 67: 207-215.

## ORGANIC PRODUCTION OF MILK

*Milun D. Petrović<sup>1</sup>, Snežana Bogosavljević-Bošković<sup>1</sup>, Simeon Rakonjac<sup>1</sup>,  
Radojica Đoković<sup>1</sup>, Vladimir Dosković<sup>1</sup>, Miloš Petrović<sup>1</sup>, Biljana Veljković<sup>1</sup>*

### Abstract

Methods of breeding and selection of species and breeds of animals for organic milk production is a key issue for the successful organization of organic production. Rule book on methods of organic livestock production emphasizes that organic production of milk uses vital species and breeds of animals that are adapted to local conditions of breeding and disease in order to avoid health problems or specific diseases characteristic of the species and breeds used in intensive livestock production (stress syndrome, BSE, a spontaneous abortion, a heavy partus requiring caesarean section, etc.).

Such agriculture provides for the amortization of the negative effects of social development on the ecosphere and the human population as a whole.

**Keywords:** organic milk, breeding method, species selection, breed selection.

---

<sup>1</sup> University of Kragujevac, Faculty of Agronomy in Čačak, Cara Dušana 34, 32 000 Čačak, Republic of Serbia (milunp@kg.ac.rs)

## PROIZVODNJA MLEKA PO MUZNOM, PRODUKTIVNOM I ŽIVOTNOM DANU KOD KRAVA SIMENTALSKE RASE U ZAVISNOSTI OD ODGAJIVAČKOG PODRUČJA

Milun Petrović<sup>1</sup>, Simeon Rakonjac<sup>1</sup>, Vladan Bogdanović<sup>2</sup>, Snežana Bogosavljević-Bošković<sup>1</sup>, Radojica Đoković<sup>1</sup>, Vladimir Dosković<sup>1</sup>, Miloš Petrović<sup>2</sup>

**Izvod:** Proizvodnja mleka po muznom, produktivnom i životnom danu analizirana je kod 253 krave simentalske rase raspoređenih na odgajivačkom području Aranđelovac (n=74), Kraljeva (n=87) i Toponice (n=92).

Na opsnovu deskriptivne statističke analize i analize varijanse utvrđeno je da je prosečna proizvodnja mleka po muznom, produktivnom i životnom danu na sva tri odgajivačka područja prosečno iznosila 15,69, 10,88 i 6,95 kg.

Odgajivačko područje vrlo značajno je uticalo ( $P<0.01$ ) na proizvodnju mleka po produktivnom i životnom danu, dok je njegov uticaj na proizvodnju mleka po muznom danu bio nesignifikantan ( $P>0.05$ ).

**Ključne reči:** proizvodnja mleka, muzni dan, produktivni dan, životni dan.

### Uvod

Unapređenje proizvodnih sposobnosti, odnosno oplemenjivanje goveda, jedan je od najbitnijih faktora proizvodnje u govedarstvu. U poslednjih dvadeset godina, na polju odgajivačkog rada u govedarstvu, odvija se, relativno brzo, izmena genetske strukture populacije goveda u našoj zemlji. Osnovna karakteristika ovih promena je maksimalno oplemenjivanje postojećih kombinovanih tipova, u prvom redu domaće šarene rase u tipu simentalca bilo primenom intenzivne selekcije ili unošenjem gena produktivnijih grla iz drugih populacija uz poboljšanje proizvodnih uslova.

Dužina života i trajanje perioda iskorišćavanja krava u proizvodnji mleka i teladi, kao i nivo ove proizvodnje u velikoj meri utiču na ukupne rezultate u govedarstvu. Iako prirodna granica života krava, držanih u optimalnim uslovima prelazi dvadeset i više godina, izvesni limitirajući bioekonomski faktori uslovljavaju skraćenje života i perioda njihove eksploracije, što znatno poskupljuje ovu proizvodnju i često je čini nerentabilnom.

I pored toga što se za realizaciju poželjnih naslednih osnova, iz dana u dan, stvaraju bolji uslovi može se konstatovati da se dugovečnost i životna proizvodnja krava smanjuje. Brojni istraživači su mišljenja da kraći produktivni život i prosečno produktivnih krava uslovljavaju intenzivni, gotovo industrijski uslovi proizvodnje. Ovome doprinosi i činjenica da jednostrana selekcija goveda na visoku produktivnost redovno utiče na slabljenje konstitucije i biološke otpornosti što se često u intenzivnim uslovima gajenja završava prevremenim izlučivanjem grla iz priploda, odnosno proizvodnje, a što utiče na smanjenu životnu proizvodnju mleka i mlečne masti. Iz

<sup>1</sup> Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Republika Srbija, (milunp@kg.ac.rs)

<sup>2</sup> Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, ul. Nemanjina 6, 11080 Zemun, Republika Srbija

ovoga proizilazi visok remontni procenat koji utiče na visinu selekcijskog diferencijala, a ovaj, pak, na selekcijski uspeh.

Na ukupnu proizvodnju mleka u toku života značajno deluje više sistematskih negenetskih faktora, bez obzira da li su oni po svojoj prirodi diskontinuirani-fiksni (odgajivačko područje, sezona i godina rođenja i telenja, ukupan broj laktacija kao i njihove interakcije) ili kontinuirani-nekategorični faktori (uzrast pri prvoj oplodnji ili telenju). U mnogim zapatima osnovni uzroci izlučivanja krava je niska proizvodnja (30-35%), narušena fiziološka funkcija organizma (30-40%), bolesti vimena (10-15%). Zbog niske proizvodnje najviše se izlučuju krave posle I ili II laktacije, dok zbog neplodnosti obično se izlučuju starije krave.

Dobar pokazatelj adekvatnog gajenja mlečnih krava je, između ostalog, i fenotipska isponjenost i varijabilnost osobina životne proizvodnje među kojima su najvažnije proizvodnja mleka po muznom, produktivnom i životnom danu.

Proučavajući fenotipsku ispoljenost i uticaj genetskih i nekih paragenetskih faktora na životnu proizvodnju mleka Panić, 1978; Nenadović i sar., 1986; Nenadović i Novy, 1987; Lazarević i sar., 1987; Ivanov, 1990; Petrović D. M., 2000. i 2008; Petrović D. M. i sar., 2012. i 2015; navode da se proizvodnja mleka po muznom danu kretala od 10,86 do 14,07 kg, po produktivnom od 8,89 do 13,10 kg i životnom danu od 5,46 do 8,01 kg.

Grabovski, 1997, ističe da je slobodni sistem držanja krava bolji od vezanog za dužinu produktivnog života i životnu proizvodnju mleka, mlečne masti i proteina. Prinos mleka, mlečne masti i proteina po životnom danu, prema istom autoru, veći je kod slobodnog sistema držanja.

Proučavajući uticaj geografskog regiona na životnu proizvodnju mleka kod 2548 krava simentalske rase Petrović D.M. i sar., 2012, navode vrlo visoko značajan ( $P<0.001$ ) uticaj odgajivačkog područja na sve osobine životne proizvodnje, usled različitog načina držanja, ishrane, nege, klimatskih prilika, veličine stada, kao i niza drugih uticaja vezanih za sam način rada i rukovođenja na farmi. Zbog izražene varijabilnosti ovih osobina, sa izvesnim procentom visoko proizvodnih grla, autori zaključuju da je moguć dalji uspešan rad u njihovoj selekciji.

Cilj rada je da se u proizvodnim uslovima na individualnim gazdinstvima, primenom odgovarajuće metodologije sagleda uticaj odgajivačkog područja na fenotipsku ispoljenost i varijabilnost proizvodnje mleka po muznom, produktivnom i životnom danu kod krava simentalske rase.

## Materijal i metod rada

### *Materijal*

Analizom fenotipske ispoljenosti i uticaja paragenetskih faktora na osobine dugovečnosti obuhvaćene su 253 krave simentalske rase sa tri odgajivačka područja: Aranđelovca (74 grla), Kraljeva (87 grla) i Toponice (92 grla).

Na sva tri odgajivačka područja vršena je analiza podataka iz matičnih listova krava simentalske rase. Na sva tri odgajivačka područja krave se drže u vezanom sistemu na individualnim gazdinstvima, sa relativno malim brojem grla po domaćinstvu. Analizom

su obuhvaćena domaćinstva koja u svom vlasništvu uglavnom u proseku drže od 2 do 10 krava.

Područje Aranđelovca pripada Šumadijskom okrugu i severoistočnom podnožju šumovite planine Bukulje na nadmorskoj visini od 250 do 650 m. Broj krava kod kojih se koristi letnja paša je gotovo zanemarljiv. Ishrana krava se zasniva na dva tipa obroka - letnji i zimski. Osnovu zimskog obroka čini travna silaža, livadsko seno, kukuruzna silaža, seno lucerke i koncentrovana hraniva za muzne krave u zavisnosti od nivoa proizvodnje. Ishranu u letnjem periodu čini paša, sveža kabasta hrana, zrnasta hraniva, seno i koncentrovana hrana.

Područje Kraljeva nalazi se u centralnom delu Srbije i zauzima prostor oko reke Ibra i Zapadne Morave. Na ovom području proizvodnja mleka je bazirana na simentalskoj rasi koja čini 95% od ukupnog broja grla. Muža krava se obavlja dva puta dnevno. Osnovu ishrane čine livadsko seno, travna silaža (kod pojedinih proizvođača) i kukuruzna silaža, uz dodatak koncentrovanih hranivima.

Područje Toponica se nalazi u opštini Knić u Šumadijskom okrugu. Krave obuhvaćene ispitivanjem se drže na individualnim gazdinstvima u vezanom sistemu. Ishrana krava bazira se na livadskom senu, kukuruznoj silaži i koncentrovanim hranivima.

Na osnovu podataka iz matičnih listova krava smeštenih na tri odgajivačka područja od osobina životne proizvodnje analizirane su proizvodnja mleka po muznom, produktivnom i životnom danu (kg).

### **Metod rada**

Vrednosti za proizvodnju mleka po muznom, produktivnom i životnom danu izračunate su na osnovu podataka (datuma rođenja, telenja i izlučenja) iz matičnih listova krava.

**Proizvodnja mleka po muznom danu** dobijena je delenjem životne proizvodnje mleka u kg sa brojem muznih dana.

**Proizvodnja mleka po produktivnom danu** izračunata je delenjem životne proizvodnje mleka u kg sa dužinom produktivnog života u danima.

**Proizvodnja mleka po životnom danu** dobijena je delenjem životne proizvodnje mleka u kg sa starošću grla izraženu u danima.

Ispitivanje fenotipske ispoljenosti i varijabilnosti proizvodnje mleka po muznom, produktivnom i životnom danu kao i uticaj odgajivačkog područja na vrednost ovih osobina obavljeno je izračunavanjem osnovnih parametara deskriptivne statističke analize (aritmetička sredina ( $\bar{X}$ ), standardna greška aritmetičke sredine ( $S\bar{X}$ ), standardna devijacija (SD), koeficijent varijacije (CV(%)), interval varijacije (min-max)) i analizom varianse.

### **Rezultati istraživanja i diskusija**

Varijabilnost osobina životne proizvodnje krava, a samim tim i proizvodnje mleka po muznom, produktivnom i životnom danu, uslovljena je, kao i ostale kvantitativne osobine, delovanjem faktora spoljne sredine (negenetski faktori) i naslednom osnovom (genetski faktori), stim što se većina istraživača slažu da je udeo nasledne u ukupnoj

fenotipskoj varijabilnosti ovih osobina dosta nizak. Otuda i velika mogućnost povećanja ovih osobina poboljšanjem uslova držanja, prvenstveno ishrane, nege, zdravstvene zaštite i intenziteta iskorišćavanja.

Fenotipska ispoljenost i varijabilnost proizvodnje mleka po muznom, produktivnom i životnom danu, kao i uticaj odgajivačkog područja na pomenute osobine životne proizvodnje prikazana je u naredne tri tabele.

Tabela 1. Fenotipska ispoljenost i varijabilnost proizvodnje mleka po muznom danu u zavisnosti od odgajivačkog područja

*Table 1. Phenotypic exposure and variability of milk production per milking day, depending on the breeding area*

<b>Odgajivačko područje</b>	<b>N</b>	<b><math>\bar{x}</math></b>	<b><math>S\bar{x}</math></b>	<b>SD</b>	<b>CV(%)</b>	<b>Varijacije</b>		<b>F<sub>123</sub></b>
						<b>Min.</b>	<b>Max.</b>	
1 (Arandelovac)	74	15,80	0,14	1,20	7,59	12,08	18,31	ns
2 (Kraljevo)	87	15,47	0,30	2,79	18,03	11,79	27,75	
3 (Toponica)	92	15,80	0,13	1,21	7,65	12,13	19,77	
<b>Prosek</b>	<b>253</b>	<b>15,69</b>	<b>0,12</b>	<b>1,90</b>	<b>12,11</b>	<b>11,79</b>	<b>27,75</b>	

*Srednje vrednosti po kolonama koje su označene istim slovima ne razlikuju se ( $P>0,05$ ) na osnovu LSD testa;  
F-test (Anova): N.S. -  $P > 0,05$ ; \* -  $P < 0,05$ ; \*\* -  $P < 0,01$ ;*

Uticaj odgajivačkog područja na proizvodnju mleka po muznom danu nije bio značajan. Prosečna proizvodnja mleka na sva tri odgajivačka područja bila je 15,69 kg i odlikovala se dosta niskom varijabilnošću od svega 12,11%. Proizvodnja mleka po muznom danu na sva tri odgajivačka područja bila je gotovo ista i kretala se od 15,47 kg na području Kraljeva do 15,80 kg na području Arandelovca i Toponice.

Pri analizi fenotipske ispoljenosti i varijabilnosti osobina dugovečnosti i životne proizvodnje kod 143 krave simentalske rase smeštenih na farmi "Zlatiborski suvati", Petrović D. M. i sar., 2003, navode nešto niže vrednosti za proizvodnju mleka po muznom, produktivnom i životnom danu koja je u sprovedenim istraživanjima iznosila 13,27, 10,28 i 7,47 kg.

Tabela 2. Fenotipska ispoljenost i varijabilnost proizvodnje mleka po produktivnom danu u zavisnosti od odgajivačkog područja

*Table 2. Phenotypic exposure and variability of milk production per productive day, depending on the breeding area*

<b>Odgajivačko područje</b>	<b>N</b>	<b><math>\bar{x}</math></b>	<b><math>S\bar{x}</math></b>	<b>SD</b>	<b>CV(%)</b>	<b>Varijacije</b>		<b>F<sub>123</sub></b>
						<b>Min.</b>	<b>Max.</b>	
1 (Arandelovac)	74	10,98 <sup>a</sup>	0,23	1,96	17,85	6,07	16,28	**
2 (Kraljevo)	87	10,23 <sup>b</sup>	0,29	2,66	26,00	5,34	17,81	
3 (Toponica)	92	11,42 <sup>a</sup>	0,23	2,21	19,35	6,14	18,99	
<b>Prosek</b>	<b>253</b>	<b>10,88</b>	<b>0,15</b>	<b>2,35</b>	<b>21,60</b>	<b>5,34</b>	<b>18,99</b>	

*Srednje vrednosti po kolonama koje su označene istim slovima ne razlikuju se ( $P>0,05$ ) na osnovu LSD testa;  
F-test (Anova): N.S. -  $P > 0,05$ ; \* -  $P < 0,05$ ; \*\* -  $P < 0,01$ ;*

Uticaj odgajivačkog područja na proizvodnju mleka po produktivnom danu, usled različite ishrane, nege, klimatskih prilika, veličine stada, kao i niza drugih uticaja vezanih za sam način rada i rukovodenja na farmi, bio je visoko značajan ( $P<0,01$ ).

Proizvodnja mleka po produktivnom danu prosečno je iznosila 10,88 kg sa znatno izraženijom varijabilnošću u odnosu na proizvodnju mleka po muznom danu koja je u proseku za sva tri odgajivačka područja iznosila 21,60%. Najveća proizvodnja mleka po produktivnom danu bila je na području Toponice, gde je iznosila 11,42 kg, a najmanja na području Kraljeva sa vrednošću od 10,23 kg.

Isti autori, Petrović D. M. i sar., 2012, takođe, proučavali su uticaj geografskog regiona na životnu proizvodnju mleka kod 2548 krava simentalske rase smeštenih na tri farme odnosno odgajivačka područja: farmi muznih krava "Zlatiborski suvati" na Zlatiboru, koja se odlikuje slobodnim sistemom držanja sa boksevima za ležanje i odmor (*lige boxen*) i nadmorskom visinom od oko 1000m (n=502), farmi muznih krava na Poljoprivrednom dobru Dobričevo u Čupriji, sa vezanim sistemom držanja (n=956) i području Kotraže na individualnim gazdinstvima, sa vezanim sistemom držanja i nadmorskom visinom od oko 400 do 700 metara (n=1090). Uticaj odgajivačkog područja na proizvodnju mleka po muznom, produktivnom i životnom danu, usled različitog načina držanja, ishrane, nege, klimatskih prilika, veličine stada, kao i niza drugih uticaja vezanih za sam način rada i rukovođenja na farmi, bio je vrlo visoko značajan ( $P<0.001$ ). Zbog izražene varijabilnosti ovih osobina, sa izvesnim procentom visoko proizvodnih grla, autori zaključuju da je moguć dalji uspešan rad u njihovoj selekciji.

Tabela 3. Fenotipska ispoljenost i varijabilnost proizvodnje mleka po životnom danu u zavisnosti od odgajivačkog područja

Table 3. Phenotypic exposure and variability of milk production per lifetime day, depending on the breeding area

Odgajivačko područje	N	$\bar{x}$	$S\bar{x}$	SD	CV(%)	Varijacije		F <sub>123</sub>
						Min.	Max.	
1 (Arandelovac)	74	7,31 <sup>a</sup>	0,14	1,24	16,93	4,56	10,88	**
2 (Kraljevo)	87	6,06 <sup>b</sup>	0,21	1,95	32,18	2,59	12,34	
3 (Toponica)	92	7,49 <sup>a</sup>	0,14	1,35	18,02	4,24	10,54	
<b>Prosek</b>	<b>253</b>	<b>6,95</b>	<b>0,11</b>	<b>1,68</b>	<b>24,17</b>	<b>2,59</b>	<b>12,34</b>	

Srednje vrednosti po kolonama koje su označene istim slovima ne razlikuju se ( $P>0.05$ ) na osnovu LSD testa;  
*F-test (Anova): N.S. -  $P > 0.05$ ; \* -  $P < 0.05$ ; \*\* -  $P < 0.01$ ;*

Prosečna proizvodnja mleka po životnom danu za sva tri odgajivačka područja iznosila je 6,95 kg, sa izraženom varijabilnošću od 24,17%. Proizvodnja se kretala od 6,06 kg na području Kraljeva do 7,49 kg na području Toponice.

Uticaj odgajivačkog područja, kao i kod proizvodnje mleka po produktivnom danu, bio je vrlo značajan ( $P<0.01$ ). Zbog izražene varijabilnosti ovih osobina, sa izvesnim procentom visoko proizvodnih grla moguće je dalji uspešan rad u njihovoj selekciji, mada usled niskog heritabiliteta i dugog generacijskog intervala, genetski progres po generaciji je veoma spor.

### Zaključak

Na osnovu deskriptivne statističke analize i analize varijanse proizvodnje mleka po muznom, produktivnom i životnom danu kod 253 krave simentalske rase raspoređenih na tri odgajivačka područja može se zaključiti da je:

- prosečna proizvodnja mleka po muznom danu iznosila 15,69 kg i kretala se od 15,47 kg na području Kraljeva do 15,80 kg na području Aranđelovca i Toponice,
- prosečna proizvodnja mleka po produktivnom danu iznosila 10,88 kg i kretala se od 10,23 kg na području Kraljeva do 11,42 kg na području Toponice,
- prosečna proizvodnja mleka po životnom danu iznosila 6,95 kg i kretala se od 6,06 kg na području Kraljeva do 7,49 kg na području Toponice,
- Uticaj odgajivačkog područja na proizvodnju mleka po muznom danu nije bio značajan ( $P>0.05$ ), dok je njegov uticaj na proizvodnju mleka po produktivnom i životnom danu bio vrlo značajan ( $P<0.01$ )

### Literatura

- Grabovski R. (1997): The influence of housing and feeding systems on heath, longevity and life time productivity of dairy cows. Book of Abstracts of the 48<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Association for Animal Production, Vienna, Austria, 25-28 August.
- Ivanov M. (1990): fenotipna karakteristika na kravi ot blgarskoto simentalsko govedo. Životnovdни nauki, god. XXVII, No 4.
- Lazarević R., Vasović S., Petrović M. (1987b): Comparative tests of life-span production of simmental and european black-white breed cows. 38<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Association for Animal Production. Lisbon, Portugal, September 27<sup>th</sup>-October 1<sup>st</sup>.
- Nenadović M., Mijić D., Vučinić J. (1986): Nasleđivanje osobina dugovečnosti i proizvodnje mleka u populaciji goveda domaće šarene rase. Savremena poljoprivreda, vol.34, br. 11-12, str. 485-496, Novi Sad.
- Nenadović M., Novy J. (1987): Fenotipski i genetski parametri proizvodnje mleka po jednom danu laktacije i sadržaju mlečne masti. Savremena poljoprivreda, vol.35, br. 1-2, str. 39-46, Novi Sad.
- Panić M. (1978): Uticaj genetskih i nekih paragenetskih faktora na dužinu iskorišćavanja krava i životnu proizvodnju mleka (disertacija). Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet.
- Petrović D.M. (2000): Ispitivanje dugovečnosti, proizvodnje mleka i mlečne masti krava simentalske rase. Magistarska teza, Poljoprivredni fakultet, Zemun.
- Petrović D.M. (2008): Fenotipska varijabilnost proizvodnih i reproduktivnih osobina tri generacije krava simentalske rase. Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet, Beograd. Odbranjena 21.01.2008.
- Petrović D. Milun, Bogdanović Vladan, Bogosavljević-Bošković Snežana, Rakonjac Simeon, Đoković Radojica, Dosković Vladimir (2015): Životna proizvodnja mleka i mlečne masti kod krava simentalske rase. XX Savetovanje o Biotehnologiji, Zbornik radova, Vol. 20(22), 441-448, 2015.
- Petrović D.M., Gutić M., Bogosavljević-Bošković Snežana (2003): Fenotipska ispoljenost i varijabilnost osobina dugovečnosti i životne proizvodnje kod krava simentalske rase. Savremena poljoprivreda, vol. 52, 3-4 (2003), 407-409, Novi Sad
- Petrović D.M., Skalicki Z., Bogdanović V., Petrović M.M., Bogosavljević-Bošković S., Đoković R., Rakonjac S. (2012): The Effect of Geographical Region on Lifetime

Milk Yield in Simmental Cows. Proceedings of the First International Symposium on Animal Science. November 8-10<sup>th</sup>, Belgrade, Serbia. Book I, p. 103-110.

## MILK PRODUCTION PER MILKING, PRODUCTIVE AND LIFETIME IN SIMMENTAL COWS DEPENDING ON BREEDING REGION

*Milun Petrović<sup>1</sup>, Simeon Rakonjac<sup>1</sup>, Vladan Bogdanović<sup>2</sup>, Snežana Bogosavljević-Bošković<sup>1</sup>, Radojica Đoković<sup>1</sup>, Vladimir Dosković<sup>1</sup>, Miloš Petrović<sup>2</sup>*

### Abstract

Milk production per milking, productive and lifetime was analyzed in 253 cows of Simmental breed distributed in the breeding area Aranđelovac (n = 74), Kraljevo (n = 87) and Toponica (n = 92).

Based on the descriptive statistical analysis and analysis of variance it was found that the average milk production per milking, productive and lifetime in all three breeding areas was on average 15.69, 10.88 and 6.95 kg.

The breeding area was very significantly influenced ( $P < 0.01$ ) on milk production by productive and lifetime, while its effect on the production of milk per milking day was non-significant ( $P > 0.05$ ).

**Key words:** milk production, milking day, productive day, lifetime.

<sup>1</sup> University of Kragujevac, Faculty of Agronomi, Čačak, Cara Dušana 34, Republic of Serbia (milunp@kg.ac.rs)

<sup>2</sup> University of Belgrade, Faculty of Agriculture, ul. Nemanjina 6, 11080 Zemun, Republic of Serbia



## KONCENTRACIJE MAKRO I MIKROELEMENATA U KRVNOM SERUMU KRAVA TOKOM TRANZICIONOG PERIODA I PUNE LAKTACIJE

Radojica Đoković<sup>1</sup>, Vladimir Kurčubić<sup>1</sup>, Ilić Zoran<sup>2</sup>, Milun D. Petrović<sup>1</sup>, Marko Cincović<sup>3</sup>, Miloš Petrović<sup>1</sup>, Biljana Andelić<sup>4</sup>

**Izvod:** Cilj rada je bio da se odrede koncentracije Ca, Mg, neorganskog P, Fe, Cu, Zn, Co i Mn u krvi, indikatora stanja metabolizma neorganskih materija kod mlečnih krava. Prvu grupu su činile visoko gravidne krave, drugu krave u puerperiumu, a treću krave u punoj laktaciji. Koncentracije Ca, Mg i P u krvnom serumu krava u puerperijumu su bile statistički značajno manje nego kod krava u visokom graviditetu i punoj laktaciji. Vrednosti Fe, Cu, Mn i Co u krvnom serumu se nisu statistički značajno menjale. Vrednosti za Zn su bile značajno manje kod krava u puerperijumu nego kod krava u visokom graviditetu i tokom pune laktacije. Rezultati ukazuju na očuvanu homeostazu makro i mikroelemenata u krvi krava u tranzicionom periodu i tokom pune laktacije.

**Ključne reči:** krave, tranzicioni period, makro i mikroelementi u krvi

### Uvod

Makro i mikroelementi su supstance neorganskog porekla, neophodne za pravilno održavanje životnih funkcija domaćih životinja (Sharma i sar., 2006; Soetan i sar., 2010; Kurčubić i sar., 2010). Neophodni su za odvijanje fizioloških procesa povezanih sa zdravstvenim statusom, rastom i reprodukcijom, kao i regularnom funkcijom imunog sistema, proizvodnjom hormona, sintezom tkiva, aktivnošću enzima, proizvodnjom energije, sintezom vitamina, neuromuskularne transmisije, proizvodnje mleka i koagulacije krvi (Jacobsen i sar., 1971).

Koncentracije Ca, neorganskog P i Mg u krvi mlečnih krava u peripartalnom periodu i tokom laktacije su odraz njihovog metabolizma - unošenja ovih makroelemenata hranom i njihovo korišćenje od strane perifernih tkiva (mlečne žlezde). Svako smanjenje koncentracija ovih parametara u krvi u odnosu na fiziološke vrednosti kod krava tokom laktacije, kao i njihov nepravilan međusobni odnos, najčešće dovodi do subkliničkih i kliničkih manifestacija koje se nepovoljno odražavaju na zdravlje i plodnost životinja (Daniel, 1983; Curtis i sar., 1983; Ivanov i sar., 1993; Sevinc i sar., 1997; Lean i sar., 2006; Liesegang i sar., 2007). Niske koncentracije Ca i Mg u krvi mlečnih krava u puerperijumu smanjuju stvaranje insulinu, što narušava metabolizam organskih materija i predisponira nastanak ketoze i masne jetre (Goff i Horst, 1997). Producija mleka i reproduktivne performance kod mlečnih krava su smanjene. Tonus

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija (radojicadjokovic@gmail.com);

<sup>2</sup>Univerzitet u Prištini, Poljoprivredni fakultet, Kopaonička bb, Lešak, Srbija;

<sup>3</sup>Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 8, Srbija;

<sup>4</sup>Univerzitet u Nišu, Poljoprivredni fakultet u Kruševcu, Kosančićeva br.4, Srbija;

mišića materice je narušen, učestala su zaostajanja posteljice, involucija materice je usporena i produžen je servis period. Deficit Mg u hrani mlečnih krava smanjuje sintezu i sekreciju parathormona, smanjuje se resorpcija Ca i neorganskog P u digestivnom traktu, umanjujući sintezu  $1,25\text{ (OH)}_2\text{ D}$ . Smanjuje se rizik za 62% od nastanka mlečne groznice (puerperalna pareza) kada se koncentracija Mg povećava sa 0.3 na 0.4% suve mase u obroku krava pre teljenja (Wang i Beede 1992; Goff i Horst, 1997; Lean i sar., 2006). Deficit mikroelemenata (Fe, Zn, Mn, Cu, Co, Se, J i Cr) kod mlečnih krava dovodi do smanjivanja vitalnih funkcija organizma (slabe reproduktivne performanse, češća pojava mastitisa, smanjenja produkcije mleka, pad imuniteta i povećanja stepena šepavosti (Dvořák i sar. 1980; Olson i sar. 1999; Stanton i sar., 2000; Ballantine i sar., 2002; Spears, 2003; Dobrzański i sar., 2005; Nocek i sar., 2006).

### Materijal i metode rada

Određivanje koncentracija makro i mikroelemenata u krvnom serumu je sprovedeno na farmi mlečnih krava Simentalske rase, zatvorenog tipa. Odabранo je 45 klinički zdravih oglednih životinja različite starosti, podeljenih u 3 ogledne grupe. Prvu grupu (A) je sačinjavalo 15 krava, od petnaest do jednog dana do teljenja. U drugoj grupi (B) je ispitivano 15 grla u puerperiumu, do petnaest dana posle teljenja. Za treću grupu (C) su odabrane krave u punoj laktaciji (90-120 dana). Krave su bile prosečne telesne mase  $694.4 \pm 41.8$  kg u visokom graviditetu i  $637.7 \pm 37.9$  kg tokom laktacije. Prosečna mlečnost je bila  $6950 \pm 448$  L (obračunato na 305 dana laktacije). Obrok krava je bio pripremljen u skladu sa njihovim hranidbenim i energetskim potrebama. Uzorci krvi od svih krava u ogledu su uzeti iz repne vene (*v. coccygica*), pomoću vacutainera (Terumo® Venoject) i sterilnih igala. Odvojeni serumi su pipetama prenošeni u sterilne epruvete, i čuvani do ispitivanja na temperaturi od  $-20^{\circ}\text{C}$ . Određivanje koncentracija Ca, Mg, neorganskog P, Fe, Cu, Zn i Mn, u uzorcima krvnog serumu oglednih krava je izvršeno standardizovanom metodom SRPS ISO 6869:2002 (atomskom apsorpcionom spektrofotometrijom, na uređaju UNICAM 969), u hemijskoj laboratoriji Veterinarskog specijalističkog instituta „Kraljevo“. Određivanje sadržaja Co vršeno je modifikovanom metodom (M034), razvijenom u istoj laboratoriji. Statistička analiza dobijenih podataka izvršena je ANOVA-procedurom. Analizom varianse i LSD testom procenjena je verovatnoća značajnosti statističkih razlika srednjih vrednosti prametara krvi između 3 ogledne grupe krava. Verovatnoća je data za  $p<0.05$  i  $p<0.01$  (Microsoft STATISTICA ver.5.0 Stat. Inc.1995).

### Rezultati istraživanja i diskusija

Rezultati ispitivanja koncentracija makro i mikroelemenata u krvnom serumu kod mlečnih krava tokom tranzisionog perioda i pune laktacije su prikazani kao srednje vrednosti  $\pm$  standardna devijacija, u Tabeli 1. Krave sa visokom proizvodnjom mleka znatno više mobilisu Ca i P iz kostiju u odnosu na krave sa niskom proizvodnjom mleka (Liesegang i sar., 2007). Kod pojedinih krava, na početku laktacije je smanjena koncentracija Ca i P u krvi (sa  $2\text{-}3\text{ mmol/L}$  na  $<1.5\text{ mmol/L}$ ), što dovodi do hipokalcemije, smanjuje neuro-mišićnu nadražljivost i dovodi do pojave mlečne groznice (Sharma i sar., 2006).

Tabela 1. Koncentracije makro (Ca, P i Mg) i mikroelemenata (Fe, Cu, Zn, Mn i Co) u krvnom serumu mlečnih krava u visokom graviditetu, puerperiumu i tokom pune laktacije

*Table 1. Serum levels of macronutrients (Ca, P i Mg) and microelements (Fe, Cu, Zn, Mn i Co) in dairy cows during late gestation, puerperium and full lactation*

	Kasnji graviditet <i>Late pregnancy</i>	Puerperium <i>Puerperium</i>	Puna laktacija <i>Full lactation</i>		
	Grupa/group	A	B	C	
n	15	15	15	P<0.05	P<0.01
Ca (mmol/L)	2.35±0.24	2.17±0.22	2.53±0.29	A:B	B:C
P (mmol/L)	2.09±0.34	1.97±0.39	2.41±0.38	A:C	B:C
Mg (mmol/L)	1.10±0.26	1.02±0.32	1.28±0.20	B:C	
Fe (µmol/L)	35.27±15.26	24.08±4.45	31.03±12.33		
Cu (µmol/L)	8.36±1.34	9.44±2.22	8.78±1.63		
Zn (µmol/L)	15.11±4.01	12.24±2.48	15.78±4.78	A:B;B:C	
Mn (µmol/L)	3.54±1.68	3.75±1.79	3.76±1.94		
Co (µmol/L)	0.68±0.09	0.63±0.09	0.66±0.79		

Koncentracije Ca i P u krvnim serumima krava grupe B bile su statistički značajno manje ( $p<0.05$ ) u odnosu na vrednosti ovih parametara krvi kod krava iz grupe A i C. Vrednosti Ca i P u krvi su bile u fiziološkim granicama kod svih ispitivanih grupa krava. Vrednosti Ca približavale su se graničnim kod krava grupe B, usled naglo pojačane aktivnosti mlečne žlezde i mobilizacije Ca iz krvi i telesnih depoa. Do sličnih rezultata su došli i drugi autori (Kupczynski i sar., 2002; Đoković i sar., 2010). Homeostaza Mg zavisi od optimalnog snabdevanja iz hrane, pa koncentracija Mg zavisi od resorpcije u buragu (Fontenot i sar., 1989; Kuréubić i sar., 2010). Koncentracija Mg u krvi je bila najniža kod krava grupe B, bez statističke značajnosti ( $P>0.05$ ) u odnosu na krave grupe A, a značajno manja ( $P<0.05$ ) u odnosu na krave iz grupe C, što može ukazati na veće korišćenje Mg u krvi od strane mlečne žlezde na početku laktacije. Dobijeni rezultati su u skladu sa podacima drugih autora (Fontenot i sar., 1989; Wang i Beede 1992; Sharma i sar., 2006). Koncentracije Fe kod svih ispitivanih grupa krava su bile u fiziološkim granicama od 12.5 do 44.8 µmol/L (Cvetković i sar., 1986), ali bez statističkih značajnosti ( $P>0.05$ ). Većina klasičnih obroka sadrži dovoljno Fe, pa se deficit u Fe kod mlečnih krava retko ispoljava, osim u slučajevima nekih parazitskih i infektivnih bolesni (Spears, 2003).

Koncentracije Cu kod svih ispitivanih grupa krava su bile u fiziološkim granicama od 7.8-23.6 µmol/L (Cvetković i sar., 1986) i nisu se statistički razlikovale ( $P>0.05$ ). Niži status Cu utvrđen je kod krava koje su hranjene obrokom sa visokim sadržajem Fe (Sharma i sar., 2006). Cink je neophodan za normalan razvoj i funkcionisanje imunog sistema, stabilnosti ćeliske membrane i ekspresiji gena (Miller, 1970). Vrednosti Zn u krvi kod ispitivanih krava su bile u fiziološkim granicama od 10.71-19.89 µmol/L (Cvetković i sar., 1986), a utvrđene su statistički značajno manje ( $P<0.05$ ) vrednosti Zn u krvi krava grupe B u odnosu na vrednosti u krvi krava iz grupe A i C, što može

ukazati da su na početku laktacije kod mlečnih krava potrebe za Zn nešto veće. Koncentracije Mn kod svih ispitivanih krava su bile u fiziološkim granicama od 2.73- do 4.55  $\mu\text{mol/L}$  (Cvetković i sar., 1986) i nisu utvrđene statistički značajne razlike ( $P>0.05$ ) između ispitivanih grupa krava, što ukazuje na njihovo optimalno snabdevanje ovim mikroelementom, što je u skladu sa podacima iz literature (Olson i sar., 1999). Koncentracije Co kod svih ispitivanih krava su bile u fiziološkim granicama (0.51-0.85  $\mu\text{mol/L}$ , Cvetković i sar., 1986) i nisu se statistički značajno razlikovale između ispitivanih grupa krava ( $P>0.05$ ), što ukazuje na optimalno snabdevanje ovim mikroelementom kod ispitivanih krava.

### **Zaključak**

Vrednosti ispitivanih makro i mikroelemenata u krvnom serumu mlečnih krava su bile u fiziološkim granicama tokom tranzicionog perioda i pune laktacije. Koncentracije Ca i neorganskog P u krvnom serumu kod grupe krava u puerperiumu bile su statistički značajno manje ( $p<0.05$ ) u odnosu na vrednosti ovih parametara krvi kod mlečnih krava u visokom graviditetu i tokom pune laktacije. Koncentracija Mg u krvi je bila niža, ali bez statističke značajnosti ( $p>0.05$ ) kod krava na početku laktacije u odnosu na krave pre teljenja, dok je istovremeno bila značajno niža ( $p<0.05$ ) u odnosu na vrednosti Mg u krvi kod krava u punoj laktaciji, što može ukazati na nešto veće korišćenje Mg krvi od strane mlečne žlezde na početku laktacije. Vrednosti Fe, Cu, Mn i Co u krvnom serumu se nisu statistički značajno menjale ( $p>0.05$ ) kod ispitivanih grupa krava, dok su vrednosti Zn u krvnom serumu bile značajno manje ( $p<0.05$ ) kod krava u puerperijumu u odnosu na vrednosti kod krava u visokom graviditetu i punoj laktaciji.

Rezultati ovih ispitivanja ukazuju na očuvanu homeostazu ispitivanih makro i mikroelemenata u krvi kod mlečnih krava u tranzicionom periodu i tokom pune laktacije, što može ukazati da ne postoji deficit ispitivanih neorganskih materija, odnosno na adekvatno snabdevanje iz alimentarnih izvora.

### **Napomena**

Rad je deo istraživanja iz projekta TR 31001, koji finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

### **Literatura**

- Ballantine H.T., Socha M.T., Tomlinson D.J., Johnson A.B., Fielding A.S., Shearer J.K., Van Amstel S.R. (2002). Effects of feeding complexed zinc, manganese, copper, and cobalt to late gestation and lactating dairy cows on claw integrity, reproduction, and lactation performance. *The Professional Animal Scientist*, 18(3): 211-218.
- Curtis C.R., Erb H.N., Sniffen C.J., Smith R.D., Powers P.A., Smith M.C., White M.E., Hillman R.B., Pearson E.J. (1983). Association of parturient hypocalcemia with eight periparturient disorders in Holstein cows. *Journal of American Veterinary Medicine Association*, 183(5): 559-561.

- Cvetković A., Ćirić V., Jovanović M., Litričin V., Lješević Ž., Marjanović D., Paunović S., Petrović M. (1986). Klinička dijagnostika unutrašnjih bolesti domaćih životinja. Univerzitet u Beogradu, Veterinarski fakultet, str. 332.
- Daniel R.C.W. (1983). Motility of the rumen and abomasum during hypocalcaemia. Canadian Journal of Comparative Medicine, 47(3): 276-280.
- Dobrzański Z., Górecka H., Opaliński S., Chojnicka K., Kołacz R. (2005). Trace and ultratrace elements in cow's milk and blood (in Polish). Medicine Weterine, 61(3): 301-304
- Dvořák, V., Bouda J., Doubek J. (1980). Levels of Macro- and Microelements in Blood Plasma of Late-pregnant Cows and Their Foetuses. Acta Veterinaria Brno, 49: 199-201.
- Đoković R., Ilić Z., Kurćubić V., Dosković V. (2010). The values of organic and inorganic blood parameters in dairy cows during the peripartal period. Savremena poljoprivreda, 59 (1-2): 30-36.
- Fontenot J.F., Allen V.C., Bunce G.E., Goff J.P. (1989). Factors influencing magnesium absorption and metabolism in ruminants. Journal of Animal Science, 67: 3445-3455.
- Goff J.P., Horst R.L. (1997). Physiological changes in parturition and their relationship to metabolic disorders. Journal of Dairy Science, 80(7): 1260-1268.
- Ivanov I., Damnjanović Z., Radojičić S. (1993). Poremećaj metabolizma makroelemenata u visokom graviditetu i ranoj laktaciji. Veterinarski glasnik, 47 (4-5): 319-329.
- Jacobsen D.R., Hemken R.W., Button F.S., Hotton R.H. (1971). Mineral nutrition, calcium, phosphorus, magnesium and potassium interrelationship. Journal of Dairy Science, 50(7): 935-944.
- Kupczynski R., Chudoba-Drozdowska B. (2002). Values of selected biochemical parameters of cows blood during their dryaing-off and the beginning of lactation. Electronic journal of Polish Agricultural Univerzities, 5(1): 225-231.
- Kurćubić V., Ilić Z., Vukašinović M., Đoković R. (2010). Effect of Dietary Supplements of Sodium Bicarbonate on Tissue Calcium (Ca) and Magnesium (Mg) Levels in Beef Cattle. Acta Agriculturae Serbica, 15(29): 55-76.
- Lean I.J., DeGaris P.J., McNeil D.M., Block E. (2006). Hypocalcaemia in dairy cows: meta-analysis and dietary cation anion difference theory revisited. Journal of Dairy Science, 89: 669-684.
- Liesegang A., Chiappi C., Risteli J., Kessler J., Hess H.D. (2007). Influence of different calcium contents in diets supplemented with anionic salts on bone metabolism in periparturient dairy cows. Journal of Animal Physiology and Animal Nutriton, 91 (3-4): 120-119.
- Miller W.J. (1970). Zinc nutrition of cattle: a review. Journal of Dairy Science, 53: 1123-1135.
- Nocek J.E., Socha M.T., Tomlinson D.J. (2006). The effect of trace mineral fortification level and source on performance of dairy cattle. Journal of Dairy Science, 89: 2679 -2693.
- Olson P.A., Brink D.R., Hickok D.T., Carlson M.P., Schneider N.R., Deutscher G.H., Adams D.C., Colburn D.J., Johnson A.B. (1999). Effects of supplementation of organic and inorganic combination of copper, cobalt, manganese, and zinc above

- nutrient requirement levels on postpartum two-year-old cows. *Journal of Animal Science*, 77: 522-532.
- Sevinc M., Basoglu A., Birdane F., Gokcen M., Kucukfindik M. (1997). The changes of metabolic profile in dairy cows during dry period and after. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 3: 475-478.
- Sharma M.C., Kumar P., Joshi C., Kaur H. (2006). Status of serum minerals and biochemical parameters in cattle of organized farms and unorganized farms of Western Uttar Pradesh. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 1(1): 33-41.
- Soetan K.O., Olaifa C.O., Oyewole O.E. (2010). The importance of mineral elements for humans, domestic animals and plants: A review. *African Journal of Food Science*, 4(5): 200-222.
- Spears J.W. (2003). Trace mineral bioavailability in ruminants. *The Journal of Nutrition*, 133: 1506S-1509S.
- Stanton T.L., Whittier J.C., Geary T.W., Kimberling C.V., Johnson A.B. (2000). Effects of trace mineral supplementation on cow-calf performance, reproduction and immune function. *The Professional Animal Scientist*, 16(2): 121-127.
- Wang C., Beede D.K. (1992). Effects of magnesium on acid base status and calcium metabolism of dairy cows fed acidogenic salts. *Journal of Dairy Science*, 75, 829-836.

## **CONCENTRATION OF MACRO AND MICRO ELEMENTS IN THE BLOOD SERUM OF COWS DURING THE TRANSITION AND FULL LACTATION COWS**

*Radojica Đoković<sup>1</sup>, Vladimir Kurćubić<sup>1</sup>, Ilić Zoran<sup>2</sup>, Milun D. Petrović<sup>1</sup>,  
Vladimir Dosković<sup>1</sup>, Miloš Petrović<sup>1</sup>, Biljana Andelić<sup>3</sup>*

**Abstract:** The aim of this paper was to determine the concentrations of Ca, Mg, inorganic P, Fe, Cu, Zn, Co and Mn in the blood, indicators of the state of metabolism of inorganic matter in dairy cows. The first group consisted of high gravid cows, another cow in puerperium, and third cows in full lactation. The concentrations of Ca, Mg and P in blood serum of cows in puerperium were statistically significantly lower than for cows in high gravidity and full lactation. The values of Fe, Cu, Mn and Co in the blood serum were not statistically significant. The Zn values were significantly lower in cows in puerperium than in cows in high gravidity and during full lactation. The results indicate preserved homeostasis of macro and microelements in the blood of cows during the transition period and during full lactation.

**Key words:** cows, transition period, macro and micronutrients in blood

## KVALITET LJUSKE JAJA KOKOŠI NOSILJA IZ RAZLIČITIH SISTEMA GAJENJA

Simeon Rakonjac<sup>1</sup>, Snežana Bogosavljević-Bošković<sup>1</sup>, Zdenka Škrbić<sup>2</sup>, Miloš Lukić<sup>2</sup>, Vladimir Dosković<sup>1</sup>, Veselin Petričević<sup>2</sup>, Milun D. Petrović<sup>1</sup>

**Izvod:** Cilj ovog rada bio je da utvrdi uticaj sistema gajenja kokoši nosilja na najvažnije osobine kvaliteta ljudske jaja za konzum. Na osnovu dobijenih rezultata, može se zaključiti da ispitivani sistemi gajenja nisu imali značajan uticaj na: masu, udeo, deformaciju, silu loma i boju ljudske. Kavezno proizvedena jaja imala su zaprljaniju ljudsku od jaja proizvedenih u podnom i organskom sistemu gajenja kokoši nosilja, dok su istovremeno imala tanju ljudsku od organskih jaja.

**Ključne reči:** sistemi gajenja, ljudska jaja, kokoši nosilje.

### Uvod

Sa uvođenjem novih sistema gajenja u savremenu živinarsku proizvodnju, neminovno se postavljaju i pitanja kvaliteta tako dobijenih jaja koja se tiču unutrašnjih i spoljašnjih osobina kvaliteta jaja i njihovog hemijskog sastava, dok se na kvalitet ljudske ne obraća toliko pažnje. Međutim, Roberts (2004) smatra da se ovoj grupi osobina mora posvetiti veća pažnja i da kvalitet ljudske može imati ključnu važnost za uspeh u živinarskoj proizvodnji. Tako Coucke *et al.* (1999) navode da se 6-8% jaja razbijaju pre nego što stigne da se upotrebi, što čini novčani gubitak koji se meri milionima dolara. Veliki procenat ove štete izazvan je neodgovarajućim kvalitetom ljudske.

Osim mehaničkih osobina kvaliteta ljudske, boja i čistoća ljudske su takođe važne karakteristike koje imaju, pre svega, tržišni značaj. Boja ljudske je bitna zbog navike kupaca u pojedinim državama da kupuju jaja određene boje ljudske, a boja ljudske sama po sebi ne uzrokuje razlike u ukusu i nutritivnim svojstvima jaja (Hayirli *et al.*, 2015). Aygun (2014) ističe da potrošači u Velikoj Britaniji, Italiji, Irskoj i Portugaliji kupuju isključivo jaja braon boje ljudske, dok se u Nemačkoj, Holandiji i Španiji podjednako koriste jaja bele i braon boje ljudske. Što se tiče čistoće, većina jaja kada se snesu su čista, a njihovo prljavanje se dešava kasnije, najčešće fecesom ili prljavom prostirkom iz gnezda. Na čistoću ljudske mogu uticati i bolesti koje izazivaju dijareju kod kokoši, kao i krvavi tragovi prouzrokovani neadekvatnim odgojem i preranim pronošenjem kokoši nosilja (Gerber, 2006).

Iz svega napred navedenog, cilj ovog rada je bio da se utvrdi uticaj sistema gajenja kokoši nosilja na najvažnije osobine kvaliteta ljudske jaja za konzum.

### Materijal i metode rada

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija (simeonr@kg.ac.rs);

<sup>2</sup>Institut za stočarstvo, Beograd-Zemun, Autoput 16, 11 080 Zemun, Srbija.

Uticaj sistema gajenja na kvalitet ljske jaja ispitivan je na ukupno 90 jedinki Isa Brown hibrida. Posmatrani sistemi gajenja bili su: kavezni, podni i organski (30 nosilja po grupi). U kaveznom sistemu gajenja kokoši su imale  $750 \text{ cm}^2$  prostora po grlu. U podnom i organskom sistemu  $4000 \text{ cm}^2$  podne površine bilo je dostupno svakoj jedinki, s tim da su organske kokoši imale na raspolaganju i oko  $5 \text{ m}^2$  većinom zatravljenog ispusta po svakoj useljenoj nosilji, što im je omogućavalo dodatnu ishranu travom, raznim insektima i drugim beskičmenjacima.

Kavezno i podno gajene kokoši su hranjene istom potpunom smešom za kokoši nosilje jaja za konzum, sa 17% sirovih proteina. Potpuna smeša predviđena za organski način gajenja bila je sastavljena bez dodatka sintetičkih aminokiselina, vitamina i minerala, uz korишћenje većinom organski dobijenih komponenti, a sadržala je takođe 17% sirovih proteina. Hemski sastav obe potpune smeše prikazan je u tabeli 1. Hranjenje i napajanje svih oglednih grupa vršeno je *ad libitum*.

*Tabela 1. Hemski sastav potpunih smeša za ishranu kokoši nosilja*

*Table 1. Chemical composition of diets for laying hens*

Hemski sastav <i>Chemical composition</i>	Kavezni i podni sistem Cage and floor system	Organski sistem Organic system
Suva materija <i>Dry matter</i>	88.38	89.82
Sirovi proteini <i>Crude protein</i>	16.79	16.82
Masti <i>Fats</i>	5.15	4.31
Celuloza <i>Cellulose</i>	4.82	4.29
Pepeo <i>Ash</i>	12.52	12.68
BEM	49.10	51.90
Ca	3.72	3.43
Ukupni P Total P	0.71	0.81
Na	0.17	0.18
Lizin Lysine	0.79	0.80
Metionin + cistin Methionine+cystine	0.68	0.48
Metabolička energija Metabolic energies	11.5 MJ	11.3 MJ

U cilju ispitivanja osobina kvaliteta ljske, u 32. nedelji života kokoši nosilja, uzeto je po 15 jaja iz svake grupe (ukupno 45 jaja).

Masa ljske sa opnama merena je elektronskom vagom sa tačnošću  $10^{-2}$  g, a nakon toga izračunat je njen procentualni udio u odnosu na masu celog jajeta.

Debljina ljske određivana je mikrometarskim zavrtnjem firme SOMET na delu ljske uzetom sa ekvatora jajeta posle skidanja opni i izražena je u mm.

Deformacija ljske određena je MARIUS instrumentom. Korišćeno je opterećenje od 500 g na ekvatorijelnom delu jajeta, a deformacija je izražena u  $\mu\text{m}$  kao srednja vrednost dobijena iz tri merenja.

Sila loma ljske određena je po metodi koju navode Pavlovski i Vitorović (1996), korišćena je opruga od 25 kg i brzina kretanja od 70 mm/min. Očitana vrednost je

pomnožena sa odgovarajućim koeficijentom ( $k=2,453$ ), kako bi sila loma bila izražena u Njutnima.

Boja ljske je vizuelno ocenjivana poenima od 1 (potpuno bela) do 5 (tamno smeđa).

Čistoća ljske je vizuelno ocenjivana poenima od 1 (jako prljava) do 5 (potpuno čista).

Testiranje značajnosti razlika u prosečnim vrednostima za masu, udeo, debljinu, deformaciju i silu loma ljske između oglednih grupa kokoši nosilja izvedeno je primenom odgovarajućeg modela analize (MANOVA) primenom F testa ( $p \leq 0.05$ ). Kada je primjenjeni F test pokazao značajne razlike, testiranje razlika aritmetičkih sredina obavljeno je testom najmanjih značajnih razlika (LSD test) za prag značajnosti  $p \leq 0.05$ . Za testiranje razlika boje i čistoće ljske između oglednih grupa korišćen je Mann Whitney (U) test za prag značajnosti  $p \leq 0.05$ .

Statistička obrada podataka urađena je u kompjuterskom programu Statistica (ver.7) Stat. Soft. Inc, (2006).

### Rezultati istraživanja i diskusija

Podaci o osnovnim parametrima kvaliteta ljske jaja prikazani su u tabeli 2.

Tabela 2. Uticaj sistema gajenja na glavne osobine kvaliteta ljske jaja  
Table 2. The effect of rearing system on main eggshell quality characteristics

Sistem gajenja <i>Rearing system</i>		Masa ljske <i>Shell weight (g)</i>	Udeo ljske <i>Shell proportion (%)</i>	Debljina ljske <i>Shell thickness (0.01 mm)</i>	Deformacija ljske <i>Shell deformation (μm)</i>	Sila loma ljske <i>Shell breaking strength (N)</i>
Kavezni <i>Cadge</i>	$\bar{x}$	7.55	12.32	32.13 <sup>ab</sup>	21.33	39.74
	Sd	0.51	0.57	1.92	1.18	2.24
Podni <i>Floor</i>	$\bar{x}$	7.55	12.36	31.87 <sup>b</sup>	21.53	43.34
	Sd	0.39	0.85	1.68	2.45	2.66
Organski <i>Organic</i>	$\bar{x}$	7.53	12.57	33.47 <sup>a</sup>	20.93	41.53
	Sd	0.62	1.02	2.70	3.77	2.89

Različita mala slova u kolonama pokazuju značajne razlike za  $P \leq 0.05$  primenom LSD testa

Masa i udeo ljske nisu bili pod značajnim uticajem sistema gajenja ( $p \geq 0.05$ ), što je u saglasnosti sa rezultatima koje je objavio Kouba (2003), navodeći identične procente ljske u jajima jedinki gajenih u konvencionalnim kavezima i organski gajenih nosilja - 10,4%. Takođe, ni Krawczyk (2009) nije utvrdio značajnu razliku ( $p \geq 0.05$ ) u udelu ljske između jedinki gajenih u organskom, "dvorišnom" i konvencionalnom-kaveznom sistemu gajenja.

Organska jaja imala su deblju ljsku (0.3347 mm) u odnosu na podno proizvedena jaja (0.3187 mm) ( $p \leq 0.05$ ), dok su jaja nosilja iz kaveza imala intermedijarnu vrednost ove osobine (0.3213 mm) i nisu se značajno razlikovala od prethodne dve grupe

( $p \geq 0.05$ ). Slične rezultate objavili su i Castelini *et al.* (2006), koji su utvrdili značajno deblju lјusku jaja kod tzv "organskih plus" jedinki (0.40 mm) u poređenju sa konvencionalno - kavezno gajenim (0.38 mm). Bar *et al.* (1999) deblju lјusku jaja jedinki sa ispusta objašnjavaju konzumiranjem sitnih kamenčića sa zemlje, kao i većom sintezom vitamina D kod nosilja koje veći deo dana provode izložene direktnoj sunčevoj svetlosti. I Rizzi *et al.* (2007) su na jajima jedinki Isa Brown hibrida utvrdili veću debljinu lјuske kod jedinki sa ispusta (0.385 mm) u odnosu na jaja jedinki gajenih u kavezu (0.322 mm), a oni ovu pojavu objašnjavaju većom izloženošću sunca i kretanjem, koji su uslovili brži metabolizam kalcijuma i fosfora, pa samim tim i deblju lјusku. Deblju lјusku kod jaja sa ispusta u poređenju sa kavezno i podno prozvedenim jajima utvrdili su i Lolli *et al.* (2013).

Iako je uticaj sistema gajenja na debljinu lјuske bio značajan, ovo se nije odrazilo na deformaciju i silu loma, pa nije bilo značajnih razlika u ovim osobinama ( $p \geq 0.05$ ) između ispitivanih sistema gajenja. Slične rezultate, da uprkos postojanju razlika u debljini, ne mora postojati razlika u mehaničkim osobinama kvaliteta lјuske navode i Ahammed *et al.* (2014) poredeći konvencionalni-kavezni, podni i avijarni sistem gajenja u periodu od 41-60. nedelje starosti nosilja, pošto su utvrdili značajno deblju ( $p \leq 0.05$ ) lјusku kod jaja iz avijarnog (0.42 mm) i podnog sistema gajenja (0.41 mm) u poređenju sa jajima kavezno proizvedenih jedinki (0.37 mm), dok značajnih razlika u sili loma lјuske jaja nije bilo ( $3.46 \text{ kg/cm}^2 : 3.28 \text{ kg/cm}^2 : 3.02 \text{ kg/cm}^2; p \geq 0.05$ ). I Đukić-Stojčić *et al.* (2009) i Lolli *et al.* (2013) nisu utvrdili značajan uticaj sistema gajenja na deformaciju i silu loma lјuske.

Tabela 3. Uticaj sistema gajenja na boju i čistoću lјuske jaja  
 Table 3. The effect of rearing system on eggshell colour and eggslell clearness

Sistem gajenja Rearing system		Boja lјuske (poeni) Shell colour (points)	Čistoća lјuske (poeni) Shell cleanness (points)
Kavezni <i>Cadge</i>	$\bar{x}$	3.87	4.00 <sup>b</sup>
Podni <i>Floor</i>	$\bar{x}$	3.60	4.53 <sup>a</sup>
Organski <i>Organic</i>	$\bar{x}$	3.67	4.67 <sup>a</sup>

Različita mala slova u kolonama pokazuju značajne razlike za  $P \leq 0.05$   
 primenom *U* testa

Iz podataka u tabeli 3, jasno se vidi da sistem gajenja kokoši nosilja nije imao značajan uticaj na obojenost lјuske jaja ( $p \geq 0.05$ ), što je u skladu sa rezultatima koje su objavili Đukić-Stojčić *et al.* (2009) i Ahammed *et al.* (2014). Sa druge strane, jaja iz kaveznog sistema imala su značajno zaprljaniju lјusku (4.00;  $p \leq 0.05$ ) u poređenju sa jajima proizvedenim na podu (4.53) i u organskom sistemu (4.67), što je posledica lošeg održavanja čistoće kaveza, pa su ova jaja imala više nečistoća od fecesa. Značajan uticaj sistema gajenja na ovu osobinu utvrdili su i Đukić-Stojčić *et al.* (2009), s tim da su u nihovim istraživanjima jaja iz kaveznog sistema proizvodnje bila čistija (ocena 4.75) u

odnosu na jaja iz podnog sistema sa ispustom (3.89) i klasičnog sistema sa ispustom (4.04).

### **Zaključak**

Na osnovu rezultata ovih istraživanja, može se zaključiti da ispitivani sistemi gajenja kokoši nosilja nisu imali značajan uticaj na: masu, udeo, deformaciju, silu loma i boju ljske. Kavezno proizvedena jaja imala su zaprljaniju ljsku od jaja proizvedenih u podnom i organskom sistemu gajenja kokoši nosilja, dok su istovremeno imala tanju ljsku od organskih jaja.

### **Napomena**

Istraživanja u ovom radu deo su projekta "Održiva konvencionalna i revitalizovana tradicionalna proizvodnja živinskog mesa i jaja sa dodatom vrednošću" TR 31033 koji finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

### **Literatura**

- Ahammed M., Chae B.J., Lohakare J., Keohavong B., Lee M.H., Lee S.J., Kim D.M., Lee J.Y., Ohh S.J. (2014). Comparison of Aviary, Barn and Conventional Cage Raising of Chickens on Laying Performance and Egg Quality. *Asian Australasian Journal of Animal Science*, 27 (8), 1196-1203.
- Aygun A. (2014). The relationship between eggshell colour and egg quality traits in table eggs. *Indian Journal of Animal Research*, 48 (3), 290-294.
- Bar A., Vax E., Striem S. (1999). Relationships among age, eggshell thickness and vitamin D metabolism and its expression in the laying hen. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 123 (2), 147-154.
- Castellini C., Perella F., Mugnai C., Dal Bosco A. (2006). Welfare, productivity and qualitative traits of egg in laying hens reared under different rearing systems. Poster at: XII European Poultry Conference, 10-14 September, 2006, Verona, Italy.
- Coucke P., Dewil E., Decuyper E., De Baerdemaeker J. (1999). Measuring the mechanical stiffness of an eggshell using resonant frequency analysis. *British Poultry Science*, 40, 227-232.
- Đukić-Stojčić M., Perić L., Bjedov S., Milošević N. (2009). The quality of table eggs produced in different housing system. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 25 (5-6), 1103-1108.
- Gerber N. (2012). Factors affecting egg quality in the commercial laying hen. A review. Egg Producers Federation of New Zealand (Inc) / Poultry Industry Association of New Zealand.
- Hayırli A., Yenice G., Hira F., Kaynar O., Armenta-Perez S.Y., Tikiri F.S., Kocaki F. (2015). Genotype Effects on Egg Quality Parametres. *Scientific Papers. Series D. Animal Science*, Vol. LVIII, 57-58.
- Kouba M. (2003). Quality of organic animal products. *Livestock Production Science*, 80, 33-40.

- Krawczyk J. (2009). Quality of eggs from Polish native Greenleg Partridge chicken-hens maintained in organic vs. backyard production systems. Animal Science Papers and Reports, 27 (3), 227-235.
- Lolli A., Hidalgo C., Alampresse C., Ferrante V., Rossi M. (2013). Layer performances, eggshell characteristics and bone strength in three different housing systems. Biotechnology in Animal Husbandry, 29 (4), 591-606.
- Pavlovski Z., Vitorović D. (1996). Direktan metod za određivanje čvrstoće ljske jaja. Nauka u živinarstvu, 3-4, 171-175.
- Rizzi C., Marangon A., Chiericato G.M. (2007). Effect of Genotype on Slaughtering Performance and Meat Physical and Sensory Characteristics of Organic Laying Hens. Poultry Science, 86, 128–135.
- Roberts J.R. (2004). Factors Affecting Egg Internal Quality and Egg Shell Quality of Laying Hens. Journal of Poultry Science, 41, 161-177.
- Stat Soft Inc Statistica For Windows, Version 7.0. (2006). Computer program manual Tulsa.

## THE EGGSHELL QUALITY OF LAYING HENS FROM DIFFERENT REARING SYSTEMS

*Simeon Rakonjac<sup>1</sup>, Snežana Bogosavljević-Bošković<sup>1</sup>, Zdenka Škrbić<sup>2</sup>, Miloš Lukić<sup>2</sup>, Vladimir Dosković<sup>1</sup>, Veselin Petričević<sup>2</sup>, Milun D. Petrović<sup>1</sup>*

### Abstract

The aim of this paper was to investigate the effect of the rearing system of laying hens on the most important eggshell quality parameters. Based on the results of this research, can be concluded that the tested rearing systems did not have a significant effect on: weight, proportion, deformation, breaking strength and colour of the eggshell. Cage-produced eggs had a dirty eggshell compared to eggs produced in the floor and an organic rearing system, while at the same time they had a thinner eggshell than organic eggs.

**Key words:** rearing systems, eggshell, laying hens.

## UTICAJ STAROSTI NOSILJA NA POJEDINE OSOBINE KVALITETA KONZUMNIH JAJA

Tatjana Ždralić<sup>1</sup>, Jelena Nikitović<sup>2</sup>, Miroslav Lalović<sup>1</sup>,  
Darko Vujičić<sup>1</sup>, Milica Mojević<sup>1</sup>

**Izvod:** Obzirom na biološke vrijednosti proizvoda, živinarstvom se u značajnoj mjeri može riješiti problem ishrane stanovništva, aktuelan u svim dijelovima svijeta.

Iako se smatra da su proizvodne osobine još uvjek osnovni pokazatelji za izračunavanje proizvodnog indeksa, odnosno ekonomske uspješnosti proizvodnje jaja, proizvođači moraju sve više da vode računa o kvalitetu jaja, kako bi zadovoljili zahtjeve potrošača. To znači da posebnu pažnju, između ostalog, treba posvetiti pojedinim osobinama kvaliteta jaja (masa jajeta, dužina jajeta, širina jajeta, indeks oblika jajeta, čistoća ljske, boja ljske, boja žumanceta).

U cilju utvrđivanja osobina kvaliteta jaja za konzum linijskog hibrida Isa Brown, sprovedena su istraživanja na uzorcima - jajima uzetim sa farme privatnog gazdinstva (BiH, RS). Istraživanja su sprovedena u toku tri perioda proizvodnog ciklusa. Takođe, u radu je utvrđen uticaj starosti ispitivanog hibrida Isa Brown na pomenute osobine kvaliteta konzumnih jaja i testirane su utvrđene razlike između prosječnih vrijednosti ispitivanih perioda, te određena značajnost istih.

**Ključne reči:** starost nosilja, kvalitet jaja, Isa Brown.

### Uvod

S obzirom na biološke vrijednosti proizvoda, živinarstvom se u značajnoj mjeri može riješiti problem ishrane stanovništva, aktuelan u svim dijelovima svijeta.

Iako se smatra da su proizvodne osobine još uvjek osnovni pokazatelji za izračunavanje proizvodnog indeksa, odnosno ekonomske uspješnosti proizvodnje jaja, proizvođači moraju sve više da vode računa o kvalitetu jaja, kako bi zadovoljili zahtjeve potrošača. To znači da posebnu pažnju treba posvetiti osobinama kvaliteta jaja (masa jajeta, indeks oblika jajeta, boja ljske, boja žumanceta itd.) Jaja su visoko kvalitetne životne namirnice – hrana, mada treba imati u vidu da njihov kvalitet varira i zavisi od mnogih faktora, genetskih i paragenetskih. Campo *et al.* (2007), Zita *et al.* (2009) su utvrdili da na kvalitet jaja pored genotipa utiče i starost nosilja. Autori konstatuju da bez obzira na genetsko porijeklo, sa starošću nosilja se povećava masa jaja.

Varijabilnost proizvodnih osobina kvaliteta jaja za konzum dat je u radu Škrbić *i sar.* (2006), koji navode da su prosječne vrijednosti mase jaja za genotip Isa Brown, kroz sve tri godine ogleda, bile su 63,08 g, 63,77 g i 61,16 g. Prosječne vrijednosti za

<sup>1</sup> Univerzitet u Istočnom Sarajevu, Poljoprivredni fakultet u Istočnom Sarajevu, Vuka Karadžića 30, Istočno Sarajevo, BiH (RS), (tatjana.zdralic@gmail.com)

<sup>2</sup> Univerzitet u Banja Luci, Poljoprivredni fakultet, Institut za genetičke resurse, Bulevar Vojvode Petra Bojovića 1A, Banja Luka

boju žumanceta kretale su se od 10,12 do 10,46 poena Roshe. Za osobinu kvaliteta, čistoća ljsuske, vrijednosti su bile 4,53; 4,58 i 4,42 poena Roshe.

Jedan od zahtjeva potrošača je i uniformnost boje ljsuske. Pored ujednačene boje, ljsuska mora biti čista, neprana, bez naprslina (*Pavlovska i Vitorović, 1996*). Boja žumanceta potiče od pigmenata, bilo sintetičkih ili iz hraniva, a ujedno je i subjektivna osobina kvaliteta, te kao takva ne može uticati na hranljivu vrijednost jajeta. Međutim, ova osobina je od posebnog uticaja na stav potrošača prema jajima, odnosno u cilju zadovoljavanja želja potrošača potreбno je voditi računa o intenziviranju boje žumanca (*Oziembowski et al., 2002*).

Cilj rada je bio utvrditi uticaj starosti nosilja komercijALHog jata Isa Brown na rezultate ispitivanja osnovnih osobina kvaliteta konzumnih jaja, kao i testirati značajnosti razlika kod pokazatelja kvaliteta jaja, kroz tri starosne grupe: SN20, SN28 i SN48. Samim tim ukazuje se na stepen ispoljenosti genetskog potencijala ispitivanog lakog linijskog hibrida u uslovima privatnog gazdinstva (BiH, RS), sa aspekta kvaliteta ispitivanih uzoraka – jaja.

### Materijal i metode rada

U cilju utvrđivanja osobina kvaliteta jaja za konzum lakog linijskog hibrida Isa Brown, sprovedena su istraživanja na uzorcima - jajima uzetim sa farme privatnog gazdinstva (BiH, RS). U ovom istraživanju individualno je mjereno po 30 jaja, odabranih metodom slučajnog uzorka, iz tri perioda starosti nosilja, i to starost nosilja od 20 nedjelja koja predstavlja početak nosivosti (SN20), starost nosilja od 28 nedjelja koja predstavlja maksimum proizvodnje (SN28) i starost nosilja od 48 nedjelja koja je na sredini proizvodnog ciklusa (SN48). Dakle, statistički posmatrano, bila su tri tretmana po 30 uzoraka.

Na pomenutom broju jaja, pored mase jaja (g), utvrđene su pojedine osobine kvaliteta jaja: dužina jaja (mm), širina jaja (mm), indeks oblika jaja (%), čistoća ljsuske (poen), boja ljsuske (poen) i boja žumanceta (poen).

Masa jajeta je mjerena na posebnoj tehničkoj vagi sa tačnošću 0,01g. Dužina i širina jajeta mjereni su jednostavnim priborom sa tačnošću 1mm. Indeks oblika jajeta je izračunat kao širina u % dužine.

Ocjena inteziteta boje ljsuske zasnovana je na subjektivnoj ocjeni (poen), dok je boja žumanceta određena pomoću jedne od najprihvaćenijih subjektivnih metoda za određivanje boje žumanca je Roche Color Fan.

Osnovna obrada podataka izvedena je primjenom uobičajenih varijaciono-statističkih metoda *Hadživuković (1991)*.

### Rezultati istraživanja i diskusija

U ovom dijelu rada izneseni su rezultati ispitivanja osnovnih osobina kvaliteta konzumnih jaja ispitivanog lakog linijskog hibrida, kao i testiranje značajnosti razlika kod pokazatelja kvaliteta jaja.

Prosječne vrijednosti i varijabilnosti osnovnih pokazatelja kvaliteta jaja prikazani su u tabeli 1.

Tabela 1. Prosječne vrijednosti i varijabilnosti kvaliteta jaja u pojedinim fazama proizvodnog ciklusa

Table 1. Average values and variability of egg quality in individual phases of the production cycle

Pokazatelji <i>Indicators</i>	Starost nosilja (ALH) <i>Age of laying hens</i>	$\bar{x}$	S	$S \bar{x}$	C.V.
Masa jajeta <i>Egg mass</i>	ALH <sub>20</sub>	39,52	3,20	0,58	6,87
	ALH <sub>28</sub>	54,89	3,20	0,55	5,82
	ALH <sub>48</sub>	57,71	2,87	0,52	4,97
Dužina jajeta <i>Egg lenght</i>	ALH <sub>20</sub>	46,56	1,26	0,24	2,70
	ALH <sub>28</sub>	51,10	1,82	0,33	3,56
	ALH <sub>48</sub>	52,46	0,23	0,23	2,42
Širina jajeta <i>Width of the egg</i>	ALH <sub>20</sub>	35,9	1,74	0,31	4,84
	ALH <sub>28</sub>	40,10	0,99	0,18	2,46
	ALH <sub>48</sub>	40,36	1,09	0,19	2,70
Indeks oblika jajeta <i>Egg shape index</i>	ALH <sub>20</sub>	77,28	4,19	0,76	5,42
	ALH <sub>28</sub>	78,54	2,71	0,49	3,45
	ALH <sub>48</sub>	76,39	4,19	0,76	5,48
Čistoća jajeta <i>Cleanliness egg</i>	ALH <sub>20</sub>	2,80	1,21	0,22	43,21
	ALH <sub>28</sub>	3,80	1,06	0,19	27,89
	ALH <sub>48</sub>	4,30	0,87	0,15	20,23
Boja ljsuske <i>Colour of the shell</i>	ALH <sub>20</sub>	3,43	1,01	0,18	29,44
	ALH <sub>28</sub>	3,46	1,13	0,20	32,65
	ALH <sub>48</sub>	3,06	1,41	0,25	46,07
Boja žumanceta <i>Colour of the yolk</i>	ALH <sub>20</sub>	13,70	0,70	0,12	5,10
	ALH <sub>28</sub>	11,70	0,91	0,16	7,77
	ALH <sub>48</sub>	11,33	0,88	0,16	7,76

Rezultati iz tabele 1 pokazuju nam da su najlakša jaja imale nosilje na početku perioda nošenja (SN20), a najteža na sredini perioda proizvodnje (SN48). Da se sa starošću nosilja povećavala prosječna masa jaja pokazali su i drugi autori u svojim radovima Peebles *et al.* (2000), Silversides *et al.* (2001), Johnston *et al.* (2007a). Neznatno veće prosječne mase jaja za nosilje za proizvodnju jaja sa obojenom bojom ljsuske konstatovali su Škrbić *et al.* (2006), Rajićić *et al.* (2007), Đukić-Stojčić *et al.* (2009). Prosječne vrijednosti za dužinu (46,56 mm) na početku nošenja, odnosno širinu jajeta (35,9 mm), povećavale su se sa starošću nosilja, te najveće vrijednosti dostigle su na sredini proizvodnje (52,46 mm i 40,36 mm).

Iz tabele 1 vidi se da se prosječan indeks oblika jajeta sa starošću nosilja uglavnom smanjivao, kroz sva tri perioda – uzorkovanja, osim pri maksimumu proizvodnje (SN<sub>28</sub>) kada je iznosio 78,54%, što je predstavljalo mali skok vrijednosti u odnosu na ostala dva prosjeka, ali i ujedno najveću vrijednost koja je ostvarena.

Sa uzrastom nosilja povećavale su se i prosječne vrijednosti za čistoću jaja (2,8; 3,8; 4,3 poena) što je u saglasnosti sa rezultatima Škrbić *et al.* (2006), Rajićić *et al.* (2007), Đukić-Stojčić *et al.* (2009). Slična situacija u pogledu promjene vrijednosti

prosjeka pri izlučenju nosilja iz proizvodnje uočava se i kod boje žumanca, s tom razlikom da je sa starošću nosilja boja žumanca bila svjetlijia.

Kada je u pitanju boja ljske, tamniju boju ljske imala su jaja na početku nosivosti, dok je nešto svjetlijia boja ljske bila na sredini proizvodnog ciklusa.

Testiranje značajnosti razlika, odnosno analiza varijanse za ispitivane osobine kvaliteta jaja, prikazane su u tabeli 2.

Utvrdene razlike između pojedinih prosječnih vrijednosti masa jaja za sve ispitivane periode su bile statistički značajne ( $P<0,01$ ). Do istog zaključka, u pogledu uticaja starosti nosilja na masu jaja došli su autori, kao što su Rajićić (2003), Pandurević *et al.* (2015). Pored mase jaja, starost nosilja je statistički značajno ( $P<0,05$ ) uticala na dužinu, odnosno širinu jajeta.

Tabela 2. Testiranje značajnosti razlika kvaliteta jaja  
Table 2. Testing the significance of egg quality of differences

Pokazatelji <i>Indicators</i>	Starost nosilja (ALH) <i>Age of laying hens</i>	Pros. vrijednosti <i>Average value</i>	Razlike <i>Difference</i>	Značajnost <i>Significance</i>
Masa jajeta <i>Egg mass</i>	ALH <sub>20</sub>	39,52	-15,37	**
	ALH <sub>28</sub>	54,89	-18,19	**
	ALH <sub>48</sub>	57,71	-2,82	**
Dužina jajeta <i>Egg lenght</i>	ALH <sub>20</sub>	46,56	-4,54	**
	ALH <sub>28</sub>	51,10	-5,90	**
	ALH <sub>48</sub>	52,46	-1,36	**
Širina jajeta <i>Width of the egg</i>	ALH <sub>20</sub>	35,9	-4,20	**
	ALH <sub>28</sub>	40,10	-4,46	**
	ALH <sub>48</sub>	40,36	-0,26	**
Indeks oblika jajeta <i>Egg shape index</i>	ALH <sub>20</sub>	77,28	-1,26	**
	ALH <sub>28</sub>	78,54	0,89	ns
	ALH <sub>48</sub>	76,39	2,15	**
Čistoća jajeta <i>Cleanliness egg</i>	ALH <sub>20</sub>	2,80	-1,00	**
	ALH <sub>28</sub>	3,80	-1,50	**
	ALH <sub>48</sub>	4,30	-0,50	**
Boja ljske <i>Colour of the shell</i>	ALH <sub>20</sub>	3,43	-0,03	ns
	ALH <sub>28</sub>	3,46	0,37	**
	ALH <sub>48</sub>	3,06	0,40	**
Boja žumanceta <i>Colour of the yolk</i>	ALH <sub>20</sub>	13,70	2,00	**
	ALH <sub>28</sub>	11,70	2,37	**
	ALH <sub>48</sub>	11,33	0,37	ns

\*\*\* $P<0,001$ ; \*\* $P<0,01$ ; \* $P<0,05$ ; ns $P>0,05$

Najveći indeks oblika (78,54%), koji je ostvaren pri maksimalnoj proizvodnji jaja (SN28), bio je statistički veći ( $P<0,01$ ) u odnosu na ostale dvije grupe. Slično ovim rezultatima izvjestan broj autora je utvrdio da se sa uzrastom značajno smanjuje vrijednost za indeks oblika jajeta (Van den Brand *et al.*, 2004; Nikolova, 2006).

Kada je u pitanju osobina čistoća jajeta, iz tabele 2 se vidi da su statistički značajne razlike ( $P<0,01$ ) utvrđene između SN20 i CH28, SN20 i SN48, kao i između SN28 i SN48 nedjelje starosti.

Utvrđene razlike za boju ljske i žumanca između SN20 i SN28 kao i SN20 i SN48 nedjelje starosti bile su značajne ( $P<0,01$ ), odnosno nisu bile signifikantne ( $P>0,05$ ) između SN28 i SN48 nedelje starosti. Iz priloženog zaključujemo da su jaja porijeklom od mlađih nosilja bila sa tamnjom bojom ljske i crvenijom bojom žumanca. Slično za boju žumanca su utvrdili *Tolimir et al.* (2008).

### Zaključak

Na osnovu dobijenih rezultata za pomenute pokazatelje može se konstatovati sljedeće:

- Najlakša jaja su bila na početku perioda nošenja, a najteža na sredini proizvodnog ciklusa. Razlike u prosječnoj masi jaja porijeklom od različite starosti nosilja su bile statistički značajne ( $P<0,01$ ).
- Starost nosilja je statistički značajno uticala na dužinu, kao i širinu jaja ( $P<0,01$ ).
- Najveći indeks oblika jajeta je bio kod jaja kada su nosilje ostvarile maksimalan intezitet nosivosti (SN28) i u odnosu na ostale dvije grupe bio je statistički veći ( $P<0,01$ ).
- Jaja proizvedena od mlađih nosilja (SN20 i SN28) bila su slabije čistoće u odnosu na treći period.
- Boja ljske kod mlađih nosilja (SN20 i SN28) je bila tamnija, a boja žumanca crvenija u odnosu na treći period.

Posmatrano u cjelini, može se zaključiti da je analizirano komercijALHo jato lakog linijskog hibrida Isa Brown, gajeno na živinarskoj farmi privatnog gazdinstva (BiH, RS), u većini ispitivanih osobina kvaliteta jaja ostvarilo zadovoljavajuće rezultate.

### Literatura

- Campo JL, Gil MG, Dávila SG (2007): Differences among white-, tinted-, and brown-egg laying hens for incidence of eggs laid on the floor and for oviposition time. Archiv für Geflügelkd, 71: 105-109.
- Dukić-Stojčić M., Perić L., Bjedov S., Milošević N. (2009): The quality of table eggs produced in different housing systems. Biotechnology in Animal Husbandry 25 (5-6), 1103-1108, Belgrade-Zemun.
- Hadživuković S. (1991): Statistički metodi s primenom u poljoprivrednim i biološkim istraživanjima, str. 461, Novi Sad.
- Johnston S. A., Gous R. M. (2007a): Modelling the changes in the proportion of the egg components during laying cycle. British poultry science, 48, 347-353.
- Nikolova N. (2006): Uticaj težinskih klasa jaja, uzrasta kokoši i sezone na neke fizičke osobine jaja“, XI savetovanje o biotehnologiji, vol. 11, (11.12), str. 397-430, Čačak.
- Oziembowski M., Trziszka T., Kopec W. (2002): Relation between objective and subjektive methods of measuring the colour of hen egg yolks based on material with potentially pro-health features. Archiv für Geflügelkunde. 11-th European Poultry Conference, Bremen 2002., Abst., 139.

- Pandurević T., Mitrović S., Đekić V. (2015): KonvencionALHo i organsko živinarstvo. Monografsko djelo., 259 str., JP „Zavod za udžbenike i nastavna sredstva“ a.d. Istočno Novo Sarajevo, (ISBN 978-99955-1-188-3)
- Pavlovski Z., Vitorović D. (1996): Direktan metod za određivanje čvrstoće jaja. Nauka u živinarstvu, 3-4, 171-177.
- Peebles E. D., Zumwalt C. D., Doyle S. M., Gerard M., Latour C. R., Boyle and Smith T. W. (2000): Effects of breeder age and dietary fat source and level on broiler hatching egg characteristic, Poul Science, 79: 698-704.
- Rajičić V. (2003): Uticaj genotipa i uzrasta na proizvodne osobine kvaliteta jaja lakih linijskih hibrida kokoši. Magistarska teza. Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet Čačak, str. 80, Čačak.
- Rajičić V., Bogosavljević-Bošković S., Staletić M., Milivojević J., Nikolić O., Stevanović V. (2007): Uticaj uzrasta na proizvodne osobine kokoši nosilja Hisex Brown. XII Savetovanje o biotehnologiji, vol. 12 (13); str. 215-218, Čačak.
- Silversides F. G., Scott T. A. (2001): Effect of storage and layer age on quality of eggs from two lines of hens. Poultry Science, 80, 1240-1245.
- Škrbić Z., Pavlovski Z., Mitrović S., Lukić M., Tomašević D. (2006): Varijabilnost pojedinih osobina kvaliteta jaja za konzum u zavisnosti od proizvođača i godine ispitivanja. Biotechnology in Animal Husbandry 22 (5-6), 21-31, Belgrade-Zemun.
- Tolimir N., Perić L., Đukić-Stojčić M., Milošević N. (2008): Uticaj hibrida i uzrasta kokoši nosilja na kvalitet konzumnih jaja. Biotechnology in Animal Husbandry 24(spec. Issue), p 245-252, Belgrade-Zemun.
- Van den Brand H., Parmentier H. K., Kemp B. (2004): Effect of housing system and age of laying hens on egg characteristics. British Poultry Science 45: 745-752.
- Zita, L., Tůmová E., Stolc L. (2009): Effects of genotype, age and their interaction on egg quality in brown-egg laying hens. Acta Veterinaria Brno, 78: 85-91.

## **EFFECT OF AGE HENS ON SOME QUALITY PROPERTIES OF TABLE EGGS**

*Tatjana Ždralić<sup>1</sup>, Jelena Nikitović<sup>2</sup>, Miroslav Lalović<sup>1</sup>,  
Darko Vujičić<sup>1</sup> Milica Mojević<sup>1</sup>*

### **Abstract**

Given the biological value of the product, poultry is significantly can solve the problem of feeding the population, present in all parts of the world.

Although it is considered that production traits are still the main indicators to calculate the production index, or the economic performance of egg production, manufacturers must increasingly take into account the quality of the eggs, to meet the demands of consumers. This means that special attention, among other things, should be given to certain characteristics of the quality of eggs (egg weight, egg length, width of the egg, egg shape index, purity scales, color scales, color egg yolks).

In order to determine the qualities of eggs for consumption light line hybrid Isa Brown, were carried out research on samples - eggs taken from the farm private households (BiH, RS). The study was conducted during three periods of the production cycle. Also, in this work, the influence of the age of the test Isa Brown hybrid on said quality characteristics of table eggs were tested and determined the differences between the average values of the periods, and certain of the same significance.

**Key Words:** age of laying hens, quality properties of eggs, Isa Brown.

---

<sup>1</sup> University of East Sarajevo, Faculty of agriculture, Vuk Karadžić 30, East Sarajevo, B&H (RS), (tatjana.zdralic@gmail.com)

<sup>2</sup> University of Banja Luka, Faculty of agriculture, Institute for genetics resource, Bulevar Vojvode Petra Bojovića 1A, Banja Luka



## MINERALNI ADSORBENTI MIKOTOKSINA U ISHRANI DOMAĆIH ŽIVOTINJA

Dosković V.<sup>1</sup>, Bogosavljević-Bošković Snežana<sup>1</sup>, Škrbić Zdenka<sup>2</sup>, Lukić M.<sup>2</sup>, Petrović D.M.<sup>1</sup>, Rakonjac S.<sup>1</sup>, Petričević V.<sup>2</sup>

**Izvod:** Mikotoksini su sekundarni produkti metabolizma određenih vrsta gljiva koji ispoljavaju negativna dejstva (kancerogena, mutagena, teratogena, citostatička, imunosupresivna, estrogena, emetička, fotosenzibilizirajuća) na određene organe životinja. Intezitet ispoljavanja toksičnog delovanja mikotoksina iz hrane na organizam ljudi i životinja prvenstveno zavisi od vrste životinja, odbrambenih mehanizama organizma, metaboličke specifičnosti organizma i mehanizma delovanja mikotoksina. Danas se najčeće za detoksifikaciju hrane za životinje koriste mineralni adsorbenti mikotoksina: aluminosilikati, gline i zeolitski minerali. U radu su prikazani rezultati do kojih su došli brojni istraživači, ispitujući raznovrsne mineralne adsorbente mikotoksina u ishrani različitih vrsta domaćih životinja.

**Ključne reči:** adsorbenti mikotoksina, aluminosilikati, zeolit, bentonit.

### Uvod

U intenzivnom stočarstvu, gajenje životinja je usmereno na proizvodnju kvalitetnih i zdravstveno bezbednih animalnih proizvoda, koji, ni u kom slučaju, ne smeju da izazovu negativne posledice po zdravlje ljudi (Savković i sar., 2008).

Hemijski sastav mesa zavisi od vrste životinje, rase, pola, uzrasta, načina gajenja i ishrane, stepena utovljenosti i dela trupa. Varijacijama su naročito podložni sadržaj lipida i vode, dok je količina azotnih i mineralnih materija u mesu relativno konstantna (Vuković, 1998). Ako su svi ostali (i genetski i paragenetski) faktori gajenja ujednačeni, ishrana će imati veoma bitnu ulogu na hemijski sastav i kvalitet mesa (Ristic i sar., 2007).

Mikotoksini su sekundarni produkti metabolizma nekih vrsta filamentoznih gljiva, koji se sintetišu od velikog broja biohemski jednostavnih međuproducta primarnog metabolizma (acetata, malonata, mavalonata i nekih aminokiselina - fenilalanina, serina, triptofana, alanina) usled aktivnosti različitih enzima (Kocić-Tanackov i Dimić, 2013). Po hemijskoj strukturi to su raznovrsna, relativno stabilna liposolubilna organska jedinjenja, male molekulske mase (Brase i sar., 2009) koja se ne rastvaraju u vodi (izuzev fumonizina).

Danas je poznato i hemijski identifikovano više od 300 različitih mikotoksina (Mašić et al., 2003), ali je brojnim istraživanjima utvrđeno da samo 20-30 prema svojoj toksičnosti i zastupljenosti imaju medicinski, nutritivni, ekološki i ekonomski značaj (Wild i Gong, 2010). To su uglavnom produkti plesni iz rodova *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* i *Claviceps* (Herebian i sar., 2009), koji imaju afinitet

<sup>1</sup> Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija ([vladosko@kg.ac.rs](mailto:vladosko@kg.ac.rs))

<sup>2</sup> Institut za stočarstvo, Zemun-Beograd, Autoput 16, P. fax 23, Srbija

za pojedine organe životinja (jetra, bubrezi, srce, nervni sistem, hematopoetska tkiva) ispoljavajući kancerogena, mutagena, teratogena, citostatička, imunosupresivna, estrogena, emetička i fotosenzibilizirajuća dejstva na ove organe životinja konzumenata (Mašić i sar., 2003).

Za sprečavanje ili redukciju (ublažavanje) štetnih efekata mikotoksina na proizvodne rezultate životinja i zdravlje ljudi definisano je mnogo postupaka, ali ne postoji univerzalna strategija koja bi eliminisala negativan uticaj svih mikotoksina u različitim supstratima (Shapiro i Paster, 2004). Svi ovi postupci dele se na: preventivne mere (za sprečavanje kontaminacije hrane plesnima i mikotoksinima) i mere za smanjenje toksičnih efekata mikotoksina iz hrane (Milićević i sar., 2014).

Na intezitet ispoljavanja toksičnog delovanja mikotoksina iz hrane na organizam ljudi i životinja utiče prvenstveno vrsta životinje konzumenta, odbrambeni mehanizmi organizma, metaboličke specifičnosti organizma (toksikokinetika) i mehanizam dejstva mikotoksina (toksikodinamika). Ove specifičnosti najbolje su opisane u razlikama u osetljivosti preživara i nepreživara na mikotoksine. Buražna mikroflora preživara ima sposobnost detoksifikacije mikotoksina, pa su preživari optorniji na prisustvo mikotoksina u hrani u odnosu na nepreživare. Neka istraživanja su pokazala i da rasna pripadnost i genetske razlike pa čak i unutar iste rase mogu uticati na ispoljavanje bioloških efekata mikotoksina (Kuiper-Goodman, 2004).

### Karakteristike adsorbenata mikotoksina

Danas se najčešće za detoksifikaciju hrane koriste adsorbenti mikotoksina kao najekonomičnija i najlakše primenjiva strategija. Različite grupe supstanci se primenjuju u te svrhe (Huwig i sar., 2001; Jouany, 2007), a najčešće aluminosilikati, gline i zeolitski minerali. Najveći broj adsorbenata neorganskog porekla deluje po principu izmene katjona, odnosno „molekulskog sita“. Adsorbenti poseduju veliku površinu koja je nanelektrisana čime se obezbeđuje čvrsta veza sa mikotoksinima. Od svih aluminosilikata najviše izučavan je hidratisani natrijum kalcijum aluminosilikat - HSCAS. HSCAS ima veliki afinitet za aflatoksine i gradi veoma stabilan kompleks, dok je manje efikasan za ostale mikotoksine (Phillips i sar., 2002). Međutim, još uvek postoje nepoznanice u vezi njihovog delovanja, jer postoji mogućnost da ovi adsorbenti istovremeno adsorbuju i neke nutritivne sastojke, a takođe opisani su i toksični efekti na životinjama koje su dobijale preko hrane ove aditive (Huwig i sar., 2001). Da li će neki preparat na bazi aluminosilikata uticati na prirast i konverziju hrane najviše zavisi od vrste primenjenog aluminosilikata, njegovih fizičkih i hemijskih osobina, primenjene koncentracije, životinske vrste i starosti, kao i od uslova gajenja životinja, jer što su uslovi gajenja lošiji, veće su šanse da ovi adsorbenti ispolji pozitivan efekat (Prvulović, 2011).

Adsorpција aflatoksina B<sub>1</sub> na prirodnom zeolitu dešava se samo na spolašnjoj površini minerala, dok su kod montmorilonita neorganski katjoni u međuslojnom prostoru odgovorni za adsorpciju, zbog čega montmorilonit pokazuje značajno veći afinitet prema aflatoksinu B<sub>1</sub>. Za upotrebu alumosilikatnih minerala kao aditiva stočnoj hrani koji će adsorbovati aflatoksin B<sub>1</sub>, potrebno je ispitati kvalitet minerala, odnosno odrediti mineraloški i hemijski sastav (sadržaj osnovnog minerala), kapacitet katjonske izmene, kao i odrediti afinitet minerala prema aflatoksinu B<sub>1</sub> (Marković i sar., 2016).

## Upotreba mineralnih adsorbenata kod preživara

Najčešće mikotoksikoze kod goveda na našim prostorima izazvane su toksinima gljivica plesni iz roda Fusarium, Aspergillus i Penicillium. Fiziološke i biološke karakteristike organa za varenje čine goveda otpornijim na dejstvo mikotoksina u odnosu na monogastrične životinje, pri čemu je utvrđeno da mikroflora ovih organa može razlagati ili čak i inaktivirati neke mikotoksine (Mašić i sar., 2003). Dodatak zeolitskih preparata Minazel (0,5%) ili Minazel Plus (0,2%) u obrok junadi u tovu domaće šarene rase u tipu simentalca nije uticao na proizvodne rezultate, iako su junad hranjena ovakvim obrokom imala nešto veći prirast i manju konverziju hrane u odnosu na kontrolnu grupu (Dosković i sar., 2008, 2017), kao i bolje ekonomski rezultate tova (Dosković i sar., 2010, 2012).

Ispitujući dodatak klinoptilolita (prirodног zeolita, 3%) u hrani na iskorišćavanje hrane i tovne performanse jagnjadi inficirane gastrointestinalnim nematodama, Deligiannis i sar. (2005) su utvrdili da su veću masu pred klanje i veće prosečne priraste imala jagnjad koja su konzumirala hrana obogaćenu klinoptilolitom u odnosu na jagnjad hranjenu obrokom bez klinoptilolita, bez obzira na inficiranost nematodama, pri čemu nije bilo razlika u klaničnim karakteristikama trupa. Istovremeno, dodatak prirodnog zeolita smanjivao je brojnost fekalnih jaja gastrointestinalnih nematoda, zbog čega ovi autori zaključuju da bi upotreba klinoptilolita u obrocima ovaca mogla da bude alternativa upotrebi antihelminтика kod istih. I Pond (1984) navodi da je dodatak 2% klinoptilolita imao pozitivan efekat na prirast jagnjadi.

## Upotreba mineralnih adsorbenata kod monogastičnih životinja

Prvulović i sar. (2007) su dodavali klinoptilolit (5 g klinoptilolita na 1 kg hrane) u obrok prasadi Landras x Jorkšir i utvrdili pozitivan efekat na prosečan prirast prasadi u početnim fazama tova (u prvih 45 dana +2,5%, odnosno +7,0% u narednim 45 dana), ali i nešto manji prirast u poslednjoj fazi tova (90-135 dana, za 4,8%) u poređenju sa kontrolnom grupom, uz nešto manje promene u utrošku hrane za kg prirasta (po fazama tova -2,1%, -1,4% i + 1,4%). Biohemski parametri krvnog seruma prasadi bili su u granicama normale, dodatak klinoptilolita nije imao efekat na koncentracije ukupnog proteina, glukoze, kreatinina i uree u serumu, ali je uticao na povećanje koncentracije triglicerida, smanjenje koncentracije ukupnog holesterola i povećanu aktivnost aspartat aminotransferaze. Do sličnih rezultata o uticaju klinoptilolita na prirast svinja u tovu došli su i Vrzgula i Bartko (1984) i Pond i sar. (1988), kao i za konverziju hrane (Pond i sar., 1988; Ward i sar., 1991), dok Poulsen i Oksbjerg (1995) nisu utvrdili efekat klinoptilolita na prirast svinja. Primena aluminosilikata u ishrani svinja ne dovodi do promena u prirastu ili konverziji hrane (Matthews i sar., 1999; Malagutti i sar., 2002; Döll i sar., 2005; Prvulović i sar., 2009; citat po Prvuloviću, 2011).

Brojni istraživači nisu utvrdili promene u prirastu i utrošku hrane za jedinicu prirasta brojlera (citat po Prvuloviću, 2011) bez obzira koji tip aluminosilikata je ispitivan: paligorskit (Pappas i sar., 2010), zeolit A (Yalcin i sar., 1995), bentonit (Rosa i sar., 2001), monmorilonit (Desheng i sar., 2005, Shi i sar., 2006), klinoptilolit (Harvey

i sar., 1993; Parlat i sar., 1999), mordenit (Harvey i sar., 1993) ili hidratisani natrijum, kalcijum aluminosilikat (glina) (Huff i sar., 1992, Gowda i sar., 2008; Zhao i sar., 2010).

Ispitujući preparat Antitoksični nutritiv (ATN), koji predstavlja smešu zeolita (sa preko 90% klinoptilolita), filosilikatne gline bentonita (sa više od 83% monmorilonita) i aktivnog uglja (u odnosu 60:20:1) u ishrani pilića (5 g/kg hrane), tokom 3 ili 6 nedelja, Prvulović (2011) je utvrdio da ovaj aditiv ne utiče na prirast životinja, niti na konverziju hrane, ne remeti normalne biohemijske procese i vitalne fiziološke funkcije pilića, ne povećava aktivnost glutation S-transferaza (enzima detoksifikacije i parametra toksičnosti), ali dovodi do uvećanja relativnih masa pojedinih organa digestivnog trakta, kao i uvećanja sadržaja proteina i smanjenja % lipida u belom mesu pilića, uz nešto veći sadržaj pepela i u belom i u tamnom mesu. Iz svih ovih razloga, autor zaključuje da bi ovaj preparat, dodat u hranu, mogao da bude dobar protективni agens za delovanje aflatoksina, ali ne i ohratoksina.

Miazzo i sar. (2000) navodi da sintetski zeolit NaA (1%) može da ublaži toksični efekat aflatoksina B<sub>1</sub> iz hrane na proizvodne rezultate brojlera, a Miazzo i sar. (2005) su utvrdili da je uključivanje natrijum-bentonita u obrok tovnih pilića (0,3%) smanjilo inhibitorni efekat aflatoksina B<sub>1</sub> iz hrane, kao i učestalost i ozbiljnost hepatičnih histopatoloških promena povezanih sa aflatoksikozom.

Dodajući hrani za brojlere montmorilonit (1,5gr/kg hrane), Xia i sar. (2004) su ustanovili da su pilići hranjeni ovakvim obrokom imali nešto veći prirast i manju konverziju hrane u odnosu na kontrolnu grupu pilića, mada ta tendencija nije bila značajna, kao i da dodatak ovog aluminosilikata u hranu nije imao signifikantan uticaj na crevnu mikrofloru, iako je postojala tendencija da broj *E. coli* i *Clostridium* bude niži nego kod kontrolnih grla. Kao mogući razlog za nepostojanje efekta dodavanja montmorilonita na performanse rasta pilića u ovoj studiji autori navode neadekvatnu koncentraciju ovog preparata.

Natrijum-bentonit dodat u hranu za brojlere (u koncentraciji 1%) imao je pozitivan efekat na prosečan dnevni prirast pilića, utrošak hrane za kg prirasta i ekonomičnost proizvodnje (Tauqir i Nawaz, 2001).

### **Zaključak**

Mikotoksikoze predstavljaju ozbiljan i vrlo delikatan problem u stočarskoj proizvodnji. Za sprečavanje ili redukciju (ublažavanje) štetnih efekata mikotoksina na proizvodne rezultate životinja konzumenata, a time i na zdravlje ljudi, koriste se brojne metode. Od njih najzastupljenija i najlakše primenjiva je (pored adekvatne agrotehnike i zaštite biljaka) upotreba adsorbenata mikotoksina, kao dodataka hrani za životinje. Brojna istraživanja su pokazala da mineralni adsorbenti mikotoksina mogu imati pozitivan efekat na adsorpciju pre svega aflatoksina B<sub>1</sub>, proizvodne rezultate kod skoro svih vrsta domaćih životinja, neke parametre krvi i ekonomičnost proizvodnje, kao i da oni ne remete normalne biohemijske procese i vitalne fiziološke funkcije životinja.

### **Napomena**

Istraživanja u ovom radu deo su projekta BTR. 31033 „Održiva konvencionalna i revitalizovana tradicionalna proizvodnja živinskog mesa i jaja sa dodatom vrednošću“ koji finansira Ministarstvo za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije.

### Literatura

- Brase S., Encinas A., Keck J., Nising C. F. (2009). Chemistry and biology of mycotoxins and related fungal metabolites. *Chemical Reviews*, 109, 3903-4399.
- Deligiannis K., Lainas Th., Arsenos G., Papadopoulos E., Fortomaris P., Kufidis D., Stamataris C., Zygogiannis D. (2005). The effect of feeding clinoptilolite on food intake and performance of growing lambs infected or not with gastrointestinal nematodes. *Livest. Prod. Sci.* 96, 195-203.
- Dosković V., Radović Vera, Bogosavljević-Bošković Snežana, Milenković M. (2008). Uticaj Minazela na konzumaciju i konverziju hrane kod junadi u tovu. *18<sup>th</sup> Symposium on Innovation in Animal Science and Production* 27-28.November 2008, Belgrade - Biotechnology in Animal Husbandry, 24 (spec. issue), 445-451.
- Dosković V., Radović Vera, Đoković R., Veljković Biljana, Rakonjac S. (2010). Efekat Minazel-a kao dodatka hrani na ekonomičnost tova junadi. *XV Savetovanje o biotehnologiji*, 26-27.mart 2010, Agronomski fakultet u Čačku - Zbornik radova, Vol.15 (17), 579-584.
- Dosković V., Radović Vera, Đoković R., Petrović D.M., Veljković Biljana (2012). Uticaj „Minazela Plus“ dodatog u hranu na ekonomičnost tova junadi. *XVII Savetovanje o biotehnologiji*, 6-7.april 2012, Agronomski fakultet u Čačku - Zbornik radova, Vol. 17 (19), 310-316.
- Dosković V., Bogosavljević-Bošković Snežana, Đoković R., Milošević B., Petrović M.D., Rakonjac S. (2017). Uticaj Minazela Plus na proizvodne rezultate i ekonomičnost tova junica. *XXII Savetovanje o biotehnologiji* sa međunarodnim učešćem, Čačak 10-11. mart, Zbornik radova 2, 731-736.
- Herebian D., Zühlke S., Lamshöft M., Spitteler M. 2009. Multi-mycotoxin analysis in complex biological matrices using LC-ESI/MS: experimental study using triple stage quadrupole and LTQ-Orbitrap. *Journal of Separation Science*, 32, 939-948.
- Huwig A., Freimund S., Käppeli O., Dutler H. (2001). Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. *Toxicology Letters*, 122, 179-188.
- Jouany J. P. 2007. Methods for preventing decontaminating and minimizing the toxicity of mycotoxins in feeds. *Animal Feed Sciences and Technology*, 137, 342-362.
- Kocić-Tanackov D. Sunčica, Dimić R. Gordana (2013). Gljive i mikotoksini - kontaminenti hrane. *Hem. Ind.* 67 (4), 639-653.
- Kuiper-Goodman T. (2004). Risk assessment and risk management of mycotoxins in food. In: Mogan, N., Olsen, M. (Eds.), *Mycotoxins in Food, Detection and Control*. CRC Press, New York; Wood head Publishing Limited, Cambridge, England, 3-31 (Chapter 1).
- Marković A. Marija, Daković S. Aleksandra, Rottinghaus E. George, Stojanović D. Mirjana, Dondur T. Vera, Kragović M. Milan, Gulišija P. Zvonko (2016). Adsorpcija aflatoksina B1 na prirodnim alumosilikatima-koncentratu montmorilonita i zeolitu. *Hem. Ind.* 70 (5), 519-524.

- Mašić Z., Adamović M., Đilas Sandra, Mihaljev Ž. (2003). Mikotoksini u patofiziologiji ishrane goveda. Veterinarski glasnik, 57 (3-4), 191-199.
- Miazzo R., Peralta M.F., Magnoli C., Salvano M., Ferrero S., Chiacchiera S.M., Carvalho E.C.Q., Rosa C.A.R., Dalcero A. 2005. Efficacy of sodium bentonite as detoxifier of broiler feed contaminated with aflatoxin and fumonisins. Poult. Sci. 84, 1-8.
- Miazzo R., Rosa C.A.R., De Queiroz Carvalho E.C., Magnoli C., Chiacchiera S.M., Palacio G., Saenz M., Kikot A., Basaldella E., Delcero A. 2000. Efficacy of synthetic zeolite to reduce the toxicity of aflatoxin in broiler chicks. Poult. Sci. 79, 1-6.
- Milićević D., Nedeljković-Trailović Jelena, Mašić Z. (2014). Mikotoksini u lancu ishrane – analiza rizika i značaj za javno zdravstvo. Tehnologija mesa 55 (1), 22-38.
- Phillips T.D., Lemke S.L., Grant P.G. 2002. Characterization of clay-based enterosorbents for the prevention of aflatoxicosis. Advances in Experimental Medicine and Biology, 504, 157-171.
- Pond, W.G. 1984. Response of growing lambs to clinoptilolite or zeolite NaA added to corn, corn-fish meal and corn-soybean meal diets. J. Anim. Sci. 59, 1320-1328.
- Pond W.G., Yen J.T., Varel V.H. (1988). Copper and clinoptilolite supplementation to diets for growing pigs. Nutr. Rep. Int., 37, 795-803.
- Poulsen H.D., Oksbjerg N. (1995). Effects of dietary inclusion of a zeolite (clinoptilolite) on performance and protein metabolism of young growing pigs. Anim. Feed Sci. Technol., 53, 297-303.
- Prvulović D. (2011). Aluminosilikati u ishrani pilića: biohemski parametri i antitoksični efekti. Doktorska disertacija, Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Departman za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine, Novi Sad, 1-196.
- Prvulović D., Jovanović-Galović A., Stanić B., Popović M., Grubor-Lajšić G. (2007). Effects of a clinoptilolite supplement in pig diets on performance and serum parameters. Czech J. Anim. Sci. 52, 159-164.
- Ristic M., Freudenreich P., Werner R., Schüssler G., Köstner U., Ehrhardt S. 2007. Hemski sastav mesa brojlera u zavisnosti od porekla i godine proizvodnje. Tehnologija mesa 48, 203-207.
- Savković T., Džinić N., Tojagić S. 2008. Začinsko bilje kao dodatak u ishrani brojlera i senzorni kvalitet mesa. Tehnologija Mesa 49, 75-81.
- Shapiro R., Paster N. 2004. Control of mycotoxins in storage and techniques for their decontamination. Woodhead Publishing Ltd. England, ISBN 1 855737337, 190-223.
- Wild C. P., Gong Y.Y. 2010. Mycotoxins and human disease: A largely ignored global health issue. Carcinogenesis, 31, 71-82.
- Tauqir N.A., Nawaz H. (2001). Performance and economics of broiler chicks fed on rations supplemented with different levels of sodium bentonite. Int. J. Agric. Biol. 3, 149-150.
- Vrzgula L., Bartko P. (1984). Effects of clinoptilolite on weight gain and some physiological parameters in swine. In: Pond W.G., Mumpton F.A. (eds.): Zeo-Agriculture. Brockport, International Community of Natural Zeolites, New York, 161-166.
- Vuković I.K. 1998. Osnove tehnologije mesa. AM, Beograd.

- Ward T.L., Watkins K.L., Southern L.L., Hoyt P.G., French D.D. (1991). Interactive effects of sodium zeolite-A and copper in growing swine: growth, and bone and tissue mineral concentrations. *J. Anim. Sci.*, 69, 716-733.
- Xia M.S., Hu C.H., Xu Z.R. 2004. Effects of copper-bearing montmorillonite on growth performance, digestive enzyme activities, and intestinal microflora and morphology of male broilers. *Poult. Sci.* 83, 1868-1875.

## MINERAL ADSORBENT OF MYCOTOXINS IN IN DOMESTIC ANIMAL FOOD

*Dosković V.<sup>1</sup>, Bogosavljević-Bošković Snežana<sup>1</sup>, Škrbić Zdenka<sup>2</sup>, Lukić M.<sup>2</sup>, Petrović D.M.<sup>1</sup>, Rakonjac S.<sup>1</sup>, Petričević V.<sup>2</sup>*

### Abstract

Mycotoxins are secondary products of the metabolism of certain types of fungi that exhibit negative effects (carcinogenic, mutagenic, teratogenic, cytostatic, immunosuppressive, estrogen, emetic, photosensitising) to certain animal organs. The intensity of the toxic effects of mycotoxins from foods on the human and animal organisms depends primarily on the species of animals, the defenses of the organism, the metabolic specificity of the organism, and the mechanism of action of mycotoxins. The mineral mycotoxin adsorbents: aluminosilicates, clays and zeolite minerals are most commonly used for the detoxification of feedingstuffs nowadays. This paper presents the results of numerous researchers who examined various mineral adsorbents of mycotoxins in the nutrition of different species of domestic animals.

**Key words:** mycotoxin adsorbents, aluminosilicates, zeolites, bentonite.

---

<sup>1</sup> University of Kragujevac, Faculty of Agronomy Čačak, Cara Dušana 34, Čačak, Serbia ([vladosko@kg.ac.rs](mailto:vladosko@kg.ac.rs))

<sup>2</sup> Institut for Animal Husbandry, Zemun-Beograd, Autoput 16, P. box 23, Serbia



## EVALUACIJA ODABRANIH METODA ZA POBOLJŠANJE KLIJAVOSTI I RANE FAZE RAZVIĆA PŠENICE (*Triticum aestivum L.*)

Biljana Bojović, Dragana Jakovljević, Milan Stanković

**Izvod:** U ovom radu procenjivan je efekat četiri metode za poboljšanje klijavosti semena i ranog razvića pšenice (*Triticum aestivum L.*). Semena pšenice su tretirana fitohormonima (IAA i GA<sub>3</sub>), solima (MgSO<sub>4</sub> i KNO<sub>3</sub>), ekstraktom koprive (*Urtica dioica L.*), a istraživan je i alelopatski efekat semena ječma (*Hordeum vulgare L.*) i ovsu (*Avena sativa L.*) na proces klijanja i izduživanja korena i izdanka pšenice. Dobijeni rezultati ukazuju da je za vijabilnost i sposobnost semena pšenice da produkuje kvalitetne biljke najpovoljniji je tretman kalijumovim i magnezijumovim solima.

**Ključne reči:** hormoni, soli, ekstrakt koprive, vigor indeks

### Uvod

Kvalitetno seme je ključni faktor uspešne poljoprivredne proizvodnje, koja zahteva dobru klijavost semena i produkciju kvalitetnog sadnog materijala, čime se osigurava veći prinos. Da bi se obezbedilo kvalitetnije seme, razvijene su različite metode i tehnike kojima se poboljšava proces klijanja semena. Među njima se izdvaja tzv. “priming” metoda kojom se dinamika klijanja i performanse biljke postižu moduliranjem metaboličke aktivnosti u semenu pre nastanka radikule (Pallaoro i sar., 2016; Lutts i sar., 2016; Mamun i sar., 2018). Ovom metodom omogućava se da hidratacija semena inicira rane procese tokom klijanja, ali ne dozvoljava pojavu radikule, nakon čega sledi sušenje, do ponovnog postavljanja semena u vlažnu sredinu (Ashraf and Foolad, 2005). Nakon rehidratacije, semena pokazuju poboljšane parametre kvaliteta, kao što su skraćivanje vremena do pojave korena, sinhronizacija klijanja, veći procenat klijanja i poboljšanje vitalnosti semena. Veći kvalitet semena rezultira bržom i ravnomernijom pojmom sadnica, što može biti naročito korisno na zemljištu nepovoljnih fizičkih i hemijskih karakteristika.

Mnogi istraživači su pokazali da se sposobnost klijavosti povećava korišćenjem hormonskih, halo-, hemo-, hidro- i biotičkih tretmana semena. U tom kontekstu, cilj ovog rada bio je da se procene efekti hormona, soli, regulatora rastenja i bioloških faktora na klijanje semena i ranu fazu razvića pšenice.

### Materijal i metode rada

Semena pšenice (sorta *Toplica*, žetva 2016) dobijena su iz Centra za strna žita u Kragujevcu i skladištena pod optimalnim uslovima. Na početku eksperimenta semena su površinski sterilisana 0.1% rastvorom NaClO u cilju ukljanjanja epifitske mikroflore,

a zatim su isprana destilovanom vodom. Po 30 semena je postavljeno u Petri kutije (prečnika 10 cm) i tretirano sa po 5 ml destilovane vode, hormona (IAA i GA<sub>3</sub>), rastvora soli (KNO<sub>3</sub> ili MgSO<sub>4</sub>) u koncentracijama 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-4</sup>, 10<sup>-5</sup> i 10<sup>-6</sup> M. U drugom delu eksperimenta semena pšenice su naklijavana u Petri kutijama u prisustvu semena *H. vulgare* i *A. sativa* u sledećim kombinacijama: 1) 30 semena pšenice; 2) 15 semena pšenice + 15 semena ječma; 3) 15 semena pšenice + 15 semena ovsu; 4) 10 semena pšenice + 10 semena ječma + 10 semena ovsu. Dodatno, ispitivanje klijavosti semena pšenice vršeno je i u vodenom ekstraktu koprive (*Urtica dioica L.*), u koncentracijama 5, 10, 20, 40 i 80%. Pripremljena semena iz svih tretmana inkubirana su u klima komori (fotoperiod 16/8 h, temperatura 22±1°C), tokom 7 dana.

Posle isteka ovog vremenskog perioda za semena u svim tretmanima utvrđivan je: (i) *procenat klijavosti* (GP): GP = broj prokljalih semena /ukupan broj semena x 100 (Espanany i sar., 2016)

(ii) *dužina korena i izdanka*

(iii) *vigor indeks* (VI): VI = dužina izdanka + dužina korena x GP (Kharb i sar., 1994)

### Rezultati istraživanja i diskusija

**Uticaj hormona i neorganskih jedinjenja na procenat klijavosti semena pšenice.** Klijavost semena pšenice se značajno razlikovala u zavisnosti od primjenjenog tretmana (Tab. 1).

Tabela 1. Uticaj različitih tretmana na klijavost semena pšenice  
*Table 1. Effect of different treatments on seed germination of wheat*

Tretman Treatment	Концентрација <i>Concentration</i>				Проечна вредност <i>Average</i>
	10 <sup>-3</sup> M	10 <sup>-4</sup> M	10 <sup>-5</sup> M	10 <sup>-6</sup> M	
GA <sub>3</sub>	83,33	85,55	74,44	88,88	83,05
IAA	65,55	75,55	83,33	82,22	76,66
KNO <sub>3</sub>	81,11	77,77	90	86,66	83,89
MgSO <sub>4</sub>	83,33	83,33	87,77	78,88	83,33
H <sub>2</sub> O			80,22		

Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da su najveći efekat na klijavost semena pšenice ispoljili halo i hormo tretmani (rastvori soli KNO<sub>3</sub> i MgSO<sub>4</sub> i fitohormon GA<sub>3</sub>). U ovim rastvorima procenat klijavosti je bio veći od vrednosti izmerenih u kontroli (H<sub>2</sub>O). Poznato je da soli stimulišu process klijanja različitih biljnih vrsta (Asgharipour i Rafiei, 2011; Ahmed i sar., 2017). Posebno je značajno istaći da rastvor kalijum-nitrata, osim što deluje kao so, ima i svojstvo regulatora rastenja. On utiče na prekidanje dormancije, koju semena pšenice poseduju. Magnezijum, primjenjen u obliku sulfata (MgSO<sub>4</sub>) stimuliše klijanje semena tako što utiče na ojačavanje čelijskih membrana i dovodi do sinteze aminokiselina, enzima i vitamina, što doprinosi vitalnosti embriona.

Efekat fitohormona giberelina ( $GA_3$ ) ispoljava se u kontroli sinteze enzima  $\alpha$ -amilaze, koji dovodi do hidrolize skroba u endospermu žitarica. Međutim, efekat giberelina na mobilizaciju skladištenog materijala u endospermu, verovatno nije mehanizam koji utiče na klijanje, već energija koja se oslobađa razlaganjem skroba, a koja se koristi za pojačane metaboličke procese u semenu (Ritchie i Gilroy, 1998).

#### **Uticaj hormona i neorganskih jedinjenja na izduživanje korena i izdanka.**

Dužina korena i izdanka je veoma varirala u zavisnosti od tretmana i koncentracija korišćenih jedinjenja (Tab. 2). Najveća prosečna dužina korena zabeležena je u tretmanu solima (54,75 mm u  $MgSO_4$  i 54,33 mm u  $KNO_3$ ), gde se izmerene vrednosti bile izjednačene sa vrednostima kod netretiranih semena (50,8 mm u  $H_2O$ ). Od hormonskih tretmana znatno bolji efekat je ispoljio auksin (44,45 mm u IAA) u odnosu na giberelin (27,34 u  $GA_3$ ). Auksin je biljni hormon koji podstiče rizogenezu i izduživanje ćelija korena.

Dužina izdanka je u svim tretmanima bila manja u odnosu na dužinu korena, osim u rastvoru giberelinske kiseline. Izmerena vrednost kod ovog tretmana je bila najveća u odnosu na ostale rastvorima (35,33 mm) i veća od vrednosti izmerenih u kontroli. U ostalim tretmanima dužina izdanka je bila manja nego kod netretiranih semena (32,3 mm). Semena koja imbibuju u rastvoru giberelinske kiseline, koja ima direktni uticaj na metabolizam semena, produkuju biljke sa razvijenijim izdankom i poboljšanim fotosintetičkim svojstvima.

Tabela 2. Uticaj različitih tretmana na dužinu korena i izdanka pšenice

Table 2. Effect of different treatments on wheat root and shoot length

	Dužina korena (mm) Root length (mm)				Dužina izdanka Shoot length (mm)				Vigor indeks Vigour index		
	Koncentracija (M) Concentration (M)				Prosečna vrednost Average	Koncentracija (M) Concentration (M)					
	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$		$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$		
$GA_3$	12,7	24,7	26,3	45,8	27,34	32,5	32,9	37,3	38,6	35,33	5204,74
IAA	30,9	43,5	50,4	53,0	44,45	22,7	27,4	32,7	36,8	29,9	5699,67
$KNO_3$	49,7	51,0	60,9	55,7	54,33	29,3	29,5	33,0	30,6	30,6	7082,31
$MgSO_4$	61,8	63,1	48,1	46,0	54,75	30,9	28,1	31,7	27,4	29,53	7023,05
$H_2O$	50,8					32,3				6666,28	

**Uticaj biotičkih tretmana na klijanje i rast pšenice.** U cilju nalaženja najpovoljnijeg tretmana koji bi poboljšao klijavost i rani rast pšenice, u radu je praćen i efekat drugih biljnih vrsta na klijavost semena pšenice. Rezultati uticaja prisustva semena ječma (*Hordeum vulgare L.*) i ovsu (*Avena sativa L.*) prikazani su u Tab. 3.

Stimulatorni efekat na klijanje semena pšenice ispoljilo je prisustvo semena ječma, jer su u ovom slučaju semena pšenice klijala za 4,35% više nego bez prisustva drugih semena. Inhibitorni efekat utvrđen je u prisustvu semena ovsu (redukcija je iznosila 7,6%), kao i u kombinaciji sa semenima ovsu i ječma (redukcija 3,26%). Izduživanje korena i izdanka pšenice bilo je inhibirano u svim kombinacijama.

Tabela 3. Klijanje i izduživanje korena i izdanka pšenice u prisustvu semena ječma i ovsa

Table 3. Seed germination, root and shoot length of wheat in presence of barley and oat

	Klijavost (%) Seed germination(%)	Dužina korena (mm) Root length (mm)	Dužina izdanka (mm) Shoot length (mm)	Vigor indeks Vigour index
pšenica <i>wheat</i>	92	4,86 ± 0,84	2,36 ± 0,55	664,24
pšenica + ječam <i>wheat + barley</i>	96	3,65 ± 0,58	1,66 ± 0,20	509,76
pšenica + ovas <i>wheat + oat</i>	85	3,09 ± 0,18	2,17 ± 0,59	447,10
pšenica + ječam + ovas <i>wheat + barley + oat</i>	89	3,77 ± 0,35	2,14 ± 0,27	525,99

Na osnovu dobijenih rezultata utvrđeno je da postoje alelopatski efekti između semena pšenice i semena ječma i ovsa. Žitarce oslobođaju različite alelohemikalije u spolašnju sredinu (fenole i terpenoide), koji predstavljaju sekundarne metabolite koji biljkama obezbeđuju mehanizme odbrane (Batish i sar., 2001). U žitaricama kao što su pšenica i ječam identifikovani su kumarini, alkaloidi, flavonidi i fenolne kiseline (Wu i sar., 2001). Alelopatska aktivnost ovih jedinjenja se ispoljava stimulativno ili inhibitorno na mnoge fiziološke procese drugih biljaka (Bravo i sar., 2010).

**Uticaj ekstrakta koprive na klijanje i rast pšenice.** Rezultati uticaja ekstrakta koprive različitih koncentracija na klijanje i rast pšenice prikazani su u Tab. 4.

Tabela 4. Uticaj ekstrakta koprive na klijanje i izduživanje pšenice  
Table 4. Effect of nettle extract on seed germination and elongation of wheat

Koncentracija ekstrakta <i>Extract concentration</i>	Klijavost % Seed germination (%)	Dužina korena (mm) Root length (mm)	Dužina izdanka (mm) Shoot length (mm)	Vigor indeks Vigour index
0%	80,00	13,14 ± 0,56	11,38 ± 0,53	1961,60
5%	100,00 (+20,00%)*	11,18 ± 0,28 (-14,92%)	12,71 ± 0,54 (+11,69)	2389,00
10%	86,66 (+6,66%)	10,88 ± 0,43 (-17,20%)	14,9 ± 10,36 (+31,01%)	2234,10
20%	80,00 (± 0,00)	12,04 ± 0,41 (-8,37 %)	12,64 ± 0,64 (+11,07)	1974,40
40%	83,47 (+4,34%)	10,38 ± 0,29 (-20,00%)	14,10 ± 0,45 (+23,90)	2043,35
80%	82,56 (+3,20%)	11,48 ± 0,45 (-12,63%)	17,45 ± 0,66 (+53,34)	2388,46

\*broj u zagradi predstavlja procentualno povećanje ili smanjenje u odnosu na vrednosti u kontroli

*U. dioica* je jednogodišnja biljka sa rizomom i stolonama. Pojavljuje se na ruderalnim staništima, kao i na obradivim površinama koje su bogate azotom (Taylor, 2009). Listovi koprive sadrže velike količine hlorogenske kiseline, flavonoida i antocijanina koji imaju antiradikalско, antimikroбно и antifugalno dejstvo (Pinelli i sar., 2008). Međutim, efekat ovih jedinjenja na druge više biljke je vrlo malo istražen.

Sve primenjene koncentracije ekstrakta koprive su poboljšale klijavost semena pšenice, naročito koncentracija 5%, u kojoj je klijalo 20% više semena nego u kontroli.

Dužina izdanka je, takođe, bila veća u svim koncentracijama ekstrakta koprive nego u kontroli, pri čemu je najveći stimulatorni efekat ispoljila koncentracija 80%, u kojoj je dužine bila za 53,34% veća nego u kontroli. Suprotno ovim rezultatima, sve primenjene koncentracije koprive imale su inhibitorni efekat na izduživanje korena pšenice.

**Vigor indeks.** Evaluacija vigor testa za predviđanje kvaliteta semena je važnija od standardnog testa kljanja jer se vigor testom ne utvrđuje samo vijabilnost semena, već i sposobnost semena da produkuje kvalitetne biljke pod uslovima sličnim onima koji postoje u prirodi (Arumugam i sar., 2008; Bojovic i sar., 2018). Rezultati vigor testa su predstavljeni za sve tretmane u Tab. 2, 3 i 4. Oni ukazuju da je tretman solima ( $\text{KNO}_3$  i  $\text{MgSO}_4$ ) bio najpovoljniji za klijavost semena i ranu fazu razvića pšenice.

### Zaključak

Semena pšenice koja su bila izložena dejstvu različitih neorganskih jedinjenja i biotičkih faktora ispoljila su velike razlike u procentu klijavosti i izduživanju korena i izdanka. Na osnovu vigor indeksa može se zaključiti da je najpovoljniji tretman bio onaj u kome su semena tretirana kalijumovim i magnezijumovim solima.

### Literatura

- Ahmed R., Howlader M. H. K., Shila A., Haque M. A. (2017). Effect of salinity on germination and early seedling growth of maize. *Progressive Agriculture*, 28 (1), 18-25.
- Arumugam M., Rajanna M. P., Gowda R. (2008). Seed dormancy and seedling vigor as influenced by planting time environment and date of harvest in rice (*Oryza sativa* L.). *Caspian Journal of Environmental Sciences*, 6, 1-9.
- Asgharipour M. R., Rafiei M. (2011). Effect of salinity on germination and seedling growth of lentils. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5 (11), 2002-2004.
- Ashraf M., Foolad M. R. (2005). Pre-sowing seed treatment: a shot-gun approach to improve germination growth and crop yield under saline and none-saline conditions. *Advances in Agronomy*, 88, 223-271.
- Batish D. R., Singh H. P., Kohli R. K., Kaur S. (2001). Crop allelopathy and its role in ecological agriculture. In: *Allelopathy in Agroecosystems*, Kohli R. K., Harminder P. S., Batish D. R. (ed.), 121-126, New York, USA: Food Product Press.
- Bojović B., Jakovljević D., Ćurcić S., Stanković M. (2018). Phytotoxic potential of common nettle (*Urtica dioica* L.) on germination and early growth of cereals and vegetables. *Allelopathy Journal*, 43 (2), 175-186.
- Bravo H. R., Iglesias M. J., Copaja S. V., Argandona V. H. (2010). Phytotoxicity of indole alkaloids from cereals. *Revista Latinoamericana de Química*, 38, 123-129.
- Espananay A., Fallah S., Tadayyon A. (2016). Seed priming improves and germination and reduces oxidative stress in black cumin (*Nigella sativa*) in presence of cadmium. *Industrial Crops and Products*, 79, 195-204.

- Kharb R. P. S., Lather B. P. S., Deswal D.P. (1994). Prediction of field emergence through heritability and genetic advance of vigour parameters. *Seed Science and Technology*, 22, 461-466.
- Lutts S., Benincasa P., Wojtyla L., Kubala S., Pace R., Lechowska K., Quinet M., Garnczarska M. (2016). Seed Priming: New Comprehensive Approaches for an Old Empirical Technique, Open access peer-reviewed chapter, DOI: 10.5772/64420.
- Mamun A. A., Naher U. A., Ali M.Y. (2018). Effect of seed priming on seed germination and seedling growth of modern rice (*Oryza sativa* L.) varieties. *The Agriculturists*, 16, 34-43.
- Pallaoro D. S., Camili E. C., Guimaraes S. C., Albuquerque M. C. (2016). Methods for priming maize seeds. *Journal of Seed Science*, 38 (2) <http://dx.doi.org/10.1590/2317-1545v38n2161132>.
- Pinelli P., Ieri F., Vignolini P., Bacci L., Baronti S., Romani A. (2008). Extraction and HPLC analysis of phenolic compounds in leaves, stalks and textile fibers of *Urtica dioica* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 9127-9132.
- Ritchie S., Gilroy S. (1998). Gibberellins: regulating genes and germination. *New Phytologist*, 140, 363-383
- Taylor K. (2009). Biological Flora of the British Isles: *Urtica dioica* L. *Journal of Ecology*, 97, 1436–1458.
- Wu B. H., Pratley J., Lemerle D., Haig T. (2001). Allelopathy in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Annals of Applied Biology*, 139, 1-9.

## EVALUATION OF SELECTED METHODS FOR IMPROVEMENT OF GERMINATION AND EARLY GROWTH OF *Triticum aestivum* L.

Biljana Bojović, Dragana Jakovljević, Milan Stanković

### Abstract

This paper assesses the effect of four methods in order to improving seed germination and early development of wheat (*Triticum aestivum* L.). Wheat seeds were treated with phytohormones (IAA and GA<sub>3</sub>), salts (MgSO<sub>4</sub> or KNO<sub>3</sub>) and nettle extract (*Urtica dioica* L.). The allelopathic effect of seeds of barley (*Hordeum vulgare* L.) and oat (*Avena sativa* L.) on the germination and growth of wheat were also tested. The obtained results indicate that for the viability and ability of wheat seeds to produce quality plants, the treatment with potassium and magnesium salts is most favorable.

**Keywords:** hormones, salt, nettle extract, vigor index

---

University of Kragujevac, Faculty of Science, Radoja Domanovica 12, Kragujevac, Serbia  
[\(biljanab@kg.ac.rs\)](mailto:biljanab@kg.ac.rs)

## BIOTEHNOLOŠKI POTENCIJAL ODABRANIH SORTI BOSILJKA (*Ocimum* spp. – LAMIACEAE)

Dragana Jakovljević, Biljana Bojović, Milan Stanković, Marina Topuzović

**Izvod:** Bosiljak (*Ocimum basilicum* L.) jedna je od najčešće kultivisanih biljnih vrsta, pre svega zbog značajne primene u farmaceutskoj i prehrambenoj industriji. Poslednjih godina dobijeni su podaci koji ukazuju na značajnu količinu biološki aktivnih jedinjenja bosiljka, međutim, kvantitativno-kvalitativne karakteristike, kao i sveobuhvatni biotehnoški potencijal bosiljka variraju, pre svega u zavisnosti od ispitivane sorte. U radu je dat prikaz najzastupljenijih i komercijano najdostupnijih sorti bosiljka u Srbiji (sitnolisni, Genovese, ljubičasti i limunski bosiljak), kao i njihov tehnološki potencijal i potencijal u produkciji ekonomski značajnih i biološki aktivnih jedinjenja.

**Ključne reči:** sitnolisni bosiljak, Genovese, ljubičasti bosiljak, limunski bosiljak, bt

### Uvod

Rod *Ocimum* L. (bosiljak) je jedan od najeksploatisanijih rodova familije usnatica (Lamiaceae). Osnovne karakteristike svih predstavnika ove familije jesu četvorougaono stablo, naspramno postavljeni listovi sa dosta žlezdanih dlaka i izrazito zigomorfni cvetovi. Danas je u okviru roda *Ocimum* svrstano oko 150 jednogodišnjih i višegodišnjih vrsta zeljastih biljaka, redje žbunja, autohtonih u tropskim i suptropskim delovima Azije, Afrike i centralnim delovima Južne Amerike (Labra i sar., 2004).

Kultivacija terapeutski važnih predstavnika roda *Ocimum* globalno je intenzivirana, pre svega zbog značaja u farmaceutskim i prehrambenim granama tehnologije, ali i zbog širokog opsega prilagodljivosti različitim tipovima zemljišta i klimatski uslovima. Bosiljak se u svetu gaji na površinama od oko 5 000 ha, a u Srbiji na površinama od oko 100 ha. Nadzemni deo biljke u cvetu i etarska ulja koriste se u lekovite svrhe, kao začin i konzervans hrane, kao sirovina u prehrambenoj, farmaceutskoj i parfimerijskoj industriji, a herba se koristi i u tradicionalnoj i u homeopatskoj medicini kao karminativ, spazmolitik, sedativ, laktagog i tonik. Takođe ima široku upotrebu u kulinarstvu (kao svež i suvi začin) i poboljšava ukus, miris, izgled, iskoristljivost i svarljivost hrane (Stepanović i sar., 2002; Beatović 2013.). Međutim, dugogodišnja tradicionalna upotreba predstavnika ovog taksona, zajedno sa širokom distribucijom, selekcijom i ukrštanjem, znato je uticala na povećanje stepena varijabilnosti među korišćenim sortama. Tradicionalno, uzgajivači sorte bosiljka razlikuju na osnovu veličine i boje listova (od zelene do tamno ljubičaste) i boje cveta (bela, crvena, ljubičasta), ali i ostalih karakteristika koje uključuju oblik i visinu izdanaka, period cvetanja, aromu... (Carović-Stanko i sar., 2010). Ipak, svi ovi kriterijumi koji imaju višedecenjsku upotrebu u taksonomskoj klasifikaciji predstavnika roda *Ocimum* zbog intenzivne kultivacije,

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno-matematički fakultet, Institut za biologiju i ekologiju, Radoja Domanovića 12, 34 000 Kragujevac, Republika Srbija ([draganj@kg.ac.rs](mailto:draganj@kg.ac.rs)).

poliploidije i intraspecijske hibridizacije pokazuju visok stepen morfogenetskih varijacija (Patel i sar., 2016).

Imajući u vidu nedostatke koje nepotpuna klasifikacija može prouzrokovati u daljim procesima kultivacije odgovarajućih sorti bosiljka, a sa ciljem iskoriščavanja celokupnog biološkog i tehnološkog potencijala ovog taksona, neophodne su sveobuhvatne studije zasnovane na različitim pristupima, uključujući geografsko poreklo, morfologiju, kariotip i hemijski sastav. U radu je dat prikaz komercijalno najdostupnijih i najeksploatisanijih sorti bosiljka u Srbiji sa osvrtom na njihov tehnološki potencijal, kao i potencijal u produkciji ekonomski značajnih i biološki aktivnih jedinjenja.

### Sitnolisni bosiljak

Sitnolisni tip bosiljka (*Ocimum basilicum* L. var. *minimum* L.) je morfološki među najnjižim formama bosiljka i dostiže visinu do 40 cm. Na kompaktnom, niskom žbunu se razvijaju sitni, zeleni listovi lancetastog oblika, slabo sjajni i delimično nazubljeni, na poprečnom preseku sa karakterističnim „V“ oblikom. Cvetovi su sa belim kruničnim i zelenim čašičnim listićima. Prinos sveže herbe je od 250 do 300 grama po biljci. Prinos suve herbe je od 30 do 60 grama po biljci, a etarska ulja su zastupljena i do 1%. U etarskim uljima u najvećem procentu su zastupljeni monoterpeni i seskviterpeni. Hemotipski posmatrano sitnolisni bosiljak pripada linalol hemotipu bosiljka (Telci i sar., 2009; Beatović 2013; Jakovljević 2018). Listovi ove sorte bosiljka koriste se kao digestivni stimulatori sa karminativnim, antipiretičkim, diuretičkim i antireumatskim aktivnostima. Listovi, ali i čitava biljka, značajni su i kao izvori fenolnih jedinjenja, uključujući flavonoide i flavone sa visokom antimikrobnom, antiulcernom i antioksidativnom aktivnošću (Grayer i sar., 2004; De Sousa i sar., 2005; Telci i sar., 2009; Jakovljević i sar., 2017).

### Krupnolisni bosiljak

*Ocimum basilicum* L. var. *basilicum* L. je, kako u Srbiji tako i širom sveta, najzastupljenija forma bosiljak. Ovaj varijetet uključuje dve sorte – sortu „Genovese“ i sortu „Sweet Basil“ (tzv. slatki bosiljak). *Ocimum basilicum* L. var. *basilicum* L. cv. Genovese dostiže visinu do 80 cm. Veći broj grana formira uspravan žbun na čijim se izdancima formiraju široki, zeleni i okrugli listovi. Listovi su srednjeg sjaja i nazubljenosti i na poprečnom preseku ispupčeni. Zigomorfni cvetovi sa belom kruničnim listićima i čašičnim listićima bez trihoma su organizovani u cvasti (Beatović 2013) Krupnolisni tip bosiljka se karakteriše produkcijom i do 300 grama sveže i do 50 grama suve herbe u kojoj je etarsko ulje zastupljeno sa oko 0.95%. Dominantna komponenta etarskog ulja je linalol (i do 50%), pa se hemotaksonomski ova sorta bosiljka svrstava u linalol hemotip. Rezultati prethodnih istraživanja pokazali su da krupnolisni bosiljak sorte Genovese poseduje značajnu antimikrobnu i antioksidativnu aktivnost, ali i antikancerogeno, antiproliferativno, proapoptočko i citotoksično dejstvo, uz značajne koncentracije polifenolnih komponenti (Carović-Stanko i sar., 2010; Nguyen i sar., 2010; Imen i sar., 2012; Beatović i sar., 2013; Jakovljević 2018).

### Ljubičasti bosiljak

*Ocimum basilicum* L. var. *purpurascens* Benth. je varijetet bosiljka koji se najčešće označava kao ljubičasti bosiljak. U Srbiji najčešće upotrebljavana sorta ovog varijeteta bosiljka jeste „Dark Opal“. *Ocimum basilicum* L. var. *purpurascens* Benth. cv. Dark Opal dostiže visinu do 60 cm, pri čemu intermedijarni žbun tamnoljubičaste boje formiraju stabljike prekrivene trihomima. Tamnoljubičasti, umereno široki listovi su jajastog oblika, sjajni, nazubljeni i na poprečnom preseku udubljeni. Cvetovi su zigomorfni, sa svetloružičastim čašičnim i tamnoljubičastim kruničnim listićima. Često se uzgaja u dekorativne svrhe. Ljubičasta boja ovog bosiljka je posledica prisustva antocijanina, pri čemu upravo ljubičasta boja izdanaka znatno povećava upotrebnu vrednost ove sorte bosiljka. Međutim, jedan od osnovnih problema prilikom kultivacije jeste nestabilnost varijeteta *purpurascens* u količini antocijanina, jer vegetativno propagirani izdanci mogu izgubiti ljubičastu boju. Depigmentacija je kod sorte Dark Opal praćena uniformnim gubitkom antocijanina kroz čitav izdanak (Phippen i Simon, 2000; Jakovljević 2018). Prinos sveže herbe je do 190 grama po biljci, a suve do 30 grama po biljci, a u herbi je zastupljeno do 0.95% etarskog ulja. Monoterpeni i seskviterpeni su najzastupljeniji u herbi, a hemotaksonomski sorta Dark Opal pripada linalol tipu bosiljka. Pored antocijanina, čitava biljka je bogata i mnogobrojnim biološki aktivnim fenolnim komponentama i pokazuje antioksidativnu, antiproliferativnu, citotoksičnu, antikancerogenu i proapoptotsku aktivnost (Nguyen i Niemeyer, 2008; Flanigan i Niemeyer, 2014; Elensary i Mahmoud, 2015; Jakovljević 2018).

### Limunski bosiljak

Limunski bosiljak (*Ocimum x citriodorum* Vis., sinonimi *Ocimum africanum*, *Ocimum x americanum*) se smatra prirodnim hibridom između vrsta *Ocimum basilicum* i *Ocimum americanum* (Vieira i sar., 2003). Ova karakteristična forma bosiljka sa aromom nalik limunu dostiže visinu do 50 cm. Na žbunastim izdancima formiraju se svetlo zeleni listovi srednje nazubljenosti, lancetasti, srednje sjajni i na poprečnom preseku sa „V“ oblikom. Cvasti se formiraju od beličasto-rozih cvetova i čitava biljka, izuzev cvasti, je prekrivena trihomima. Prinos sveže herbe je do 150 grama po biljci, a suve do 30 grama po biljci. Etarska ulja su zastupljena sa oko 0.90%. U etarskim uljima procentualno je najzastupljeniji monoterpen citral. Hemotaksonomski klasifikovano, ova sorta bosiljka pripada citralnom, tj. geranal/neral hemotipu bosiljka (Grayer, 1996; Beatović 2013). Osim značajnog procenta esencijalnih ulja, limunski bosiljak sadrži sekundarne metabolite iz grupe fenolnih jedinjenja, pri čemu pokazuje i značajan nivo antifugalne, bioherbicidne, antioksidativne i insekticidalne aktivnosti (Dudai i sar., 1999; Grayer i sar., 2004; Carović-Stanko i sar. 2010; Tang i sar., 2013; Zabka i sar., 2014; Jakovljević 2018).

Navedene sorte bosiljka karakteriše i visoka koncentracija fenolnih kiselina, pre svega ruzmarinska i kofeinska, pri čemu visoke koncentracije ovih fenolnih kiselina značajno doprinose antioksidativnim karakteristikama (Jakovljević 2018.). Međutim, ranijim istraživanjima potvrđeno je da kvantitativni i kvalitativni sastav sekundarnih metabolita, kao i njihova aktivnost kod predstavnika roda *Ocimum* varira, kako u

zavisnosti od ispitivane sorte bosiljka, tako i od porekla uzorka, količine dostupnih nutrijenata i intenziteta zračenja. Osim fenolnih jedinjenja iz klase fenolnih kiselina, prisutni su i sekundarni metaboliti iz klase flavonoida, pri čemu su kod sorti ljubičastog bosiljka flavonoidi iz grupe antocijanina zastupljeni u visokim koncentracijama (Javanmardi i sar., 2002; Nguyen i Niemeyer, 2008; Nguyen i sar., 2010; Scagel i Lee, 2012; Kiferle i sar., 2013; Flanigan i Niemeyer, 2014; Jakovljević 2018).

### **Zaključak**

Među komercijalno najdostupnijim i najčešće kultivisanim sortama bosiljka izdvajaju se sitnolisni, krupnolisni, ljubičasti i limunski bosiljak. Navedene sorte bosiljka se, pored nutritivnih i tradicionalnih upotrebnih vrednosti, karakterišu i značajnom količinom etarskih ulja. Takođe su i značajan izvor sekundarnih metabolita iz grupe fenolnih jedinjenja sa širokom biološkom aktivnošću. Imajući u vidu stepen variranja kvantitativno-kvalitativnih karakteristika u zavisnosti od uslova kultivacije, a u cilju postizanja maksimalne eksploracije, neophodno je jasno definisanje porekla uzoraka, uslova kultivacije i dalje obrade selektovanog biljnog materijala poreklom od ovih sorti bosiljka.

### **Napomena**

Istraživanja u ovom radu deo su projekta III41010 koji finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

### **Literatura**

- Beatović D.V. 2013. Evaluacija genotipova bosiljka (*Ocimum* spp.) gajenih u Srbiji. Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet.
- Carović-Stanko K., Liber Z., Besendorfer V., Javornik B., Bohanec B., Kolak I., Satovic Z. 2010. Genetic relations among basil taxa (*Ocimum* L.) based on molecular markers, nuclear DNA content, and chromosome number. Plant Systematics and Evolution. 285(1-2): 13-22.
- de Sousa M.B., Melo O.F., De Castro C.M., Ximenes E.A., da Silva N.H., da Silva M. 2005. Evaluation of the gastric antiulcer, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil from *Ocimum minimum* Linn. Acta Farmacéutica Bonaerense. 24(3): 331-336.
- Dudai N., Poljakoff-Mayber A., Mayer A.M., Putievsky E., Lerner H.R. 1999. Essential oils as allelochemicals and their potential use as bioherbicides. Journal of Chemical Ecology. 25(5): 1079-1089.
- Elansary H.O., Mahmoud E.A. 2015. In vitro antioxidant and antiproliferative activities of six international basil cultivars. Natural Product Research. 29(22): 2149-2154.
- Flanigan P.M., Niemeyer E.D. 2014. Effect of cultivar on phenolic levels, anthocyanin composition, and antioxidant properties in purple basil (*Ocimum basilicum* L.). Food Chemistry. 164: 518-526.

- Grayer R.J., Kite G.C., Goldstone J., Bryan S.E., Paton A., Putievsky E. 1996. Intraspecific taxonomy and essential oil chemotypes in sweet basil *Ocimum basilicum*. *Phytochemistry*. 43(5): 1033-1039.
- Grayer R.J., Vieira R.F., Price A.M., Kite G.C., Simon J.E., Paton A.J. 2004. Characterization of cultivars within species of *Ocimum* by exudate flavonoid profiles. *Biochemical Systematics and Ecology*. 32(10): 901-913.
- Imen T., Cristina S., Riccardo I., Flavia N.I., Zeineb O. 2012. Phenolic acids and total antioxidant activity in *Ocimum basilicum* L. grown under Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> medium. *Journal of Medicinal Plants Research*. 6(48): 5868-5875.
- Jakovljević D. 2018. Intraspecijska varijabilnost primarnog i sekundarnog metabolizma nutritivno depriviranih klijanaca vrste *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae). Doktorska disertacija, Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno-matematički fakultet.
- Jakovljević D., Stanković M., Bojović B., Topuzović M. 2017. Regulation of early growth and antioxidant defense mechanism of sweet basil seedlings in response to nutrition. *Acta Physiologiae Plantarum*, 39 (11): 243.
- Javanmardi J., Khalighi A., Kashi A., Bais H.P., Vivanco J.M. 2002. Chemical characterization of basil (*Ocimum basilicum* L.) found in local accessions and used in traditional medicines in Iran. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50(21): 5878-5883.
- Kiferle C., Maggini R., Pardossi A. 2013. Influence of nitrogen nutrition on growth and accumulation of rosmarinic acid in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) grown in hydroponic culture. *Australian Journal of Crop Science*. 7: 321-327.
- Labra M., Miele M., Ledda B., Grassi F., Mazzei M., Sala F. 2004. Morphological characterization, essential oil composition and DNA genotyping of *Ocimum basilicum* L. cultivars. *Plant Science*. 167(4): 725-731.
- Nguyen P.M., Kwee E.M., Niemeyer E.D. 2010. Potassium rate alters the antioxidant capacity and phenolic concentration of basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. *Food Chemistry*. 123(4): 1235-1241.
- Nguyen P.M., Niemeyer E.D. 2008. Effects of nitrogen fertilization on the phenolic composition and antioxidant properties of basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56(18): 8685-8691.
- Patel R.P., Singh R., Rao B.R., Singh R.R., Srivastava A., Lal R.K. 2016. Differential response of genotype × environment on phenology, essential oil yield and quality of natural aroma chemicals of five *Ocimum* species. *Industrial Crops and Products*. 87: 210-217.
- Phippen W.B., Simon J.E. 2000. Anthocyanin inheritance and instability in purple basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Heredity*. 91(4): 289-296.
- Scagel C. F., Lee J. 2012. Phenolic composition of basil plants is differentially altered by plant nutrient status and inoculation with mycorrhizal fungi. *HortScience*. 47(5): 660-671.
- Stepanović B., Radanović D., Kišgeci, J. (2002). Kultivacija lekovitog i aromatičnog bilja u Srbiji. XXV savetovanje o lekovitim i aromatičnim biljkama, Bajina Bašta: Zbornik radova 62-63.

- Tang G.B., Song B.Z., Zhao L.L., Sang X.S., Wan H.H., Zhang J., Yao Y.C. 2013. Repellent and attractive effects of herbs on insects in pear orchards intercropped with aromatic plants. *Agroforestry Systems*. 87(2): 273-285.
- Telci I., Elmastas M., Sahin A. 2009. Chemical composition and antioxidant activity of *Ocimum minimum* essential oils. *Chemistry of Natural Compounds*. 45(4): 568.
- Vieira R.F., Goldsborough P., Simon J.E. 2003. Genetic diversity of basil (*Ocimum* spp.) based on RAPD markers. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 128(1): 94-99.
- Zabka M., Pavela R., Prokina E. 2014. Antifungal activity and chemical composition of twenty essential oils against significant indoor and outdoor toxigenic and aeroallergenic fungi. *Chemosphere*. 112: 443-448.

## BIOTECHNOLOGICAL POTENTIAL OF SELECTED BASIL CULTIVARS (*Ocimum* spp. – LAMIACEAE)

Dragana Jakovljević, Biljana Bojović, Milan Stanković, Marina Topuzović

### Abstract

Basil (*Ocimum basilicum* L.) represents one of the most common cultivated plants, mostly due to significant applications in pharmaceutical and food industries. The investigations from recent years demonstrated significant content of biologically active compounds obtained from basil plants, however, quantitative and qualitative characteristics, as well as the comprehensive biotechnological potential of the basil, vary primarily depending on the investigated cultivars. Here we discuss commercially and economically most represented basil cultivars from Serbia (small-leaved, Genovese, purple-leaved and lemon basil), as well as their biotechnological potential and potential in the production of significant bioactive compounds.

**Key words:** small-leaved basil, Genovese, purple-leaved basil, lemon basil

---

<sup>1</sup>University of Kragujevac, Faculty of Science, Department of Biology and Ecology, Radoja Domanovića No 12, 34 000 Kragujevac, Republic of Serbia ([draganaj@kg.ac.rs](mailto:draganaj@kg.ac.rs))

## MOGUĆNOST PRIMENE HERBE *HYSSOPUS OFFICINALIS* U PROIZVODNJI RAKIJE

Dragana Stanisavljević<sup>1</sup>, Tanja Žugić Petrović<sup>1</sup>, Violeta Mickovski Stefanović<sup>2</sup>, Ivana Mošić<sup>3</sup>, Dragan Veličković<sup>1</sup>, Dejan Davidović<sup>1</sup>, Saša Petrović<sup>1</sup>

**Izvod:** *Hyssopus officinalis* L. zauzima izuzetno mesto u narodnoj medicini kao lek. Ekstrakt i etarsko ulje biljke *H. officinalis* je sastavni deo nekih biljnih likera i rakija. Cilj rada je priprema rakije upotrebom herbe *H. officinalis*. Sastav isparljive frakcije etarskog ulja *H. officinalis* ispitana je GC-FID/GC-MS tehnikom. Proučavanja su obuhvatila i fizičko-hemijsku i senzornu analizu pripremljene rakije. Broj registrovanih i identifikovanih komponenata u etarskom ulju je 27. Odlikuje se visokim sadržajem monoterpena od kojih su najzastupljeniji 1,8-cineol (37,63%), *cis*-pinokamfon (28,81%). Uzimajući u obzir ispitivane parametre kvaliteta, pokazano je da je primena lekovitog i aromatičnog bilja moguća u proizvodnji rakije i definiše njen kvalitet.

**Ključne reči:** *Hyssopus officinalis*, rakija, etarsko ulje, lekovito i aromatično bilje, kvalitet

### Uvod

Biljke roda *Hyssopus* L. su višegodišnje, zeljaste, žbunastog izgleda (Diklić, 1974). Kao lekoviti deo koriste se izdanci sa listovima ili cvetovima (*Hyssopi herba* ili *H. summitas*) i etarsko ulje (*H. aetheroleum*). *H. officinalis* L. bere se preko leta kada biljka cveta. U Srbiji autohtono najviše uspeva u jugoistočnim predelima, a kao značajno nalazište pominju se planine jugoistočne Srbije. Takođe uspeva i na krečnjacima Karpatско-Balkanskog sistema (Tupižnica (vrh)), Tresibaba (Golemi kamen), Stara planina (oko Pirota), Svrliške planine. *H. officinalis* (izop) zauzima izuzetno mesto u narodnoj medicini i kao lek pominje se još od davnina. Koristi se u obliku čajeva, uljanih preparata ili u smeši sa drugim lekovitim biljkama (Tucakov, 1990). Izop je poznat kao ekspektorans, stomahik, antidiјaforetic, sedativ, karminativ, antiseptik. Sveži ili osušeni, sitno naseckani listovi, upotrebljavaju se kao začin, za salate, umake, supe, za jela od ribe i mesa. Med od izopa je prijatan i aromatičan. I pored ovoga, primena izopa je još uvek neznatna u medicinskoj praksi, pa zato njegovo izučavanje ima za cilj bolji uvid u njegov sastav i predstavlja doprinos razvoju domaćoj farmaceutskoj i prehrambenoj industriji. Sastojeći herbe *H. officinalis* su etarsko ulje, flavonoidi, tanini. U etarskom ulju izopa ima raznih terpena (pinen, kamfen, cineol i dr.). Među prvim podacima koji govore o količini i sastavu etarskog ulja izopa su oni koje navode Nikolova i Manolov (1990). Ispitivali su količinu etarskog ulja u raznim biljnim organima *H. officinalis* (cvetu, listu, nadzemnom delu u fazi cvetanja i stabljici).

<sup>1</sup>Visoka poljoprivredno-prehrambena škola strukovnih studija, Ćirila i Metodija 1, 18400 Prokuplje, (dragananstanisavljevic72@gmail.com);

<sup>2</sup>Institut Tamiš Pančevo u Pančevu, Novoseljanski put 33, 26000 Pančevo, Srbija;

<sup>3</sup>Aromatika DOO, Jadranska 12, 18000 Niš, Srbija.

Ustanovili su da je najveća količina etarskog ulja u cvetu (0,9%), zatim u listu (0,66%), nadzemnom delu u fazi cvetanja (0,51%), a najmanje ulja je sadržano u stabljici (svega 0,03%). Uočeno je da postoji razlika u količini zastupljenosti pojedinih komponenata u zavisnosti od fenotipa kao i od primenjene metode izolacije. Ispitivanjem ekstrakcije izopa primenom postupka destilacije pomoću vodene pare i ekstrakcije maceracijom različitim rastvaračima (voda, etanol, n-butanol, etilacetat) najbolja selektivnost ekstrakcije fenola dobijena je korišćenjem 96% etanola (Lepojević i sar., 2008). Prema članu 4 Zakona o jakim alkoholnim pićima „Sl.glasnik RS“ br. 92/2015, jaka alkoholna pića se proizvode i maceracijom ili sličnom obradom biljnog materijala u etanolu, destilatu poljoprivrednog porekla i/ili jakom alkoholnom piću. Cilj rada je priprema rakije upotrebom herbe *H. officinalis*. Za proizvodnju rakija od voća u Srbiji se najčešće koriste rakijске sorte šljive kao i sorte šljive kombinovanih svojstava. Sorte sa kombinovanim svojstvima su veoma zastupljene i tu spadaju Čačanska rodna, Stenlej, Čačanska lepotica i Valjevka. Najveći deo roda šljive u našoj zemlji, preko 90%, iskoristi se za proizvodnju rakija šljivovice i šljivove prepečenice, koja je naše nacionalno alkoholno piće. Kvalitet sirovine i način prerade (tehnološki proces proizvodnje) presudno utiču na kvalitet i hemijski sastav proizvedenih destilata (Popović i sar., 2008).

### Materijal i metode rada

**Biljni materijal:** Biljni materijal *H. officinalis* L. (izop), predstavljaju nadzemni delovi biljne vrste koja je sakupljena u fenološkoj fazi cvetanja na lokaciji Golemi kamen (opština Knjaževac). Priključeni biljni materijal je sušen prirodnim putem u hladu. Etarska ulja su izolovana hidrodestilacijom u aparaturi po Klevendžeru po postupku Ph. Eur. GC-FID analiza etarskog ulja urađena je na gasnom hromatografu Hewlett Packard, model 5890 II, GC-MS analiza etarskih ulja izvršena je na masenom spektrometu Hewlett Packard, GCD serije II, model HP G1800C. Sadržaj komponenata u procentima dobiten je metodom normalizacije GC-hromatograma, odbacivanjem površine pika rastvarača. Komponente su identifikovane poređenjem njihovih masenih spektara sa spektrima baza Wiley 275, NIST 05 i Adams 2007, upotrebom pretraživača PBM, NIST 2.0, kao i kalibriranim AMDIS (ver. 2.64) programom za determinaciju i poređenje retencionalnih indeksa (Adams, 2007).

**Priprema proizvoda:** Osnova za proizvodnju navedenog pića je rakija dobijena od šljive sorte Stenlej u čiji je destilat prve destilacije dodata suva herba izopa i potom izvršena druga destilacija. Priprema proizvoda vršena je u dve faze: I - priprema rakije jacine 30 v/v i II - dodavanje biljnog materijala *H. officinalis* pre početka ponovne destilacije u količini od 0,5 kg na 100 L destilata. Rakija je čuvana u staklenim balonima do momenta analiziranja.

Proučavanja su obuhvatila fizičko-hemijsku i senzornu analizu jakog alkoholnog pića aromatizovanog herbom *H. officinalis*. Fizičko-hemijska analiza rakije je obavljena u akreditovanoj laboratoriji Visoke poljoprivredno-prehrambene škole strukovnih studija u Prokuplju. Utvrđeni su sledeći pokazatelji: koncentracija etanola, sadržaj ekstrakta, sadržaj ukupnih kiselina, sadržaj estara, sadržaj metanola, sadržaj viših alkohola, sadržaj ukupnih aldehida, sadržaj furfurala, sadržaj benzaldehida, kao i sadržaj

isparljivih sastojaka. Kod ove rakiye obavljena je kvantitativna hemijska analiza standardnim laboratorijskim metodama koje su predviđene Pravilnikom o metodama uzimanja uzoraka i vršenja hemijskih i fizičkih analiza alkoholnih pića («Sl.list SFRJ» broj 70/87). Uzorak je organoleptički testiran na osnovu čega je i utvrđen njegov krajnji kvalitet. Ocjenjivanje je vršeno po metodi od 20 pozitivnih bodova i vrednosti su upisivane u Ocenjivački list za alkoholna pića.

### Rezultati istraživanja i diskusija

Rezultati GC-MS analize analize etarskog ulja herbe *H. officinalis* su dati u tabeli 1.

Tabela 1. Hemijski sastav etarskog ulja herbe *H. officinalis*  
 Table 1. Chemical content of essential oil of herb *H. officinalis*

Redni broj	Komponente	KIE etarsko ulje	KIL	Etarsko ulje (%)
1	$\alpha$ -pinen <sup>m</sup>	931,1	932	0,48
2	sabinen <sup>m</sup>	971,3	969	1,45
3	$\beta$ -pinen <sup>m</sup>	973,5	974	6,19
4	mircen <sup>m</sup>	991,3	988	0,94
5	1,8-cineol <sup>m</sup>	1029,8	1026	37,63
6	cis- $\beta$ -ocimen <sup>m</sup>	1037,8	1032	6,38
7	trans- $\beta$ -ocimen <sup>m</sup>	1048,1	1044	0,57
8	$\gamma$ -terpinen <sup>m</sup>	1057,6	1060	0,15
9	cis-sabinen hidrat <sup>m</sup>	1068,0	1065	0,29
10	p-menta-2,4(8)-dien <sup>m</sup>	1087,1	1088	0,20
11	trans-sabinen hidrat <sup>m</sup>	1102,0	1098	0,50
12	cis-tujon <sup>m</sup>	1105,7	1102	0,09
13	trans-pinokarveol <sup>m</sup>	1138,0	1139	0,29
14	kamfor <sup>m</sup>	1161,1	1146	2,58
15	trans-pinokamfon <sup>m</sup>	1159,0	1158	0,82
16	$\delta$ -terpineol <sup>m</sup>	1167,8	1166	0,39
17	cis-pinokamfon <sup>m</sup>	1173,0	1172	28,81
18	$\alpha$ -terpineol <sup>m</sup>	1191,5	1186	0,93
19	mirtenol <sup>m</sup>	1197,1	1194	0,55
20	mirtenil acetat <sup>m</sup>	1326,2	1327	0,16
21	$\beta$ -burbonen <sup>s</sup>	1382,7	1387	0,61
22	trans-kariofilen <sup>s</sup>	1417,0	1417	1,86
23	a-humulen <sup>s</sup>	1451,4	1452	0,37
24	$\gamma$ -murolen <sup>s</sup>	1479,3	1478	4,14
25	biciklogermakren <sup>s</sup>	1494,6	1500	2,97
26	spatulenol <sup>s</sup>	1576,0	1577	0,32
27	kariofilen oksid <sup>s</sup>	1583,2	1582	0,32

KIE - Kovats-ev (retencioni) indeks eksperimentalno određen (AMDIS);

KIL - Kovats-ev (retencioni) indeks - literarni podatak (Adams, 2007);

m - monoterpeni, s - seskviterpeni

Sadržaj etarskog ulja u herbi izopa je bio 8 mL/kg. Prema literaturnim podacima herba izopa sadrži do 1% etarskog ulja (Sarić, 1989; Tucakov, 1990). U etarskom ulju je registrovano i identifikovano 27 komponenata. Monoterpeni dominiraju, 1,8-cineol (37,63%), *cis*-pinokamfon (28,81%). Udeo seskviterpena je manji u odnosu na monoterpene. Rezultati drugih istraživača ukazuju na razlike u kvalitativnom i kvantitativnom sastavu terpenoidnih jedinjenja, što je najverovatnije posledica značajnog uticaja ekoloških faktora. Dve najzastupljenije komponente su izopinokamfon (44,7%) i pinokamfon (14,1%), a ispitivano ulje karakterisao je visok deo monoterpena i nizak deo seskviterpena (Mitić, 2001). U etarskom ulju izopa gajenog u Španiji (Fathiazad i Hamedeyazdan, 2011) identifikovan je veliki sadržaj 1,8-cineola (52,89%), koji je i u slučaju našeg ispitivanog ulja najdominantnija komponenta.

Rezultati analize rakije aromatizovane herbom *H. officinalis* prikazani su u Tabeli 2.

Tabela 2. Rezultati analize uzorka rakije  
Table 2. Results of the analysis of the brandy sample

Parametri ispitivanja	Jed. mere	Dobijene vrednosti	Propisane vrednosti
Etanol	v/v	54,64	min. 37,5
Ukupni ekstrakt	g/l	0,15	
Ukupne kiseline	mg/l a.a	1485,5	
Estri	mg/l a.a	3359,6	
Metanol	mg/l a.a	6268,6	max. 12000
Viši alkoholi	mg/l a.a	1980,0	
Furfural	mg/l a.a	12,0	
Aldehidi	mg/l a.a	112,2	
Benzaldehid	mg/l a.a	70,6	
Isparljivi sastojci	mg/l a.a	5463,8	min. 2000

Na osnovu hemijske analize i organoleptičkih osobina ispitivani uzorak, odgovara Zakonu o jakim alkoholnim pićima „Sl.glasnik RS“ br.92/2015. Sadržaj alkohola kao što se vidi iz tabele 2 kod rakije od šljive u koju je inkorporirana biljna vrsta *H. officinalis* izražen u %v/v je 54,64. Sadržaj estara (3359,6 mg/l a.a.) govori o lepo izraženoj aromi ispitivane rakije. Sadržaj metanola (6268,6 mg/l a.a.) kao parametra kvaliteta se kretao u dozvoljenim granicama. Sadržaj isparljivih sastojaka (estri, viši alkoholi, furfural, aldehidi) iznosio je 5463,8 mg/l a.a. Svako piće ima svoj miris, aromu i buke. Aroma je miris plus ukus. Rakija aromatizovana herbom izopa je bistra, bezbojna, koja na mirisu daje svu raskoš biljnog materijala i voća ukomponovanih u jedinstven i neponovljiv miris. Punoća i harmonija ukusa ovog pića pružaju potpuno uživanje pre jela. Osvojio je 18,00 poena što je 90,00% od maksimalno mogućeg kvaliteta.

## Zaključak

Eatarsko ulje ispitivane vrste *H. officinalis* je izvor mono- i seskviterpena. Pored geografskog porekla, na terpenoidni profil utiče i doba godine, faza vegetacije, sastav zemljišta, broj sunčanih sati tokom godine, kao i sama tehnika dobijanja izolata. Sastav izolata je značajan u kontekstu njihove primene u medicinske svrhe, u industriji gde se koriste kao sirovina, ali i u kulinarstvu zbog toga što kvalitet proizvoda u mnogome zavisi od hemijskog sastava izolata. Terpenoidni profil može biti od važnosti za standardnu proizvodnju sokova i pića, npr. vermuta kod koga je bitno da hemijski sastav biljaka koje se koriste u procesu proizvodnje bude ujednačen, što zavisi od klime, načina gajenja, branja, pripremanja i čuvanja (Jović i Cvetković, 2000). Kod ovog pića uobičajeno je korišćenje biljaka iz istog podneblja, pri čemu se naročito vodi računa o postupcima kojima se izdvajaju i koncentrišu aromatični sastojci.

Kako je hemijski sastav biljnog materijala veoma kompleksan i promenljiv, odgovarajućim odabirom i pripremom istog moguće je postići različit sastav a samim tim i poboljšati funkcionalna svojstva proizvoda. Dobra rakija šljivovica je nepriskosnovena među jakim alkoholnim pićima. Međutim dodatkom lekovitog i aromatičnog bilja kakav je izop dobijamo jedan visoko vredan proizvod o čemu svedoče dobijeni i gore navedeni rezultati. Uzimajući u obzir ispitivane parametre kvaliteta, pokazano je da je primena lekovitog i aromatičnog bilja moguća u proizvodnji rakije i definije njen kvalitet. Proizvod bi bio senzorno prihvatljiv od strane potrošača, a u isto vreme i obogaćen vrednim biološkim sastojcima.

Svako ko proizvodi šljivovicu ima neki svoj recept, neki svoj „zlatni recept“ za vrhunski kvalitet. Ovo je jedan dobar pokušaj i novina kada je u pitanju ova rakija.

## Literatura

- Adams RP (2007) Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography / Mass Spectrometry. 4th edn., Allured Publishing Corp., Carol Stream, IL 60188 USA.
- Diklić, N., (1974): Rod *Hyssopus* L., u: Josifović, M., (ed.): Flora SR Srbije, tom VI, SANU, Odeljenje prirodno-matematičkih nauka, Beograd, str. 473.
- European Pharmacopoeia 8<sup>th</sup> ed. vol 1.Ph. Eur. 8.1. Council of Europe (EDQM). Strasbourg. 2013.
- Fathiazad, F., and Hamedeyazdan, S., (2011): A review on *Hyssopus officinalis* L.: Composition and biological activities, African Journal of Pharmacy and Pharmacology Vol. 5(17), pp. 1959-1966, 8 November.
- Jović, S., Cvetković, D., (2000): Vermut-kontrola proizvodnje i kvalitet, V savetovanje industrije alkoholnih i bezalkoholnih pića i sirčeta Vrnjačka Banja, Zbornik radova, Beograd, str. 161-168.
- Lepojević, Ž., Zeković, Z., Milošević, S., Vidović, S., Zlokolica, N., Adamović, D., (2008): Ispitivanje ekstrakcije izopa (*Hyssopus officinalis* L.), Bilten za hmelj, sirak i lekovito bilje, vol. 40, br. 81, str. 34-41.
- Mitić, V., (2001): Ispitivanje i izolovanje prirodnih jedinjenja iz biljne vrste *Hyssopus officinalis* L. (izop), Magistarski rad, Univerzitet u Nišu, Tehnološki fakultet u Leskovcu, Leskovac.

- Nikolova M., Manolov P., (1990): Narčnik po bilko-lečenie, Sofija.
- Popović B., Nikićević N., Gavrilović-Damnjanić J., Mitrović O., Srećković M., Ogašanović D., (2008): Uticaj momenta destilacije prevrelog kluka šljive na kvalitet šljivovice, XIII Kongres voćara i vinogradara Srbije (sa međunarodnim učešćem), Novi Sad.
- Popović B., Nikićević N., Gavrilović-Damnjanić J., Mitrović O., Srećković M., Ogašanović D., (2008): Uticaj sorte šljive na prinos rakije šljivovice, Voćarstvo, vol. 42, br. 163-164, str. 111-118.
- Pravilnik o metodama uzimanja uzoraka i vršenja hemijskih i fizičkih analiza alkoholnih pića („Sl.list SFRJ“, br.70/87).
- Sarić, M., (1989): Lekovite biljke Srbije, SANU, Odeljenje prirodno-matematičkih nauka, knjiga 65, Beograd, str. 553.
- Tucakov J., (1990): Lečenje biljem, Rad, Beograd.
- Zakon o jakim alkoholnim pićima („Sl. glasnik RS“, br. 92/2015).

## POTENTIAL USE OF *HYSSOPUS OFFICINALIS* HERB IN BRANDY PRODUCTION

Dragana Stanisavljević<sup>1</sup>, Tanja Žugić Petrović<sup>1</sup>, Violeta Mickovski Stefanović<sup>2</sup>, Ivana Mošić<sup>3</sup>, Dragan Veličković<sup>1</sup>, Dejan Davidović<sup>1</sup>, Saša Petrović<sup>1</sup>

### Abstract

*Hyssopus officinalis* has a very important role in folk medicine. The extract and essential oil of plant *H. officinalis* is the main part of some liquors and brandies. The aim of this research is to exhibit potential use of herb *H. officinalis* in brandy preparation. Content of evaporable fraction of essential oil *H. officinalis* was analyzed by GC-FID/GC-MS technique. Research included physico-chemical and sensory analysis of prepared brandy. Number of registered and identified components in the tested essential oil was 27. It is characterized by a high content of monoterpenes, out of which the most common was 1.8-cineol (37.63%), *cis*-pinocamphone (28.81%). Taking into account the quality parameters tested, it has been shown that the use of medicinal and aromatic herbs is possible in the production of brandy and defines its quality.

**Key words:** *Hyssopus officinalis*, brandy, essential oil, medicinal and aromatic plants, quality

<sup>1</sup>College of Agriculture and Food Technology, 1 Ćirila i Metodija St, 18400 Prokuplje, Serbia (draganastanisavljevic72@gmail.com);

<sup>2</sup>Institute of Tamis Pančevo in Pančevo, Novoseljanski put 33, 26000 Pančevo, Serbia;

<sup>3</sup>Aromatika DOO, Jadranska 12, 18000 Niš, Serbia.

## PROAPOPTOTSKI I ANTIMIGRATORNI EFEKTI *Cordyceps sinensis* I *Ganoderma lucidum* NA HCT-116 ĆELIJAMA

Dragana S. Šeklić<sup>1</sup>, Milena M. Jovanović<sup>1</sup>, Milan S. Stanković<sup>1</sup>, Marina D. Topuzović<sup>1</sup>, Snežana D. Marković<sup>1</sup>

**Izvod:** Ispitivali smo potencijalne antitumorske efekte dve vrste lekovitih gljiva na HCT-116 ćelijama. Akridin oranž/etidijum bromid metodom ispitivana je ćelijska smrt, a imunofluorescencom proteinski markeri migracije. Koncentracija metaloproteinaze-9 je određivana spektrofotometrijski. Svi parametri su praćeni posle 24 h. Testirani ekstrakti imaju slabo proapoptotsko dejstvo. Promigratorni markeri su smanjeni, što ukazuje da ove vrste gljiva imaju antimigratori efekat na HCT-116 ćelije. *C. sinensis* izrazito suprimira ćelijsku migraciju/invaziju uz povećanje E-kadherina i proapoptotske efekte, pa je upotreba ove gljive u ishrani i suplementarnoj antitumorskoj terapiji preporučljiva.

**Ključne reči:** kolorektalni karcinom, gljive, migracija, apoptoza, imunofluorescencija

### Uvod

Kolorektalni karcinom (CRC) se smatra jednim od glavnih uzročnika smrtnosti u Evropi i razvijenim zemljama sveta. U osnovi razvoja maligniteta jesu promene u ćelijskoj proliferaciji, uz disfunkciju programirane ćelijske smrti (apoptoza). Glavna osobina maligniteta je sposobnost metastaziranja, koja započinje sticanjem invazivnog potencijala, pa ćelija iz primarno epitelnog prelaze u mezenhimski fenotip. Ćelije sa invazivnim potencijalom imaju sposobnost sekrecije specifičnih enzima matriks metaloproteinaza-9 (MMP-9), koje im omogućavaju razgradnju komponenti vanćelijskog matriksa (ECM). Ćelije invazivnog fenotipa odlikuje remećenje i raskidanje međućelijskih veza destrukcijom E-kadherin/β-katenin kompleksa (Weinberg, 2014). Gubitak E-kadherina dovodi do pokretanja ekspresije mezenhimskih proteinskih markera N-kadherina i vimentina (Nieto i sar., 2016). Wnt/β-katenin signalni put je uključen u regulaciju svih ključnih procesa u kancerogenezi CRC, uključujući procese nastanka invazivnog fenotipa (Weinberg, 2014). *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc i *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst se od davnina koriste u ljudskoj ishrani Dalekog istoka, kako radi očuvanja opštег zdravlja, tako i u prevenciji i smanjenju rizika od oboljenja digestivnog trakta. Među gljivama, *C. sinensis* i *G. lucidum* su vrste sa poznatim antioksidacionim i antikancerogenim dejstvima (Šeklić i sar., 2016). Vrsta *C. sinensis* tradicionalno se koristi u fitofarmakologiji, a prema istraživanjima je najpotentnija do sada izučavana gljiva sa veoma širokim spektrom pozitivnih dejstava na čovekovo zdravlje. Gljiva vrste *G. lucidum*, poznatija kao Reiši,

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno-matematički fakultet, Institut za biologiju i ekologiju, Radoja Domanovića 12, Kragujevac, Srbija ([ddjacic@yahoo.com](mailto:ddjacic@yahoo.com))

se već 4000 godina primenjuje u tradicionalnoj medicini, a raste u svim delovima sveta (Lindequist i sar., 2005). Cilj našeg istraživanja je ispitivanje antitumorskih efekata navedenih vrsta gljiva, tačnije proapoptotskog i antimigratornog dejstva na ćelijskoj liniji kolorektalnog karcinoma humanog porekla (HCT-116).

## Materijal i metode rada

### Model sistem i zasejavanje ćelija

Imortalizovana adherentna ćelijska linija HCT-116, izolovana iz humanog primarnog kolorektalnog karcinoma, dobijene ljubaznošću dr Danijela Vignjević a kupljene od (*American Type Culture Collection*, ATCC) su kultivisane pod standardnim uslovima (Šeklić i sar., 2016). Za određivanje tipa ćelijske smrti zasejano je  $2 \times 10^4$  ćelija/bunariću, dok je  $5 \times 10^4$  ćelija/bunariću je zasejano za određivanje proteinske ekspresije. Za određivanje koncentracije MMP-9, zasejano je  $1 \times 10^6$  ćelija/bunariću. Inkubacija svih zasejanih ćelija pre tretmana je 24 h. Netretiranim (kontrolnim) ćelijama je samo zamenjen medijum.

Komercijalni proizvodi (plodonosna tela gljive u suvom stanju) vrsta *C. sinensis* i *G. lucidum* su dobijeni od Medical Herbs, Novi Sad, u obliku uvezenih, gotovih preparata gajenih vrsta, sa upotrebom kao dodaci ishrani. Ekstrakcija bioaktivnih supstanci gljiva i dobijanje metanolnih ekstrakata je urađeno prema standardnoj proceduri (Šeklić i sar., 2016). Ekstrakti gljiva su rastvarani u maloj zapremini koncentrovanog dimetil-sulfoksida, a zatim razblaženi medijumom do odgovarajućih koncentracija. Za određivanje tipa ćelijske smrti ćelije su tretirane sa 100 µL tretmana, a finalne koncentracije ekstrakata su bile 10, 25, 50 i 250 µg/mL. Za određivanje proteinske ekspresije imunofluorescencom i koncentracije MMP-9 ćelije su tretirane sa 2 mL tretmana u dve necitotoksične koncentracije (10 i 50 µg/mL). Ćelije su inkubirane sa tretmanom 24 h. Rezultati su predstavljeni kao srednja vrednost iz 3 ponavljanja i 3 nezavisna eksperimenta ± standardna greška.

Za određivanje tipa ćelijske smrti korišćena je AO/EB mikroskopska metoda, prethodno opisana do detalja u Šeklić i sar., 2018. Za određivanje ekspresije proteina korišćena je tehnika imunofluorescence, prethodno detaljno opisana (Šeklić i sar., 2016). Za permeabilizaciju ćelija u cilju detekcije vimentina, E- i N-kadherina korišćen je 0,1% Triton X100, a za detekciju Frizzled 7 receptora (FZD7), ćelije su permeabilizovane hladnim metanolom (-20 °C). Jedra su obojena plavo (DAPI boja), E-kadherin zeleno (sekundarno antitelo konjugovano sa Alexa 488), FZD7 receptor crveno (sekundarno antitelo NorthernLights™ NL557), N-kadherin zeleno (sekundarno antitelo konjugovano sa Alexa 488), vimentin crveno (sekundarno antitelo konjugovano sa Cy3). Rezultati intenziteta proteinske ekspresije su dobijeni kvantifikacijom fluorescence merenjem ImageJ programskim paketom. Preparati su posmatrani pod fluorescentnim mikroskopom (Nikon Ti-Eclipse), na uvećanju 600x.

Ukupna koncentracija MMP-9 u medijumu u kome su gajene i tretirane ćelije je merena enzimskom, imunološkom metodom ELISA (engl. Sandwich-Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay), prema priloženom protokolu (Human MMP-9 DuoSet

ELISACa.No. DY91, active i proforme MMP-9, R&D Systems). Vrednost izražena u nmol MMP-9/mL u odnosu na broj vijabilnih ćelija.

### Rezultati istraživanja i diskusija

Naši rezultati pokazuju da ekstrakti *C. sinensis* i *G. lucidum* ne pokazuju citotoksičan efekat na HCT-116 ćelijskoj liniji (Šeklić i sar., 2016). Rezultati ovog rada pokazuju da ekstrakti izazivaju morfološke promene u HCT-116 ćelijama karakterističnim za procese apoptoze, a najbolji efekat pokazala je gljiva *C. sinensis* sa  $14,02 \pm 0,08\%$  ćelija u ranoj apoptozi u najvećoj koncentraciji (250 µg/mL). Nešto slabiji efekat 10% ćelija u ranoj apoptozi pokazao je ekstrakt gljive *G. lucidum* posle 24 h. Tretmani nisu indukovali pojavu ćelija u kasnoj apoptozi i nekrozi.

Obzirom da u literaturi nema dovoljno podataka o efektima ekstrakata na migratorični/invazivni potencijal ćelija karcinoma, značajno je ispitati efekte ekstrakata ovih gljiva na motilitet i invazivnost HCT-116 ćelija praćenjem anti/pro migratoričnih proteina.

Proteinska ekspresija E-kadherina, u zdravim ćelijama ograničena je na zonu ćelijske membrane, dok u ćelijama karcinoma sa izraženim migratoričnim potencijalom E-kadherin je lociran u citoplazmi, što su potvrdila i naša istraživanja (Slika 1A). Poredenjem rezultata intenziteta fluorescence dobijenih iz kontrolnih i tretiranih ćelija uočava se da vrsta *C. sinensis* povećava, dok tretman ekstraktom *G. lucidum* smanjuje ekspresiju ovog proteina (Slika 1A, E, F). Šeklić i sar. 2016 su pokazali da vrsta *C. sinensis* indukuje značajne antimigratorične efekte na HCT-116 ćelijama, što je u saglasnosti sa našim dobijenim rezultatima. Evidentno je da je ekspresija E-kadherina viša u tretmanu ekstraktom *C. sinensis*, u poređenju sa tretmanom *G. lucidum*.

Proteinska ekspresija FZD7 receptora, jedne od prvi komponenti Wnt signalnog puta, u zdravim ćelijama je strogo limitirana, dok je detektovana kako u kontrolnim tako i u tretiranim HCT-116 ćelijama (Slika 1B). Na osnovu dobijenih rezultata, uočava se da tretmani ekstraktima gljiva u obe koncentracije dovode do povećanja proteinske ekspresije FZD7 (Slika 1B, E, F). Receptorni protein je uglavnom raspoređen u citoplazmi (Slika 1B), što ukazuje na njegovu neaktivnost. Obzirom na očigledno smanjenje aktivacije Wnt/β-signalnog puta redukcijom nuklearnog β-katenina u tretmanu ovim ekstraktima (Šeklić i sar., 2016), možemo pretpostaviti da je aktivnost FZD7 receptora smanjena u tretiranim ćelijama.

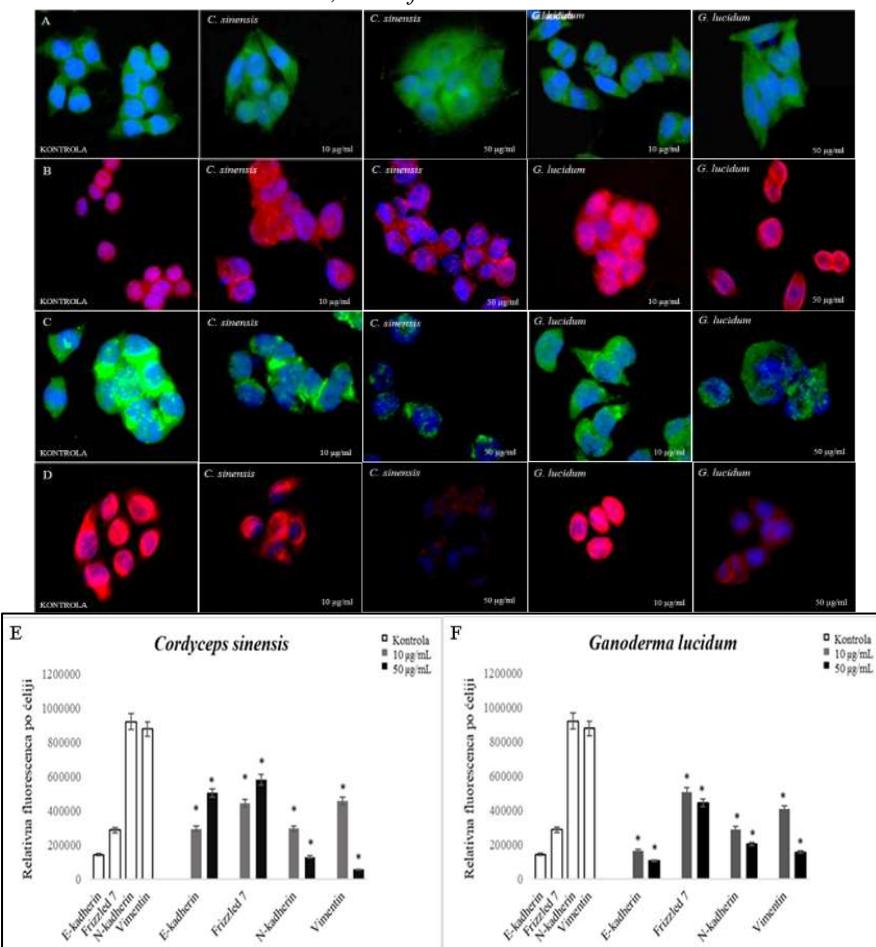
Ćelije zdravog epitela ne eksprimiraju protein N-kadherin, a u ćelijama karcinoma sa izraženim metastatskim potencijalom je prisutan. Naši rezultati pokazuju dozno zavisnu redukciju N-kadherina, naročito u tretmanu ekstraktom *C. sinensis*, kao i primetnu agregaciju ovog proteina u citoplazmi (Slika 1C, E). Ovi rezultati su u korelaciji sa povećanjem ekspresije E-kadherina, kao posledice održanja ukupnog kadherina u ćeliji. Smanjenje migratoričnog potencijala ispitivanih tretmana govori u prilog gore dobijenim rezultatima (Šeklić i sar., 2016).

Proteinska ekspresija vimentina (marker mezenhimskih ćelija) detektovana je u netretiranim HCT-116 ćelijama, što je u korelaciji sa njihovim jakim migratoričnim potencijalom. Ekstrakti gljiva značajno smanjuju ekspresiju vimentina u odnosu na kontrolu (Slika 1D, E, F). *C. sinensis* u koncentraciji 50 µg/mL pokazuje najbolji efekat

uz redukciju broja protruzija, što je u skladu sa smanjenim migratornim potencijalom ćelija (Šeklić i sar. 2016). Do smanjenja vimentina može doći pod dejstvom polifenolnih jedinjenja za koja je poznato da inhibiraju Wnt/β-katenin signalni put, uz redukciju promigratornih proteina: vimentina, N-kadherina, MMP-9 (Yang i sar., 2013). S tim u vezi, dolazi i do povećanja proteinske ekspresije epitelnih markera E-kadherina u HCT-116 ćelijskoj liniji, pri čemu se može inicirati zadobijanje epitelnog fenotipa ćelija, sa čvršćim međućelijskim vezama.

Slika 1. Proteinska ekspresija E-kadherina (A), Frizzled 7 receptora (B), N-kadherina (C) i vimentina (D), grafički prikaz vrednosti intenziteta fluorescence (E, F) u HCT-116 ćelijama, nakon 24 h od tretmana

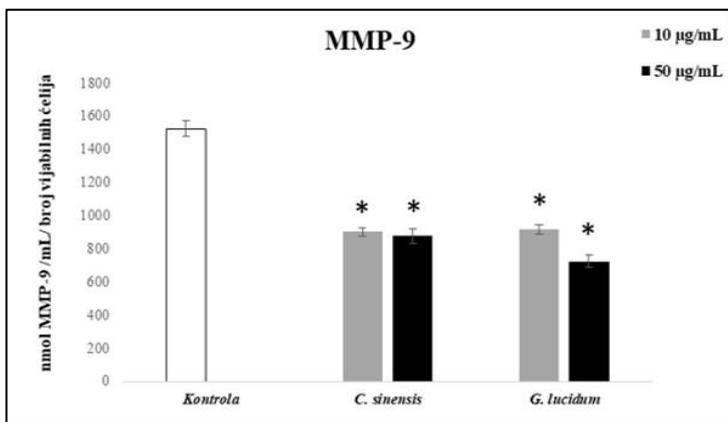
*Picture 1. Protein expression of E-cadherine (A), Frizzled 7 (B), N-cadherine (C) and vimentin (D), graphical representation of fluorescence intensity (E, F) in HCT-116 cells, 24 h after treatment*



Koncentracija MMP-9 (marker invazivnosti ćelija) u tretiranim HCT-116 ćelijama je značajno smanjena u odnosu na kontrolu (Grafikon 2), što ukazuje na antiinvazivni efekat *C. sinensis* i *G. lucidum*, a u skladu je sa antimigratornim efektima ovih tretmana (Šeklić i sar., 2016). Viša koncentracija gljive *G. lucidum* pokazuje najjači efekat na redukciju koncentracije MMP-9.

Graf. 1. Koncentracija MMP-9 u HCT-116 ćelija tretiranih ekstraktima gljiva. \* $p < 0.05$ , značajna razlika u odnosu na kontrolne vrednosti.

*Graph. 1. Concentration of MMP-9 in HCT-116 cells treated with mushroom extracts. \*statistically significant difference ( $p < 0.05$ ) compared to control*



Na osnovu redukcije ekspresije navedenih promigratornih i mezenhimskih markera, kao i smanjenja koncentracije MMP-9 svi ispitivani tretmani indukuju antimigratori i antiinvazivni efekat na HCT-116 ćelijama. Tretman ekstraktom *C. sinensis* dovodi do povećanja antimigratornih epitelnih protein markera na osnovu čega se može zaključiti da ekstrakt ove gljive ima bolji efekat u odnosu na tretman ekstraktom *G. lucidum*.

### Zaključak

Na osnovu prikazanih rezultata, odabrane vrste gljiva *C. sinensis* i *G. lucidum* indukuju značajne antimigratorne/antiinvazivne efekte uz slabe proapoptotske efekte na ispitivanim HCT-116 ćelijama. Vrsta *C. sinensis* pokazuje bolju aktivnost, pa se ova gljiva može preporučiti za korišćenje u vidu suplemenata ishrani kod metastatskih formi kolorektalnog karcinoma.

### Napomena

Istraživanja ovog rada su deo projekta III41010 koji finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

### Literatura

- Lindequist U., Niedermeyer T.H.J., Jülich W.D. (2005). The pharmacological potential of mushrooms. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2005; 2 (3): 285–299.
- Nieto M.A., Huang R.Y., Jackson R.A., Thiery J.P. (2016). EMT: 2016. Cell, 166 (1): 21-45.
- Šeklić D.S., Stanković M.S., Milutinović M.G., Topuzović M.D., Štajn A.Š., Marković S.D. (2016). Cytotoxic, antimigratory, pro-and antioxidative activites of extracts medical mushrooms on colon cancer cell lines Archives of Biological Sciences, 68 (1): 93-105.
- Šeklić D.S., Obradović A.D., Stanković M.S., Živanović M.N., Mitrović T.Lj., Stamenković S.M., Marković S.D. (2018). Proapoptotic and antimigratory effects of *Pseudevernia furfuracea* and *Platismatia glauca* on colon cancer cell lines. Food Technology and Biotechnology, 56 (3): 421-430.
- Ueno K., Hiura M., Suehiro Y., Hazama S., Hirata H., Oka M., Imai K., Dahiya R., Hinoda Y. (2008). Frizzled-7 as a potential therapeutic target in colorectal cancer. *Neoplasia*, 10 (7): 697–705.
- Weinberg R.A. (2014). The Biology of Cancer. 2<sup>nd</sup> ed., Garland Sience, New York and London
- Yang Y., Li Y., Wang K., Wang Y., Yin W., Li L. (2013). P38/NF-kB-/Snail pathway is involved in caffeic acid-induced inhibition of cancer stem cells-like properties and migratory capacity in malignant human keratinocyte. *PLoS ONE*, 8: e58915.

## PROAPOPTOTIC AND ANTIMIGRATORY EFFECTS OF *Cordyceps sinensis* AND *Ganoderma lucidum* ON HCT-116 CELLS

Dragana S. Šeklić<sup>1</sup>, Milena M. Jovanović<sup>1</sup>, Milan S. Stanković<sup>1</sup>, Marina D. Topuzović<sup>1</sup>, Snežana D. Marković<sup>1</sup>

### Abstract

We investigated potential antitumor effects of two medicinal mushrooms on HCT-116 cells. Type of cell death was examined by AO/EB method and protein markers of migration by immunofluorescence. Concentration of matrix metalloproteinase-9 was detected spectrophotometrically. All parameters were tracked 24 h after treatment. Extracts exerted weak proapoptotic activity. Promigratory markers N-cadherine, vimentine and MMP-9 concentration were reduced, which indicates antimigratory effect of these mushrooms on HCT-116 cells. *C. sinensis* supressed remarkably cell migration/invasion, with up-regulation of E-cadherine and proapoptotic effects, therefore its usage in nutrition is recommended.

**Key words:** colorectal cancer, mushrooms, migration, apoptosis, immunofluorescence

## PRIMENA KINETIČKE METODE ZA ODREĐIVANJE PESTICIDA ATRAZINA U INFANT FORMULAMA

Emilija Pecev-Marinković, Ana Miletić, Aleksandra Pavlović, Snežana Tošić,  
Ivana Rašić Mišić

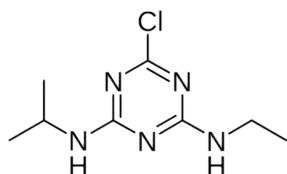
**Izvod:** Ovaj rad predstavlja doprinos razvoju i validaciji nove kinetičko-spektrofotometrijske metode u cilju kvantitativnog određivanja herbicida atrazina u infant formulama za ishranu beba. Atrazin pokazuje inhibitorni efekat u reakciji oksidacije sulfanilne kiseline vodonik peroksidom u prisustvu  $\text{Co}^{2+}$  jona na talasnoj dužini 386 nm. Ovom metodom mogu se određivati količine atrazina u dva intervala koncentracija od 0,5-5,0 i od 5,0-70,0  $\mu\text{g cm}^{-3}$ . Izračunata je granica detekcije i granica određivanja atrazina i one iznose 0,0743 i 0,225  $\mu\text{g cm}^{-3}$ . Određivanje atrazina vršeno je u uzorcima infant formula kupljenih u radnjama u Srbiji. Atrazin je metodom solid phase ekstrakcije izolovan iz uzoraka. Kinetička metoda je primenjena za njegovo određivanje u mlečnim formulama nakon pripreme uzoraka tečno-tečnom ekstrakcijom i SPE. Rezultati kinetičke metode potvrđeni su HPLC-metodom.

**Ključne reči:** kinetička metoda, atrazin, HPLC, infant formule, SPE

### Uvod

Pesticidi su jedinjenja organskog, neorganskog i prirodnog porekla namenjena suzbijanju štetnih organizama (mikroorganizama prouzrokovaca bolesti, biljaka štetočina, korova) i zauzimaju posebno mesto, jer su toksični za korisne organizme i čoveka. Pesticidi i druga hemijska jedinjenja mogu u vodu i hranu dospeti direktno (tretiranjem vodenih površina) ili indirektno iz atmosfere, iz zemljišta (preko poplavnih i podzemnih voda), kao i preko proizvoda životne delatnosti čoveka i životinja. Unošenje rezidua pesticida vodom za piće i hranom je najznačajniji put kojim je opšta populacija izložena pesticidima. Zagadenje namirnica ovim hemijskim jedinjenjima označava se kao hemijska kontaminacija (Mirić i Šobajić, 2002).

Atrazin (2-hloro-4-etilamino-6-izopropilamino-S-triazin) je herbicid iz grupe pesticida s-triazina i koristi se za uništavanje korova (Graf. 1). Bezbojna je supstanca, nezapaljiv i nije korozivan. Sublimuje na visokim temperaturama. Stabilan je u neutralnoj, slabo kiseloj i slabo baznoj sredini. U kiseloj ili baznoj sredini se raspada na visokoj temperaturi i glavno mesto napada je Cl pri čemu nastaje jedinjenje: 2-hidroksi-4-etolamino-6-izopropilamino-S-triazin. Podatke o kancerogenosti atrazina potvrdili su samo neki sojevi laboratorijskih pacova ali drugi nisu. Potvrda kod drugih vrsta životinja takođe nema. Dakle, ne postoji sigurna veza izmedju humane kancerogenosti i atrazina. Za sada ga SZO nije svrstao u grupu kancerogena. Prema stepenu toksičnosti atrazin spada u III grupu otrova.



Graf. 1. Strukturna formula atrazina  
Graph. 1. Structure formula of atrazine

Postoji veliki broj analitičkih metoda za određivanje atrazina u raznim uzorcima. Najčešća metoda koja se koristi za njegovo određivanje je HPLC (Baranovska i sar., 2012; Amadori i sar., 2013; Tian i sar., 2017; Jia i sar., 2016). U literaturi su opisane dve spektrofotometrijske (Mohd i sar., 2018; Amador-Hernández i sar., 2005) metode za određivanje atrazin, ali nema podataka o kinetičkim metodama za njegovo određivanje.

### Materijal i metode rada

Prilikom razrade nove kinetičke metode za određivanje atrazina korišćen je Perkin – Elmer Lambda 15 UV/VIS spektrofotometar sa protočnim kivetama dužine optičkog puta 10 cm. Za termostatiranje rastvora u mernoj kiveti spektrofotometra korišćen je univerzalni termostat Sutjeska tip 10. Analitička vaga Mettler Toledo korišćena je za odmeravanje čvrste supstance. Za merenje pH rastvora korišćen je „Hanna instruments“ pH-metar. Puferi pH = 7±0,01 i pH = 4±0,01 (Sigma), korišćeni su za kalibraciju pH-metra. Za uparavanje uzoraka korišćen je rotacioni vakuum uparivač BUCHI R200/205 sa vodenim kupatilom B – 499. Solid – phase ekstrakcija uzoraka vršena je na aparatu J.T. Baker SPE – 12 sa vakum pumpom na kertridžima tipa Chromabond HR-P (3cm<sup>3</sup>/200 mg). Dejonizovana voda je dobijena korišćenjem MickroMed high purity water system, TKA Wasseraufbereitungssysteme GmbH. Za HPLC metodu korišćen je model Agilent technologies 1200 sa UV detektorom i analitičkom kolonom C18 Agilent – Eclipse XDBC-18 C<sub>18</sub> (150 x 4.6 mm). Za pipetiranje rastvora korišćene su varijabilne automatske pipete Lab Mate+. Vreme početka odigravanja reakcije mereno je hronometrom.

Za pripremanje rastvora korišćena je dejonizovana voda specifične provodljivosti od 0,05 μS cm<sup>-1</sup>. Rastvori su pripremani neposredno pre početka rada. Sudovi koji su korišćeni pri radu prani su vodenim rastvorom HCl (1:1), a nakon toga su ispirani običnom, destilovanom i dejonizovanom vodom. U eksperimentalnom postupku korišćeni su sledeći reagensi:

Puferski rastvori, različitih pH vrednosti pripremani su odmeravanjem određene zapremine smeše rastvora sirčetne kiseline, borne kiseline i orto-fosforne kiseline istih koncentracija 0,04 mol dm<sup>-3</sup>, čistoće p.a. „Merck“ i rastvora NaOH koncentracije 0,2 mol dm<sup>-3</sup> p.a. „Merck“. pH rastvora proveravano je pH-metrom.

Sulfanilna kiselina, 4·10<sup>-2</sup> mol dm<sup>-3</sup>. Radni rastvor je pripreman odmeravanjem tačne mase sulfanilne kiseline p.a., „Merck“ i rastvaranjem u dejonizованoj vodi.

Vodonik-peroksid, 2 mol dm<sup>-3</sup>. Rastvor je pripreman odmeravanjem određene zapremine H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> p.a. „Merck“ i rastvaranjem u dejonizованoj vodi.

Kobalt (II) – hlorid dihidrat,  $1 \cdot 10^{-2}$  mol dm $^{-3}$ . Rastvor je pripreman rastvaranjem tačno odmerene količine  $\text{CoCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  p.a. „Merck“. Od ovog rastvora razblaživanjem je dobijen rastvor koncentracije  $1 \cdot 10^{-3}$  mol dm $^{-3}$ , koji je služio kao radni rastvor.

Atrazin  $1 \cdot 10^{-3}$  mol dm $^{-3}$ . Radni rastvor atrazina pripreman je rastvaranjem tačno odmerene količine čiste supstance (99,8%) u 10 cm $^3$  metanola i dopunjavanje dejonizovanom vodom. Prizvođač je Dr Ehrenstorfer Nemačka. Aceton, HPLC grade (Baker, UK). Metanol, HPLC grade (Baker, UK).

### **Uzorci i priprema mlečnih formula za analizu**

Kao materijal za analizu odabранo je 13 formula za odojčad, različitih proizvođača (Bebelac, Nestle, Hipp, Humana, Impamil), razvrstanih prema uzrastu odojčadi kojoj su namenjeni: za prevremeno rođenu decu (M-5, M-7); za decu do 6 meseci starosti (M-1, M-2, M-3, M-4, M-8, M-13); za decu od 6 – 12 meseci starosti (M-11); za decu stariju od 12 meseci (M-6, M-9, M-10, M-12, M-13).

### **Postupak pripreme uzorka**

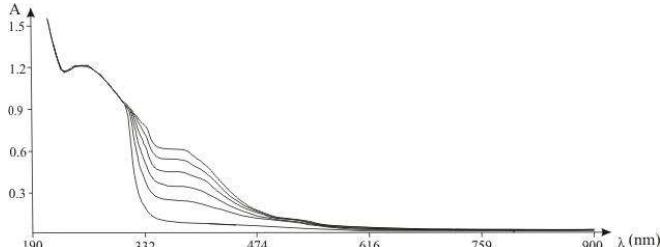
Odmereno je po 2 grama uzorka u erlenmajere sa širokim grlom od 100 cm $^3$  i rastvoreni su u 30 cm $^3$  tople dejonizovane vode (50–60°C), dodato je 2 cm $^3$  standardnog rastvora atrazina koncentracije (1 mg cm $^{-3}$ ). Tako pripremljen uzorak ostavljen je u frižideru par sati. Uzorci su ekstrahovani sa rastvorom metanol–acetona (3:2, v/v) u balonima za ekstrakciju. Uzorci su nakon tečno-tečne ekstrakcije centrifugirani 5 min na 3000 obrtaja, nekoliko puta. Tako pripremljen rastvor propuštan je kroz NaCl da se pokupi sva vlaga. Zatim je rastvor propušten kroz kolonu za Solid-phase ekstrakciju (kertridž Chromabond HR-P, 3cm $^3$ /200 mg). Uzorak je ispiran, uparavan na vakuum uparivaču na 60°C skoro do suva. Nakon uparavanja, ostatak u balonu rastvoren je u 10 cm $^3$  metanola i prenet u normalni sud od 25 cm $^3$  i dopunjeno dejonizovanom vodom. Mobilna faza i uzorci su pre snimanja na HPLC – u profiltrirani kroz membranske celulozne filtre promera 0,45 µm. Ovaj rastvor je rekonstruisan i odmeravane su zapremine da bi se doble koncentracije atrazina prikazane u Tabeli 1. Sva merenja su vršena na HPLC sistemu Agilent Technologies 1200 sa UV detektorom. Korišćena je analitička kolona C18 Agilent – Eclipse XDBC-18 C<sub>18</sub> (150 x 4.6 mm). Mobilna faza bila je smeša metanola i vode u odnosu 70:30 (v/v). Protok mobilne faze bio je 1 ml/min, a zapremina injektovanog uzorka 20 µl. Korišćen je UV detektor na talasnoj dužini 220 nm.

Za kinetičku metodu je suvi ostatak rastvoren u malo metanola i dopunjeno dejonizovanom vodom do 25 cm $^3$ . Od ovog rastvora su odmeravane probe u četvorokraku posudu da bi se doble koncentracije atrazina prikazane u Tabeli 1.

### **Rezultati istraživanja i diskusija**

Kinetičko-spektrofotometrijska metoda za određivanje mikrogramskih količina atrazina u rastvoru zasniva se na njegovom inhibitornom delovanju u reakciji oksidacije

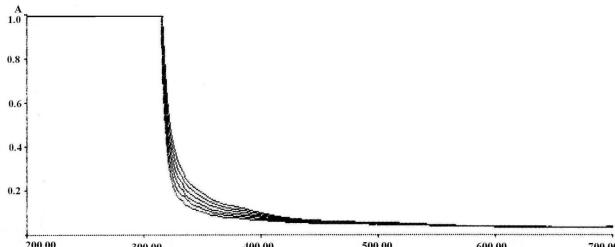
sulfanilne kiseline vodonik-peroksidom u univerzalnom puferu u prisustvu  $\text{Co}^{2+}$  jona. Graf. 2.



Graf. 2. Apsorpcioni spektar tokom vremena od 6 minuta u sistemu: univerzalni pufer pH = 9,66;  $c(\text{H}_2\text{O}_2) = 0,25 \text{ mol dm}^{-3}$ ;  $c_{\text{SA}} = 4 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ;  $c(\text{Co}^{2+}) = 7 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ ;  $t = 25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$ .

*Graph. 2. Absorption spectrum during 6 min in the sistem: universal buffer pH=9.66,  $c(\text{H}_2\text{O}_2) = 0.25 \text{ mol dm}^{-3}$ ;  $c_{\text{SA}} = 4 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ;  $c(\text{Co}^{2+}) = 7 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ ;  $t = 25.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$ .*

Dodatkom malih količina atrazina, u sistemu dolazi do smanjenja brzine reakcije (Graf. 3).



Graf. 3. Apsorpcioni spektar tokom vremena od 6 minuta u sistemu: univerzalni pufer pH = 9,66;  $c(\text{H}_2\text{O}_2) = 0,25 \text{ mol dm}^{-3}$ ;  $c_{\text{SA}} = 4 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ;  $c(\text{Co}^{2+}) = 7 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ ;  $t = 25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$ ;  $c(\text{Atrazin}) = 70 \mu\text{g cm}^{-3}$ ;  $t = 25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$ .

*Graph. 3. Absorption spectrum during 6 min in the sistem: universal buffer pH=9.66,  $c(\text{H}_2\text{O}_2) = 0.25 \text{ mol dm}^{-3}$ ;  $c_{\text{SA}} = 4 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ;  $c(\text{Co}^{2+}) = 7 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ ;  $c(\text{Atrazine}) = 70 \mu\text{g cm}^{-3}$ ;  $t = 25.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$ .*

Za obradu kinetičkih podataka primenjena je tangensna metoda, zbog linearne zavisnosti apsorbance u rastvoru u toku prvih 5-6 minuta od početka odigravanja reakcije.

Pri optimalnim uslovima odigravanja reakcije: pH = 9,66;  $c(\text{H}_2\text{O}_2) = 0,25 \text{ mol dm}^{-3}$ ;  $c_{\text{SA}} = 4 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ;  $c(\text{Co}^{2+}) = 7 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ ;  $t = 25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$ , praćena je zavisnost brzine reakcije od koncentracije atrazina. Konstruisane su kalibracione prave za određivanje atrazina u intervalima od 5,0 do 70,0  $\mu\text{g cm}^{-3}$  i od 0,5 do 5,0  $\mu\text{g cm}^{-3}$ .

Nakon odgovarajuće pripreme uzorka, količina atrazina određena je direkno metodom kalibracione prave. Kao referentna metoda za potvrdu rezultata kinetičke metode rađena je HPLC analiza. Rezultati su prikazani Tabeli 1.

Tabela 1. Tačnost i reproduktivnost određivanja atrazina u uzorcima infant formula  
*Table 1. Accuracy and precision of atrazine determination in infant formulas*

Uzorak mleka	Dodato atrazina ( $\mu\text{g cm}^{-3}$ )	Kinetička metoda $\pm\text{SD}$ ( $\mu\text{g cm}^{-3}$ )	RSD %	$\frac{\bar{x}-\mu}{\mu} \cdot 100$ %	Recovery (%)	HPLC $\pm\text{SD}$ ( $\mu\text{g cm}^{-3}$ )	F test	t test
1	35,00	37,0 $\pm$ 2	5,4	5,7	105,7	36,5 $\pm$ 2	2,25	0,83
2	10,00	9,31 $\pm$ 0,6	6,5	7,0	93,10	9,32 $\pm$ 0,01	3,42	1,12
3	20,70	19,45 $\pm$ 0,9	4,6	6,4	93,96	19,38 $\pm$ 0,02	2,59	1,09
4	29,5	28,11 $\pm$ 1,6	5,0	4,7	95,29	28,80 $\pm$ 0,01	1,47	0,68
5	4,80	4,36 $\pm$ 0,43	9,9	9,2	90,83	4,32 $\pm$ 0,01	2,83	0,34
6	7,00	6,60 $\pm$ 0,5	7,5	5,7	94,20	6,85 $\pm$ 0,3	2,72	1,06
7	1,23	1,35 $\pm$ 0,1	7,9	9,7	109,70	1,34 $\pm$ 0,02	2,12	1,24
8	1,58	1,46 $\pm$ 0,11	7,6	7,6	92,40	1,48 $\pm$ 0,02	3,06	1,82
9	2,13	2,02 $\pm$ 0,12	6,4	5,2	94,83	2,05 $\pm$ 0,01	2,62	0,83
10	3,00	2,77 $\pm$ 0,19	7,2	7,6	92,33	2,79 $\pm$ 0,02	4,92	1,85
11	0,82	0,79 $\pm$ 0,03	3,6	3,6	96,34	0,80 $\pm$ 0,02	3,32	0,81
12	0,96	0,89 $\pm$ 0,05	6,3	7,3	92,71	0,91 $\pm$ 0,01	2,43	1,18
13	3,5	3,61 $\pm$ 0,08	2,2	3,1	103,1	3,6 $\pm$ 0,05	1,42	0,63

### Zaključak

Predložena je nova osjetljiva, brza i jednostavna kinetička metoda za određivanje pesticida atrazina. Metoda je zasnovana na inhibitornom efektu atrazina u reakciji oksidacije sulfanilne kiseline vodonik peroksidom u baznoj sredini u prisustvu  $\text{Co}^{2+}$  jona kao katalizatora. Konstruisana je kalibraciona prava u dva intervala koncentracija: od 0,5-5,0 i od 5,0-70,0  $\mu\text{g cm}^{-3}$ . Metoda je uspešno primenjena za određivanje atrazina u infant formulama. HPLC metoda je korišćena za verifikaciju rezultata dobijenih kinetičkom metodom. F-test i t-test ukazuju na dobro slaganje rezultata dvaju metoda.

### Napomena

Istraživanja u ovom radu deo su projekta „Kombinatorne biblioteke heterogenih katalizatora, prirodnih proizvoda, modifikovanih prirodnih proizvoda i njihovih analoga: put ka novim biološkim aktivnim agensima“ (172061) koji finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

### Literatura

- Amadori M. F., Cordeiro G. A., Rebouças C. C., Peralta-Zamora P. G., Grassi M. T., Abate G. (2013). Extraction Method for the Determination of atrazine, deethylatrazine and desopropylatrazine in Agricultural Soil Using Factorial Design. J. Braz. Chem. Soc. 24(3): 483-491.

- Baranovska I., Akdogan A., Barchańska H., Divrikli U., Elçi L.(2012). Determination of Mesotrione, Simazine and Atrazine by RP-HPLC in Thermal Water, Sediment and Vegetable Samples. *Anal. Chem. Letters.* 2 (4): 206 – 219.
- Tian H., Bai X., Xu J. (2017). Simultaneous determination of simazine, cyanazine, and atrazine in honey samples by dispersive liquid–liquid microextraction combined with high-performance liquid chromatography. *J. Sep. Sci.* 40(19):3882-3888
- Jia, L., Su, M., Wu, X., Sun, H.(2016) Rapid selective accelerated solvent extraction and simultaneous determination of herbicide atrazine and its metabolites in fruit by ultra high performance liquid chromatography. *J. Sep. Sci.* 39(23):4512-4519.
- Mohd N. I., Zain N. N. M., Raoov M., Mohamad S. (2018) Determination of carcinogenic herbicides in milk samples using green non-ionic silicone surfactant of cloud point extraction and spectrophotometry. *R. Soc.Open Sci.* 5(4): 171500. <http://dx.doi.org/10.1098/rsos.171500>
- Amador-Hernández J., Velázquez-Manzanares M., del Rocío Gutiérrez-Ortíz1 M., Hernández-Carlos B., Peral-Torres M., Luis López-de-Alba P. (2005). Simultaneous spectrophotometric determination of atrazine and dicamba in water by partial least squares regression. *J. Chil. Chem. Soc.* 50 (2): 461-464.
- Mirić M., Šobajić S. (2002). *Zdravstvena ispravnost namirnica*. Beograd: Zavod za udžbenike.

## APPLICATION OF KINETIC METHOD FOR PESTICIDE ATRAZINE DETERMINATION IN INFANT FORMULAS

*Emilija Pecev-Marinković, Ana Miletić, Aleksandra Pavlović, Snežana Tošić,  
Ivana Rašić Mišić*

### Abstract

A new reaction system for kinetic determination of atrazine was suggested along with application for analysis of baby food samples. This method offers several distinct advantages namely, high selectivity and sensitivity, cheap reagents, simple and inexpensive instruments, ease of operation and rapidity. Statistical comparison of the obtained results with results of the HPLC method showed good agreement and indicated insignificant differences in accuracy and precision. Reliable recovery data were found at various concentrations, after spiking infant formulas samples. Good quantification limits were also attained. Overall, this method provided satisfactory results in the analysis of infant formulas samples.

**Key words:** kinetic method, atrazine, SPE, HPLC, infant formulas

## THE BIOTECHNOLOGICAL METHOD OF MEDICINAL PLANTS CULTIVATION WITH AEROPONICS AND LED LAMPS

Evgenia P. Klyuchka<sup>1</sup>, Alexander D. Lukyanov

**Abstract:** The problem of obtaining the certified organic raw materials for various industries has been widely discussed. The biotechnological method has been developed to solve this problem. This method conceptually integrates such progressive technologies as aeroponics, the LED lighting system, and the measuring and control, based on phenotyping. The subject of the research is an experimental facility with the software and hardware solutions. The research focuses on the growth process of natural medicinal plants in an artificial microclimate. The research resulted in the development of the method of identifying the cause-effect relationship between an artificial microclimate and the transformation genesis of the plants. The development of such method can help in creating the system of identification of a vegetable biological object.

**Keywords:** medicinal plants, aeroponics, the LED lighting system, the control and measuring system, biotechnological method

### Introduction

Nowadays the idea of a healthy lifestyle is widely spread in the world. It encourages the search for an ecological, natural, and organic food product [Zhuchenko, 2010]. So, one of the arising issue is the cultivation of natural medicinal plants in an artificial microclimate for the production of raw materials used in the food industry [Tikhomirova et al., 2016, Rybakova et al., 2002, Patent RU 2570623 C, 2015, Ollie et al., 2013]. Such raw materials can be used as an additive in the production of new high-quality healthy products: in confectionery, bakery and other types of food.

Thus, we can suggest here some hypotheses based on the examination of the published sources and the results of the research. What is the basis for the correlation between artificial microclimate and the adaptive plasticity of plants? The biological efficiency of the plant depends on a sustainable combination of characteristics or variable characteristics of the temperature and moist environment, the light environment, the gas environment, and the nutritional environment for plant roots. The efficiency of the control and measuring system as a part of the control automation system depends on a software and hardware solution.

The problem requires new and creative ways in search of methods and technologies [FAO, 2016, Syssoeva, 2013, Dragavtsev, 2018, Chusov and Vorob'ev, 2015]. A new original method establishes a relationship between biological object and process equipment. Developed technology acts as the basis for a virtual model of the greenhouse production. The necessity of this research called for a number of reasons. The first, there is a need for natural pure raw materials for food, pharmacological, cosmetic and other industries. The secong, there is a limit of natural sources and a demand to decrease

<sup>1</sup> Don State Technical University, DSTU, Rostov-on-Don, Russia

an environmental pressure. In the third place, there is dependence from the influence of the environment, including climate, season, weather, soil conditions, pests, diseases and others. Finally, it is difficult to organize collecting, sorting, drying, storage, and transportation of raw materials.

Numerous research works, which integrate the aeroponics technology and the LED lighting system, have proved the high performance of the offered choices [Mass and Mitchell, 2008, Mutka, 2014]. The integration of these technical solutions provides a number of Advantages. They include higher output and better quality of the medicinal raw materials free from herbicides and heavy metals. Providing a precise management, the production controls the technological process from the stage of germination of a sunflower seed to harvesting. The certification of the product makes this technology attractive for many producers. The biotechnological method of obtaining raw materials retains the chemical group composition and the biological Potency, comparable with the intact plants. The conditions, created in an adjustable microclimate, stimulate the production of raw materials with a certain biochemical composition. Thus, we can cut the distance from a source of gaining raw materials to the producer. At the same time, the quality and freshness of raw materials are increased. The costs of storage and transportation are also cut down.

However there are some contradictions, which do not allow to apply the biotechnological method in full scale. The high cost of constructions with artificial microclimate does not often prove itself due to the low predicted assessment of the efficiency of the whole process of plants cultivation. It can be explained by the empirical search for a particular perfect combination of the temperature and moist environment characteristics, the light environment, the gas environment and the nutrient environment base of a plant. On the other hand, there is a search for suitable plants with the proper internal genetic potential of adaptive plasticity.

This circumstance demands a big number of laboratory data obtained from experimental models. At the same time the results, received in the experiments, do not correlate well with the production scaling. Summing up, the development of technologies of plants cultivation in an artificial microclimate is connected with a long preparatory process, financial and time costs [Runov, 2016, Klyuchka\* et al., 2018].

Nowdays, the range of the recommended parameters of an artificial microclimate for different plants is rather wide, therefore it is necessary to work out an individual approach to each plant depending on the plant's cultivar differences. We assume that the lack of methodological background leads to some contradictions.

The first, what genetic qualities do the plants intended for cultivation in an artificial microclimate have to have? Or this question is meaningless, as all the plants perform maximum efficiency in artificial conditions?

The second, there is no ultimate answer to a question of the limiting factor in an artificial microclimate.

Next one, what methodological background defines the combination of the characteristics of the temperature and moist environment, the light environment, the gas environment and the nutrient radical medium?

Besides, it is hard to take into account the qualitative and quantitative heterogeneity of environmental factors.

On top of that, there is a lack of methods of finding the cause-effect relationship between the habitat under the conditions of an artificial microclimate and the transformation of plants genesis.

Therefore, the innovation method would help set up a system of identification of a vegetable biological object in an artificial system.

The aim of the research is to develop a biotechnological method of medicinal plants cultivation integrating three main aspects: aeroponics, the LED lighting system and the measuring and control system for control automation of technological processes. The subject of the research is an experimental facility with the software and hardware solutions. The research focuses on the process of natural medicinal plants cultivation in an artificial microclimate.

### **Material and methods of work**

The biotechnological method is based on the concept of «Technology of Accurate Agriculture», implying the scientific results obtained from such fields, as Mathematics modeling, Expert assessment, Robots and Intelligent Agricultural Machine, IT Application in agrobiosystems, Remote sensors and GIS Agricultural bioengineering.

### **Results and discussion**

The analytical and patent analyses have resulted in the development of an experimental facility. This facility has a photobiological effect. The patent [Klyuchka\*\* et al., 2018, Patent RU 183572 U,1, 2018] serves as the ground for the design decision. The facility can be used for the following experiments: an adjustable microclimate, an alternating light field, and biological activity of plants. As for the adjustable microclimate, it combines the parameters of the temperature and humidity environment, the gas environment, and the root nutrient medium. There is a number of parameters for the study of the alternating light field: the intensity, spectrum, duration and speed of the platform rotation. The alternative light field and the adjustable microclimate lead to the biological activity of plants.

There is a number of devices in the laboratory facility: a lighting device, which includes a stand; a lower platform and an upper platform; the LED lamp, which is fixed to the upper platform, that moves up and down, and the lower platform with the seeds, which is rotated by the motor. Furthermore, there are four LED matrices, which form four zones. The first zone consists of red LEDs, the second consists of blue LEDs, the third comprises green LEDs and the fourth has warm white LEDs.

The laboratory facility is installed in the growth chamber. The chamber provides living space for plants and an adjustable microclimate. The laboratory facility includes the tank for water purification and the system of preparation and feed of a nutrient solution. The cable system supplies with electricity the electrical equipment, the electric motor, the water pump, and the LED lamp. In such a way, we have described an engineering part of the laboratory facility.

Control and measuring system is part of the laboratory setup. Control and measuring system includes a system that monitors the level of carbon dioxide,

temperature and humidity; the system that controls the light intensity, spectral composition and duration of the led lamp works; a system that regulates the speed of rotation of the platform; the system that checks the conductivity and PH of the nutrient solution.

The laboratory facility also includes the information systems: the system, which creates a database; the system, which operates the database; the system, which presents and processes the laboratory experimental data. These information systems correct the carrying out of the experiment.

The next component of the laboratory facility is an automated control system (Graph.1). This system contains the following elements:

- a microprocessor system;
- a user interface;
- an energy independent logger applying for an SD card;
- a photo fixation block (the infrared camera and the visible spectrum camera);
- LED drivers;
- a photo fixation block movement drive;
- a set of sensors for the parameters monitoring;
- a portable computer;
- Computer hardware and software.

All the above-mentioned elements were chosen to be able to use the Arduino platform. The Arduino platform groups consists of the elements within a minimal period of time and uses the programming language based on C/C++.

The elements of the automated control system demonstrate particular functions. The microprocessor control system performs the following functions: it controls the LED lamp running time, it operates the LED lamp lifting, it regulates the LED lamp intensity and the spectrum [Lukyanov et al., 2018].

The sensors unit controls the temperature, the humidity, the pressure, the illumination intensity, the liquid level, the pH and electroconductivity of the nutrient solution, the position of the laboratory facility doors. The sensors unit transmits the data via electrically independent registers to the portable computer [Katin et al., 2017, Konev et al., 2017].

The Motor shield, which is Arduino expansion board, has the two channel control over the motor rotation speed.

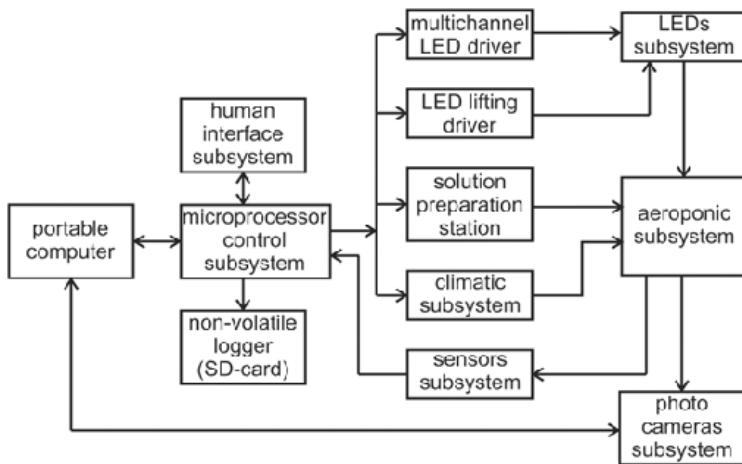
The assessment of the scientific experiment results has a great significant. The result of the scientific experiment focuses on the mass measuring of each plant and the proportion of useful substances in it. The image analysis gained from the infrared and visible spectrum cameras provides additional information. The cameras record all the stages of the plants' development, connect to the portable computer through USB ports, locate on top of the laboratory facility, and make shots every 15 minutes.

The shots taken by the infrared camera are of the greatest interest. The infrared camera analyzes the thermal images of the plants. In the given experiment it is necessary to identify the technical capability of such analysis. We are planning to carry out experiments involving the analysis of the thermal images of plants.

We have designed a web application which builds up sections for the data of the experiment. A section contains the recordings of the initial data, several photos and the

description of each case. The web-application uses PHP language employing the Slim framework and Eloquent ORM. The web application can work as a mobile application for remote supervision of the system.

In the future, the infrared camera and the web application will be used with computer vision for automatic processing of plants images. The images of plants will be compared and contrasted against the images taken other ways. The analysis of plants can use other methods: chlorophyll fluorescence and hyperspectral images.



*Graph.1. Laboratory facility block chart*

## Conclusion

We have developed a biotechnological method which will be used in the greenhouse industry. The aim of the biotechnological method is to establish the cause and effect connection between the habitat and the hysteresis of plants. The main task of the biotechnological method is to create information compatibility between the engineering and biological components of the laboratory facility. Thus, the biotechnological method can become a tool for controlling a complex system of greenhouse industry analyzing the transformation of plants.

## References

- Zhuchenko, A. A. (2010). Экологическая генетика культурных растений как самостоятельная научная дисциплина. Теория и практика. Published in *Ecological genetics of cultivated plants as an independent scientific discipline. Theory and practice*. Responsible editor A. A. Zhuchenko, 430 p. Krasnodar, Russia: Publisher: Publishing House Prosveschenie-Yug.
- Tikhomirova, L. I., Bazarnova, N. G., Il'icheva, T. N., Sysoev, A. V. (2016). Способ получения лекарственного растительного сырья лапчатки белой (*Potentilla*

- albal L.) в условиях гидропоники. Method of obtaining medicinal plants cinquefoil white (*Potentilla albal* L.) in hydroponics. Chemistry of vegetable raw materials. Volume (3): pp 59-66.
- Rybakova, G. R., Tikhomirov, A. A., Chepeleva, G. G. (2002). Изучение влияния спектрального состава света при выращивании в условиях светокультуры на выход салидрозида в родиоле розовой. Study of the influence of the spectral composition of light when growing in conditions transmitted to the output of salidroside in Rhodiola pink. Chemistry of vegetable raw materials. Volume (3): pp 77-83.
- Patent RU 2570623 C1 (2015). Способ получения лекарственного растительного сырья лапчатки белой (*Potentilla alba* L.) в условиях гидропоники. Method of obtaining medicinal plants cinquefoil white (*Potentilla alba* L.) under hydroponic. L. I. Tikhomirova, N. G. Bazarnova, patentee Federal state educational institution of higher professional education «Altai state University» (RU). № 2014133881/10; Stated 18.08.2014; Published 10.12.2015, Volume (34): 9 p.
- Ollie, M., Ollie, A., Virsille, M. (2013). Agrometural and food science, 22(2), pp 223-234.
- FAO (2016). The EMSP greenhouse vegetable crops in countries of South-Eastern Europe. The principles of sustainable production intensification for smallholder farmers. Available at: [www.fao.org/publications](http://www.fao.org/publications)
- Sysoeva, M. I. (2003). Феноменология онтогенетических реакций растений на суточные переменные температуры. Published in Phenomenology of ontogenetic responses of plants to daily temperature variables, PhD thesis, 23 p. Saint-Petersburg, Russia: Publisher: Publishing House of Pacific State University.
- Dragavtsev, V. A. (2018). Новая система регуляции у растений и необходимость создания селекционного фитотрона в РФ. New system of regulation in plants and the need to create breeding phytotron in Russia. Journal technical physics, 88 (9), pp 1331-1335.
- Chusov, A. N., Vorob'ev, K. V. (2015). Аппаратно-биологический комплекс для повышения качества воздуха помещений. Hardware-biological complex to improve the quality of indoor air. Interdisciplinary scientific and applied journal Biosphere, 7 (1), pp 39-49.
- Mass, G. D., Mitchell, C. A. (2008). Plant productivity in response to LED lightning. HortScience, 43 (7), pp 1951-1956.
- Mutka, A. M. (2014). Image-based phenotyping of plant disease symptoms. Frontiers in plant science. 5. 734. 10.3389/fpls.2014.00734.
- Runov, B. A. (2016). Применение робототехнических средств АПК. The Use of robotic agricultural equipment. Agricultural machines and technologies. Volume (2): pp 44-47.
- Klyuchka\*, E. P., Radin, V. V., Groshev, L. M., Maksimov, V. P. (2018) Modelling a complex technical system of greenhouse production: the foundations of an interdisciplinary approach. MATEC Web of Conferences 22, 02019 (2018). Available at: [https://doi.org/10.1051/matecconf/2018220\\_DTS-20186962019](https://doi.org/10.1051/matecconf/2018220_DTS-20186962019)
- Klyuchka\*\*, E. P., Radin, V. V., Groshev, L. M., Kambulov, S. I. (2018). Problems of modeling of complex technological systems of greenhouse production. MATEC

Web of Conferences 22, 02020 (2018) [https://doi.org/10.1051/matecconf/2018220\\_DTS-2018662020](https://doi.org/10.1051/matecconf/2018220_DTS-2018662020)

Patent RU 183572 U1 (2018). Устройство фотобиологической светостимуляции семян плодово-ягодных, овощных и зеленых культур. The device of photo biological site template seeds of fruit and berry, vegetable and greens crops. E. P. Klyuchka, patentee of the Federal state budgetary educational institution of higher professional education «don state technical University» (DGTU) (EN). № 25379223; Stated 21.05.2018; Published 26.09.2018, Volume (27): 9 p.

Lukyanov, A., Donskoy, D., Vernezi, M. (2018). Simulation, identification and dynamic control of the luminaire of the synthesized spectrum. MATEC Web of Conferences 22, 0200 (2018) [https://doi.org/10.1051/matecconf/2018220\\_DTS-2018636200](https://doi.org/10.1051/matecconf/2018220_DTS-2018636200)

Katin, O., Lukyanov, A., Goryanina, K. (2017). Optimization of the automated colorimetric measurement system for pH of liquid. MATEC Web of Conferences 132, 04010 (2017) <https://doi.org/10.1051/matecconf/201713204010>

Konev, S., Vernezi, M., Donskoy, D., Lukyanov, A. (2017). The development of a mobile monitoring system for agricultural object. MATEC Web of Conferences 132, 04026 (2017) <https://doi.org/10.1051/matecconf/201713204026>

## THE CONCEPTUAL DESIGN OF THE LABORATORY SETUP FOR THE SIMULATION OF BIOTECHNOLOGICAL PROCESS

*Evgenia P. Klyuchka<sup>1</sup>, Alexander D. Lukyanov*

**Abstract:** The problem of obtaining the certified organic raw materials for various industries has been widely discussed. The biotechnological method has been developed to solve this problem. This method conceptually integrates such progressive technologies as aeroponics, the LED lighting system, and the measuring and control, based on phenotyping. The subject of the research is an experimental facility with the software and hardware solutions. The research focuses on the growth process of natural medicinal plants in an artificial microclimate. The research resulted in the development of the method of identifying the cause-effect relationship between an artificial microclimate and the transformation genesis of the plants. The development of such method can help in creating the system of identification of a vegetable biological object.

**Keywords:** medicinal plants, aeroponics, the LED lighting system, the control and measuring system, biotechnological method

---

<sup>1</sup> Don State Technical University, DSTU, Rostov-on-Don, Russia



## KVANTITATIVNA ANALIZA VODE ZAPADNE MORAVE ZA INDUSTRIJSKU PRIMENU

*Jelena Mašković<sup>l\*</sup>, Lenka Ribić Zelenović<sup>l</sup>, Pavle Mašković<sup>l</sup>, Nataša Radisavljević<sup>l</sup>*

**Izvod:** Cilj istraživanja ovog rada bio je da se izvrši kvantitativna analiza vode reke Zapadne Morave koja se koristi za potrebe proizvodnog pogona HI „Milan Blagojević-Namenska” Lučani. Izvršena je analiza vode Zapadne Morave u laboratoriji Agronomskog fakulteta u Čačku pre i posle njenog prečišćavanja. Rezultati kvantitativne analize ukazuju na njen generalno dobar kvalitet. Međutim, pojedini pokazatelji kvaliteta, prvenstveno BPK<sub>5</sub> čija vrednost je u okviru IV klase kvaliteta kod neprečišćene vode i u okviru III klase kvaliteta kod prečišćene vode potvrđuju nešto lošiji kvalitet. To prvenstveno ukazuje na nešto veće prisustvo organskih supstanci, zbog čega se ova voda ne koristi kao voda za piće već samo kao tehnička voda za industriju.

**Ključne reči:** kvalitet vode, reka Zapadna Morava, industrijska primena

### Uvod

Jedan od najvažnijih komunalnih zadataka, kako u urbanim tako i u seoskim sredinama, jeste da obezbedi kvalitetnu vodu. Voda je ljudima neophodna za piće, za pripremanje hrane, održavanje higijene i za mnogobrojne procese u industriji i poljoprivredi. Čak 90% potrošnje vode ima učešće u poljoprivredi, dok je samo 5% zastupljeno u industriji i domaćinstvu.

Uredbom o klasifikaciji voda (Sl.glasnik SR Srbije 5/68) sve površinske vode u Srbiji (reke, jezera i kanali) su svrstane u četiri klase kvaliteta (Službeni glasnik SR Srbije 5/68). Klasifikacija je izvršena na osnovu standardnih parametara, od kojih su najznačajniji: ukupni ostatak pri isparavanju i biohemijska potrošnja kiseonika za pet dana (BPK<sub>5</sub>). Klasa I – obuhvata čiste vode koje su u prirodnom stanju ili se posle dezinfekcije mogu upotrebljavati za snabdevanje naselja vodom za piće, u prehrambenoj industriji i za gajenje plemenitih vrsta riba (Salmonidae). Klasa II – vode koje su pogodne za kupanje, rekreaciju i sportove na vodi, za gajenje manje plemenitih vrsta riba (Cyprinidae), kao i vode koja se uz normalne metode obrade (koagulaciju, filtraciju i dezinfekciju) mogu upotrebljavati za snabdevanje naselja vodom za piće i u prehrambenoj industriji. Klasa III – vode koje se mogu upotrebljavati i iskorisćavati za navodnjavanje i u industriji osim u prehrambenoj industriji. Klasa IV – vode koje se mogu upotrebljavati samo posle posebne obrade.

Voda je važna za život i zdravlje ljudi. Ona predstavlja osnovni resurs za potrebe privrede, energetike, transporta, poljoprivrede i drugih delatnosti (Baras J. i Petrović R.,

<sup>l</sup>\*Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija (jelenav@kg.ac.rs).

1964). Sirova voda se pre prečišćavanja ispituje odgovarajućim analizama i dobijeni rezultati se upoređuju sa propisanim standardima. Na osnovu ovih poređenja, utvrđuje se u kojoj meri treba vršiti prečišćavanje. U površinskim vodama može doći do promene ukusa, mirisa i boje vode. Ove promene nastaju procesima prirodnog truljenja biljaka, nagomilavanjem algi ili su posledica bujičnih tokova koji nose erodirani zemljišni materijal. Hemijske supstance, takođe, mogu biti prisutne u vodi. One su uglavnom prisutne zbog fabrika koje otpadne vode ispuštaju u reke. Prerada sirove vode obuhvata sledeće postupke prečišćavanja: predhlorisanje; koagulaciju; flokulaciju; taloženje; filtriranje i dezinfekciju.

Cilj ovog rada je primena klasičnih analitičkih metoda radi određivanja fizičko-hemijskih parametara kvaliteta vode reke Zapadne Morave pre i posle prečišćavanja u HI „Milan Blagojević - Vodovod” Lučani. Vodovod je smešten u selu Dljin, 2 km od naselja Lučani i ranijih godina je imao ulogu da vodu iz reke prečišćava za potrebe kako industrije tako i cele varošice. Tada je vršen i veći broj fizičko-hemijskih i mikrobioloških analiza. Od pre desetak godina, za potrebe stanovništva koristi se voda za piće sa vodosistema „Rzav”. Od tada naselje ne koristi vodu reke Zapadne Morave pa se sada određuju samo osnovni parametri kvaliteta vode.

### Materijal i metode rada

Da bi voda bila higijenski ispravna ona mora zadovoljavati odgovarajuće kriterijume kvaliteta u pogledu fizičko-hemijskih osobina i mikrobiološke ispravnosti. Kriterijumi kvaliteta vode za piće u normalnim i vanrednim okolnostima su propisani Pravilnikom o higijenskoj ispravnosti vode za piće (Sl. list SRJ br. 42/98 i 44/99). Potrebno je vršiti fizičko-hemijske i mikrobiološke analize sirove i prečišćene (dezinfikovane) vode. Uzimanje uzorka za analizu može se vršiti mesečno, sedmično ili dnevno, što zavisi od više faktora (Čoha F., 1990).

Za kvantitativnu analizu vode korišćene su volumetrijske metode analize (kiselinsko-bazne, taložne, kompleksometrijske, oksido-redukcione titracije) i gravimetrija.

### Rezultati istraživanja i diskusija

Za analize obavljene u hemijskoj laboratoriji Agronomskog fakulteta u Čačku korišćena je voda iz reke Zapadne Morave pre i posle prečišćavanja u HI „Milan Blagojević - Vodovod” Lučani. Uzorkovanje je izvršeno dana 21. 06. 2016. godine, a za sva izračunavanja korišćena je srednja vrednost tri merenja. U ovom radu ispitivani su pH, elektroprovodljivost, HPK, BPK<sub>5</sub>, rastvoreni kiseonik, alkalitet, aciditet, tvrdoća vode, hloridi, sulfati, sadržaj kalcijuma i magnezijuma kao i ostatak posle žarenja. Rezultati obavljenih analiza od 21.06.2016. godine su predstavljeni u Tabeli 1.

Tabela 1. Rezultati analiza vode reke Zapadne Morave  
*Table 1. Results of analysis water of the Zapadna Morava River*

Parametar / Parameter	Neprečišćena voda Untreated water	Prečišćena voda Purified water	
pH	7,56	7,53	
Elektroprovodljivost / Electroconductivity	μS/cm	125	115
Rastvoren O <sub>2</sub> / Dissolved O <sub>2</sub>	mg L <sup>-1</sup>	13,4	13,2
HPK / COD	mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup>	2,41	1,56
BPK <sub>5</sub> / BOD <sub>5</sub>	mg L <sup>-1</sup>	7,20	5,44
Ukupna tvrdoča / Total hardness	mg L <sup>-1</sup> CaCO <sub>3</sub>	192	188
Karbonatna tvrdoča / Carbonate hardness	mg L <sup>-1</sup> CaCO <sub>3</sub>	175	160
Hloridi / Chlorides	mg L <sup>-1</sup>	17,7	17,7
Sulfati / Sulfates	mg/dm <sup>3</sup>	32	28,8
Alkalitet / Alkalinity	mg L <sup>-1</sup> CaCO <sub>3</sub>	197,67	202,67
Aciditet / Acidity	mg L <sup>-1</sup> CaCO <sub>3</sub>	17,52	32,53
Ca <sup>2+</sup>	mg L <sup>-1</sup>	45,29	47,69
Mg <sup>2+</sup>	mg L <sup>-1</sup>	17,98	17,50
Садржај жареног остатка / Content of an annealed remains	mg/dm <sup>3</sup>	114	12

Kvalitet površinskih voda vrednuje se na osnovu vrednosti hemijske potrošnje kiseonika – HPK. Metoda se zasniva na određivanju količine oksidacionog sredstva koje se utroši za hemijsku oksidaciju organskih i neorganskih supstanci prisutnih u otpadnoj vodi, pa se utrošena količina oksidacionog sredstva preračunava na ekvivalentnu količinu kiseonika. Za određivanje hemijske potrošnje kiseonika koristi se utrošak KMnO<sub>4</sub>. Podela površinskih voda na klase je izvršena na sledeći način (Službeni list SRJ br.42/98 i 44/99) : I klasa, do 10 mg O<sub>2</sub>/dm<sup>3</sup>; II klasa, do 12 mg O<sub>2</sub>/dm<sup>3</sup>; III klasa, do 20 mg O<sub>2</sub>/dm<sup>3</sup> i IV klasa, do 40 mg O<sub>2</sub>/dm<sup>3</sup>, a maksimalno dozvoljena vrednost u vodi za piće je 8 mg O<sub>2</sub>/dm<sup>3</sup>.

Alkalitet vode čine hidroksidi, karbonati i bikarbonati (hidrogenkarbonati) alkalnih i zemnoalkalnih metala, uglavnom natrijuma, kalcijuma i magnezijuma. Određivanje alkaliteta vode vršeno je kiselobaznom titracijom uz indikator metiloranž. Titracija je vršena rastvorom hloridne kiseline do promene boje indikatora.

Određivanje sadržaja Ca i Mg u vodi vršeno je kompleksometrijskom titracijom, a dobijeni sadržaj je manji od maksimalno dozvoljene vrednosti za oba uzorka (Službeni list SRJ, 1998; Službeni list SRJ 1999).

Tvrdoća vode najvećim delom potiče od rastvorenih soli kalcijuma i magnezijuma. Ove soli mogu biti u obliku hidrogenkarbonata i sasvim malih količina karbonata [karbonatna (prolazna) tvrdoća vode (KT)] ili u obliku sulfata i hlorida [nekarbonatna (stalna) tvrdoća vode (NT ili ST)] (Rajković i Sredović, 2009; Rajković, 2007; Rajaković et al., 2000). Ukupna tvrdoća se određuje kompleksometrijskom titracijom vode uz indikator eriohromcrno T. Karbonatna tvrdoća se određuje titracijom vode rastvorom jake mineralne kiseline, uz metiloranž kao indikator. Prečišćena voda ima manju karbonatnu i ukupnu tvrdoću od neprečišćene vode.

Sadržaj hlorida određen je po Morovoj (Mohr) metodi volumetrijskom titracijom sa standardnim rastvorom srebo-nitrata u prisustvu kalijum-hromata kao indikatora. Dobijena vrednost je manja od maksimalno dozvoljene vrednosti za oba uzorka. Sadržaj sulfata kao i suvi ostatak, određeni su gravimetrijski.

Prema Pravilniku o higijenskoj ispravnosti vode za piće, provodljivost treba da bude manja od 1000 µS/cm (Službeni list SRJ, 1998; Službeni list SRJ 1999). Ovaj zahtev ispunjavaju i uzorak neprečišćene i prečišćene vode.

Vrednosti većine pokazatelja kvaliteta kao što su: HPK, rastvoreni kiseonik, pH, i sulfati svrstavaju vodu u I klasu. Međutim, vrednost za BPK<sub>5</sub> (7,20 mg/dm<sup>3</sup>) čija vrednost je u okviru IV klase kvaliteta kod neprečišćene vode i (5,44 mg/dm<sup>3</sup>) čija je vrednost u okviru III klase kvaliteta kod prečišćene vode potvrđuju nešto lošiji kvalitet. To prvenstveno ukazuje na nešto veće prisustvo organskih supstanci.

### Zaključak

U radu je prikazan kvalitet vode reke Zapadne Morave pre njenog prečišćavanja kao i njen kvalitet nakon prečišćavanja u HI „Milan Blagojević-Vodovod” u Lučanima. Nakon prečišćavanja, voda se koristi samo kao tehnička voda za proizvodni pogon ove industrije.

Fizičko-hemiske analize neprečišćene vode koja ulazi u vodovod iz reke Zapadne Morave kao i prečišćene vode koja se koristi za potrebe industrije, obavljene su u laboratoriji Agronomskog fakulteta u Čačku. Vrednosti većine pokazatelja kvaliteta svrstavaju je u vodu I klase. Međutim, vrednost za BPK<sub>5</sub> je u okviru IV klase kvaliteta kod neprečišćene vode i u okviru III klase kvaliteta kod prečišćene vode. To prvenstveno ukazuje na nešto veće prisustvo organskih supstanci. Imajući u vidu da je uzorak vode uzet neposredno nakon obilne kiše, moguće je da je i to uticalo da neki parametri kvaliteta budu malo lošiji.

Pošto se voda reke Zapadne Morave prečišćava samo za potrebe industrije, može se smatrati da ona zadovoljava kriterijume kvaliteta tehničke vode.

Generalno, fizičko-hemski kvalitet vode reke Zapadne Morave je dobar i ona bi mogla da se koristi kao voda za piće. Potrebno je već postojeće postrojenje za preradu vode obnoviti, poboljšati i unaprediti sa svim neophodnim metodama za praćenje njenog kvaliteta. U HI „Milan Blagojević - Vodovod” ne radi se metoda predhlorisanja koja bi sigurno doprinela još boljem kvalitetu vode kada bi se ona ponovo koristila kao voda za piće. Na taj način bi se smanjio broj potrošača sa vodosistema „Rzav”, koji već ima problema sa nedovoljnim količinama vode.

### Napomena

Istraživanja u ovom radu deo su projekata 172016 i 172057 koje finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

### Literatura

- Rajković, M.B., Sredović, I.D. (2009): Praktikum iz analitičke hemije. Poljoprivredni fakultet, Zemun.
- Rajković, M.B. (2007): Uvod u Analitičku hemiju – klasične osnove. Pergament, Beograd.
- Rajaković, Lj.V., Perić-Grujčić, A.A., Vasiljević, T.M., Čičkarić, D.Z. (2000): Analitička hemija. Kvantitativna hemijska analiza - praktikum sa teorijskim osnovama. Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd.
- Anonimus, Pravilnik o higijenskoj ispravnosti vode za piće (Službeni list SRJ br.42/98 i 44/99), 1998.
- Anonimus, Uredba o klasifikaciji voda (Službeni glasnik SR Srbije 5/68), 1968.
- Baras J., Petrović R., (1964) Zagadživanje i zaštita voda od zagađenja u SFRJ, Beograd.
- Franjo Čoha, (1990). Voda za piće - Standardne metode za ispitivanje higijenske ispravnosti, Privredni pregled, Beograd, 844.

## QUANTITATIVE ANALYSIS OF WATER ZAPADNA MORAVA RIVER FOR INDUSTRIAL APPLICATION

*Jelena Mašković<sup>1\*</sup>, Lenka Ribić Zelenović<sup>1</sup>, Pavle Mašković<sup>1</sup>, Nataša Radisavljević<sup>1</sup>*

### Abstract

The aim of the study was to conduct a quantitative analysis of the water of the Zapadna Morava River, which is used for the needs of the production plant HI "Milan Blagojević-Namenska" Lučani. An analysis of the water of the Zapadna Morava River in the laboratory of the Faculty of Agronomy in Cacak was carried out before and after its purification. The results of the analysis of physical-chemical parameters indicate its generally good quality. However, some quality indicators, primarily  $BPK_5$  whose value within the IV class of quality in untreated water and within the III class of quality in purified water confirm somewhat poorer quality. This primarily points to a slightly higher presence of organic substances, which is why this water is not used as drinking water, but only as a technical water for the industry.

**Key words:** water quality, River Zapadna Morava, industrial application

---

<sup>1\*</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija (jelenav@kg.ac.rs).



## ODREĐIVANJE OPTIMALNE METODE EKSTRAKCIJE KORENA *POLYGONUM BISTORTA L.*

Jelena Mladenović<sup>1</sup>, Milena Đurić<sup>1</sup>, Ljiljana Bošković-Rakočević<sup>1</sup>,  
Duško Brković<sup>1</sup>, Mirjana Jeremić<sup>1</sup>, Milan Vesković<sup>2</sup>

**Izvod:** Upotreba lekovitog bilja u prevenciji i lečenju različitih oboljenja stara je koliko i samo čovečanstvo. Danas, najvažniju grupu biljnih preparata predstavljaju ekstrakti, koji se dobijaju primenom različitih metoda ekstrakcije, počev od jednostavnih tehnologija do naprednih tehnika. U ovom radu urađene su tri metode ekstrakcije korena *Polygonum bistorta L.* Na osnovu dobijenih rezultata možemo zaključiti da je najmanji prinos dobijen Soxlet-ovom ekstrakcijom 4,95%, potom maceracijom 8,72%, a najveći prinos dobijen je ultrazvučnom ekstrakcijom 28,5%. Metoda ultrazvučne ekstrakcije se pokazala kao najoptimalnija metoda za ovu biljnu vrstu, jer kratko traje za raliku od maceracije i odvija se na nižoj temperaturi, što nije slučaj kod Soxlet-ove metode, koja se odvija na visokoj temperaturi, pa se pretpostavlja da je došlo do razgradnje vitamina C. Najveći sadržaj vitamina C je takođe određen u ultrazvučnom ekstraktu 5,5 mg/100 g ekstrakta.

**Ključne reči:** ekstrakcija, prinos, sadržaj vitamina C.

### Uvod

Srčanik pripada familiji *Polygonaceae*. To je višegodišnja zeljasta biljka. Rizom je dvostruko savijen, u obliku slova S. Stabla su pojedinačna, ređe po nekoliko zajedno, do 100 cm visoka, uspravna, nerazgranata. Listovi prizemne rozete sa okriljenom drškom, vršni sedeći. Cvetovi sakupljeni u cilindrične cvasti, klasolike, kasnije grozdaste. Cvetovi su sitni, bele ili roze boje. Cveta od maja do juna.

Rasprostranjena je na širokom prostoru Evroazije, a u Severnu Ameriku je prenesena i znatno proširena. Pripada grupi hranljivih i lekovitih biljaka, pa je značajna za ishranu u prirodi i za lečenje. Izrazita je heliofita, naročito hidrofilne populacije, dok mezofilne izbegavaju puno dnevno svetlo, kako bi sačuvale neophodnu vodu, jer je ova vrsta veoma osetljiva na nedostatak vode (Lakušić, 1990).

Ima široku ekološku valencu u odnosu na geološku podlogu, a umereno široku i na tipove tla. Najčešće je nalazimo u Dinaridima, na dubljim-smeđim krečnjačkim tlima. Kod nas ga ima u Centralnoj Srbiji (Kopaonik), istočnoj (Stara planina), zapadnoj (Tara, Maljen), jugozapadnoj (Zlatibor, Pešter) i na Kosovu (severne padine Šare, Koprivnik, Rugovo). U Srbiji je poznat pod mnogim narodnim imenima: želudnjak, mali srčanik, srčanica, trava od srca, srčenjača (Milić i sar., 2012). Raste na planinskim livadama, pored potoka, na tresetnim površinama, ponekad u velikom broju. Koristi se rizom, vadi

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija ([jelenamala@kg.ac.rs](mailto:jelenamala@kg.ac.rs));

<sup>2</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Fakultet tehničkih nauka u Čačku, Svetog Save 65, Čačak, Srbija

se u septembru, oktobru ili u rano proleće (MacVicar, 2006). Rizom se očisti od zemlje, opere, očisti od nadzemnih natruljih delova, izvesno vreme ostavi napolju ili u provetrenoj prostoriji. Potamneli rizomi nisu kvalitetni. Biljka nema poseban miris, a ukusa je stežućeg. Čuvena je u narodnoj medicini po upotrebi sa rakijom.

### Materijal i metode rada

Kao materijal u ovom završnom radu korišćen je koren biljke srčanik (*Polygonum bistorta* L.). Biljni materijal za analizu sakupljan je u novembru mesecu 2017. godine u Hercegovini. Ekstrakti su dobijeni od usitnjene korena biljke (Lampe, 1999). Napravljena su tri različita ekstrakta etanolom. Usitnjeni i homogenizovan uzorak korena srčanika (5 g), prelivem je rastvaračem (250 mL 96% etanola), potom je ostavljen u zatvorenom erlenmajeru zaštićenom od svetlosti. Maceracija je vršena pet dana, pri čemu se svakog dana obavljalo mućkanje dva puta dnevno. Nakon pet dana odvojen je biljni materijal od macerata ceđenjem kroz gazu, a posle i kroz filter papir, crna traka (Piletić i Miletić, 1989). Rastvarač je uklonjen uparavanjem na vodenom kupatilu od 50 °C, a dobijeni ekstrakt je sušen do konstantne mase na temperaturi od 50 °C (Aćamović-Đoković i Cvijović, 2009).

Soxlet-ekstrakcija je vršena na temperaturi ključanja rastvarača u trajanju od 6 časa. Nakon završene ekstrakcije, ekstrahovana supstanca se nalazila rastvorena u rastvaraču u balonu. Rastvarač je uklonjen uparavanjem na vodenom kupatilu na 50 °C, a zatim je ekstrakt sušen u sušnici na 50 °C do konstantne mase. Nakon toga, izračunat je sadržaj ukupnih ekstrahovanih materija iz biljnog materijala (Damjanović, 2007).

Ultrazvučna ekstrakcija je izvedena u ultrazvučnom vodenom kupatilu (EUP540A, Euinstruments, France). Uzorak (5 g) stavljen je u balon i prelivem sa 250 mL 96%-tnog etanola. Smeša je ekstrahovana 30 minuta na frekvenciji od 40 kHz i snazi ultrazvuka 90% (216 W). Nakon toga, izračunat je sadržaj ukupnih ekstrahovanih materija iz biljnog materijala.

Za kvantitativno određivanje vitamina C korišćena je metoda po Tilmansu, koja se zasniva na oksidometrijskoj titraciji tokom koje se L-askorbinska kiselina oksiduje u dehidroaskorbinsku, uz istovremenu redukciju primjenjenog reagensa (Džamić, 1984). Titracija sa 2,6-dihlorfenolindofenolom tj. Tilmansovim reagensom (TR) se izvodi u kiseloj sredini pri pH 4–6. Oksidovani oblik rastvora Tilmansovog reagensa (koji ima i ulogu indikatora) ima tamno plavu boju (pri pH 5,2), dok u prisustvu askorbinske kiseline TP prelazi u svoj redukovani oblik (Lajšić i Grujić-Injac, 1998).

### Rezultati istraživanja i diskusija

Sadržaj vlage i procenat suve materije u korenju srčanika dat je u Tabeli 1. Analiza je urađena u tri probe i izračunata je srednja vrednost.

Tabela 1. Sadržaj vlage i procenat suve materije

Table 1. Content of dry matter

Маса пре сушења (g)	Маса после сушења (g)	%, суве материје
5,000	4,750	95,000
5,000	4,810	96,200
5,000	4,850	97,000

Sadržaj suve materije dobijen na osnovu tri merenja je izračunat kao njihova srednja vrednost i iznosi 96,067%, a sadržaj vlage koji je dobijen oduzimanjem sadržaja suve materije na 100 g uzorka, za svako merenje i izražen kao njihova srednja vrednost je 3,933%.

Posle završenih ekstrakcija, izvršeno je uparavanje dobijenih biljnih ekstrakta do suva, a potom merenje dobijenih suvih ostataka. Izračunat je prinos dobijenih ekstrakata na 100 g uzorka. Dobijeni rezultati u procentima prikazani su u Tabeli 2.

Tabela 2. Procentni prinos ekstrakcija

Table 2. Yield extractions

Uzorak	Maceracija	Soxhlet ekstrakcija	Ultrazvučna ekstrakcija
Koren srčanika	8,72%	4,95%	28,5%

Na osnovu dobijenih rezultata možemo zaključiti da je najmanji prinos dobijen Soxlet-ovom ekstrakcijom, potom maceracijom, a najveći prinos dobijen je ultrazvučnom ekstrakcijom. Metoda ultrazvučne ekstrakcije se pokazala kao najoptimalnija metoda za ovu biljnu vrstu, jer kratko traje za razliku od maceracije i odvija se na nižoj temperaturi, što nije slučaj kod Soxlet-ove metode, koja se odvija na visokoj temperaturi, pa se pretpostavlja da je došlo do razgradnje vitamina i ostalih termolabilnih jedinjenja (Šiler-Marinković, 2009).

Na osnovu rezultata dobijenih merenjem gustine areometrom, vidi se da je najveća gustina dobijena kod ultrazvučnih ekstrakata  $0,89 \text{ g/cm}^3$ , što je u korelaciji sa prinosom ekstrakcije.

Табела 3. Садржај витамина C у екстрактима  
*Table 3. Vitamin C content in extracts*

Vrsta ekstrakcije	Vitamin C mg / 100 g
Maceracija	2,5
Soxhlet ekstrakcija	1,5
Ultrazvučna ekstrakcija	5,5

Pri određivanju sadržaja vitamina C zaključili smo da je najveći sadržaj ovog vitamina određen, takođe kod ultrazvučnog ekstrakta 5,5 mg/100g, zatim kod macerata 2,5 mg/100g, a najmanja kod Soxhlet-ovog ekstrakta 1,5 mg/100g. Ultrazvučnom ekstrakcijom smo uspeli da izolujemo najveću količinu ovog vitamina jer je temperatura u kadi bila 40 °C, a to je niža temperatura od temperature razlaganja ovog vitamina (50-60 °C), kod Soxhlet-ove ekstrakcije temperatura rastvarača je bila na tački ključanja tj. 60 °C, a kod maceracije i ako je rastvarač bio na sobnoj temperaturi proces je trajao 5 dana što je verovatno dovelo do razgradnje vitamina.

### Zaključak

Na osnovu dobijenih rezultata uočavamo da je metoda ultrazvučne ekstrakcije najoptimalnija metoda ekstrakcije, jer je dala najveći prinos. Verovatno, jer je trajala najkraće (30 min), na temperaturi 40 °C, a to je niža temperatura od temperature razlaganja vitamina C (50-60 °C). Time je vitamin brzo ekstrahovan i očuvan od razgradnje.

### Napomena

Istraživanja u ovom radu deo su projekta „Novi koncept oplemenjivanja sorti i hibrida povrća namenjenih održivim sistemima gajenja uz primenu biotehnoloških mera“ T.R. 31059, koji finansira Ministarstvo Republike Srbije za nauku i tehnološki razvoj.

### Literatura

- Aćamović-Đoković G., Cvijović M. (2009). Praktikum iz Organske hemije, Agronomski fakultet, Čačak.
- Damjanović B. (2007). Ekstrakcija biaktivnih komponenti, Metalurško-tehnološki fakultet, Podgorica.
- Džamić M. (1984). Biohemija, Beograd.

- Lajšić S., Grujić-Injac B. (1998). Hemija prirodnih proizvoda, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
- Lakušić R. (1990). Planinske biljke, Beograd.
- Lampe, J.W. (1999). Health effects of vegetables and fruit: assessing mechanisms of action in human experimental studies, Am. J. Chin. Nutr., Vol. 70, 475-490.
- MacVicar J. (2006). Ljekovito i začinsko bilje , Naklada Uliks, Rijeka.
- Milić J., Primorac M., Savić S. (2012). Frarmaceutska tehnologija I, Farmaceutski fakultet, Beograd.
- Piletić V. M., Miletić L.J. B. (1989). Organska hemija, Novi Sad, Tehnološki fakultet.
- Šiler-Marinković S. (2009). Vitamini, Beograd, Tehnološko-metalurški fakultet.

## DETERMINING THE OPTIMAL METHOD OF EXTRACTION OF ROOT *POLIGONUM BISTORT L.*

Jelena Mladenovoć<sup>1</sup>, Milena Đurić<sup>1</sup>, Ljiljana Bošković-Rakočević<sup>1</sup>, Duško Brković<sup>1</sup>, Mirjana Jeremić<sup>1</sup>, Milan Vesković<sup>2</sup>

### Abstract

The use of medicinal herbs in the prevention and treatment of various diseases is as old as humanity itself. Today, the most important group of herbal preparations are extracts, which are obtained by applying different methods of extraction, ranging from simple technologies to advanced techniques. Three methods of extracting the root of *Polygonum bistort L.* were made. Based on the results obtained, we can conclude that the smallest yield was obtained by Soxlet extraction of 4.95%, followed by maceration of 8.72%, and the highest yield was obtained by ultrasonic extraction of 28.5%. The method of ultrasonic extraction proved to be the most optimal method for this plant species, because it shortly lasts for maceration and takes place at a lower temperature, which is not the case with the Soxlet method, which occurs at high temperature, and it is assumed that there has been degradation of vitamin C. The largest with the vitamin C hold is also determined in the ultrasonic extract of 5.5 mg / 100 g of extract.

**Key words:** extraction, yield, vitamin C content.

<sup>1</sup>University of Kragujevac, Faculty of Agronomy Čačak, Cara Dušana 34, Čačak, Serbia (jelenamala@kg.ac.rs)

<sup>2</sup>University of Kragujevac, Faculty of Technical Sciences in Čačak, Svetog Save 65, Čačak, Serbia



## PRELIMINARY ASSESSMENT OF ANTIOXIDATIVE PROPERTIES OF GLUTARIMIDE DERIVATIVES

Jelena Popović-Dorđević<sup>1\*</sup>, Maja Kozarski<sup>1</sup>, Anita Klaus<sup>2</sup> Nebojša Banjac<sup>1</sup>

**Abstract:** Preventing or slowing down the formation of oxidative stress, that occurs as a result of increasing amounts of free radicals in the body, is a major task for drug development. Glutarimide derivatives were examined for radical scavenging activities. The study revealed that the compounds tested showed no scavenging ability of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl DPPH radical in the examined concentration range (0.05–3.00 mg/mL), except for compound 4 (2,6-dioxo-1-phenethyl-piperidine-3-carboxylic acid 1,1-dimethyl-propyl ester), which showed very weak activity (2.3–5.7%) compared to 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-methylphenol (BHT), ascorbic acid,  $\alpha$ -tocopherol and catechin used as standards. These results indicate the need for designing the structural analogs of glutarimide 4, with diverse substituents in order to improve radical scavenging activity of these compounds.

**Key words:** Glutarimide derivatives, Antioxidant activity, DPPH

### Introduction

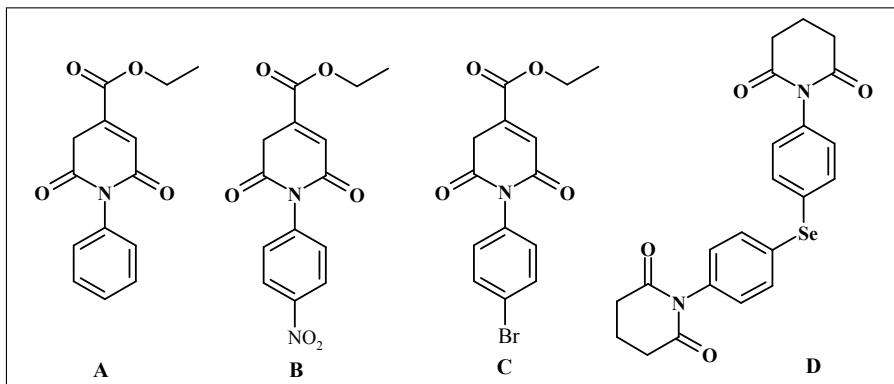
Natural products, as constituents of plants, have always been sources of drugs. The development of new therapeutic agents and drug discovery are focused on natural products due to their large diversity in nature and their widespread biological activities. Preventing or slowing down the formation of oxidative stress, that occur as a result of increasing amounts of free radicals in the body is a major task for drug development. Studies have shown that this pathophysiological disorder is connected with several degenerative diseases such as obesity, diabetes mellitus, cardiovascular diseases, cancer, etc. (Blake and Winyard, 1995; Halliwell and Gutteridge, 1998).

Antioxidants are compounds that prevent the autoxidation processes of oils, fats, colour etc. There are numerous synthetic compounds that have antioxidant character, for example: butylated hydroxytoluene (BHT), butylated hydroxyanisole (BHA), tertiary butyl hydroquinone (TBHQ), propyl gallate (PG), octyl gallate (DG) and dodecyl gallate (OG). It should also be noted that BHT is used as an antioxidant and color stabilizer as well as the preservative of foods. Many genotoxic studies have shown that BHT not induce mutations, however BHT did modify the genotoxicity of many other agents. BHT added to the diet of mice caused significant hepatocellular adenomas, increased liver weight and decreased activity of several hepatic enzymes (Lanigan and Yamarik, 2002).

<sup>1</sup>University of Belgrade, Faculty of Agriculture, Department of Chemistry and Biochemistry, Nemanjina 6, 11080 Belgrade, Serbia  
[\(jelenadj@agrif.bg.ac.rs\)](mailto:jelenadj@agrif.bg.ac.rs)

<sup>2</sup>University of Belgrade, Faculty of Agriculture, Department of Technological Microbiology, Nemanjina 6, 11080 Belgrade, Serbia

It was found that different compounds with piperidinedione moiety have moderate antioxidant activity (Ajay et al, 2012) (Figure 1, A-C). Also, antioxidant activity of seleno derivatives of glutarimides was investigated (Figure 1, D) however they showed low radical scavenger activity (Shaaban et al., 2015).



*Fig 1. Ethyl 2,6-dioxo-N-aryl-piperid-3-ene-4-carboxylate derivatives (A-C) and selenium containing glutarimide (D)*

Slika 1. Derivati etil 2,6-diokso-N-aryl-piperid-3-en-4-karboksilata (A-C) i glutarimid sa selenom (D)

Based on the literature reports, we examined selected glutarimide derivatives on radical scavenging activity. To the best of our knowledge, there is no literature data on antioxidative activity of these compounds. Herein we report the results of this preliminary study.

### Material and methods

Compounds 1 and 2 were prepared according to a modified literature procedure which involves cyclization of amido-esters derived from corresponding glutaric acid anhydrides in presence of the base (NaH) in refluxing toluene yielding glutarimides 1 and 2. Compounds 3-5 were synthesized by tandem process (a base-catalyzed Michael addition of active methylene compounds to secondary acrylamides, followed by intramolecular *N*-acylation of the carboxamido group) (Popović-Djordjević et al., 2005).

The free radical scavenging activities of compounds were measured by using the method of Bilos (1958). Briefly, 0.2 mM methanol solution of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) was prepared and 2mL was added to various concentrations of tested compounds (3.00, 1.00, 0.10 and 0.05 mg/mL) dissolved in absolute methanol. The mixture was shaken vigorously and allowed to stand at room temperature for 30 min. Then the absorbance was measured at 517 nm against the blank using a UV/Vis spectrophotometer (Shimadzu UV-1650 PC, Japan). Lower absorbance of the reaction

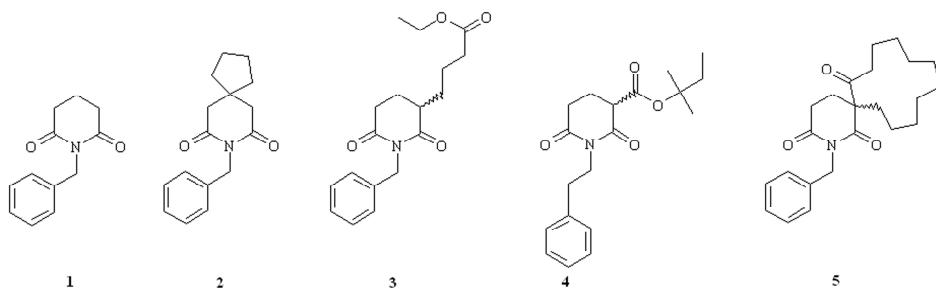
mixture indicated higher free radical scavenging activity. Percent of DPPH free radical scavenging activity was calculated from the equation  $[(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$ .

Ascorbic acid, BHT, catechin and  $\alpha$ -tocopherol dissolved in methanol were used as the positive controls. Results were finally expressed as EC<sub>50</sub> values (mg of compound/mL), the effective concentrations at which DPPH radicals were scavenged by 50% and were obtained by interpolation from linear regression analysis.

## Results and discussion

The antioxidant status of humans reflects the dynamic balance between the antioxidant defence and prooxidant conditions. When the mechanism of antioxidant protection becomes unbalanced by factors such as ageing, impaired physiological functioning may occur, resulting in diseases and accelerated ageing. Antioxidant supplements may help to reduce oxidative damage. Identification of new antioxidants remains a highly active research area (Kozarski et al., 2015). The DPPH method is a standard for the evaluation of the (chemical) antioxidant property of nutritional products and novel compounds. It is the fast and efficient method and as being standard, easily comparable with data which are plentiful in literature (Shaaban et al., 2015).

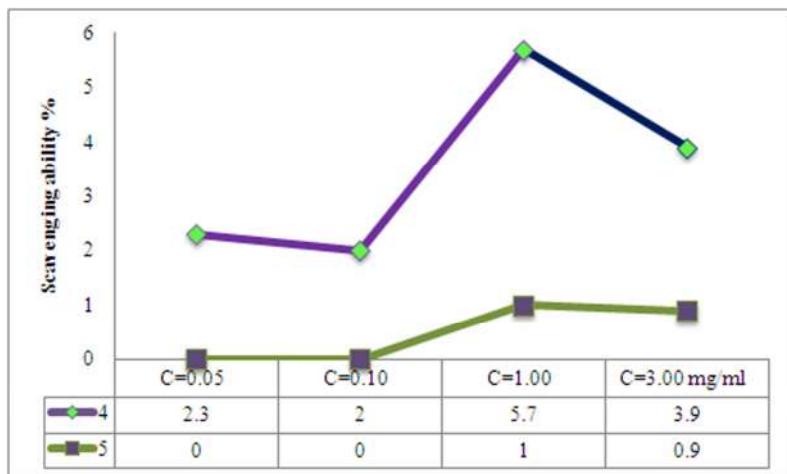
The antioxidant profile of compounds 1-5 (Figure 2) was examined by *in vitro* protocol, involving their interaction with the DPPH stable free radical. The method is based on the reduction of DPPH in solution, in the presence of a hydrogen-donating antioxidant and is dependent on the formation of the nonradical form DPPH-H in the reaction (Bilos, 1958; Gulcin et al., 2003). Ascorbic acid, BHT, catechin and  $\alpha$ -tocopherol were used as the positive controls.



*Fig.2. Structures of studied glutarimides (1-5)*  
Slika 2. Strukture ispitivanih glutarimida (1-5)

The obtained results showed that compounds 4 (2,6-dioxo-1-phenethyl-piperidine-3-carboxylic acid 1,1-dimethyl-propyl ester) and 5 (2-Benzyl-2-aza-spiro[5.11]heptadecane-1,3,7-trione) showed noticeable activity at the concentration of 1.00 mg/mL (Graph.1). Recent findings indicated that some of ethyl 2,6-dioxo-N-aryl-piperid-3-ene-4-carboxylates showed promising free radical scavenging ability. The compounds A-C (Figure 1) showed radical scavenging ability up to 60% at

concentration of 50 µg/ml (Ajay et al., 2012). Despite the structural similarity, the studied glutarimides 1-5 showed lower activity.



*Graph. 1. Effect of different concentrations of the glutarimides 4 and 5 on the interaction with DPPH*

*Graf. 1. Uticaj različitih koncentracija glutarimida 4 i 5 na interakciju sa DPPH*

The other compounds tested had no scavenging ability of DPPH radical in the examined concentration range (0.05-3.00 mg/mL) (Table 1).

The radical scavenging abilities of the positive controls BHT, ascorbic acid, α-tocopherol and catechin were between 0-21.0%, 79.8-69.6%, 84.3-83.3% and 13.9-77.8%, respectively (Table 1).

*Table 1. DPPH scavenging activity of glutarimides 1-5 (%)*  
Tabela 1. DPPH aktivnost glutarimida 1-5 (%)

Comp.	Percentage of interaction with DPPH				
	Concentration of compound (mg/mL)	0.05	0.10	1.00	3.00
<b>1</b>	/n.d. <sup>a</sup>	/	/	/	/
<b>2</b>	/	/	/	/	/
<b>3</b>	/	/	/	/	/
<b>4</b>	2.3±0.2 <sup>b</sup>	2.0±0.1	5.7±0.2	3.9±0.3	/
<b>5</b>	/	/	1.0±0.3	0.9±0.4	/
BHT	0±0.0	5.2±0.1	10.4±0.3	21.0±0.1	>3
ascorbic acid	79.8±2.7	81.9±1.9	80.5±0.8	69.6±3.1	<0.05
α-tocopherol	84.3±2.2	83.7±3.9	81.2±1.7	83.3±1.1	<0.05
catechin	13.9±0.8	15.3±0.4	71.0±1.2	77.8±2.7	0.66

<sup>a</sup>EC<sub>50</sub> value: the effective concentration at which the DPPH radicals were scavenged by 50%

<sup>b</sup>Each value is expressed as mean ± SEM (n=3); /\*n.d. (not detected)

## Conclusion

Results of this study, which investigated the antioxidant activity of glutarimide derivatives indicated that tested compounds 1-5 had no scavenging ability on DPPH radical; the exception was the compound 4 which showed weak activity (2.3-5.7%) at the studied concentration range. The derivative 4 will be a starting compound for further structural modification to obtain molecules with better antioxidant activity.

## Acknowledgment

The research presented in this article is part of projects "Proučavanje odnosa strukture i aktivnosti novosintetisanih biološki aktivnih supstanci" (Grant No. 172032) and "Razvoj novih inkapsulacionih i enzimskih tehnologija za proizvodnju biokatalizatora i biološki aktivnih komponenata hrane u cilju povećanja njene konkurentnosti, kvaliteta i bezbednosti" (Grant No. 46010), financially supported by the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia.

## References

- Ajay K. K., Lokantha R. K. M., Vasanth K. G., Mylarappa B. N. (2012). A facile route for the synthesis of ethyl N-aryl-2,6-dioxo-piperid-3-ene-4-carboxylates and their biological activity. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 4(4): 564-568.
- Bilos M. S. (1958). Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. Nature. 181, 1199-1200.
- Blake D., Winyard P. G. (1995). The Handbook of Immunopharmacology, Page C. (ed), San Diego, USA: Academic Press.
- Gulcin I., Oktay M., Kirecci E., Kufrevioglu O.I. (2003). Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts Food Chemistry. 83(3): 371-382.
- Halliwel B., Gutteridge J. M. C. (1998). Free Radicals in Biology and Medicine, 4<sup>th</sup> ed., Oxford University Press, Oxford.
- Kozarski M., Klaus A., Jakovljevic D., Todorovic N., Vunduk J., Petrovic P., Niksic M., Vrvic M.M., Van Griensven L. (2015). Antioxidants of edible mushrooms. Molecules. 20(10): 19489-525.
- Lanigan R. S., Yamarik T. A. (2002). Final Report on the Safety Assessment of BHT. International Journal of Toxicology. 21(2): 19-94.
- Popović-Djordjević J. B., Ivanović M. D., Kiricojević V. D. (2005). A novel tandem process leading to functionalized glutarimides. Tetrahedron Letters. 46(15): 2611-2614.
- Shaaban S., Negm A., Sobh M. A., Wessjohann L. A. (2015). Organoselenocyanates and symmetrical diselenides redox modulators: Design, synthesis and biological evaluation . European Journal of Medicinal Chemistry. 97: 190-201.

## **PRELIMINARNA PROCENA ANTOOKSIDATIVNIH OSOBINA GLUTARIMIDNIH DERIVATA**

*Jelena Popović-Dorđević<sup>1\*</sup>, Maja Kozarski<sup>1</sup>, Anita Klaus<sup>2</sup>, Nebojša Banjac<sup>1</sup>*

**Izvod:** Sprečavanje ili usporavanje nastajanja oksidativnog stresa, koji se javlja kao posledica povećanja količine slobodnih radikala u organizmu, glavni je zadatak u postupku iznalaženja i razvoja odgovarajućih medikamenata. Ispitivana je sposobnost odabranih glutarimidnih derivata da uklanjaju slobodne radikale. Rezultati eksperimenta pokazali su da proučavana jedinjenja nemaju sposobnost "hvatanja" DPPH radikala u rasponu koncentracija (0.05–3.00 mg/mL), osim jedinja 4 (1,1-dimetil-propil estar 2,6-diokso-1-fenetil-piperidin-3-karboksilne kiseline), koji je ispoljio slabu aktivnost (2,3–5,7%) u poređenju sa 2,6-bis(1,1-dimetiletil)-4-metilfenolom (BHT), askorbinskom kiselinom,  $\alpha$ -tokoferolom i katehinom koji su korišćeni kao standardi. Ovi rezultati ukazuju da je potrebno sintetisati nove strukturne analoge glutarimida 4, sa različitim supstituentima, kako bi se povećala njihova antioksidativna aktivnost.

**Ključne reči:** derivati glutarimida, antioksidativna aktivnost, DPPH

---

<sup>1</sup>Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Katedra za hemiju i biohemiju, Nemanjina 6, 11080 Beograd, Srbija ([jelenadj@agrif.bg.ac.rs](mailto:jelenadj@agrif.bg.ac.rs))

<sup>2</sup>Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Katedra za tehnološku mikrobiologiju, Nemanjina 6, 11080 Beograd, Srbija

## CANTHARELLUS CIBARIUS AS POTENT SOURCE OF BIOACTIVE COMPOUNDS

Marijana Kosanić

**Abstract:** This study is designed for the determination of antioxidant, antimicrobial and neuroprotective potential of acetone extract of edible mushroom *Cantharellus cibarius*. Antioxidant activity was evaluated by measuring the scavenging capacity of tested sample on DPPH and superoxide anion radicals, by the reducing power assay and by measuring the amounts of total phenolics in extract. As a result of the study, *C. cibarius* extract had potent antioxidant activity ( $IC_{50}$  were  $16.05 \mu\text{g ml}^{-1}$  for DPPH radical scavenging and  $136.11 \mu\text{g ml}^{-1}$  for superoxide anion radicals scavenging while absorbance for reducing power was found to be from 0.06 to 0.11). The total content of phenol in extract was  $5.24 \mu\text{g PE mg}^{-1}$ . Further, the antimicrobial potential was determined by a microdilution method, where minimum inhibitory concentration values were from  $0.019$  to  $10 \text{ mg ml}^{-1}$ . For neuroprotective potential was determined capacity of extract to inhibit acetylcholinesterase which higher activity is directly associated with neurodegenerative processes. Tested species showed activity against acetylcholinesterase in dose dependent manner.

**Key words:** mushroom, antimicrobial, antioxidant, neuroprotective

### Introduction

Mushrooms are an excellent and healthy food in many parts of the world. They are considered to be a good source of proteins, fibre, vitamins and minerals. Edible mushrooms are low in calories, are fat free, cholesterol free and have very low levels of sugar. Besides the important nutritional values, mushrooms also have a valuable health benefits. Their consumption has consistently been shown to have beneficial effects on human health. Numerous studies show that edible mushrooms have many important health promoting properties, including anticancer, immunomodulatory, antiinflammatory, antidiabetic, antiviral, antioxidant, antimicrobial, antineurodegenerative properties as well as antihypertensive and cholesterol-lowering properties (Mishra et al., 2015; Kosanić et al. 2016; Kosanić et al. 2017). Due to these properties, they have been recognized as functional foods, and as a source for the development of medicines and nutraceuticals. Mushrooms exhibit different pharmaceutical activities because they produce a large variety of bioactive compounds, such as organic acids, alkaloids, terpenoids, steroids, and phenolic compounds (Kosanić et al. 2017). Hence, the present investigation was designed to show the potential antioxidant, antimicrobial and neuroprotective activities of the important edible mushroom *Cantharellus cibarius*.

---

University of Kragujevac, Faculty of Sciences, Radoja Domanovića 12, Kragujevac, Serbia  
(marijanakosanic@yahoo.com)

## Material and methods

Fungal sample of *C. cibarius* Fr., was collected from Kamenica, Kragujevac, Serbia, in June of 2017. The demonstration samples are preserved in facilities of the Department of Biology and Ecology of Kragujevac, Faculty of Science (Voucher No. 21). The taxonomic identification of mushrooms was done using several standard keys (Moser, 1983; Uzelac, 2009).

Finely dry ground thalli of the examined mushrooms (100 g) were extracted using methanol (500 ml) in a Soxhlet extractor. The extracts were filtered and then concentrated under reduced pressure in a rotary evaporator. The dry extracts were stored at  $-18^{\circ}\text{C}$  until they were used in the tests. For further experimental assays, 5% dimethyl sulfoxide (DMSO) was used for dissolving extract (Kosanić et al., 2017).

Antioxidant activity was evaluated by free radical scavenging, superoxide anion radical scavenging and reducing power. The free radical scavenging activity of lichen extracts was measured by 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazil (DPPH) according to the Kosanić et al. method (2017). Oyaizu method (1986) was used to determine the reducing power. The superoxide anion radical scavenging activity was detected according to the Nishimiki et al. method (1972). The amount of total phenols in the lichen extracts was determined as pyrocatechol equivalent using Folin-Ciocalteu reagent according to Slinkard and Singleton's method (1997).

Antimicrobial activity of investigated mushroom was tested by determining the minimal inhibitory concentration (MIC) by the broth microdilution method with using 96-well micro-titer plates (Sarker et al., 2007) against five species of bacteria: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *B. cereus* (ATCC 10987), *Escherichia coli* (ATCC 25922) and *Proteus mirabilis* (ATCC 12453) and five species of fungi: *Aspergillus niger* (ATCC 16888), *Candida albicans* (ATCC 10259), *Penicillium italicum* (ATCC 10454), *Mucor mucedo* (ATCC 20094), *Trichoderma viride* (ATCC 13233) obtained from the American Type Culture Collection (ATCC).

The rate of inhibition of acetylcholinesterase (AChE) activity was determined spectrophotometrically using 96-well microtitre plates employing the method of Ellman et al. (1961).

## Results and discussion

The antioxidant, antimicrobial and neuroprotective potentials of edible mushroom *C. cibarius* were presented in this study.

The scavenging DPPH radicals, superoxide anion radical scavenging, reducing power and phenol content of the studied extract are summarized in Table 1. The  $\text{IC}_{50}$  values were  $16.05 \mu\text{g ml}^{-1}$  and  $136.11 \mu\text{g ml}^{-1}$  for DPPH radicals and superoxide anion radicals scavenging activity, respectively. As shown in Table 1, reducing power was concentration dependant. Measured values of absorbance for reducing power varied from 0.06 to 0.11. The total phenolics was determined as  $\mu\text{g}$  pyrocatechol equivalent per mg of extracts using the formula obtained from calibration curve of standard solution of

pyrocatechol ( $y = 0.0057x - 0.1646$ ,  $R^2 = 0.9934$ ). The total content of phenol in extract was  $5.24 \mu\text{g PE mg}^{-1}$ .

*Table 1. DPPH radical scavenging activity, superoxide anion scavenging activity, reducing power and phenolics content of acetone extract of *Cantharellus cibarius**  
 Tested extract acted on all the microorganisms used. The MIC fluctuated in a range of  $0.019\text{--}0.078 \text{ mg ml}^{-1}$  for bacteria and  $5\text{--}10 \text{ mg ml}^{-1}$  for fungi (Table 2).

Tested mushroom	DPPH radical scavenging activity IC50 ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ )		
<i>C. cibarius</i>	$16.05 \pm 0.22$		
Ascorbic acid	$6.42 \pm 0.18$		
Tested mushroom	Superoxide anion scavenging activity IC50 ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ )		
<i>C. cibarius</i>	$136.11 \pm 1.03$		
Ascorbic acid	$115.21 \pm 1.49$		
Tested mushroom	Reducing power Absorbance (700 nm)		
	2000 $\mu\text{g ml}^{-1}$	1000 $\mu\text{g ml}^{-1}$	500 $\mu\text{g ml}^{-1}$
<i>C. cibarius</i>	$0.11 \pm .037$	$0.07 \pm .005$	$0.06 \pm .004$
Ascorbic acid	$2.11 \pm .032$	$1.65 \pm .021$	$0.41 \pm .008$
Tested mushroom	Phenolics content ( $\mu\text{g PE mg}^{-1}$ of extract)		
<i>C. cibarius</i>	$5.08 \pm 0.16$		

*Table 2. Minimum inhibitory concentration (MIC) of acetone extract of edible mushroom *Cantharellus cibarius**

Tested species showed activity against AChE in dose dependent manner. Inhibition of AChE ranged between 21.99 % and 43.92 % (Table 3).

*Table 3. Acetylcholinesterase inhibition of acetone extract of edible mushroom*

Mushroom species	<i>Cantharellus cibarius</i>	Streptomycin	Ketoconazole
	MIC ( $\text{mg ml}^{-1}$ )		
<i>Bacillus cereus</i>	0.019	0.019	-
<i>Bacillus subtilis</i>	0.039	0.019	-
<i>Escherichia coli</i>	0.078	0.039	-
<i>Proteus mirabilis</i>	0.078	0.078	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.078	0.039	-
<i>Aspergillus niger</i>	5	-	0.078
<i>Candida albicans</i>	5	-	0.039
<i>Mucor mucedo</i>	10	-	0.156
<i>Penicillium italicum</i>	10	-	0.156
<i>Trichoderma viride</i>	10	-	0.078

*Cantharellus cibarius*

The results presented here indicate that the acetone extract form *C. cibarius* showed very strong DPPH radical and superoxide anion radical scavenging activities, while

Tested mushrom	Acetylcholinesterase (AChE) inhibition (%)			
	1000 µg ml <sup>-1</sup>	500 µg ml <sup>-1</sup>	250 µg ml <sup>-1</sup>	125 µg ml <sup>-1</sup>
<i>C. cibarius</i>	43.92 ± 0.97	36.83 ± 0.91	26.06 ± 0.88	21.99 ± 0.65
Galantamine	92.23 ± 0.56	87.08 ± 0.51	74.31 ± 0.44	68.12 ± 0.32

reducing power was less pronounced. In the literature there are several data for the antioxidant activity of *C. cibarius* ([Ebrahimzadeh et al. 2015](#); Dimitrijević et al. 2015; Shomali et al. 2016). They determined antioxidant activity for this species by different assays and for different extraction solvent used and potent antioxidant activity was found in all cases.

Similar to our results, numerous researchers found relatively strong antimicrobial activity for *C. cibarius* (Dimitrijević et al., 2015; Popova 2015; Kolundžić et al., 2017). The intensity of the examined antimicrobial effect depended on the tested microorganisms and the used concentration of extract. In our experiment, it should be noted that the bacteria were more resilient than fungi. This resistance is likely due to the difference in the structure of the cell wall. Gram negative bacteria have a wall associated with an outer complex membrane, which slows down the passage of hydrophobic compounds. Gram positive bacteria are more susceptible to the antibiotic agents due to absence outer membrane. Fungi were more resistant than bacteria due to the more complex structure of the cell wall ([Kosanić et al. 2017](#)).

*C. cibarius* was for the first time tested in terms of inhibition of AChE activities. Previous researches showed that extracts of few fungal species can contain compounds which inhibit AChE activity ([Patocka 2012](#); [Janjušević et al. 2017](#)). This activity in mushrooms is attributed to terpenoids and alkaloids which inactivate AChE by binding for active centre or peripheral binding sites ([Patocka 2012](#); [Jamila et al. 2015](#)). In comparison with AChE activity inhibition rate, which was obtained by other mushrooms, *C. cibarius* extract can be considered as good neuroprotective agent.

## Conclusion

The present study represents selected mushroom as very interesting source of bioactive compounds which provide unlimited opportunities for new antioxidant, antimicrobial and neuroprotective agent.

## Acknowledgment

The research presented in this article is part of project Ministry of Science, Technology, and Development of the Republic of Serbia (projects no. 173032).

## References

- Dimitrijevic M., Jovanovic V.S., Cvetkovic J., Mihajilov-Krstev T., Stojanovic G. et al., (2015). Screening of antioxidant, antimicrobial and antiradical activities of twelve selected Serbian wild mushrooms. *Analytical Methods*. 7:4181-4191.
- Ebrahimzadeh M.A., Safdari Y., Khalili M. (2015). Antioxidant Activity of Different Fractions of Methanolic Extract of the Golden Chanterelle Mushroom *Cantharellus cibarius* (Higher Basidiomycetes) from Iran. *International Journal of Medicinal Mushrooms*. 17:557-565.
- Ellman G.L., Courtney D.K., Andreas V., Feather-Stone R.M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*. 7: 88-95.
- Jamila N., Khairuddeen M., Yeong K.K., Osman H., Murugaiyah V. (2015). Cholinesterase inhibitory triterpenoids from the bark of *Garcinia hombroniana*. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 30: 133±-139.
- Janjušević Lj., Karaman M., Šibil F., Tommonaro G., Iodice C., et al. (2017). The lignicolous fungus *Trametes versicolor* (L.) Lloyd (1920): A promising natural source of antiradical and AChE inhibitory agents. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 32: 355-362.
- Kolundžić M., Stanojković T., Radović J., Tačić A., Dodevska M. et al., (2017). Cytotoxic and antimicrobial activities of *Cantharellus cibarius* Fr.(Cantarellaceae), *Journal of Medicinal Food*. 2017; 20:790-796.
- Kosanić M., Ranković B., Rančić A., Stanojković T. (2017). Evaluation of metal contents and bioactivity of two edible mushrooms *Agaricus campestris* and *Boletus edulis*. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 29: 98-103
- Kosanić, M., Ranković, B., Rančić, A., Stanojković T. (2016). Evaluation of metal concentration and antioxidant, antimicrobial, and anticancer potentials of two edible mushrooms *Lactarius deliciosus* and *Macrolepiota procera*. *Journal of Food and Drug Analysis*. 24: 477-484.
- Mishra K.K., Pal R.S., Bhatt J.C. (2015). Comparison of antioxidant properties in cap and stipe of *Lentinula edodes* – a medicinal mushroom. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 27: 562-569.
- Moser M. (1983). In Keys to Agarics and Boleti (Polyporales, Boletales, Agaricales, Russulales); Roger Phillips: London, U.K.
- Nishimiki M., Rao N.A., Yagi K. (1972). The occurrence of super-oxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 46:849-853.
- Oyaizu M. (1986). Studies on products of browning reaction prepared from glucoseamine. *Japanes Journal of Nutrition*. 44:307-314.
- Patocka J. (2012). Natural cholinesterase inhibitors from mushrooms. *Military Medical Science Letters*. 81: 40-44.
- Popova T. (2015). Investigations on antimicrobial activity in vitro of liquid cultures of *Cantharellus cibarius*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 4:674-683.

- Sarker S.D., Nahar L., Kumarasamy Y. (2007). Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the in vitro antibacterial screening of phytochemicals. *Methods*. 42:321-324.
- Shomali N., Onar O., Akata I., Yildirim O. (2016). Screening antioxidant and antimicrobial properties of *Polyporus squamosus* and *Cantharellus cibarius* extracts and their effects on glutathione-s-transferase activity. *Turkish Journal of Biochemistry* 41: (S4)
- Slinkard K., Singleton V.L. (1997). Total phenolic analyses: automation and comparison with manual method. *American Journal of Enology and Viticulture*. 28: 49-55.
- Uzelac B. (2009). *Gljive Srbije i Zapadnog Balkana*. Beograd: BGV Logik.

## HEMIJSKA KARAKTERIZACIJA ORGANSKOG KROMPIRA

Milena Durić<sup>1</sup>, Jelena Mladenovoć<sup>1</sup>, Ljiljana Bošković-Rakočević<sup>1</sup>,  
Gordana Šekularac<sup>1</sup>, Ljiljana Stefanović-Mandić<sup>1</sup>

**Izvod:** U radu su prikazani rezultati ispitivanja kvaliteta krtole organskog krompira iz Prijevora, sa poseda registrovane proizvodnje. U cilju ispitivanja kvaliteta urađene su sledeće analize: određivanje vlage, određivanje sadržaja pepela, sadržaj skroba, sadržaj celuloze, sadržaj askorbinske kiseline i određivanje sadržaja slobodne kiselosti.

Sadržaj pepela u ispitivanom uzorku iznosio je 0,96%, sadržaj vlage 74,8%, procenat skroba je iznosio 21,39%, sadržaj celuloze je iznosio 1,04%, sadržaj askorbinske kiseline iznosio je 33,77 mg/100 g uzorka i sadržaj slobodne kiselosti iznosio je 0,05 mg/100 g krompira.

**Ključne reči:** organska proizvodnja, kontrola kvaliteta, krompir.

### Uvod

Krompir (*Solanum tuberosum* L.) predstavlja zeljastu višegodišnju biljku iz grupe skrivenosemenica. Vodi poreklo iz Južne Amerike, a kod nas je prenet iz Nemačke. Po svojoj hranljivoj vrednosti i površinama na kojima se uzgaja spada u vodeće kulture. Karakteriše ga široka adaptivna mogućnost, visoka reproduktivna sposobnost i odlična nutritivna vrednost (Bugarčić, 2015). U Srbiji se gaji u različitim agroekološkim uslovima, na različitim tipovima zemljišta, na parcelama sa neujednačenim sadržajem hranljivih elemenata na oko 50 000 ha trendom smanjenja površina poslednjih godina i sa prosečnim prinosom od svega 13-15 t ha<sup>-1</sup>, mada napredni proizvođači ostvaruju prinos 50 t ha<sup>-1</sup> (Hadžić i sar., 2002).

Krompir je biljka vrsta specifičnih i umerenih zahteva prema temperaturi. Za razliku od većine drugih biljaka kojima zemljište služi samo kao supstrat iz koga uzimaju vodu i hranljive materije putem korenovog sistema, krompir u zemljištu stvara i vegetativne organe – krtole, a ostale vegetativne i generativne organe sa plodom (bobica), obrazuje iznad površine zemlje. Krompir čak 80% od ukupne mase biljke formira u zemljištu (Lazić i sar., 1998).

Prema podacima Direkcije za nacionalne referentne laboratorije u našoj zemelji postoji oko 1800 proizvođača organskog krompira.

Organska proizvodnja je nastala kao odgovor na negativnosti vezane za delovanje čoveka u procesu konvencionalne proizvodnje. Usled saznanja da su pesticidi izuzetno štetili i da utiču na genetske promene u organizmu čoveka, kao i da mineralna đubriva mogu nositi radioaktivnu komponentu, bilo je neophodno pronaći rešenje u proizvodnji hrane koja ove negativnosti izbegava posebnim sistemom poljoprivredne proizvodnje (Blagojević, 2012). Primena organske proizvodnje isključuje upotrebu opasnih materija

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija (jelenamala@kg.ac.rs);

i samim tim povećava se kvalitet poljoprivrednih proizvoda i njihova zdravstvena ispravnost.

### **Materijal i metode rada**

Ispitivani organski krompir vodi poreklo iz Prijevora od proizvođača koji ima registrovanu organsku poroizvodnju.

Krompir je gajen po principima organske poljoprivrede koje su propisane Zakonom o organskoj proizvodnji (Službeni glasnik Republike Srbije broj 30/10 od 07.05.2010). Ceo proces proizvodnje je kontrolisan od stane ovlašćenih sertifikovanih organizacije koje izdavanjem sertifikata garantuju da u tehnologiji proizvodnje nisu korišćene nikakve sintetičke materije za prihranu ili zaštitu useva.

U okviru eksperimentalnog dela roda izvršene su sledeće analize: određivanje sadržaja pepela, vlage, sadržaj skroba, celuloze, askorbinske kiseline i ukupne kiselosti. Analize su urađene u tri ponavljanja.

Pepeo predstavlja neisparsljive sastojke koji ostaju nakon spaljivanja organskih komponenata određenih proizvoda.

Metoda određivanja sadržaja vlage sušenjem bazira se na sušenju ispitivanog uzorka do konstantne mase.

Skrob je uraden polarimetrijski zahvaljujući svojoj optičkoj aktivnosti. Pre određivanja, pomoću hlorovodonične kiseline, preveden je u rastvorno stanje.

Za određivanje celuloze korišćena metoda je po Šarer-Kiršneru pri čemu se uzorak razara smešom koja se sastoji od azotne, sirćetne i trihlor-sirćetne kiseline. Azotna kiselina oksiduje i nitruje sve supstance osim celuloze, a razgrađeni produkti n.p.r. lignini, se rastvaraju u sirćetnoj kiselini.

Kvalitativno određivanje ukupnog vitamina C zasniva se na reverzibilnoj sposobnosti oksido-redupcionog sistema askorbinska-dehidroaskorbinska kiselina. Za ovo određivanje korišćena je metoda po Tilmansu.

Slobodna i ukupna kiselost određuje se titracijom pomoću rastvora baze (natrijum ili kalijum hidroksida) poznate koncentracije u prisustvu indikatora fenolftaleina ili potenciomaterijski.

### **Rezultati istraživanja i diskusija**

Sadržaj pepela, vlage, skroba i celuloze prikazani su u Tabeli 1.

Табела 1. Садржај пепела, влаге, скроба и целулозе у органском кромпиру  
*Table 1.The contents of the ash, moisture, starch cellulose in organic potatoes*

Pepeo, %	Vлага, %	Celuloza, %	Skrob, %
0,96	74,8	1,04	21,39

Srednja vrednost sadržaja pepela u ispitivanom organskom krompiru je iznosila 0,96%. Sveže krtole konvencionalnog krompira, prema istraživanju drugih autora iznose od 0,44-1,9% pepela (Singh i sar., 2008).

Srednja vrednost sadržaja vlage u ispitivanom organskom krompiru iznosila je 74,8%. Sveže krtole konvencionalno gajenog krompira, prema istraživanjima drugih autora, u zavisnosti od sorte i uslova gajenja sadrže od 63,2-86,9% vode (prosečno 77,8%) (Li X i sar., 2006).

Nutritivna vrednost krtola krompira zavisi od sadržaja korisnih hranljivih materija, prvenstveno skroba. Sadržaj skroba je odličan pokazatelj kvaliteta, ali ima i specifičan tehnološki značaj. Procenat skroba u ispitivanom organskom krompiru je iznosio 21,39%. Dobijeni rezultati u ovom radu su saglasni sa istraživanjima drugih autora (Singh i sar., 2008).

Celuloza je strukturni element ćelijskih zidova biljaka i predstavlja jednu od komponenata nerastvorljivih prehrabrenih vlakana. Srednja vrednost sadržaja celuloze u ovom uzorku organskog krompira iznosila je 1,04%. Dobijeni rezultati su saglasni sa rezultatima (Singh i sar., 2008).

Sadržaj askorbinske kiseline u krtoli krompira iznosio je 33,77 mg/100 g uzorka. Rezultat je saglasan sa rezultatima autora (Hajšlova i sar., 2005), koji su ustanovali veći sadržaj vitamina S u krtolama u organskom sistemu gajenja, u odnosu na sadržaj vitamina S u krtoli u konvencionalnom sistemu gajenja.

Kiselost se obično izražava preko vinske, jabučne ili limunske kiseline, obzirom na njihovu zastupljenost u ispitivanom uzorku. Slobodna kiselost u našem uzorku je iznosila 0,05g/100 g krompira.

### Zaključak

Na osnovu dobijenih rezultata može se doći do sledećih zaključaka i to: sadržaj pepela 0,96%, sadržaj vlage 74,8%, sadržaj celuloze 1,04%, sadržaj askorbinske kiseline je iznosio 33,77 mg/100 g uzorka i slobodna kiselost 0,05 g /100 g krompira.

Pregledom možemo zaključiti da organski krompir poseduje veće količine vitamina C, celuloze i skroba, samim tim predstavlja bogatiju namirnicu hranljivim sastojcima.

### Napomena

Istraživanja u ovom radu deo su projekta „Novi koncept oplemenjivanja sorti i hibrida povrća namenjenih održivim sistemima gajenja uz primenu biotehnoških mera“ T.R. 31059, koji finansira Ministarstvo Republike Srbije za nauku i tehnološki razvoj.

## Literatura

- Bugarčić Ž. (2015). Krompir-tehnologija proizvodnje i vodič kroz sorte, Arum: Beograd.
- Lazić B., Đurovka M., Marković V., Ilin Ž. (1998). Povrtarstvo, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet Novi Sad: 243-265.
- Blagojević, LJ. (2012). Životna sredina i zdravlje, Univerzitet u Nišu, Fakultet zaštite na radu: Niš.
- Hadžić V., Nešić LJ., Belić M., Furman T., Savin L. (2002). Zemljivo potencijal Srbije, Tractors and Power Machines, Volume 7, Issue 4: 43-51.
- Službeni glasnik Republike Srbije broj 30/10 od 07.05.2010.
- Sing J., McCarthy O.J., Singh H., Moughan P.J. (2008). Low temperature post-harvest storage of New Zealand Taewa (Maori potato): Effects on starch physico – chemical and functional characteristics. Food Chemistry, 106: 583-596.
- Li X.Q., Scanlon M.G., Liu Q., Coleman W.K. (2006). Processing and Value Addition. In: Gopal J., Khurana S.M.P. (Eds.), Handbook of Potato Production, Improvement and Postharvest Management. The Haworth Press, N. York: 523-555.
- Hajšlova J., Schulzova V., Slanina P., Janne K., Hellenäs K. E., Andersson C. (2005). Quality of organically and conventionally grown potatoes: Four-year study of micronutrients, metals, secondary metabolites, enzymic browning and organoleptic properties. Food Addit Contam. 22, (6): 514-534.

## CHEMICAL CHARACTERIZATION OF ORGANIC POTATOES

*Milena Durić<sup>1</sup>, Jelena Mladenovoć<sup>1</sup>, Ljiljana Bošković-Rakočević<sup>1</sup>,  
Gordana Šekularac<sup>1</sup>, Ljiljana Stefanović-Mandić<sup>1</sup>*

### Abstract

The paper presents the results of testing quality control of organic potato from Prijedor from a produced with registered organic production. Controlled analyzes: determination of moisture content, determination of ash content, determination of starch content, determination of cellulose content, determination of ascorbic acid and determination of free acid.

The content of ash in the test was 0,96%; tetains power of 74,8%; the percentage of starch was 21,39%; cellulose content was 1,04%; the ascorbic acid content was 33,77 mg/100 g of the sample and the free acidity was 0,05 g/100 g of potatoes.

**Key words:** organic production, quality control, potatoes.

---

<sup>1</sup>University of Kragujevac, Faculty of Agronomy Čačak, Cara Dušana 34, Čačak, Serbia  
(jelenamala@kg.ac.rs)

## ANTITUMORSKI POTENCIJAL LISTOVA I PLODOVA BILJKE *Ligustrum vulgare* L. NA SW480 ĆELIJAMA KOLOREKTALNOG KARCINOMA

Milena Milutinović<sup>1</sup>, Danijela Nikodijević<sup>1</sup>, Milan Stanković<sup>1</sup>,  
Vuk Maksimović<sup>2</sup>, Snežana Marković<sup>1</sup>

**Izvod:** Cilj rada je ispitivanje antitumorskih svojstava ekstrakata listova i plodova biljke *Ligustrum vulgare* na SW480 ćelijama kolorektalnog karcinoma. Ekstrakti pokazuju citotoksične efekte na SW480 ćelijama nakon 24 i 72 h, bez efekta na zdrave fibroblste kože. Metanolni ekstrakti ove biljke izazivaju značajan proapoptotski potencijal, indukuju apoptozu dominantno aktivirajući spoljašnji, receptorima posredovan apoptotski put, povećanjem ekspresije Fas receptora na membrani i aktivnosti kaspaze 8. Ispitivani ekstrakti dovode do promena u ekspresiji gena čiji proteinski produkti učestvuju u metabolizmu antitumorskih supstanci. Na osnovu rezultata *L. vulgare* predstavlja značajan izvor prirodnih bioaktivnih supstanci sa antitumorskim delovanjem.

**Ključne reči:** apoptoza, biotransformacija, kolorektalni karcinom, *Ligustrum*

### Uvod

Kolorektalni karcinom je trenutno jedan od vodećih malignih tumora po učestalosti i smrtnosti (Boyle i Langman, 2000). U lečenju ove bolesti neophodno je istraživanje novih medicinskih agenasa, među kojima značajno mesto imaju supstance prirodnog porekla, koje interaguju sa signalnim putevima uključenim u ćelijske funkcije i modifikuju signalne puteve tokom kancerogeneze (Khan i sar., 2007).

*L. vulgare* L. je listopadni ili poluzimzeleni žbun iz porodice Oleaceae. Biljke iz roda *Ligustrum* veoma su bogate bioaktivnim supstancama i zbog toga su često korišćene u farmaciji. Sekundarni metaboliti izolovani iz listova ove biljke godinama su korišćeni za prevenciju i lečenje mnogih bolesti, prvenstveno zbog njihovih imunomodulatornih svojstava, antibakterijskih (Jantova i sar., 2001), antidijabetskih (Andrade-Cetto i sar., 2005), antioksidacionih (Sersen i sar., 2005) i antitumorskih efekta (Jantova i sar., 2001; Čurčić i sar., 2012). Takođe, mnogobrojna *in vitro* ispitivanja pokazuju veliki farmakološki potencijal za koji je odgovorno prisustvo flavonoida, fenilpropanoida, sekoiridoida (oleuropein i ligustrozid), kampoferol glikozida, kvercetin glikozida (He i sar., 2003).

Obzirom na malo literaturnih podataka o antiproliferativnom potencijalu *L. vulgare* na malignim ćelijama, a sa druge strane upotrebi jedinjenja izolovanih iz ove biljke u lečenju hroničnih crevnih problema, ulceracija, koloitisa i čireva, cilj rada je ispitivanje antitumorskih svojstava ove biljke na SW480 ćelijama kolorektalnog karcinoma. Istraživanja obuhvataju određivanje kvalitativnog fenolnog sastava listova i plodova biljke, testiranje citotoksičnih efekata metanolnog (M), etilacetatnog (E) i acetonskog

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno-matematički fakultet, Radoja Domanovića 12, Kragujevac, Srbija (milena.curcic@pmf.kg.ac.rs);

<sup>2</sup>Institut za multidisciplinarno istraživanje, Kneza Višeslava 1, 11030 Beograd, Srbija;

(A) ekstrakta na SW480 ćelijama kolorektalnog karcinoma i fibroblastima kože kao zdravoj kontroli, ispitivanje proapoptotske aktivnosti, definisanje molekularnih mehanizama apoptoze i ispitivanje efekata na ekspresiju iRNK gena čiji su proteinski produkti uključeni u metabolizam citotksičnih supstanci u malignim ćelijama i pojavu rezistencije na antitumorske lekove.

### Materijal i metode rada

Uzorkovani material (listovi i plodovi) biljke *L. vulgare* identifikovan je na osnovu standardne botaničke literature. Herbarijumski primerak deponovan je (pod kolekcijskim brojem *Ligustrum vulgare* – 16696) u Herbarijumu Instituta za botaniku i Botaničke baštne "Jevremovac", Biološki fakultet, Univerzitet u Beogradu. Pravljenje biljnog ekstrakta, korišćenjem metanola, etilacetata i acetone za ekstrakciju vršeno je po standardnoj proceduri, prethodno opisanoj u Čurčić i sar., 2014.

Identifikacija pojedinačnih fenolnih jedinjenja izvršena je pomoću reverzne faze, HPLC-MS analize, korišćenjem elektro sprej ionizacione (ESI) probe, objašnjene u detaljima u Milutinović i sar., 2015.

Humana ćelijska linija kolorektalnog karcinoma (SW480) nabavljena je sa ATCC sajta (*American Type Culture Collection*). Kao zdrava kontrola korišćeni su fibroblasti kože, dobijeni primarnom kultivacijom. Ćelije su gajene u optimalnim uslovima, prema standardnim protokolima (Milutinović i sar., 2015).

Citotksična akivnost M, E i A ekstrakata listova i plodova biljke *L. vulgare* na SW480 ćelijama i zdravim fibroblastima kože određivana je MTT testom, detaljno opisanim u Čurčić i sar., 2012. Za tretman su korišćeni ekstraktimi listova i plodova *L. vulgare* u koncentracijama (1, 10, 50, 100, 250 i 500 µg/ml), dok su netretirane ćelije služile kao kontrola. Esej je rađen nakon 24 i 72 h.

Za određivanje tipa ćelijske smrti korišćena je akridin oranž/etidijum bromid (AO/EB) mikroskopska metoda (Baskić i sar., 2006) na fluorescentnom mikroskopu. Ćelije su tretirane M ekstraktom listova i plodova *L. vulgare*, koncentracija 50 i 250 µg/ml i posmatrane pod mikroskopom nakon 24 h.

Proteinska ekspresija Fas receptora na membrani detektovana je imunofluorescencicom, objašnjrenom u Milutinovic i sar., 2015. Nivo ćelijske fluorescence u kontrolnim i tretiranim ćelijama nakon 24-časovnog tretmana meren je na mikrografijama uz pomoć *ImageJ* programa (Wayne Rasband, *ImageJ*, <http://rsb.info.nih.gov/ij/>). Aktivnost kaspaza 8 i 9 je određivana kolorimetrijski, korišćenjem komercijalnih kitova (*RD Systems*).

Za određivanje iRNA ekspresije *CYP1A1*, *GSTP1* i *MDR2* gena ukupna RNK je ekstrahovana iz kontrolnih i tretiranih SW480 ćelija ( $10^6$  ćelija po flasku T 25 cm<sup>2</sup>) (Tan i Yap, 2009). Jednolančana RNK je prepisana u komplementarnu DNK (cDNK) pomoću enzima reverzne transkriptaze (Bustin, 2000), za šta je korišćen *QIAGEN Sensiscript RT Kit*. PCR metodom umnožene su sekvene određene prajmerima za gene *CYP1A1*, *GSTP1* i *MDR2* radi određivanja eksperije iRNK, prema upustvu proizvođača u *QIAGEN PCR Kit*-u, pri čemu je cDNK korišćena kao polazni materijal (Zhai i sar., 2005). Dobijeni uzorci za svaki gen pojedinačno elektroforetski su razdvojeni na 1.5% agaroznom gelu i fotografisani na *Transilluminatoru*. Debljina bendova na gelovima merena je denziometrijski u *ImageJ*.

programu. Relativna ekspresija određivana je poređenjem sa ekspresijom  $\beta$ -actin-a, kao pozitivne kontrole u ispitivanim uzorcima.

Za određivanje proteinske ekspresije Fas receptora, aktivnosti kaspaza 8 i 9 i ekspresije gena ćelije su tretirane sa M ekstraktom listova i plodova *L. vulgare*, koncentracije 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , a netretirane ćelije su služile kao kontrola. Eseji su rađeni 24 h nakon tretmana.

Statistička analiza: Rezultati su izraženi kao srednja vrednost  $\pm$  standardna greška (SE). Eseji su izvođeni u dva nezavisna eksperimenta, u triplikatu za svaku dozu. Statistička značajnost je određivana Studentovim t-testom ili one-way ANOVA testom za grupna poređenja, SPSS softverskim paketom (SPSS for Windows, ver. 17, 2008), gde su vrednosti  $p < 0.01$  smatrane značajnim. IC<sub>50</sub> vrednosti su određivane iz kriva ćelijskih vijabilnosti uz pomoć *Calcusyn* programa.

### Rezultati istraživanja i diskusija

Literaturni podaci ukazuju na neke od bioloških aktivnosti listova biljke *L. vulgare*, uključujući i antitumorska svojstva na malom broju ćelijskih linija (Jantova i sar., 2001). Antitumorska svojstva ekstrakata dobijenih iz listova i plodova ove biljke na SW480 ćelijama prema našim saznanjima nisu do sada ispitivana. Obzirom da biološki efekti mogu da zavise od različite zastupljenosti fenolnih jedinjenja u različitim biljnim delovima, za ispitivanje su korišćeni ekstrakti dobijeni iz listova i plodova ove biljke.

Rezultati MTT testa pokazuju da ispitivani ekstrakti (M, E i A) dozno i vremenski zavisno smanjuju vijabilnost SW480 ćelija. Citotoksičnost ovih ekstrakata je izražena preko IC<sub>50</sub> vrednosti ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ), koje predstavljaju koncentraciju koja ubija 50% ćelija (Tabela 1). Poređenjem aktivnosti različitih biljnih delova jaču citotoksičnu aktivnost pokazuju ekstrakti listova u odnosu na plodove, a poređenjem efekata rastvarača M i A ekstrakt listova pokazuju dobru i približnu citotoksičnost, dok najbolju aktivnost plodova pokazuje A ekstrakt. Aceton, kao rastvarač, najbolje ekstrahuje flavonoide iz plodova (Horax i sar., 2010) što je u skladu sa ovim rezultatom. Ispitivani ekstrakti nisu citotoksični na zdravim fibroblastima kože, sve IC<sub>50</sub> vrednosti su veće od 500  $\mu\text{g}/\text{ml}$  što ukazuje na selektivna i antitumorska svojstva ispitivanih ekstrakata.

Tabela 1. Citotoksičnost - IC<sub>50</sub> vrednosti ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) ekstrakata listova i plodova biljke *L. vulgare* na SW480 ćelijama.

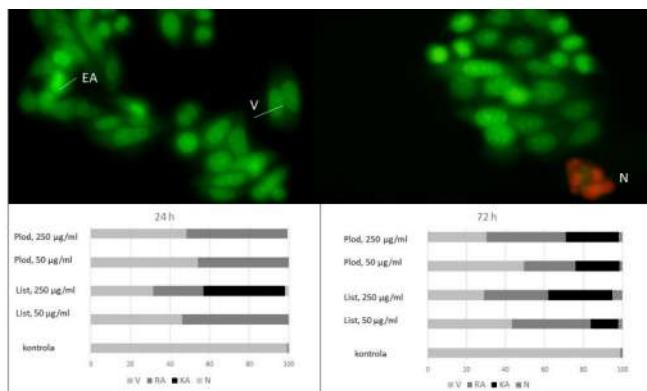
Table 1. Cytotoxicity - IC<sub>50</sub> values ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) of extracts from leaves and fruits of *L. vulgare* on SW480 cells

	Ekstrakt	24 h	72 h
<i>Ligustrum vulgare</i> - listovi	M	29.85 $\pm$ 2.49	27.78 $\pm$ 1.12
	E	54.76 $\pm$ 3.45	28.88 $\pm$ 1.05
	A	53.38 $\pm$ 3.97	0.64 $\pm$ 0.15
<i>Ligustrum vulgare</i> - plodovi	M	43.94 $\pm$ 2.94	29.07 $\pm$ 1.87
	E	158.23 $\pm$ 2.17	72.79 $\pm$ 3.69
	A	29.82 $\pm$ 1.87	3.08 $\pm$ 0.37

Rezultati HPLC analize pokazuju da se kvalitativni fenolni sastavi listova i plodova biljke *L. vulgare* ne rezlikuju. Uočavaju se samo kvantitativne razlike u zastupljenosti fenolnih jedinjenja, što potvrđuju i niže koncentracije fenola i flavonoida u ekstraktima

plodova (Ćurčić i sar., 2014) i korelira sa dobijenim rezultatima citotksičnosti. Dominantno prisutna komponenta M ekstrakata je oleuropein, koji zajedno sa ligstrozidom čini grupu sekoiridoida i predstavlja najzastupljenije fenolno jedinjenje u listovima i plodovima masline i ostalih biljaka iz familije Oleaceae. Oleuropein, izolovan iz biljaka roda *Ligustrum*, pokazuje inhibitorni efekat na rast tumorskih ćelija, kao i sposobnost inhibicije rasta i invazivnosti tumora u uslovima *in vitro* i *in vivo* (Hamdi i Castellon, 2005; Fabiani i sar., 2006). Pored njega prisutni su i derivati kafeinske kiseline, kao i mnoga druga fenolna jedinjenja. Rezultati fenolnog sastava su u korelaciji sa drugim nalazima (Mučaji i sar., 2011), gde je u ekstraktu listova ove biljke utvrđeno prisustvo sekoiridoida (oleuropein, ligustalozidi A i B i ligstrozidi) i flavonoida (kvercetin 3-O-rutinoid, luteolin glikozidi, apigenin glikozidi).

Metanol se pokazao kao generalno dobar rastvarač za ekstrakciju fenolnih jedinjenja te je korišćen za ispitivanje proapoptotske aktivnosti i daljih efekata na signalne molekle apoptoze i biotransformacije. Ćelijska smrt izazvana antitumorskim agensima može biti po tipu apoptoze ili nekroze, što je bitno sa stanovišta terapije. Apoptoza je ograničena na pojedinačnu ćeliju i predstavlja željeni i bolje organizovan proces programiranog uklanjanja ćelija. Slika 1 prikazuje procente živih ćelija, rane i kasne apoptoze i nekroze SW480 ćelija izazvane M ekstraktom listova i plodova *L.vulgare*. Ekstrakti ne pokazuju znacajne nekrotske efekte na SW480 ćelijama (morphološki kondenzovane i uniformno crveno obojene ćelije na Slici 1), već indukuju apoptozu kao dominantan tip ćelijske smrti. Tretirane SW480 ćelije pokazuju morfološke promene karakteristične za procese apoptoze, a kvantitativni pokazatelj - procenti živih, apoptotskih i nekrotskih SW480 ćelija nakon bojenja AO/EB (Slika 1), takođe, ukazuju na proapoptotsku aktivnost, srazmernu rezultatima citotksičnosti, dozi i vremenu izlaganja.

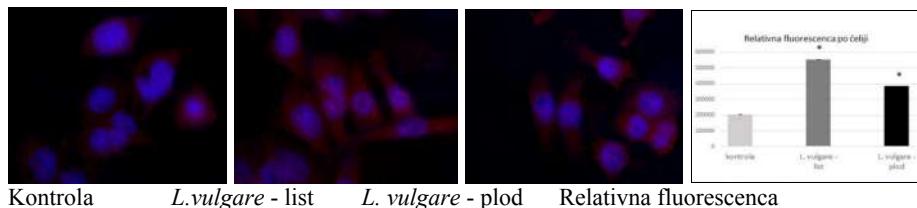


Slika 1. Tipične morfološke promene ćelija u procesima apoptoze i nekroze, izazvane ekstraktima listova i plodova biljke *L. vulgare*, kao i procenti živih, apoptotskih i nekrotskih SW480 ćelija u ispitivanim tretmanima

*Figure 1. Morphological changes of apoptotic cells and necrosis induced by extracts from leaves and fruits of *L. vulgare*. Percentages of SW480 viable (V), apoptotic cells (EA) and necrosis (N) induced by treatments.*

Obzirom na to da indukcija apoptoze predstavlja željeni put postizanja antitumorske aktivnosti i važan mehanizam hemoprevencije i hemoterapije tumora (Cragg i Newman, 2005), dalje je ispitivan uticaj tretmana na signalne molekule apoptoze.

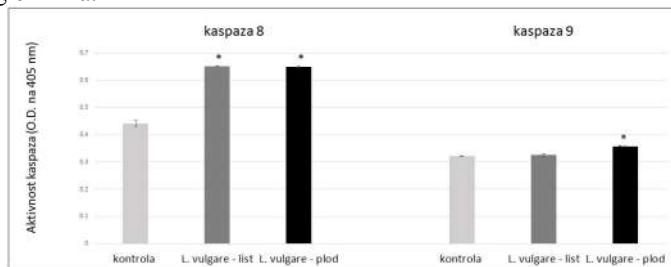
Slika 2 prikazuje proteinsku ekspresiju Fas receptora, kao jedne od prvih aktiviranih komponenti u spoljašnjem apoptotskom signalnom putu. Nakon 24 sata trajanja tretmana dolazi do povećane ekspresije Fas receptora na membranama SW480 ćelija u odnosu na netretirane, kontrolne SW480 ćelije (Slika 2), pri čemu M ekstrakt listova dovodi do jačeg efekta, odnosno povećanja ekspresije u odnosu na plodove.



Slika 2. Proteinska ekspresija Fas receptora na membrani kontrolnih i SW480 ćelija tretiranim ekstraktima listova i plodova biljke *L. vulgare*

Figure 2. Protein expression of Fas receptors on membrane of control and SW480 cells treated by extracts from leaves and fruits of *L. vulgare*

Rezultati dobijeni merenjem aktivnosti jedne od inicijatorskih enzima u spoljašnjem apoptotskom signalnom putu - kaspaze 8, kao i jedne od inicijatorskih enzima unutrašnjeg puta - kaspaze 9, u citoplazmi kontrolnih i tretiranih SW480 ćelija dati su na Grafikonu 1. Ispitivani ekstrakti dovode do statistički značajnog povećanja aktivnosti kaspaze 8 u odnosu na kontrolne ćelije. Ekstrakt plodova dovodi do povećanja aktivnosti kaspaze 9 u odnosu na kontrolne ćelije, dok ekstrakt listova ne menja aktivnost ovog enzima.



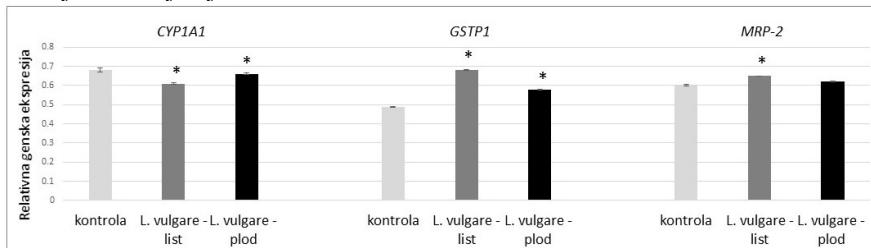
Grafikon 1. Aktivnost kaspaza 8 i 9 u kontrolnim SW480 ćelijama i ćelijama tretiranim ekstraktima listova i plodova biljke *L. vulgare*

Graph 1. Activity of caspase 8 and 9 in control and SW480 cells treated by extracts from leaves and fruits of *L. vulgare*

Povećanje ekspresije Fas receptora na membrani SW480 ćelija i pojačana aktivnost kaspaze 8 izazvani tretmanima ukazuju na to da je apoptoza pokrenuta spoljašnjim, receptor-posredovanim apoptotskim putem. Ekstrakti plodova, pored toga dovode do povećanja aktivnosti kaspaze 9, što potvrđuje ulogu mitohondrija u procesu apoptoze i neznatan udeo signalnih molekula iz unutrašnjeg apoptotskog puta. Iako je ograničena

uloga mitohondrija u receptorima pokrenutom apoptotskom signalnom putu u SW480 ćelijama, one ipak imaju ulogu u izvršenju procesa apoptoze usled redoks modulacije njihove funkcije (Ćurčić i sar., 2014).

Metabolizam ksenobiotika, uključujući i antitumorske supstance, u ćelijama se odvija kroz nekoliko faza, koja uključuje niz enzima i membranskih transportera koji nastale produkte eksportuju van ćelije (Guengerich, 2007). Ovi enzimi i transportni proteini imaju ključnu i primarnu ulogu u zaštiti zdravih ćelija od štetnih efekata kancerogena, međutim u malignim ćelijama mogu dovesti do rezistencije na antitumorske supstance. Moguća terapija karcera podrazumeva pronalazak ili sintezu lekova koji inhibiraju njihovu aktivnost.



Grafikon 2. Ekspresija *CYP1A1*, *GSTM1* i *MRP2* iRNK u kontrolnim i tretiranim ćelijama. Relativna ekspresija je preračnata u odnosu na  $\beta$ -actin.

Graph 2. Expression of *CYP1A1*, *GSTM1* and *MRP2* iRNK in control and treated cells.

Gene expression is calculated relative to  $\beta$ -actin.

Ekspresija  $\beta$ -actin-a je praćena u svim ispitivanim uzorcima (kontrolnim i tretiranim SW480 ćelijama). Podjednako je eksprimiran u svim uzorcima, pa je relativna ekspresija *CYP1A1*, *GSTM1* i *MRP2* preračunata u odnosu na nju.

Ekstrakt listova pokazuje inhibitorna svojstva na ekspresiju iRNK *CYP1A1* gena, što je pokazano i za druge vrste biljaka (Zhou i sar., 2007), dok ekstrakt plodova nema efekta na ekspresiju ovog gena. Brojni flavonoidi, prisutni u biljnim ekstraktima, mogu biti supstrat za ove enzime ili su odgovorni za njihovu inhibiciju (Androutsopoulos i sar., 2011). Inhibicija ekspresije ili uticaj na smanjenje aktivnosti *CYP1A1* enzima predstavlja korisnu informaciju, u smislu korišćenja datih jedinjenja u kombinovanom tretmanu sa odgovarajućim citostatikom, koji se metaboliše CYP enzymima.

Rezultati dalje pokazuju da ekstrakti listova i plodova stimulišu ekspresiju *GSTM1*, kao i *MRP2* u odnosu na kontrolne SW480 ćelije. Osvrt na ovakav uticaj ekstrakata na enzime uključene u njihov metabolizam statistički značajnim povećanjem njihove ekspresije, kao i koncentracije GSH (Ćurčić i sar., 2014), sugerise da se prilikom metabolizma komponente ekstrakta konjuguju sa GSH i uz pomoć transportnih proteina kodiranih *MRP2* genom izbacuju iz ćelija. Povećano izbacivanje ksenobiotika može imati pozitivne efekte na zdrave ćelije, stimulisanjem izbacivanja kancerogena i na taj način ostvariti hemopreventivni efekat (Leslie i sar., 2001), ali takođe i štetne efekte na maligne ćelije u slučaju hemoterapije.

### Zaključak

Na osnovu dobijenih rezultata, izuzetne citotksične aktivnosti na SW480 ćelijama kolorektalnog karcinoma, bez efekata na zdravim fibroblastima, značajnog

proapoptotskog potencijala, interakcije sa signalnim molekulima apoptoze i biotransformacije može se zaključiti da je biljka *L. vulgare* značajan i lako dostupan izvor bioaktivnih supstanci sa antitumorskim delovanjem.

### Napomena

Istraživanja u ovom radu deo su projekta Preklinička ispitivanja bioaktivnih supstanci - PIBAS, III41010, koji finansira Ministarstvo za prosvetu, nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije.

### Literatura

- Andrade-Cetto A., Henrich M. (2005). Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *J Ethnopharmacol*, 99, 325-348.
- Androuloutsopoulos V.P., Papakyriakou A., Vourloumis D., Spandidos D.A. (2011). Comparative CYP1A1 and CYP1B1 substrate and inhibitor profile of dietary flavonoids. *Bioorg Med Chem*, 19(9), 2842-2849.
- Baskić D., Popović S., Ristić P., Arsenijević N. (2006). Analysis of cyclohexamide-induced apoptosis in human leukocytes: Fluorescence microscopy using annexin V/propidium iodide versus AO/EB. *Cell Biol Int*, 30, 924-932.
- Boyle P., Langman J.S. (2000). ABC of colorectal cancer: Epidemiology. *BMJ*, 321(7264), 805-808.
- Bustin S. (2000). Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays. *J Mol Endocrinol*, 25, 169-193.
- Cragg G., Newman D. (2005). Plants as source of anticancer agents. *J Ethnopharmacol*, 100, 72-79.
- Ćurčić M., Stanković M., Mrkalić E., Matović Z., Banković D., Cvetković D., Dacic D., Marković S. (2012). Antiproliferative and proapoptotic activities of methanolic extracts from *Ligustrum vulgare* L. as an individual treatment and in combination with palladium complex. *Int J Mol Sci*, 13, 2521-2534.
- Ćurčić M., Stanković M., Mrkalić E., Matović Z., Banković D., Cvetković D., Đačić D., Marković S. (2012). Antiproliferative and proapoptotic activities of methanolic extracts from *Ligustrum vulgare* L. as an individual treatment and in combination with palladium complex. *Int J Mol Sci*, 13(2), 2521-2534.
- Fabiani R., De Bartolomeo A., Rosignoli P., Servili M., Selvaggini R., Montedoro G., Di Saverio C., Morozzi G. (2006). Virgin olive oil phenols inhibit proliferation of human promyelocytic leukemia cells (HL60) by inducing apoptosis and differentiation. *J Nutr*, 136, 614-619.
- Guengerich F. (2007). Cytochrome P450 and chemical toxicology. *Chem Res Tox*, 21(1), 70-83.
- Hamdi K., Castellon R. (2005). Oleuropein, a non-toxic olive iridoid, is an anti-tumor agent and cytoskeleton disruptor. *Biochem Biophys Res Commun*, 334, 769-778.
- He Z., Lau K., But P., Jiang R., Dong H., Ma S., Fung K., Ye W., Sun H. (2003). Antioxidative glycosides from the leaves of *Ligustrum robustum*. *J Nat Prod*, 66, 851-854.

- Jantova S., Nagy M., Ruzekova L., Granca D. (2001). Cytotoxic activity of plant extracts from the families Fabaceae, Oleaceae, Philadelphaceae, Rosaceae and Staphyleaceae. *Phytother Res*, 15, 22-25.
- Khan N., Afaq F., Mukhtar H. (2007). Apoptosis by dietary factors: the suicide solution for delaying cancer growth. *Carcinogenesis*, 28(2), 233-239.
- Leslie E., Mao Q., Oleschuk C., Deeley R., Cole S. (2001). Modulation of multidrug resistance protein 1 (MRP1/ABCC1) transport and atpase activities by interaction with dietary flavonoids. *Mol Pharmacol*, 59(5), 1171-1180.
- Milutinovic M., Stankovic M., Cvetkovic D., Maksimovic V., Smit B., Pavlovic R., Markovic S. (2015). The molecular mechanisms of apoptosis induced by *Allium flavum* L. and synergistic effects with new-synthesized Pd(II) complex on colon cancer cells. *J Food Biochem*, 39, 238-250.
- Sersen F., Mucaji P., Granca D., Nagy M. (2005). Antioxidative properties of methanol extracts from leaves and fruits of *Ligustrum vulgare* L. *Acta Facult Pharm Univ Comenianae*, 52, 204-209.
- Tan S., Yiap B. (2009). DNA, RNA, and protein extraction: The past and the present. *J Biomed Biotechnol*, 574398.
- Zhai W., Jeong H., Cui L., Krainc D., Tjian R. (2005). *In vitro* analysis of huntingtin-mediated transcriptional repression reveals multiple transcription factor targets. *Cell*, 7, 1241-1253.
- Zhou S., Xue C., Yu X., Wang G. (2007). Metabolic activation of herbal and dietary constituents and its clinical and toxicological implications: an update. *Curr Drug Metab*, 8, 526-553.

## **ANTICANCER POTENTIAL OF LEAVES AND FRUITS OF *Ligustrum vulgare* L. ON SW480 COLOREKTAL CARCINOMA CELLS**

*Milena Milutinović<sup>1</sup>, Danijela Nikodijević<sup>1</sup>, Milan Stanković<sup>1</sup>,  
Vuk Maksimović<sup>2</sup>, Snežana Marković<sup>1</sup>*

### **Abstract**

The aim of this study is investigation of anticancer potential of extracts from leaves and fruits of *Ligstrum vulgare* on SW480 colorectal carcinoma cells. Extracts induce cytotoxicity on SW480 cells after 24 and 72 h, without effects on normal skin fibroblasts. Methanol extracts of this plant induce pronounced proapoptotic activity, induce apoptosis by activation of extrinsic, receptor-mediated signaling pathway, by increasing of Fas receptors on membrane and increased activity of caspase 8. Investigated extracts affect expression of genes involved in biotransformation and metabolism of anticancer agents. Based on results *L. vulgare* is valuable source of bioactive substances with anticancer activity.

**Key words:** apoptosis, biotransformation, colorectal carcinoma, *Ligustrum*

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno-matematički fakultet, Radoja Domanovića 12, Kragujevac, Srbija (milena.curcic@pmf.kg.ac.rs);

<sup>2</sup>Institut za multidisciplinarno istraživanje, Kneza Višeslava 1, 11030 Beograd, Srbija;

## UTICAJ SALICILNE KISELINE NA RAZVIĆE BELE SLAČICE U USLOVIMA STRESA INDUKOVANOG KADMIJUMOM I MANGANOM

Nenad Zlatić, Dragana Jakovljević, Biljana Bojović, Milan Stanković

**Izvod:** Semena bele slačice (*Sinapis alba* L.) tretirana su solima kadmijuma (Cd) i mangana (Mn) u različitim koncentracijama, pri čemu je praćen rast korenka, hipokotila i epikotila kako pojedinačno, tako i u kombinaciji sa različitim koncentracijama salicilne kiseline. Rezultati ukazuju da visoke koncentracije Cd i Mn negativno utiču na razviće *S. alba*. Pokazano je da se pri gajenju *S. alba* u uslovima stresa izazvanog Cd i Mn preporučuje tretiranje ove vrste rastvorima salicilne kiseline u koncentracijama od 0,25 i 0,5 mM. Pozitivan efekat salicilne kiseline na razvoj *S. alba* u uslovima stresa daje mogućnost za gajenje ove vrste na staništima sa povećanom koncentracijom teških metala.

**Ključne reči:** *Sinapis alba*, salicilna kiselina, kadmijum, mangan

### Uvod

Zagađenja izazvana teškim metalima negativno utiču na rastenje i razviće biljaka. Cd je neesencijalni element koji i u niskim koncentracijama može da deluje toksično na biljke. Cd smanjuje intenzitet fotosinteze i redukuje biljnu masu, a kao posledica kontaminacije Cd kod biljaka se javljaju hloroza, uvijanje listova, smanjen porast korena i izdanaka. Mn ima ključnu ulogu u fotosintezi, disanju, biosintezi enzima i usvajanju esencijalnih elemenata, ali može da ima negativne efekte jer je toksičan u povećanim koncentracijama (Kabata-Pendias, 2011).

Bela slačica (*Sinapis alba* L.) je jednogodišnja biljka sa širokim, usečenim i režnjevitim listovima i cvetovima bledožute boje. Rasprostranjena je u Mediteranu, Aziji i Africi (Katepa-Mupondwa et al., 2006).

Salicilna kiselina pripada grupi fenolnih jedinjenja. Ima ključnu ulogu u rastenu i razviću biljaka i značajna je u adaptaciji biljaka na visoke temperature, teške metale i povećane koncentracije soli u podlozi (Anaya et al., 2018). U radu je ispitivana tolerantnost *S. alba* na Cd i Mn. Dodatno, prikazane su karakteristike razvića *S. alba* u uslovima kombinovanog tretmana Cd ili Mn i salicilne kiseline sa ciljem utvrđivanja protektivnih efekata salicilne kiseline na razvoj *S. alba* u uslovima stresa.

### Materijal i metode rada

Semena *S. alba* (D.O.O. “HIT SPICE”, Novi Sad, Republika Srbija) selektovana su na osnovu uniformnosti po veličini, obliku i boji, dezinfikovana 1% NaOCl, pa isprana destilovanom vodom. Po 10 semena je zasejano u Petri kutije sa filter papirom natopljenim sa 5 ml rastvora i ostavljeno na 22 °C, u mraku, sedam dana.

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno-matematički fakultet, Radoja Domanovića 12, Kragujevac, Srbija (nenad.zlatic@pmf.kg.ac.rs);

Pripremljene su različite koncentracije Cd, Mn i salicilne kiseline. Za svaku koncentraciju Cd i Mn (0, 0,06, 0,12, 0,24, 0,49, 0,97, 1,95, 3,9, 7,8, 15,6 i 31,2 mM) ispitivana je dužina korenka, hipokotila i epikotila, pojedinačno i u kombinaciji sa različitim koncentracijama salicilne kiseline (0, 0,25, 0,5 i 1 mM). Merenja su vršena sedmog dana od dana zasejavanja, a vrednosti su izražene u mm.

### Rezultati istraživanja i diskusija

Utvrđeno je da se dužina korenka smanjuje sa povećanjem koncentracije Cd (Tabela 1), kao i da se dodavanjem salicilne kiseline inhibicija izduživanja korenka otklanja, pri čemu je najveći efekat pri koncentraciji salicilne kiseline od 0,5 mM. Mn takođe inhibitorno deluje na izduživanje korenka (Tabela 1), pri čemu je još jednom potvrđeno zaštitno dejstvo salicilne kiseline u koncentraciji od 0,5 mM. Koncentracije Cd iznad 7,8 mM i Mn iznad 31,2 mM imaju inhibitorno dejstvo na pojavu korenka.

Tabela 1. Dužina korenka *S. alba* u različitim koncentracijama Cd, Mn i salicilne kiseline (srednja vrednost ± standardna devijacija)

Table 1. Root length of *S. alba* in different concentrations of Cd, Mn and salicylic acid (the mean ± standard deviation)

	Salicilna kiselina (mM) Salicylic acid (mM)							
	0		0,25		0,5		1	
Cd ili Mn (mM) <i>Cd or Mn (mM)</i>	Cd	Mn	Cd	Mn	Cd	Mn	Cd	Mn
0	24,1 ± 1,1	28,3 ± 1,2	36,5 ± 2,8	38,0 ± 3,1	41,6 ± 3,7	43,3 ± 2,1	5,3 ± 0,9	12,4 ± 2,1
0,06	5,6 ± 0,2	56,0 ± 3,4	31,0 ± 2,5	39,6 ± 4,0	33,3 ± 2,9	45,3 ± 4,0	4,9 ± 1,0	27,1 ± 2,9
0,12	5,7 ± 0,2	49,8 ± 2,7	10,4 ± 1,5	35,3 ± 2,6	15,8 ± 1,9	39,3 ± 3,9	3,5 ± 0,4	15,4 ± 2,1
0,24	2,8 ± 0,2	72,7 ± 3,1	3,3 ± 0,4	22,0 ± 2,5	3,6 ± 0,2	33,2 ± 2,6	2,8 ± 0,2	17,3 ± 2,5
0,49	2,7 ± 0,2	56,5 ± 2,1	3,0 ± 0,2	53,6 ± 3,0	3,1 ± 0,3	57,6 ± 2,9	2,5 ± 0,2	4,2 ± 0,2
0,97	2,7 ± 0,2	12,6 ± 1,1	3,0 ± 0,1	27,8 ± 2,4	3,7 ± 0,1	28,9 ± 3,0	2,5 ± 0,0	4,3 ± 0,2
1,95	2,0 ± 0,1	3,7 ± 0,1	2,8 ± 0,1	3,8 ± 0,16	2,3 ± 0,1	4,5 ± 0,2	2,0 ± 0,1	2,5 ± 0,1
3,9	0	3,2 ± 0,6	0	3,6 ± 0,31	2,0 ± 0,0	2,0 ± 0,1	0	2,0 ± 0,1
7,8	0	2,8 ± 0,2	0	2,2 ± 0,18	0	2,7 ± 0,1	0	2,4 ± 0,0
15,6	0	2,5 ± 0,1	0	2,8 ± 0,08	0	2,3 ± 0,0	0	2,0 ± 0,1
31,2	0	2,0 ± 0,1	0	2,3 ± 0,09	0	2,5 ± 0,5	0	0

Sa povećanjem koncentracije Cd smanjuje se i dužina hipokotila (Tabela 2). Salicilna kiselina u koncentraciji od 0,25 mM ostvaruje pozitivan efekat na izduživanje hipokotila u uslovima stresa izazvanog Cd. Koncentracije Cd iznad 0,97 mM i Mn iznad 31,2 mM onemogućavaju pojavu hipokotila. Mn pozitivno utiče na izduživanje hipokotila samo u nižim koncentracijama (Tabela 2). U navedenim uslovima salicilna kiselina najbolje efekte ostvaruje pri koncentracijama od 0,25 i 0,5 mM.

Tabela 2. Dužina hipokotila *S. alba* u različitim koncentracijama Cd, Mn i salicilne kiseline (srednja vrednost ± standardna devijacija)

Table 2. Hypocotyl length of *S. alba* in different concentrations of Cd, Mn and salicylic acid (the mean ± standard deviation)

Cd ili Mn (mM) Cd or Mn (mM)	Salicilna kiselina (mM) Salicylic acid (mM)							
	0		0,25		0,5		1	
	Cd	Mn	Cd	Mn	Cd	Mn	Cd	Mn
0	30,4±2,6	25,0±1,8	32,4±2,9	34,2±4,0	29,4±2,8	16,5±1,9	19,1±2,4	22,0±2,9
0,06	23,1±1,4	30,9±2,4	30,8±3,0	42,1±4,0	28,1±2,6	41,1±4,6	19,0±2,6	25,1±2,4
0,12	16,9±1,5	35,1±3,6	20,2±2,0	39,3±3,9	19,7±2,1	38,3±3,6	14,6±1,2	18,4±1,3
0,24	8,3±1,1	36,3±3,9	11,1±1,9	32,0±2,6	11,4±1,6	30,2±4,0	9,3±1,2	13,7±1,1
0,49	5,7±0,9	45,4±4,0	8,4±1,3	56,6±4,5	6,8±1,0	51,5±4,5	0	7,3±1,5
0,97	0	12,6±1,1	0	29,8±2,5	0	28,9±2,6	0	4,2±0,5
1,95	0	6,7±0,9	0	11,0±1,5	0	10,9±1,7	0	6,7±0,9
3,9	0	3,0±0,4	0	3,0±1,1	0	3,5±0,6	0	3,0±0,2
7,8	0	3,0±0,5	0	2,0±0,1	0	3,0±0,3	0	2,3±0,3
15,6	0	2,5±0,1	0	2,0±0,1	0	3,0±0,1	0	2,0±0,1
31,2	0	1,5±0,1	0	2,0±0,0	0	2,0±0,1	0	0

Dužina epikotila se smanjuje sa povećanjem koncentracija Cd i Mn, pri čemu salicilna kiselina najbolje zaštitne efekte ostvaruje u koncentraciji od 0,5 mM. Koncentracije ispitivanih metala iznad 1,95 mM inhibiraju pojavu epikotila.

Tabela 3. Dužina epikotila vrste *S. alba* u različitim koncentracijama Cd, Mn i salicilne kiseline (srednja vrednost ± standardna devijacija)

Table 3. Epicotyl length of *S. alba* in different concentrations of Cd, Mn and salicylic acid (the mean ± standard deviation)

Cd ili Mn (mM) Cd or Mn (mM)	Salicilna kiselina (mM) Salicylic acid (mM)							
	0		0,25		0,5		1	
	Cd	Mn	Cd	Mn	Cd	Mn	Cd	Mn
0	4,3±1,2	5,8±1,5	4,3±1,1	7,4±1,9	5,4±1,4	8,2±1,7	3,3±0,6	7,0±1,6
0,06	3,7±1,0	6,4±1,6	3,9±1,0	6,9±1,5	4,8±1,2	8,6±1,6	3,1±0,6	6,3±1,5
0,12	3,1±1,0	6,4±1,5	3,8±0,9	6,9±1,2	4,3±0,5	7,6±1,5	3,0±0,5	5,6±1,2
0,24	3,0±0,2	5,6±0,9	3,5±0,7	6,6±1,1	3,8±0,6	7,3±1,0	3,0±0,2	5,8±1,1
0,49	0	4,9±1,0	2,7±0,1	5,9±1,6	2,0±0,1	6,7±1,8	0	4,7±0,9
0,97	0	4,3±0,9	0	5,8±1,1	0	6,4±1,4	0	6,0±1,2
1,95	0	2,7±0,2	0	4,3±0,8	0	5,2±0,9	0	3,7±1,0
3,9	0	0	0	0	0	0	0	0

Dobijeni rezultati su u skladu sa prethodnim istraživanjima u kojima se navodi da tretiranje biljnih vrsta nižim koncentracijama salicilne kiseline pozitivno utiče na rastenje i razviće biljaka u uslovima stresa izazvanog teškim metalima (He et al., 2010; Rivas-San Vicente and Pasencia, 2011; Sheng et al., 2015).

## Zaključak

Inhibitorni efekti kadmijuma i mangana na parametre rastenja i razvića bele slačice (*S. alba*) mogu se otkloniti tretiranjem semena salicilnom kiselinom. Dodavanje salicilne kiseline u koncentraciji od 0,25 i 0,5 mM u uslovima stresa izazvanog teškim metalima poboljšava izduživanje korenka, hipo- i epikotila. Na osnovu rezultata ovog istraživanja preporučuje se tretiranje semena *S. alba* niskim koncentracijama salicilne kiseline u uslovima stresa indukovanih teškim metalima.

## Napomena

Istraživanja sprovedena u ovom radu deo su projekta III41010 koji finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

## Literatura

- Anaya F., Fghire R., Wahbi S., Loutfi K. (2018). Influence of salicylic acid on seed germination of *Vicia faba* L. under salt stress. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 17, 1-8.
- He J., Ren Y., Pan X., Yan Y., Zhu C., Jiang D. (2010). Salicylic acid alleviates the toxicity effect of cadmium on germination, seedling growth, and amylase activity of rice. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 173, 300-305.
- Kabata-Pendias A. (2011). Trace elements in soils and plants (4th ed.). CRC Press: Taylor and Francis Group Boca Ration, New York.
- Katepa-Mupondwa F., Gugel R.K., Raney J.P. (2006). Genetic diversity for agronomic, morphological and seed quality traits in *Sinapis alba* L. (yellow mustard). Canadian Journal of Plant Science, 86, 1015-1025.
- Rivas-San Vicente., Plasencia J. (2011). Salicylic acid beyond defence: its role in plant growth and development. Journal of Experimental Botany, 62, 3321-3338.
- Sheng H., Zeng J., Yan F., Wang X., Wang Y., Kang H., et al. (2015). Effect of exogenous salicylic acid on manganese toxicity, mineral nutrients translocation and antioxidative system in polish wheat (*Triticum polonicum* L.). Acta Physiologiae Plantarum, 37, 1-11.

## THE INFLUENCE OF SALICYLIC ACID ON THE DEVELOPMENT OF WHITE MUSTARD UNDER CADMIUM AND MANGANESE- INDUCED STRESS

Nenad Zlatić, Dragana Jakovljević, Biljana Bojović, Milan Stanković

### Abstract

Seeds of white mustard (*Sinapis alba* L.) were treated with cadmium (Cd) and manganese (Mn) salts at different concentrations and root, hypocotyl and epicotyl length was measured for individual treatments, as well as in combination with different concentrations of salicylic acid. The results indicate that high concentrations of Cd and Mn negatively affect the development of *S. alba*. It has been shown that during the cultivation of *S. alba* under stressful conditions caused by Cd and Mn, it is recommended to treat this species with salicylic acid solutions at concentrations of 0.25 and 0.5 mM. The positive effects of salicylic acid on the development of *S. alba* under stressful conditions provides the possibility of cultivating this species in habitats with increased concentration of heavy metals.

**Key words:** *Sinapis alba*, salicylic acid, cadmium, manganese

---

<sup>1</sup>University of Kragujevac, Faculty of Science, Radoja Domanovića 12, Kragujevac, Serbia  
(nenad.zlatic@pmf.kg.ac.rs)



## PERMAKULTURA I POVRATAK PRIRODI

Obrenija Kalamanda<sup>1</sup>, Vlatka Đurašinović<sup>2</sup>

**Izvod:** Permakultura je grana ekološkog dizajna, ekološkog inženjeringu, integrisanog upravljanja vodnim resursima, koja razvija održivu arhitekturu, regenerativna i samoodrživa staništa i poljoprivredne sisteme koji su modelovani po uzoru na prirodne ekosisteme. Permakultura je harmonična integracija ljudi i životne sredine, koja obezbeđuje hranu, energiju, smeštaj i druge materijalne i nematerijalne potrebe na održiv način. To je interdisciplinarna nauka o Zemlji, koja objedinjuje mnoge klasične nauke i usmerava ih na brigu o Zemlji, brigu o ljudima, mudar nadzor širenja populacije i nadzor potrošnje materijalnih dobara. Permakultura i permakulturalni dizajn su takvi da minimiziraju otpad, ali istovremeno i rad ljudi i unos energije za izgradnju sistema. Cilj rada je da se pronađe veza i razmotri mogućnost praktične primene permakulturalnih principa i dizajna u svakodnevnom životu i spozna koji su potencijali šire primene permakulture kao faktora razvoja ekologije na području Bosne i Hercegovine. Permakultura kao organizovani pristup u Bosni i Hercegovini nije još uvek adekvatno prepoznata.

**Ključne reči:** permakultura, povratak prirodi, samoodrživost

### Uvod

Permakultura je način stvaranja uravnotežene životne sredine. Pojam “permakultura” ne predstavlja samo skraćeni oblik izraza “permanentna agrikultura” (trajna poljoprivreda) već dolazi i od izraza “permanentne kulture” (eng. *permanent cultures*), s obzirom da kultivari ne mogu dugo preživeti bez uravnotežene poljoprivredne osnove i etike pri korišćenju zemlje. Permakultura se bavi pojedinačno biljkama, životinjama, zgradama, infrastrukturom (voda, energija, putne veze) i njihovim međusobnim odnosima i načinom na koji se ugrađuju u okolinu (Mollison, 1996). Holcerova (eng. *Joseph „Sepp“ Holzer*) permakultura podrazumeva oblikovanje terena (pravljenje terasa, visokih leja, vodenih vrtova, jezeraca, jarkova za zdrživanje humusa, mikroklimatskih zona), agro-šumarstvo (uključivanje drveća i grmlja u poljoprivrednu), ribarstvo, uzgoj vodenih biljaka, držanje životinja, voćarstvo, planinsku ispašu i uzgoj planinskih i lekovitih biljaka. Smatra se da ekonomija i ekologija ne moraju imati suprotstavljene interese, odnosno da su mogućnosti za oblikovanje gotovo bezgranične u permakulturi (Holcer, 2012). U novije vreme se permakultura, prema Holmgrenu, definije kao svesno projektovani predeli kojima se na određeni način imitiraju obrasci i odnosi koje je moguće pronaći u prirodi. Takvi obrasci, rezultiraju obiljem hrane, vlakana i energije i tako se mogu zadovoljiti potrebe na lokalnom nivou. Ovakvim stajalištem su sami ljudi, građevine koje oni stvaraju i način organizacije njihovog života ono što čini centralno polazište permakulture. Tako se permakultura smatra vizijom permanentne, tj. održive poljoprivrede koja na taj način evoluira u viziju

<sup>1</sup>Univerzitet za poslovne studije Banja Luka, Fakultet za ekologiju, Jovana Dučića 23a, Banja Luka, Republika Srpska (obrenija2009@hotmail.com)

permanentne i održive kulture življenja. Permakultura može ponuditi metode i alate kojima se mogu oblikovati celine, za stanovanje i uopšteno za život, a koje su u potpunosti održive (npr. kuće, zgrade, imanja itd.). Te celine - mogu da proizvode vlastitu hranu i energiju, ali i pružaju ekonomski alternative i nove socijalne strukture. Permakultura, kao način življenja, prisutna je na svim kontinentima. Ipak, mnogo ljudi nije upoznato s permakulturom, zato što ona svoje metode i alate crpi iz tradicije, ali ipak deluje temeljito i interdisciplinarno, ali tiho.

Permakultura se jednostavnije može opisati kao praktična metoda u funkciji razvoja turizma i ekologije, produktivna i korisna, na raspolažanju za korišćenje bilo kome i bilo gde. To je harmonična integracija ljudi i prirode, koja obezbeđuje hranu, energiju, smeštaj i druge materijalne i nematerijalne potrebe na održiv način. Permakultura je interdisciplinarna nauka o Zemlji, koja objedinjuje mnoge klasične nauke i usmerava ih na brigu o Zemlji, brigu o ljudima, mudar nadzor širenja populacije i nadzor potrošnje materijalnih dobara. Permakultura nije ograničena samo na povrtlarstvo i proizvodnju zdrave hrane, niti podrazumeva samo smanjenje ili eliminisanje stvaranja otpada ili zagađenja planete u kontekstu održivog upravljanja otpadom, već podrazumeva i jedno i drugo i održivu gradnju, korišćenje obnovljivih izvora energije, racionalno (zdravorazumno) oblikovanje ljudskih staništa i dizajn ljudskih zajednica. Kroz tako definisanu permakulturu, jasno je da se radi o metodi kojom se dizajniraju održive ljudske zajednice prema uzorcima iz prirode, a da se ta metoda temelji na skupu znanja o dizajniranju održivih ljudskih zajednica i, istovremeno, sama predstavlja jedan takav skup znanja. Permakultura je nastala kao zbir tradicionalnih tehnika obogaćenih novim znanjima i tehnologijom iz brojnih nauka i ljudskih delatnosti, poput arhitekture, građevinarstva, poljoprivrede i šumarstva, hemije, biologije, sociologije, urbanizma, ekologije, ekonomije, energetike, upravljanja vodama i otpadom itd. Pri primeni permakulturnog dizajna namera je da se stvori praktičan sistem za život i proizvodnju, koristeći šeme iz prirode, na kojima su utemeljena održiva ludska staništa. Kao takva, permakultura je sveobuhvatna i obuhvata sve vidove održivosti ljudske vrste, uz poštovanje svih oblika života i ostvarenje života u skladu s prirodom. Ipak, permakulturu ne treba videti samo kao tehniku i metodu koja pozajmljuje od drugih (npr. poljoprivrede, energetike, građevinarstva ili šumarstva) već ona nudi sasvim nove poglede na mnoge naučne discipline. Tako da, permakultura nije prosti zbir svojih sastavnih delova već je, istovremeno, sinergija nastala interdisciplinarnim preklapanjem tih delova.

### Cilj istraživanja i hipoteza

Cilj permakulture u ovom kontekstu je da se stvore sistemi koji su ekološki prihvativi, ekonomski održivi, a koji ispunjavaju potrebe, ne eksploratišu ili zagađuju, a koji su dugoročno samoodrživi. Permakultura izvire najviše resursa i udružuje što više funkcija u svakom elementu pejzaža i koliko je moguće više elemenata u svakom vertikalnom i horizontalnom prostoru. Implementacija permakulturskog dizajna zahteva fleksibilnost i odgovarajuću sekvencu, tako da se mogu izvršiti promene kako to zahteva posmatranje i iskustvo. Stvaranje permakulturskog okruženja je dug i postepen proces, u kojem se koriste tehnike i principi iz ekologije, odgovarajuće tehnologije,

održive poljoprivrede i mudrost zajednica, iako se u suštini zasniva na neposrednom posmatranju prirode na tom mestu.

Kao praktičan primer primene naučnih saznanja u ekološkoj gradnji, obnovljivim izvorima energije, životnoj sredini, samoodržive zajednice, ekoloških proizvoda, smanjenja otpada, zdravog života, poštovanja i neophodnosti racionalnog korišćenja prirodnih resursa, baziran na samoodrživosti, permakultura može biti i turistički proizvod.

Baveći se ovim saznanjem cilj rada je da se pronađe veza i razmotri mogućnost praktične primene permakulturnih principa i dizajna u svakodnevnom životu i spozna koji su potencijali šire primene permakulture kao faktora razvoja ekologije na području Bosne i Hercegovine. Polazeći od predmeta istraživanja u radu bi trebalo proveriti i potvrditi osnovnu hipotezu. Osnovna hipoteza istraživanja je da permakultura kao organizovani pristup u Bosni i Hercegovini nije još uvek adekvatno prepoznata.

### **Permakultura u Bosni i Hercegovini**

Na području Bosne i Hercegovine, permakultura kao pojam i kao organizovani pristup nije još uvek adekvatno prepoznata. U zapadnom delu Bosne i Hercegovine (Republike Srpske) postoje veliki potencijali i neznatno iskorišćen ribolovni turizam, jer postojeći objekti u manje naseljenim ili gotovo nenaseljenim selima, okružen izvornom prirodom i krajolikom, a čiji položaj može predstavljati dobru polaznu osnovu za dizajniranje eko-sela temeljenih na primerima načela i principa permakulture koja bi se mogla koristiti u turističke, ali i edukativne svrhe (na primer opština Ribnik ima velike potencijale za razvoj ribolovnog turizma i da se reka Ribnik koristi u svrhu obavljanja sportsko-ekonomskog ribolova „Fly fishing“, tu se održavaju i manifestacije u vidu republičkih, regionalnih i svetskih takmičenja u mušičarenju, zbog čega privlači veliki broj domaćih i stranih turista. Raspoloživi kapaciteti ugostitenjskih objekata i porodična poljoprivredna gospodinstva i postojeći objekti u slabo naseljenim selima okruženim impresivnom, ne zagađenom životnom sredinom, daju izvanrednu mogućnost za dizajniranje agroekoloških naselja temeljenih na primerima načela i principa permakulture.

Ogledno imanje koje još u potpunosti nije dizajnirano prema principima permakulture je u mjestu Humilišani, u blizini Mostara, gde se nalazi farma - „Nešto više“ koja se prostire na površini oko jednog hektara, na kojoj su zasađene različite kulture voća, povrća, začinskog bilja i uzgajaju se na prirodan način. Dug period je bio potreban da se od zakorovljenog prostora, napravi imanje odnosno da se izgradi potrebna infrastruktura, a imanje se koristi za edukaciju i osnaživanje poljoprivrednika, studenata, nezaposlenih i onih koji razmišljaju o bavljenju poljoprivredom na području Hercegovine. Primarni cilj je bio da se formira ogledno imanje na kojem se nalazi veliki broj različitih sadržaja i provodi edukacija, gde posetoci i članovi udruženja mogu raditi i edukovati se vezano za plasteničku proizvodnju hrane, začinskog bilja i cveća u plastenicima, ali i saznati vezano za hidroponski uzgoj povrća u vodenim supstratima. Na ovom imanju se uzgajaju i gliste radi kompostiranja i u planu je proširivanje imanja. Permakulturni principi zajedno s idejom permakulture, pružaju podršku i promovišu

organSKU poljoprivredu, zelenu energiju, energetski efikasne tehnologije i zdrav način života. Jednako tako, promoviše se i zaštita prirodne i kulturne baštine.



Slika 1. Udruženje "Nešto više" iz Mostara bave se proizvodnjom organske hrane  
(<http://ba.n1info.com>)

Na području Bosne i Hercegovine uočava se: prekomerna eksploatacija resursa (specijskog i ekosistemskog diverziteta), gubitak biodiverziteta usled delovanja antropogenog faktora, invazivnih vrsta, zagađenja, lov i krivolov, iščezavanje i nestanak značajnog broja biljnih i životinjskih vrsta, neodrživo korišćenje resursa koje dovodi do devastacije, destrukcije i degradacije ekosistema, nepostojanje adekvatnih mera i identifikovanih metodologija za razvoj efikasnog sistema za zaštitu biološke i predione raznovrsnosti, nepostojanje sistema monitoringa, tj. organizovanog prikupljanja podataka o prostornoj i vremenskoj organizaciji ukupne biološke i predeone raznovrsnosti i njihovoj heterogenosti u pogledu naučnog i stručnog nivoa i niska ekološka svest građana.

Zaštita prirodnog nasleđa u Bosni i Hercegovini zahteva uspostavljanje efikasnijeg sistema dugoročne zaštite najvrednijih i najznačajnijih prirodnih područja koja se odlikuju visokim stepenom biološke raznolikosti, a u skladu sa savremenim ekološkim kriterijumima i standardima Evropske unije. Vredno prirodno bogatstvo, raznolikost prirodnog nasleđa, visok stepen biološke raznovrsnosti i geodiverziteta, uz zaštićenu kulturno istorijsku i duhovnu baštinu, čini osnov za razvoj turizma na teritoriji Bosne i Hercegovine, uz određene razlike na regijskom nivou. Zaštićena prirodna područja, kulturno nasleđe, reke Drina, Vrbas, Una, Ugar, Vrbanja, Pliva, Janj, Sava, banje i geotermalni izvori, planine Jahorina, Romanija, Javor, Ozren, Zelengora, Borja, Manjača, Vitorog, Kozara i infrastrukturni koridori trebaju poslužiti kao osnov za razvoj turizma na području Bosne i Hercegovine, kao što su: seoski i eko-turizam, banjski, zimski i planinski, nautički, tranzitni i kulturno-istorijski turizam.

Strategija zaštite prirode, ali i zaštita i unapređenje životne sredine, kao osnove uravnoteženog razvoja, korišćenja i uređenja prostora Bosne i Hercegovine, podrazumevaju usklađivanje korišćenja prostora sa mogućnostima i ograničenjima prirodnih i stvorenih vrednosti, tj. sa karakteristikama životne sredine. Da bi se ovo ostvarilo ključni koraci su dalja integracija politike životne sredine u ostale sektorske politike, prihvatanje veće pojedinačne odgovornosti za prirodu, harmonizacija

nacionalnih propisa sa zakonodavstvom EU i njihova puna primena i aktivnije učešće javnosti u procesima donošenja odluka.

Energetska kriza iz dana u dan eskalira, zahteva brze reakcije na nove situacije i ubrzano prilagođavanje postojećih neprikladnih sistema i primenu najboljih kreativnih inovacija na najobičnije i najmanje probleme u dizajniranju. Sve to treba napraviti bez velikih budžeta koji se vrte u postojećem svetu inovacije i dizajna.

Permakulturna načela dizajniranja nikada neće moći zameniti relevantno praktično iskustvo i tehnička znanja. Međutim, ona mogu pružiti okvir za kontinuirano stvaranje i evaluaciju rešenja koja su primenjiva za pojedine terene, kako bi se vinula dalje od ograničenog uspeha postojećeg održivog razvoja prema ponovnom ujedinjenju kulture i prirode.

Koncepti permakulture i održivog razvoja ne podrazumevaju samo ekološki prihvatljivo građevinarstvo i poljoprivrednu proizvodnju, već i davanje prednosti saradnji, a ne takmičenju i izgradnja kvalitetnih i pouzdanih međuljudsих odnosa.

### **Zaključak**

Ako se želi postići veća efikasnost, društveni napredak i odgovornost prema prirodi, neophodno je planiranje u samom načinu življenja. U skladu s tim, planove koji imaju poseban značaj treba izradivati uz najširu moguću participaciju svih zainteresovanih strana, a arhitekti, urbani planeri i dizajneri permakulture imaju u tom procesu stratešku ulogu koordinatora i koreografa novih procesa. Oni su dužni najdirektnije sarađivati sa lokalnom zajednicom, nevladinim organizacijama i potencijalnim korisnicima prostora.

Permakulturna rešenja treba gledati kao jedan pravac za pozitivan i održiv rast. Kroz njihovo nastojanje da se usklade potrebe savremenog čoveka sa prirodom, jer čovek se prvenstveno oslanja na prirodno kruženje materije, kao deo cikličkog sistema u kojem nema otpada i uzaludnog trošenja energije. Energija koja se danas najviše koristi je najčešće fosilnog porekla, a njena primena predstavlja velike ekološke probleme, zato je u permakulturi preporučljivo koristiti energiju iz obnovljivih izvora. Obnovljivi izvori energije su energija veta, sunca, biomase, plime i geotermalna energija, a ekološkim dizajnom mogu se ostvariti velike uštede energije. Neka od rasprostranjenih i dostupnih rešenja za domaćinstva su solarni kolektori za toplu vodu, vetrenjače i fotonaponske ćelije za električnu energiju, solarna kuvala, biogas, korišćenje drvne biomase za ogrev, ugradnja energetskih peći s velikom termalnom masom i drugo. Vodna bogatstva su na udaru većine zagadivačkih sistema, jer pre ili kasnije sve otpadne vode, izlivи nafte na kopnu ili moru, hemikalije iz poljoprivrede, kanalizacioni sistemi gradova, završe u podzemnim vodama, rekama i morima. Moderna-poljoprivredna proizvodnja s pratećom agrobiohemijском industrijom trajno degradira zemljište i pretvaraju plodne površine u pustinje. Odgovor tom destruktivnom trendu su svi tipovi organske proizvodnje hrane, a primenom permakulturalnih i drugih organskih rešenja u poljoprivredi, građevinarstvu i infrastrukturnim zahvatima, uništavanje staništa će se smanjiti, kao i zagadenje podzemnih voda.

Rešenja osmišljena permakulturalnim dizajnom predstavljaju praktičnu nadogradnju u prirodno okruženje sa konkretnim predlozima za održivu budućnost i zaštitu prirode. Mnogi se resursi iscrpljuju brže nego što mogu biti zamenjeni novim, dok će neki

resursi u potpunosti nestati ukoliko se ne smanji njihova potrošnja. Ovo je ozbiljan problem, jer živi svet zavisi od njih. Zemljini resursi mogu se sačuvati za budućnost samo ako se prema njima odnosi odgovorno i troši samo ono što je neophodno za život, bez nepotrebnog rasipanja. Vlastito zdravlje, zdravlje naše dece, briga za planetu Zemlju, težnja za kvalitetnijom okolinom, čine se kao neki od sasvim relevantnih razloga za razmišljanje o našim životnim aktivnostima i težnja da se dovedu u što veći sklad s prirodom.

Budući da je u Bosni i Hercegovini sam pojam permakulture relativno nepoznat i da je sa izuzetkom nekoliko pojedinačnih slučajeva, gotovo da i ne postoji šira mreža udruženja ili jači pokret koji promoviše život u skladu s principima permakulture, jasno je da je uticaj permakulture na očuvanje prirode u Bosni i Hercegovini trenutno mali i gotovo neznatan.

### **Literatura**

- Bang, J. M. (2005). *Ecovillages: A Practical Guide to Sustainable Communities*. Floris Books, Edinburgh, pp.124-125.
- Christensen, K. and Levinson, D. (2003). *Encyclopedia of Community: From the Village to the Virtual World*. London: Sage Publications Ltd.
- Holcer, J. S. (2012). *Permakultura*. Izdavač Zvoneći kedri Srbije, Beograd.
- Mollison B. (1996). *Uvod u permakulturu*. Izdavač Građevinski fakultet Sveučilišta u Splitu, Split.
- Stevenson, F., Baborska-Narozny, M. & Chatterton, P. (2016). Resilience, redundancy and low-carbon living: co-producing individual and community learning. *Building Research and Information*, 44 (7). pp. 789-803.

## PERMACULTURE AND RETURN TO NATURE

*Obrenija Kalamanda<sup>1</sup>, Vlatka Đurašinović<sup>2</sup>*

### Abstract

Permaculture is a branch of ecological design, environmental engineering, integrated water resources management, which develops sustainable architecture, regenerative and self-sustaining habitats and agricultural systems that are modeled on natural ecosystems. Permaculture is a harmonious integration of people and the environment, which provides food, energy, housing and other tangible and intangible needs in a sustainable way. It is an interdisciplinary science of Earth, which unites many classical sciences and directs them to the care of Earth, the care of people, the wise control of population expansion and the control of the consumption of material goods. Permaculture and permaculture design are such that they minimize waste, but at the same time people work and energy input for system construction.

The aim of the paper is to find a connection and to consider the possibility of practical application of permaculture principles and design in everyday life and to find out about the potential of wider use of permaculture as a factor of tourism and ecology development in Bosnia and Herzegovina. Permaculture as an organized approach in Bosnia and Herzegovina is not yet adequately recognized.

**Key words:** permaculture, return to nature, self-sustainability

---

<sup>1</sup> University of Business Studies Banja Luka, Faculty of Ecology, Jovana Dučića 23a, Banja Luka, Republic of Srpska (obrenija2009@hotmail.com)



## KONTROLA PATOGENIH BAKTERIJA U HRANI EKSTRAKTIMA ZAČINSKIH BILJAKA

Olgica Stefanović<sup>1</sup>, Marina Stanković<sup>1</sup>, Jelena Terzić<sup>1</sup>

**Izvod:** U ovom radu je testirana antibakterijska aktivnost etanolnih, acetonskih i etil-acetatnih ekstrakata odabrane tri začinske i lekovite biljne vrste *Curcuma longa* L., *Laurus nobilis* L. i *Urtica dioica* L. u odnosu na patogene bakterije u hrani primenom mikrodilucione metode i određene su minimalne inhibitorne koncentracije (MIK). Testirani ekstrakti su ispoljili selektivnu antibakterijsku aktivnost, bolje su delovali na Gram-pozitive bakterije (MIK = 1,25 – 10 mg ml<sup>-1</sup>), nego na Gram-negativne bakterije (MIK= 2,5 - >10 mg ml<sup>-1</sup>). U odnosu na pozitivnu kontrolu, ekstrakti su, uglavnom, pokazali jaču antibakterijsku aktivnost. Među testiranim biljkama najaktivniji su bili ekstrakti lovora, zatim koprive i kurkume. Dobijeni rezultati doprinose daljim istraživanjima ovih biljaka u cilju kontrole patogenih bakterija u hrani i njihove primene kao prirodnji konzervansi.

**Ključne reči:** antibakterijska aktivnost, biljni ekstrakti, patogene bakterije

### Uvod

Velika potreba za hranom visokog kvaliteta koja je bezbedna za upotrebu, zahteva nove, prirodne načine dugotrajnog čuvanja hrane. Ovo predstavlja značajne izazove, posebno zbog toga što postoje sve veća neslaganja u vezi sa upotrebot hemijskih konzervanasa i veštačkih antimikrobnih sredstava. Radene su studije koje su pokazale da konzervansi mogu da izazovu alergije, povećavaju rizik za pojavu kancera, deluju nepovoljno na dečiji organizam i mogu da izazovu hiperaktivnost kod dece (Sinha i sar., 2005; Jakiszyn i sar., 2006; McCann i sar., 2007). Stoga u novije vreme, prirodna antimikrobna jedinjenja izolovana iz biljaka sve više dobijaju na značaju. Ova jedinjenja kontrolišu kontaminaciju hrane izazvanu mikroorganizmima, produžavaju rok upotrebe konzervirane hrane, ne dovode do razvoja rezistencije mikroorganizama, a nemaju negativan uticaj na zdravlje ljudi (Tajkarimi i sar., 2010).

Začinske biljke osim što doprinose boljim organoleptičkim svojstvima, ispoljavaju značajan inhibitorni efekat na rast i razvoj bakterija. Antibakterijska aktivnost začinskih biljaka i biljnih ekstrakata se pripisuje sekundarnim metabolitima koje biljke produkuju kao odgovor na nepovoljne uslove spoljašnje sredine. Sekundarni metaboliti se, prema hemijskoj strukturi, grupišu u tri velike grupe: alkaloidi, fenolna jedinjenja i terpeni. Pokazano je da inhibitorni efekat ispoljavaju na nekoliko načina: narušavaju propustljivost i funkciju ćelijske membrane, inhibiraju aktivnost enzima, ometaju sintezu DNK i proteina. Efikasnost, naravno, zavisni od više faktora: vrste bakterije, karakteristika biljnog materijala (vreme i mesto prikupljanja biljnog materijala, sastav i

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno-matematički fakultet u Kragujevcu, Radoja Domanovića 12, Kragujevac, Srbija (olgica.stefanovic@pmf.kg.ac.rs)

količina aktivnih materija), metoda ekstrakcije i hemijskih karakteristika aktivnih materija kao i od temperature skladištenja hrane, količine dostupnog kiseonika, pH vrednosti (Stefanović, 2018).

Cilj rada je bio da se ispita antibakterijska aktivnost etanolnih, acetonskih i etil-acetatnih ekstrakata biljnih vrsta *Curcuma longa* L., *Laurus nobilis* L. i *Urtica dioica* L. na patogene bakterije izolovane iz životnih namirnica. Odabrane su tri poznate začinske i lekovite biljke koje se, zbog svojih bioloških aktivnosti i niske toksičnosti, poslednjih godina sve više istražuju i u pravcu njihove primene kao prirodni konzervansi.

### **Materijal i metode rada**

#### **Priprema ekstrakata**

Biljni materijal je nabavljen iz komercijalnih izvora. Korišćen je usitnjen, osušen list lovora i koprive i prah rizoma kurkume. Ekstrakcija je urađena metodom maceracije primenom tri vrste rastvarača: etanol, aceton i etil-acetat. Biljni materijal (30g) preliven određenim rastvaračem je ekstrahovan na sobnoj temperaturi 72 sata, na svaka 24 sata menjana je nova količina rastvarača. Nakon ekstrakcije i filtriranja, rastvarači su uparavani na vakuum uparivaču na 40°C, a kao rezultat ekstrakcije dobijeni su čvrsti ekstrakti. Početne koncentracije ekstrakata pripremene su u 10% dimetilsulfoksidu (DMSO).

#### **Test bakterije**

Antibakterijska aktivnost ekstrakata je testirana u odnosu na 7 izolata bakterija iz životnih namirnica: *Escherichia coli* (čaj-biljni materijal), *Escherichia coli* O157 (sir od nepasterizovanog mleka), *Klebsiella oxytoca* (sir od nepasterizovanog mleka), *Proteus mirabilis* (sveže meso), *Salmonella enterica* (jaje), *Salmonella typhimurium* (jaje), *Staphylococcus aureus* (mleko) i na 2 standardna soja: *Escherichia coli* ATCC 25922 i *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Izolati su poklon Instituta za javno zdravlje Kragujevac. Bakterijske suspenzije su pripremene od kolonija uzetih direktno sa hranljivih podloga i suspendovanih u 5 ml sterilnog fiziološkog rastvora. Gustina početne suspenzije je podešena na denzitometru do gustine od 0,5 Mc Farland standarda, a zatim razblažena u odnosu 1:100.

#### **Ispitivanje antibakterijske aktivnosti**

Antibakterijska aktivnost je testirana određivanjem minimalne inhibitorne koncentracije (MIK) primenom mikrodilucione metode sa resazurinom, indikatorom bakterijskog rasta (Sarker i sar., 2007). Pripremana je serija dvostrukih razblaženja testiranih ekstrakata u Miler-Hinton bujonu u opsegu od  $10 \text{ mg ml}^{-1}$  do  $0,156 \text{ mg ml}^{-1}$ . Zasejane mikrotitracione ploče su inkubirane 24h/37°C, a zatim očitavani rezultati. MIK ekstrakata je najniža koncentracija na kojoj je došlo do inhibicije rasta bakterija za više od 50%. MIK je određena kao najniža koncentracija ekstrakta na kojoj nije došlo do promene boje indikatora rasta - resazurina. Kao pozitivna kontrola korišćen je

konzervans – natrijum nitrit, a testiran je i efekat 10% DMSO na rast bakterija. Eksperiment je uključivao kontrolu rasta i kontrolu sterilnosti.

Statističke analize su urađene korišćenjem SPSS paketa, primenom ANOVA testa.  $p$  vrednost  $<0,05$  smatrana je statistički značajnom.

### Rezultati istraživanja i diskusija

Rezultati antibakterijske aktivnosti etanolnih, acetonskih i etil-acetatnih ekstrakata začinskih biljaka *C. longa* L. (kupryma), *L. nobilis* L. (lovor) i *U. dioica* L. (kopriva) su prikazani u Tabelama 1-3. Kontrola rastvarača je pokazala da 10% DMSO nije toksičan na testirane bakterije.

Intenzitet aktivnosti ekstrakata je zavisio od vrste bakterije, biljne vrste, vrste i koncentracije ekstrakata. Uporedivanjem sa pozitivnom kontrolom (konzervans) ekstrakti koprive i lovora su pokazali jaču ili sličnu aktivnost u zavisnosti od vrste bakterije, ali ne statistički značajnu ( $p > 0,05$ ). Ekstrakti su bili aktivniji u odnosu na Gram-pozitivne nego Gram-negativne bakterije, ali ne statistički značajno ( $p > 0,05$ ).

Ekstrakti koprive (*U. dioica* L.) su delovali u koncentracijama od  $2,5 \text{ mg ml}^{-1}$  do  $10 \text{ mg ml}^{-1}$  (Tabela 1). Značajnu osetljivost su pokazale bakterije *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* i *P. mirabilis*. Etil-acetatni ekstrakt je delovao na koncentraciji od  $2,5 \text{ mg ml}^{-1}$  na *S. aureus* ATCC 25923, acetonski ekstrakt na koncentraciji od  $5 \text{ mg ml}^{-1}$ , a etanolni ekstrakt na  $10 \text{ mg ml}^{-1}$ . Na *S. aureus* etil-acetatni i acetonski ekstrakti su delovali na koncentraciji od  $5 \text{ mg ml}^{-1}$ , a etanolni ekstrakt na koncentraciji od  $10 \text{ mg ml}^{-1}$ . Etanolni i acetonski ekstrakti su inhibirali rast *P. mirabilis* na koncentraciji od  $2,5 \text{ mg ml}^{-1}$ , a etil-acetatni na  $10 \text{ mg ml}^{-1}$ . Najmanju osetljivost su pokazale Gram-negativne bakterije *E. coli* ATCC 25922, *E. coli*, *E. coli* O157, *K. oxytoca* i *S. typhimurium*. Svi ekstrakti su delovali pri MIK vrednosti od  $10 \text{ mg ml}^{-1}$ .

Tabela 1. Antibakterijska aktivnost ekstrakata vrste *Urtica dioica* L.

Table 1. Antibacterial activity of *Urtica dioica* L. extracts

Bakterije Bacteria	EtOH	AcOH	EtAc	NaNO <sub>2</sub>
				mg ml <sup>-1</sup>
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	10	10	10	12,5
<i>Escherichia coli</i>	10	10	10	12,5
<i>Escherichia coli</i> O157	10	10	10	12,5
<i>Klebsiella oxytoca</i>	10	10	10	12,5
<i>Proteus mirabilis</i>	2,5	2,5	10	25
<i>Salmonella enterica</i>	10	5	10	12,5
<i>Salmonella typhimurium</i>	10	10	10	12,5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	10	5	2,5	6,25
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	5	5	6,25

EtOH - etanolni ekstrakt/ethanol extract; AcOH - acetonski ekstrakt/acetone extract; EtAc - etil-acetatni ekstrakt/ethyl acetate extract; NaNO<sub>2</sub> - natrijum nitrit/sodium nitrite

Ekstrakti lovora (*L. nobilis* L.) su delovali u koncentracijama od  $1,25 \text{ mg ml}^{-1}$  do  $10 \text{ mg ml}^{-1}$  (Tabela 2). Najosetljivije testirane bakterije su bile *S. aureus* ATCC 25923 i *S. aureus*. U odnosu na *S. aureus* ATCC 25923 acetonski ekstrakt je delovao na  $1,25 \text{ mg ml}^{-1}$ .

$\text{ml}^{-1}$ , a etanolni i etil-acetatni ekstrakt na koncentraciji od  $2,5 \text{ mg ml}^{-1}$ . Na *S. aureus* etil-acetatni i acetonski ekstrakti su delovali na koncentraciji od  $2,5 \text{ mg ml}^{-1}$ , a etanolni ekstrakt na koncentraciji od  $5 \text{ mg ml}^{-1}$ . Testirane Gram-negativne bakterije su ispoljile smanjenu osetljivost. Svi ekstrakti su delovali pri MIK vrednosti od  $10 \text{ mg ml}^{-1}$ .

Tabela 2. Antibakterijska aktivnost ekstrakata vrste *Laurus nobilis* L.Table 2. Antibacterial activity of *Laurus nobilis* L. extracts

Bakterije Bacteria	EtOH	AcOH	EtAc	NaNO <sub>2</sub>
	mg ml <sup>-1</sup>			
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	10	10	10	12,5
<i>Escherichia coli</i>	10	10	10	12,5
<i>Escherichia coli</i> O157	10	10	10	12,5
<i>Klebsiella oxytoca</i>	10	10	10	12,5
<i>Proteus mirabilis</i>	10	10	10	25
<i>Salmonella enterica</i>	10	10	10	12,5
<i>Salmonella typhimurium</i>	10	10	10	12,5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	2,5	1,25	2,5	6,25
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	2,5	2,5	6,25

EtOH - etanolni ekstrakt/ethanol extract; AcOH - acetonski ekstrakt/acetone extract;  
EtAc - etil-acetatni ekstrakt/ethyl acetate extract; NaNO<sub>2</sub> - natrijum nitrit/sodium nitrite

Ekstrakti kurkume (*C. longa* L.) su pokazali ujednačenu aktivnost, delovali su u koncentracijama od  $5 \text{ mg ml}^{-1}$  do  $>10 \text{ mg ml}^{-1}$  (Tabela 3). Etanolni i acetonski ekstrakti su inhibirali rast *S. aureus* ATCC 25923 i *S. aureus* na koncentraciji od  $10 \text{ mg ml}^{-1}$ . Etil-acetatni ekstrakt je delovao na  $5 \text{ mg ml}^{-1}$ . Ekstrakti su slabije delovali na testirane Gram-negativne bakterije i to na koncentracijama većim od  $10 \text{ mg ml}^{-1}$ .

Tabela 3. Antibakterijska aktivnost ekstrakata vrste *Curcuma longa* L.Table 3. Antibacterial activity of *Curcuma longa* L. extracts

Bakterije Bacteria	EtOH	AcOH	EtAc	NaNO <sub>2</sub>
	mg ml <sup>-1</sup>			
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	>10	>10	>10	12,5
<i>Escherichia coli</i>	>10	>10	>10	12,5
<i>Escherichia coli</i> O157	>10	>10	>10	12,5
<i>Klebsiella oxytoca</i>	>10	>10	>10	12,5
<i>Proteus mirabilis</i>	>10	>10	>10	25
<i>Salmonella enterica</i>	>10	>10	>10	12,5
<i>Salmonella typhimurium</i>	>10	>10	>10	12,5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	10	10	5	6,25
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	10	5	6,25

EtOH - etanolni ekstrakt/ethanol extract; AcOH - acetonski ekstrakt/acetone extract;  
EtAc - etil-acetatni ekstrakt/ethyl acetate extract; NaNO<sub>2</sub> - natrijum nitrit/sodium nitrite

Antibakterijska aktivnost koprive, lovora i kurkume je potvrđena i u istraživanjima drugih autora. Rezultati dosadašnjih istraživanja su u korelaciji sa prikazanim rezultatima. Usaglašenost rezultata je uočena u boljoj aktivnosti ekstrakata u odnosu na

Gram-pozitivne bakterije, kao i u koncentracijama delovanja. Turker i sar. (2008) su istraživali antibakterijsku aktivnost vodenog ekstrakta koprive i uočili značajnu antibakterijsku aktivnost prema *Streptococcus pyogenes*, *S. aureus* i *S. epidermidis*. Kukrić i sar. (2012) su odredili MIK vrednosti etanolnog ekstrakta koprive u opsegu od 9,05 do 149,93 mg ml<sup>-1</sup>. Pored toga, ekstrakti kurkume su delovali u opsegu od 4 do 512 mg ml<sup>-1</sup> u testiranjima (Fagbemi i sar., 2009). Ghadiri i sar. (2014) su potvrdili inhibitorno dejstvo etanolnog ekstrakta lovora na *S. aureus*.

### **Zaključak**

U ovom radu pokazana je antibakterijska aktivnost etanolnih, acetonskih, i etil-acetatnih ekstrakata vrsta *C. longa* L., *L. nobilis* L. i *U. dioica* L. na patogene bakterije iz hrane. Vrednosti MIK su bile u opsegu od 1,25 do >10 mg ml<sup>-1</sup>. U odnosu na pozitivnu kontrolu-konzervans, ekstrakti su ispoljili jaču ili sličnu aktivnost u zavisnosti od vrste bakterije. Među testiranim biljkama najaktivniji su bili ekstrakti lovora, zatim koprive i kurkume. Ekstrakti su značajno delovali na Gram-pozitivne bakterije što ukazuje na njihovu potencijalnu primenu kao prirodni konzervansi.

### **Napomena**

Istraživanja u ovom radu deo su projekta Preklinička ispitivanja bioaktivnih supstanci III41010 koji finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

### **Literatura**

- Fagbemi J.F., Ugoji E., Adenipekun T., Adelowotan O. (2009). Evaluation of the antimicrobial properties of unripe banana (*Musa sapientum* L.), lemon grass (*Cymbopogon citratus* S.) and turmeric (*Curcuma longa* L.) on pathogens. African Journal of Biotechnology, 8(7): 1176-1182.
- Ghadiri E., Ahmadi R., Moridikyia A., Mahdavi E., Tavakoli P. (2014). *Laurus nobilis* has antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*. International Conference on Food, Biological and Medical Sciences 28-29
- Jakszyn P., Gonzalez C.A. (2006). Nitrosamine and related food intake and gastric and oesophageal cancer risk: A systematic review of the epidemiological evidence. World Journal of Gastroenterology, 12(27): 4296-4303.
- Kukrić Z.Z., Topalić-Trivunović L.N., Kukavica B.M., Matoš S.B., Pavičić S.S., Boroja M.M. (2012). Characterization of antioxidant and antimicrobial activities of nettle leaves (*Urtica dioica* L.). Acta periodica technologica, 43: 259-272.
- McCann D., Barrett A., Cooper A., Crumpler D., Dalen L., Grimshaw K., Kitchin E., Lok K., Porteous L., Prince E., Sonuga-Barke E., Warner J.O., Stevenson J. (2007). Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial. Lancet, 370: 1560-1567.

- Sarker S.D., Nahar L., Kumarasamy Y. (2007). Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the *in vitro* antibacterial screening of phytochemicals. *Methods*, 42(4): 321-324.
- Sinha R., Peters U., Cross A.J., Kulldorff M., Weissfeld J.L., Pinsky P.F., Rothman N., Hayes R.B. (2005). Meat, meat cooking methods and preservation, and risk for colorectal adenoma. *Cancer Research*, 65(17): 8034-8041.
- Stefanović O. (2018). Synergistic activity of antibiotics and bioactive plant extracts: a study against Gram-positive and Gram-negative bacteria. In: *Bacterial pathogenesis and antibacterial control*, Kirmusaoglu S. (ed), 23-48. London, United Kingdom: IntechOpen.
- Turker A.U., Usta C. (2008). Biological screenings of some Turkish medicinal plant extracts for antimicrobial and toxicity activities. *Natural Product Research*, 22: 136-146.
- Tajkarimi M.M., Ibrahim S.A., Cliver D.O. (2010). Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*, 21: 1199-1218.

## CONTROL OF PATHOGENIC BACTERIA IN FOOD BY SPICES

Olgica Stefanović<sup>1</sup>, Marina Stanković<sup>1</sup>, Jelena Terzić<sup>1</sup>

### Abstract

In this work antibacterial activity of ethanol, acetone and ethyl acetate extracts of *Curcuma longa* L., *Laurus nobilis* L. i *Urtica dioica* L. against pathogenic bacteria in food was tested using microdilution method and minimal inhibitory concentrations (MIC) were determined. The extracts showed selective activity, they were more active against Gram-positive bacteria ( $MIC = 1,25 - 10 \text{ mg ml}^{-1}$ ) than Gram-negative bacteria ( $MIC= 2,5 - >10 \text{ mg ml}^{-1}$ ). In relation to positive control, the extracts were more active. Among the tested plant species, the most active was *L. nobilis* than *U. dioica* L. and *C. longa*. The obtained results contribute the use of tested plants as natural preservatives.

**Key words:** antibacterial activity, plant extracts, pathogenic bacteria

---

<sup>1</sup>University of Kragujevac, Faculty of Science, Radoja Domanovića 12, Kragujevac, Serbia  
(olgica.stefanovic@pmf.kg.ac.rs)

## IN VIVO ANTIGENOTOKSIČNA AKTIVNOST ELAGINSKE I GALNE KISELINE

Sanja Matić, Snežana Stanić, Milica Kanjevac

**Izvod:** Polazeći od činjenice da sekundarni metaboliti imaju funkcionalnu vrednost za ljudski organizam u radu je ispitivana antigenotoksična aktivnost elaginske i galne kiseline u odnosu na etil metanosulfonatom indukovano DNK oštećenje u germinativnim i somatskim ćelijama kod *Drosophila melanogaster*, primenom SLRL i komet testa. Galna i elaginska kiselina redukuju frekvencu X-vezanih mutacija u germinativnim ćelijskim linijama i ispoljavaju antigenotoksični efekat sa procentom redukcije DNK oštećenja većim od 50%. Rezultati potvrđuju opravdanost primene ispitivanih fenolnih kiselina u sprečavanju pojave ili smanjenju stope genetičkih oštećenja koja mogu biti uzrok brojnih oboljenja.

**Ključne reči:** antigenotoksična aktivnost, *Drosophila melanogaster*, galna kiselina, elaginska kiselina

### Uvod

Biljke, sekundarnim metabolizmom, produkuju različite materije: terpenoide, iridoide, alkalioide, fenolna jedinjenja, flavanoide, vitamine i dr. koje imaju funkcionalnu vrednost za ljudski organizam, delujući u smislu zaštite od bolesti. Iako se flavonoidi smatraju glavnim bioaktivnim polifenolima, sve više se proučava biomedicinski potencijal fenolnih kiselina i njihovo blagotvorno delovanje na zdravlje ljudi (Saxena i sar., 2012.; Rosa i sar., 2016.). Unos dovoljne količine fenolnih kiselina, preko namirnica biljnog porekla, ima značajnu ulogu u zaštiti organizama od štetnog oksidativnog stresa (Leopoldini i sar., 2011.).

Fenolne kiseline široko su rasprostranjene u voću, povrću, žitaricama i u brojnim lekovitim biljnim vrstama (Janicsak i sar., 1999.). Izvori galne kiseline jesu jabuke, breskve, citrusni plodovi i povrće. Elaginska kiselina je prisutna u jagodi (162 mg/100 g suve materije), malini (415 mg/100 g suve materije), grožđu i orašastim plodovima (Toth i sar., 2003.).

Obzirom na to da su mnoge bolesti čoveka u vezi sa promenom strukture naslednog materijala, veliki broj naučnih istraživanja bazira se na otkrivanju jedinjenja, kako prirodnog tako i veštačkog porekla, koja utiču na funkciju DNK, ali i na funkciju reparacionih mehanizama. U ove svrhe se sve više koriste *in vivo* i *in vitro* testovi, kako na prokariotskim tako i na eukariotskim organizmima. *In vivo* eksperimenti na eukariotskim model organizmima imaju prednost jer prikazuju stvarni metabolički efekat i obezbeđuju značajne rezultate za razumevanje biološke aktivnosti ispitivanih jedinjenja (Zimonjić i sar., 1990.).

Cilj ovog rada je ispitivanje potencijalne antigenotoksičnosti odabranih fenolnih kiselina (galne i elaginske) u odnosu na etil metanosulfonatom (EMS) indukovano DNK oštećenje u germinativnim i somatskim ćelijama kod *Drosophila melanogaster*, primenom SLRL (eng. *Sex Linked Recessive Lethal*) i komet testa.

### Materijal i metode rada

Jedinke *D. melanogaster* (Bloomington Stock Centre, Indiana, USA) se čuvaju u teglicama sa hranjivim supstratom na konstantnoj temperaturi od 25°C i pri relativnoj vlažnosti od 60%.

*Test za detekciju germinativnih mutacija:* Primenom testa za detekciju polno vezanih recessivno letalnih mutacija, dobijene frekvence X vezanih mutacija, indukovanih kod mužjaka laboratorijske linije "Canton S", prikazane su za četiri grupe: prva grupa je tretirana rastvorom saharoze (1%), druga grupa je tretirana dokazanim mutagenom EMS-om (0,75 ppm), treća grupa (post-tretman) je tretirana EMS-om (0,75 ppm) 24 h pre tretmana sa galnom kiselinom (100 ppm, kataloški broj 149-91-7, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) i četvrta grupa (post-tretman) je tretirana EMS-om 24 h pre tretmana sa elaginskom kiselinom (100 ppm, kataloški broj 133039-73-3, TCI, Tokyo Chemical Industry CO., LTD). SLRL test je izведен prema standardnoj proceduri (Würgler i Graf, 1985.).

*Test za detekciju somatskih mutacija:* Za izvođenje komet testa koristi se prednji deo zadnjeg creva larvi na trećem stupnju razvića laboratorijske linije "Canton S". Jedna grupa larvi (10 larvi po grupi) starosti  $72 \pm 2$  sata ( $24 \pm 1^\circ\text{C}$ ) prebacuje se na hranjivu podlogu (negativna kontrola), druga grupa na supstrat sa etil metanosulfonatom (5 mM, pozitivna kontrola), treća grupa na supstrat sa 5 mM EMS-om i 1 mM galnom kiselinom i četvrta grupa na supstrat sa 5 mM EMS-om i 1 mM elaginskom kiselinom. Komet test je izведен prema standardnoj proceduri (Singh i sar., 1988.) modifikovanoj od strane Mukhopadhyay i sar. (2004.). Pločice se boje etidijum bromidom (75 µl) i pokriju pokrovnim stakлом. Primenom fluorescentnog mikroskopa Nikon (Ti-Eclipse) analiziraju se i slikaju ćelije, za svaki uzorak 3 merenja po 100 ćelija. Stepen zaštite DNK utvrđuje se pomoću % DNK u repu i procenta redukcije DNK oštećenja (%R).

*Statistička obrada podataka:* Statistički značajna razlika utvrđena je na nivou greške od 5% ( $p < 0,05$ ) testiranjem razlike između proporcija - razlika između velikih nezavisnih uzoraka (Petz, 1985.) i primenom analize varijanse (ANOVA test). Za statističku obradu podataka korišćen je kompjuterski softverski program SPSS verzija 13.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA).

### Rezultati istraživanja i diskusija

U radu su prikazani rezultati antigenotoksičnog potencijala galne i elaginske kiseline, dobijeni primenom dva testa na *D. melanogaster*, SLRL test za detekciju X vezanih mutacija u premejotičkim i postmejotičkim germinativnim ćelijama, i komet test primjenjen za detektovanje somatskih mutacija.

Učestalost polno vezanih recessivnih letalnih mutacija u prvoj grupi (koja predstavlja negativnu kontrolu) je u sva tri legla najniža što je i očekivano jer tretman

saharozom pokazuje spontanu stopu mutacija (Tabela 1, kolona 2). Iz kolone 3 uočava se da EMS (primjenjen u koncentraciji od 0,75 ppm) indukuje visoku stopu mutacija u premejotičkim i postmejotičkim germinativnim celijama.

Табела 1. Antigenotoksična aktivnost galne i elaginske kiseline

Table 1. Antigenotoxic activity of gallic and ellagic acids

	S <sup>a</sup>	EMS <sup>b</sup>	EMS+GK <sup>c</sup> EMS+GA <sup>d</sup>	EMS+EK <sup>c</sup> EMS+EA <sup>d</sup>	t <sub>S/EMS</sub>	t <sub>S/EMS+GK</sub> t <sub>S/EMS+GA</sub>	t <sub>S/EMS+EK</sub> t <sub>S/EMS+EA</sub>	t <sub>EMS/EMS+GK</sub> t <sub>EMS/EMS+GA</sub>	t <sub>EMS/EMS+EK</sub> t <sub>EMS/EMS+EA</sub>
I leglo Σ <i>I brood Σ</i>	92	104	88	72	8,3	0,6	0,75	7,1	5,7
Broj letala <i>No of lethal</i>	12	64	18	16	p < 0,001***	p > 0,05	p > 0,05	p < 0,001***	p < 0,001***
% letala <i>% of lethal</i>	13,04	61,5	20,5	22,2					
II leglo Σ <i>II brood Σ</i>	96	90	56	80	6,7	1,8	2,5	3,5	3,4
Broj letala <i>No of lethal</i>	10	44	12	20	p < 0,001***	p > 0,05	p < 0,05*	p < 0,001***	p < 0,001***
% letala <i>% of lethal</i>	10,4	48,9	21,4	25					
III leglo Σ <i>III brood Σ</i>	64	108	32	62	5,3	0,9	0,5	3,6	4,7
Broj letala <i>No of lethal</i>	6	44	5	8	p < 0,001***	p > 0,05	p > 0,05	p < 0,001***	p < 0,001***
% letala <i>% of lethal</i>	9,4	40,7	15,6	12,9					
I+II+III Σ	252	302	176	214	13,3	2,1	2,9	7,8	7,3
Broj letala <i>No of lethal</i>	28	152	35	44	p < 0,001***	p < 0,05*	p < 0,01**	p < 0,001***	p < 0,001***
% letala <i>% of lethal</i>	11,1	50,3	19,9	20,6					

<sup>a</sup>S; Saharoza; negativna kontrola, 1%

<sup>a</sup>S; Sucrose; negative control, 1%

<sup>b</sup>EMS; etil metanosulfonat, pozitivna kontrola, 0,75 ppm

<sup>b</sup>EMS; ethyl methanesulfonate, positive control, 0.75 ppm

<sup>c</sup>EMS+GK; etil metanosulfonat 0,75 ppm + galna kiselina 100 ppm

<sup>c</sup>EMS+GA; ethyl methanesulfonate 0.75 ppm + gallic acid 100 ppm

<sup>d</sup>EMS+GK; etil metanosulfonat 0,75 ppm + elaginska kiselina 100 ppm

<sup>d</sup>EMS+GA; ethyl methanesulfonate 0.75 ppm + ellagic acid 100 ppm

Statistički značajne razlike: p < 0,01\*\*, p < 0,001\*\*\*

Statistically significant difference: p < 0.01\*\*, p < 0.001\*\*\*

U Tabeli 1 prikazane su potencijalne antigenotoksične aktivnosti galne i elaginske kiseline, odnosno sposobnosti da smanje frekvencu germinativnih mutacija izazvanih u post-tretmanu etil metanosulfonatom.

Poređenjem frekvencija X vezanih mutacija indukovanih kod mužjaka tretiranih EMS-om i mužjaka sa post-tretmanom (EMS + galna kiselina) uočava se značajno sniženje stope mutacija u sva tri legla (Tabela 1). U poređenju sa negativnom kontrolom ova fenolna kiselina je pokazala sposobnost zaštite DNK od oštećenja izazvanog

tretmanom sa alkilirajućim agensom. Dobijeni rezultati ukazuju na to da galna kiselina ispoljava antigenotoksično svojstvo, odnosno da smanjuje stopu mutacija prethodno indukovanih EMS-om kako u premejotičkim, tako i u postmejotičkim stupnjevima ćelija.

Iako je tretman sa EMS-om doveo do značajnog povećanja u učestalosti mutacija u sva tri legla, post-tretman sa elaginskom kiselinom (Tabela 1) drastično je redukovao frekvencu recesivno letalnih X-vezanih mutacija, kako u premejotičkim, tako i u postmejotičkim germinativnim ćelijskim linijama.

U Tabeli 2 prikazana je antigenotoksična aktivnost galne i elaginske kiseline na osnovu kvantitativnog parametra: % DNK u repu, u ćelijama koje su dobijene izolovanjem prednjeg dela zadnjeg creva larvi vrste *D. melanogaster*.

Tabela 2. Antigenotoksična aktivnost galne i elaginske kiseline primenom komet testa  
Table 2. Antigenotoxic activity of gallic and ellagic acids using comet assay

Tretman <sup>a</sup> <i>Treatments<sup>a</sup></i>	% ДНК у репу % of DNA in tail	%R <sup>e</sup>
Negativna kontrola <i>Negative control</i>	5,4±0,61 <sup>†</sup>	/
EMS <sup>b</sup>	61,5±1,2 <sup>*</sup>	/
EMS + GK <sup>c</sup> <i>EMS + GA<sup>c</sup></i>	23,8±0,31 <sup>*†</sup>	67,2
EMS + EK <sup>d</sup> <i>EMS + EA<sup>d</sup></i>	30,3±0,7 <sup>*†</sup>	55,6

<sup>a</sup>Rezultati predstavljaju s.v. ± s.d. tri nezavisna eksperimenta

<sup>a</sup>Values represented mean ± S.D. of three independent experiments

<sup>b</sup>EMS; etil metanosulfonat, 5 mM

<sup>c</sup>EMS + GK; etil metanosulfonat 5 mM + galna kiselina 1 mM

<sup>c</sup>EMS + GA; ethyl methanesulfonate 5 mM + gallic acid 1 mM

<sup>d</sup>EMS + EK; etil metanosulfonat 5 mM + elaginska kiselina 1 mM

<sup>d</sup>EMS + GA; ethyl methanesulfonate 5 mM + ellagic acid 1 mM

<sup>e</sup>%R; procenat redukcije

<sup>e</sup>%R; percentage of reduction

\* $p < 0,05$  u odnosu na negativnu kontrolu; † $p < 0,05$  u odnosu na pozitivnu kontrolu.

\* $p < 0,05$  when compared with the negative control; † $p < 0,05$  when compared with the positive control.

Nakon *in vivo* kombinovanog tretmana EMS-om i galnom kiselinom procenat redukcije DNK oštećenja iznosio je 67,2%, dok je pomenuti procenat kod kombinovanog tretmana sa EMS-om i elaginskom kiselinom 55,6%. Na osnovu dobijenih rezultata zaključujemo da pomenute fenolne kiseline, imaju značajni antigenotoksični efekat sa procentom redukcije DNK oštećenja većim od 50%.

## Zaključak

Na osnovu primene SLRL i komet testa na široko korišćenom model organizmu *D. melanogaster*, može se zaključiti da odabrane fenolne kiseline pokazuju visok stepen smanjenja DNK oštećenja indukovanih EMS-om, što dokazuje da ispitivane fenolne kiseline imaju antigenotoksični efekat. Rezultati potvrđuju opravdanost primene ispitivanih fenolnih kiselina kao agenasa sa antigenotoksičnom aktivnošću u sprečavanju pojave ili smanjenju stope genetičkih oštećenja koja mogu biti uzrok brojnih oboljenja.

## Napomena

Istraživanja u ovom radu deo su projekta III 43004 i 41010 koje finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

## Literatura

- Janicsak G., Mathe I., Miklossy-Vari V., Blunden V. (1999). Comparative studies of the rosmarinic and caffeic acid contents of Lamiaceae species. Biochemical Systematics and Ecology 27, 733-738.
- Leopoldini M., Russo N., Toscano M. (2011). The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. Food Chemistry 125 (2), 288-306.
- Mukhopadhyay I., Kar C.D., Bajpayee M., Dhawan A. (2004). Evaluation of *in vivo* genotoxicity of cypermethrin in *Drosophila melanogaster* using the alkaline Comet assay. Mutagenesis 19, 85-90.
- Rosa L.S., Silva N.J.A., Soares N.C.P., Monteiro M.C., Teodoro A.J. (2016). Anticancer properties of phenolic acids in colon cancer-a review. Journal of Nutrition and Food Sciences 6, 468.
- Saxena M., Saxena J., Pradhan A. (2012). Flavonoids and phenolic acids as antioxidants in plants and human health. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research 16 (2), 130-134.
- Singh N.P., McCoy M.T., Tice R.R., Schneider E.L. (1988). A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. Experimental Cell Research 175, 184-191.
- Toth I., Heraul F., Beutin L., Oswald E. (2003). Production of cytolethal distending toxins by pathogenic *Escherichia coli* isolated from human and animal sources: establishment of the existence of a new cdt variant (type IV). Journal of Clinical Microbiology 41, 4285-4291.
- Zimonjić D., Savković N., Andđelković M. (1990). Genotoksični agensi: efekti, principi i metodologija detekcije. Beograd, Srbija: Naučna knjiga.
- Würgler F.E., Graf U. (1985). Mutagenicity testing with *Drosophila melanogaster*. In: Basic and applied mutagenesis. Muhammed A., Von Borster R.C. (eds), 343-372. New York: Plenum Press.

## ***IN VIVO ANTIGENOTOXIC ACTIVITY OF ELLAGIC AND GALLIC ACIDS***

*Sanja Matić, Snežana Stanić, Milica Kanjevac*

### **Abstract**

Starting from the fact that secondary metabolites have a functional value for the human, in this work the antigenotoxic activity of ellagic and gallic acids in relation to ethylmethanesulfonate induced DNA damage in germinative and somatic cells in *Drosophila melanogaster*, was investigated using SLRL and comet assays. Gallic and ellagic acids reduce the frequency of X-linked mutations in germ cell lines and exhibit antigenotoxic effect with a percentage reduction in DNA damage greater than 50%. The results confirm the justification of the application of investigated phenolic acids in preventing the occurrence or reducing the rate of genetic damage which can be the cause of many diseases.

**Key words:** antigenotoxic activity, *Drosophila melanogaster*, gallic acis, ellagic acid

## ANTIFUNGALNI EFEKAT ETARSKOG ULJA BOSILJKA I CRNOG KIMA NA RAST PLESNI *PENICILLIUM CORYLOPHILUM* NA OVČIJOJ STELJI

Tanja Žugić-Petrović<sup>1</sup>, Mirjana Muruzović<sup>2</sup>, Katarina Mladenović<sup>2</sup>, Dragana Stanisavljević<sup>1</sup>, Sunčica Kocić-Tanackov<sup>3</sup>, Ljiljana Čomić<sup>2</sup>

**Izvod:** Sjenička ovčija stelja je tradicionalni proizvod od ovčijeg mesa koji se odlikuje specifičnim i složenim načinom proizvodnje. Plesni koje se razvijaju na proizvodu predstavljaju veliki problem proizvođačima zbog loših organoleptičkih ocena kvaliteta. Ovo istraživanje je imalo za cilj da proceni antifungalnu aktivnost etarskih ulja bosiljka (*Basil essential oil*) i crnog kima (*Nigella sativa*) na rast testirane plesni *Penicillium corylophilum* koja je izolovana iz ovčije stelje. Rezultati su pokazali da je etarsko ulje bosiljka potpuno inhibiralo rast testirane plesni u svim koncentracijama od 5, 10, 20 µl/ml koristeći oba tipa testova (u agarskom medijumu i direktno na proizvod). Etarsko ulje crnog kima je pokazalo najbolje rezultate inhibicije plesni u najjačoj koncentraciji od 20 µl/ml.

**Ključne reči:** stelja, plesni, inhibicija, *Basil essential oil*, *Nigella sativa*.

### Uvod

Suvo ovčje meso - stelja je karakterističan proizvod Sjeničko - pešterske visoravni. Proizvodi se na tradicionalan način od celih trupova životinja starosti od 1-6 godina, pri čemu se koristi meso muških kastrata i neplodnih ovaca (Stamenković i Dević, 2006.). Prilikom hladnog dimljenja ovčijeg mesa gubi se voda i stvaraju se uslovi za rast i razvoj mikroorganizama koji čuvaju meso od kvarenja (Aktaš i sar., 2005.).

Složen način proizvodnje i fermentacija proizvoda utiče na raznolikost mikrobiote koji se razvija u sjeničkoj ovčjoj stelji. Osim bakterija mlečne kiseline i koagulaza-negativnih stafilocoka, mikrobiota se sastoji u značajnoj meri i od plesni. Sastav mikrobne populacije potiče od mikroorganizama koji se nalaze u mesu ili dospevaju tokom proizvodnog procesa (Žugić-Petrović i sar., 2016.). Suvo ovčje meso karakteriše niska aktivnost vode i visoke koncentracije soli, što su dobri uslovi za razvoj kserotolerantnih i kserofilnih plesni (Sonjak i sar., 2011.). Plesni tokom sušenja i fermentacije mesa, utiču na kvalitet proizvoda i mogu biti odgovorne za formiranje specifičnog ukusa i arome proizvoda zbog lipolitičke i proteolitičke aktivnosti (Ludemann i sar., 2004; Scolari i sar., 2003; Canel i sar., 2013.). Proteolitičke promene koje se javljaju u suvomesnatim proizvodima pod uticajem plesni mogu dovesti do povećanja aminokiselina u slobodnom obliku, koji služe kao prekursori isparljivih jedinjenja (Martin i sar., 2007.).

<sup>1</sup>Visoka poljoprivredno-prehrambena škola strukovnih studija u Prokuplju, Ćirila i Metodija 1, Prokuplje, Srbija (tanja.zugicpetrovic@yahoo.com);

<sup>2</sup> Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno-matematički fakultet u Kragujevcu, Radoja Domanovića 12, Kragujevac, Srbija;

<sup>3</sup>Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet u Novom Sadu, Bulevar cara Lazara 1, Novi Sad, Srbija.

Na površini suvomesnatih proizvoda, razvoj plesni nije prijemčiv za oko potrošača pa se danas sve veći broj proizvođača odlučuje na inhibiciju plesni kako bi proizvod privukao što veći broj konzumenata.

Cilj ovog istraživanja bio je da se proceni antifugalni (inhibitorni) efekat različitih koncentracija etarskih ulja bositljka (*Basil essential oil*) i ulja crnog kima (*Nigella sativa*) na rast testirane plesni *Penicillium corylophilum*.

### Materijal i metode rada

#### Materijal

Ukupno 9 uzoraka sa trupova sjeničke ovčije stelje težine od oko 300 gr, su uzeta iz 3 domaćinstva sa teritorije Sjenice u periodu decembar, januar 2017/18. godine (po 3 uzorka od svakog proizvođača, pri čemu je po jedan uzorak svakog proizvođača tretiran uljem bositljka, uljem crnog kima i jedan koji je ostao ne tretiran uljima, odnosno kontrola).

#### Metode

##### Soj plesni

Kao test mikroorganizmi korišćen je soj plesni koji je izolovan iz sjeničke ovčije stelje. Izolacija plesni izvršena je sa površine suvog ovčijeg mesa, što je sprovedeno pomoću Dichloran 18% glicerol agar (DG18 agar) (Merck, Darmstadt). Uzorci ovčijeg mesa su postavljeni na površinu DG18 agara i ostavljeni 30 sekundi da bi se prenele spore plesni. Zatim je supstrat ostavljen da se inkubira na temperaturi od 25°C, 5 dana. Nakon inkubacije, kolonije za koje se prepostavljalo da pripadaju *P. corylophilum* su mikroskopirane i identifikovane na osnovu makromorfoloških karakteristika i dalje kultivisane na Capek ekstrakt kvasca agaru (CYA) (Merck, Darmstadt). Izolovane i identifikovane kulture plesni su čuvane na Saburo maltozni agar (SMA) (Tirlak, Beograd, Srbija) na temperaturi od 4°C u Laboratoriji za mikrobiologiju hrane na Tehnološkom fakultetu, Univerziteta u Novom Sadu, Srbija. Kontaminacija uzoraka stelje je sprovedena aseptičnim nanošenjem suspenzije plesni pri čemu je početni broj ćelija iznosio 6 log cfu/ml. Kontaminirani uzorci stelje su upakovani u polietilenske kese pod normalnim atmosferskim uslovima.

Mikrobiološka analiza uzoraka kontaminirane ovčije stelje je sprovedena u skladu sa standardnom metodom za pripremu uzoraka SRPS EN ISO 6887-1:2008. Analize su izvršene na tri uzorka iz svake serije u duplikatu. Rezultati su izraženi kao broj jedinica formiranja kolonija po gramu (cfu/g).

##### Merenje rasta kolonija

Saburo maltozni agar je obogaćen testiranim etarskim uljima u koncentracijama od 5, 10, 20 µl/ml. U centar obogaćenog međijuma zasejavana je suspenzija plesni (broj ćelija 6 log cfu/ml). Inkubacija plesni je sprovedena 72 časa na 25°C. Merenje rasta

kolonija od dana zasejavanja je sprovedeno u dirigovanim vremenskim intervalima od 3, 7, 14, 21 i 30 dana. Kontrola je pripremana na identičan način pri čemu je umesto etarskih ulja dodavana destilovana voda u istoj koncentraciji.

Procenat inhibicije je izračunat prema formuli:

$$(dc-dt) / dc \times 100,$$

dc- prosečan prečnik kolonije plesni kontrolne grupe;

dt- je prosečan prečnik kolonije plesni.

### Statistička analiza

Statistička analiza rezultata među ispitivanim grupama izvršena pomoću programa Microsoft Excel, rezultati su predstavljeni kao srednja vrednost  $\pm$  SD.

### Rezultati istraživanja i diskusija

Uzorci ovčije stelje koji su premazani testiranim etarskim uljima (ulje bosiljka i ulje crnog kima) i upakovani u polietilenske kese pod normalnim atmosferskim uslovima nisu pokazali porast inokuliranih plesni tokom celokupnog istraživanja od 30 dana. Organoleptičke karakteristike uzoraka stelje premazane etarskim uljima, su bile očuvane do kraja istraživanja, bez značajnih promena izgleda, ukusa, boje, konzistencije i strukture. Miris uzoraka ovčije stelje je neznatno promenjen pod uticajem ulja. Rezultati koje smo dobili su u skladu sa publikovanim radovima koji potvrđuju antifugalnu aktivnost etarskih ulja bosiljka i crnog kima.

Ulje bosiljka poseduje izuzetnu antifugalnu aktivnost protiv *Penicillium* spp. koji proizvode mikotoksine opasne po ljudsko zdravlje (Kocić-Tanackov i sar., 2012.).

Saggiorato i sar (2012.) predstavljaju rezultate uspešne inhibicije plesni na površini fermentisane italijanske kobasicice pomoću ulja bosiljka. To opravdava relevantnost dobijanja sigurnosnih i funkcionalnih proizvoda, sa naglaskom na upotrebu prirodnih aditiva i nedostatku literature vezane za kontrolu plesni na površini prehrambenih proizvoda. Shokri (2016.) u svom radu ističe antifugalnu aktivnost ulja crnog kima protiv testiranih plesni, pri čemu napominje da ulje izaziva modifikacije u morfologiji kolonija. Glavne morfološke promene patogenih i toksigenih plesni tretiranih uljem crnog kima su primećene u ćelijskom zidu, membrani i membranskim organelama, naročito u jedrima i mitohondrijama. Etarsko ulje naneto na površinu fermentisane kobasicice djeluje tako što inhibira kljanje spora i dugoročno smanjuje brojnost plesni na proizvod (Chaves López i sar., 2012.). Zamena konzervanasa bilnjim etarskim uljima kod suvomesnatih proizvoda može biti efikasan način za poboljšanje kvaliteta proizvoda i njihove održivosti (Zarringhalami i sar., 2009.).

Pojava prvih kolonija na uzorcima sjeničke ovčije stelje u kontrolnom pakovanju (proizvod inokuliran samo plesnima) zabeležena je trećeg dana istraživanja, pri čemu se taj broj rapidno uvećavao, tako da je desetog dana proizvod bio prekriven plesnima. Do kraja istraživanja, 30 dana uzorci sjeničke ovčije stelje su potpuno promenili svoja organoleptička svojstva i bili su potpuno prekriveni kolonijama testiranih plesni.

Ukupan broj kolonija plesni kontrolnog pakovanja se povećavao od inicijalnog nivoa  $6,0 \pm 0,5$  log cfu/g do  $44,5 \pm 1$  log cfu/g tokom 3-30 dana.

Rezultati merenja rasta kolonija na SMA sa etarskim uljem bosiljka pokazali su značajnu aktivnost protiv *P. corylophilum*, nije zabeležen rast micelijuma u prisustvu ulja bosiljka kod svih testiranih koncentracija. Možemo zaključiti da etarsko ulje bosiljka ima izuzetne antifugalne sposobnosti protiv plesni *P. corylophilum*.

Slabija inhibicija *P. corylophilum* je detektovana kod ulja crnog kima, pri čemu je ulje kima smanjilo, odnosno usporilo rast plesni. Relativno umerenu aktivnost ulja i ekstrakata crnog kima protiv plesni su pokazali u svojim radovima autori Sitara i sar., (2008.), Khosravi i sar., (2011.), Singh i sar., (2015.). Rad Shokri (2016.) predstavlja rezultate koji pokazuju umerenu *in vitro* i *in vivo* inhibitornu aktivnost ulja crnog kima protiv patogenih kvasaca i plesni koje proizvode aflatoksin.

Rezultati predstavljeni u tabeli 1. predstavljaju srednje vrednosti promene veličine rasta kolonija testiranih plesni na različitim koncentracijama testiranih etarskih ulja. Etarsko ulje bosiljka je potpuno inhibiralo porast plesni tako da na pločama SMA nisu detektovane kolonije, pa su rezultati merenja kolonija za ovo ulje jednaki 0. Etarsko ulje crnog kima je pokazalo najbolje rezultate inhibicije plesni u najjačoj koncentraciji od  $20 \mu\text{l/ml}$  pri čemu je srednja vrednost linearног rasta kolonija iznosila  $3,0 \pm 0,5$ . Smanjenjem koncentracije ulja se aproksimativno povećavala i srednja vrednost linearног rasta kolonija testiranih plesni. Kontrola, kod koje je umesto etarskog ulja dodavana destilovana voda pokazuje značajno veće rezultate rasta kolonija što je i očekivano s'obzirom da ovde nemamo inhibitornih jedinjenja.

Tabela 1. Rezultati merenje rasta kolonija na SMA sa testiranim etarskim uljima  
*Table 1. Results of the measurement of colony growth on SMA with tested essential oils*

Tretman <i>Treatment</i>	Koncentracija concentration	<i>P. corylophilum</i> linearni rast <i>linear growth</i>
Etarsko ulje bosiljka <i>Basil essential oil</i>	5 $\mu\text{l/ml}$	$0,0 \pm 0,0$
	10 $\mu\text{l/ml}$	$0,0 \pm 0,0$
	20 $\mu\text{l/ml}$	$0,0 \pm 0,0$
Etarsko ulje crnog kima <i>Nigella sativa</i>	5 $\mu\text{l/ml}$	$4,3 \pm 0,5$
	10 $\mu\text{l/ml}$	$3,8 \pm 0,02$
	20 $\mu\text{l/ml}$	$3,0 \pm 0,5$
Kontrola <i>Control</i>	5 $\mu\text{l/ml}$	$11,9 \pm 0,1$
	10 $\mu\text{l/ml}$	$10,5 \pm 1$
	20 $\mu\text{l/ml}$	$11,2 \pm 0,5$

## Zaključak

Rezultati istraživanja su pokazali da ulje bosiljka ima potpuno inhibitorno delovanje na testirane plesni, dok je ulje crnog kima u značajnoj meri usporilo rast *P. coryophilum*. Etarsko ulje crnog kima je pokazalo najbolje rezultate inhibicije plesni u najjačoj koncentraciji od 20 µl/ml. Organoleptičke karakteristike uzoraka stelje premazane etarskim uljima bosiljka i crnog kima, su bile očuvane do kraja istraživanja, bez značajnih promena ukusa, boje, konzistencije, strukture i drugih senzornih karakteristika. Miris uzoraka ovčje stelje je neznatno promenjen pod uticajem etarskih ulja, ali značajnih promena ove karakteristike nije bilo.

## Literatura

- Aktaş N., Aksu MI., Kaya M. (2005.): Changes in myofibrillar proteins during processing of pastirma (Turkish dry meat product) produced with commercial starter cultures. *Food chemistry*. 90(4): 649-654.
- Canel RS., Wagner JR., Stenglein SA., Ludemann V. (2013.): Indigenous filamentous fungi on the surface of Argentinean dry fermented sausages produced in Colonia Caroya (Córdoba). *International journal of Food microbiology*. 164(1): 81-86.
- Chaves López C., Martín Sanchez AM., Fuentes-Zaragoza E., Viuda Martos M., Fernandez-López J., Sendra E., Sayas E., Perez Alvarez J.A. (2012.): Role of oregano (*Origanum vulgare*) essential oil as a surface fungus inhibitor on fermented sausages: evaluation of its effect on microbial and physicochemical characteristics. *Journal of Food Protection*. 75 (1), 104–111.
- Khosravi AR., Shokri H., Minooeianhaghghi M. (2011.): Inhibition of aflatoxin production and growth of *Aspergillus parasiticus* by *Cuminum cyminum*, *Ziziphora clinopodioides*, and *Nigella sativa* essential oils. *Foodborne Pathog Dis*. 8: 1275-1280.
- Kocić-Tanackov S., Dimić G., Pejin D., Mojović Lj., Pejin J., Tanackov I. (2012.): Antifungal activity of the basil (*Ocimum basilicum L.*) extract on *Penicillium aurantiogriseum*, *P. glabrum*, *P. chrysogenum*, and *P. brevicompactum*. *Acta periodica technologica*. 43:247–256.
- Ludemann V., Pose G., Pollio ML., Segura J. (2004.): Determination of growth characteristics and lipolytic and proteolytic activities of *Penicillium* strains isolated from Argentinean salami. *International journal of Food microbiology*. 96: 13-18.
- Saggiorato AG., Gaio I., Treichel H., de Oliveira D., Cichoski AJ., Cansian RL. (2012.): Antifungal Activity of Basil Essential Oil (*Ocimum basilicum L.*): Evaluation *in vitro* and on an Italian-type sausage surface. *Food Bioprocess Tech*. 5:378–384
- Scolari G. Sarra PG. Baldini P (2003.): Mikrobiologija suhega mesa. In: Bem, Z., Adamic, J., Zlender, B., Smole Mozina, S., Gasperlin, L. (Eds.), *Mikrobiologija zivil zivalskega izvora*. Biotehniška fakulteta, Oddelek za zivilstvo, Ljubljana, pp. 351-362.
- Singh SS., Singh DG., Schuff C., de Lampasona MP., Catalán CAN. (2015.): Composition, *in vitro* antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and

- oleoresins obtained from black cumin seeds (*Nigella sativa L.*). BioMed Research International, In Press.
- Sitara U, Niaz I, Naseem J, Sultana N. (2008.): Antifungal effect of essential oils on *in vitro* growth of pathogenic fungi. Pakistan Journal of Botany, 40: 409-414.
- Shokri H (2016.): A review on the inhibitory potential of *Nigella sativa* against pathogenic and toxigenic fungi. Avicenna J Phytomed 6(1): 21- 33.
- Sonjak S, Ličen M, Frisvald JC, Gunde-Cimerman N (2011.): The mycobiota of three 497 dry-cured meat products from Slovenia. Food Microbiology. 28: 373-376.
- Stamenković T., Dević B. (2006.): Senzorska svojstva ovčije stelje. Tehnologija mesa. 47: 115-122.
- Zarringhalami S., Sahari MA., Hamidi-Esfehani Z. (2009.): Partial replacement of nitrite by annatto as a colour additive in sausage. Meat Science. 81: 281-284.

## ANTIFUNGAL EFFECT OF ETHERIC OIL OF BASIL AND BLACK SEED OIL ON THE GROWTH OF FUNGI *PENICILLIUM CORYLOHILUM* ON DRY-CURED SHEEP

Tanja Žugić-Petrović<sup>1</sup>, Mirjana Muruzović<sup>2</sup>, Katarina Mladenović<sup>2</sup>, Dragana Stanislavljević<sup>1</sup>, Sunčica Kocić-Tanackov<sup>3</sup>, Ljiljana Čomić<sup>2</sup>

### Abstract

Dry-cured sheep ham from Sjenica is a traditional sheep meat product that is characterized by a specific and complex way of production. The fungi that develop on the product represent a big problem for producers due to poor organoleptic quality assessments. This study was intended to evaluate the antifungal activity of essential oil of basil (*Basil* essential oil) and black seed oil (*Nigella sativa*) on the growth of the tested fungi *Penicillium corylophilum*, which is isolated from the dry-cured sheep ham. The results showed that the essential oil of basil completely inhibited the growth of fungi tested in all concentrations of 5, 10, 20 µl/ml using both types of tests (in an agar medium and directly on the product). Black seed oil showed the best results of inhibition of mold at the strongest concentration of 20 µl/ml.

**Key words:** dry-cured sheep ham, fungi, inhibition, *Basil* essential oil, *Nigella sativa*.

<sup>1</sup>College of Agriculture and Food Technology, Ćirila i Metodija 1, 18400 Prokuplje, Serbia (tanja.zugicpetrovic@yahoo.com)

<sup>2</sup>University of Kragujevac, Faculty of Science, Radoja Domanovića 12, 3400 Kragujevac, Serbia;

<sup>3</sup>University of Novi Sad, Faculty of Technology Novi Sad, Boulevard cara Lazara 1, 21101 Novi Sad, Serbia.

## UPOREDNO ISPITIVANJE KVALITETA KAVURME PROIZVEDENE NA TRADICIONALNI NAČIN I U INDUSTRIJSKIM USLOVIMA

Vladimir Kurćubić<sup>1</sup>, Pavle Mašković<sup>1</sup>, Violeta Kitić<sup>2</sup>

**Izvod:** U radu je ispitivan hemijski kvalitet kavurme, pri čemu su se parametri kvaliteta u većini ispitivanih svojstava veoma malo razlikovali između uzoraka kavurme proizvedene na tradicionalni i industrijski način. Razlike su bile nešto malo veće u sadržaju vlage i masti. Sadržaj vlage zavisi od kvaliteta ulaznih sirovina za njenu proizvodnju, kao i od sadržaja masti. Sadržaj masti ima najviši stepen varijabilnosti od svih ispitivanih sastojaka kavurme. Sličnost u odabiru sirovina i u tehnološkom procesu proizvodnje objašnjava činjenicu da razlike u sadržaju ispitivanih pokazatelja kvaliteta nisu bile znatne između različitih ispitivanih uzoraka kavurme.

**Ključne reči:** kavurma, kvalitet, tradicionalna proizvodnja, industrijska proizvodnja

### Uvod

Kavurma je proizvod od mesa sa veoma dugom tradicijom, koji se proizvodio pretežno u domaćinstvima (Naska Abdul-Qadir Muhammed Mirzan, 2011.). Kavurma se može pripremati od mesa različitih vrsta životinja: svinja, goveda, ovaca i koza, tokom hladnog perioda godine, od oktobra do marta (Arvanitoyannis i sar., 2000.), u zavisnosti od specifičnosti regiona u kome se najčešće proizvodi (Srednji istok, Srednja Azija, određene Mediteranske i Evropske zemlje) (Aksu, 2009.). Kavurma je posebno popularna u Turskoj, jer se smatra gotovim proizvodom od mesa („ready to eat“), i može se konzumirati bez dalje obrade ili kuvanja (Yetim i sar., 2006.). Proizvodnja kavurme u prošlosti je imala svrhu da zadovolji potrebe potrošača za proizvodima od mesa, naročito u zimskom periodu, kada je snabdevanje mesom bilo smanjeno (Kayaardi i sar., 2005.). Rok trajanja kavurme kao kuvanog proizvoda od mesa je od 6 do 9 meseci (Yetim i sar., 2006.). Iako su počeci proizvodnje vezani isključivo za proizvodnju u domaćinstvu, sve veća potražnja za kavurmom je dovela do industrijske proizvodnje. Skoriji podaci ukazuju da je kavurma komercijalno dostupna u vakuum pakovanju, nakon proizvodnje u modernim postrojenjima pogona u kojim se vrši prerada mesa (Vural i Oztan, 1989.; Gungor, 2000.; Yetim i sar., 2003.; Aksu, 2007.). Na prostoru bivše Jugoslavije, proizvodnja kavurme je bila najzastupljenija u bosansko-hercegovačkom kraju (u kome se smatra autohtonim proizvodom). Takva kavurma se danas nalazi uglavnom samo na pijacama u BiH, i isključivo je pripremljena od iznutrica uz dodatak kuhinjske soli, i predstavlja sporedni proizvod pri preradi mesa (Ganić i Smajlić, 2007.). Oksidacija lipida i stabilnost boje su glavni problemi tokom čuvanja kavurme, koji se rešavaju dodavanjem antioksidanasa, pakovanjem kavurme u vakuumu i skladištenjem na niskim temperaturama (Kilic, 2009.).

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija (vkurcubic@kg.ac.rs);

<sup>2</sup>Violeta Kitić, diplomirani inženjer tehnologije

Cilj ovog istraživanja je bio da se uporedi kvalitet kavurme proizvedene različitim postupcima: na tradicionalni način (u domaćinstvu) i u industrijskim uslovima.

### Materijal i metode rada

**Materijal** za ispitivanje kvaliteta i hemijskih karakteristika je kavurma proizvedena na tradicionalan način u jednom domaćinstvu u Kragujevcu, i kavurma proizvedena u industrijskim uslovima, u klanici i preradi mesa „Budućnost“ u Kragujevcu.

**Proizvodnja kavurme u domaćinstvu** obuhvata sledeće postupke: kuvanje svinjskih glava, odvajanje mesa od kostiju, grubo seckanje mesa, dodavanje začina, mešanje radi ujednačavanja mase, izlivanje u kalupe i čuvanje i skladištenje.

Sirovine za proizvodnju kavurme u domaćinstvu su prvenstveno kosti glave svinja, partie svinjskog mesa sa leđa svinja i svinjske kožice. Od začina se koriste slatka i ljuta paprika, kuhinjska so, crni mleveni biber i crni luk. Prvo se vrši kuvanje svinjskih glava u kazanima, u trajanju koje zavisi od količine mase u kazanu, i uobičajeno je oko 3 časa. Nakon hlađenja, meso se odvaja od kostiju i secka na krupnije komade, radi lepšeg izgleda kavurme. Crni luk se dobro uprži i zatim doda pripremljenom mesu za proizvodnju kavurme. Dobijeno meso se upržava sa lukom, kako bi kavurma dobila odgovarajuću konzistenciju, a tokom ovog procesa dodaju se i ostali začini (slatka i ljuta paprika, kuhinjska so i crni mleveni biber). Nakon toga, kavurma se izliva u kalupe (najčešće okruglog oblika) i ostavi da se ohladi. Iz kalupa se kavurma reže na komade kockastog oblika, i obično zapakovana u aluminijumsku foliju lageruje na temperaturi od 1 °C do 4 °C.

**Proizvodnja kavurme u industrijskim uslovima** - eksperimentalna proizvodna šarža proizvedena za potrebe ovog ispitivanja je bila mase oko 100 kg. Receptura za proizvodnju uključuje sledeće sastojke (kg/100 kg): svinjske kožice 30 kg, supa 30 kg, meso svinjskih glava 20 kg, svinjska pluća 20, svinjski bubrezi, želuci i srca 10 kg, kuhinjska so 2 kg, suvi crni luk 1 kg, slatka paprika 0,5 kg, ljuta paprika 0,5 kg, crni biber 0,2 kg, muskatni orah 0,05 kg i lovorov list 0,05 kg.

Tehnološki proces proizvodnje kavurme na industrijski način započinje grubim čišćenjem dela sirovina, i podrazumeva ispiranje sadržaja iz želuca i pranje ostalih iznutrica (bubrezi, pluća i srce). Nakon detaljnog pranja i čišćenja, iznutrice se ocede, i čuvaju u hladnjaci na temperaturi od 2 do 4 °C. Kuvanje svinjskih glava u kazanima traje do momenta odvajanja mesa od kostiju. Posle završenog kuvanja i odvajanja mesa koje će biti jedan od osnovnih sastojaka kavurme, vrši se odvajanje ekstrahovanih masnoća iz kostiju, a preostala tečnost (mesna voda) se procedi. Nastavlja se sa kuvanjem dela sirovina u duplikatoru, do potpunog omekšavanja (svinjsko meso, svinjske kožice i iznutrice), u prosečnom trajanju od oko 3 časa na temperaturama u opsegu od 90°C do 96°C. Nakon toga se vrši mlevenje sirovina u wolf-u (vuk), pomoću perforirane ploče (šajbne) sa okcima od 12 mm. Nakon mlevenja, sirovine se ponovo vraćaju u duplikator, gde se u proceđenu mesnu vodu dodaju ostali sastojci (meso odvojeno od kostiju, iznutrice i mlevene kožice), i masa intezivno homogenizuje. Toplotna obrada vrši se na temperaturi od 90 °C u trajanju od 120 minuta. Nakon završene toplotne obrade odvajaju se izdvojene masnoće. Nakon toga se masa puni u poliamidni omotač prečnika 90 mm i zatvara klipovanjem. Nakon punjenja, proizvod

se tušira hladnom pijaćom vodom u trajanju od 5 minuta, a zatim hlađi i čuva na temperaturi od 4 °C do isporuke.

**Metode rada** primenjene za određivanje osnovnih hemijskih pokazatelja kvaliteta kavurme u okviru ovog ispitivanja bile su: određivanje sadržaja ukupnih proteina metodom po Kjeldalu (Kjeldahl-u), određivanje sadržaja masti metodom po Soksletu (Soxlet-u), određivanje sadržaja vode (vlage) sušenjem, određivanje sadržaja natrijum-hlorida (NaCl) metodom po Volhardu, određivanje sadržaja pepela metodom spaljivanja i određivanje pH vrednosti pomoću pH-metra.

### Rezultati istraživanja i diskusija

Dobijeni rezultati ispitivanja pokazatelja kvaliteta kavurme su prikazani tabelarno (Tabela 1.), za tradicionalno proizvedenu kavurmu (u domaćinstvu - domaća kavurma) i kavurmu proizvedenu na industrijski način (industrijska kavurma).

Tabela 1. Vrednosti hemijskih pokazatelja kvaliteta domaće kavurme i kavurme proizvedene na industrijski način

Table 1. The values of the chemical indicators of the quality of domestic Kavurma and Kavurma produced in an industrial manner

Pokazatelji kvaliteta <i>Indicators of the quality</i>	Domaća kavurma <i>Domestic Kavurma</i>	Industrijska kavurma <i>Industrial Kavurma</i>
Sadržaj proteina (maseni %) <i>Protein content (weight %)</i>	16,90	17,06
Sadržaj masti (maseni %) <i>Fat content (weight %)</i>	21,46	19,10
Sadržaj vlage (maseni %) <i>Moisture content (weight %)</i>	56,85	58,27
Sadržaj NaCl (maseni %) <i>Content of NaCl (weight %)</i>	1,81	1,63
Sadržaj pepela (maseni %) <i>Ash content (weight %)</i>	0,26	0,21
pH vrednost (na 22,4°C) <i>pH value (on 22,4 °C)</i>	6,60	6,55

Na osnovu eksperimentalnih rezultata (Tabela 1.), može se zaključiti da se ispitivani pokazatelji kvaliteta ne razlikuju znatno između uzorka kavurme proizvedene na tradicionalan način (u domaćinstvu), i uzorka kavurme proizvedene u industrijskim uslovima. Zapažaju se nešto malo veće razlike u sadržaju vlage i masti.

U okviru naših ispitivanja, sadržaj proteina, iznosio je 16,90% u kavurmi proizvedenoj na tradicionalan način, a u industrijskoj kavurmi 17,08%. Ispitivanja grčkih autora potvrđuju da se kavurma može smatrati kao dobar izvor proteina mesa (20,9% do 35,5%, sa srednjom vrednošću od 27,7%) (Arvanitoyannis i sar., 2000.). U ispitivanju turskih autora, sadržaj proteina u Kavurmi je iznosio  $38,60 \pm 5,08\%$  (Kayaardi i sar., 2005.). U našim ispitivanjima sadržaj ukupnih proteina je nešto niži u odnosu na rezultate iznad navedenih autora.

Sadržaj vlage zavisi od kvaliteta ulaznih sirovina za proizvodnju kavurme (naročito od sadržaja masti). U našem ispitivanju je sadržaj masti neznatno viši u kavurmi proizvedenoj na tradicionalan način (21,46%) u odnosu na sadržaj masti u kavurmi proizvedenoj u industrijskim uslovima (19,10%). U radu Ganića i Smajlića (2007.) sadržaj vlage je iznosio 64,41% a sadržaj masti 15,22%, u ispitivanim uzorcima kavurme sa prostora Bosne i Hercegovine. Može se zaključiti da je sadržaj vlage u ispitivanjima bosanskih autora bio znatno viši, a sadržaj masti znatno niži, što potvrđuje tezu o negativnoj korelaciji između sadržaja masti i sadržaja vlage. Grupa autora je sprovedla obimnija istraživanja kvaliteta kavurme na teritoriji severno-istočne Grčke, gde je veoma razvijena proizvodnja kavurme. Dobijeni rezultati višegodišnjih ispitivanja 48 uzoraka kavurme poreklom od 16 različitih proizvođača ukazuju da se sadržaj masti kretao u intervalu od 5,7% do 53,4%. Sadržaj masti je pokazivao najviši stepen varijabilnosti od svih ispitivanih sastojaka grčke kavurme (Arvanitoyannisi sar., 2000.). Sadržaj masti u ispitivanjima Kayaardi i sar. (2005.) je iznosio  $36,80 \pm 3,30$ , što je znatno više u odnosu na rezultate naših ispitivanja. U našem ispitivanju sadržaj vlage u kavurmi koja je proizvedena u domaćim uslovima iznosio je 56,85% dok je sadržaj vlage u kavurmi proizvedenoj u industrijskim uslovima bio 58,27%. Podaci turskih autora ukazuju da je prosečan sadržaj vlage u kavurmi poreklom sa pijace u mestu Bursa bio 38,84% (Tiryakioglu i Yucel, 1995.) a sa pijace u mestu Erzurum sadržaj vlage je varirao od 27,37% do 58,39% (Cetin i sar., 2005.).

Na osnovu sprovedenih analiza u okviru našeg rada utvrđeno je da je sadržaj NaCl u kavurmi proizvedenoj na tradicionalan način iznosio 1,81%, dok je sadržaj NaCl u kavurmi proizvedenoj u industrijskim uslovima bio 1,63%. Optimalan sadržaj NaCl za grupu kuvenih proizvoda iznosi oko 1,80%, tako da je utvrđeni sadržaj NaCl u našem ispitivanju (1,81%) veoma blizak optimalnoj vrednosti. Nešto viši sadržaj NaCl (u tehnološki prihvatljivim granicama) u kavurmi proizvedenoj na tradicionalan način, može se pripisati proizvodnji koja se vrši u nekotrolisanim uslovima. Sadržaj kuhinjske soli do 1,4% NaCl u kuvenim kobasicama i 1,75% u posnom mesu dovoljan je za proizvodnju termostabilnog gela, sa prihvatljivim osećajem slanosti i čvrstine, sposobnosti vezivanja vode i emulgovanja masti (Ruusunen i Puolanne, 2005.). Rastući sadržaj proteina (npr. u posnom mesu) u proizvodima od mesa smanjuje osećaj slanosti. Zahtevani sadržaj soli za prihvatljivu čvrstinu gela zavisi od recepture proizvoda. Prosečan sadržaj NaCl u ispitivanjima na uzorcima kavurme poreklom iz Bosne i Hercegovine izosio je 1,61% (Ganić i Smajlić, 2007.). U istraživanjima grčkih autora, sadržaj NaCl kretao se u intervalu od 1,4% do 2,9%, sa prosečnom vrednošću od 2,4% (Arvanitoyannisi sar., 2000.).

Sadržaj pepela nije pokazivao znatne razlike između uzoraka domaće kavurme i uzoraka kavurme dobijene na industrijski način (0,26% i 0,21%). Sadržaj pepela u uzorcima kavurme sa prostora Bosne i Hercegovine kretao se oko 0,23% (Ganić i Smajlić, 2007.), što ukazuje da su rezultati naših ispitivanja saglasni sa rezultatima drugih autora. Srednja vrednost za sadržaj pepela u ispitivanju grčkih autora iznosila je 2,8% (Arvanitoyannisi sar., 2000.), što je znatno viši sadržaj u odnosu na sadržaj pepela utvrđen u našim ispitivanjima i ispitivanjima Ganića i Smajlića (2007.).

Dobijeni rezultati određivanja pH vrednosti se ne razlikuju značajno od rezultata drugih autora (interval od 6,10 do 6,70) (Arvanitoyannisi sar., 2000.). Ukoliko je pH

vrednost veća od 6,0, a aktivnost vode ( $a_w$ ) nije niska, ne može se garantovati stabilnost i održivost kavurme na tržištu. Proizvodi od mesa se smatraju kvarljivim ukoliko su im vrednosti pH > 5,2 i  $a_w$  vrednost > 0,95, pa se moraju čuvati na temperaturama ispod 5 °C (Leistner i Roedel, 1975.).

### Zaključak

U našem ispitivanju pokazatelji kvaliteta se u većini ispitivanih svojstava veoma malo razlikuju između uzoraka kavurme proizvedene na tradicionalni i industrijski način, što se objašnjava sličnim odabirom sirovina i tehnološkom procesu proizvodnje kavurme. Očekivano, zapažene su malo veće razlike u sadržaju vlage i masti, na koju činjenicu ukazuje i veći broj drugih autora (sadržaj masti ima najviši stepen varijabilnosti od svih ispitivanih sastojaka kavurme, i sa sadržajem vlage je u negativnoj korelaciji). Pošto su proteini biološki najvredniji sastojak, naša kavurma kao kuvana kobasica može se smatrati dobrom izvorom proteina. Sadržaj NaCl u ispitivanim uzorcima kavurme je bio u tehnološki prihvatljivim granicama, a vrednost pH veoma slična vrednostima utvrđenim od strane drugih autora, i smatra se jednim od najznačajnijih faktora koji utiču na održivost proizvoda.

### Napomena

Istraživanja u ovom radu deo su projekta III 46009 koji finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

### Literatura

- Naska Abdul-Qadir Muhammed Mirzan: A study of chemical, microbiological and sensory properties of local meat kavurma in Kurdistan-Iraq during cold storage period. Doctoral dissertation, Faculty of Agricultural Sciences, University of Sulaimani, 2011.
- Arvanitoyannis I.S., Bloukas J.G., Pappa I., Psomiadou E. (2000). Multivariate data analysis of Cavourmas a Greek cooked meat product. Meat Science 54, 71-75.
- Aksu M.I. (2009). Fatty Acid Composition of Beef Intermuscular, Sheep Tail, Beef Kidney Fats and Its Effects on Shelf Life and Quality Properties of Kavurma. Journal of Food science 74, 65-71.
- Yetim H., Kayacier A., Kesmen Z., Sagdic O. (2006). The effects of nitrite on the survival of *Clostridium sporogenes* and the autoxidation properties of the Kavurma. Meat Science 72, 206-210.
- Kayaardi S., Durak F., Kayacier A., Kayaardi M. (2005). Chemical characteristics of kavurma with selected condiments. International Journal of Food Properties 8(3), 513-520.
- Vural H., Oztan A. (1989). Traditional meat product kavurma I/II. Journal Meat & Fish Industry 59, 23-28 (Turkish).
- Gungor Z. (2000). The effects of nitrite and vacuum packaging on the survival of *C. sporogenes*. M.Sc. thesis, Ata. Uni. Dept. of Food Sci., Erzurum, Turkey (Turkish).

- Yetim H., Kuhne D., Ockerman H.W., Cahill V.R. (2003). Presence of volatile N-nitrosamines in a Turkish meat product kavurma prepared with nitrite. In Proceedings of 49th international congress of meat science and technology (pp. 320-321), 31 August–05 September 2003, Campinas, Brazil.
- Aksu M.I. (2007). The Effect of  $\alpha$ -tocopherol, storage time, and storage temperature on peroxide value, free fatty acids and pH of Kavurma, cooked meat product. *Journal of Muscle Foods* 18, 370-379.
- Ganić A., Smajlić A. (2007). Tehnološki proces proizvodnje i kvalitet kavurme. *Tehnologija mesa* 48(5-6), 254-260.
- Kilic B. (2009). Current trends in traditional Turkish meat products and cuisine. *Food Science and Technology* 42, 1581-1589.
- Tiryakioglu O., Yucel A. (1995) Determination of chemical and microbiological quality of kavurma marketed in Bursa (Turkish). *Uludag University of Agricultural Faculty Journal* 11, 29-39.
- Cetin B., Sert S., Yetim H. (2005). Microbiological quality of the kavurma samples marketed in Erzurum. *Turkey Annals of Microbiology* 55, 27-31.
- Ruusunen M., Puolanne E. (2005). Reducing sodium intake from meat products. *Meat science* ISSN 0309-1740; CODEN MESCDN, ICoMSt International Congress of Meat Science and Technology No50, Helsinki, FINLANDE (08/08/2004) 2005, vol. 70, no 3 (159 p.), [Document:11 p.] (2 p.1/4), pp. 531-541 [11 page(s) (article)]

## **COMPARATIVE QUALITY EXAMINATION OF THE KAVURMA PRODUCED IN A TRADITIONAL AND INDUSTRIAL MANNER**

*Vladimir Kurćubić<sup>1</sup>, Pavle Mašković<sup>1</sup>, Violeta Kitić<sup>2</sup>*

### **Abstract**

The paper examined the chemical quality of the Kavurma, whereby the quality parameters in most of the tested properties differed very little between the samples of Kavurma produced in a traditional and industrial manner. The differences were slightly higher in moisture and fat content. The moisture content depends on the quality of input raw materials for its production, as well as on the fat content. The fat content has the highest degree of variability of all of the tested ingredients of the Kavurma. The similarity in the selection of raw materials and in the technological process of production explains the fact that the differences in the content of the tested quality indicators were not significant between the different examined samples of the Kavurma.

**Key words:** Kavurma, quality, traditional production, industrial production

---

<sup>1</sup>University of Kragujevac, Faculty of Agronomy Čačak, Cara Dušana 34, Čačak, Serbia (vkurcubic@kg.ac.rs)

<sup>2</sup>Violeta Kitić, Graduate Engineer of technology

## CONTENT OF TOXIC ELEMENTS IN POTATO VARIETIES KENNEBEC AND KARLENA

Zoran Broćić<sup>1\*</sup>, Jelena Popović-Đorđević<sup>2\*</sup>, Jelena Mutić<sup>3</sup>, Jasmina Oljača<sup>1</sup>,  
Dobrivoje Poštić<sup>4</sup>, Sina Siavash Moghaddam<sup>5</sup>

**Abstract:** Food safety is the most important factor in consumer preference in terms of healthy life. In recent years, worldwide attention has been focused on the content of toxic elements in vegetables. This work aimed to analyze the content of As, Cd, Cr, Hg, Ni, Pb and V in potato tubers of Kennebec and Karlene varieties grown in the most important potato production regions in Serbia. Significant differences between the varieties were observed in concentrations of elements in tubers which ranged from 0.050 mg kg<sup>-1</sup> (V) to 0.740 mg kg<sup>-1</sup> (Pb) in Kennebec, and from 0.058 mg kg<sup>-1</sup> (As) to 1.112 mg kg<sup>-1</sup> (Ni) in Karlene.

**Keywords:** potato tuber, Kennebec, Karlene, toxic elements, ICP–OES

### Introduction

Potato (*Solanum tuberosum* L.) is one of the most widely cultivated crops. Due to its excellent adaptive capabilities, high productivity and good nutritional value of tubers, potato is cultivated in more than 165 countries. In 2017, potato production in the World and in Serbia was estimated at 388,191,000 and 589,241 tons, respectively (FAOSTAT, 2019). In Serbia, potatoes are grown on about 42 thousand hectares (according to data from 2015), of which 81.1% are in Central Serbia. The largest part of potato production is spent on human consumption, and only a small percentage in processing. Annual consumption of potatoes per capita in Serbia is around 34.6 kilograms. In western Serbia there are relatively good climatic conditions for the production of potatoes, so it is traditionally cultivated most in the Moravica and Zlatibor region. Potatoes, in addition to being a source of highly digestible carbohydrates and nutritionally complete proteins, it is also a great source of other essential nutrients (Suttle, 2008). The mineral composition of potatoes depends on many factors, such as: agroecological conditions, development phase, soil type, soil pH, organic matter in soil, fertilization, irrigation and weather conditions (Broćić et al., 2008).

On the other side, numerous studies indicate a high degree of contamination of soil and plants produced in certain agro-ecological conditions, especially near urban and industrial areas where there is a high concentration of toxic elements in the soil. The toxic elements may originate from both natural and anthropogenic sources.

<sup>1</sup>University of Belgrade, Faculty of Agriculture, Nemanjina 6, 11080 Belgrade, Serbia ([brocic@agrif.bg.ac.rs](mailto:brocic@agrif.bg.ac.rs)/[jelenadj@agrif.bg.ac.rs](mailto:jelenadj@agrif.bg.ac.rs))

<sup>2</sup>University of Belgrade, Faculty of Chemistry, Studentski trg 12-16, 11000 Belgrade, Serbia

<sup>3</sup>Institute for Plant Protection and Environment, Teodora Dražzera 9, Belgrade, Serbia

<sup>4</sup>Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

The main goal of this study was to analyze the content of toxic (As, Cd, Cr, Hg, Ni, Pb and V) elements in potato tubers of two varieties: Kennebec and Karlena grown in the most important potato production regions in Serbia.

### Material and methods

**Study area:** Potato tubers of varieties Kennebec and Karlena were produced and collected during August 2016 at two locations with favorable agroecological conditions for potato production: Guča (Kennebec) ( $43^{\circ} 47' N / 20^{\circ} 13' E$ , ~400 m a.s.l., West Serbia) and Sjenica (Karlena) ( $43^{\circ} 16' N / 20^{\circ} 20' E$ , ~1026 m a.s.l., Southwestern Serbia), figure 1.



Figure 1. Locations of experiments  
Slika 1. Lokacije na kojima su postavljeni eksperimenti

**Experimental plot:** The experiment was conducted in 4 repetitions where the elemental plot was 4 rows of 15 tubers per row ( $3 \times 5.28 m$ ). Planting distance was  $0.75 \times 0.33 m$ . In production, standard cultivation technology was applied in a conventional manner. Applied fertilizer entered a total of  $N_{180} P_{150} K_{200}$ . Tuber samples were taken at the end of growing seasons in the stage of physiological maturity

**Variety description:** **Kennebec** was selected in Canada. It is a medium early to medium late variety, with tubers medium to large in size, excellent for fresh consumption. It is suitable for mashed-potato, cooking and baking. **Karlena** was selected in Germany. It is an early or very early variety, very good yielding with smaller tubers. It is mostly used for processing to chips during the autumn months, but it is not suitable for longer storage when used in chips processing.

**Preparation of samples and ICP-OES analysis:** In brief, fresh potato tubers were washed first by tap and then by de-ionized water, air dried and peeled. Peel was separated from core, and samples were prepared as described in the previous work of Popović-Đorđević et al. (2018). The contents of As, Cd, Cr, Hg, Ni, Pb and V in

samples were determined by inductively coupled plasma-optical emission spectrometry (ICP-OES) using ICP-OES Thermo Scientific, United Kingdom (model 6500 Duo, detector CID86 chip) (Stefanović et al., 2016). Chemicals and reagents were acquired from Merck (Darmstadt, Germany) with maximum purity. High purity de-ionized water was used. The results of the study were presented as mean values of triplicate measurements and shown as the mean value ± the standard deviation.

**Statistical analysis:** The results were processed using the variance analysis method (DAASTAT program). The statistical significance of the difference between the median of the factor treatment was determined using the LSD test at the significance level of 5% ( $p<0.05$ ) and 1% ( $p<0.01$ ).

## Results and discussion

Toxic elements As, Cd, Cr, Hg, Ni, Pb, and V were analyzed in peel and core of two potato varieties (Kennebec and Karlena), and the results are shown in Table 1. All analyzed elements were detected in the peel of both varieties. On the other hand, concentrations of As in Karlena and V in Kennebec tubers' core were below the limit of detection (LOD). The majority of elements were measured in the higher concentration in the peel when compared to the core of studied varieties; exceptions were As and Cr in Kennebec, and V in Karlena. Obtained results are in line with findings of Gvozden (2016) who reported higher concentrations of As, Cd, Cr, Hg, Ni and Pb in the peel then in the core of potato varieties Jelly, Red Fantasy and Laura.

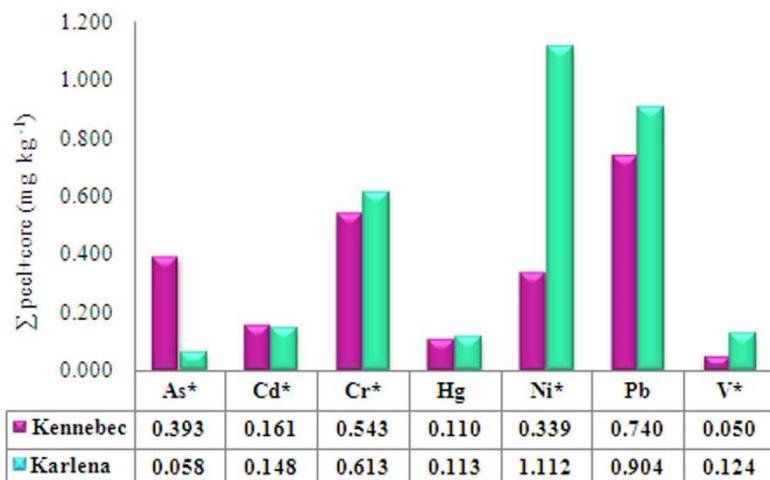
*Table 1. Element concentrations (mg kg<sup>-1</sup>) in Kennebec and Karlena potato tubers*  
Tabela 1. Koncentracije elemenata (mg kg<sup>-1</sup>) u krompiru sorti Kennebec i Karlena

Variety	KENNEBEC		KARLENA		MAC <sup>\$</sup>
	Peel	Core	Peel	Core	
mg kg <sup>-1</sup>					
<b>As</b>	0.106±0.013*	0.288±0.140	0.058±0.002	<0.005	0.3
<b>Cd</b>	0.088±0.003	0.073±0.003	0.079±0.000	0.068±0.002	0.1
<b>Cr</b>	0.263±0.017	0.280±0.001	0.399±0.011	0.213±0.034	/
<b>Hg</b>	0.069±0.016	0.041±0.012	0.077±0.001	0.035±0.014	0.02
<b>Ni</b>	0.194±0.027	0.145±0.009	0.692±0.030	0.419±0.008	/
<b>Pb</b>	0.409±0.059	0.330±0.055	0.499±0.074	0.405±0.034	0.1
<b>V</b>	0.050±0.022	<0.005	0.103±0.005	0.021±0.006	/

\*Data are expressed as mean±standard deviation (n=3); As and V< LOD;

<sup>\$</sup>MAC (Maximum Allowable Concentration) applicable for core only

Total element concentration of As and Cd in the peel and the core of potato tubers was significantly higher in Kennebec variety (\*,  $p<0.05$ ), while the content of Cr, Ni, and V was higher in Karlena variety (\*,  $p<0.05$ ) Figure 2. Concentrations of Hg and Pb were not statistically significant between studied varieties.



Graph 1. Total element content in peel and core of studied varieties  
*Graf. 1. Ukupni sadržaj elemenata u kori i jezgru ispitivanih sorti*

The results of the analysis of the variance of toxic element concentrations in the peel and the core of potato tubers of Kennebec and Karlena varieties are shown in Table 2.

**Table 2.** Statistical analysis of element content in potato tubers  
*Tabela 2. Statistička analiza sadržaja elemenata u krtolama krompira*

Variety	KENNEBEC			KARLENA		
	Element	LSD		F	LSD	
		0.05	0.01		0.05	0.01
As	5.016	0.226	0.374	/†	/	/
Cd	31.731**	0.007	0.012	110.343*	0.003	0.005
Cr	3.232	0.027	0.049	80.158**	0.058	0.096
Hg	5.785	0.032	0.053	25.552**	0.023	0.038
Ni	8.751*	0.046	0.076	223.255**	0.051	0.084
Pb	2.859	0.130	0.215	4.017	0.131	0.216
V	/†	/	/	321.310**	0.013	0.021
Average						

Statistically significant difference \* - p<0.05 and \*\* - p<0.01; † - could not be calculated

In Kennebec variety, the statistical data analysis revealed a very significant difference in the content of Cd ( $p<0.01$ ) as well as a significant difference in the content of Ni ( $p<0.05$ ) between the peel and the core of the analyzed potato tubers. The difference in the content of other examined toxic elements in Kennebec variety was not statistically significant (Table 2).

In Karlene variety, the differences in the concentrations of Cr, Hg, Ni, V between the peel and the core, as well as the difference in As content were significant at  $p<0.01$

and  $p < 0.05$ , respectively. In this variety, the content of Pb in the peel and the core was not statistically different (Table 2).

In Kennebec and Karlena varieties concentration of Ni was substantially lower, whereas concentrations of Pb were in line compared to the results of our previous work (Popovic-Dordevic et al., 2017). The obtained results indicated that As and Cd were within the maximum allowable concentration (MAC) set by the national regulations (Official Gazette, 2018). On the other side, concentrations of Hg and Pb in the core of both studied varieties were app. 3 and 4 fold higher than MAC, respectively (Table 2).

In general, the chemical composition of the plant reflects the elemental composition of the soil on which it is grown. Taking into account the close link between soil and plants, it is clear that various factors that impact the soil properties have an indirect effect on their composition (Kabata-Pendias, 2011). Concentrations of toxic elements in plants could be directly related to their concentrations in soil, but their levels differ significantly between plant species and may even be affected by genotypes of the same species (Kabata-Pendias and Pendias, 2011; Dunbar et al., 2003).

### Conclusion

The results obtained in this study indicated significant differences in the content of toxic elements in potato tubers of Kennebec and Karlena varieties. Lead was the most abundant element in the peel and the core of both varieties. Both Hg and Pb exceeded MAC. Further studies regarding the mineral profile of potato tubers of Kennebec and Karlena varieties are in progress in our lab.

### Acknowledgment

Research in this paper is part of the projects: III46009, TR-31049, financed by the Ministry of Science and Technological Development of the Republic of Serbia

### References

- Broćić Z., Milošević D., Macak. M., Tyr S. (2008). The influence of an organic and conventional systems on chemical composition of potato tubers. *Cereal Research Communications*, vol.36, pp 679-682
- Dunbar K. R., McLaughlin M. J., Reid R. J. (2003). The uptake and partitioning of cadmium in two cultivars of potato (*Solanum tuberosum L.*) *Journal of Experimental Botany*, Vol. 54, pp 349–354.
- FAOSTAT (2019) <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- Gvozden G. (2016). Ispitivanje uticaja konvencionalnog, integralnog i organskog sistema gajenja na produktivnost, kvalitet i biološku vrednost krompira, doktorska disertacija. Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet.
- Kabata-Pendias A. (2011). Trace elements in soils and plants (4<sup>th</sup> ed.) New York: CRC Press, Taylor and Francis Group, LLC, Boca Raton, London, New York.
- Official Gazette (2018). Pravilnik o maksimalno dozvoljenim količinama ostataka sredstava za zaštitu bilja u hrani i hrani za životinje i o hrani i hrani za životinje za

- koju se utvrđuju maksimalno dozvoljene količine ostataka sredstava za zaštitu bilja, Nos. 22/18 and 90/2018.
- Popovic-Dordevic J., Bokan N., Dramicanin A., Brceski I., Kostic A. (2017). Content and weekly intake of essential and toxic elements in Serbian vegetables, Journal of Environmental Protection and Ecology, 18(3), 889–898.
- Popović-Đorđević J., Paunović D., Milić A., Aritonović A., Brčeski I. (2018). Mineralni profil šipurka iz centrale Srbije, XXXII savetovanje agronoma, veterinara, tehnologa i agroekonomista, Zbornik naučnih radova, Padinska Skela, Beograd. Vol. 24, br. 1-2, 179-185.
- Stefanović V., Trifković J., Djurdjić S., Vukojević V., Tešić Ž., Mutić J. (2016). Study of silver, selenium and arsenic concentration in wild edible mushroom *Macrolepiota procera*, health benefit and risk. *Environmental Science and Pollution Research* 23(21):22084-22098
- Subtle J. (2008). Symposium Introduction: Enhancing the nutritional value of potato tubers. American Journal of Potato Research, Vol. 85, 266.

## SADRŽAJ TOKSIČNIH ELEMENTA U SORTAMA KROMPIRA KENEBEK I KARLENA

Zoran Broćić<sup>1</sup>, Jelena Popović-Đorđević<sup>1</sup>, Jelena Mutić<sup>2</sup>, Jasmina Oljača<sup>1</sup>,  
Dobrivoje Poštić<sup>3</sup>, Sina Siavash Moghaddam<sup>4</sup>

### Izvod

Bezbednost hrane je najvažniji faktor u pogledu zdravlja ljudi. Posljednjih godina pažnja u svetu je usmerena na ispitivanje sadržaja toksičnih elemenata u povrću. Cilj rada bio je da se analizira sadržaj As, Cd, Cr, Hg, Ni, Pb i V u krtolama krompira sorti Kennebec i Karlena, uzgajanih u najvažnijim proizvodnim regionima za uzgoj krompira u Srbiji. Između varijeteta, u krtolama, uočene su značajne razlike u koncentracijama elemenata koje su bile u opsegu od  $0.050 \text{ mg kg}^{-1}$  (V) do  $0.740 \text{ mg kg}^{-1}$  (Pb) u sorti Kenebek, i od  $0.058 \text{ mg kg}^{-1}$  (As) do  $1.112 \text{ mg kg}^{-1}$  (Ni) u sorti Karlena.

**Ključne reči:** krtola krompira, Kennebec, Karlena, toksični elementi, ICP-OES

<sup>1</sup>Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Nemanjina 6, 11080 Beograd, Srbija ([brocic@agrif.bg.ac.rs](mailto:brocic@agrif.bg.ac.rs)) [jelenadj@agrif.bg.ac.rs](mailto:jelenadj@agrif.bg.ac.rs))

<sup>2</sup>Univerzitet u Beogradu, Hemski fakultet, Studentski trg 12-16, 11000 Beograd, Srbija

<sup>3</sup> Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Teodora Dražzera 9, Beograd, Srbija

<sup>4</sup>Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

## KOMPARATIVNA STUDIJA 7-HIDROKSIKUMARINA I 6,7-DIHIDROKSIKUMARINA

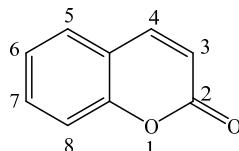
*Zoran Marković<sup>1,2</sup>, Dženeta Numanović<sup>1</sup>, Marko Antonijević<sup>1</sup>, Dejan Milenković<sup>2</sup>, Edina Avdović<sup>3</sup>, Žiko Milanović<sup>2</sup>*

**Izvod:** Primenom računarskih metoda (programska paket *Gaussian09* i M06-2X/6-311++G(d,p) teorijski model) vršeno je ispitivanje mehanizama antioksidativnog delovanja 7-hidroksikumarina i 6,7-dihidroksikumarina sa hidroksi ( $\text{HO}^\bullet$ ), hidroperoksi ( $\text{HOO}^\bullet$ ), metil peroksi ( $\text{CH}_3\text{OO}^\bullet$ ) radikalom, u vodi i benzenu. Ispitivanja su pokazala da su u vodi HAT i SPLET mehanizmi kompetitivni za reakciju 6,7-dihidroksikumarina i  $\text{HO}^\bullet$ , dok u reakciji 7-hidroksikumarina i  $\text{HO}^\bullet$  kompetativni i mogući su HAT, SPLET i RAF mehanizmi. Sa druge strane, u benzenu, SPLET mehanizam je najverovatniji mehanizam antiradikalinskog delovanja ispitivanih molekula sa  $\text{HO}^\bullet$ . U reakciji ispitivanih jedinjenja sa  $\text{HOO}^\bullet$  i  $\text{CH}_3\text{OO}^\bullet$  najpovoljniji mehanizam je SPLET u oba rastvarača.

**Ključne reči:** antioksidansi, 7-hidroksikumarin, 6,7-dihidroksikumarin, DFT

### Uvod

Kumarini i njihovi derivati su široko rasprostranjena jedinjenja, naročito u biljnom svetu, odakle je izolovano više od 1300 derivata. Intenzivno pročavanje ovih jedinjenja započetno je nakon izolovanja kumara 2H-hromen-2-on (John Leo Abernethy, 1969), jedinjenja sa benzopironskom osnovom koji daje miris mnogim vrstama biljaka.



Slika 1. Struktura jedinjenja 2H-hromen-2-on sa numeracijom atoma  
*Figure 1. Structure of the compound 2H-chromene-2-one with atomic numbering*

Kumarini pokazuju širok spektar bioloških aktivnosti koje uključuju antibakterijsku, antitumorsku, antioksidativnu, antiinflamatornu, antifungalnu, (Talapatra i Talapatra, 2015) itd. Iz tog razloga, derivati kumara, postali su interesantni za hemičare što je prouzrokovalo intenzivan razvoj brojnih tehnika za njihovu sintezu (Zabradnik, 1992). Istraživanja su pokazala da kumarini s fenolnim hidroksilnim grupama pokazuju sposobnost hvatanja slobodnih radikala, posebno

<sup>1</sup>Državni univerzitet u Novom Pazaru, Vuka Karadžića bb, 36 300 Novi Pazar, Srbija(zmarkovic@np.ac.rs);

<sup>2</sup>Istraživačko-razvojni centar za bioinženjeri – BioIRC, Prvoslava Stojanovića 6, Kragujevac, Srbija;

<sup>3</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno-matematički fakultet u Kragujevcu, Radoja Domanovića 12, Kragujevac, Srbija.

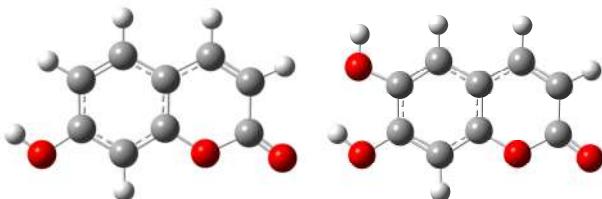
reaktivnih kiseoničnih vrsta i često se koriste kao inhibitori ciklooksigenaze i lipoksiogenaze u upalnom ciklusu (Kalkhambkar, 2011).

Jedinjenje 6,7-dihidroksikumarin (eskuletin) (6,7-di-HyC) nastaje hidrolizom eskulina, pri čemu se, pored pomenutog jedinjenja, formira i glukoza. Eskuletin i 4-metileskuletin sinergistički deluju s  $\alpha$ -tokoferolom u obrani od citotksičnosti izazvane hidroperoksi radikalom linoleinske kiseline.

Jedinjne 7-hidroksikumarin (7-HyC) je prirodni benzopiron, ljudski metabolit i ima važnu ulogu kao antioksidans u ljudskoj prehrani (voće i povrće) (Farshori i sar., 2011).

### Materijal i metode rada

Ispitivanja antioksidativnih osobina 7-hidroksikumarina i 6,7-dihidroksikumarina vršena su uz pomoć programskog paketa Gaussian09 (Frisch i sar., 2010) sa primenjenim M06-2X/6-311++G(d,p) teorijskim modelom (Zhao and Truhlar, 2008) u kombinaciji sa CPCM solvatacionim modelom u benzenu i vodi kao rastvaračima.

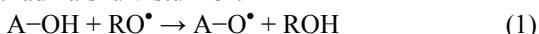


Slika 2: Optimizovane strukture 7-hidroksikumarina (levo) i 6,7-dihidroksikumarina (desno) jedinjenja na M062X/6-311++G(d,p) nivou teorije

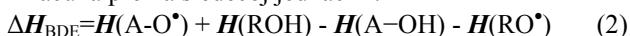
Figure 2. Optimized structures of 7-hydroxycoumarin (left) and 6,7-dihydroxicoumarine (right) compounds on the M062X /6-311++ G (d, p) level of theory

U okviru ovog rada ispitivana su četiri mehanizma antioksidativnog delovanja ispitivanih jedinjenja (Slika 2) sa tri različite radikalске vrste: hidroksi ( $\text{HO}^\bullet$ ), hidroperoksi ( $\text{HOO}^\bullet$ ) i metilperoksi ( $\text{CH}_3\text{OO}^\bullet$ ) radikala.

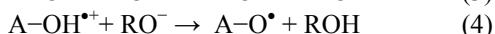
Kod HAT mehanizma (eng. *Hydrogen Atom Transfer*) vrši se transfer atoma vodonika sa molekula antioksidanta na radikalsku vrstu  $\text{RO}^\bullet$ :



Ovaj mehanizam je definisan entalpijom homolitičkog raskidanja veze (eng. *Bond Dissociation Enthalpy*) –BDE i računa prema sledećoj jednačini:



U SET-PT mehanizmu prvi korak prestavlja transfer jednog elektrona sa molekula antioksidansa na reaktivnu kiseoničnu vrstu, pri čemu se obrazuje radikal katjon antioksidanta, dok drugi korak ovog mehanizma predstavlja deprotonovanje nastalog radikal kationa:

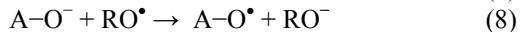


Prvi korak mehanizma je okarakterisan jonizacionim potencijalom (*Ionization Potential*) – IP, dok je drugi korak mehanizma okarakterisan entaprijom disocijacije protiona (*Proton Dissociation Enthalpy*)- PDE:

$$\Delta H_{IP} = \mathbf{H}(A-OH^+) + \mathbf{H}(RO^-) - \mathbf{H}(A-OH) - \mathbf{H}(RO^\bullet) \quad (5)$$

$$\Delta H_{PDE} = \mathbf{H}(A-O^\bullet) + \mathbf{H}(ROH) - \mathbf{H}(A-OH^+) - \mathbf{H}(RO^-) \quad (6)$$

Sekvencijalni gubitak protona praćen transferom elektrona (eng. *Sequential Proton Loss Electron Transfer*) – SPLET mehanizam odvija se u dva koraka. Prvi korak SPLET mehanizma predstavlja deprotonovanje molekula antioksidanta pri čemu se formira anjon, dok drugi korak mehanizma opisuje prenos elektrona sa prethodno dobijenog anjona:

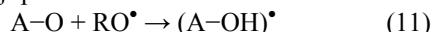


Prvi korak SPLET mehanizma je opisan afinitetom prema protonu (eng. *Proton Affinity*) – PA, dok je drugi korak okarakterisan entalpijom prenosa elektrona (*Electron Transfer Enthalpy*) – ETE:

$$\Delta H_{PA} = \mathbf{H}(A-O^-) + \mathbf{H}(ROH) - \mathbf{H}(A-OH) - \mathbf{H}(RO^-) \quad (9)$$

$$\Delta H_{ETE} = \mathbf{H}(A-O^\bullet) + \mathbf{H}(RO^-) - \mathbf{H}(A-O^-) - \mathbf{H}(RO^\bullet) \quad (10)$$

Kod formiranja radikal-adukt veze (engl. *Radical-Adduct Formation*)-RAF mehanizma dolazi do formiranja novog radikala adicijom slobodnog radikala na antioksidant i to u položajima koji su kao najbolji predviđeni Fukui indeksom.



Ovaj mehanizam je definisan entalpijom obrazovanja aduktne vrste i računa se po formuli:

$$\Delta H_{RAF} = \mathbf{H}(A-OH)^\bullet - \mathbf{H}(A-O) - \mathbf{H}(RO^\bullet) \quad (12)$$

Fukui indeks (Parr and Yang, 1984), opisuje promenu u elektronskoj gustini koja je indukovana promenom ukupnog broja elektrona. U okviru ovog rada, primenjena su tri matematička izraza koja opisuju elektrofilni, nukleofilni i slobodno radikalski napad:

$$f_A^- = q_{N-1}^A - q_N^A \quad (13)$$

$$f_A^+ = q_N^A - q_{N+1}^A \quad (14)$$

$$f_A^0 = [f_A^+ + f_A^-] / 2 = [q_{N-1}^A - q_{N+1}^A] / 2 \quad (15)$$

gde su  $q_N^A$ ,  $q_{N-1}^A$  i  $q_{N+1}^A$  naelektrisanja na atomu A u neutralnom molekulu (broj elektrona se ne menja u osnovnom stanju), radikal katjonu (molekul gubi elektron) i radikal anjonu (molekul prima electron).

## Rezultati istraživanja i diskusija

U okviru ovog istraživanja izračunate su reakcione entalpije, pomoću DFT metode, za sva četri antiradikalna mehanizma ispitivanih jedinjenja (Slika 2) sa reaktivnim radikalnim vrstama ( $HO^\bullet$ ,  $HOO^\bullet$  i  $CH_3OO^\bullet$ ), i vrednosti su prikazane u Tabeli 2. Najpovoljniji reakcioni put antiradikalskog delovanja ispitivanih jedinjenja se može odrediti na osnovu vrednosti termodinamičkih parametara ( $\Delta H_{BDE}$ ,  $\Delta H_{PA}$ ,  $\Delta H_{IP}$  i  $\Delta H_{RAF}$ ). Kod RAF mehanizma, Fukui funkcije su računate da bi se odredio najpovoljniji položaj za napad radikalne vrste. Visoke vrednosti Fukui funkcije (Tabela 1) pokazuju

da su položaji C3 i C4, kod oba ispitivana jedinjenja, povoljni za RAF mehanizam.

Tabela 1. Vrednosti Fukui indeksa-najreaktivniji položaji  
Table 1. Fukui index values - the most reactive positions

	7-hidroksikumarin			6,7-dihidroksikumarin		
	$f_{\text{nbo}}^+$	$f_{\text{nbo}}^-$	$f_{\text{nbo}}^0$	$f_{\text{nbo}}^+$	$f_{\text{nbo}}^-$	$f_{\text{nbo}}^0$
C3	0.1255	0.2746	<b>0.2001</b>	0.1477	0.1424	<b>0.1451</b>
C4	0.1421	0.0041	<b>0.0731</b>	0.2021	-0.0333	<b>0.0844</b>

Tabela 2. Izračunate reakcione entalpije (kJ/mol) ispitivanih jedinjenja sa različitim radikalima

Table 2. Calculated reaction enthalpy (kJ / mol) of test compounds with different radicals

M06-2X/6-311++G(d,p)												
Voda $\epsilon=78.35$ Water $\epsilon=78.35$												
7-hidroksikumarin	HAT		SET-PT		SPLET		RAF					
	$\Delta H_{\text{BDE}}$	$\Delta H_{\text{IP}}$	$\Delta H_{\text{PDE}}$	$\Delta H_{\text{PA}}$	$\Delta H_{\text{ETE}}$	$\Delta H_{\text{RAF}}$						
						C3	C4					
7-OH + ·OH	-120	142	-262	-119	-1	-114	-96					
7-OH + ·OOH	11	230	-219	-77	88	-1	6					
7-OH + ·OOCH <sub>3</sub>	19	236	-217	-75	94	6	13					
6,7-dihidroksikumarin												
6-OH + ·OH	-153	115	-268	-121	-32	-111	-100					
7-OH + ·OH	-152		-266	-141	-11							
6-OH + ·OOH	-18	204	-222	-75	57	-14	1					
7-OH + ·OOH	-17		-220	-94	77							
6-OH + ·OOCH <sub>3</sub>	-12	210	-222	-75	63	-4	7					
7-OH + ·OOCH <sub>3</sub>	-11		-220	-94	84							
Benzen $\epsilon=2.27$												
Benzener $\epsilon=2.27$												
7-OH + ·OH	-116	368	-484	-184	68	-122	-97					
7-OH + ·OOH	14	445	-431	-130	144	-4	2					
7-OH + ·OOCH <sub>3</sub>	22	446	-424	-124	146	-4	10					
6,7-dihidroksikumarin												
6-OH + ·OH	-157	220	-377	-146	-10	-115	-105					
7-OH + ·OH	-153		-373	-213	60							
6-OH + ·OOH	-23	297	-321	-91	67	-21	-3					
7-OH + ·OOH	-19		-317	-157	138							
6-OH + ·OOCH <sub>3</sub>	-15	299	-314	-84	69	-11	3					
7-OH + ·OOCH <sub>3</sub>	-11		-310	-151	140							

Na osnovu vrednosti termodinamičkih parametara iz Tabele 2 možemo zaključiti da se inaktivacija hidroksi radikala može vršiti preko tri mehanizma: HAT, SPLET i RAF.

U vodi, kao rastvaraču, za reakciju 6,7-di-HyC sa  $\text{HO}^\bullet$  radikalom, vrednosti  $\Delta H_{\text{BDE}}$  i  $\Delta H_{\text{PA}}$  su vrlo slične, iz čega zaključujemo da postoji kompeticija između SPLET i HAT mehanizma. Sa druge strane, za reakciju 7-HyC sa  $\text{HO}^\bullet$ , sve tri vrednosti,  $\Delta H_{\text{BDE}}$ ,  $\Delta H_{\text{PA}}$  i  $\Delta H_{\text{RAF}}$ , su vrlo slične iz čega proizilazi da su moguća sva tri mehanizma. SPLET mehanizam je najpovoljniji mehanizam za reakciju ispitivanih jedinjenja sa hidroperoksi i metilperoksi radikalima, zato što su  $\Delta H_{\text{PA}}$  značajno niže u odnosu na  $\Delta H_{\text{BDE}}$  i  $\Delta H_{\text{RAF}}$  (Tabela 2).

U benzenu, kao rastvaraču, SPLET mehanizam je dominantan mehanizam u odnosu na HAT i RAF, jer su  $\Delta H_{\text{PA}}$  značajno niže u odnosu na  $\Delta H_{\text{BDE}}$  i  $\Delta H_{\text{RAF}}$  za reakciju ispitivanih jedinjenja sa  $\text{HO}^\bullet$ . Takođe, SPLET mehanizam je najverovatniji reakcioni put za inaktivaciju  $\text{HOO}^\bullet$  i  $\text{CH}_3\text{OO}^\bullet$ .

SET-PT mehanizam nije povoljan reakcioni put za deaktivaciju hidroksi radikala, kao ni za deaktivaciju hidroperoksi i metilperoksi radikala sa ispitivanim molekulima, jer su vrednosti promene jonizacionog potencijala ( $\Delta H_{\text{IP}}$ ) veoma visoke, u oba rastvarača.

### Zaključak

Reakcione entalpije ( $\Delta H_{\text{BDE}}$ ,  $\Delta H_{\text{PA}}$ ,  $\Delta H_{\text{IP}}$  i  $\Delta H_{\text{RAF}}$ ) izračunate na M062X/6-311++G(d,p) nivou teorije, kako bi se odredio najpovoljniji reakcioni put antiradikalinskog delovanja ispitivanih jedinjenja sa  $\text{HO}^\bullet$ ,  $\text{HOO}^\bullet$  i  $\text{CH}_3\text{OO}^\bullet$ .

SET-PT mehanizam nije povoljan reakcioni put za deaktivaciju ispitivanih jedinjenja sa  $\text{HO}^\bullet$ ,  $\text{HOO}^\bullet$  i  $\text{CH}_3\text{OO}^\bullet$ , zato što su vrednosti  $\Delta H_{\text{IP}}$  veoma visoke, u oba rastvarača.

HAT i SPLET mehanizmi su kompetitvni mehanizmi antiradikalinskog delovanja 6,7-di-HyC u reakciji sa  $\text{HO}^\bullet$ , dok su HAT, SPLET i RAF mogući reakcioni putevi u reakciji 7-HyC sa  $\text{HO}^\bullet$ , u vodi kao rastvaraču. Sa druge strane, u benzenu je SPLET mehanizam dominantan mehanizam u odnosu na HAT i RAF.

SPLET mehanizam je najverovatniji reakcioni put za inaktivaciju  $\text{HOO}^\bullet$  i  $\text{CH}_3\text{OO}^\bullet$  u oba rastvarača.

### Napomena

Istraživanja u ovom radu deo su projekata "Metode modeliranja na više skala sa primenama u biomedicini" (broj: 174028), „Sinteza, modelovanje, fizičko-hemijske i biološke osobine organskih jedinjenja i odgovarajućih kompleksa metala" (broj: 172016) i „Dinamika nelinearnih fizičkohemijskih i biohemiskih sistema sa modeliranjem i predviđanjem njihovih ponašanja pod neravnotežnim uslovima" (broj: 172015), koje finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja.

### Literatura

Abernethy J.L., (1969) The Historical and Current Interest in Coumarin, Journal of Chemical Education, 46: 561-568.

- Farshori, N.N., Banday, M.R., Ahmad, A., Khan, A.U., Rauf, A. (2011): 7-Hydroxy-coumarin derivatives:synthesis, characterization and preliminary antimicrobial
- Frisch M. J., Trucks G. W., Schlegel H. B., et al. (2010). Gaussian 09, Revision C.01, Gaussian, Inc., Wallingford, CT, USA.
- Kalkhambkar, R.G. (2011): Synthesis and biologicalactivities of novel ethers of quinolinone linked with coumarins, Monatsh. Chem. 142, 305–315.
- Teng C. M., Huey-Lin Li, Tian-Shung Wu, Shiow-Chyn Huang and Tur-Fu Huang, Antiplatelet actions of some coumarin compounds isolated from plant sources, Thrombosis Research Volume 66, Issue 5, 1 June 1992, Pages 549-557.
- Talapatra S. K., and Talapatra B., (2015), Chemistry of Plant Natural Products, Berlin Heidelberg, Germany, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Zabradnik M., (1992) The Production and Application of Fluorescent Brightening Agent, New York, USA, John Wiley and Sons Ltd
- Zhao Y., Truhlar D.G. (2008). The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other functionals. Theoretical Chemistry Accounts. 120 (1-3): 215-241.

## COMPARATIVE STUDY OF 7-HYDROXYCUMMARYINE AND 6,7-DIHYDROXICUMMERINE

*Zoran Marković<sup>1,2</sup>, Dženeta Numanović<sup>1</sup>, Marko Antonijević<sup>1</sup>, Dejan Milenković<sup>2</sup>, Edina Avdović<sup>3</sup>, Žiko Milanović<sup>2</sup>*

### Abstract

The 7-hydroxycumarin and 6,7-dihydroxycumarin are derivatives of coumarin possess free hydroxyl groups that can be responsible for their good antiradical activity. The M06-2X/6-311++G(d,p) level of theory was aplied, as implemented in Gaussian 09 software package, in order to examine the mechanisms of the antioxidative action of investigated compounds with hydroxy ( $\text{HO}^\bullet$ ), hydroperoksi ( $\text{HOO}^\bullet$ ), metil peroksi ( $\text{CH}_3\text{OO}^\bullet$ ) radical, in water and benzene. The investigation have shown that HAT and SPLET mechanisms are competitive in the reaction of 6,7-dihydroxycumarin with  $\text{HO}^\bullet$ , while in reaction of 7-hydroxycumarin with same radical all three mechanisms (HAT, SPLET and RAF) are possible in water, as solvent. On the other hand, in benzene the SPLET mechanism is the prevailing mechanism of antiradical activity of investigated compounds. In the reaction of investigated molecules with  $\text{HOO}^\bullet$  and  $\text{CH}_3\text{OO}^\bullet$  radicals, the most favourable mechanism is the SPLET mechanism in both solvents.

**Key words:** antioxidant, 7-hydroxycumarin, 6,7-dihydroxycumarin, DFT

<sup>1</sup>State University of Novi Pazar, Vuka Karadžića bb, 36 300 Novi Pazar, Serbia. (zmarkovic@np.ac.rs)

<sup>2</sup>Bioengineering Research and Development Center – BioIRC, Prvoslava Stojanovića 6, Kragujevac, Serbia;

<sup>3</sup>University of Kragujevc, Faculty of Science, Radoja Domanovića 12, Kragujevac, Serbia

## ISPITIVANJE PROTEIN-LIGAND INTERAKCIJA HUMANE TIROZIL-DNK FOSFODIESTERAZE 1 i 3-(1-(2- HIDROKSIFENIL)AMINO)ETILIDEN)HROMAN-2,4-DIONA

Zoran Marković<sup>1,3</sup>, Edina Avdović<sup>2</sup>, Dejan Milenković<sup>3</sup>, Dušan Dimić<sup>4</sup>, Svetlana Jeremić<sup>1</sup>, Jelena Đorović<sup>3</sup>, Žiko Milanović<sup>3</sup>

**Izvod:** Struktura ispitivanog derivata kumarina, 3- (1- (2-hidroksifenil)amino) - etiliden) -hroman-2,4-diona, proučena je primenom teorijskih metoda. Optimizacija geometrije ispitivanog kumarinskog derivata urađena je na B3LYP-D3BJ/6-311++G(d,p) nivou teorije, korišćenjem teorije funkcionala gustine. Kako bi se ispitala potencijalna inhibitorna aktivnost ovog jedinjenja prema tirozil-DNK fosfodiesterazi 1, najpre je urađen molekulski doking. Dobijeni rezultati iskorišćeni su kao polazni za simulaciju molekulske dinamike. Pokazano je da će ispitivani ligand interagovati sa zadatim proteinom ostvarujući kako vodonične veze, tako i hidrofobne kontakte.

**Ključne reči:** 3-(1-(2-hidroksifenil)amino)-etiliden)-hroman-2,4-dion; TDP1, molekulski doking, molekulska dinamika

### Uvod

Tirozil-DNK fosfodiesteraza 1 (TDP1) je enzim koji katalizuje hidrolizu 3'-fosfotirozil veza i uključen je u reparaciju irreverzibilne topoizomeraze I (TOP 1) – DNK kovalentnih kompleksa. TDP1 inhibitori se smatraju potencijalnim kancer lekovima u kombinaciji sa TOP 1 inhibitorima, koji se trenutno koriste za tretiranje kancera kod ljudi. Humana TDP1 je član velike familije fosfolipaza D i sadrži dva PLD domena fosfodiesteraze. Zbog pomenutih karakteristika ovog enzima urađena su ispitivanja simulacijom molekulskog dokinga i molekulske dinamike sa 3-(1-(2-hidroksifenil)amino)-etiliden)-hroman-2,4-dionom. Ovo jedinjenje spada u grupu kumarina. Kumarini, kao i njihovi derivati, veoma su rasprostranjeni u prirodi, naročito u biljnom svetu (Hoult i Paya, 1996). Osim u biljkama, kumarini se mogu naći i u proizvodima metabolizma nekih organizama (Moore, 1962). Kumarini pokazuju širok spektar biološkog dejstava. Najkarakterističnije biološke osobine su: antibakterijsko, antitumorsko, antioksidativno, antiinflamatorno i antifungalno dejstvo (Talapatra i Talapatra, 2015). Zahvaljujući pomenutim osobinama, ova jedinjenja nalaze široku primenu u medicini kroz poboljšanje tretmana lečenja raznih bolesti. Takođe, kumarini

<sup>1</sup>Državni univerzitet u Novom Pazaru, Vuka Karadžića bb, 36 300 Novi Pazar, Republika Srbija (zmarkovic@np.ac.rs);

<sup>2</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno-matematički fakultet u Kragujevcu, Radoja Domanovića 12, 34 000 Kragujevac, Republika Srbija;

<sup>3</sup>Istraživačko-razvojni centar za bioinženjering – BioIRC, Prvoslava Stojanovića 6, 34 000 Kragujevac, Republika Srbija.

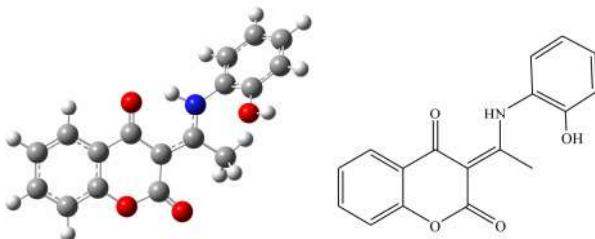
<sup>4</sup>Univerzitet u Beogradu – Fakultet za fizičku hemiju, Studentski trg 12 – 16, 11 000 Beograd, Republika Srbija.

se koriste i kao aditivi u hrani i kao kumarinske boje. Pored toga, ova grupa jedinjenja našla je primeni i u kozmetičkoj industriji.

### Materijal i metode rada

Simulacija molekulskog dokinga urađena je korišćenjem AutoDock Vina 4.0 softvera (Morris i sar., 2009), koji je opremljen Auto Dock Tools grafičkim interfejsom. Trodimenzionalna kristalna struktura TDP1 proteina pruzeta je iz the Protein Data Bank (PDB ID: 1NOP) (Davies i sar., 2003). Priprema proteina za doking urađena je uklanjanjem ko-kristalizovanog liganda, molekula vode i kofaktora, korišćenjem Discovery Studio 4.0 (BIOVIA Discovery Studio 2016). U okviru ove simulacije korišćena je kutija veličine 30 Å x 30 Å x 30 Å, u x, y, z pravcima. Ispitivani molekul (Slika 1) je pre dokingovanja najpre optimizovan na B3LYP-D3BJ/6-311++ G (d, p) nivou teorije, i potvrđena je njegova X-ray struktura. Razmatrana je fleksibilnost liganda, dok je protein zadržao rigidnu strukturu.

Nakon analize molekulskog dokinga, najstabilnija struktura ispitivanog kompleksa je podvrgнутa simulaciji molekulske dinamike (MD). MD simulacija je urađena u programu NAMD 2.12 (James i sar. 2005) sa primenjenim CHARMM36 poljem sila. Topologija protein-ligand kompleksa napravljena je primenom CHARMM-GUI servera (Jo i sar., 2008). Kompleks protein-ligand je solvatisan TIP3P modelom vode. Prisutna nanelektrisanja neutralisana su dodavaljem 0.15 M KCl. Da bi se obezbedila stabilnost sistema, urađeno je uravnoteženje (minimizacija i ekvilibracija) pod uslovima konstantne temperature i zapremine (NVT). Konačno, produkcija molekulske dinamike vršena je u trajanju od 5 ns pod uslovima konstantnog pritiska i temperature (NPT) na 1 atm i 303.15 K .



Slika 1. Optimizovana struktura ispitivanog jedinjenja  
*Figure 1. The optimized structure of investigated molecule obtained*

### Rezultati istraživanja i diskusija

Primenom molekulskog dokinga procenjena je inhibitorna aktivnost ispitivanog jedinjenja prema humanom TDP1 proteinu. U ovoj studiji su utvrđena potencijalna mesta vezivanja liganda za protein, kao i energija vezivanja liganda. Položaj i orientacija liganda unutar proteina (TDP1) i interakcije sa aminokiselinama, koji su vezani za ligand, analizirani su i prikazani pomoću Discovery Studio 4.0 i AutoDockTools-a.

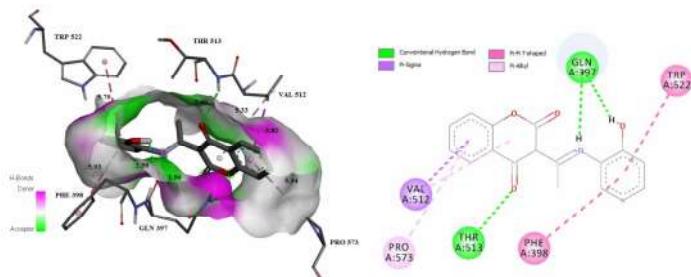
U Tabeli 1 navedene su vrednosti procenjene slobodne energije vezivanja i konstante inhibicije ( $K_i$ ) za najstabilniju konformaciju ispitivanog liganda. Što je niža vrednost  $K_i$  smatra se da je veći stepen inhibicije.

Tabela 1. Vrednosti slobodne energije vezivanja ( $\Delta G_{vez}$ ) u kcal/mol i konstantna inhibicije  $K_i$ ( $\mu M$ ) najstabilnije konformacije liganada prema TDP1 proteinu

*Table 1. Estimated free energy of binding ( $\Delta G_{bind}$ ) in kcal/mol and estimated inhibition constant  $K_i$  ( $\mu M$ ) of the most stable conformation ligand according TDP1 protein.*

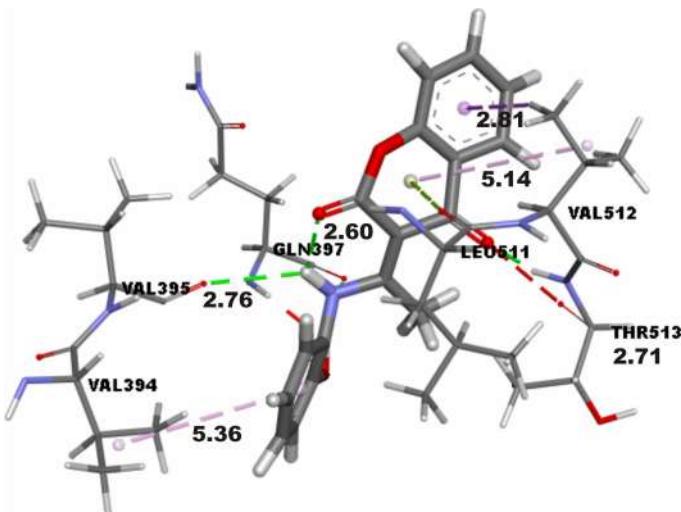
$\Delta G_{vez}$ (kcal/mol)	$K_i$ ( $\mu M$ )	Vodonične veze (donor-akceptor)	Dužina (Å)	Hidrofobni kontakti (alkil- $\pi$ i $\pi$ - $\sigma$ interakcije)	Dužina (Å)
		THR513:HN-		VAL512:CG2-LIG	3.82
		LIG:O	2.40	PHE398-LIG	5.93
-9.1	0.212	LIG:H-GLN397:O	1.96	TRP522-LIG	5.70
		LIG1:H-	2.58	LIG- VAL512	5.33
		GLN397:O		LIG- PRO573	5.34

Analizom rezultata molekulskog dokinga (Tabela 1), može se zaključiti da se ligand vezuje na katalitičkom mestu substrata slabim nekovalentnim interakcijama. Najistaknutije su H-veze, alkil- $\pi$  i  $\pi$ - $\sigma$  interakcije. Najbitniji tip interakcija kod ispitivanja inhibitorne aktivnosti nekog liganda prema proteinu jesu vodonične veze. Glicin 397 (GLN397), preko kiseonika karbonilne grupe, formira dve vodonične veze sa vodonicima HN (1.96 Å) i OH (2.58 Å) grupa liganda. Treonin 513 (THR 513), preko vodonika amino grupe, formira vodoničnu vezu sa kiseonikom hromanskog prstena liganda (2.40 Å). Valin 512 (VAL512) formira jaku  $\pi$ - $\sigma$  interakciju (3.82 Å) sa benzenovim prstenom kumarinske osnove, kao i slabu alkil- $\pi$  interakciju sa hromanskim prstenom. Takođe, slaba alkil- $\pi$  interakcija uočava se između prolin 573 (PRO573) i ispitivanog liganda. Manje značajne interakcije uspostavljaju aminokiselinski ostaci fenilalanina 398 (PHE398) i triptofana 522 (TRP522) sa benzenovim prstenom liganda ( $\pi$ - $\pi$  interakcije).



Slika 2. Interakcija između liganda i amino kiseline TDP1 proteina  
*Figure 2. Picture showing interaction between ligand and amino acids of TDP1*

Struktura sa najnižim vrednostima  $\Delta G_{vez}$  i  $K_i$  dobijena dokingom podvrgnuta je molekulsko dinamičkoj (MD) simulaciji. Za razliku od molekulskog dokinga, MD simulacija se izvodi pod realnim uslovima. Nakon simulacije uočava se korelacija dobijenih rezultata sa molekulskim dokingom. Rezultati ukazuju na formiranje vodonične veza između treonina (THR513) i kiseonika hromanskog prstena. Dužina ostvarene H-veze tokom simulacije nakon 5 ns iznosi 2.71 Å. Takođe, vodonična veza uočava se između glutamin (GLN397) i kiseonika hidroksne grupe liganda, a dužina ove veze iznosi 2.60 Å. Vodonična veza koja je prisutna u molekulskom dokingu između GLN397 i H-atoma amino grupe liganda u MD simulaciji je izostala. Dužina ove interakcije nakon 5ns iznosi 4.02 Å. Ovo je posledica prisustva brojnih faktora koji se u dokingu ne uzimaju u razmatranje (temperatura, pritisak, uticaj rastvarača). Pored pomenutih interakcija koje su zajedničke za molekulski doking i dinamiku, molekulska dinamika pokazuje i ne tako značajnu interakciju sa VAL395. Takođe, treba istaći da se hidrofobni kontakt sa VAL512 ostvaruje i nakon 5ns simulacije molekulske dinamike, i to sa dve interakcije. Vodonikov atom iz C-H veze VAL 512 interaguje sa  $\pi$ -orbitalama liganda, ostvarujući  $\pi$ - $\sigma$  interakciju dužine 2.81 Å. Druga interakcija je alkil- $\pi$  tipa, pri čemu su  $\pi$ -orbitale liganda donori, a alkil grupa VAL512 je akceptor. Dužina ove interakcije iznosi 5.14 Å. Po završetku simulacije molekulske dinamike uočeni su i novi hidrofobni kontakti sa LEU 511 i VAL 394, ali su izostali kontakti sa PHE398, TRP522 i PRO573 iz molekulskog dokinga (Tabela 1).



Slika 3. Interakcija između liganda i aminokiselina iz TDPI proteina nakon MD simulacije

*Figure 3. Interaction between ligand and amino acids from TDPI protein after MD simulation*

## Zaključak

Ispitivan derivat kumarina 3-(1-(2-hidroksifenilamino)-etiliden)-hroman-2,4-dion analiziran je primenom teorijskih metoda. Izabran je DFT model (B3LYP-D3BJ/6-311++G(d,p)) za optimizaciju ravnotežne geometrije i pripremu strukture liganda za dalja teorijska ispitivanja. Rezultati molekulskog dokinga pokazuju da ispitivano jedinjenje formira stabilan kompleks sa humanim TDP1 proteinom, na što ukazuje dobijena vrednost energije vezivanja ( $\Delta G_{vez}$ ). Analizom molekulskog dokinga, između liganda i proteina ostvarene su vodonične veze, alkil- $\pi$  i  $\pi$ - $\sigma$  interakcije. Analizom rezultata MD simulacije, uočava se da ligand ima slično okruženje kao u molekulskom dokingu. Treba naglasiti da se simulacijom molekulske dinamike u vremenskom interval od 5ns, dolazi do formiranja interakcija između liganda i amino kiselina proteina kojih nema u proteinu, dok neke od interakcija dobijenih molekulskim dokingom izostaju. Na osnovu dobijenih preliminarnih rezultata može se pretpostaviti da ispitivano jedinjenje pokazuje mogućnost inhibitorne aktivnosti prema TDP1 proteinu.

## Napomena

Istraživanja u ovom radu deo su projekata "Metode modeliranja na više skala sa primenama u biomedicini" (broj: 174028), „Sinteza, modelovanje, fizičko-hemijske i biološke osobine organskih jedinjenja i odgovarajućih kompleksa metala“ (broj: 172016) i „Dinamika nelinearnih fizičkohemijskih i biohemijskih sistema sa modeliranjem i predviđanjem njihovih ponašanja pod neravnotežnim uslovima“ (broj: 172015), koje finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja.

## Literatura

- BIOVIA Discovery Studio 2016, (2016). Accelrys Studio Inc, San Diego.
- Davies D. R., Interthal H., Champoux J. J., Hol W. G. (2003). Crystal structure of a transition state mimic for Tdp1 assembled from vanadate, DNA, and a topoisomerase I-derived peptide. *Chemistry & biology*, 10(2): 139-147.
- Hoult J. R. S., Paya M. (1996). Pharmacological and biochemical actions of simple coumarins: natural products with therapeutic potential. *General Pharmacology*, 27(4): 713-722.
- Jo, S., Kim, T., Iyer, V.G., Im W. (2008) CHARMM-GUI: A Web-based Graphical User Interface for CHARMM. *J. Comput. Chem.* 29 (11):1859-1865.
- Moore B. P., (1962), Coumarin-like Substances from Australian Termites, *Nature*, 195(4846): 1101-1102.
- Morris G. M., Huey R., Lindstrom W., Sanner M. F., Belew R. K., Goodsell D. S., Olson A. J. (2009) AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility, *Journal of Computational Chemistry*, 30 (16): 2785-2791.

Phillips J. C., Braun R., Wang W., Gumbart J., Tajkhorshid E., Villa E., Chipot C., Skeel R. D., Kale L., Schulten K. (2005). Scalable molecular dynamics with NAMD. Journal of Computational Chemistry, 26(16):1781-1802.

Talapatra S. K., Talapatra B. (2015). Chemistry of Plant Natural Products, Berlin Heidelberg, Germany, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

## EXAMINATION OF PROTEIN-LIGAND INTERACTION OF HUMAN TIROZYL-DNK FOSFODIESTERAZE 1 AND 3- (1- (2- HYDROXYPHENYL) AMINO) ETILIDENE) CHROMAN-2,4-DIONE

*Zoran Marković<sup>1,3</sup>, Edina Avdović<sup>2</sup>, Dejan Milenković<sup>3</sup>, Dušan Dimić<sup>4</sup>, Svetlana Jeremić<sup>1</sup>, Jelena Đorović<sup>3</sup>, Žiko Milanović<sup>3</sup>*

### Abstract

The structure of the investigated coumarin derivative, 3- (1- (2-hydroxyphenyl) amino) -ethylidene) -chroman-2,4-dione was studied using theoretical methods. The optimization of the geometry of the investigated coumarin derivative is done at the B3LYP-D3BJ / 6-311 ++ G (d, p) level of theory using the density function theory. In order to investigate the potential inhibitory activity of this compound according to tyrosyl-DNK phosphodiesterase 1, first is done molecular docking. The obtained results are used as the starting points for the simulation of molecular dynamics. After simulating molecular dynamics at a time interval of 5 ns, it has been shown that the examined ligand will interact with the given protein, achieving both hydrogen bonds and hydrophobic contacts.

**Key words:** 3-(1-(2-hydroxyphenyl)amino)ethylidene)chroman-2,4-dione; TDP1, Molecular docking , Molecular dinamyc

<sup>1</sup>State University of Novi Pazar, Vuka Karadžića bb, 36 300 Novi Pazar, Republic of Serbia (zmarkovic@np.ac.rs);

<sup>2</sup>University of Kragujevc, Faculty of Science, Radoja Domanovića 12, 34 000 Kragujevac, Republic of Serbia;

<sup>3</sup>Bioengineering Research and Development Center – BioIRC, Prvoslava Stojanovića 6, 34 000 Kragujevac, Republic of Serbia.

<sup>4</sup>University of Belgrade – Faculty of Physical Chemistry, Studentski trg 12 – 16, 11 000 Belgrade, Republic of Serbia.

## ISPITIVANJE MEHANIZAMA ANTIOKSIDATIVNE AKTIVNOSTI MALTOLA SA HIDROKSILNIM RADIKALOM

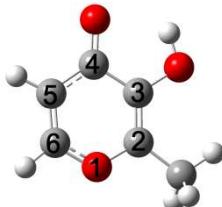
*Zoran Marković<sup>1,3</sup>, Svetlana Jeremić<sup>1</sup>, Dženana Ferizović<sup>1</sup>, Ana Amić<sup>2</sup>, Jelena Đorović<sup>3</sup>*

**Izvod:** U ovom radu su primenom DFT metode određeni operativni mehanizmi antioksidativne aktivnosti maltola. Izračunavanja su vršena u vodi i benzenu. Određeni su i termodinamički najpovoljniji reakcni putevi za deaktivaciju hidroksilnog radikala maltolom. Nađeno je da maltol svoju antioksidativnost može izraziti ili homolitičkim raskidanjem hidroksilne veze, ili nastankom anjona u prvom koraku reakcije, a zatim transformacijom anjona do radikalne forme. Nađeno je da je u vodi povoljniji mehanizam antioksidativnog delovanja maltola preko anjonske vrste kao intermedijera. U benzenu, kao nepolarnoj sredini, najpovoljniji reakcioni put prati homolitičko raskidanje hidroksilne veze.

**Ključne reči:** maltol, hidroksilni radikal, antioksidativna aktivnost, DFT, entalpija

### Uvod

Maltol (3-hidroksi-2-metil-4-piron), jedan od najpoznatijih hidroksipirona, je prirodno jedinjenje koje se često koristi u prehrambenoj industriji zbog karakterističnog ukusa (Amatori et al., 2012.; Gralla et al., 1969.) (Slika 1). Najveću primenu našao je kao pojačivač arome i osećaja slatkoće, zbog čega se koristi kao dodatak u hrani, piću, duvanu, a ima primenu i u pivarstvu i kozmetičkoj industriji (Gralla et al., 1969). Njegova upotreba kao pojačivača slatkog ukusa (na primer, u mlečnim i konditorskim proizvodima) omogućava dodavanje manje šećera, zbog čega dati prehrambeni proizvod ima manje kalorija.



Sl. 1. Ravnotežna geometrija maltola optimizovanog u vodi, sa označenim pozicijama atoma u molekulu

*Fig. 1. The equilibrium geometry of maltol optimized in water, with labeled positions of atoms in molecule*

<sup>1</sup>Državni univerzitet u Novom Pazaru, Vuka Karadžića bb, 36 300 Novi Pazar, Srbija (zmarkovic@np.ac.rs);

<sup>2</sup>Josip Juraj Strossmayer Univerzitet u Osijeku, Departman za kemiju, Cara Hadrijana 8a, 31 000 Osijek, Hrvatska;

<sup>3</sup>Istraživačko-razvojni centar za bioinžinjering – BioIRC, Prvoslava Stojanovića 6, 34 000 Kragujevac, Srbija.

Maltol se vrlo lako vezuje za metalne centre kao što su  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Ga}^{3+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$  i  $\text{VO}^{2+}$  gradeći komplekse. Upotreba metalnih kompleksa maltola dovodi do povećanja unosa i bioraspoloživosti ovih metala unetih putem hrane (Kaneko et al., 2004.; Reffitt et al., 2000.). Neki derivati maltola su pokazali antiproliferativno dejstvo u dodiru sa nekim ćelijskim linijama tumora, dovodeći do njihove apoptoze (Amatori et al., 2012.). Zbog toga je sintetisano i okarakterisano nekoliko derivata ovog jedinjenja, kao potencijalnih antitumorskih agenasa (Amatori et al., 2012.). Ova svojstva maltola inspirisala su nas da ispitamo kapacitet antioksidativnog dejstva maltola u prisustvu hidroksilnog radikala ( $\text{HO}^\bullet$ ), kao najčešće reaktivne kiseonične vrste u organizmu.

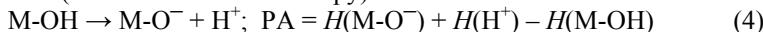
Maltol, kao i drugi fenolni antioksidanti, može ostvariti svoje antioksidativno delovanje preko bar tri poznata mehanizma. Krajnji produkt svakog od ovih mehaničkih puteva je stabilni radikal maltola, koji nema tendenciju da učestvuje u daljim radikalским procesima u organizmu. Prvi mehanizam antioksidativnog delovanja maltola poznat je kao HAT mehanizam (Hydrogen Atom Transfer). Termodinamička povoljnost ovog mehanizma određuje odgovarajuća entalpija raskidanja veze, BDE (Bond Disociation Enthalpy):



Po drugom mehanizmu nazvanom SET-PT (Single-Electron Transfer followed by Proton Transfer), reakcija se dešava iz dva koraka. U prvom koraku dolazi do transfera elektrona sa molekula maltola, čime nastaje nestabilna vrsta radikal-katjon. Ovaj korak reakcije karakteriše termodinamička veličina IP (Ionisation Potential). Drugi korak reakcije podrazumeva stabilizaciju radikal-katjona odlaskom protiona, a termodinamičku povoljnost ovog koraka reakcije procenjujemo na osnovu PDE vrednosti (Proton Dissociation Enthalpy):



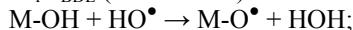
Treći mehanizam nazvan je SPLET (Sequential Proton Loss Electron Transfer). U prvom koraku ovog mehanizma dolazi do odlaska protiona i nastanka maltol-anjona, dok u drugom koraku iz anjona nastaje maltol-radikal odlaskom elektrona. Prvi korak reakcije karakteriše PA vrednost (Proton Affinity), dok drugi korak karakteriše ETE vrednost (Electron Transfer Enthalpy):



U prethodnim jednačinama (1-5)  $H(\text{M-OH})$ ,  $H(\text{M-O}^\bullet)$ ,  $H(\text{M-OH}^{+\bullet})$  i  $H(\text{M-O}^-)$ , predstavljaju entalpije molekula, radikala, radikal-katjona i anjona maltola, dok  $H(\text{H}^\bullet)$ ,  $H(\text{e}^-)$  i  $H(\text{H}^+)$  predstavljaju entalpije atoma vodonika, zatim entalpiju elektrona, i protiona.

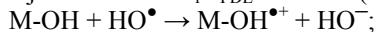
U prisustvu slobodnog-radikalске vrste, antioksidanti iskazuju svoj antioksidativni kapacite kroz mogućnost deaktivacije ovog slobodnog radikala. Poznata su bar tri mehanizma deaktivacije hidroksilnog radikala ( $\text{HO}^\bullet$ ), u kojima kao krajnji produkt nastaje stabilni radikal maltola. Prvi mehanizam poznat je kao HAT mehanizam, i

njegova termodinamička povoljnost definisana je entalpijom homolitičkog raskidanja veze  $\Delta_r H_{\text{BDE}}$  (Jednačina 6).

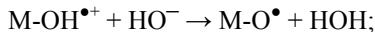


$$\Delta_r H_{\text{BDE}} = H(\text{M-O}^\bullet) + H(\text{HOH}) - H(\text{M-OH}) - H(\text{HO}^\bullet) \quad (6)$$

Drugi mehanizam je SET-PT mehanizam, i sastoji se iz dva reakciona koraka. U prvom koraku, elektron se prelazi sa maltola do hidroksilnog radikala formirajući radikal-katjon maltola i hidroksilni anjon. Drugi korak reakcije je deprotonovanje radikal-katjona maltola nastalog u prvom koraku. Termodinamička povoljnost prvog koraka reakcija razmatra se na osnovu  $\Delta_r H_{\text{IP}}$  vrednosti (Jednačina 7), dok drugi korak reakcije karakteriše  $\Delta_r H_{\text{PDE}}$  vrednost (Jednačina 8):

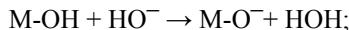


$$\Delta_r H_{\text{IP}} = H(\text{M-OH}^{\bullet+}) + H(\text{HO}^-) - H(\text{M-OH}) - H(\text{HO}^\bullet) \quad (7)$$

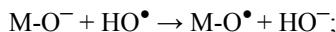


$$\Delta_r H_{\text{PDE}} = H(\text{M-O}^\bullet) + H(\text{HOH}) - H(\text{M-OH}^{\bullet+}) - H(\text{HO}^-) \quad (8)$$

Treći razmatrani mehanizam antioksidativnog delovanja maltola u prisustvu  $\text{HO}^\bullet$  radikala je SPLLET mehanizam, koji se takođe sastoji iz dva reakciona koraka. Prvi korak predstavlja deprotonovanje maltola, pri čemu nastaje anjon maltola. Parametar koji opisuje ovaj korak je  $\Delta_r H_{\text{PA}}$  vrednost (Jednačina 9). Drugi korak reakcije podrazumeva prenos elektrona sa anjona maltola na hidroksilni radikal, a termodinamičku povoljnost ovog koraka reakcije pokacuje  $\Delta_r H_{\text{ETE}}$  vrednost (Jednačina 10).



$$\Delta_r H_{\text{PA}} = H(\text{M-O}^-) + H(\text{HOH}) - H(\text{M-OH}) - H(\text{HO}^-) \quad (9)$$



$$\Delta_r H_{\text{ETE}} = H(\text{M-O}^\bullet) + H(\text{HO}^-) - H(\text{M-O}^-) - H(\text{HO}^\bullet) \quad (10)$$

## Materijal i metode rada

Optimizacije ravnotežnih geometrija svih reagujućih vrsta koje se pojavljaju u ispitivanim reakcionim mehanizmima, vršene su primenom teorije funkcionala gustine, DFT (Density Functional Theory). U tu svrhu korišćen je Gaussian 09W programski paket (Frisch et al., 2009.). Izračunavanja su vršena primenom M06-2X metode (Zhao and Truhlar, 2008.), u kombinaciji sa 6-311++G(d,p) bazisnim skupom. Proračuni su vršeni u dva rastvarača, i to u vodi i benzenu. Benzen je izabran kako bi se ispitali operativni reakcioni mehanički putevi u tipičnom nepolarnom okruženju. Voda je izabrana kako bi se ispitalo ponašanje sistema u ovom polarnom rastvaraču. U tu svrhu je kao solvatacioni model korišćen CPCM model (Cossi et al., 2003.). Sve reakcione entalpije definisane u prethodnim jednačinama određene su na temperaturi od 298,15 K. Solvatacione entalpije protona i elektrona uzete su iz literature (Marković et al., 2016).

### Rezultati istraživanja i diskusija

Molekul maltola ima samo jednu hidroksilnu grupu. Raskidanje O-H veze ove grupe nastaje stabilni radikal maltola. Operativni mehanizam po kom se ovaj proces dešava može biti utvrđen razmatranjem odgovarajućih termodinamočkih parametara. BDE, IP, PDE, PA i ETE vrednosti izračunate primenom Jednačina 1-5, i to u vodi i benzenu kao rastvaračima, date su u Tabeli 1.

Tabela 1. Termodinamički parametri mehanizama antioksidativne aktivnosti maltola (u  $\text{kJ mol}^{-1}$ )

Table 1. Thermodynamical parameters of antioxidative mechanisms of maltol (in  $\text{kJ mol}^{-1}$ )

	HAT	SET-PT		SPLET	
	BDE	IP	PDE	PA	ETE
Voda Water	362	557	-17	177	363
Benzen Benzene	372	709	86	461	334

Upoređujući prikazane vrednosti entalpija, vidi se da u vodi kao rastavraču najnižu vrednost ima PA, koja karakteriše prvi korak SPLET mehanizma. To znači da se u vodenoj sredini lako odvija disocijacija uz nastanak anjona kao intermedijerne vrste, koji je stabilizovan solvatacijom. Sa druge strane, upoređujući ETE vrednosti sa BDE vrednostima, može se zaključiti da je nastanak radikala maltola otpuštanjem elektrona iz anjona gotovo jednako energetski zahtevno kao i direktni nastanak radikala maltola. Stoga se prepostavlja da je u vodi dominantan mehanizam antiradikalског delovanja maltola SPLET. Sa druge strane, u benzenu najnižu vrednost predstavlja BDE, što implica da je u nepolarnim uslovima HAT najverovatniji mehanizam nastajanja radikala maltola. Zbog vrlo visokih IP vrednosti, SET-PT mehanizam se isključuje kao moguć mehanizam nastanka maltol-radikala u oba ispitivana rastavarača.

Tabela 2. Termodinamički parametri koji opisuju mogućnost deaktivacije hidroksilnog radikala maltolom (u  $\text{kJ mol}^{-1}$ )

Table 2. Thermodynamical parameters of scavenger activity of maltol toward hydroxyl radical (in  $\text{kJ mol}^{-1}$ )

	HAT	SET-PT		SPLET	
	$\Delta_f H_{\text{BDE}}$	$\Delta_f H_{\text{IP}}$	$\Delta_f H_{\text{PDE}}$	$\Delta_f H_{\text{PA}}$	$\Delta_f H_{\text{ETE}}$
Voda Water	-130	144	-274	-80	-49
Benzen Benzene	-118	264	-382	-6	-111

Mogućnost nekog antioksidanta da deluje kao hvatač slobodnih radikala može se utvrditi upoređivanjem vrednosti reakcionih entalpija. Ove vrednosti, izračunate primenom Jednačina 6-10, date su u Tabeli 2. Sve vrednosti entalpija određene su u vodi i benzenu kao rastvaračima. Najniže vrednosti i u vodi i u benzenu jesu  $\Delta_f H_{\text{BDE}}$ . To

ukazuje na činjenicu da je u oba ispitivana rastvarača operativni mehanizam deaktivacije hidroksilnog radikala maltolom HAT. Ipak, u oba pomenuta rastvarača su i  $\Delta_f H_{PA}$ , kao i  $\Delta_f H_{ETE}$  vrednosti takođe negativne, ali manje od  $\Delta_f H_{BDE}$  vrednosti. To govori da je deaktivacija HO<sup>•</sup> radikala moguća i praćenjem SPLET mehanizma. Dakle, reakcija deaktivacije hidroksilnog radikala maltolom se u obe sredine odvija praćenjem HAT i SPLET mehanizma paralelno. Uporedjivanjem  $\Delta_f H_{PA}$  vrednosti, može se primetiti da je prvi korak SPLET mehanizma povoljniji u vodi nego u benzenu. U prvom koraku SPLET mehanizma nastaje anjon maltola, koji je u vodi dodatno stabilizovan hidratacijom. Poredjenjem  $\Delta_f H_{ETE}$  vrednosti, može se uočiti da je drugi korak SPLET mehanizma povoljniji u benzenu nego u vodi, što se objašnjava tendencijom anjona maltola u nepolarnim uslovima da se transformiše u radikal otpuštanjem elektrona. Zbog pozitivnih  $\Delta_f H_{IP}$  vrednosti, koje karakterišu prvi korak SET-PT mehanizma, ovaj mehanizam se smatra nepovolnjim u oba rastvarača.

### Zaključak

U ovom radu su primenom M06-2X/6-311++G(d,p) teorijskog modela ispitani mogući mehanizmi nastanka stabilnog radikala maltola. Izračunavanja su vršena u vodi, kao najčešćem i tipičnom polarnom rastvaraču, i benzenu, kao napolarnom rastvaraču. Termodinamički parametri ukazuju na to da maltol u vodi najlakše gradi radikalsku formu praćenjem SPLET mehanizma. U nepolarnim uslovima, najpovoljni reakcioni put je HAT. Ispitivanjem mogućnosti maltola da deaktivira hidroksilni radikal, utvrđeno je da je u oba rastvarača najpovoljniji HAT reakcioni mehanizam. Reakcija se može desiti i po SPLET mehanizmu.

### Napomena

Istraživanja u ovom radu deo su projekata "Metode modeliranja na više skala sa primenama u biomedicini" (broj: 174028), i „Dinamika nelinearnih fizičkohemijskih i biohemijskih sistema sa modeliranjem i predviđanjem njihovih ponašanja pod neravnotežnim uslovima“ (broj: 172015), koje finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja.

### Literatura

- Amatori G.A., Fanelli M.F., Fusi L.G., Macedi M.M., Paoli R.P. (2012). Synthesis, basicity, structural characterization, and biochemical properties of two [(3-hydroxy-4-pyron-2-yl)methyl]amine derivatives showing antineoplastic features. *Journal of Organic Chemistry*. 77 (5) 2207–2218.
- Cossi M., Rega N., Scalmani G., Barone V. (2003.) Energies, structures, and electronic properties of molecules in solution with the C-PCM solvation model. *Journal of Computational Chemistry*. 24 (6) 669–681.
- Frisch M. J., Trucks G. W., Schlegel H. B., et al. (2009). Gaussian 09, revision A.1-SMP. Wallingford, CT: Gaussian, Inc.

- Kaneko N., Yasui H., Takada J., Suzuki K., Sakurai H. (2004). Orally administrated aluminum-maltolate complex enhances oxidative stress in the organs of mice. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 98 (12) 2022–2031.
- Marković Z., Tošović J., Milenković D., Marković S. (2016) Revisiting the solvation enthalpies and free energies of the proton and electron in various solvents. *Computational and Theoretical Chemistry*. 1077(0):11-17.
- Reffitt D.M., Burden T.J., Seed P.T., Wood J., Thompson R.P., Powell J.J. (2000.). Assessment of iron absorption from ferric trimaltol. *Annals of Clinical Biochemistry*. 37 (4) 457–466.
- Zhao Y., Truhlar D.G. (2008). The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other functionals. *Theoretical Chemistry Accounts*. 120 (1-3) 215-241.

## INVESTIGATIONS OF MECHANISMS OF ANTIOXIDATIVE ACTIVITY OF MALTOL WITH HYDROXYL RADICAL

*Zoran Marković<sup>1,3</sup>, Svetlana Jeremić<sup>1</sup>, Dženana Ferizović<sup>1</sup>, Ana Amić<sup>2</sup>, Jelena Dorović<sup>3</sup>*

### Abstract

In this paper, the operative mechanisms of the antioxidant activity of maltol are determined by using the DFT method. Calculations were carried out in water and benzene. Thermodynamically the most favorable reaction pathways for inactivation of hydroxyl radical by maltol were also determined. It has been found that maltol can express its antioxidant activity either by homolithic cleavage of the hydroxyl bond, or by the formation of anionic moiety in the first reaction step, and then by the transformation of the anion to the radical form. It is shown that in water the operative mechanism of antioxidative action of maltol is over the anionic species as an intermediate. In benzene, as a non-polar medium, the most favorable reaction path follows the homolithic cleavage of the hydroxyl bond.

**Key words:** maltol, hydroxyl radical, antioxidant activity, DFT, enthalpy

---

<sup>1</sup>State University of Novi Pazar, Vuka Karadžića bb, 36300 Novi Pazar, Republic of Serbia ([zmarkovic@np.ac.rs](mailto:zmarkovic@np.ac.rs))

<sup>2</sup>Department of Chemistry, Josip Juraj Strossmayer University, Osijek, Croatia

<sup>3</sup>Bioengineering Research and Development Center - BioIRC, 34000 Kragujevac, Republic of Serbia

## PRANJE I DEZINFEKCIJA VODOVODNE MREŽE NA RELACIJI UŠĆE ZEMUN-PIRAMIDA NOVI BEOGRAD

*Tomislav Trišović<sup>1</sup>, Lidija Rafailović<sup>2</sup>, Branimir Grgur<sup>3</sup>, Svetomir Milojević<sup>4</sup>,  
Milan Nikolić<sup>5</sup>, Trišović Zagđa<sup>6</sup>*

**Izvod:** Globalno zagrevanje i porast prosečne temperature doveli su do pojave cijanobakterija posebno u stajaćim vodama. Posebnu opasnost za zdravlje su toksini koje ove bakterije proizvode usled neadakvatnog tretmana. Razni toksini mogu izazvati osip na koži, mogu dovesti do raka jetre, a neki od njih su jaki neurotoksini. Iz ovih razloga neophodno je da se cijanobakterije uklone pre nego dodju u pogon finalne prerade vode. Rezultati laboratorijskih ispitivanja na cijanobakterije posle tretmana cevovoda sprovedeni u Zavodu za javno zdravlje Srbije i laboratorija JKP Beogradski vodovod pokazali su posle izvršenih procesa čišćenja, pranja i dezinfekcije znacajno smanjenje broja cijanobakterija. Pokazano je da je KMnO<sub>4</sub> efikasno sredstvo za suzbijanje cijanobakterija u koncentraciji do 25 mg/l.

**Ključne reči:** cijano bakterije, toksini, voda, tretman, KMnO<sub>4</sub>

### Uvod

Cijanobakterije su gram-negativne bakterije koje imaju sposobnost fotosinteze kao i biljke. Nazivaju ih i modrozelene alge zbog nepoznavanja ćeliske strukture i sličnosti s biljkama. Poseduju sastav unutrašnjih membrana - tilakoidi. Na tilakoidima se nalazi zeleni pigment hlorofil koji Sunčevu svetlost prevodi u hemijsku energiju ugljovodonika uz oslobođanje kiseonika procesom fotosinteze. Na površini mnogih cijanobakterija nalaze se sluzavi omotači, koji štite ćeliju od isušivanja, a kod nekih predstavnika imaju ulogu u puzećem kretanju. Ćelijski zid je višeslojan i sastoјi se iz 4 sloja (L1, L2, L3 i L4). Sloj L1 je najbliži citoplazmatskoj membrani. Na njega se naslanja sloj L2 u kome se nalazi murein. U sastavu L3 i L4 sloja nalaze se ugljeni hidrati. Cijanobakterije ili prokariotske modrozelene alge imaju predstavnike čije je vegetativno telo – talus. Talusi mogu biti jednoćelijski ili kolonijalni. Ispod ćelijskog zida nalazi se – protoplast sa specifičnim gasnim vakuolama. One su ispunjene gasom, azotom, koji se u njima zadržava nakon uginuća ćelija. Kod nekih vrsta su ove vakuole prisutne tokom celog života, kod nekih se javljaju povremeno, a neke vrste ih uopšte nemaju [1,2].

Većina cijanobakterija su fotoautotrofi. Za život im je potrebna voda, ugljen dioksid, neorganska materija i svetlost. Osnovni način dobivanja energije je fotosinteza.

<sup>1</sup>Institut tehničkih nauka SANU, K. Mihailova 35/4, 11000 Beograd, Srbija  
(tomislav.trisovic@itn.sanu.ac.rs)

<sup>2</sup>CEST, Viktor-Kaplan-Str. 2, A-2700 Wiener Neustadt,Austrija

<sup>3</sup>Tehnološko-metaluruški fakultet, Karnegijeva 4, 11 000 Beograd, Srbija

<sup>4</sup>Fakultet tehničkih nauka, K. Miloša 7, 38220 Kosovska Mitrovica

<sup>5</sup>Agronomski fakultet, Cara Dušana 34,32 000 Čačak, Srbija

<sup>6</sup>Mašinski fakultet, Kraljice Marije 16, 11 000 Beograd, Srbija

U prirodi neke vrste mogu preživjeti dug period u potpunom mraku. Nadalje, neke cijanobakterije pokazuju sposobnost heterotrofne prehrane. One su prve koje naseljavaju kamenje i tlo. Adaptacije, kao pigmenti za upijanje ultraljubičastih zraka, povećava njihov fitnes u izloženom kopnenom okruženju. Većina vrsta je sposobna da živi u tlu i kopnenim staništima, gde su bitni u kruženju nutrijenata [1, 2]. Cijanobakterije imaju veliku biološku raznolikost od oko 2000 vrsta svrstano u 150 rodova. Potpunu reviziju klasifikacije cijanobakterija (vrste, rodovi, porodice, redovi) su napravljeni, a ona je rezultat najnovijih saznanja filogenetičkih analiza koje se temelje na podacima molekularnih sekvenci pojedinih vrsta. Prema toj klasifikaciji cijanobakterije su svrstane u 6 rodova: I. Gleobacterales; II. Synechococcales; III. Spirulinales; IV. Chroococcales; V. Pleurocapsales; VI. Oscillatoriaceae; VII. Chroococcidiopsidae.

Prisustvo cijanobakterija u vodi za piće značajno je prvenstveno zbog intracelularnih toksina koje one proizvode. Ovi toksini pripadaju trima vrstama: hepatotoksini, koji oštećuju ćelije jetre; neurotoksini, koji oštećuju nervne ćelije, i cilindrospermopsin, koji može da izazove oštećenja jetre, bubrega, gastrointestinalnog trakta i krvnih sudova. Unošenjem toksina koje luče cijanobakterije nije smrtno opasno, ali konzumiranje vode koja sadrži ove toksine može da izazove gastroenteritis. Neprijatan ukus i miris vode može da nastane usled jedinjenja koja stvaraju određene vrste algi, cijanobakterije (modrozelene alge), bakterije i ponekad protozoe[3].

Također zapanjujuće je što mogu preživjeti ekstremno visoke i niske temperature. Naseljavaju vruće izvore, planinske tokove, arktička i antarktička jezera, sneg i led. Cijanobakterije stvaraju simbiotske asocijacije sa biljkama i životinjama.

Nekoliko hemijskih jedinjenja je testirano za upotrebu kao algicidi.

Najčešće je bakar sulfat ( $\text{CuSO}_4$ ) primjenjen algicid jer je ekonomičan, efikasan i lak za upotrebu. Međutim, dodavanje bakra jezerima i akumulacijama izaziva zabrinutost zbog akumulacije teških metala i povećanje toksičnosti. Potraga za alternativama algicida na bazi bakra (bakar citrat, bakar elolat) je neophodno jer je malo verovatno da će doći do opadanja cijanobakterija s obzirom na buduću praksu menjanja klime i korištenja zemljišta [3].

Vodonik peroksid ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) je ekološki prihvatljiv oksidant koji se razlaže na vodu i kiseonik bez pojave drugih hemikalija. Smatra se da  $\text{H}_2\text{O}_2$  može biti potencijalni algicid u rezervoarima, može napasti ćelije cijanobakterija i suzbiti reakciju fotosinteze inhibiranjem fotosintetskog elektrona - transfer. Konvencionalne tehnologije za obradu vode uključujući koagulacija, flokulacija i filtracija su efikasni za uklanjanje intracelularnih toksina sa intaktnim ćelijama ne uzrokujući dodatno oslobođanje intracelularnih toksina. Nasuprot tome, ovi procesi tretmana su neefikasni u uklanjanju rastvorenih toksina, ukusa, nus proizvoda i mirisa. Uobičajena praksa je dodavanje oksidanata pre konvencionalnog tretmansa za poboljšanje koagulacije ili za oksidaciju gvožđa (Fe) i mangana (Mn). Uobičajeni oksidanti pre tretmana uključuju hlor, ozon i kalijum permanganat ( $\text{KMnO}_4$ ) [1].

Kalijum permanganat  $\text{KMnO}_4$  se primjenjuje za poboljšanje ukusa i mirisa vode, uklanjanje boje, gvožđa i mangana, sprečava biološki rast i ne stvara toksične nus produkte. Kalijum permanganat je efikasan za uklanjanje ćelija cijanobakterija bez oslobođanja intracelularnih toksina, efikasan je u uklanjanju mikrocistina i do 95%

anatoksin takođe uklanja pri koncentraciji od 1,5 mg/l dok je slabo reaktivan sa cilindrospermopsinom i saksitoksinom.

Ozon se takođe koristi za uklanjanje cijanobakterija ali je njegovo vreme poluraspada veoma kratko. Na primer u opterećenim vodama nije bilo zaostalog ozona u prvih 30 s ako je početna koncentracija ozona bila 2 mg/l. Čak i za veće doze (4 i 6 mg L<sub>1</sub>), ozon je brzo potrošen u prvih 30 sekundi, ali mnogo sporije tokom sledećeg vremena reakcije. Procenat intaktnih ćelija ostao je oko 50%, ako je početna doza ozona bila 2 mg/l nakon 5 min kontaktnog vremena. Koncentracije 4 i 6 mg/l ozona rezultirale su gubitkom membrane u 70% i 90% cijanobakterijskih ćelija.

Upotrebo kalijum permanganata procenat intaktnih ćelija se smanjio na 74% kada upotrebo 5 mg/l KMnO<sub>4</sub> nakon 6 h tretmana. Upotrebo koncentracije KMnO<sub>4</sub> (10 mg/l) rezultirao je većim gubitkom integriteta membrane blizu 100% nakon 6 h tretmana. Gustine ćelija su ostale prilično konstantne nakon 6 h tretmana koristeći početne doze KMnO<sub>4</sub> od 1, 3 i 5 mg/l, dok oko 15% smanjenja gustine ćelija je evidentirano u 10 mg/l KMnO<sub>4</sub> [4]. Sredstva za dezinfekciju i oksidaciju kao što su natrijum hipohlorit i hlor dioksid u koncentraciji i do 50 mg/l su uspešna u procesima uklanjanja bakterije Pseudomonas aeruginosa u hidrantskom cevovodu, dok su najbolji rezultati postignuti sa vodonik peroksidom i koloidnim srebrom [5].

### Materijal i metode rada

Tretman cevovoda vršen je kalijum permanganatom i to od Ušća u Zemunu do Piramide na Novom Beogradu. Koncentracija permanganata u cevovodu bila je 25 mg/l a kontaktno vreme tj vreme zadržavanja vode sa visokom koncentracijom permanganata je bilo 24h. Zapremina cevovda je iznosila oko 4000 m<sup>3</sup>.

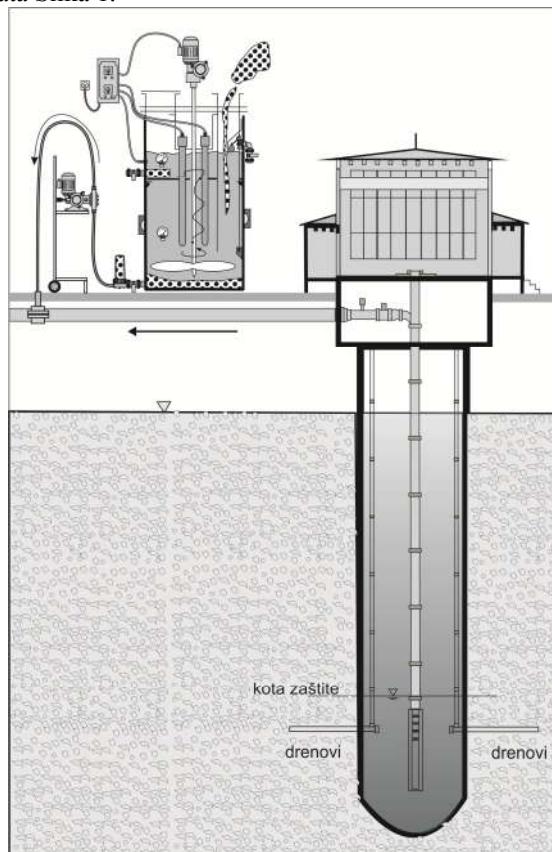
### Rezultati istraživanja i diskusija

Cevovodi JKP Beogradski vodovod i kanalizacija su stari preko 60 godina pa su se u na unutrašnjoj površini cevovda formirale naslage jedinjenja, kalcijuma, magnezijuma, gvožđa ili čestica mangana. Tako formirani podsloj na unutrašnjosti cevovoda je idealna podloga za razvoj biofilma. Bakterije, kvasci i plesni prianjanju za ove čestice i zatim formiraju biofilm - sluzavi sloj po unutrašnjosti cevovoda. Ovo dovodi do nastanka okruženja koje je idealno za razvoj mikroorganizama. Konstrukcija vodovodnih instalacija je takođe čest uzrok nastanka biofilma. Na mnogim cevovodima često viđamo preduge cevovode sa nepotrebним krivinama, slepim zavrsecima i zatvorenim cevima. Svaka krivina i svaka zatvorena cev predstavljaju rizik od stajaće vode koja dovodi do stvaranja naslaga materijala, čime počinje formiranje biofilma.

S obzirom da postoje biološki filtri na pogonu za preradu sirove vode „Bežanijska Kosa“ nije preporučljivo da se radi kontinualna dezinfekcija vode na mreži primarnih cevovoda tj cevovoda koji transportuju sirovu vodu od bunara do pogona za preradu. Takođe cevovodi nisu ni povremeno čišćeni ni prani od šesdesetih godina prošlog veka. Bunari koji napajaju cevovod su tipa reni bunara dubine do 30 m sa izdašnošću od 20 do 150 l/s. Zbog starenja bunara njihova izdašnost je smanjena od 20 do 50% tako da je smanjena srednja brzina strujanja kroz cevovod ispod 0,2 m/s. Zbog smanjene brzine

strujanja u cevovodu dolazi do taloženja finih cestica na dno cevovoda što veoma pogoduje stvaranju bakterijskih kultura. Za čišćenje cevovda kako primarnih tako i sekundarnih, postoji nekoliko mogućnosti. Hidromehaničko čišćenje i pranje cevovda, hemijski tretman cevovoda ili instalacija novog cevovoda.

Služba sanitарне kontrole JKP Beogradski vodovod i kanalizacija svakodnevo meri brojnost cijanobakterija po kvadratnom centimetru u uzorku od jedan litar. Interna odluka stručnog tima je da se cevovod tretira ukoliko je brojnost cijanobakterija na primarnom cevovodu veći od 500 jedinki. S obzirom da je 10. Februara 2019 godine brojnost bakterija premašila kritični nivo odlučeno je da se 12.02.2019 godine radi tretman cevovoda kalijum permanganatom i to od Ušća u Zemunu do Piramide na N Beogradu. Da bi se ovo ostvarilo napravljen je uređaj za kontinualno rastvaranje kalijum permanganata Slika 1.



Slika 1. Uređaj za kontinualno rastvaranje kalijum permanganata  
Figure 1. Device for continual dissolution of potassium permanganate.

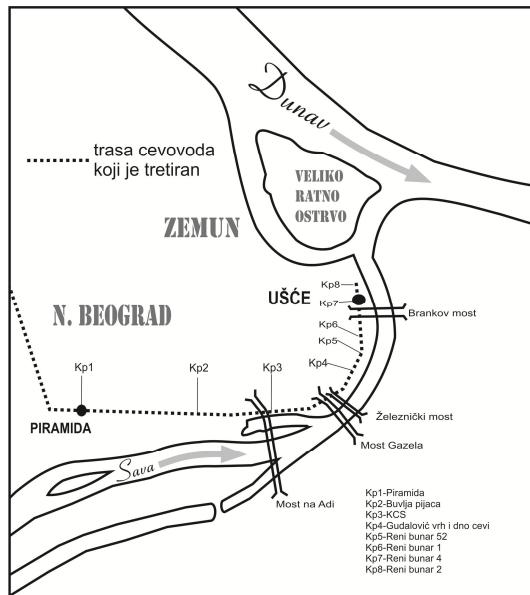
Princip rada uređaja za kontinualno rastvaranje i doziranje kalijum permanganata se sastoji od jedne cilindrične posude zapremine 1700 l u čijoj je osi instalirana mešalica

koju pokreće elektromotor sa reduktorom. Brzina obrtanja mešalice je 30 obrtaja u minuti. Na sredini posude nalazi se pregradno dno koje ima zadatku da umiri vrtložno strujanje nastalo od mešalice. Pored samog vratila mešalice nalaze se stapićasti grejači koji zagrevaju elektolit u cilju konstantne temperature kako bi se na taj način obezbedila konstantna koncentracija permanganata u elektolitu. Rastvorljivost premanganata u vodi je mala i opada sa padom temperature. Rastvorljivost permanganata je 64 g/l na temperaturi od 200° C dok ne 43 g/l na temperaturi od 100° C. Radom grejača upravlja termostat koji meri temperaturu u samoj posudi za rastvaranje i uključuje grejače ako je temperatura ispod 200° C a isključuje ih po dostizanju temperature elektolita od 220° C. Vrednost temperature se poslatra i na digitalnom transmitemu. Radi paralelne kontrole temperature instalirana su i dva analogna kontaktne termometra na samom telu posude za rastvaranje. Doziranje zrnastih kristala kalijum permanganata ostvaruje se tako da sipanjem kristalni permanganat dospeva na dno posude preko pomoćne dozirne cevi koja ga usmerava na samo dno. Doziranje vode ostvaruje se automatski preko ventil plovka na taj način da ventil plovak upušta tačno onoliko vode koliko elektolita iz posude usisa dozirna pumpa. Sveža voda koja ulazi u posudu ulazi na vrh posude i sliva se niz grejače tako da je elektolit u gornjoj mirnoj zoni nezasićen jer se razblažuje sa svežom vodom dok je odlaskom ka dnu došlo do njegovog zasićenja usled intenzivnog mešanja vode i preškastog kalijum permanaganata.

Doziranje dozirnim pumpama kalijum permanganata je ostvareno intenzitetom od 270 l/h zasićenog rastvora (proizvod rastvorljivosti na 10°C je 43 g/l) kalijum permanganata pri protoku sirove vode kroz cevovod od 150 l/s u trajanju od 6h. Koncentracija permanganata u cevovodu bila je 25 mg/l a kontaktno vreme tj vreme zadržavanja vode sa visokom koncentracijom permanganata je bilo 24h. Zapremina cevovoda je iznosila oko 4000 m<sup>3</sup> što je zapremina cevovoda fi 1000 od Ušća do Piramide na N. Beogradu.

Posle pet časova doziranja i detekcije kalijum permanganata u blizini Piramide obustavljeno je dalje doziranje. U cevovodu je bilo 25 mg/l permanganata i on je u njemu zadržan 24 h. Posle tog kontaktog vremena od 24 h 4 000 kubnih metara vode je ispušteno u kanalizaciju i sa još dve zapremine (8000 m<sup>3</sup>) cevovod je ispran i pušten u funkciju.

Služba sanitarnе kontrole je posle 10 sati od ispiranja cevovoda uzorkovala i pratila broj bakterijskih kultura duž cevovda. Rezultati na kontrolnim tačkama (Slika 2) pokazuju da je došlo do znatnog smanjenja broja cijanobakterija i da je njihova brijanost duž cevovoda od 10 do 80 jedinki po centimetru kvadratnom i litru. Ovo je rezultat koji zadovoljava normative kvalitet za sirovu vodu na primarnoj grani cevovda.



Slika 2. Plan grada sa trasom cevovoda koja je tretirana kalijum permanganatom i prikazom kontrolnih tačaka Kp sa kojih se uzimaju uzorci za analizu na cijanobakterije.

*Figure 2. City plan showing treated pipeline system by use of potassium permanganate and control location indicating positions where the samples for microbiological analysis were taken.*

### Zaključak

Na osnovu prikazanih rezultata može se zaključiti da:

- Uredaj za kontinualno rastvaranje kalijum permanganata je funkcionalan i kontinualno daje konstantnu koncentraciju kalijum permanaganata (zasićen rastvor) koji je funkcija temperature.
- Kalijum permanganat u koncentraciji 25 mg/l kao sredstvo za dezinfekciju i oksidaciju cijanobakterija je za red veličine smanjilo koncentraciju cijanobakterija u cevodu i to do 600 na oko 40 jedinki po kvadratnom centimetru i litru u vremenskom trajanju od 24h.
- Koncentracija permanganata je pala sa 25 na oko 10 mg/l posle 24 h što ukazuje na organsko opterećenje sirove vode.
- Da bi se postigli bolji rezultati neophodno je da se CT (koncentracija oksidansa puta vreme delovanja) faktor poveća u cilju smanjenja ili potpunog uništavanja cijanobakterija u cevovodu.

### Napomena

Istraživanja u ovom radu finansirana su sredstvima JKP Beogradski vodovod i kanalizacija.

## Literatura

- Pivokonska L., Baresova M., Henderson R.K., Zamyadi A., Janda V., Naceradska J., Pivokonsky M. (2017) The impact of pre-oxidation with potassium permanganate on cyanobacterial organic matter removal by coagulation, Water Research 114, 42-49.
- Fan J., Ho L., Hobson P., Brookes J. (2013) Evaluating the effectiveness of copper sulphate, chlorine, potassium permanganate, hydrogen peroxide and ozone on cyanobacterial cell integrity, Water Research 47, 5153-5164
- N. Veljković (2010) Unapredjenje kvaliteta vode kod lokalnih vodovoda i kanalisanje manjih mesta u Srbiji, Poglavlje – Upravljanje rizicima u lokalnim vodovodnim sistemima, Udruženje za tehnologiju vode i sanitarno inženjerstvo, 38-57.
- Australian Goverment, National Health and Medical Research Council (2004). Australian drinking water guidelines
- Trišović T., Milojević S., Jugović B.Z., Nikolić M., Trišović Z. (2018) Pranje i dezinfekcija vodovdne mreže na poligonu nacionalne vozačke akademije NAVAK u Subotiću, XXIII savetovanje o biotehnologiji, 511-517.

## CLEANING AND DESINFECTION A PART OF WATER SUPPLY SYSTEM UŠĆE ZEMUN-PIRAMIDA NEW BELGRADE

*Tomislav Trišović<sup>1</sup>, Lidija Rafailović<sup>2</sup>, Branimir Grgur<sup>3</sup>, Svetomir Milojević<sup>4</sup>, Milan Nikolić<sup>5</sup>, Trišović Zaga<sup>6</sup>*

### Abstract

It was noticed worldwide that nutrient enrichment and climatic change as global warming and hydrologic changes with periods of more intense droughts strongly affect cyanobacterial growth. Toxigenic cyanobacteria that can produce a wide range of cyanotoxins (hepato-, neuro-, dermatotoxins) are one of the major health risks humans and animals are exposed to via drinking water. Therefore, it is important to remove the cyanobacteria before the water comes to a plant for a final treatment. Results of laboratory examination carried out by National Public Health Institution of Serbia and Belgrade Waterworks and Sewerage shows significant reduction of number of cyanobacteria after our treatment with KMnO<sub>4</sub>. The efficiency of the treatment is the highest when concentration of KMnO<sub>4</sub> was 25 mg/l.

**Key words:** cyanobacteria, toxins, water, treatment, KMnO<sub>4</sub>



## HIPERDEZINFEKCIJA BUNARA ZA VODOSNADBEVANJE TIPA RENI

*Tomislav Trišović<sup>1</sup>, Branimir Grgur<sup>2</sup>, Lidija Rafailović<sup>3</sup>, Milica Popović<sup>2</sup>,  
Trišović Zaga<sup>4</sup>*

**Izvod:** U radu je prikazan postupak za čišćenje i dezinfekciju vode u bunarima velikih kapaciteta Beogradskog vodovoda. Tipičan primer bunara velikih kapaciteta je Reni bunar 2 i 4 koji su locirani na 50m od leve obale Save u neposrednoj blizini ušća Save u Dunav. Bunari su dubine oko 30m, prečnika 4 m i sadrže oko 300 m<sup>3</sup> vode i sa horizontalnim drenovima dužine 50m. Prezentovan je jednostavan i jeftin način za hiperdezinfekciju bunarskog dna i bunarske vertikale. Takođe je pokušano da se tretiraju i unutrašnjost drenova koji napajaju ovakve bunare.

**Ključne reči:** bunari, voda, tretman, dezinfekcija, KMnO<sub>4</sub>

### Uvod

Rast potrošnje sredstava za zaštitu bilja, veštačkih đubriva, ne prečišćene fekalne vode gradova i sela umnogome utiču na pogoršanje kvaliteti površinskih rečnih i podzemnjih voda. Septičke jame, poljoprivredna zemljišta, blizina industrije, farme i druga otpadne materije ispuštaju se u tlo, a iz tog istog tla crpi se voda iz bunara.

Voda iz bunara često može biti zagađena i puna neželjenih supstanci:

- različiti mikroorganizmi štetni po ljudsko zdravlje su česta pojava u bunarskoj vodi,
- visoka koncentracija amonijaka, nitrita i nitrata u vodi,
- povišena količina gvožđa i mangana u vodi,
- prisutnost pesticida i herbicida u vodi,
- visoka tvrdoća podzemnih voda.

Tipična oboljenja, koja se prenose vodom, a izazivaju mikroorganizmi koji vode poreklo iz gastrointestinalnog trakta (želudac, tanko crevo i debelo crevo) ljudi, ali i domaćih životinja u uslovima kad otpadne materije prodiru u podzemne vode izvorišta vode za piće. U bakterije koje se prenose na ovaj način spadaju *Salmonella* spp., *Shigella* spp., enterovirulentne *Escherichia coli*, *Vibrio cholera*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni* i *C. coli*. Najviše su pod rizikom su: stari, veoma mladi, osobe s opekotinama, osobe koje su bile podvrgnute hirurškoj intervenciji ili one koje su teško povredene, kao i osobe sa ozbiljnim oštećenjem imuniteta organizma. Ukoliko ovakve osobe koriste vodu za piće ili kupanje koja je bakteriološki neispravna (odnosno, sadrži veliki broj oportunističkih patogena) kod njih se mogu javiti infekcije kože, sluzokože

<sup>1</sup>Institut tehničkih nauka SANU, K. Mihailova 35/4, 11000 Beograd, Srbija  
(tomislav.trisovic@itn.sanu.ac.rs)

<sup>2</sup>Tehnološko-metalluruški fakultet, Karnegijeva 4, 11 000 Beograd, Srbija

<sup>3</sup>CEST, Viktor-Kaplan-Str. 2, A-2700 Wiener Neustadt,Austrija

<sup>4</sup>Mašinski fakultet, Kraljice Marije 16, 11 000 Beograd, Srbija

oka, uha, grla i nosa. Primeri ovakvih oportunističkih bakterija su *Pseudomonas aeruginosa* i *Klebsiella* sp.

Cijanobakterije nastanjuju sve prirodne vode, a problem predstavljaju jedino onda kada ih ima u velikom broju (cvetovima). U uslovima eutrofikacije povećava se i cvetanje cijanobakterija. Prisustvo cijanobakterija u vodi za piće značajno je prvenstveno zbog intracelularnih toksina koje one proizvode. Ovi toksini pripadaju trima vrstama: hepatotoksini, koji oštećuju ćelije jetre; neurotoksini, koji oštećuju nervne ćelije, i cilindrospermopsin, koji može da izazove oštećenja jetre, bubrega, gastrointestinalnog trakta i krvnih sudova. Unošenjem toksina koje luče cijanobakterije nije smrtno opasno, ali konzumiranje vode koja sadrži ove toksine može da izazove gastroenteritis. Neprijatan ukus i miris vode može da nastane usled jedinjenja koja stvaraju odredene vrste algi, cijanobakterije (modrozeleni algi), bakterije i ponekad protozoe[1,2].

Uzimajući u obzir gore navedeno dezinfekcija vode i uklanjanje biofilma na površinama okvašeni vodom su osnovni uslov bakteriološke ispravnosti vode. Prilikom dodavanja dezinfekcionog sredstva u vodu određena količina dezinfekcijskog sredstva se troši na oksidaciju organskih jedinjenja prisutnih u svakoj vodi (uključujući ovde i mikroorganizme), oksidaciju gvožđa i mangana (prisutne u nekim vodama), reakcije sa amonijačnim jedinjenjima (npr. amonijak). Svakako treba uzeti u obzir i činjenicu da čak i ista voda, ali u različitim prilikama (npr. pre i posle padavina) i različitim godišnjim dobima (uticaj spoljne temperature), ne troši istu količinu hlornog preparata.

Hiperhlorisanje (oksidacija) obavlja se najčešće kod veoma opterećenih voda spremljene u najrazličitije rezervoare. Obavlja se na vodama koje se prvi put (ili nakon dužeg nekorištenja) koriste ili postoji sumnja na biološko ili mikrobiološko zagađenje. Svrha je sprečavanje naknadnog zagađenja vode od zagađenog suda u kojem se nalazi. U takve posude za vodu se dozira 10 puta veća koncentracija hlora nego što je dozvoljeno u vodi za piće (100 mg/l ili 100 g/kubnom metru). Ovako dezinfikovana voda ostavi se u posudi 24 h i nakon tog vremena pre korištenja obvezno se mora obaviti dehlorisanje vode. Dehlorisanje većih količina vode najbolje je obaviti propuštanjem vode kroz filtre s aktivnim ugljom, a dehlorisanje manjih količina vode obavljamo neutralizacijom sa natrijum tiosulfatom u zrncima ili još jednostavnije sa tabletama vitamina C (askorbinska kiselina).

Hiperhlorisanje se može se obaviti i kod bunara koji nisu duže vremena korišćeni. Prvo se iscrpi najmanje tri zapremine vode iz bunara i mlazom čiste vode se isperu njegovi zidovi. Tada se izračuna zapremina vode u bunaru i obavi hiperhlorisanje. Voda se ne sme koristiti 24 sata i potom je neophodno obaviti dehlorisanje. Povremena dezinfekcija bunara nije efikasna. Razlog tome je što se voda u podzemlju kreće od nekoliko metara do kilometar na dan u zavisnosti od geološkog sastava tla kroz koji protiče. To znači ako je voda danas dezinfikovana, ta se ista voda sutra nalazi izvan bunara, a u bunar je pristigla nova, nedezinfikovana voda. Zbog toga je važno, ukoliko ne postoji mogućnost izgradnje kućnog vodovoda s rezervoarom, pokušati bunarsku vodu hlorisati što redovnije.

Dezinfekcija vodozahvata najčešće se vrši ili uz pomoć natrijum hipohlorita ili pomoću kalijum permanganata [3]. Prva metoda je poželjnija, jer je kalijum permanganat teže pronaći u trgovinama, a njegova cena je veća. S druge strane,

permanganat je manje toksičan za ljude, zbog toga će za brzi tretman biti bolji od natrijum hipohlorita.

Unutar bunarske vertikale, posebno ako je od betona povećane hrapavosti, ako je temperatura vode iznad 200C, može doći do stvaranja biofilma što će kao posledicu imati bakteriološki neispravnu vodu u bunaru. Potencijalni uzroci su još i prisustvo organskih materija, prisustvo jedinjenja fosfora, azota i kiseonika. Prvo se na unutrašnjoj površini zida bunara formiraju naslage jedinjenja, kalcijuma, magnezijuma, gvožđa ili čestica mangana. Tako formirani podsloj je idealna podloga za razvoj biofilma. Bakterije, kvasci i plesni prijanju za ove čestice i zatim formiraju biofilm - sluzavi sloj po unutrašnjosti bunarske vertikale. Ovo dovodi do nastanka okruženja koje je idealno za razvoj mikroorganizama i cijanobakterija.

Zagadeni cevovodi i bunari se mogu očistiti u tri koraka [3]:

1. Kiselo – bazno pranje – koristiti se limunsku kiselina u 1-2 procentnom rastvoru, a potom natrijum hidroksid i do 5%

2. Razlaganje biofilma tretmanom sa jakim oksidansima. Ovo zahteva visoku dozu permanganata, hipohlorita, hidrogen peroksida (100 do 300 ppm po litru), hlor dioksida ili formaldehida.

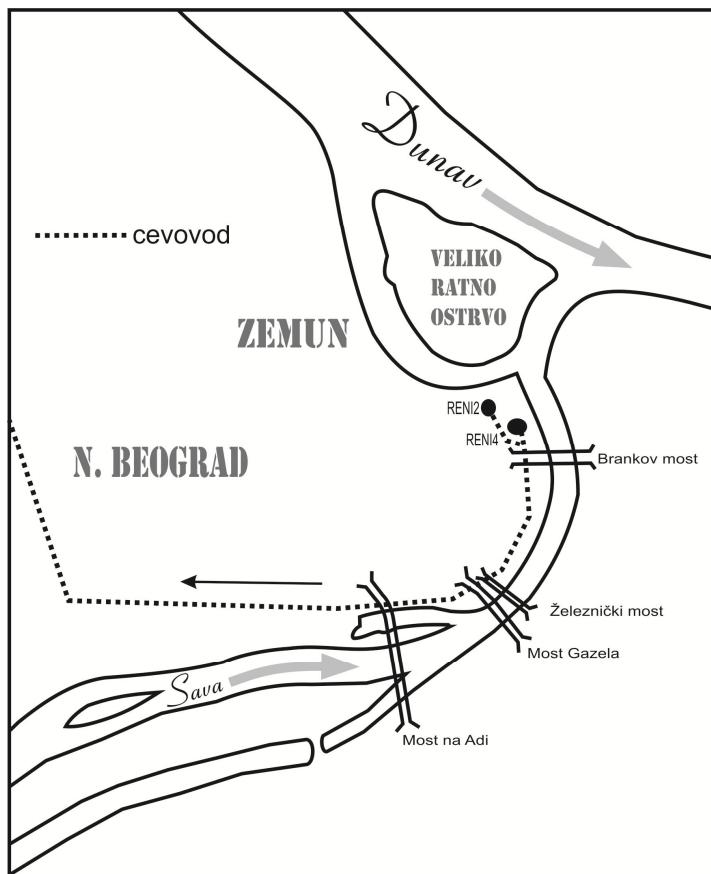
3. Instalacija uređaja za kontinualnu dezinfekciju kao preventive ponovnom stvaranju biofilma. Neophodno konstantno pratiti koncentraciju rezidualnog dezinficijensa a takodje i povremeno sa ručnim testerima.

### Materijal i metode rada

Beogradski vodovod osnovan je pre 115 godina i tokom svog razvoja neprestano je povećavao kapacitete prateći demografski industrijski razvoj grada. U ovom periodu broj Beogradjana porastao je 25 puta a količina proizvedene vode 110 puta. Trenutno se oko polovine snabdevanja vodom ostvaruje preko reni-bunara, dakle iz podzemne vode, a drugu polovicu iz površinske. Hiperdezinfekcija bunarskog dna i bunarske vertikale od velikog je značaja za pravilno održavanje sistema. Inovativni načini dezinfekcije čak i bunara čija je dubina oko 30 m prikazani su u ovom radu i detaljno prikazani u narednom poglavljju.

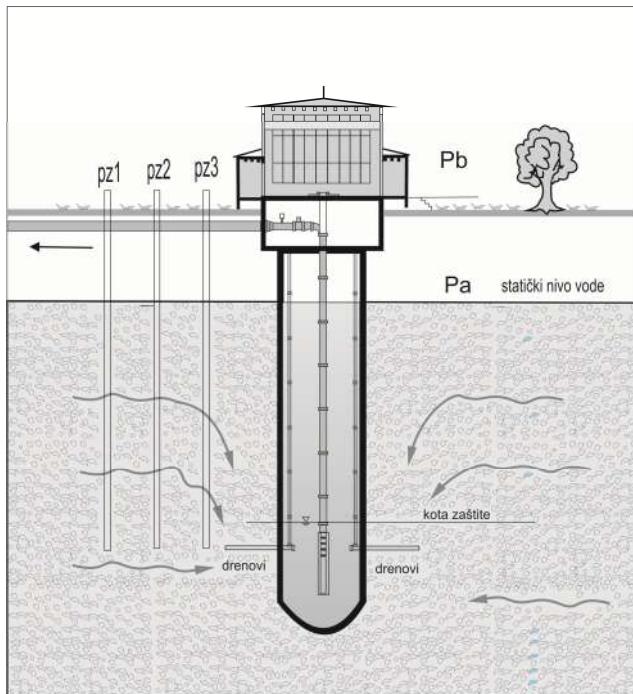
### Rezultati istraživanja i diskusija

Beograd ima oko 100 reni-bunara, od kojih je 75 u funkciji. Zbog starenja reni-bunara i njihovog neobnavljanja, Beograd svake godine gubi 150-200 litara u sekundi izvorske odnosno podzemne vode. Bunari s vremenom daju sve manje i manje vode jer dolazi do zagušenja gvozdenih drenova. Reni bunari 2 i 4 se nalaze na levoj obali Save a par stotina metara pre ušća Save u Dunav Slika 1.



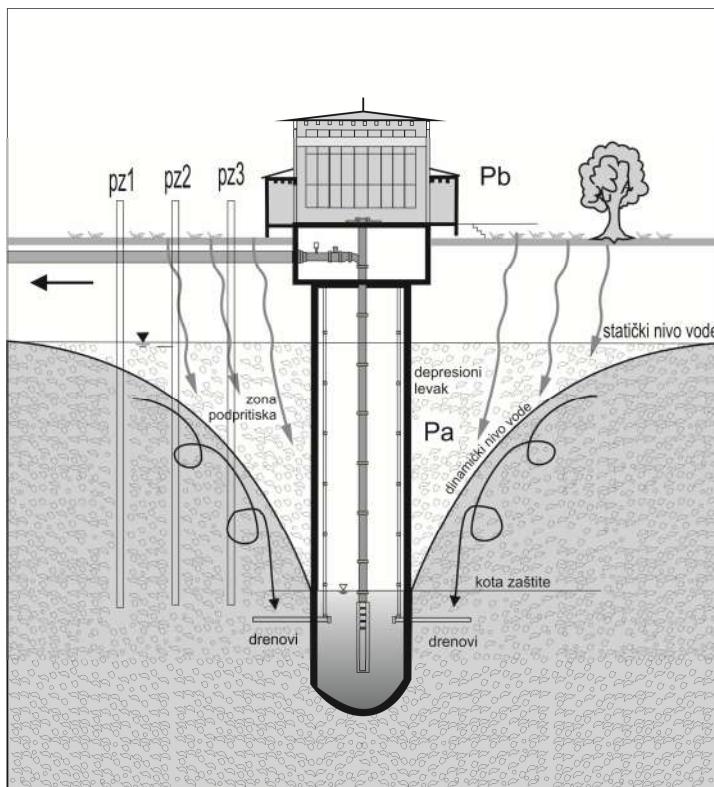
Slika 1. Geografska lokacija Reni bunara 2 i 4.  
*Figure 1. Geographical locations of Reni wells 2 and 4.*

Bakterioloske analize koje radi Zavod za javno zdravlje Beograda (ZZJB) pokazuju da voda u bunaru nije odgovarajućeg kvaliteta odnosno brojnost cijanobakterija je povećana. Razlog pojave cijanobakterija mogu biti: zbog starosti bunara i nepravilne eksploatacije, nepoštovanja zona sanitарне zaštite oko bunara, sekundarnog zagađenja u samoj bunarskoj vertikali i dr.



Slika 2. Pravilna eksploracija bunara.  
Figure. Appropriate exploration of the wells.

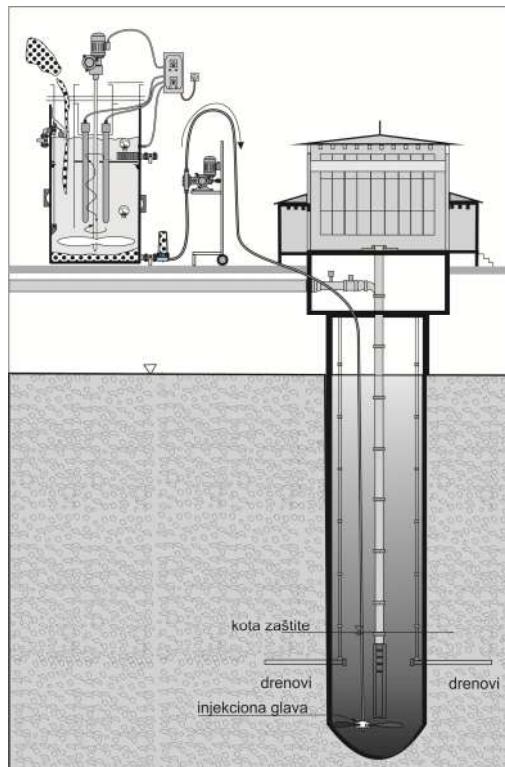
Pravilna eksploracija bunara podrazumeva da se statički nivo podzemne vode ne razlikuje mnogo od dinamičkog nivoa kada se pumpom voda eksplastiše. Primer pravilne eksploracije bunara dat je na slici 2. Sa slike se vidi da se statički i dinamički nivo podudaraju a to se može zaključiti merenjem nivoa u piezometrima p1, p2 i p3. Odabir pumpi za eksploraciju vode iz bunara se vrši prvenstveno na osnovu izdašnosti bunara i visine dizanja. Obično se uzima pumpa koja na zahtevanoj visini dizanja eksplastiše 70% od dotoka vode tako da je obezbeđeno laminarno strujanje vode kroz vodonosni sloj. Na ovaj način pritisak iznad vodenog sloja Pa je viši od pritiska vertikalno naviše što znači da je viši i od atmosferskog pritiska Pb (Slika 2.). Na ovaj način je minimizirano strujanje vazduha i atmosferskih padavina od površine do vodonosnog sloja bunara. Međutim zbog pada izdašnosti bunara, tokom procesa starenja, dolazi se u situaciju da pumpa počinje da eksplastiše bunar nepravilno tj sa protokom većm od izdašnosti bunara. U tom slučaju počinje da se formira depresionni levak koji znatno obara nivo vode od statičkog nivoa a sam dotok vode kroz porozni sloj je turbulentan. Ako se na ovaj način bunar eksplastiše dolazi do njegovog ubrzaniog starenja i bakteriološkog zagađenja vodonosnog sloja. Stvaranjem depresionog levka [4] od statičkog nivoa do kote zaštite (Slika 3) u zoni oko bunara a u unutrašnjosti levka se stvara podpritisak koji praktično usisava čestice i vode iz okolnih ne vodonosnih slojeva a i sa same površine vazduh ili atmosferske padavine.



Slika 3. Formiranje depresionog levka tokom nepravilne eksploracije bunara Reni 4.

*Figure 3. Funnel formation during inappropriate exploration of the well (Reni 4).*

S obzirom da je oko bunara parkovska površina gde se kreću ljudi, automobili i životinje, zagadenje sa površine sa bakterijskim kulturama dospeva u vodonosni sloj odakle se crpi sirova voda za vodosnabdevanje. Zbog turbulentnog strujanja koje nosi sitne čestice ka drenovim bunara dolazi do njihovog zapušavanja i smanjenja izdašnosti odnosno fenomena poznatog kao ubrzano starenje bunara. Ovaj fenomen smo uočili neposrednim osmatranjem i merenjem piezometrijskih visina i merenjem visine statičkog i dinamičkog nivoa tokom rada crpnih pumpi. Dinamički i statički nivo se razlikuju za blizu 15m. Zbog nedostatka vode bunari se eksplorisu nepravilno i zbog toga ubrzano stare i povećava se bakterijsko opterećenje bunarske vertikale.



Slika 4. Uređaj za kontinualno rastvaranje, temperovanje i doziranje kalijum permanganata na bunarsko dno i duž bunarske vertikale.

Figure 4. Device for continuous dissolution, dosing and temperature regulation of added potassium permanganate onto the well bottom and vertically along the well.

S obzirom da se ne može uticati na način eksploatacije bunara neophodno je u češćim vremenskim intervalima pristupiti procesu hiperdezinfekcije i hemijskog pranja bunarskog dna i bunarske vertikale i cevovoda [7]. Kako bi se rešio problem bakteriološke ispravnosti instalirana je oprema 12.2.2019.god za kontinualno rastvaranje, temperovanje i doziranje kalijum permanganata [5,6] prikazana na slici 4. Ovaj uređaj radi na sledeći način. Posuda od 2000 l se sastoji zapravo iz dva dela. U gornjem delu posude su instalirani grejači koji se spuštaju u donji deo posude gotovo do samog dna. U gornjem delu posude je takođe ventil plovak koji kontinualno dodaje vodu iz cisterne koja je pod pritiskom. Ventil plovak ubaci toliko vode koliko dozir pompa usisava zasićenog rastvora permanganata sa dna donjeg dela posude. Voda ulazi na vrhu gornjeg dela gde se nalaze četiri štapičasta grejača tako da je predgreju pre nego što stigne u donji deo posude. Gornji i donji deo posude su razdvojeni sa pregradom kako bi se umirilo kretanje rastvora u gornjem delu pre nego se zagreje na zadatu temperaturu koja se podešava termostatom. Kroz osu posude prolazi mešalica koja na dnu ima četiri propelera instaliranih neposredno uz samo dno posude. Brzina rotacije

mešalice je oko 30 obrtaja u minuti. Na vrhu posude je instaliran motor sa reduktorom snage 2,2 kW koji pokreće rotiranje mešalice. Doziranje kristalnog kalijum permanganata se ostvaruje na vrhu posude koja ima dozirnu cev koja od vrha posude vodi kristale permanganara do dna drugog dela posude na kome uvek ima praškastog permanganata kao osnovne potvrde da imamamo u donjem delu posude zasićen rastvor kalijum permanganata. Na samom dnu posude se nalazi i sapnica koja ne dozvoljava da usisna pumpa uvuče kristale permanganata već samo rastvor. Sa spoljne strane posude nalazi se još jedan mrežasti filter od 50 mikrona koji je drugi sigurnosni element da pumpa ne povlači u kristalnu formu kalijum permanganata.

Na potisnom vodu pumpe (Slika 4) nalazi se dugačko fleksibilno crevo koje se na kraju završava sa injekcionom glavom i tegom na njoj. Teg omogućuje da se crevo lakše spušta na dno bunara. Kada je crevo sa injekcionim ventilom spušteno na dno bunara od 25m uključuje se dozirna pumpa koja usisava zasićen rastvor kalijum permanganata i potiskuje ga na bunarsko dno. Da bi se dobila željena koncentracija po celoj bunarskoj vertikali od 25 mg/l neophodno je injektirati u bunar 7,5 kg kristalnog kalijum permanganata ili 174,5 litara zasićenog rastvora (proizvod rastvorljivosti kalijum permanaganata na 10 °C je 43 g/l). Temperatura rastvora u reakcionej posudi bila je 10 °C. Dozirna pumpa je podešena na kapacitet od 500 litara na sat što znači da vreme doziranja pod tim uslovima treba da bude 1255,8 sekundi tj oko 21 minut. Prvo je tretirano bunarsko dno sa većom koncentracijom od 25 mg/l a potom posle 5 min doziranja lagano je ručno povlačeno crevo duž cele bunarske vertikale tako da je posle 21 minut izvučeno potpuno iz vodenog stuba bunara kada je i zaustavljenje dalje doziranje dozirnom pumpom.

Posle obavljenog tretmana bunar je ostavljen da naredna dva sata bude u kontaktu sa visokom koncentracijom kalijum permanganata. Nakon dva sata pristupilo se procesu ispiranja (oko 1000 m<sup>3</sup>) tako da je u bunar ušla sveza voda iz vodonisnog sloja. Potom su radnici sanitарне kontrole a posle 24 h uzeli uzorce za analizu vode na prisustvo cijano bakterija. Dobijeni su sledeći rezultati koji su prikazani u Tabeli 1.

Tabela 1. Prisustvo cijanobakterija u bunaru Reni 4 posle tretmana sa KMnO<sub>4</sub>.

*Table 1. Existence of cyanobacteria in the well (Reni 4) after the treatment with KMnO<sub>4</sub>.*

	Vreme posle tretmana bunarskog dna i bunarske vertikale sa KMnO <sub>4</sub> 25 mg/l	Broj cijanobakterija po cm <sup>2</sup> i l
1.	1 dan	20
2.	2 dana	5
3.	3 dana	0
1.	4 dana	0
2.	5 dana	0

Posle ovog tretmana, kontaktnog vremena od 24 h, ispiranja, uzorkovanja kao i u prethodnim slučajevima dobijeni rezultati pokazuju (Tabela 1) da nisu više prisutne u bunaru ali da se tokom narednih dana ne pojavljuju u bunaru. Pojava cijanobakterija u bunaru je verovatno posledica loše eksploatacije bunara, probijanja zona sanitarnе zaštite (u neposrednoj blizini se nalaze restorani splavovi koji nemaju rešene fekalne vode) pa je neophodno bunare sve češće trtitati oksidansima visoke koncentracije.

### Zaključak

Na osnovu prikazanih rezultata može se zaključiti da:

- Dezinfekcija bunara sa kalijum permanganatom minimizira sadržaj patogena.
- Koncentracija kalijum permanganata od 25 mg/l je dovoljna da dezinfikuje i stopira umnožavanje cijanobakterija.
- Zbog nepravilne eksploatacije bunara i probijanja zona sanitarnе zaštite dolazi do stalne prihrane cijanobakterija što sa površine što iz samog vodonosnog sloja u toku od nekoliko meseci kada se ponovo detektuje njihovo povećano prisustvo.

### Napomena

Istraživanja u ovom radu finansirana su sredstvima JKP Beogradski vodovod i kanalizacija.

### Literatura

- Fawell J.K., Hart J., James H.A. and Parr W. (1993) Blue-green algae and their toxins – Analysis, toxicity, treatment and environmental control. Water Supply, 11(3/4): 109-121.
- Rodriguez E., Onstad G.D., Kull T.P.J. (2007) Oxidative elimination of cyanotoxins: Comparison of ozone, chlorine, chlorine dioxide and permanganate. Water Research, 41(15): 3381-3393.
- Milojko Lazić "Metode razrade i revitalizacije bunara" RGF, AD „Kultura“ (2004).
- Milenko Pušić, „Hidraulika bunara“ RGF, Insiitut za vodoprivrednu „Jaroslav Černi“ (2012).
- Fitzgerald G.P. (1966) Use of potassium permanganate for control of problem algae. Journal of the American Water Works Association, 58: 609-614.
- Pivokonska L., Baresova M., Henderson R.K., Zamyadi A., Janda V., Naceradska J., Pivokonsky M. (2017) The impact of pre-oxidation with potassium permanganate on cyanobacterial organic matter removal by coagulation, Water Research 114, 42-49.
- Trišović T., Milojević S., Jugović B.Z., Nikolić M., Trišović Z., (2018) Pranje i dezinfekcija vodovdne mreže na poligonu nacionalne vozačke akademije NAVAK u Subotiću, XXIII savetovanje o biotehnologiji, 511-517.

## WASHING AND DESINFECTION OF THE WELLS TYPE RENI

*Tomislav Trišović<sup>1</sup>, Branimir Grgur<sup>2</sup>, Lidija Rafailović<sup>3</sup>, Milica Popović<sup>2</sup>,  
Trišović Zaga<sup>4</sup>*

### Abstract

We show in this work the treatment procedure utilized for cleaning and desnfction of water in water wells of large capacity as in the case of wells of Belgrade Waterworks. The typical examples of such well of large capacity are Reni wells 2 i 4 located 50m from the left bank of the river Sava and in close geometrical distance of confluence of Save river into the Danube. The depth of wells is around 30 m, diamaeter of around 4 m with approximat content of 300 m<sup>3</sup> of water. In this work, we demonstate a simple but innovative approach for the disinfection of the well bottom, vertical areas along the well and inner inlets that pump in the water into the well.

**Key words:** wells,water, treatman, desinfection, KMnO<sub>4</sub>

---

<sup>1</sup>Technical Institut of Serbian Academy of Sciences and Arts, K. Mihailova 35/4, 11000 Belgrade, Serbia

<sup>2</sup>Faculty of Technology and Metallurgy, Karnegijeva 4, 11 000 Belgrade, Serbia

<sup>3</sup>CEST, Viktor-Kaplan-Str. 2, A-2700 Wiener Neustadt,Austria

<sup>4</sup>Faculty of Mechanical Engeeniring, Kraljice Marije 16, 11 000 Belgrade, Serbia

## **IN MEMORIAM**



**Nikola Bokan**  
Profesor Agronomskog  
fakulteta  
(1963 - 2019)

*Ne možemo da verujemo da te više nema među nama dragi naš Nikola. Samo dan pre pričali smo baš o ovom Savetovanju u čiji si organizacioni odbor bio imenovan. Samo dan pre iznosio si nove ideje kako bi ovo dvadesetčetvrtro Savetovanje bilo što bolje organizovano. Samo dan pre pričali smo o našem Agronomskom fakultetu na kome si počeo da radiš 1990. godine, na kom si studirao, koji si mnogo voleo i koji si dostojanstveno prezentovao, kako preko brojnih radova i knjiga koje si temeljno i kvalitetno pisao jedinstvenim originalnim stilom, tako i tamo gde si se lično pojavio, bilo u Srbiji, Bosni i Hercegovini, Crnoj Gori, Bugarskoj, Holandiji td. Po mnogo čemu si bio poseban, posvećen radu, pravdoljubiv, radovao si se dobrom ljudskom delu, razmišljao o ljudskim sudbinama, bavio se ljudima, temeljno radio i nesebično se davao brojnim generacijama studenata ugrađujući u njihove diplomske, master, seminarске i doktorske radeve ključne agronomiske rečenice zabeležene na brojnim skupovima na kojima si uvek hvatao beleške. Tvoj mladalački šarm, pedagoška zrelost, tvoj osećaj da sagovornika saslušaš i posavetuješ i briga o svakome, osvajao je studente, kolege, planinare, i sve koji su te na bilo koji način upoznali. Poneo si iz kuće tu čistu dušu, tu iskrenost, taj osećaj da neguješ porodicu, rođaka, druga, prijatelja, da svima kažeš istinu u oči, bez obzira kakva ona bila. Mene si lično izdao, dragi Nidžo, otišao si pre vremena, a obećao si da ćemo zajedno još nešto da pišemo, da imamo još ogleda, da idemo zajedno na teren, da idemo u Institut Novi Sad i još mnogo toga. Nisi trebao to da mi uradiš jer sam te voleo kao rođenog brata pošto onog po rođenju nisam imao.*

*Tvoj rani odlazak u naponu snage nenadoknadiv je gubitak divnim roditeljima, rođacima, prijateljima, kolegama, brojnim generacijama studenata, agronomskoj struci, tvojim planinarima, Agronomskom fakultetu, koji je izgubio vrsnog pedagoga, naučnog radnika i nastavnika.*

*"Davno je rečeno da je smrt u zaboravu, a ne u činjenici smrti, da je čovek mrtav onda kad je zaboravljen - Nikola Bokan za to, ne mora da brine".*

*Počivaj u miru dragi naš Bokane, neka ti je večna slava i hvala ti za sve.*

**Goran Dugalić**

**CIP- Каталогизација у публикацији**  
**Народна библиотека Србије**

63(082)  
606:63(082)

САВЕТОВАЊЕо биотехнологији са међународним учешћем (24 ; 2019 ;  
Чачак )

Zbornik radova. 2 / XXIV savetovanje o biotehnologiji sa međunarodnim  
учеšćem, Čačak, 15-16. mart 2019. godine ; [organizator] Univerzitet u  
Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku = [organized by] University of  
Kragujevac, Faculty of Agronomy, Cacak. - Čačak : Univerzitet u Kragujevcu,  
Agronomski fakultet, 2019 (Čačak : Bajić). - Str. 483-845 : ilustr. ; 25 cm

Radovi na srp. i engl. jeziku. - Tiraž 180. - Bibliografija uz svaki rad. -  
Abstracts.

ISBN 978-86-87611-68-9  
ISBN 978-86-87611-69-6 (niz)

1. Агрономски факултет (Чачак)

- a) Пљопривреда - Зборници
- b) Биотехнологија - Зборници

COBISS.SR-ID 274576652