

KRUPNOĆA PLODA DIVLJE JABUKE (*Malus sylvestris* (L.) Mill.): UTJECAJ NA MORFOLŠKO-FIZIOLOŠKA SVOJSTVA SJEMENA

FRUITS SIZE OF WILD APPLE (*Malus sylvestris* (L.) Mill.): IMPACT ON MORPHOLOGICAL AND PHYSIOLOGICAL PROPERTIES OF SEEDS

Damir DRVODELIĆ¹, Tomislav JEMRIĆ², Milan ORŠANIĆ¹, Vinko PAULIĆ¹

Summary

U radu su prikazani rezultati utjecaja krupnoće ploda divlje jabuke na brojna morfološka i fiziološka svojstva sjemena. Plodovi su podijeljeni s obzirom na masu u tri skupine: mali (< 10 g), srednje krupni (10-20 g) i veliki (> 20 g). Izmjerena su značajnija morfološka svojstva plodova. Za morfološku analizu sjemena korišten je softver WinSEEDLE 2011. Za statističku analizu deset morfoloških i fizioloških značajki sjemena korišten je paket SAS 9.2.. U cilju utvrđivanja varijabiliteta podataka te povezanosti pojedinih morfoloških značajki sjemena napravljena je analiza glavnih komponenti – PCA (Statistica 7.0). Utvrđena je statistički značajna razlika između malih, srednje krupnih i velikih plodova u sljedećim varijablama: duljina ploda (mm), širina ploda (mm), broj punih sjemenki u plodu (kom), težina svježeg sjemena (g), težina zračno suhog sjemena (g) i gubitak vlage u sjemenu (%). Navedene varijable povećavaju se s masom ploda. Gubitak vlage u sjemenu u prosjeku je za 8,667 % veći kod velikih plodova u odnosu na male. U slučaju malih plodova (< 10 g), utvrđena je pozitivna i vrlo visoka korelacija između širine ploda i duljine ploda, težine ploda i duljine odnosno širine ploda i težine sjemena u zračno suhom i svježem stanju. Kod srednje krupnih plodova (10-20 g), utvrđena je pozitivna i vrlo visoka korelacija između težine ploda i duljine odnosno širine ploda, širine ploda i težine svježeg odnosno zračno suhog sjemena, broja punih sjemenki u plodu i težine sjemena u svježem odnosno zračno suhom stanju te težine sjemena u zračno suhom i svježem stanju. U slučaju velikih plodova (>20 g), utvrđena je pozitivna i vrlo visoka korelacija između indeksa oblika ploda (DP/ŠP) i duljine ploda, težine ploda i širine ploda, broja punih sjemenki u plodu i težine sjemena u svježem odnosno zračno suhom stanju te između težine sjemena u svježem i zračno suhom stanju. Provedena PCA analiza rezultirala je s dvije funkcije koje su imale veće eigen vrijednosti od 1,00 i koje su objasnile 97,82% ukupne varijabilnosti u morfološkim značajkama sjemena iz istraživanih plodova različite težine. Projicirana površina, zakriviljena širina, volumen elipse, elipsoidna površina i oblik sjemenke pokazala je izuzetno visoke negativne vrijednosti s prvom osi, dok drugoj osi najviše pri-donosi zakriviljena duljina (negativno) i oblik sjemenke (pozitivno).

KLJUČNE RIJEČI: divlja jabuka, morfologija ploda, morfologija sjemena, fiziologija sjemena, WinSEEDLE

1. INTRODUCTION

UVOD

Vrsta *Malus sylvestris* (L.) Mill. jedina je autohtona šumska (divlja) vrsta jabuke u srednjoj Europi. Zbog sitnih i tvrdih plodova ovu vrstu nazivaju i rakova jabuka. Na području

Europe, Azije i Sjeverne Amerike do danas je poznato od 25–47 vrsta roda *Malus* (Bugala 1991, Robinson i dr. 2001). Stabla divlje jabuke imaju nisko spuštenu krošnju i često izgledom podsjećaju na grmoliku vrstu. Mogu narasti u visinu preko 10 m s promjerom debla od 23–45 cm, a dožive starost od 80–100 godina.

¹ Doc. dr. sc. Damir Drvodelić, Prof. dr. sc. Milan Oršanić, Vinko Paulić, dipl. ing. šum., Šumarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, HR-10 000 Zagreb, Svetosimunska 25
² Prof. dr. sc. Tomislav Jemrić, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, HR-10 000 Zagreb, Svetosimunska 25

Uslijed slabe konkurentske sposobnosti i velikih zahtjeva za svjetлом stabla većinom rastu uz rubove šuma, u živicama na poljoprivrednim površinama ili na ekstremnim marginalnim staništima. Stabla divlje jabuke rastu u prirodi u većini europskih zemalja pojedinačno u sastojinama ili u manjim grupama (www.euforgen.org).

Divlja jabuka je indiferentna prema tipovima tala i podnosi vlažne stanišne uvjete. Raste na kamenim nasipima, u živicama, aluvijalnim šumama i poplavnim nizinama (Stephan i dr. 2003). Franjić i Škvorc (2010) pišu kako se najčešće javlja u mezofilnim šumama i šikarama, pojedinačno na livadama i pašnjacima, od nižeg do brdskog područja.

Divlju jabuku karakterizira jasna geografska populacijska struktura s tri Europske diferencirane populacije. Zapadna populacija zauzima ogromnu površinu od Francuske do Norveške, dok se istočna populacija dijeli na sjeveroistočnu oko Karpati i jugoistočnu koja se proteže sjeverno istočnim rubom Balkanskog poluotoka (Stefanie i dr. 2012). Prema Robinsonu i dr. (2001), divlja jabuka je rasprostranjena od južne Skandinavije do Pirinejskog poluotoka te od Volge do Britanskog otočja.

Na području svog areala divlja jabuka je izuzetno rijetka i ugrožena vrsta (Kleinschmit i Stephan, 1997). Status zaštite ove vrste u Europi nije jasan, osim u Belgiji i Republici Češkoj gdje je proglašena ugroženom vrstom (Schnitzler i dr. 2014).

Prema Hokanson i dr. (1998) i Kleinschmit i dr. 1998, smanjenje i fragmentacija šumske površine dovila je do značajnog smanjenja pogodnih staništa za divlju jabuku. Prema Wagneru (2006), niska ekonomska vrijednost i habitus razlog su dalnjem opadanju učešća ove vrste. Njezin opstanak ugrožen je antropogenim čimbenicima kao što su čiste sječe i intenzivna poljoprivreda. Danas je njezino stanište često vrlo fragmentirano u male grupe, dok su veće spojene populacije vrlo rijetke. Vrste roda *Malus* su samo-inkompatibilne i za oplodnju je potreban oprasivač (Broothaerts 2003).

Pelud jabuke većinom se širi vektorima ali i vjetrom, te barijere ne sprječavaju hibridizaciju s *Malus x domestica* (Larsen i Kjaer, 2009; Reim i dr. 2006). Prema Fellenberg (2001), Remmy i Gruber (1993) i Wagner (1996), postoje mnoga morfološka svojstva koja opisuju divlju jabuku. Uobičajena je hibridizacija divlje jabuke s kultiviranim sortama zbog čega je vrlo teško razlikovati genetski čista stabla ove šumske voćkarice. Czarna (2013) piše o novom spontanom hibridu jabuke *Malus x oxysepala* koji je nastao križanjem vrsta *M. domestica* Borkh. x *M. sylvestris* Mill.. U svrhu razlikovanja tijekom povijesti koristila su se isključivo morfološka obilježja. Dvije glavne značajke koje karakteriziraju divlju jabuku su dlakavost s donje strane lista (skala 4) i promjer plodova (do 35 mm).

U taksonomiji se smatraju kao najprikladnije morfološke osobine za razlikovanje vrste *Malus sylvestris* od *Malus do-*

mestica sljedeće: dlakavost listova i cvjetova, veličina plodova i boja plodova (Fellenberg 2001, Müller i Litschauer 1996, Tabel i dr. 2000). Prema Reimu i dr. (2012), poželjna morfološka svojstva ploda za razlikovanje vrste *Malus sylvestris* od vrste *Malus domestica* su: boja, prošaranost, duljina i promjer. Vrlo je malo istraživanja o utjecaju krupnoće ploda divlje jabuke na morfologiju i fiziologiju sjemeni.

Reim i dr. (2012) govore o alternirajućoj rodnosti kod divlje jabuke. Prema Crossley (1974), dobar urod plodova i sjemena događa se svakih 2–4 godine. Na urod sjemena može negativno utjecati kasni proljetni mraz. Utjecaj mraza na urod sjemena ovisi o razvojnem stadiju ploda u vrijeme mraza (Nybom 1992). Plodovi s divlje jabuke sakupljaju se odmah nakon sazrijevanja zbog šteta od životinja koje se hrane njezinim plodovima (Bonner i Karrfalt, 2008).

Prema Young i Young (1992), broj sjemenki u 1 gramu ovisi o vrsti. Sadržaj vlage u sjemenu treba spustiti ispod 11%, a sjeme čuvati u hermetičkim zatvorenim posudama na niskim temperaturama. Tako čuvano sjeme ne gubi na vitalitetu ili vigoru kljanaca. Prema Dirr i Heuser (1987) sjeme je tamno smeđe boje.

Samonikle rijetke voćne vrste kao što je divlja jabuka imaju veliki potencijal u budućnosti. Potrebno je napraviti inventarizaciju stabala i uzgojnim mjerama učiniti sve kako bi ona opstala na određenom staništu. Treba sakupljati sjeme s najvrednijih stabala i čuvati ga u bankama gena. Prema Šebek (2013), šumska jabuka je najvažnija generativna podloga na svijetu. Galot i dr. (1985) pišu kako se generativne podloge divlje jabuke koriste diljem svijeta zbog bolje adaptabilnosti vrsta roda *Malus* prema različitim ekološkim uvjetima, vrlo često onim ekstremno oštrim. Generativne podloge jabuke su manje podložne napadima virusa, jer se oni ne mogu prenijeti spolnim načinom razmnožavanja (Mišić, 1984).

2. MATERIJALI I METODE

MATERIALS AND METHODS

Plodovi divlje jabuke sakupljeni su u jesen 2013. godine na području Žumberačkog gorja. Obavljena je podjela plodova s obzirom na masu u tri skupine: mali (<10 g), srednje krušni (10–20 g) i veliki (>20 g). U svakoj skupini uzet je slučajni uzorak od 50 plodova. Težina svježe skupljenih plodova mjerena je na laboratorijskoj vagi "Sartorius" s točnošću 0,01 g. Duljina i širina ploda mjerena je uz pomoć digitalne pomične mjerke (točnost 0,01 mm). Sjemenke su vađene iz plodova ručno uz pomoć nožića, pri čemu je evidentiran broj punih i šturih sjemenki. Svježe izvagano je na laboratorijskoj vagi Sartorius (točnost 0,001 g). Vaganje je ponovljeno nakon sušenja sjemena na sobnoj temperaturi. Težina 1000 zračno suhih sjemenki određena je u skladu s pravilima ISTA. Uz pomoć skenera STD4800 obavljen je skeniranje sjemenki iz svakog ploda. Za mor-

fološku analizu sjemena korišten je softver WinSEEDLE 2011 (Regent Instruments Inc.2010). Deskriptivna statistika i korelacijski koeficijenti za deset značajnijih morfoloških i fizioloških značajki sjemena iz plodova različite krupnoće napravljena je uz pomoć statističkog paketa SAS 9.2.. U cilju utvrđivanja varijabiliteta podataka te povezanosti pojedinih morfoloških značajki sjemena napravljena je analiza glavnih komponenti – PCA (Statistica 7.0). U PCA analizu uključeno je 6 morfoloških varijabli sjemena. Na dvodimenzionalnom grafikonu prikazane su dvije PC funkcije koje su imale *eigen* veći od 1,0, a opisuju 97,82 % ukupnog varijabiliteta. Uz pomoć Principal component analyze-PCA (Statistica 7.0), sumirani su podaci mnogobrojnih morfoloških značajki u prvu glavnu komponentu koja sadrži najveći mogući varijabilitet podataka.

3. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

RESEARCH RESULTS

U ovom istraživanju analizirane su brojne morfološke i fiziološke značajke plodova i sjemena divlje jabuke (*Malus sylvestris* (L.) Mill.) poput: duljine ploda (mm), širine ploda (mm), indeksa oblika ploda, težine ploda (g), broja punih sjemenki u plodu (kom), broja šturih sjemenki u plodu (kom), težine svježeg sjemena (g), težine zračno suhog sjemena (g), težine 1 zračno suhe sjemenke (g) i gubitak vlage u sjemenu (%): U tablici 1. prikazani su rezultati deskriptivne statistike za gore navedene morfološke i fiziološke značajke plodova i sjemena.

Utvrđena je statistički značajna razlika ($p<0,0001$) između malih, srednje krupnih i velikih plodova u sljedećim varijablama: duljina ploda (mm), širina ploda (mm), broj punih sjemenki u plodu (kom), težina svježeg sjemena (g), težina zračno suhog sjemena (g) i gubitak vlage u sjemenu (%).

Navedene varijable povećavaju se s masom ploda. Posebno je zanimljiv gubitak vlage u sjemenu kao fiziološki čimbenik koji je u prosjeku za 8,667 % veći kod velikih plodova u odnosu na male. Mali (< 10 g) i veliki (> 20 g) plodovi statistički se značajno razlikuju u indeksu oblika ploda (DP/ŠP), dok razlika nije utvrđena između malih i srednje krupnih te srednje krupnih i velikih. Mali plodovi su više okruglastog oblika (0,868) za razliku od velikih (0,817). Broj šturih sjemenki nije se statistički značajno razlikovao s obzirom na masu ploda. Težina 1 zračno suhe sjemenke iz malih plodova statistički se značajno razlikovala od težine iste iz srednje krupnih i velikih plodova. Sjemenka iz malih plodova ima u prosjeku za 0,006 g odnosno 0,007 g manju težinu u zračno suhom stanju u odnosu na težinu sjemenke iz srednje krupnih i velikih plodova.

U slučaju malih plodova (< 10 g), utvrđena je pozitivna i vrlo visoka korelacija između širine ploda i duljine ploda ($R=0,83$), težine ploda i duljine ($R=0,91$) odnosno širine ($R=0,92$) ploda i težine sjemena u zračno suhom i svježem stanju ($R=0,97$).

Kod srednje krupnih plodova (10-20 g), utvrđena je pozitivna i vrlo visoka korelacija između težine ploda i duljine ($R=0,74$) odnosno širine ($R=0,91$) ploda, širine ploda i težine svježeg ($R=0,75$) odnosno zračno suhog sjemena ($R=0,76$), broja punih sjemenki u plodu i težine sjemena u svježem ($R=0,94$) odnosno zračno suhom ($R=0,93$) stanju te težine sjemena u zračno suhom i svježem stanju ($R=0,99$).

U slučaju velikih plodova (> 20 g), utvrđena je pozitivna i vrlo visoka korelacija između težine ploda i širine ploda ($R=0,84$), broja punih sjemenki u plodu i težine sjemena u svježem ($R=0,96$) odnosno zračno suhom ($R=0,96$) stanju te između težine sjemena u svježem i zračno suhom stanju ($R=0,99$).

Tablica 1. Deskriptivna statistika deset morfoloških i fizioloških značajki plodova i sjemena divlje jabuke (*Malus sylvestris* (L.) Mill.)
Table 1. Descriptive statistic of ten morphological and physiological traits fruits and seed of the wild apple (*Malus sylvestris* (L.) Mill.)

Veličina ploda (g) Fruit size (g)	Duljina ploda (mm) Fruit length (mm)	Širina ploda (mm) Fruit width (mm)	Indeks oblika ploda Fruit shape index (FL/FW)	Težina ploda (g) Fruit weights (g)	Broj punih sjemenki u plodu (kom) The number of filled seeds per fruit (pcs)	Broj šturih sjemenki u plodu (kom) The number of empty seeds per fruit (pcs)	Težina svježeg sjemena (g) Weight of fresh seed (g)	Težina zračno suhog sjemena Weight of air dry seeds (g)	Težina zračno suhe sjemenke Weight of 1 air dry seeds (g)	Gubitak vlage u sjemenu (%) The loss of moisture in the seed (%)
Mali (< 10 g) Small (< 10 g)	20,852±3,084a	24,096±3,428a	0,868±0,074a	5,785±2,062a	0,560±0,611a	0,020±0,141a	0,029±0,009a	0,023±0,007a	0,022±0,005a	20,365±5,741a
Srednje krupni (10-20 g) Medium (10-20 g)	29,059±2,179b	34,640±2,348b	0,840±0,059ab	14,966±2,600b	2,640±1,860b	0,120±0,328a	0,099±0,055b	0,072±0,040b	0,028±0,007b	26,947±3,360b
Velići (> 20 g) Large (> 20 g)	33,169±1,721c	40,598±1,543c	0,817±0,039b	23,545±2,662c	5,58±2,475c	0,080±0,274a	0,223±0,087c	0,158±0,062c	0,029±0,004b	29,032±1,214c
P-vrijednost P value	<.0001	<.0001	0.0002	<.0001	<.0001	0.1573	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001

Tablica 2. Korelacijski koeficijenti za deset morfoloških i fizioloških značajki utvrđenim na svim plodovima i sjemenkama vrste *Malus sylvestris* (L.) Mill.

Table 2. Correlation coefficients for the ten morphological and physiological traits evaluated on *Malus sylvestris* (L.) Mill. all fruits and seed

Varijable Variables	DP (mm) <i>FL</i> (mm)	ŠP (mm) <i>FW</i> (mm)	DP/ŠP <i>FL/FW</i>	TP (g) <i>FWG</i> (g)	BPSP (kom) <i>NFSF</i> (pcs)	BŠSP (kom) <i>NESF</i> (pcs)	TSS (g) <i>FSW</i> (g)	TZSS (g) <i>ADSW</i> (g)	1TZSS (g) <i>1ADSW</i> (g)
DP (mm) <i>FL</i> (mm)									
ŠP (mm) <i>FW</i> (mm)	0,95*								
TP (g) <i>FWG</i> (g)	0,95*	0,97*		-0,32*					
BPSP (kom) <i>NFSF</i> (pcs)	0,69*	0,76*	-0,37*	0,81*					
TSS (g) <i>FSW</i> (g)	0,72*	0,79*	-0,38*	0,84*	0,97*		0,04		
TZSS (g) <i>ADSW</i> (g)	0,71*	0,78*	-0,38*	0,84*	0,97*	0,04		0,99*	
1TZSS (g) <i>1ADSW</i> (g)	0,56*	0,44*	0,09	0,43*	-0,03	-0,03	0,16		0,16
GVS (%) <i>LMS</i> (%)	0,59*	0,62*	-0,26*	0,57*	0,41*	0,21*	0,46*	0,44*	0,22*

*Korelacija signifikantne kod $P < 0,05$

*Correlation significant at $P < 0,05$

DP/FL- duljina ploda-fruit length, ŠP/FW-širina ploda-fruit width, DP/ŠP/FL/FW-duljina ploda/širina ploda-fruit width/fruit length, TP/FWG-težina ploda-fruit weight, BPSP/NFSF- broj punih sjemenki u plodu-number of filled seeds per fruit, BŠSP/NESF- broj šturih sjemenki u plodu-number of empty seeds per fruit, TSS/FSW-težina svježeg sjemena-weight of fresh seeds, TZSS/ADSW-težina zračno suhog sjemena-weight of air dry seeds, 1TZSS/1ADSW-težina 1 zračno suhe sjemenke-weight of 1 air dry seeds, GVS/LMS- gubitak vlage u sjemenu-loss of moisture in the seed

Tablica 3. Korelacijski koeficijenti za deset morfoloških i fizioloških značajki utvrđenim na malim plodovima (< 10 g) i sjemenkama vrste *Malus sylvestris* (L.) Mill.

Table 3. Correlation coefficients for the ten morphological and physiological traits evaluated on *Malus sylvestris* (L.) Mill. small fruit (< 10 g) and seeds

Varijable Variables	DP (mm) <i>FL</i> (mm)	ŠP (mm) <i>FW</i> (mm)	DP/ŠP <i>FL/FW</i>	TP (g) <i>FWG</i> (g)	BPSP (kom) <i>NFSF</i> (pcs)	BŠSP (kom) <i>NESF</i> (pcs)	TSS (g) <i>FSW</i> (g)	TZSS (g) <i>ADSW</i> (g)	1TZSS (g) <i>1ADSW</i> (g)
DP (mm) <i>FL</i> (mm)									
ŠP (mm) <i>FW</i> (mm)	0,83*								
TP (g) <i>FWG</i> (g)	0,91*	0,92*		0,03					
BPSP (kom) <i>NFSF</i> (pcs)	0,55*	0,48*	0,16	0,51*					
BŠSP (kom) <i>NESF</i> (pcs)	0,08	0,21	-0,18	0,20	0,34*				
TSS (g) <i>FSW</i> (g)	0,17	0,07	0,15	0,23	0,59*	0,45*			
TZSS (g) <i>ADSW</i> (g)	0,15	0,07	0,13	0,26	0,61*	0,47*	0,97*		
1TZSS (g) <i>1ADSW</i> (g)	0,37	0,14	0,28	0,36	-0,31	-0,07	0,52*	0,54*	

*Korelacija signifikantne kod $P < 0,05$

*Correlation significant at $P < 0,05$

DP/FL-duljina ploda-fruit length, ŠP/FW-širina ploda-fruit width, DP/ŠP/FL/FW-duljina ploda/širina ploda-fruit width/fruit length, TP/FWG-težina ploda-fruit weight, BPSP/NFSF-broj punih sjemenki u plodu-number of filled seeds per fruit, BŠSP/NESF-broj šturih sjemenki u plodu-number of empty seeds per fruit, TSS/FSW-težina svježeg sjemena-weight of fresh seeds, TZSS/ADSW-težina zračno suhog sjemena-weight of air dry seeds, 1TZSS/1ADSW-težina 1 zračno suhe sjemenke-weight of 1 air dry seeds, GVS/LMS-gubitak vlage u sjemenu-loss of moisture in the seed

Tablica 4. Korelacijski koeficijenti za deset morfoloških i fizioloških značajki utvrđenim na srednje krupnim plodovima (10-20 g) i sjemenkama vrste *Malus sylvestris* (L.) Mill.

Table 4. Correlation coefficients for the ten morphological and physiological traits evaluated on *Malus sylvestris* (L.) Mill. medium fruit (10-20 g). and seeds

Varijable Variables	DP (mm) <i>FL</i> (mm)	ŠP (mm) <i>FW</i> (mm)	DP/ŠP <i>FL/FW</i>	TP (g) <i>FWG</i> (g)	BPSP (kom) <i>NFSF</i> (pcs)	BŠSP (kom) <i>NESF</i> (pcs)	TSS (g) <i>FSW</i> (g)	TZSS (g) <i>ADSW</i> (g)	1TZSS (g) <i>1ADSW</i> (g)
DP (mm)									
<i>FL</i> (mm)									
ŠP (mm)	0,54*								
<i>FW</i> (mm)									
TP (g)	0,74*	0,91*		-0,09					
<i>FWG</i> (g)									
BPSP (kom) <i>NFSF</i> (pcs)	0,10	0,63*	-0,49*	0,54*					
TSS (g) <i>FSW</i> (g)	0,31*	0,75*	-0,38*	0,68*	0,94*		-0,12		
TZSS (g) <i>ADSW</i> (g)	0,32*	0,76*	-0,37*	0,69*	0,93*		-0,15	0,99*	
1TZSS (g) <i>1ADSW</i> (g)	0,36*	-0,02	0,40*	0,08	-0,50*		-0,04	-0,25	-0,24
GVS (%) <i>LMS</i> (%)	-0,12	-0,11	-0,01	-0,15	0,08	0,50*		-0,02	-0,07
									-0,38*

*Korelacije signifikantne kod $P < 0,05$

*Correlation significant at $P < 0,05$

DP/*FL*- duljina ploda-fruit length, ŠP/*FW*-širina ploda-fruit width, DP/ŠP/*FL*/*FW*-duljina ploda/širina ploda-fruit width/fruit length, TP/*FWG*-težina ploda-fruit weight, BPSP/*NFSF*- broj punih sjemenki u plodu-number of filled seeds per fruit, BŠSP/*NESF*- broj šturih sjemenki u plodu-number of empty seeds per fruit, TSS/*FSW*-težina svježeg sjemena-weight of fresh seeds, TZSS/*ADSW*-težina zračno suhog sjemena-weight of air dry seeds, 1TZSS/*1ADSW*-težina 1 zračno suhe sjemenke-weight of 1 air dry seeds, GVS/*LMS*- gubitak vlage u sjemenu-loss of moisture in the seed

Tablica 5. Korelacijski koeficijenti za deset morfoloških i fizioloških značajki utvrđenim na velikim plodovima ($20 > g$) i sjemenkama vrste *Malus sylvestris* (L.) Mill.

Table 5. Correlation coefficients for the ten morphological and physiological traits evaluated on *Malus sylvestris* (L.) Mill. large fruit ($20 > g$). and seeds

Varijable Variables	DP (mm) <i>FL</i> (mm)	ŠP (mm) <i>FW</i> (mm)	DP/ŠP <i>FL/FW</i>	TP (g) <i>FWG</i> (g)	BPSP (kom) <i>NFSF</i> (pcs)	BŠSP (kom) <i>NESF</i> (pcs)	TSS (g) <i>FSW</i> (g)	TZSS (g) <i>ADSW</i> (g)	1TZSS (g) <i>1ADSW</i> (g)
DP (mm)									
<i>FL</i> (mm)									
ŠP (mm)	0,47*								
<i>FW</i> (mm)									
TP (g) <i>FWG</i> (g)	0,66*	0,84*		0,06					
BPSP (kom) <i>NFSF</i> (pcs)	0,06	0,33*	-0,19	0,49*					
TSS (g) <i>FSW</i> (g)	0,23	0,42*	-0,07	0,59*	0,96*		0,18		
TZSS (g) <i>ADSW</i> (g)	0,23	0,42*	-0,07	0,59*	0,96*		0,17	0,99*	
1TZSS (g) <i>1ADSW</i> (g)	0,46*	0,09	0,43*	0,02	-0,62*		-0,19	-0,40*	-0,40*

*Korelacije signifikantne kod $P < 0,05$

*Correlation significant at $P < 0,05$

DP/*FL*- duljina ploda-fruit length, ŠP/*FW*-širina ploda-fruit width, DP/ŠP/*FL*/*FW*-duljina ploda/širina ploda-fruit width/fruit length, TP/*FWG*-težina ploda-fruit weight, BPSP/*NFSF*- broj punih sjemenki u plodu-number of filled seeds per fruit, BŠSP/*NESF*- broj šturih sjemenki u plodu-number of empty seeds per fruit, TSS/*FSW*-težina svježeg sjemena-weight of fresh seeds, TZSS/*ADSW*-težina zračno suhog sjemena-weight of air dry seeds, 1TZSS/*1ADSW*-težina 1 zračno suhe sjemenke-weight of 1 air dry seeds, GVS/*LMS*- gubitak vlage u sjemenu-loss of moisture in the seed

Provedena PCA analiza (tablica 6.) rezultirala je s dvije funkcije koje su imale veće eigen vrijednosti od 1,00 i koje su objasnile 97,82% ukupne varijabilnosti u morfološkim značajkama sjemena iz istraživanih plodova različite težine. Prva os objašnjava 72,80%, a druga 25,02 % ukupne varijabilnosti. Pojedine morfološke značajke sjemena kao što su projicirana površina, zakrivljena širina, volumen elipse, elipsoidna površina i indeks oblika sjemenke pokazale su izuzetno visoke negativne vrijednosti s prvom osi, dok drugoj osi najviše pridonose varijable zakrivljena duljina (negativno) i indeks oblika sjemenke (pozitivno).

Tablica 6. Koordinate PCA analize za 6 morfoloških značajki sjemena vrste (*Malus sylvestris* (L.) Mill.) i eigenvalues korelacijske matrice

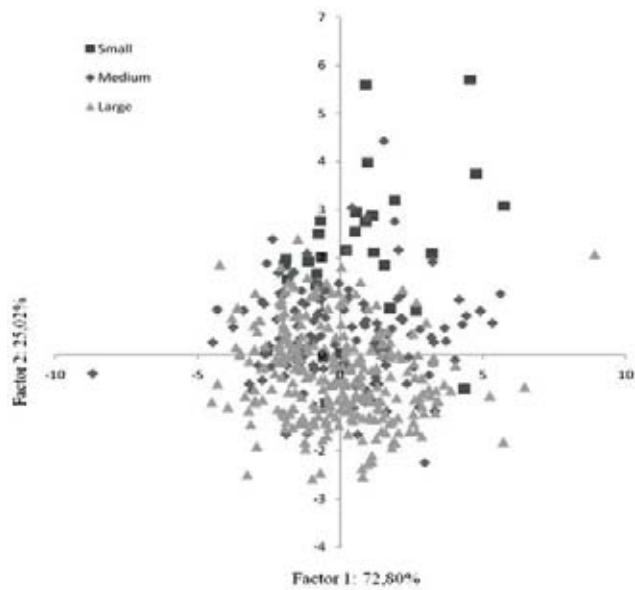
Table 6. Coordinates PCA analysis for six morphological characteristics of seed species (*Malus sylvestris* (L.) Mill.) and eigenvalues of the correlation matrix

Varijable/Variables	PC1	PC2
Projicirana površina (mm ²) <i>Proj. Area (mm²)</i>	-0,97	-0,22
Zakrivljena duljina (mm) <i>Curved Length (mm)</i>	-0,36	-0,91
Zakrivljena širina (mm) <i>Curved Width (mm)</i>	-0,95	0,24
Volumen elipse (mm ²) <i>Vol. Ellipsoid (mm²)</i>	-0,99	0,02
Površina elipse (mm ²) <i>Surf. Area Ellipsoid (mm²)</i>	-0,97	-0,20
Indeks oblika sjemena <i>Seed shape index</i>	-0,68	0,72
Eigenvalue <i>Eigenvalue</i>	4,37	1,50
% Ukupno <i>% Total</i>	72,80	25,02
Kumulativno <i>Cumulative</i>	72,80	97,82

Na PCA ordinacijskom dijagramu vidi se jasno razdvajanje sjemenki iz malih plodova u odnosu na one iz srednje krupe i velikih (slika 1.).

4. RASPRAVA DISCUSSION

Prema Pelcu (1984), postoji velika varijabilnost u specifičnim značajkama divlje jabuke, pri čemu se varijabilnost kod plodova očituje kroz njihov oblik i boju. Reim i dr. (2012) pišu o veličini plodova divlje jabuke od 1,8–5,1 cm, s time da je većina istraživanih stabala imala plodove u duljinu i promjeru ispod 3,5 cm. Autori su utvrdili pozitivnu i visoku korelaciju između duljine i promjera ploda ($r=0,86$), dok je neznatna korelacija pronađena između težine ploda i veličine sjemena. Šebek (2013) piše kako je najveća prosječna težina ploda selekcioniranih tipova divlje jabuke iznosila 33,65 g, a najmanja 8,95 g. U našim istraživanjima prosječna



Slika 1. PCA ordinacijski dijagram analiziranih sjemenki divlje jabuke (*Malus sylvestris* (L.) Mill.) iz malih, srednje krupe i velikih plodova
Figure 1. PCA ordination diagram analyzed the seeds of wild apple (*Malus sylvestris* (L.) Mill. from small, medium and large fruits

težina velikih plodova (> 20 g) iznosila je 23,55 g, a malih plodova (< 10 g) 5,79 g.

Regent (1980) piše kako je prividni plod okruglast, promjera 2–4 cm, crvenkast, kiseo i jestiv, dok su sjemenke smeđe, po dvije u svakom od ukupno 5 pretinaca. Iz 100 kg plodova dobije se od 0,8–0,9 kg sjemena, dok 1 kg čistog sjemena sadrži od 10 000 do 45 000 ili u prosjeku 34 000 sjemenki, što je dosta manje nego u našim istraživanjima gdje je dobiveno u prosjeku 42 992 sjemenki u kg (34 482–45 455 kom). Franjić i Škvorc (2010) pišu kako je prividni plod kuglast ili jajast, prosječnog promjera 2–2,5 (-4 cm), žutozelen, na sunčanoj strani često crvenkast; na stupci; kiseloga okusa.

Prema Šebek (2013), prosječan broj sjemenki u kg iznosi u rasponu od 22 725 do 48 189 komada. Prema spomenutom autoru duljina i širina ploda su biološke značajke koje većinom ovise o genotipu (tipu ili varijetu) i nisu pod utjecajem klimatskih čimbenika pojedine godine. Krgović (1990) piše kako duljina i širina ploda nisu izravno proporcionalna težini ploda, što je suprotno našim istraživanjima gdje je utvrđena pozitivna i visoka korelacija između težine ploda i duljine ploda ($R=0,95$) odnosno širine ploda ($R=0,97$). Prema Brown (1966) i Mišić (1972), oblik ploda i njegova veličina upućuju na poligenetski način nasleđivanja. Rudloff i Schmidt (1953) pišu kako ne postoji poveznica između težine ploda i broja sjemenki, što je suprotno našim istraživanjima gdje je utvrđena visoka korelacija između težine ploda i broja punih sjemenki u plodu ($R=0,81$). Šebek (2013) piše kako je prosječno najveća duljina ploda iznosila 38,19 mm a najmanja 22,12 mm. Prosječno najveća

širina bila je 42,81 mm, a najmanja 27,78 mm. U našem istraživanju prosječna duljina velikih (> 20 g) plodova iznosila je 33,17 mm, a malih (< 10 g) 20,85 mm. Prosječna širina velikih plodova iznosila je 40,60 mm, a malih 24,00 mm.

Prema Keulemans i dr. (2006), prosječni promjer istraživanih plodova u Belgiji iznosio je 27,7 mm (7,7-35,3 mm), dok je u našim istraživanjima utvrđena prosječna širina ploda 24,1 mm. Prema Czarna i dr. (2013) prosječni promjer ploda iznosio je 23,60 mm (17-33 mm), prosječna visina ploda iznosila je 18,77 mm (14-26 mm). Omjer promjera i visine ploda iznosio je 1,26 (1-1,83). Broj sjemenki u plodu iznosio je 4,73 kom (1-9 kom), duljina sjemenke 4,63 mm (4,06-5,31 mm), širina sjemenke 3,06 mm (2,37-4,00 mm) i debljina sjemenke 1,39 mm (0,94-1,87 mm). Omjer duljine i širine sjemenke iznosio je 1,53 (1,28-1,98) te omjer debljine i širine sjemenke 0,46 (0,29-0,53).

Adamić (1963) piše kako sjeme jabuke može biti sitno, srednje i krupno. Prema Pelcu (1984), prosječna duljina sjemenke (ovisno o lokalitetu) iznosi u rasponu od 6,34 mm do 8,20 mm, prosječna širina od 3,74 mm do 4,28 mm i prosječna debljina od 2,18 mm do 2,65 mm. Prema istom autoru prosječni omjer između duljine i širine sjemenke iznosi od 1,59 do 1,92 mm, omjer između duljine i debljine od 2,39 mm do 3,49 mm, omjer između širine i debljine od 1,41 mm do 1,96 mm.

U ovom istraživanju utvrđena je pozitivna i značajna korelacija između težine ploda i težine sjemena u plodu u svježem i zračno suhom stanju ($R=0,59$), što je slično istraživanjima Drvodelića i dr. (2009) na oskoruši gdje su dobivene korelacije od $r=0,69$ i $0,77$. Kod divlje jabuke korelacija između težine ploda i broja punih sjemenki u plodu bila je pozitivna i značajna ($R=0,49$) slično istraživanjima Drvodelića i dr. (2009) na oskoruši ($r=0,44$ i $r=0,64$). Šebek (2013) piše kako je težina sjemena genetska značajka varijeteta i nije pod utjecajem značajki pojedinih godina. Isti autor piše o masi 100 zračno suhih sjemenki u rasponu od 2,076 g do 3,832 g, dok je u našim istraživanjima težina 100 zračno suhih sjemenki iz malih plodova iznosila u prosjeku 2,2 g, a iz velikih 2,9 g. Prema Stankoviću (1955), kvalitet sjemena ima svoje morfološke i biološke značajke, gdje je veličina sjemena najvažnije morfološko svojstvo, ali jednakoto tome razvoj sadnica i njihova otpornost ovise o biološkim svojstvima sjemena. Krupnoća sjemena utječe na njegovu kljivost, rast kljianaca i njihov normalan razvoj iz razloga što supke krupnjeg sjemena sadrže više rezervnih organskih tvari (Stanković i Jovanović 1977).

5. ZAKLJUČCI CONCLUSIONS

Utvrđena je statistički značajna razlika ($p<0,0001$) između malih, srednje krupnih i velikih plodova u sljedećim varijablama: duljina ploda (mm), širina ploda (mm), broj punih

sjemenki u plodu (kom), težina svježeg sjemena (g), težina zračno suhog sjemena (g) i gubitak vlage u sjemenu (%). Navedene varijable povećavaju se s masom ploda. Posebno je zanimljiv gubitak vlage u sjemenu kao fiziološki čimbenik, koji je u prosjeku za 8,667 % veći kod velikih plodova u odnosu na male. U slučaju malih plodova (< 10 g), utvrđena je pozitivna i vrlo visoka korelacija između širine ploda i duljine ploda ($R=0,83$), težine ploda i duljine ($R=0,91$) odnosno širine ($R=0,92$) ploda i težine sjemena u zračno suhom i svježem stanju ($R=0,97$). Kod srednje krupnih plodova (10-20 g), utvrđena je pozitivna i vrlo visoka korelacija između težine ploda i duljine ($R=0,74$) odnosno širine ($R=0,91$) ploda, širine ploda i težine svježeg ($R=0,75$) odnosno zračno suhog sjemena ($R=0,76$), broja punih sjemenki u plodu i težine sjemena u svježem ($R=0,94$) odnosno zračno suhom ($R=0,93$) stanju te težine sjemena u zračno suhom i svježem stanju ($R=0,99$). U slučaju velikih plodova (> 20 g), utvrđena je pozitivna i vrlo visoka korelacija između težine ploda i širine ploda ($R=0,84$), broja punih sjemenki u plodu i težine sjemena u svježem ($R=0,96$) odnosno zračno suhom ($R=0,96$) stanju te između težine sjemena u svježem i zračno suhom stanju ($R=0,99$). Provedena PCA analiza rezultirala je s dvije funkcije koje su imale veće eigen vrijednosti od 1,00 i koje su objasnile 97,82% ukupne varijabilnosti u morfološkim značajkama sjemena iz istraživanih plodova različite težine. Pojedine morfološke značajke sjemena kao što su projicirana površina, zakriviljena širina, volumen elipse, elipsoidna površina i indeks oblika pokazale su izuzetno visoke negativne vrijednosti s prvom osi, dok drugoj osi najviše pridonose varijable zakriviljena duljina (negativno) i indeks oblika (pozitivno).

6. LITERATURA

REFERENCES

- Adamić, F., 1963: Jugoslovenska pomologija- Jabuka, Zadružna knjiga, Beograd.
- Bonner, F. T., R. P. Karrfalt, 2008: The Woody Plant Seed Manual. United States Department of Agriculture Forest Service, 1239 str.
- Broothaerts, W., 2003: New findings in apple S-genotype analysis resolve previous confusion and request the renumbering of some S-alleles. *Theor. Appl. Genet.*, 106: 703–714.
- Brown, A. G., 1966: New Fruit from Old, *Fruit Present and Future*, 10-24.
- Bugała, W., 1991: Drzewa i krzewy dla terenów zieleni. Warsaw: PWRIŁ.
- Crossley, J. A., 1974: *Malus* Mill., apple. In: Schopmeyer CS, tech. coord. Seeds of woody plants in the United States. Agric. Handbk. 450. Washington, DC: USDA Forest Service: 531–533.
- Czarna, A., R. Nowińska, B. Gawrońska, 2013: *Malus ×oxysepalia* (*M. domestica* Borkh. × *M. sylvestris* Mill.) – a new spontaneous apple hybrid. *Acta Soc. Bot. Pol.*, 82 (2):147–156.
- Fellenberg, U., 2001: Beurteilung von Wildobst-Voraussetzung für geeignetes Vermehrungsgut zur Erhaltung von Waldgenres-sourcen. *Forst und Holz*, 56: 50–54.

- Dirr, M. A., C. W. Jr Heuser, 1987: Reference Manual of Woody Plant Propagation (*From Seed to Tissue Culture*), Athens, 239 str.
- Drvodelić, D., M. Oršanić, T. Jemrić, 2009: Morfološka svojstva plodova i sjemena oskoruše. Radovi, 44 (1): 5-15.
- Franjić, J., Ž. Škvorc, 2010: Šumsko drveće i grmlje Hrvatske. Sveučilište u Zagrebu, Šumarski fakultet, Zagreb, 432 str.
- Galot, G. J., C. R. Lamb, S. H. Aldwinckle, 1985: Resistance to Powdery Mildew from some Small-fruited *Malus* Cultivars, Hort, Science, 20.
- Hokanson, S. C., A. K. Swezc-McFadden, W. F. Lamboy, J. R. McFerson, 1998: Microsatellite (SSR) markers reveal genetic identities, genetic diversity and relationships in a *Malus x domestica* borkh. core subset collection. Theoretical and Applied Genetics, 97: 671-683.
- Keulemans, W., I. Roldán-Ruiz, M. Lateur, 2006: Studying apple biodiversity: opportunities for conservation and sustainable use of genetic resources. Belgian Science Policy, p 109.
- Kleinschmit, J., R. Stephan, 1997: Wild fruit trees. EUFORGEN Noble Hardwoods, Network, Reports, pp 51–59.
- Kleinschmit J., R. Stephan, I. Wagner I., 1998: Wild fruit trees (*Prunus avium*, *Malus sylvestris* and *Pyrus pyraster*). In: Noble hardwoods network; IPGRI/EUFORGEN Report of the second meeting, 22-25 March 1997, Lourizan, Spain. Compilers Turok J, Collin E, Demesure B, Erikson G, Kleinschmit J, Rusanen M, Stephan R. p 51-60.
- Krgović, Ij., 1990: Važnije pomološke i tehnološke osobine ploda sorti jabuka gajenih u Polimlju. Jugoslovensko voćarstvo, 94, Čačak.
- Larsen, A. S., E. D. Kjaer, 2009: Pollen mediated gene flow in a native population of *Malus sylvestris* and its implications for contemporary gene conservation management. Conserv. Genet., 10: 1637–1646.
- Mišić, P. D., 1972: Ispitivanje nasleđivanja nekih pomoloških osobina u jabuka, Glas 282 Srpske akademije nauka i umetnosti. Odeljenje prirodno-matematičkih nauka, 34: 71-84, Beograd.
- Mišić, P. D., 1984: Podloge voćaka, Nolit, Beograd.
- Müller, F., R. Litschauer, 1996: Unterscheidung zwischen Wildobstarten und verwilderten Kulturformen. Österreichische Forstzeitung, 3: 21–22.
- Nybom, H., 1992.: Freeze damage to flower buds of some apple cultivars. Journal of Horticultural Science, 67: 171–177.
- Pelc, S., 1984: Morphology and structure of wild apple (*Malus sylvestris* Mill.). Common pear (*Pyrus communis* L.) and *Chaenomeles japonica* (Thunb.) Lindl. seeds. Acta Societatis Botanicorum Poloniae, 53 (2): 159-170.
- Reim, S., H. Flachowsky, M. Michael, M. V. Hanke, 2006: Assessing gene flow in apple using a descendant of *Malus sieversii* var. *sieversii f. niedzwetzkyana* as an identifier for pollen dispersal. Environ. Biosafety Res., 5: 89–104.
- Reim, S., A. Proft, S. Heinz, M. Höfer, 2012: Diversity of the European indigenous wild apple *Malus sylvestris* (L.) Mill. in the East Ore Mountains (Osterzgebirge), Germany: I. Morphological characterization. Genet. Resour. Crop Evol. 59:1101–1114.
- Regent, B., 1980: Šumsko sjemenarstvo, Jugoslovenski poljoprivredni šumarski centar-služba šumske proizvodnje, Beograd, 201 str.
- Remmy, K., F. Gruber, 1993: Untersuchung zur Verbreitung und Morphologie des Wild-Apfels (*Malus sylvestris* (L.) Mill.). Mitt Deut Dendr Gesellsch, 81: 71–94.
- Robinson, J. P., S. A. Harris, B. E. Juniper, 2001: Taxonomy of the genus *Malus* Mill. (Rosaceae) with emphasis on the cultivated apple, *Malus domestica* Borkh. Plant Syst. Evol., 226 (1–2):35–58.
- Rudloff, C. F., M. Schmidt, 1953: Investigations on number of seeds and fruit weight and their mutual relations in certain apple varieties. Züchter, 23. pp.44-61. From Plant Breed. Abstr., 23, pp. 459-460.
- Schnitzler, A., C. Arnold, A. Comille, O. Bachmann, C. Schnitzler, 2014: Wild European Apple (*Malus sylvestris* (L.) Mill.) Population Dynamics: Insight from Genetics and Ecology in the Rhine Valley. Priorities for a Future Conservation Programme. PLoS ONE 9 (5): e96596. doi:10.1371/journal.pone.0096596
- Stanković, D., 1955: Opšte voćarstvo. I deo. Biološke i ekološke osnove voćarstva. Beograd.
- Stanković, D., M. Jovanović, 1977: Opšte voćarstvo. Beograd.
- Stefanie, R., A. Proft, S. Heinz, M. Höfer, 2012: Diversity of the European indigenous wild apple *Malus sylvestris* (L.) Mill. in the East Ore Mountains (Osterzgebirge), Germany: I. Morphological characterization. Genet. Resour. Crop. Evol., 59: 1101–1114.
- Stephan, R., I. Wagner, J. Kleinschmit, 2003: Technical Guidelines for genetic conservation and use for wild apple and pear (*Malus sylvestris* and *Pyrus pyraster*). International Plant Genetic Resources Institute, Rom, p 6.
- Šebek, G., 2013: Morphological characteristics of fruits of selected types of wild apples (*Malus silvestris* L.) in the area of Bijelo Polje. Agriculture & Forestry, 59 (2): 167-173.
- Tabel, U., W. D. Maurer, K. Remmy, 2000: Wildapfel und Wildbirne. Taxation der "Wildformnähe" in Klonsamenplantagen. AFZ/Der Wald, 16: 846–849.
- Wagner, I., 1996: Zusammenstellung morphologischer Merkmale und ihrer Ausprägung zur Unterscheidung von Wildund Kulturformen des Apfels (*Malus*) und des Birnbaumes (*Pyrus*). Mitt Deut Dendr Gesellsch, 82: 87–108.
- Wagner, I., 2006: *Malus sylvestris*. Enzyklopädie der Holzgewächse, 42:1–16.
- WinSEEDLE, 2011a: For seed and conifer needles analysis, Regent Instruments INC.; 1 Oct 2010. 104 str.
- Young, J. A., C. G. Young, 1992: Seeds of Woody Plants in North America, Portland, 407 str.
- http://www.euforgen.org/fileadmin/bioversity/publications/pdfs/EUFORGEN/922_Technical_guidelines_for_genetic_conservation_and_use_for_wild_apple_and_pear_Malus_sylvestris_and_Pyrus_pyraster_.pdf

Summary

The paper presents the results of the impact of fruit size of wild apples on a number of morphological and physiological seed properties. The fruits were divided into three groups with respect to mass: small (< 10 g), medium (10-20 g) and large (> 20.00 g). Significant morphological properties of fruits were measured. WinSEEDLE 2011 software was used for morphological analysis of seeds. SAS 9.2. package was used for statistical

analysis of ten morphological and physiological characteristics of seeds. The main components were analyzed using PCA (Statistica 7.0) in order to determine the variability of data and the relationship between some morphological characteristics of the seed. There was a statistically significant difference between small, medium and large fruits in the following variables: fruit length (mm), fruit width (mm), number of filled seeds per fruit (pieces), weight of fresh seeds (g), weight of air-dry seed (g) and loss of moisture in the seed (%). These variables increase with fruit weight. The loss of moisture in the seed was higher by 8.667% on average in large fruits in relation to small ones. In the case of small fruits (< 10 g), a positive and very high correlation was found between fruit width and length, between fruit weight and length, and between fruit width and weight of fresh and air-dry seed. In medium-sized fruit (10-20 g), there was a positive and very high correlation between fruit weight and fruit length and width, between fruit width and weight of fresh and air-dried seeds, between the number of filled seeds per fruit and seed weight in fresh or air-dry state and between weight of seeds in the air dry and fresh state. In the case of large fruits (> 20 g), there was a positive and very high correlation between the fruit shape index (FL/FW) and fruit length, fruit weight and fruit width, number of filled seeds per fruit and seed weight in fresh air or dry state, and between the weight of seeds in fresh and air-dry state. The conducted PCA analysis resulted in two functions that had eigen values larger than 1.00 and that explained 97.82% of the total variability in the morphological features of seeds from the investigated fruits of different weight. The projected area, the curved width, the volume of the ellipsoid, the surface area of the ellipsoid and the seed shape index showed extremely high negative values to the first axis, whereas the curved length (negative) and the seed shape index (positive) contributed the most to the second axis.

KEY WORDS: wild apple, fruit morphology, seed morphology, seed physiology, WinSEEDLE