

UTICAJ PROHEXADIONE-Ca I ZAKIDANJA PRVIH SERIJA MLADIH  
IZDANAKA NA FIZIOLOŠKA SVOJSTVA LISTA I PLODA  
SORTE MALINE 'WILLAMETTE'

Milena M. Poledica<sup>1</sup>, Jasminka M. Milivojević<sup>1\*</sup>, Dragan D. Radivojević<sup>1</sup>  
i Jelena J. Dragišić-Maksimović<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Nemanjina 6,  
11080 Beograd-Zemun, Srbija

<sup>2</sup>Univerzitet u Beogradu, Institut za multidisciplinarna istraživanja,  
Kneza Višeslava 1a, 11000 Beograd, Srbija

**Rezime:** U radu je proučavan uticaj retardanta rasta Prohexadione-Ca (ProCa) i pomotehničke mere zakidanja prvih serija mladih izdanaka na promene u sadržaju fotosintetskih pigmenata i modifikaciju aktivnosti enzima antioksidacionog zaštitnog sistema u listovima i plodovima sorte maline 'Willamette' (*Rubus idaeus* L.). Eksperiment izveden u periodu 2011–2012. godine obuhvatio je pet tretmana: kontrola – bez tretiranja; 2ProCa – sa dva tretiranja ProCa i bez zakidanja izdanaka; Z – sa jednim zakidanjem izdanaka i bez tretiranja ProCa; Z+2ProCa – sa jednim zakidanjem izdanaka i dva tretiranja ProCa; 2Z – sa dva zakidanja izdanaka i bez tretiranja ProCa. Prvo zakidanje mladih izdanaka je obavljeno sredinom aprila, a drugo krajem aprila u obe godine ispitivanja. U 2ProCa i Z+2ProCa tretmanu folijarna aplikacija sa ProCa vršena je dva puta u periodu april–maj u intervalu od tri nedelje srazmerno dinamici porasta novih izdanaka tj. u momentu kada oni dostignu visinu od 30 cm. Primenjene su sledeće koncentracije ProCa: 125 ppm (kod prvog tretiranja) i 200 ppm (kod drugog tretiranja). Statistički značajno veća prosečna vrednost sadržaja hlorofila b registrovana je u 2ProCa (42,84  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  sveže mase lista) i Z+2ProCa (46,12  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  sveže mase lista) tretmanima. Najveća aktivnost enzima superoksid dismutaze i peroksidaze registrovana je u listovima novih mladih izdanaka, koji su se razvili nakon primenjene mere zakidanja izdanaka. Z+2ProCa tretman je uticao na značajno povećanje aktivnosti katalaza u listovima maline (63,51 U  $\text{mg}^{-1}$  proteina). Obe navedene mere, a naročito primenjene u kombinaciji, uticale su na povećanje aktivnosti pomenutih enzima u plodu ispitivane sorte.

**Ključne reči:** malina, hemijski regulator rasta, rezidba, fotosintetski pigmenti, antioksidacioni zaštitni enzimi.

---

\*Autor za kontakt: e-mail: jasminka@agrif.bg.ac.rs

## Uvod

Jedan od osnovnih elemenata intenziviranja proizvodnje maline, pored introdukcije novih sorti i modifikacije postojećih sistema gajenja, je i kontrola vegetativnog porasta biljaka (Fotirić et al., 2009; Nikolić i Milivojević, 2010). Snažan vegetativni porast je čest problem sa kojim se suočavaju proizvođači, a uslovljen je postojanjem konkurentnosti između velike bujnosti i razvoja ploda, odnosno ostvarenog prinosa (Forshey i Elfing, 1989; Byers i Yoder, 1999; Basak i Rademacher, 2000; Costa et al., 2002). Malina u svom godišnjem ciklusu razvoja poseduje dva tipa izdanaka: mlade jednogodišnje izdanke koji se formiraju u tekućoj vegetaciji i odlikuju se snažnim vegetativnim porastom i rodne dvogodišnje izdanke formirane u prethodnoj vegetaciji koji su završili sa vegetativnim porastom, ali razvijaju rodne grančice. Oba tipa izdanaka pokazuju vegetativnu ili generativnu aktivnost, što može usloviti njihovu međusobnu konkurentnost u pogledu iskorišćavanja svetlosti, vode i hranljivih materija.

Tradicionalni načini kontrole rasta biljaka ogledaju se u primeni određenih sistema gajenja i rezidbi. Malina svake godine stvara veliki broj izdanaka, mnogo više nego što joj je potrebno da bi postigla visoke prinose dobrog kvaliteta (Nikolić i Milivojević, 2010). Zbog toga se primenjuje mera zakidanja prvih serija mladih izdanaka, kako bi kasnije ostavljeni i odabrani izdanci imali dovoljno prostora, svetlosti i hranljivih materija za svoj razvoj. Istraživanje Nenadića (1986) je potvrdilo da potpuno uklanjanje prvih serija mladih izdanaka pre početka cvetanja rodni dvogodišnjih izdanaka ima pozitivne efekte na prinose, kvalitet ploda i prevenciju bolesti. Novi mladi izdanci rastu u drugačijim uslovima sredine, što utiče na njihov fiziološki status i morfološke karakteristike. Najuočljivije promene zapažaju se u slabijem vegetativnom porastu i većem generativnom potencijalu za narednu godinu.

Biljni retardanti rasta su sintetička jedinjenja, koja na poželjan način smanjuju visinu biljaka bez menjanja razvojnih obrazaca i fitotoksičnih efekata (Rademacher, 2000). Njihov efekat na morfološku strukturu biljaka zasniva se na antagonističkom delovanju na auksine i gibereline, biljne hormone odgovorne za izduživanje ćelija. U savremenoj poljoprivrednoj praksi, poslednjih godina, našli su široku primenu u regulisanju vegetativnog porasta, smanjenju proizvodnih troškova i unapređenju produktivnosti. Prohexadione-Ca (ProCa; 3-oxido-4-propionyl-5-oxo-3-cyclohexene-carboxylate) je inhibitor biosinteze giberelina sa niskom toksičnošću i ograničenim delovanjem (Owens i Stover, 1999). Istraživanja Evans et al. (1999) su utvrdila da aplikacija ProCa redukuje nivo  $GA_1$  (visoko aktivnog giberelina) uz istovremenu akumulaciju njegovog prekursora  $GA_{20}$  (biološki inaktivnog giberelina) inhibirajući oksoglutarat-zavisne dioksigenaze koje katalizuju poslednje korake u biosintetskoj sekvenci giberelina.

Efekti regulatora raste su praćeni promenama u morfološkom razvoju i fiziološkim procesima tretiranih biljaka. Najuočljivije promene, pored redukcije vegetativnog porasta, obuhvataju manju potrošnju vode, usporavanje starenja i povećanje otpornosti biljaka na stres (Grossmann, 1992). Nova saznanja o metaboličkim putevima sinteze i razgradnje određenih jedinjenja ukazala su da pored pozitivnih efekata na regulisanje bujnosti i povećanje produktivnosti, biljni retardanti rasta mogu imati i neke sporedne efekte, značajne za poljoprivrednu praksu. Fletcher et al. (2000) i Dwyer et al. (2001) ističu da regulatori rasta povećavaju aktivnost antioksidacionih zaštitnih enzima kao što su: superoksid dismutaze, katalaze i peroksidaze, koji štite biljke od različitih vrsta oksidativnog stresa. ProCa je biljni regulator rasta nove generacije i danas se nedovoljno zna o njegovim efektima na fiziološki status biljke, promene fotoproduktivnosti i aktivnost enzima antioksidacionog zaštitnog sistema.

Plodovi maline imaju značajnu hranljivu, zaštitnu, dijetetsku i lekovitu vrednost. One su bazirane na bogatom biohemijskom sastavu ploda maline, ali mogu varirati u zavisnosti od vrste i sorte maline, rodnosti, stepena zrelosti plodova, ekoloških uslova, kao i primenjene agrotehnike (Nikolić i Milivojević, 2010). Prisustvo antioksidanata predstavlja važan parametar kvaliteta ploda, koji ne samo da utiče na očuvanje njegove hranljive vrednosti i senzoričkog kvaliteta, već je značajan i sa aspekta zdravstvene korisnosti za ljudski organizam (Deinghton et al., 2000; Moyer et al., 2002). Imajući u vidu da prisustvo enzima antioksidacionog zaštitnog sistema doprinosi ukupnom fenolnom metabolizmu, određivanje njihove aktivnosti u ekstraktima plodova maline predstavlja važan pokazatelj kvaliteta ploda.

Cilj ovog rada je bio da se ispita uticaj retardanta rasta ProCa i pomotehničke mere zakidanja prvih serija mladih izdanaka na promene u sadržaju hlorofila i karotenoida, i modifikaciju aktivnosti enzima antioksidacionog zaštitnog sistema u listovima i plodovima sorte maline 'Willamette'. Pomenuta jedinjenja imaju ključnu ulogu u fiziološkim procesima raste, fenolnom metabolizmu i drugim metaboličkim procesima u tkivu maline.

### **Materijal i metode**

Istraživanje je obavljeno u privatnom zasadu maline sorte 'Willamette' koji se nalazi u selu Tolisavac (opština Krupanj) u periodu 2011–2012. godina. Zasad je podignut 2000. godine po sistemu vertikalnog špalira sa dva reda jednostruke žice. Primenjeno rastojanje sadnje je 2,5 m između redova i 0,25 m u redu. Tokom izvođenja ogleda u zasadu je sprovedena standardna agro- i pomotehnika.

Ogled je postavljen po potpunom slučajnom planu i ispitivan je uticaj dva faktora: broj zakidanja tj. košenja prvih serija mladih izdanaka i folijarni tretman retardantom rasta Prohexadione-Ca ('Regalis<sup>®</sup>'). Eksperiment je obuhvatio pet

tretmana: kontrola – bez tretmana; 2ProCa – sa dva tretiranja ProCa i bez zakidanja izdanaka; Z – sa jednim zakidanjem izdanaka i bez tretiranja ProCa; Z+2ProCa – sa jednim zakidanjem izdanaka i sa dva tretiranja ProCa; 2Z – sa dva zakidanja izdanaka i bez tretiranja ProCa. Prvo zakidanje mladih izdanaka je obavljeno sredinom aprila, a drugo krajem aprila u obe godine ispitivanja. U 2ProCa i Z+2ProCa tretmanu folijarna aplikacija ProCa vršena je dva puta u periodu april–maj u intervalu od tri nedelje srazmerno dinamici porasta novih izdanaka tj. u momentu kada oni dostignu visinu od 30 cm. Primenjene su sledeće koncentracije ProCa: 125 ppm u prvom tretiranju i 200 ppm u drugom tretiranju.

Ispitivanje sadržaja hlorofila, karotenoida i enzimske aktivnosti u listovima kontrolnih i tretiranih biljaka vršeno je u 2011. godini. Uzorkovanje listova je obavljeno na jednogodišnjim izdancima u drugoj nedelji posle primene ProCa. Uzorak je obuhvatio 20 listova po tretmanu (četiri ponavljanja po pet listova).

Prikupljanje plodova za ispitivanje promena enzimskih aktivnosti je vršeno u fazi komercijalne zrelosti plodova u 2012. godini, a uzorak je obuhvatio 40 plodova po tretmanu (četiri ponavljanja po deset plodova).

Sadržaj hlorofila a i b i ukupnih karotenoida u listovima kontrolnih i tretiranih biljaka određen je spektrofotometrijski (Multiscan<sup>®</sup> Spectrum, Thermo electron corporation, Vantaa, Finland) praćenjem promene apsorbance na 663 nm za hlorofil a, 654 nm za hlorofil b i 470 nm za ukupne karotenoide (Lichtenthaler i Buschmann, 2001). Sadržaj hlorofila a i b i ukupnih karotenoida izražen je u  $\mu\text{g}$  po g sveže mase lista ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{sv.m.}$ ).

Sadržaj proteina u uzorcima listova i plodova je određen metodom prema Bradford-u (1976) nakon merenja apsorbance na 595 nm (LKB 5060-007, Microplate Reader, GDV, Roma, Italy) sa goveđim serum albuminom (BSA) kao standardom.

Promene enzimskih aktivnosti u listovima i plodovima kontrolnih i tretiranih biljaka (superoksid dismutaze – SOD, katalaze – CAT, peroksidaze – POD) određene su spektrofotometrijski (Shimadzu UV-2501PC, Shimadzu Corp., Kyoto, Japan).

Aktivnost SOD (EC 1.15.1.1) je izmerena preko inhibicije kiseonik-zavisne redukcije citohroma c (Cyt c) na 550 nm (McCord and Fridovich, 1969). Aktivnost SOD potrebna za smanjenje brzine redukcije citohroma c za 50% na pH 7.8, temperaturi 25°C i reakcionoj zapremini 3.0 mL je definisana kao jedinica aktivnosti ovog enzima (U).

Aktivnost CAT (EC 1.11.1.6) je izmerena preko promene apsorbance na 240 nm, kao posledica razgradnje  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Jedinica (U) je definisana kao količina enzima koja razgrađuje 1  $\mu\text{mol}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  u minuti na 25°C (Aebi, 1983).

Aktivnost POD (EC 1.11.1.7) je određena spektrofotometrijski prema Hammerschmidt et al. (1982) na 470 nm upotrebom gvajakola kao donora elektrona. Jedna jedinica (U) POD aktivnosti je definisana kao količina enzima koja katalizuje konverziju jednog  $\mu\text{mol}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  u minuti.

Eksperimentalni podaci su obrađeni po godinama u statističkom paketu „Statistica“ (verzija 6.0), primenom metode jednofaktorijalne analize varijanse (ANOVA). Analize su urađene u četiri ponavljanja, a rezultati su izraženi kao srednja vrednost ± standardna greška. Značajnost razlika između srednjih vrednosti tretmana utvrđena je LSD testom na nivou značajnosti 0,05.

### Rezultati i diskusija

Hlorofili su esencijalni pigmenti za konverziju svetlosne energije u hemijsku. Količina apsorbirane svetlosti od strane listova je u funkciji sadržaja fotosintetskih pigmenata, odnosno sadržaj hlorofila direktno određuje fotosintetski potencijal i primarnu produkciju (Curran et al., 1990; Filella et al., 1995). Karotenoidi su liposolubilni produkti izoprena i predstavljaju deo sistema antioksidacione zaštite od oksidativnog stresa (Perl-Treves i Perl, 2002). Pored toga što proširuju spektar apsorpcije fotosintetskog aparata i prenose apsorbiranu svetlosnu energiju bez gubitka na hlorofil a, karotenoidi štite fotolabilan fotosintetski sistem od oksidativne fotodestrukcije (Kastori, 1998). Rezultati uticaja tretiranja ProCa i zakidanja prvih serija mladih izdanaka na sadržaj fotosintetskih pigmenata (hlorofila a i b, i karotenoida) u listovima maline prikazani su u Tabeli 1.

Tabela 1. Uticaj Prohexadione-Ca (ProCa) i zakidanja prvih serija mladih izdanaka na sadržaj hlorofila a, hlorofila b i karotenoida u listu sorte maline ‘Willamette’ u 2011. godini.

*Table 1. Effect of Prohexadione-Ca (ProCa) and young canes removal on the content of chlorophyll a and b, and carotenoids in leaf of raspberry cultivar ‘Willamette’ in 2011.*

Tretman <i>Variant</i>	Sadržaj hlorofila a <i>Chlorophyll a content</i> ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{sv.m.}$ )	Sadržaj hlorofila b <i>Chlorophyll b content</i> ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{sv.m.}$ )	Sadržaj karotenoida <i>Content of carotenoids</i> ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{sv.m.}$ )
Kontrola/ <i>Control</i>	26,28 ± 4,2 a	26,11 ± 0,6 b	9,31 ± 0,6 a
2ProCa	25,74 ± 2,6 a	42,84 ± 0,5 a	8,36 ± 0,5 a
Z	25,78 ± 0,1 a	28,84 ± 5,5 b	8,34 ± 0,0 a
Z+2ProCa	26,25 ± 0,0 a	46,12 ± 1,1 a	9,38 ± 0,8 a
2Z	26,02 ± 0,1 a	28,81 ± 1,8 b	9,21 ± 0,4 a

2ProCa – dva tretiranja ProCa; Z – jedno zakidanje izdanaka; Z+2ProCa – jedno zakidanje izdanaka sa dva tretiranja ProCa; 2Z – dva zakidanja izdanaka. Različite slovne oznake u jednoj koloni ukazuju na statistički značajne razlike između ispitivanih tretmana na osnovu LSD testa za verovatnoću 0,05.

*2ProCa – two ProCa applications; Z – one removal of young canes; Z+2ProCa – young canes removal with two ProCa applications; 2Z – two removals of young canes. Values within column followed by the different letter are significantly different according to LSD test at  $P \leq 0.05$ .*

Analizom podataka iz Tabele 1 uočavamo da primena ProCa i zakidanja prvih serija mladih izdanaka pojedinačno i u kombinaciji nije uticala na promenu koncentracije hlorofila a i karotenoida u listovima maline u poređenju sa kontrolnim biljkama. Statistički značajno veća prosečna vrednost sadržaja hlorofila b registrovana je u 2ProCa ( $42,84 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  sv.m.) i Z+2ProCa ( $46,12 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  sv.m.) tretmanima. S obzirom na to da su prosečne vrednosti hlorofila b u tretmanima sa jednim ili dva zakidanja izdanaka bile približne vrednostima dobijenim kod kontrolnih biljaka, može se zaključiti da aplikacija ProCa doprinosi povećanju koncentracije hlorofila b. Hlorofil b ima manju važnost za proces fotosinteze, ali efikasno prenosi sopstvenu energiju iz pobuđenog stanja na hlorofil a. Ispitivanjem parametara fotoproduktivnosti kod jabuke Medjdoub et al. (2007) su utvrdili povećanje koncentracije hlorofila (a+b) po jedinici lisne površine nakon aplikacije ProCa, što je potvrđeno i drugim istraživanjima sa primenom ProCa (Sabatini et al, 2003; Reekie et al., 2005) ili drugih biljnih regulatora rasteња (Davis et al., 1988).

Reaktivne vrste kiseonika (ROS) kao što su: superoksid anjon ( $\text{O}_2^-$ ), hidroksil radikal (OH) i vodonik peroksid ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) nastaju tokom normalnih procesa rasteња ćelija i organa (Bustos et al., 2008). Istovremeno, intenzivna produkcija ROS izaziva oksidativni stres koji limitira rasteње. Dvostruka uloga ROS u stimulaciji i inhibiciji rasteња je definisana njihovom koncentracijom i vrstom (Knight, 2007). Stoga je prisustvo ROS strogo regulisano veoma kompleksnim mehanizmom njihove produkcije sa jedne i uklanjanja sa druge strane (Mittler et al., 2004). U Tabeli 2 prikazana je aktivnost enzima SOD, CAT i POD u listovima koje mogu imati različit uticaj na procese rasteња.

Statistički značajno veća vrednost aktivnosti SOD registrovana je u listovima novih mladih izdanaka koji su se razvili nakon primenjene mere zakidanja izdanaka u Z i 2Z tretmanima i karakterišu se intenzivnim rasteњem. U tretmanima gde je vršena aplikacija ProCa nije uočena statistički značajna razlika aktivnosti ovog enzima u poređenju sa kontrolnim biljkama. Dhindsa et al. (1982) navode da giberelinska kiselina predstavlja važan faktor intenzivnog rasteња i inhibiranja starenja tkiva putem modifikovanja procesa lipidne peroksidacije kroz održavanje visokog nivoa aktivnosti enzima SOD. S obzirom na to da se redukovanje vegetativnog porasta nakon primene ProCa bazira na inhibiciji biosinteze aktivnih oblika giberelina, blago povišena aktivnost ovog enzima u 2ProCa i Z+2ProCa tretmanima u odnosu na kontrolu se može objasniti stresnim stanjem izazvanim blokadom procesa izduživanja. SOD se smatra enzimom primarne odbrane jer je superoksid anjon radikal prvi produkt univalentne redukcije kiseonika i prva vrsta reaktivnog kiseonika koja se formira u brojnim biološkim sistemima (Bannister et al., 1987). Istovremeno, u procesima rasteња pod uticajem različitih enzimskih i neenzimskih faktora dolazi do produkcije  $\text{H}_2\text{O}_2$ , koji predstavlja supstrat za CAT.  $\text{H}_2\text{O}_2$  je uključen u vrlo različite reakcije vezane za sve aspekte rasta biljaka, kao što su razvoj korenovih dlačica, diferencijacija i lignifikacija ksilema, razgradnja i

konstruisanje ćelijskog zida, itd. Pored „normalne aktivnosti”  $H_2O_2$  koja se javlja u procesu rastenja, izlaganje biljaka različitim vrstama stresa može povećati njegovu koncentraciju u biljnom tkivu. Katalaze predstavljaju jedne od najaktivnijih enzima u prirodi jer pokazuju visoku specifičnost za  $H_2O_2$ , koga razlažu u ekstremno kratkom vremenu, naročito pri visokim koncentracijama  $H_2O_2$  u biljnom tkivu (Mhamdi et al., 2010). U Tabeli 2 najniža aktivnost CAT registrovana je u kontrolnom tretmanu ( $24,22 \text{ U mg}^{-1} \text{ prot.}$ ). Obe primenjene mere utiču na povećanje aktivnosti ovog enzima antioksidacione zaštite, a najveća vrednost registrovana je u Z+2ProCa tretmanu ( $63,51 \text{ U mg}^{-1} \text{ prot.}$ ).

Tabela 2. Uticaj ProCa i zakidanja prvih serija mladih izdanaka na sadržaj proteina i aktivnost SOD, CAT i POD u listu sorte maline ‘Willamette’ u 2011. godini.

*Table 2. Effect of ProCa and young canes removal on the content of proteins and SOD, CAT and POD activities in leaf of raspberry cultivar ‘Willamette’ in 2011.*

Tretman Variant	Sadržaj proteina <i>Content of proteins</i> ( $\text{mg mL}^{-1}$ )	Aktivnost SOD <i>Superoxide dismutase activity</i> ( $\text{U mg}^{-1} \text{ prot.}$ )	Aktivnost CAT <i>Catalase activity</i> ( $\text{U mg}^{-1} \text{ prot.}$ )	Aktivnost POD <i>Peroxidase activity</i> ( $\text{U mg}^{-1} \text{ prot.}$ )
Kontrola/ <i>Control</i>	$1,97 \pm 0,3 \text{ a}$	$13,10 \pm 0,1 \text{ c}$	$24,22 \pm 0,6 \text{ e}$	$14,35 \pm 0,5 \text{ cd}$
2ProCa	$1,28 \pm 0,1 \text{ bc}$	$15,38 \pm 0,6 \text{ c}$	$32,80 \pm 0,1 \text{ c}$	$14,38 \pm 1,0 \text{ cd}$
Z	$0,77 \pm 0,1 \text{ c}$	$28,55 \pm 1,3 \text{ a}$	$53,30 \pm 1,0 \text{ b}$	$24,31 \pm 3,7 \text{ b}$
Z+2ProCa	$0,78 \pm 0,1 \text{ c}$	$17,06 \pm 0,4 \text{ bc}$	$63,51 \pm 1,4 \text{ a}$	$41,75 \pm 1,2 \text{ a}$
2Z	$1,21 \pm 0,2 \text{ bc}$	$21,05 \pm 1,6 \text{ b}$	$29,02 \pm 1,2 \text{ d}$	$16,98 \pm 0,1 \text{ c}$

2ProCa – dva tretiranja ProCa; Z – jedno zakidanje izdanaka; Z+2ProCa – jedno zakidanje izdanaka sa dva tretiranja ProCa; 2Z – dva zakidanja izdanaka. Različite slovne oznake u jednoj koloni ukazuju na statistički značajne razlike između ispitivanih tretmana na osnovu LSD testa za verovatnoću 0,05.

*2ProCa – two ProCa applications; Z – one removal of young canes; Z+2ProCa – young canes removal with two ProCa applications; 2Z – two removals of young canes. Values within column followed by the different letter are significantly different according to LSD test at  $P \leq 0.05$ .*

POD su multifunkcionalni enzimi koji imaju važnu fiziološku ulogu u procesima rastenja, pre svega u konstruisanju ćelijskog zida i fenolnom metabolizmu (Dragišić-Maksimović et al., 2008), kao i u brojnim metaboličkim procesima u biljnom tkivu. Kao deo sistema antioksidacione zaštite katalizuju oksidaciju nekoliko supstrata na račun  $H_2O_2$ , a njihov nivo se značajno menja u procesima razvoja ćelije i pod uticajem različitih biotičkih i abiotičkih faktora (Barceló et al., 2003). Visoke vrednosti aktivnosti POD izmerene su u svim tretmanima gde je primenjena mera zakidanja izdanaka, a najveća aktivnost zabeležena je u Z+2ProCa tretmanu ( $41,75 \text{ U mg}^{-1} \text{ prot.}$ ). Samostalna primena ProCa nije rezultirala promenom aktivnosti POD, koja je bila na nivou kontrole ( $14,38 \text{ U mg}^{-1} \text{ prot.}$ ).

Oksidativni stres je uključen u mnoge biološke sisteme, među kojima su i zrenje i starenje plodova (Masia, 1998). Tokom normalnih procesa zrenja dolazi do povećanja sadržaja reaktivnih vrsta kiseonika paralelno sa porastom produkcije etilena (Brennan et al., 1977; Leshem et al., 1986; Masia, 1998; Gong et al., 2001). Rezultati ispitivanja uticaja tretiranja ProCa i zakidanja prvih serija mladih izdanaka na sadržaj proteina i enzimsku aktivnost SOD, CAT i POD u plodovima maline prikazani su u Tabeli 3.

Tabela 3. Uticaj ProCa i zakidanja prvih serija mladih izdanaka na sadržaj proteina, aktivnost SOD, CAT i POD u plodu sorte maline 'Willamette' u 2012. godini.

*Table 3. Effect of ProCa and young canes removal on the content of proteins and SOD, CAT and POD activities in fruit of raspberry cultivar 'Willamette' in 2012.*

Tretman <i>Variant</i>	Sadržaj proteina <i>Content of proteins (mg mL<sup>-1</sup>)</i>	Aktivnost SOD <i>Superoxide dismutase activity (U mg<sup>-1</sup> prot.)</i>	Aktivnost CAT <i>Catalase activity (U mg<sup>-1</sup> prot.)</i>	Aktivnost POD <i>Peroxidase activity (U mg<sup>-1</sup> prot.)</i>
Kontrola/ <i>Control</i>	1,17 ± 0,1 b	4,35 ± 0,2 c	47,07 ± 2,2 b	0,026 ± 0,0 c
2ProCa	1,09 ± 0,2 ab	62,47 ± 2,2 a	97,71 ± 21,6 ab	0,044 ± 0,0 c
Z	1,12 ± 0,1 ab	18,76 ± 2,6 b	114,99 ± 0,1 ab	0,048 ± 0,0 c
Z+2ProCa	0,65 ± 0,1 b	57,40 ± 3,2 a	150,95 ± 50,5 a	0,084 ± 0,0 a
2Z	1,11 ± 0,3 ab	8,78 ± 1,1 c	120,33 ± 44,6 ab	0,076 ± 0,0 b

2ProCa – dva tretiranja ProCa; Z – jedno zakidanje izdanaka; Z+2ProCa – jedno zakidanje izdanaka sa dva tretiranja ProCa; 2Z – dva zakidanja izdanaka. Različite slovne oznake u jednoj koloni ukazuju na statistički značajne razlike između ispitivanih tretmana na osnovu LSD testa za verovatnoću 0,05.

*2ProCa – two ProCa applications; Z – one removal of young canes; Z+2ProCa – young canes removal with two ProCa applications; 2Z – two removals of young canes. Values within column followed by the different letter are significantly different according to LSD test at P ≤ 0.05.*

CAT i SOD su najefikasniji antioksidacioni enzimi čijim se kombinovanim delovanjem O<sup>2-</sup> i H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> prevode u H<sub>2</sub>O i O<sub>2</sub> (Scandalios, 1993). Najveća aktivnost SOD izmerena je u 2ProCa i Z+2ProCa tretmanima (62,47 U mg<sup>-1</sup> prot. i 57,40 U mg<sup>-1</sup> prot., po redosledu). Najniža aktivnost CAT registrovana je u kontrolnom tretmanu (47,07 U mg<sup>-1</sup> prot.). Obe primenjene mere imale su pozitivan uticaj na aktivnost CAT u plodovima ispitivane sorte, a najveća aktivnost zabeležena je u Z+2ProCa (150,95 U mg<sup>-1</sup> prot.) tretmanu gde je ProCa primenjen nakon jednog zakidanja prvih serija mladih izdanaka. POD utiču na promene ukusa, boje, teksture i hranljive vrednosti sirovog i prerađenog voća (Filis et al., 1985), uključujući i promene u procesu sazrevanja (Miesle et al., 1991). To može prouzrokovati promene fizičkih, hemijskih i nutritivnih karakteristika plodova. POD su enzimi odgovorni za gubitak kvaliteta plodova kroz fenolnu degradaciju. U tretmanima gde su primenjena dva zakidanja izdanaka samostalno i jedno zakidanje u kombinaciji sa ProCa registrovane su najveće aktivnosti peroksidaza



(0,076 U mg<sup>-1</sup> prot. i 0,084 U mg<sup>-1</sup> prot., po redosledu). Dobijeni rezultati su u skladu sa istraživanjima Ramírez et al. (2010), koji su utvrdili značajno povećanje aktivnosti katalaza i peroksidaza u zrelih plodovima jabuke nakon tretmana biljaka sa ProCa.

### Zaključak

Aplikacija ProCa i zakidanje prvih serija mladih izdanaka doveli su do određenih promena u fiziološkim i metaboličkim putevima što je rezultiralo promenama u porastu i kvalitetu plodova biljaka maline. Nijedan od tretmana nije uticao na promenu koncentracije hlorofila a i karotenoida, dok je primena ProCa znatno povećala koncentraciju hlorofila b. Zakidanje prvih serija izdanaka uticalo je na povećanje aktivnosti SOD, a u kombinaciji sa primenom ProCa i aktivnosti POD i CAT u listovima sorte maline 'Willamette'. Pomenuti antioksidacioni enzimi štite biljke od oksidativnog stresa, koji se javlja normalno u procesima starenja. Obe navedene mere, a naročito primenjene u kombinaciji, uticale su na povećanje aktivnosti enzima CAT, POD i SOD u plodu ispitivane sorte, čime se ostvaruje pozitivan uticaj na očuvanje hranljive vrednosti i senzoričkog kvaliteta ploda maline.

### Zahvalnica

Ova istraživanja su finansijski podržana od strane Ministarstva za prosvetu, nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije (projekti 46008 i 173040).

### Literatura

- Aebi, H., (1983): Catalase. In: Bergmeyer, H.U. (Ed.), *Methods of enzymatic analysis*, 2nd edn. Verlag Chemie, Weinheim, Germany.
- Bannister, J.V., Bannister, W.H., Rotilio, G. (1987): Aspects of structure, function, and applications of superoxide dismutase. *Critical Reviews in Biochemistry* 22:111-180.
- Barceló, A.R., Pomar, F., Lopez-Serano, M., Pedreno, M.A. (2003): Peroxidase: a multifunctional enzyme in grapevines. *Functional Plant Biology* 30:557-591.
- Basak, A., Rademacher, W. (2000): Growth regulation of pome and stone fruit trees by use of prohexadione-Ca. *Acta Horticulturae* 514:41-51.
- Bradford, M.M. (1976): A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72:248-254.
- Brennan, T., Van Montagu, M., Inze, D. (1977): Involvement of hydrogen peroxide in regulation of senescence in pear. *Plant Physiology* 59:411-416.
- Bustos, D., Lascano, R., Villasuso, A.L., Machado, E., Senn, M.E., Córdoba, A., Taleisnik, E. (2008): Reduction in maize root-tip elongation by salt and osmotic stress do not correlate with apoplastic O<sup>2-</sup> levels. *Annals of Botany* 102:551-559.
- Byers, E., Yoder, K.S., (1999): Prohexadione-calcium inhibits apple, but not peach tree growth, but has little influence on apple fruit thinning or quality. *HortScience* 34:1205-1209.

- Costa, G., Andreotti, C., Sabatini, E., Bregoli, A.M., Bucchi, F., Spada, G., Mazzini, F. (2002): The effect of prohexadione-Ca on vegetative and cropping performance and fire blight control of pear trees. *Acta Horticulturae* 596:531-534.
- Curran, P.J., Dungan, J.L., Gholz, H.L. (1990): Exploring the relationship between reflectance red edge and chlorophyll content in slash pine. *Tree Physiology* 7:33-48.
- Davis, T.D., Steffens, G.L., Sankhla, N. (1988): Triazole plant growth regulators. *Horticultural Reviews* 10:63-105.
- Deinghton, N., Brennan, R., Finn, C., Davies H.V. (2000): Antioxidant properties of domesticated and wild *Rubus* species. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80:1307-1313.
- Dhindsa, R.S., Plumb-Dhindsa, P.L., Reid, D.M. (1982): Leaf senescence and lipid peroxidation: Effects of some phytohormones, and scavengers of free radicals and singlet oxygen. *Physiologia Plantarum* 56:453-457.
- Dragišić-Maksimović, J., Maksimović, V., Živanović, B., Hadži-Tašković Šukalović, V., Vuletić, M. (2008): Peroxidase activity and phenolic compounds content in maize root and leaf apoplast, and their association with growth. *Plant Science* 175:656-662.
- Dwyer, J.P., Bannister, P., Jameson, P.E. (2001): Effects of three plant growth regulators on growth, morphology, water relations, and frost resistance in lemon wood (*Pittosporum eugenioides* A.Cunn.). *New Zealand Journal of Botany* 33:415-424.
- Evans, J.R., Evans, R.R., Regusci, C.L., Rademacher, W. (1999): Mode of action, metabolism, and uptake of BUS 125W, prohexadione-calcium. *HortScience* 34:1200-1201.
- Filella, I., Serrano, I., Serra, J., Peuelas, J. (1995): Evaluating wheat nitrogen status with canopy reflectance indices and discriminant analysis. *Crop Science* 35:1400-1405.
- Filis, B., Sauvage, F.X., Nicolas, J. (1985): Tomato peroxidases, purification and some properties. *Sciences des Aliments* 5:217-232.
- Fletcher, A., Gilley, A., Sankhla, N., Davies, T. (2000): Triazoles as plant growth regulators and stress protectants. *Horticultural Reviews* 24:55-138.
- Fotirić, M., Nikolić, M., Milivojević, J., Nikolić, D. (2009): Selection of red raspberry genotypes (*Rubus idaeus* L.). *Journal of Agricultural Sciences (Belgrade)* 54(1):12-19.
- Forshey, C.G., Elfing, D.C. (1989): The relationship between vegetative growth and fruiting in apple trees. *Horticultural Reviews* 11:229-287.
- Gong, Y., Toivonen, P.M.A., Lau, O.L., Wiersma, P.A. (2001): Antioxidant system level in 'Braeburn' apple is related to its browning disorder. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 42:259-264.
- Grossmann, K. (1992): Plant growth retardants: their mode of action and benefit for physiological research. *Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture* 13:788-797.
- Hammerschmidt, R., Nuckles, E.M., Kuc, J. (1982): Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*. *Physiology and Plant Pathology* 20:73-82.
- Kastori, R. (1998): Fiziologija biljaka. Feljton, Novi Sad.
- Knight, M.R. (2007): New ideas on root hair growth appear from the flanks. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 104:20649-20650.
- Leshem, Y.Y., Halevy, A.H., Frenkel, C., Frimer, A.A. (1986): Oxidative processes in biological systems and their role in plant senescence. In: Leshem, Y.Y., Halevy, A.H., Frenkel, C. (Eds.), *Processes and control of plant senescence developments in crop science*. Elsevier, Amsterdam.
- Lichtenthaler, H.K., Buschmann, C. (2001): Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. In: Acree, T.A., An, H., Decker, E.A., Panner, M.H., Reid, D.S., Schwartz, S.J., Shoemaker, C.F., Sporns, P. (Eds.), *Current protocols in food analytical chemistry*. John Wiley & Sons, New York, USA. pp. F4.3.1-F4.3.8.
- Masia, A. (1998): Superoxide dismutase and catalase activities in apple fruit during ripening and post-harvest and with special reference to ethylene. *Physiologia Plantarum* 104:668-672.

- McCord, J.M., Fridovich, I. (1969): Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocyperin (hemocuperin). *Journal of Biological Chemistry* 244:6049-6055.
- Medjdoub, R., Val, J., Blanco, A. (2007): Physiological effects of prohexadione-calcium in apple trees: effects on parameters related to photoproductivity. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 82:126-132.
- Mhamdi, A., Queval, G., Chaouch, S., Vanderauwera, S., Van Breusegem, F., Noctor, G. (2010): Catalase function in plants: a focus on *Arabidopsis* mutants as stress-mimic models. *Journal of Experimental Botany* 61(15):1-24.
- Miesle, T.J., Proctor, A., Lagrimini, L.M. (1991): Peroxidase activity, isoenzymes, and tissue localization in developing highbush blueberry fruit. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 115:827-830.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M., Van Breusegem, F. (2004): The reactive oxygen species in plants. *Trends in Plant Science* 9:490-498.
- Moyer, R.A., Hummer, K.E., Finn, C.E., Frei, B., Wrolstad, R.E. (2002): Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: *Vaccinium*, *Rubus*, and *Ribes*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50:519-525.
- Nenadić, D. (1986): Uklanjanje prvih serija izdanaka - nov metod u gajenju maline. *Jugoslovensko voćarstvo* 20(75-76):539-543.
- Nikolić, M., Milivojević, J. (2010): Jagodaste voćke - tehnologija gajenja. Naučno voćarsko društvo Srbije, Čačak.
- Owens, C.L., Stover, E. (1999): Vegetative growth and flowering of young apple trees in response to prohexadione-calcium. *HortScience* 34(7):1194-1196.
- Perl-Treves, R., Perl, A. (2002): Oxidative stress: an introduction. In: Inze D., Van Montagu, M. (Eds.), *Oxidative stress in plants*. Taylor and Francis Books, London and New York.
- Rademacher, W. (2000): Growth retardants: effects on gibberellin biosynthesis and other metabolic pathways. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 51:501-531.
- Ramírez, H., Leza-Hernández, P.C., Benavides, A., Amado-Ramírez, C., Martínez-Osorio, A., Rivera-Cruz, C.E. (2010): Prohexadione-Ca modifies content of gibberellins and vitamin C, antioxidant capacity and enzymatic activity in apple. *Acta Horticulturae* 884:139-144.
- Reekie, J.Y., Hicklenton, P.R., Struik, P.C. (2005): Prohexadione-calcium modifies growth and increases photosynthesis in strawberry nursery plants. *Canadian Journal of Plant Science* 85:671-677.
- Sabatini, E., Noferini, M., Fiori, G., Grappadelli, L.C., Costa, G. (2003): Prohexadione-Ca positively affects gas exchanges and chlorophyll content of apple and pear trees. *European Journal of Horticultural Science* 68:123-128.
- Scandalios, J.G. (1993): Oxygen stress and superoxide dismutase. *Plant Physiology* 101:7-12.

Primljeno: 9. septembra 2013.  
Odobreno: 3. oktobra 2013.

EFFECT OF PROHEXADIONE-Ca AND YOUNG CANES REMOVAL ON  
PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF LEAF AND FRUIT IN  
RASPBERRY CULTIVAR 'WILLAMETTE'

Milena M. Poledica<sup>1</sup>, Jasminka M. Milivojević<sup>1\*</sup>, Dragan D. Radivojević<sup>1</sup>  
and Jelena J. Dragišić-Maksimović<sup>2</sup>

<sup>1</sup>University of Belgrade, Faculty of Agriculture, Nemanjina 6,  
11080 Belgrade-Zemun, Serbia

<sup>2</sup>University of Belgrade, Institute for Multidisciplinary Research,  
Kneza Višeslava 1a, 11000 Belgrade, Serbia

A b s t r a c t

The research was designed to evaluate the effect of growth regulator Prohexadione-Ca (ProCa) and young canes removal on the changes of photosynthetic pigment content and modification activities of antioxidant enzyme defense system in leaves and fruits of raspberry cultivar 'Willamette' (*Rubus idaeus* L.). The experiment was performed in the period of 2011–2012. It consisted of five treatments: control – no treatment; 2ProCa – with 2 ProCa applications; Z – one removal of young canes; Z+2ProCa – young canes removal with 2 ProCa applications; 2Z – two removals of young canes. The first series of young canes were removed for the first time in mid-April and for the second time at the beginning of May. In 2ProCa and Z+2ProCa treatments foliar application of ProCa was carried out twice during the period of April–May in interval of three weeks, i.e. when the primocane growth reached 30 cm in height. The following concentrations of ProCa: 125 ppm (first application) and 200 ppm (second application) were applied. Significantly higher mean values of chlorophyll b content were registered in the 2ProCa (42.84  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  FW) and Z+2ProCa (46.12  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  FW) treatment. The highest SOD and POD activities were found in leaves of new young canes which developed after the young canes removal was applied. Z+2ProCa treatment significantly increased CAT activity in raspberry leaves (63.51 U  $\text{mg}^{-1}$  prot.). Both of implemented measures, especially applied in combination, resulted in higher activity of CAT, POD and SOD enzymes in the fruits of the examined cultivar.

**Key words:** raspberry, chemical growth regulator, pruning, photosynthetic pigments, antioxidative enzymes.

Received: September 9, 2013

Accepted: October 3, 2013

---

\*Corresponding author: e-mail: jasminka@agrif.bg.ac.rs