

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Neža KERMAVNAR

**RAZLIKE V MORFOLOŠKIH IN KEMIJSKIH
LASTNOSTIH CIKLAM
(*Cyclamen purpurascens* Mill.)**

MAGISTRSKO DELO

Magistrski študij – 2. stopnja

Ljubljana, 2016

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Neža KERMAVNAR

**RAZLIKE V MORFOLOŠKIH IN KEMIJSKIH LASTNOSTIH
CIKLAM (*Cyclamen purpurascens* Mill.)**

MAGISTRSKO DELO
Magistrski študij – 2. stopnja

**DIFFERENCES IN MORPHOLOGICAL AND CHEMICAL
PROPERTIES OF CYCLAMEN (*Cyclamen purpurascens* Mill.)**

M. SC. THESIS
Master Study Programmes

Ljubljana, 2016

Magistrsko delo je zaključek Magistrskega študijskega programa 2. stopnje Hortikultura. Rastlinski material za poskus je bil nabran v Botaničnem vrtu Univerze v Ljubljani. Analiza vzorcev in statistična obdelava podatkov sta bili opravljeni na Katedri za sadjarstvo, vinogradništvo in vrtnarstvo Oddelka za agronomijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Študijska komisija Oddelka za agronomijo je za mentorico magistrskega dela imenovala doc. dr. Majo MIKULIČ PETKOVŠEK in za somentorja doc. dr. Jožeta BAVCONA.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednica: prof. dr. Metka HUDINA
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Članica: doc. dr. Maja MIKULIČ PETKOVŠEK
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: doc. dr. Jože BAVCON
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

Član: prof. dr. Gregor OSTERC
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Datum zagovora:

Podpisana izjavljam, da je naloga rezultat lastnega raziskovalnega dela. Izjavljam, da je elektronski izvod identičen tiskanemu. Na univerzo neodplačno, neizključno, prostorsko in časovno neomejeno prenašam pravici shranitve avtorskega dela v elektronski obliki in reproduciranja ter pravico omogočanja javnega dostopa do avtorskega dela na svetovnem spletu preko Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete.

Neža Kermavnar

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Du2
DK	UDK 635.9:582.688.92:581.19:581.4/.5(043.2)
KG	okrasne rastline/ciklame/ <i>Cyclamen purpurascens</i> /morfološki parametri/klorofil/ antociani/pigmenti/rastišče
AV	KERMAVNAR, Neža
SA	MIKULIČ PETKOVŠEK Maja (mentor), BAVCON Jože (somentor)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
LI	2016
IN	RAZLIKE V MORFOLOŠKIH IN KEMIJSKIH LASTNOSTIH CIKLAM (<i>Cyclamen purpurascens</i> Mill.)
TD	Magistrsko delo (Magistrski študijski program - 2. stopnja)
OP	IX, 41 str., 1. pregl., 20 sl., 36 vir.
IJ	sl
JJ	sl/en
AI	Liste navadne ciklame smo pobirali skozi dve rastni sezoni (2013 in 2014). Vzorčili smo 16 genotipov ciklam iz treh matičnih lokacij (Dragonja, Dol pri Hrastovljah in Mengore). Lokaciji Dragonja in Dol pri Hrastovljah smo uvrstili v sončni lokaciji, lokacijo Mengore pa v senčno lokacijo. Na rastlinah smo izvedli različne morfološke meritve, izmerili barvne parametre, analizirali vsebnost antocianov in njihovo zastopanost ter vsebnost klorofila, da bi ugotovili kako različne matične lokacije vplivajo na analizirane parametre listov navadne ciklame. Lokacija ni imela vpliva na morfološke lastnosti listov. Vsebnost skupnih antocianov je bila največja v listih ciklam iz lokacije Dragonja in Mengore. Listi ciklam so vsebovali največ antociana malvidin-3,5-diglukozid in sicer na lokaciji Dragonja (120,5 µg/mg). Najmanj pa so listi vsebovali antociana cianidin-3-neohesperidozid in sicer na lokaciji Dol pri Hrastovljah (1,4 µg/mg). Najsvetlejšje liste so imele ciklame iz lokacije Dol pri Hrastovljah in Mengore. Listi ciklam iz lokacije Mengore so imeli največjo vsebnost skupnih pigmentov in vsebnost klorofila a.

KEY WORDS DOCUMENTATION

ND Du2

DC UDC 635.9:582.688.92:581.19:581.4/.5(043.2)

CX ornamental plants/cyclamen/*Cyclamen purpurascens*/morphological parameters/pigments/anthocyanins/chlorophylls/locations

AU KERMAVNAR, Neža

AA MIKULIČ PETKOVŠEK, Maja (supervisor), BAVCON Jože (co-advisor)

PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101

PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Agronomy

PY 2016

TY DIFFERENCES IN MORPHOLOGICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF CYCLAMEN (*Cyclamen purpurascens* Mill.)

DT M. Sc. Thesis (Master Study Programmes)

NO IX, 41 p., 1 tab., 20 fig., 36 ref.

LA sl

Al sl/en

AB Leaves of the common cyclamen were collected through two growing seasons (2013 and 2014). There were sampled 16 genotypes of cyclamen which were grown in three different locations (Dragonja, Dol pri Hrastovljah and Mengore). Locations Dragonja and Dol pri Hrastovljah were coupled into a sunny location, while location Mengore was set into a shady location. Various morphological measurements were analyzed on plants. With the intention to determine how various origin locations affect the analyzed parameters of cyclamen leaves, colour parameters were measured as well as content of anthocyanins, their representation and the content of chlorophyll were analysed. Our research revealed that location had no influence on the morphological characteristics of leaves. The highest content of anthocyanins was measured in cyclamen leaves from the location Dragonja and Mengore. Leaves of the common cyclamen contained the malvidin-3,5-diglucoside as the major anthocyanin and the highest content was measured in the location Dragonja (120,5 µg/mg). Meanwhile they contained cianidin-3-neohesperidoside in less concentration in the location Dol pri Hrastovljah (1,4 µg/mg). The brightest leaves of cyclamen were found out from the location Dol pri Hrastovljah and Mengore. The leaves of cyclamen from the location Mengore had the highest content of total pigments and chlorophyll a.

KAZALO VSEBINE

	Str.
KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA.....	III
KEY WORDS DOCUMENTATION.....	IV
KAZALO VSEBINE.....	V
KAZALO PREGLEDNIC.....	VII
KAZALO SLIK.....	VIII
1 UVOD.....	1
1.1 VZROK ZA RAZISKAVO.....	1
1.2 NAMEN RAZISKAVE.....	1
1.3 DELOVNA HIPOTEZA	2
2 PREGLED OBJAV.....	3
2.1 RAZŠIRJENOST CIKLAM.....	3
2.2 RAZDELITEV	3
2.2.1 Navadna ciklama.....	4
2.2.1.1 Razmnoževanje.....	5
2.2.1.2 Vegetativno razmnoževanje v naravi.....	5
2.2.1.3 Vegetativno razmnoževanje v kulturi	5
2.2.1.4 Generativno razmnoževanje v kulturi.....	5
2.2.1.5 Gojenje in oskrba	6
2.3 BARVA PRI OKRASNIH RASTLINAH	7
2.3.1 Definicija barve	7
2.4 ANTOCIANI.....	8
2.4.1 Osnovna struktura antocianov	8
2.4.2 Biosinteza antocianov	10
2.4.3 Spremembe odvisne od pH celičnega soka	11
2.4.4 Ekološki pomen pigmentov in vpliv zunanjih dejavnikov na njihovo sintezo....	11
3 MATERIAL IN METODE DELA	13
3.1 MATERIAL	13
3.1.1 Rastlinski material	13
3.2 METODE DELA.....	13
3.2.1 Določanje morfoloških parametrov.....	13
3.2.2 Določanje vsebnosti antocianov v listih.....	14

3.2.3 Priprava vzorcev za analizo na HPLC- MS	14
3.2.4 Določanje barvnih parametrov	14
3.2.5 Določanje vsebnosti klorofila v listih	15
3.3 STATISTIČNA ANALIZA	16
4 REZULTATI	17
4.1 POVRŠINA ROZETE, ŠIRINA IN DOLŽINA NAJVEČJEGA LISTA IN ŠTEVILO LISTOV	17
4.1.1 Površina rozete	17
4.1.2 Dolžina največjega lista	18
4.1.3 Širina največjega lista	19
4.1.4 Število listov	20
4.2 VSEBNOST ANTOCIANOV V LISTIH CIKLAME	20
4.2.1 Vsebnost malvidin-3,5-diglukozida	21
4.2.2 Vsebnost cianidin-3-neohesperidozida	22
4.2.3 Vsebnost peonidin-neohesperidozida	23
4.2.4 Vsebnost malvidin-3-rutinozida	24
4.2.5 Vsebnost malvidin-3-glukozida	25
4.2.6 Vsebnost skupnih antocianov	26
4.3 VSEBNOST KLOOROFILA	27
4.3.1 Vsebnost klorofila a	27
4.3.2 Vsebnost klorofila b	28
4.3.3 Vsebnost skupnih karotenoidov	29
4.3.4 Vsebnost skupnih pigmentov	30
4.4 OSNOVNA BARVA LISTOV	30
5 RAZPRAVA IN SKLEPI	32
5.1 RAZPRAVA	32
5.1.1 Morfološki parametri	32
5.1.2 Antociani	32
5.1.3 Klorofil	34
5.1.4 Osnovna barva listov	35
5.2 SKLEPI	36
6 POVZETEK	37
7 VIRI	38
ZAHVALA	

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Analizirani kolorimetrični parametri na listih navadne ciklame $\pm$ standardna napaka na različnih lokacijah. Različne črke označujejo statistično značilne razlike med lokacijami ($p \leq 0,05$); Ljubljana, 2016	31
---	----

KAZALO SLIK

Slika 1: Navadni gomolj navadne ciklame (Foto- narava ..., 2015).....	5
Slika 2: Ciklama kot lončnica (Bavcon, 2015).....	7
Slika 3: Vidni spekter (Ultravijolična ..., 2015)	8
Slika 4: Shema biosinteze antocianov (Petroni in Tonelli, 2011)	11
Slika 5: Ciklame v lončkih v Botaničnem vrtu v Ljubljani (Botanični ..., 2015).....	13
Slika 6: CIE Lab barvni prostor (JISC, 2015)	15
Slika 7: Povprečna površina rozete navadne ciklame (cm ²) na različnih lokacijah. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike med lokacijami ($p \leq 0,05$); Ljubljana, 2016	17
Slika 8: Povprečna dolžina največjega lista navadne ciklame (cm) na različnih lokacijah. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike med lokacijami ($p \leq 0,05$); Ljubljana, 2016.....	18
Slika 9: Povprečna širina največjega lista navadne ciklame (cm) na različnih lokacijah. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike med lokacijami ($p \leq 0,05$); Ljubljana, 2016.....	19
Slika 10: Povprečno število listov navadne ciklame na različnih lokacijah. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike med lokacijami ($p \leq 0,05$); Ljubljana, 2016	20
Slika 11: Vsebnost antociana malvidin- 3,5-diglukozida v listih navadne ciklame ($\mu\text{g}/\text{mg}$) na različnih lokacijah. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike med lokacijami ($p \leq 0,05$); Ljubljana, 2016	21
Slika 12: Vsebnost antociana cianidin-3-neohesperidozida v listih navadne ciklame ($\mu\text{g}/\text{mg}$) na različnih lokacijah. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike med lokacijami ($p \leq 0,05$); Ljubljana, 2016	22
Slika 13: Vsebnost antociana peonidin-neohesperidozida v listih navadne ciklame ($\mu\text{g}/\text{mg}$) na različnih lokacijah. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike med lokacijami ($p \leq 0,05$); Ljubljana, 2016	23
Slika 14: Vsebnost antociana malvidin-3-rutinozida v navadne ciklame ($\mu\text{g}/\text{mg}$) na različnih lokacijah. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike med lokacijami ($p \leq 0,05$); Ljubljana, 2016	24
Slika 15: Vsebnost antociana malvidin-3-glukozida v listih navadne ciklame ($\mu\text{g}/\text{mg}$) na različnih lokacijah. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike med lokacijami ($p \leq 0,05$); Ljubljana, 2016	25
Slika 16: Vsebnost skupnih antocianov v listih navadne ciklame ($\mu\text{g}/\text{mg}$) na različnih lokacijah. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike med lokacijami ($p \leq 0,05$); Ljubljana, 2016.....	26

Slika 17: Vsebnost klorofila a v listih navadne ciklame ($\mu\text{g}/\text{mg}$) na različnih lokacijah. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike med lokacijami ($p \leq 0,05$); Ljubljana, 2016.....	27
Slika 18: Vsebnost klorofila b v listih navadne ciklame ($\mu\text{g}/\text{mg}$) na različnih lokacijah. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike med lokacijami ($p \leq 0,05$); Ljubljana, 2016.....	28
Slika 19: Vsebnost skupnih karotenoidov v listih navadne ciklame ($\mu\text{g}/\text{mg}$) na različnih lokacijah. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike med lokacijami ($p \leq 0,05$); Ljubljana, 2016.....	29
Slika 20: Vsebnost skupnih pigmentov v listih navadne ciklame ($\mu\text{g}/\text{mg}$) na različnih lokacijah. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike med lokacijami ($p \leq 0,05$); Ljubljana, 2016.....	30

1 UVOD

1.1 VZROK ZA RAZISKAVO

Okrasne rastline so rastlinske vrste, ki jih gojimo zaradi njihove okrasne vrednosti. Okrasno vrednost imajo v času rasti in razvoja s svojimi deli in organi, kot so listi, cvetovi, plodovi, lahko tudi z lubjem.

Navadna ciklama je vednozelená trajnica, ki jo srečujemo v gozdovih in na gozdnih robovih skoraj po vsej Sloveniji. V gozdu jo spomladi in pozimi lahko prepoznamo po značilnih temnozelenih listih, ki so na spodnji strani običajno vijoličasti, na zgornji strani pa imajo zanimive svetlozelene ali srebrnkaste vzorce. V poznem poletju in jeseni, ko cveti, lahko opazujemo čudovite cvetove različnih barv. Zato so to rastlino v preteklosti ljudje radi sadili v lonce in balkonska korita, da je z zanimivimi vzorčastimi listi in tudi cvetovi krasila naše balkone. V zadnjih desetletjih je navadno ciklamo z naših balkonov močno izpodrinila perzijska ciklama (*Cyclamen persicum* Mill.), pri kateri rastline še zdaleč niso tako barvno pestre, kot pri navadni ciklami.

Kupci si pri ciklamah želijo bolj temne cvetove intenzivnih barv in marmoriranost cvetov ter marmoriranost listov, zaželjene so tudi posebne oblike listov in cvetov (npr. nazobčanost robov...). Ključnega pomena za barvo cvetov in listov je vsebnost antocianov in razmerja med njimi, ter vsebnost klorofila v listih.

Rastišče je pomemben dejavnik, ki vpliva na samo rast in razvoj rastline, posega v primarni in sekundarni metabolizem pri rastlinah in s tem tudi na vsebnost antocianov. Zadostna preskrbljenost rastlin z vodo in mineralnimi hranili uravnava ustrezno preskrbo rastlin, ki posledično vpliva na tvorbo primarnih in sekundarnih metabolitov, med drugimi tudi na antociane. Samo rastišče ključno vpliva na samo barvo cvetov in listov. Ta mora biti intenzivna in kakovostna. Na barvo cvetov in prav tako listov vplivajo različni dejavniki, pomembni pa so tudi različni tehnološki ukrepi. Na splošno pri okrasnih rastlinah notranji in zunanji parametri opredeljujejo prodajno uspešnost.

1.2 NAMEN RAZISKAVE

V raziskavi smo želeli ugotoviti, ali se značilne lastnosti ciklam (barva in marmoriranost listov) ohranjajo tudi pri naslednjih generacijah, tudi če spremenimo rastišče ciklame. Zanima nas namreč ali so specifične lastnosti posameznih osebkov (pri ciklami marmoriranost listov, barvni odtenek listov, intenziteta barve cvetov,...), ki jih najdemo v naravi genetsko določene ali ne. V primeru, da so genetsko določene, se namreč te lastnosti

ohranijo tudi pri naslednjih generacijah, v primeru da rastlina spremeni rastišče in podobno. Zato je za prakso izjemno pomembno, da to testiramo in del tega testiranja je bila tudi naša raziskava. Ugotavljali smo ali obstajajo razlike med različnimi tipi ciklam, želeli smo ugotoviti ali obstajajo razlike v morfoloških (širina in dolžina lista, površina rozete in število listov, barvni parametri) in kemijskih lastnostih (vsebnost klorofila, zastopanost in vsebnost antocianov).

1.3 DELOVNA HIPOTEZA

Postavili smo si delovno hipotezo: značilne lastnosti ciklam (barva in marmoriranost listov) se bodo ohranile pri spremembi rastišča. Predpostavili smo, da med lokacijami ni razlik v vsebnosti antocianov.

2 PREGLED OBJAV

2.1 RAZŠIRJENOST CIKLAM

Rod ciklam (*Cyclamen*) vsebuje zelo različne vrste (22). V večjem delu gre za vrste, ki uspevajo v mediteranskem bazenu ali na območjih, ki se ga dotikajo. Za mediteransko klimo so značilne hladne, mokre zime ter vroča in suha poletja. Za to klimo je značilno malo zmrzali in redki mrzli vetrovi. Poznamo pa pri ciklamah tudi izjeme. Za vrsto *C. repandum* so značilni tanjši listi, zato so zanjo primernejša lega gozdni robovi in doline, kjer ni neposrednega žgočega sonca. Vrste *C. alpinum*, *C. cilicium*, *C. coum*, *C. cyprium*, *C. hederifolium*, *C. intaminatum*, *C. libanoticum*, *C. mirabile* in *C. pseudibericum* imajo raje senčne, hladne lokacije, daleč od Mediteranske obale. Najdemo jih v gorah in v hribih, kjer so poletne temperature manjše, pozimi pa jih odeja snega varuje pred hudim zimskim podnebjem. Tako ciklame najdemo po različnih predelih Evrope in zahodne Azije ter celo v severnem delu Afrike. To je še posebej zanimivo, saj mnoge vrste, ki so v osnovi tudi mediteranske, v severnem delu Afrike ne uspevajo (Grey-Wilson, 1988, 2002; Mathew, 2013).

Navadna ciklama je široko razširjena evropska vrsta. Njeno rastišče se razteza od vzhodne Francije, Švice, severnega dela Italije, Avstrije, Slovenije, Hrvaške, Srbije, Makedonije in Bolgarije. Segi še do Poljske, Češke in Slovaške in se najbolj vzhodno razširi v jugovzhodni Kavkaz (Grey-Wilson, 1988, 2002; Mathew, 2013).

Navadna ciklama je tudi v Sloveniji zelo razširjena vrsta. Uspeva vse od morja pa do visokogorskih predelov. Večinoma je zastopana v mešanih gozdnih združbah kot tudi v listnatih, najdemo pa jo tudi ob robovih gozdov in na višje ležečih senožetih. V visokogorju je pogosto med samim gruščem, na meliščih pa jo najdemo tudi zelo nizko (Bavcon, 2009; Mathew, 2013; Osterc in sod., 2014).

2.2 RAZDELITEV

Poznanih je 22 različnih vrst znotraj rodu ciklam. Gre za zelo raznolik rod. Navadna ciklama pa ima tudi zelo veliko raznolikost znotraj vrste. Prav zaradi tega jo na osnovi (Bavcon, 2009) delimo v štiri skupine glede na listni vzorec, ki je viden v večjem delu leta:

- 1. skupina: Ciklame s skoraj povsem zelenimi listi;
- 2. skupina: Ciklame z rahlim vzorcem (marmorirani);
- 3. skupina: Ciklame s plosrebrastimi listi;
- 4. skupina: Ciklame s skoraj povsem srebrastimi listi.

Barva spodnje listne ploskve variira od zelene do vijoličaste barve, ki pa se skozi letne čase tudi malce spreminja (Bavcon, 2009).

2.2.1 Navadna ciklama

Navadna ciklama (*Cyclamen purpurascens* Mill.) je zimzelena trajnica, ki je razširjena v večjem delu Slovenije (Martinčič in sod., 2007). Sodi v družino jegličevk (*Primulaceae*). Rastlina med drugim preprečuje erozijo in utrjuje teren. V gozdu jo najpogosteje opazimo v času cvetenja, v poznem poletju in jeseni. Trajnico v spomladanskem in zimskem času prepoznamo po značilnih temnozelenih listih z raznoraznimi svetlozelenimi ali srebrnkastimi vzorci, ki pa so na spodnji strani vijoličaste barve. Prav listi so tisti, ki imajo večjo okrasno vrednost od cvetov in nas najbolj pritegnejo pri ciklami. Več mesecev krasijo gozdna tla in rastline, se razlikujejo med seboj po oblikah listov in barvnih vzorcih na listih. Pri vsaki rastlini lahko opazimo drugačno obliko listov, običajno pa so srčaste ali ledvičaste oblike. Sadimo jih na vrt, predvsem v skalnjake. Lahko pa jih gojimo tudi v lončkih (Grey-Wilson, 2002).

V rastni sezoni se razviti listi obdržijo vse do naslednje pomladi, kar pomeni, da so listi zimzeleni. V času zime, ko sneg dolgo leži, lahko propadejo prej, običajno pa propadejo šele, ko se razvijejo novi listi. Listi in cvetovi poženejo iz gomolja, ki je v zemlji. S starostjo se povečuje tudi velikost gomolja, ki pa se medvrstno precej razlikuje. Od globine gomolja v zemlji, ta lahko sega tudi do 0,5 metra, je odvisna dolžina stebel, listov in cvetov. Ponekod, kjer je malo zemlje, pogosto gomolji gledajo iz tal, celo v primerih, ko je zemlje dovolj. Steblo je vedno enocvetno. Cvetovi so bele, rožnate ali vijolične barve, na dolgih pecljih in posamično. Čas cvetenja in barva cvetov se med vrstami, pa tudi znotraj vrste razlikujeta. Ko se razvije seme, se cvetni pecelj zvije v spiralo. Značilen je okrogel plod, semena pa se ob zrelosti raztresejo naokrog (Grey-Wilson, 2002; Bavcon, 2009).

Navadna ciklama je zaščitena rastlina in njenih podzemnih gomoljev ne smemo izkopavati (Uredba o zavarovanih ..., 2016). V vrtnariji lahko kupimo ciklame, ki jih nato gojimo na vrtu ali v loncih. Velja za strupeno rastlino, zato je ne smemo zaužiti. Strupeno snov vsebuje gomolj, imenujemo jo ciklamin, ki spada med saponinske glikozide. Kromar (1979) navaja, da pri človeku povzroča bruhanje, drisko, črevesne krče in splav pri nosečnicah. Petauer (1993) pa dodaja, da večje zaužite količine lahko povzročijo smrt, ki je posledica ohromitve dihalnega centra zaradi hude zastrupitve. Posušeni gomolji niso strupeni, saj ciklamin v njih razpade.

2.2.1.1 Razmnoževanje

Navadna ciklama se lahko razmnožuje s semeni ali vegetativno. Semena raznašajo mravlje in druge živali. Večina semen kali ob matični rastlini ali v njenem zavetju. Tam pa le redko ostajajo. To se lahko zgodi na zelo ravnih delih. Drugje se gomolji kasneje oddaljijo. Običajno je med njimi vsaj nekaj deset cm razmaka. Kalice pa rastejo celo v samem osrčju rastline. Bavcon (2009) razlaga, da se velika koncentracija rastlin razprši ponavadi na ta način, da jih zmrzali dvignejo in ko sneg kopni, jih premaknejo.

2.2.1.2 Vegetativno razmnoževanje v naravi

Čeprav se zdi, da se v naravi ciklame razmnožujejo le s semeni, temu ni tako. Lahko se razmnožujejo tudi preko spečih podzemnih stebel, to navaja že Grey-Wilson (2002), in preko izraščanja spodnjih členkov tega stebela v večje gomolje.



Slika 1: Navadni gomolj navadne ciklame (Foto- narava ..., 2015)

2.2.1.3 Vegetativno razmnoževanje v kulturi

Poznamo tudi razmnoževanje z razrezom gomoljev, vendar je to manj uspešno. Uspešnejše je razmnoževanje s členastim podzemnim stebлом. To lahko razdelimo na manjše dele in ponavadi iz vsakega dobimo novo rastlino (Bavcon, 2009).

2.2.1.4 Generativno razmnoževanje v kulturi

Najlažje se ciklame razmnožuje s semeni. Sveže seme je najbolje takoj posejati v dovolj humusno zemljo v lončke z dobro drenažo ali na stalna mesta v vrtu, le da tam, kjer smo sejali, mesto označimo. Zagotoviti moramo senco in redno vlaženje, le v tem primeru bodo semena dobro kalila. Preko zime je dobro, če kalice rahlo zaščitimo z odpadlim listjem. Na

mestih, kjer ciklame rastejo, se tudi same razmnožujejo, če smo jim le našli ustrezno mikro okolje. V tkivni kulturi semena kalijo pozno, v naravi pa precej hitreje. Tako že konec junija, ali začetek avgusta dobimo nove kalice (Bavcon, 2009).

Pričetek cvetenja ciklam se prične, odvisno od nadmorske višine, lahko že konec junija ali julija, večji del pa začetek avgusta. V submediteranskem delu pa šele sredi ali konec septembra in vse do konca novembra. Semena zorijo do konca junija ali začetka julija prihodnje leto (Bavcon, 2009).

2.2.1.5 Gojenje in oskrba

Za gojenje so navadne ciklame nezahtevne. Najbolje uspevajo v glinenih loncih, ki pa so za zunanjo gojenje v notranjosti Slovenije, kjer zmrzuje, manj uporabni. Če niso do vrha poglobljeni v zemljo, večinoma zaradi zmrzali počijo. Za gojenje na prostem so torej plastični lončki primernejši, vendar rastline potrebujejo v njih boljšo drenažo z dovolj velikim številom lukenj v dnu, da voda v loncih ne zastaja.

Pred novo rastno sezono, torej konec maja do sredine junija, ko še ni novih cvetnih nastavkov in so stari listi že večinoma propadli, navadno ciklamo presadimo. To ponovimo na nekaj let. V primeru nepresajanja, jim lahko vsako leto dodamo na izprano zemljo nekaj dozorelega in bogatega humusa. Odstranimo le zgornji del zemlje, tako da korenin ne poškodujemo in dodamo nekaj humusa (Grey-Wilson, 2002).

Ciklame imajo zelo rade bogato in dobro predelano listovko z dodatkom kompostiranega gnoja. Med cvetenjem jih je priporočljivo redno dognojevati s tekočimi gnojili za cvetenje in na ta način lahko cvetenje precej podaljšamo. Ob dobri negi obilno cvetenje lahko traja najmanj dva meseca, rastline pa pocvitajo še kasneje do pozne jeseni. Po končani sezoni intenzivnega cvetenja, ko rastlina odcveti in listi začnejo veneti, se za ciklame začenja čas počitka. Zmanjšati moramo zalivanje in opustiti gnojenje ter jih postaviti na zračen in senčen prostor. Prosto rastočim ciklamam na vrtu proti zimski zmrzali dobro dene rahla zaščita z listjem, še bolj pa jo potrebujejo rastline v loncih, vendar morajo biti listi še na svetlobi. Ob koncu poletja, ko se za ciklame spet začenja obdobje cvetenja, jih moramo prenesti nazaj v hišo (Grey-Wilson, 2002; Bavcon, 2009).

Navadna ciklama kot lončnica je že nekoliko zahtevnejša rastlina. Zagotoviti ji moramo dobro drenažo, dovolj humusno zemljo z listovko. Ta naj bo raje nekoliko bazična kot kislja, kar dosežemo z dodatkom apnenčevega peska. Pozimi mora imeti hladne razmere. V senci jo zadržujemo od spomladi do sredine poletja. Stalno mora imeti vlažno zemljo, vsaj dokler so razviti listi. Potem lahko zalivanje precej opustimo in jo začnemo zalivati zopet konec junija, ko začne odganjati. Tedaj jo postavimo na severne ali vzhodne lege na

okenske police ali na vsaj delno senčene balkone. Proti koncu poletja, ko temperature postajajo vse nižje, jo počasi nato prestavljamo na bolj sončna mesta.

Na vrtu jim zagotovimo mesta pod grmi, toliko da do njih prihaja nekaj svetlobe, ali pa jim na severnih ali vzhodnih delih vrta zagotovimo samostojne nasade, ki jih kombiniramo z drugimi zgodaj spomladi cvetočimi gozdnimi rastlinami.



Slika 2: Ciklama kot lončnica (Bavcon, 2015)

Pomembno je, da ciklami v loncu ali v zemlji zagotovimo podobne razmere, kot jih ima v naravi. Če je v naravi gomolj posajen globoko, ga moramo tudi na vrtu ali v loncu vsaj prvo leto dati globlje pod zemljo.

2.3 BARVA PRI OKRASNIH RASTLINAH

2.3.1 Definicija barve

Barvo sestavljajo različna barvila, so ključnega pomena za nastanek barve. Organske molekule, kamor uvrščamo rastlinska barvila, so sposobna absorbirati energijo sevanja in jo zadržati za nekaj nano/ mikrosekund. Molekule barvil so namreč sestavljene iz številnih ogljikovih atomov, povezanih med seboj v molekule z dvojnimi vezmi. Dvojne vezi in izmenjajoče enojne in dvojne vezi, so glavna lastnost barvil, ki so tako sposobna zadrževanja energije sevanja, kar privede do sprememb v spektralni sestavi odbite svetlobe. Naša vidna čutila nato te spektralne značilnosti zaznajo kot barvo (Miller in sod., 2011).

Človeško oko je sposobno zaznati svetlobo od 380 nm do 730 nm valovnih dolžin (vijolična, modra, zelena, rumena, oranžna, rdeča). Rastlinski pigmenti absorbirajo svetlobo določene valovne dolžine. Komplementarna barva, torej tista, ki jo pigment ne absorbira, se reflektira in to ljudje zaznamo (Davies, 2004):

- Zeleno barvilo, klorofil: Najmočnejše absorbira svetlobo pri valovnih dolžinah 430 nm (vijolična, modra) in 680 nm (rdeča), svetloba ostalih valovnih dolžin se odbije in tako ga zaznamo kot zelenega;
- Antociani: Najmočnejše absorbirajo v valovnem območju od 520 nm do 530 nm (rumena, zelena), odbije se svetloba, ki je sestavljena iz oranžnih, rdečih in modrih valovnih dolžin.



Slika 3: Vidni spekter (Ultravijolična ..., 2015)

Za barvo je ključna tvorba antocianov. Za kakovostni razvoj barve so pomembni notranji dejavniki, ki vplivajo in usmerjajo rastlinski metabolizem za razvoj antocianov in tudi drugih barvil. Na tvorbo le-teh pa lahko vplivamo tudi sami, z različnimi tehnološkimi ukrepi, pri čemer govorimo o zunanjih dejavnikih, kot so npr. substrat, voda, svetloba in temperatura. Potrebno je omeniti tudi genski inženiring, sodobno biotehnološko metodo, ki koreniteje vpliva na barvo rastlinskih delov (Davies, 2004).

2.4 ANTOCIANI

Antociani spadajo med fenolne snovi, v skupino flavonoidov in veljajo za najpogostejša barvila v rastlinskem tkivu. Prisotna so v vakuolah rastlinskih celic, v vseh organih oziroma tkivih višjih rastlin, največ v cvetovih in plodovih. Gre za vodotopna barvila. Antociani so odgovorni za različne odtenke rastlinskih sestavnih delov, kot so rdeča, rožnata, vijolična in modra, tudi skoraj črna obarvanja (Cooper-Driver, 2000; Kitamura in sod., 2011).

2.4.1 Osnovna struktura antocianov

Izraz antocian vključuje:

- antocianine,
- antocianidine.

Pojem antocianidin predstavlja osnovne molekule, ki se v rastlinskih tkivih povežejo z različnimi drugimi snovmi in nato govorimo o antocianinih. Antocianidini se pogosto vežejo s sladkorji, saj so zelo nestabilne spojine in jih tako najdemo v glikolizirani obliki. Sladkorji se na aglikone vežejo na tretjem C-atomu benzenovega obroča s kisikom, lahko pa se vežejo tudi na drugih obročih (Schwinn in Davies, 2004).

Za skupino flavonoidov je značilno, da je osnovni skelet sestavljen iz petnajstih C atomov, ki tvorijo dva aromatična (fenilna) obroča, imenovana A in B. Struktura nastane zaradi dveh neodvisnih biosinteznih poti, ki ju imenujemo šikimska in malonska. Obroča povezuje most, sestavljen iz treh ogljikovih atomov. Ta most ponavadi tvori še tretji, tako imenovani C obroč (Schwinn in Davies, 2004; Taiz in Zeiger, 2006).

Večina antocianov je izpeljanih iz treh osnovnih antocianidinskih tipov: delfinidina, cianidina in pelargonidina. Ločimo jih v številu hidroksilnih skupin vezanih na B obroč. Tip antociana, ki se prevladujoče akumulira, je ključen za barvo. 3-hidroksiantocianidini so najpogostejši antocianidini in njihova ključna lastnost je, da imajo hidroksilno skupino vezano na mestu 3 v C obroču. To so (Schwinn in Davies, 2004):

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

Kadar molekula antociana vsebuje več hidroksilnih skupin, je posledično antocian bolj modro obarvan (Schwinn in Davies, 2004).

V rastlinskih organih je najpogostejši antocianidin cianidin, ki je zaslužen za ciklamno barvo, sledijo mu še malvidin, ki daje svetlo vijolične do škrlatne tone, pelargonidin pa rožnate in oranžne tone. V modrih cvetovih je najpogostejši delfinidin (Harborne in Williams, 2000).

Na obarvanost antocianov vpliva več dejavnikov, tudi število hidroksi- in metoksi- skupin vezanih na B obroč antocianidina. Več hidroksilnih skupin vezanih na obroč vpliva na temnejšo barvo (modra). Več metilnih skupin vezanih na obroč, pa vpliva na svetlejšo barvo (rdeča). Eden izmed pomembnih dejavnikov, ki vplivajo na obarvanost antocianov je pH vakuole v celici, v kateri se antociani kopičijo (Schwinn in Davies, 2004).

Znotraj modifikacije antocianov ločimo intramolekularno in intermolekularno kopigmentacijo. Gre za dva glavna načina spreminjanja barve antocianov, ki se nanašata na

kompleksacijo z drugimi snovmi (pogosto fenolne snovi). Posledica je bolj intenzivna/raznolika in stabilna barva (Veberič in sod., 2008).

Na akumulacijo antocianov v rastlinskem tkivu v prvi vrsti vplivajo okoljski dejavniki, kot so svetloba, temperatura, količina vode, pH tal, tudi stresni faktorji. Svetloba vpliva na indukcijo ekspresije genov, ki sodelujejo pri biosintezi antocianov (Harborne in Williams, 2000; Feng in sod., 2012).

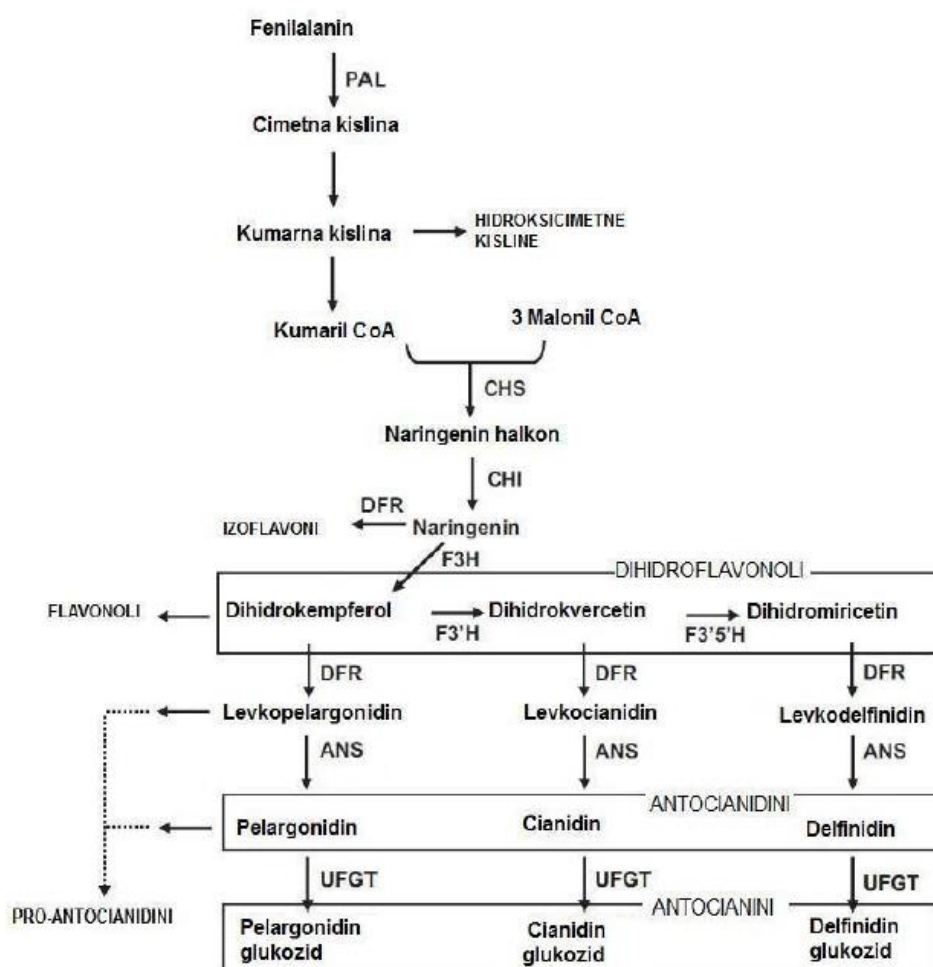
2.4.2 Biosinteza antocianov

Biosinteza antocianov oz. sinteza fenolnih spojin se prične z izhodiščno spojino, tako imenovano aminokislino fenilalanin. Iz te spojine s pomočjo PAL encima (fenilalanin amonijak lijaza) nastaja cimetna kislina, ki s hidroksilacijo omogoči nastanek *p*-kumarne kisline. *p*-kumaril CoA, tako imenovana vhodna spojina, se tvori z vezavo koencima A (CoA) na kumarno kislino. CHS, encim halkon sintaza katalizira prvi korak sinteze. Ob pomoči tega encima se kondenzirajo tri molekule malonil-CoA in ena molekula *p*-kumaril CoA, posledično nastane tetrahidroksihalkon (naringenin halkon). Nato sledi tvorba C-obroča, ob pomoči encima halkon izomeraze (CHI) nato nastane prvi flavanon in naringenin. Flavanoni so prekursorji za izoflavone, flavone ter dihidroflavonole, iz katerih nastajajo flavonoli in antociani ter tako predstavljajo pomembno točko v biosintezi flavonoidov (Cooper-Driver, 2000).

Dihidroflavonoli nastajajo iz flavanonov, s pomočjo encima flavanon 3-hidroksilaza (F3H). Prvi korak je nastanek dihidrokempferola iz naringenina. Tega encim flavonoid-3'-hidroksilaza (F3'H) pretvarja v dihidrokvercetin, ki pa se kasneje pretvarja v dihidromiricetin, s pomočjo encima flavonoid-3'5'-hidroksilaze. Dihidroflavonoli se s pomočjo encima dihidroflavonol 4-reduktaze (DFR) reducirajo do levkoantocianidinov (flavan-3,4-*cis*-dioli). Sledi nastanek levkopelargonidina iz dihidrokempferola, nastanek levkocianidina iz dihidrokvercetina in nastanek leukodelfinidina iz dihidromiricetina (Cooper-Driver, 2000).

Ob pomoči encimov antocianidin sintaze (ANS) poteče končna pretvorba antocianidinov iz levkoantocianidinov. H končnemu koraku pripomore encim flavonoid glukozil transferaza (UFGT), ki omogoči vezavo sladkornih enot in končno sintezo antocianinov (Petroni in Tonelli, 2011).

Končna barva antocianov se popolnoma izrazi kasneje ob kopičenju v vakuoli, medtem ko celotni postopek biosinteze antocianov poteka v citosolu (Schwinn in Davies, 2004).



Slika 4: Shema biosinteze antocianov (Petroni in Tonelli, 2011)

2.4.3 Spremembe odvisne od pH celičnega soka

Različen pH pri antocianih ključno vpliva na njihovo barvo. Le pri majhnem pH (pod 3) so antociani v stabilni obliki. Takrat je molekula v obliki flavinijevega iona, ki daje rdeče obarvanje. Z večanjem vrednosti pH nastajajo druge, nestabilne oblike. Ko se pH približuje nevtralnemu pH območju, tvorijo antociani kinonske baze, ki dajejo vijolična obarvanja. S prehajanjem v bazično (alkalno) območje se antociani spreminjajo v rumeno barvo. V blago kisli raztopini (pH 4-6) pa ostanejo flavilijev ion, kinonske baze in halkoni v ravnotežju in posledično so antociani brezbarvni (Petroni in Tonelli, 2011).

2.4.4 Ekološki pomen pigmentov in vpliv zunanjih dejavnikov na njihovo sintezo

Antociani so nujni za razvoj rastlin. Z vsebnostjo različnih pigmentov, ki se izrazijo kot barva cvetov in plodov, privabljajo živali, ki delujejo kot opraševalci, saj raznašajo semena in tako pripomorejo k morebitnemu razmnoževanju (Taiz in Zeiger, 2006).

V tkivih rastlin, različna vsebnost antocianov, varuje ta tkiva pred boleznimi, škodljivci in herbivori, delujejo tudi kot alelopatske snovi. Pomembno vlogo imajo tudi pri varovanju rastlin pred nizkimi temperaturami, sušnim stresom in škodljivim ultravijoličnim sevanjem (Petroni in Tonelli, 2011).

Vrsta antociana in razmerja med njimi so ključni dejavniki za oblikovanje barve rastlinskih delov. Pri tvorbi le-teh so pomembni tudi osnovni rastni dejavniki. Svetloba je ključna za potek fotosinteze, s pomočjo katere rastlina tvori primarne metabolite, iz njih pa potem sekundarne metabolite, med slednje spadajo tudi antociani (Nelson, 2011). Ubi in sod. (2006) navajajo, da pomanjkanje svetlobe vodi v zmanjšano fotosintezo in posledično v slabšo obarvanost rastlinskih delov, nasprotno pri povečani svetlobi dobimo temnejše rastlinske dele.

Preskrba rastlin z vodo je prav tako pomembna za tvorbo antocianov, saj uravnava ustrezno mineralno preskrbo. Ta pa je odvisna predvsem od pH substrata v katerem rastline rastejo. Rastline tako preko vode iz tal oziroma substrata črpajo potrebna makro in mikrohranila, ki so v različnih dostopnih oblikah. Težke kovine, kot sta npr. železo ali aluminij so prav tako pomembne za razvoj barve. Te so težko dostopne, tako rastline posledično uporabljajo različne prilagoditve, ki omogočajo učinkovitejši sprejem iz rizosfere. Preko koreninskih celic zmanjšajo pH v rizosferi, ki poveča topnost železa (Vodnik, 2012).

Temperatura, pri kateri rastline gojimo tudi vpliva na sintezo antocianov. Gre za zelo pomemben dejavnik pri rasti in razvoju rastlin. Pri nižjih temperaturah rastline razvijajo temnejše obarvane rastlinske dele, saj so to ugodnejše razmere za sintezo pigmentov. Na obarvanost rastlin ključno vpliva temperaturna razlika med dnevom in nočjo. Večja razlika vodi v intenzivnejšo obarvanostjo (Davies, 2004; Nelson, 2011).

Na obarvanost rastlinskih delov lahko sami vplivamo z ustreznimi tehnološkimi ukrepi. S tem pravzaprav vplivamo na sintezo pigmentov. Tako lahko rastlinam zagotavljamo določeni nivo pH vrednosti celičnega soka ter ostalih rastnih dejavnikov, s čimer preko sinteze antocianov lahko vplivamo tudi na razvoj barve pri rastlinah. Rastlinam lahko le začasno spremenimo barvo cvetov, v tem primeru govorimo o foliarnem škropljenju. S foliarnim tretiranjem so tako Schmitzer in sod. (2012) poskušali vplivati na barvo cvetov rdeče vrtnice sorte *Rosa hybrida* L. 'KORikis'. Vrtnico so v času rasti poškropili s prohexadione-Ca (Regalis), koncentracije 300 ppm. Devet dni po tretiranju se je vrtnica obarvala rahlo roza, petnajst dni po tretiranju, pa so cvetovi vrtnice postali beli. Kasneje je vrtnica zopet pridobila osnovno rdečo barvo. Koreniteje pa vplivamo s pomočjo genskega inženiringa, o čemer piše tudi Zupan (2010). Iz petunije so s pomočjo genskega inženiringa uspešno vnesli gen za modro obarvanje, ki se je v nageljnu izrazil v vijolično-modrih odtenkih.

3 MATERIAL IN METODE DELA

3.1 MATERIAL

3.1.1 Rastlinski material

Leta 2010 smo iz naravnih rastišč prenesli določene različice (genotipe) navadne ciklame (*Cyclamen purpurascens* Mill.) v Botanični vrt Univerze v Ljubljani, kjer smo jih posadili v plastične lončke. Z večletnim opazovanjem rastlin, ki so rasle na istem mestu, se je izkazalo, da gre za različne genotipske lastnosti. Vzeli smo liste različnih genotipov iz treh različnih matičnih lokacij (Mengore, Dragonja in Dol pri Hrastovljah). Dragonja in Dol pri Hrastovljah spadata v submediteranski svet. Obe smo uvrstili v sončno lokacijo, kjer so značilne ciklame s srebrastimi listi. Mengore spada v predalpski svet, kjer je rastišče tudi bolj senčno, značilno pa je tudi več padavin in prisotnost ciklam z listi brez vzorca. Liste ciklam smo v Botaničnem vrtu Univerze v Ljubljani pobirali v dveh rastnih sezonah (2013, 2014). Prvič smo jih pobirali 26. 11. 2013, naslednji termin pa je bil 2. 10. 2014.



Slika 5: Ciklame v lončkih v Botaničnem vrtu v Ljubljani (Botanični ..., 2015)

3.2 METODE DELA

3.2.1 Določanje morfoloških parametrov

Ciklame smo opazovali dve rastni sezoni (2013 in 2014). Od zunanjih dejavnikov smo s pomočjo šolskega ravnila izmerili dolžino in širino največjega lista, površino celotne rozete in spremljali število listov. Od notranjih dejavnikov pa smo merili vsebnost klorofila, barvne parametre ter analizirali zastopanost in vsebnost antocianov v listih.

Vzorčne ciklame smo tudi poslikali. Iz vsakega genotipa smo vzeli do 3 liste. Te smo položili v hladilno torbo in odnesli v laboratorij Katedre za sadjarstvo, vinogradništvo in vrtnarstvo, kjer smo opravili vse meritve.

3.2.2 Določanje vsebnosti antocianov v listih

Od vsakega genotipa ciklam smo vzeli po tri liste, vsakega posebej dali v papirnato vrečko, označili in jih zamrznili na -20 °C za kasnejšo analizo vsebnosti antocianov.

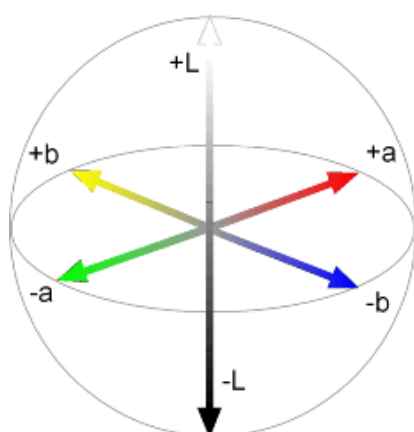
3.2.3 Priprava vzorcev za analizo na HPLC- MS

Vsak list ciklame posebej smo v terilnici zmleli v fin prah, s pomočjo tekočega dušika. V centrifugirke smo vsakega zatehtali in ga prelili z 2 ml ekstrakcijske raztopine (3% mravljične kisline + metanol). Ekstrakcija antocianov je nato potekala eno uro v ledeni ultrazvočni kopeli. Po končani ekstrakciji smo vzorce centrifugirali sedem minut pri 10000 obratih na minuto in jih prefiltrirali skozi Chromafil AO-20/25 poliamidne filtre v vialo. Do HPLC- MS analize smo vialo shranili v zamrzovalniku na -20 °C.

Mobilna faza je bila: A (0,1 % mravljična kislina v bidestilirani vodi) in B (0,1 % mravljična kislina v acetonitrilu). Analize so bile izvedene s pomočjo polnega skeniranja podatkov v masnem območju snovi od m/z 110 na 1500. Volumen injiciranja vzorca je bil 10 µl in hitrost pretoka je bila 0,6 ml/min. Temperatura kapilar je bila 250 °C, napetost je bila 4 kV v pozitivni ionizaciji in energija med 20 in 35 %. Določitev antocianov je bila narejena s pomočjo primerjave absorpcijskega spektra in fragmentacije posameznih antocianov ter s primerjavo retencijskih časov s standardi.

3.2.4 Določanje barvnih parametrov

Za merjenje barve listov smo uporabili ročni kolorimeter (CR-10 Chroma; Minolta, Osaka, Japonska), ki izmeri parametre LAB, CIE: a^* , b^* , c , L in h° . Barvo smo merili na spodnji strani listov.



Slika 6: CIE Lab barvni prostor (JISC, 2015)

3.2.5 Določanje vsebnosti klorofila v listih

Iz vsakega lista smo izrezali krogec premera 4 mm na sredini lista, vsakega posebej shranili v papirnate vrečke in jih zamrznili na $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ za kasnejšo analizo klorofila.

Za analizo vsebnosti klorofila v listih smo uporabili 2 ml mikrocentrifugirke. V vsako mikrocentrifugirko posebej smo dali 0,5 ml DMSO (dimetil sulfoksid), dodali posamični krogec lista, ščepec MgCO_2 in krogec zmečkali s pomočjo posebne palčke, da se je raztopil, nato pa ponovno v vsako mikrocentrifugirko dodali 0,5 ml DMSO. Odprte mikrocentrifugirke smo postavili za 2 uri v vodno kopel na $65\text{ }^{\circ}\text{C}$. Po končanem segrevanju smo jih ohladili na sobno temperaturo, v temi (ker so pigmenti fotolabilni), ekstrakte prelili v kivete in spektrofotometrično določili absorbcijo pri valovni dolžini 480 nm (karotenoidi), 649 nm (klorofil b) in pri 665 nm (klorofil a).

Vsebnost klorofila smo izračunali po formuli:

$$\text{Klorofil a v eks. } (\mu\text{g/ml v eks.}) = 12,19 \times A_{665} - 3,45 \times A_{649} \quad \dots (1)$$

$$\text{Klorofil b v eks. } (\mu\text{g/ml v eks.}) = 21,99 \times A_{649} - 5,32 \times A_{665} \quad \dots (2)$$

$$\text{Karotenoidi v eks. } (\mu\text{g/ml v eks.}) = \frac{1000 \times A_{480} - 2,14 \times \text{klorofil a} - 70,16 \times \text{klorofil b}}{220} \quad \dots (3)$$

$$\text{Vsebnost pigmentov } (\mu\text{g/ml v eks.}) = \frac{\text{fotosintet.pigm.v eks.}(\mu\text{g/ml}) \times \text{Vorganskega topila (ml)}}{\text{površina listnega diska (mm}^2\text{)}} \quad \dots (4)$$

Legenda:

A_{665} = Absorbcija klorofila a (nm)

A_{649} = Absorbcija klorofila b (nm)

A_{480} = Absorbcija karotenoidov (nm)

3.3 STATISTIČNA ANALIZA

Podatke smo uredili s programom Microsoft Office Excel 2013, statistično analizo pa smo naredili s programom R Commander. Naredili smo enosmerno analizo variance (ANOVA). Razlike med obravnavanji smo ocenili z LSD testi pri 5 % tveganju (statistično značilne razlike pri $p \leq 0,05$). Obravnavanja, ki so se med seboj statistično razlikovala, smo označili z različnimi črkami.

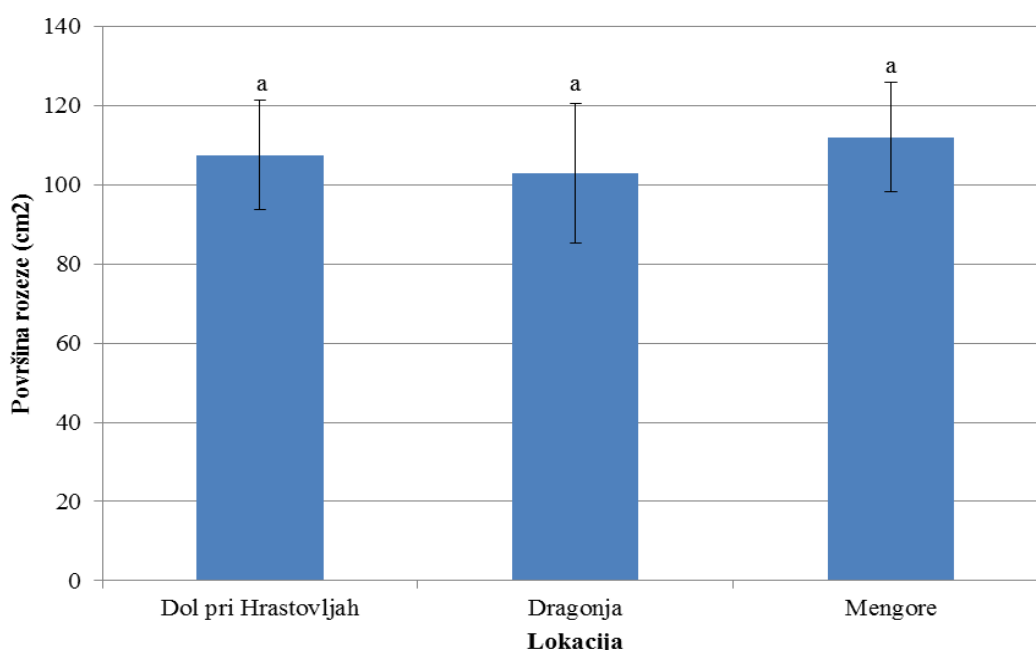
4 REZULTATI

4.1 POVRŠINA ROZETE, ŠIRINA IN DOLŽINA NAJVEČJEGA LISTA IN ŠTEVILO LISTOV

Leta 2013 smo izmerili naslednje morfološke parametre: površina navidezne rozete, širina in dolžina največjega lista in prešteli število listov.

4.1.1 Površina rozete

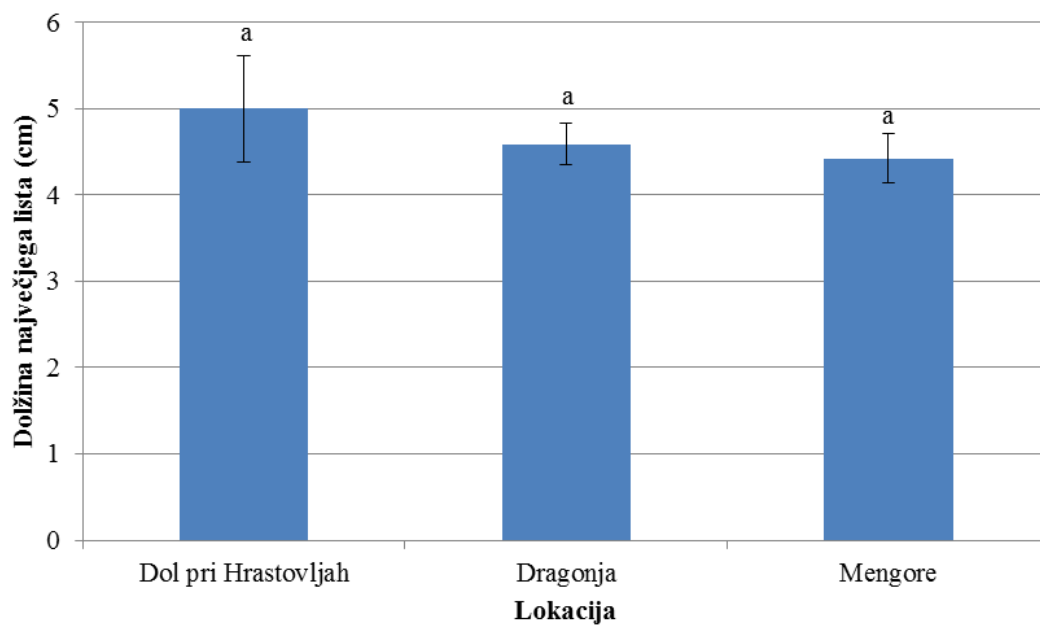
Slika 7 prikazuje povprečno površino navidezne rozete na treh lokacijah (Dol pri Hrastovljah, Dragonja in Mengore). Najmanjšo povprečno površino navidezne rozete smo izmerili pri ciklamah iz lokacije Dragonja ($102,8 \text{ cm}^2$), največjo povprečno površino navidezne rozete pa smo izmerili pri ciklamah iz lokacije Mengore ($112,1 \text{ cm}^2$). Sicer pa opazimo, da med lokacijami ni bilo statistično značilnih razlik v površini navidezne rozete.



Slika 7: Povprečna površina rozete navadne ciklame (cm^2) na različnih lokacijah. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike med lokacijami ($p \leq 0,05$); Ljubljana, 2016

4.1.2 Dolžina največjega lista

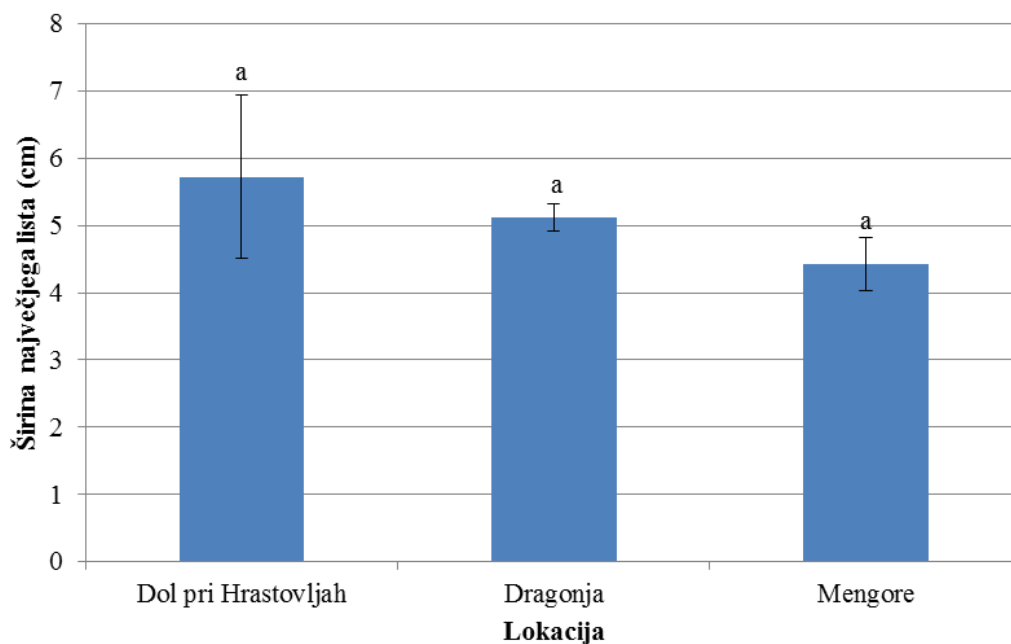
Najmanjšo dolžino lista smo izmerili na lokaciji Mengore (4,4 cm), največjo dolžino lista pa smo izmerili pri ciklamah iz lokacije Dol pri Hrastovljah, in sicer 5 cm (slika 8). Med lokacijami ni bilo statistično značilnih razlik v dolžini največjega lista.



Slika 8: Povprečna dolžina največjega lista navadne ciklame (cm) na različnih lokacijah. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike med lokacijami ($p \leq 0,05$); Ljubljana, 2016

4.1.3 Širina največjega lista

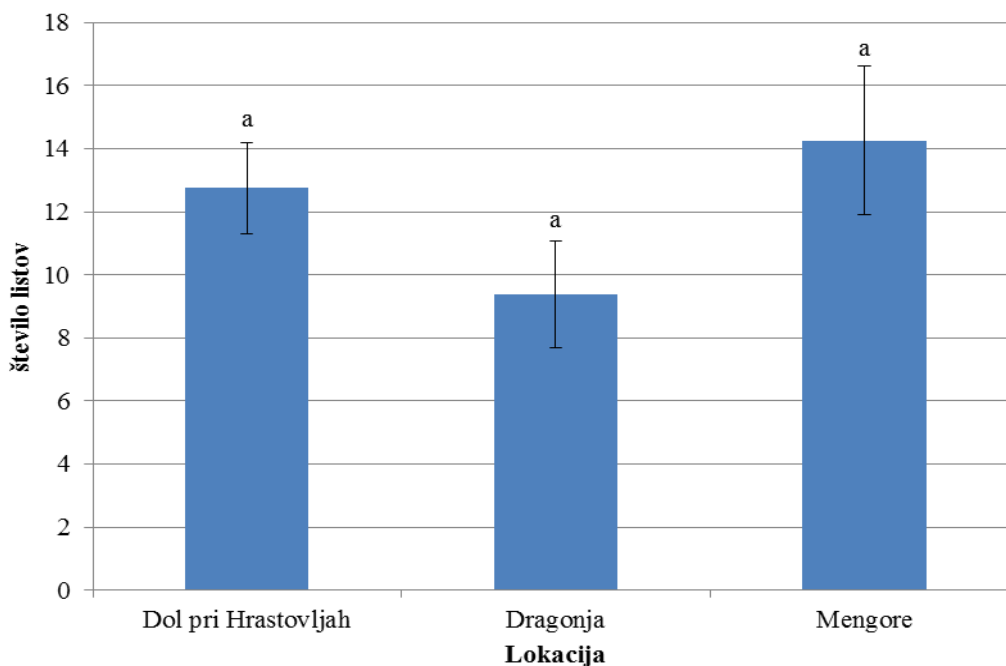
Slika 9 prikazuje širino največjega lista. Najmanjšo širino lista smo prav tako izmerili na lokaciji Mengore (4,4 cm), največjo širino pa smo izmerili pri listih na lokaciji Dol pri Hrastovljah (5,7 cm). Med lokacijami ni bilo statistično značilnih razlik v širini največjega lista.



Slika 9: Povprečna širina največjega lista navadne ciklame (cm) na različnih lokacijah. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike med lokacijami ($p \leq 0,05$); Ljubljana, 2016

4.1.4 Število listov

Slika 10 prikazuje povprečno število listov na rastlino, ki je med 9 pri ciklamah iz lokacije Dragonja in 14 pri ciklamah iz lokacije Mengore. Sicer pa ni statistično značilnih razlik v številu listov med lokacijami.



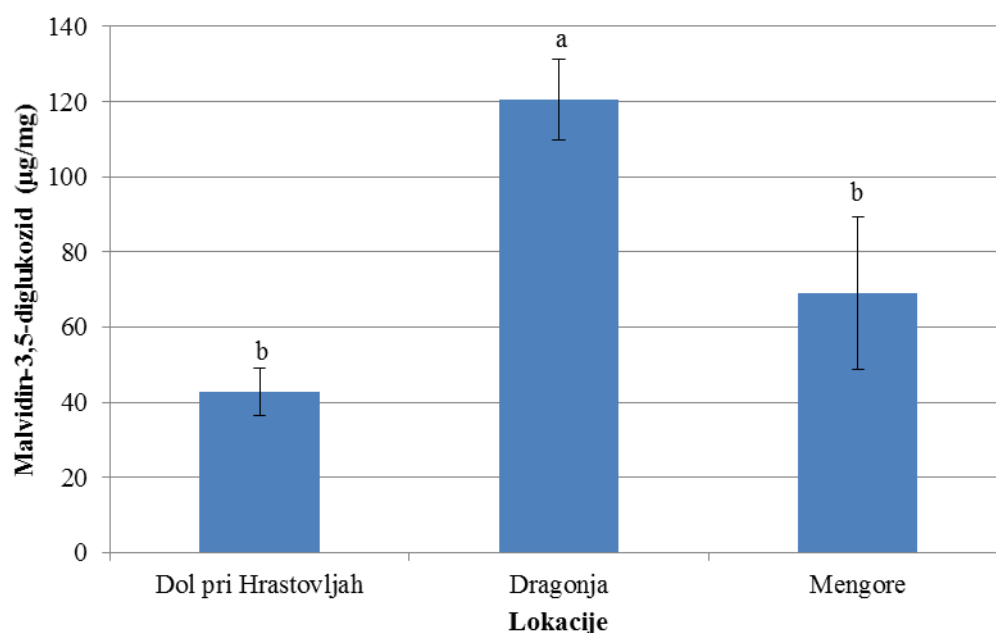
Slika 10: Povprečno število listov navadne ciklame na različnih lokacijah. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike med lokacijami ($p \leq 0,05$); Ljubljana, 2016

4.2 VSEBNOST ANTOCIANOV V LISTIH CIKLAME

V listih navadne ciklame so bili identificirani naslednji antociani: malvidin-3,5-diglukozid, cianidin-3-neohesperidozid, peonidin-neohesperidozid, malvidin-3-rutinozid in malvidin-3-glukozid.

4.2.1 Vsebnost malvidin-3,5-diglukozida

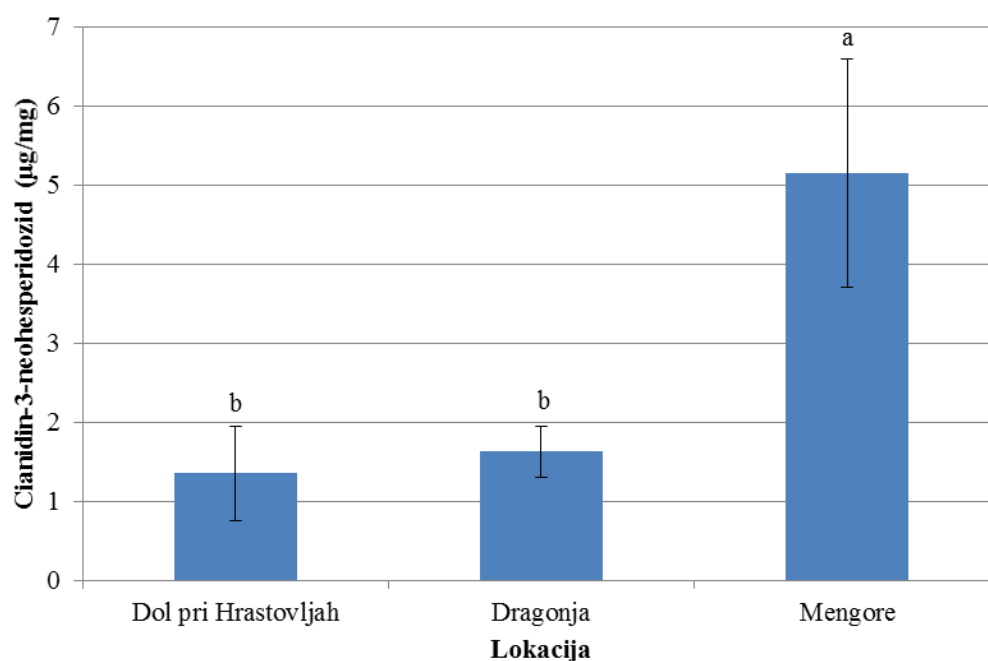
Slika 11 prikazuje povprečno vsebnost antociana malvidin-3,5-diglukozida, katerega vsebnost je med 69,1 $\mu\text{g}/\text{mg}$ v listih ciklam iz lokacije Dol pri Hrastovljah in 120,5 $\mu\text{g}/\text{mg}$ v listih ciklam iz lokacije Dragonja. Listi iz lokacije Dragonja so imeli statistično največjo vsebnost antociana malvidin-3,5-diglukozida. Med lokacijama Dol pri Hrastovljah in Mengore ni statistično značilnih razlik.



Slika 11: Vsebnost antociana malvidin- 3,5-diglukozida v listih navadne ciklame ($\mu\text{g}/\text{mg}$) na različnih lokacijah. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike med lokacijami ($p \leq 0,05$); Ljubljana, 2016

4.2.2 Vsebnost cianidin-3-neohesperidozida

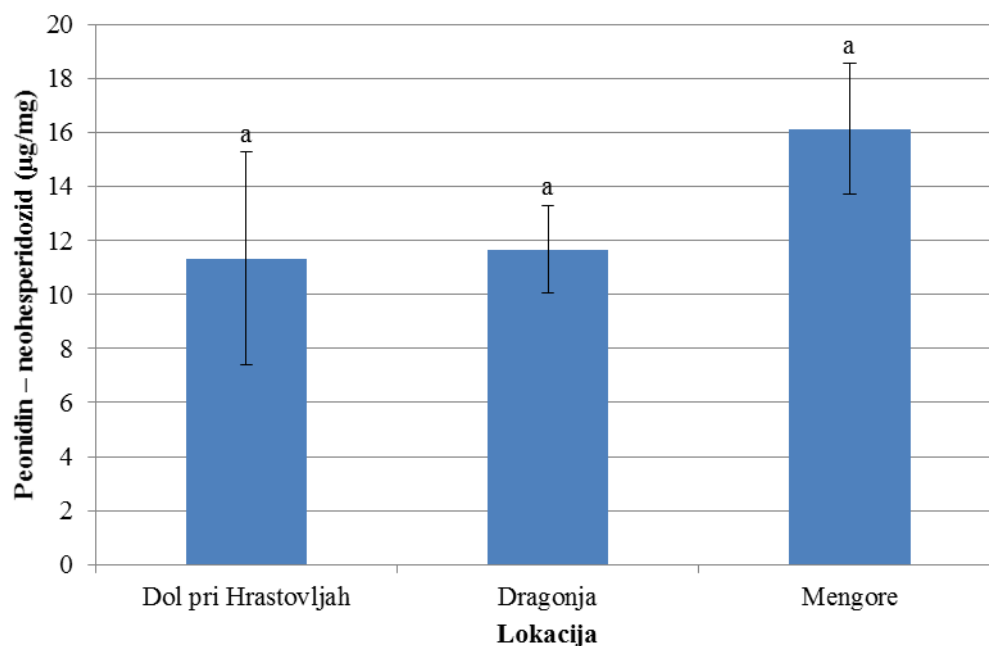
Slika 12 prikazuje povprečno vsebnost antociana cianidin-3-neohesperidozida, ki je med 1,4 $\mu\text{g}/\text{mg}$ v listih ciklam iz lokacije Dol pri Hrastovljah in 5,2 $\mu\text{g}/\text{mg}$ v listih ciklam iz lokacije Mengore. Med lokacijama Dol pri Hrastovljah in Dragonja ni statistično značilnih razlik. Na lokaciji Mengore so imeli listi statistično značilno največjo vsebnost antociana cianidin-3-neohesperidozida.



Slika 12: Vsebnost antociana cianidin-3-neohesperidozida v listih navadne ciklame ($\mu\text{g}/\text{mg}$) na različnih lokacijah. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike med lokacijami ($p \leq 0,05$); Ljubljana, 2016

4.2.3 Vsebnost peonidin-neohesperidozida

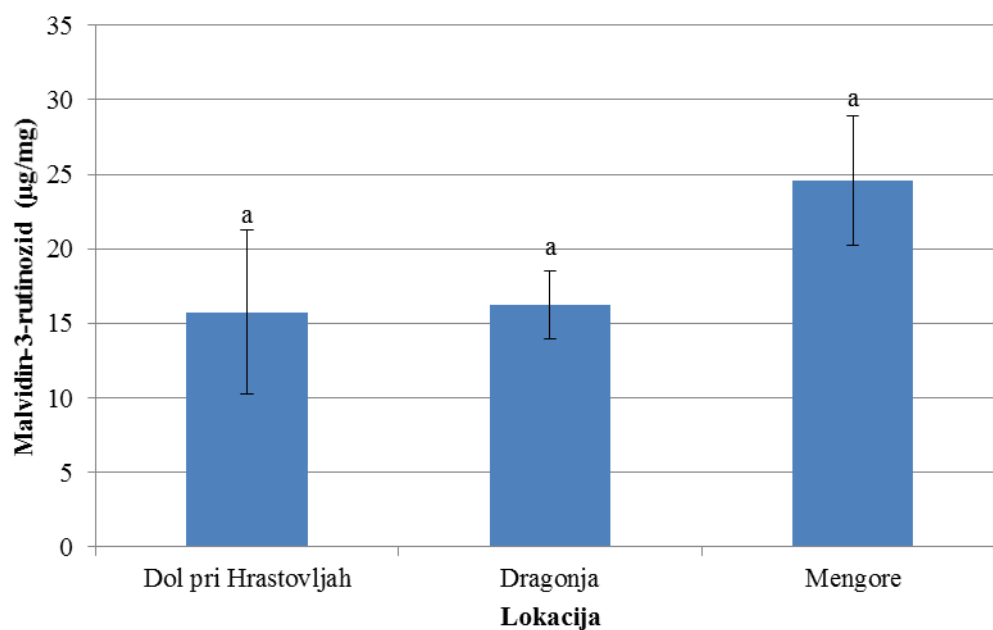
Slika 13 prikazuje povprečno vsebnost antociana peonidin-neohesperidozida, katerega vsebnost se statistično značilno ne razlikuje med lokacijami. Največ antociana peonidin-neohesperidozida imajo listi ciklam na lokaciji Mengore in sicer 16,1 $\mu\text{g}/\text{mg}$.



Slika 13: Vsebnost antociana peonidin-neohesperidozida v listih navadne ciklame ($\mu\text{g}/\text{mg}$) na različnih lokacijah. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike med lokacijami ($p \leq 0,05$); Ljubljana, 2016

4.2.4 Vsebnost malvidin-3-rutinozida

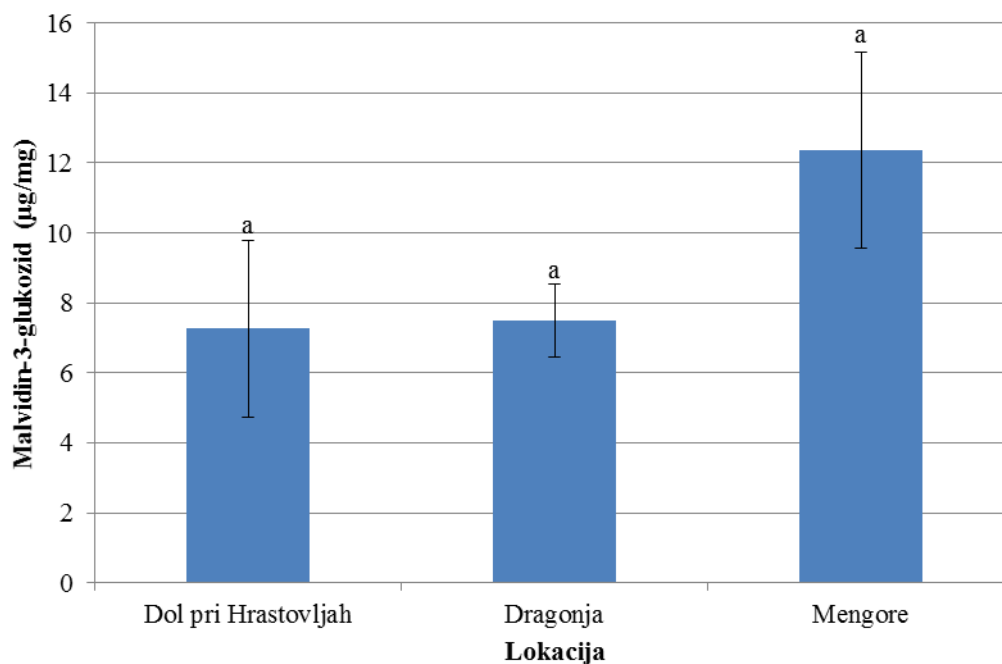
Povprečna vsebnost antociana malvidin-3-rutinozida se statistično značilno ne razlikuje med lokacijami. Največ antociana malvidin-3-rutinozida vsebujejo listi ciklam na lokaciji Mengore in sicer 24,6 $\mu\text{g}/\text{mg}$ (slika 14).



Slika 14: Vsebnost antociana malvidin-3-rutinozida v navadne ciklame ($\mu\text{g}/\text{mg}$) na različnih lokacijah. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike med lokacijami ($p \leq 0,05$); Ljubljana, 2016

4.2.5 Vsebnost malvidin-3-glukozida

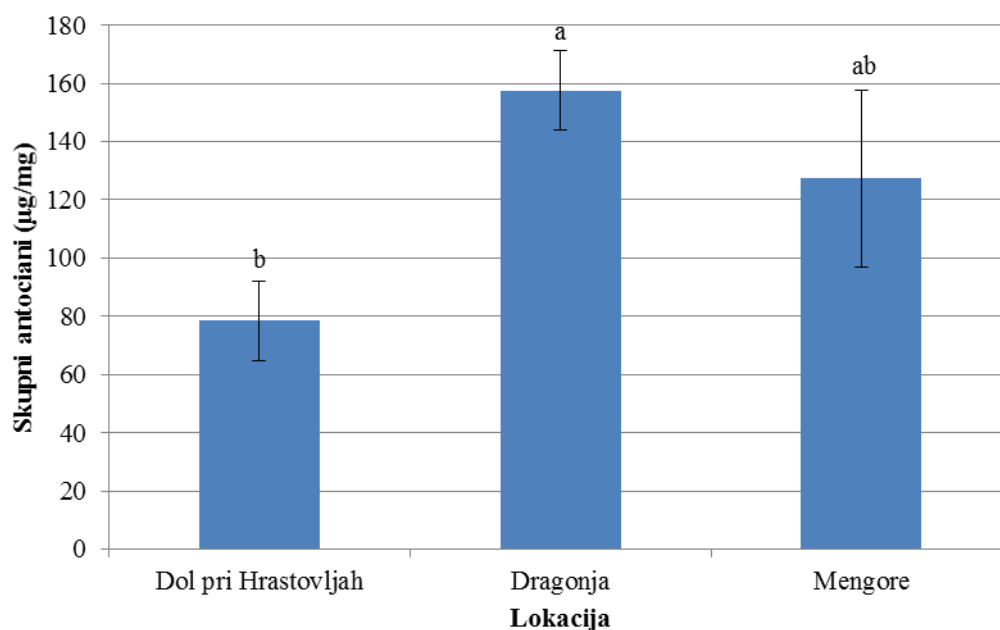
Največjo vsebnost antociana malvidin-3-glukozida imajo listi ciklam na lokaciji Mengore in sicer 12,4 $\mu\text{g}/\text{mg}$. Povprečna vsebnost antociana malvidin-3-glukozida se sicer statistično značilno ne razlikuje med lokacijami (slika 15).



Slika 15: Vsebnost antociana malvidin-3-glukozida v listih navadne ciklame ($\mu\text{g}/\text{mg}$) na različnih lokacijah. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike med lokacijami ($p \leq 0,05$); Ljubljana, 2016

4.2.6 Vsebnost skupnih antocianov

Slika 16 prikazuje povprečno vsebnost skupnih antocianov, ki je najmanjša v listih ciklam iz lokacije Dol pri Hrastovljah (78,5 µg/mg), največja v listih ciklam iz lokacije Dragonja (157,6 µg/mg). Med lokacijama Dol pri Hrastovljah in Mengore ni statistično značilnih razlik in prav tako ne med lokacijama Dragonja in Mengore. Obstajajo pa statistično značilne razlike v vsebnosti skupnih antocianov med lokacijama Dol pri Hrastovljah in Dragonja.

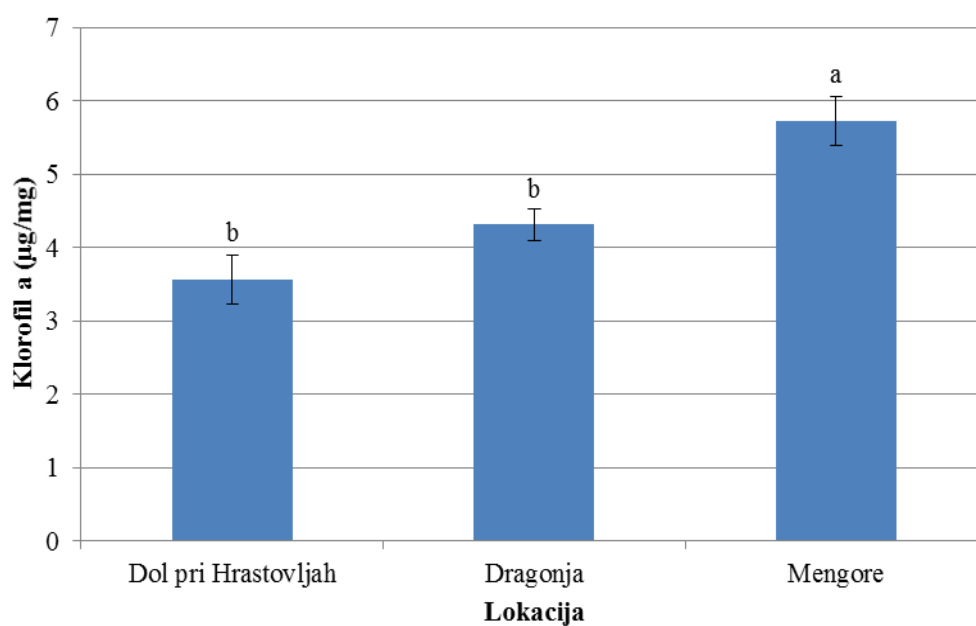


Slika 16: Vsebnost skupnih antocianov v listih navadne ciklame (µg/mg) na različnih lokacijah. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike med lokacijami ($p \leq 0,05$); Ljubljana, 2016

4.3 VSEBNOST KLOOROFILA

4.3.1 Vsebnost klorofila a

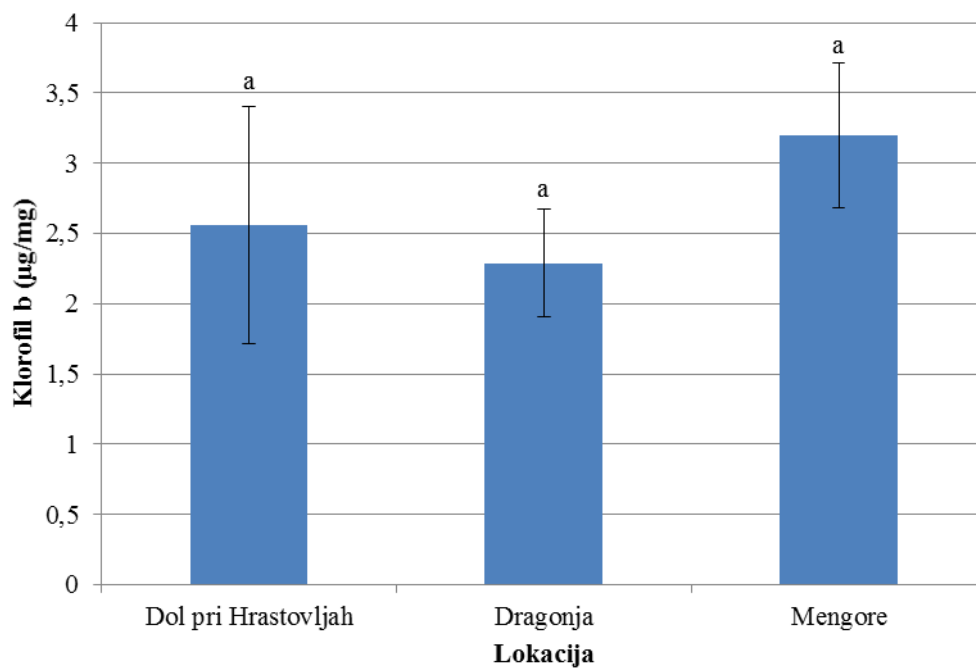
Povprečna vsebnost klorofila a v listih ciklam je bila statistično značilno najmanjša na lokaciji Dol pri Hrastovljah (3,6 $\mu\text{g}/\text{mg}$), največja pa na lokaciji Mengore (5,7 $\mu\text{g}/\text{mg}$). Med lokacijama Dol pri Hrastovljah in Dragonjo ni bilo statistično značilnih razlik v vsebnosti klorofila a (slika 17).



Slika 17: Vsebnost klorofila a v listih navadne ciklame ($\mu\text{g}/\text{mg}$) na različnih lokacijah. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike med lokacijami ($p \leq 0,05$); Ljubljana, 2016

4.3.2 Vsebnost klorofila b

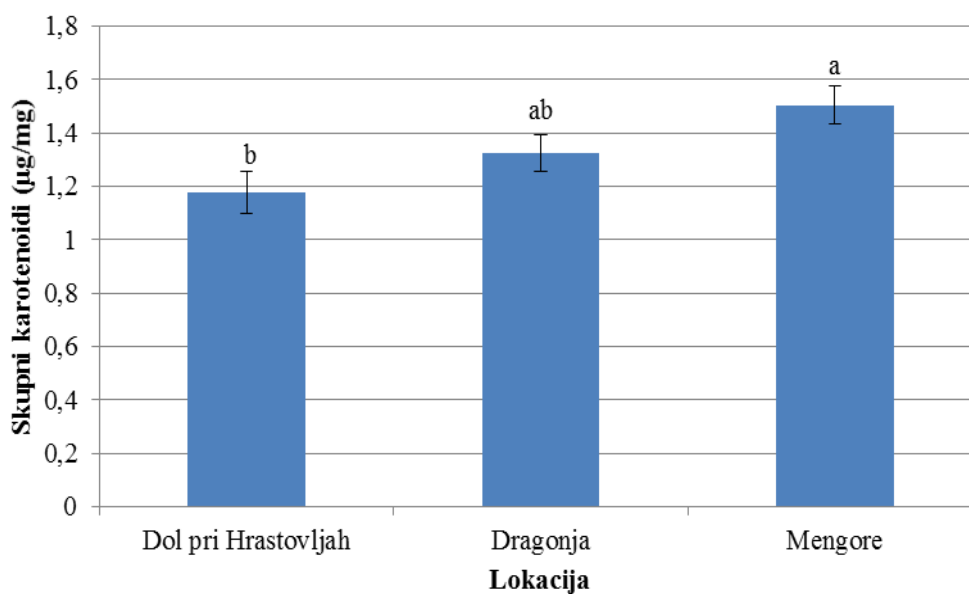
Povprečna vsebnost klorofila b se giblje med 2,3 $\mu\text{g}/\text{mg}$ in 3,2 $\mu\text{g}/\text{mg}$. Med vsemi tremi lokacijami ni statistično značilnih razlik v povprečni vsebnosti klorofila b (slika 18).



Slika 18: Vsebnost klorofila b v listih navadne ciklame ($\mu\text{g}/\text{mg}$) na različnih lokacijah. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike med lokacijami ($p \leq 0,05$); Ljubljana, 2016

4.3.3 Vsebnost skupnih karotenoidov

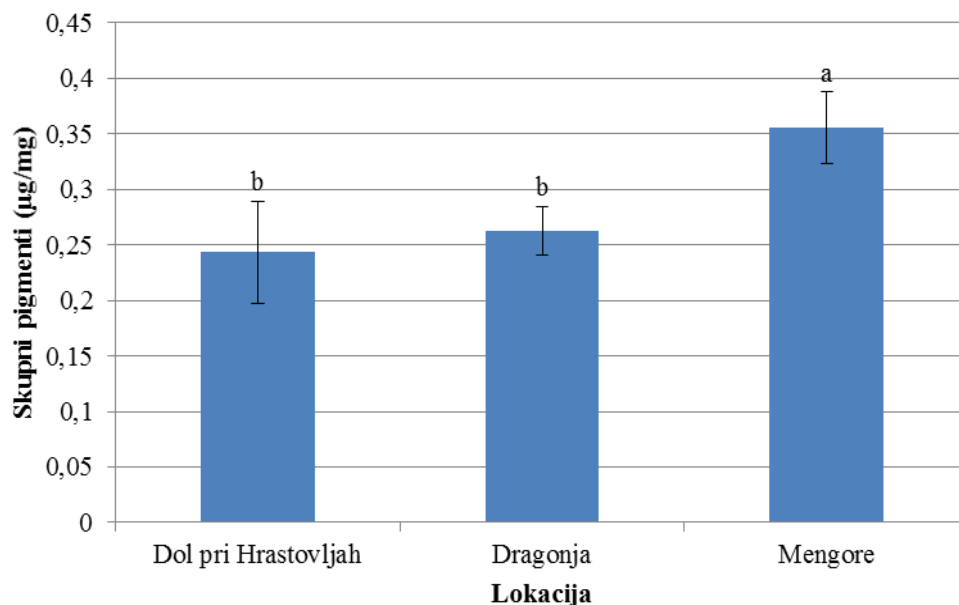
Najmanjša povprečna vsebnost karotenoidov se je pokazala v listih ciklam iz lokacije Dol pri Hrastovljah 1,2 $\mu\text{g}/\text{mg}$. Največja povprečna vsebnost skupnih karotenoidov pa se je pokazala v listih ciklam iz lokacije Mengore, in sicer 1,5 $\mu\text{g}/\text{mg}$. Med lokacijama Dol pri Hrastovljah in Dragonja ni bilo statistično značilnih razlik v vsebnosti skupnih karotenoidov in prav tako tudi ne med lokacijama Dragonja in Mengore (slika 19).



Slika 19: Vsebnost skupnih karotenoidov v listih navadne ciklame ($\mu\text{g}/\text{mg}$) na različnih lokacijah. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike med lokacijami ($p \leq 0,05$); Ljubljana, 2016

4.3.4 Vsebnost skupnih pigmentov

Slika 20 prikazuje povprečno vsebnost skupnih pigmentov, ki se giblje med 0,2 $\mu\text{g}/\text{mg}$, v listih ciklam iz lokacije Dol pri Hrastovljah in 0,4 $\mu\text{g}/\text{mg}$, v listih ciklam iz lokacije Mengore. Listi ciklam iz lokacije Mengore so imeli statistično značilno največjo vsebnost skupnih pigmentov.



Slika 20: Vsebnost skupnih pigmentov v listih navadne ciklame ($\mu\text{g}/\text{mg}$) na različnih lokacijah. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike med lokacijami ($p \leq 0,05$); Ljubljana, 2016

4.4 OSNOVNA BARVA LISTOV

Tabela prikazuje povprečne vrednosti barvnih parametrov. Statistično značilno največjo vrednost parametra a^* so imeli listi iz lokacije Dragonja, medtem ko med lokacijama Dol pri Hrastovljah in Mengore ni bilo statistično značilnih razlik v vrednosti parametra a^* . Tudi pri parametru b^* ni bilo statistično značilnih razlik med lokacijama. Statistično značilno najsvetlejša lista (parameter L^*) so imele ciklame iz lokacije Dol pri Hrastovljah in Mengore.

Statistično značilnih razlik pri parametrih C in h° ni bilo med lokacijama Dol pri Hrastovljah in Mengore.

Preglednica 1: Analizirani kolorimetrični parametri na listih navadne ciklame $\pm$ standardna napaka na različnih lokacijah. Različne črke označujejo statistično značilne razlike med lokacijami ($p \leq 0,05$); Ljubljana, 2016

Lokacija	a*	b*	L*	C	h°
Dol pri Hrastovljah	6,9 $\pm$ 1,23 b	9 $\pm$ 1,59 a	37,89 $\pm$ 1,42 a	13,26 $\pm$ 0,63 b	48,32 $\pm$ 8,63 b
Dragonja	16,45 $\pm$ 0,63 a	0,92 $\pm$ 0,50 b	31,06 $\pm$ 0,52 b	16,96 $\pm$ 0,50 a	131,54 $\pm$ 28,94 a
Mengore	8,89 $\pm$ 1,17 b	8,65 $\pm$ 1,15 a	36,88 $\pm$ 1,06 a	14,53 $\pm$ 0,45 b	42,03 $\pm$ 5,99 b

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

V letih 2013 in 2014 smo opravili poskus v Botaničnem vrtu Univerze v Ljubljani. Za poskus smo si izbrali 16 različnih genotipov ciklam iz treh različnih matičnih lokacij. Izmerili smo morfološke lastnosti (število listov, dolžino in širino največjega lista in površino celotne rozete), vsebnost klorofila in barvne parametre listov ter analizirali, kateri antociani so zastopani v njihovih listih in v kakšni koncentraciji.

5.1.1 Morfološki parametri

Povprečna površina navidezne rozete je znašala med 102,8 cm² pri ciklamah iz lokacije Dragonja in 112,1 cm² pri ciklamah iz lokacije Mengore. Med lokacijami ni bilo statistično značilnih razlik v površini navidezne rozete.

Trošt Sedej (2005) navaja, da so sončni listi praviloma manjši od senčnih, saj potrebujejo manjšo učinkovito površino za absorbiranje svetlobe, hkrati pa ne smejo preveč senčiti spodnjih listov. Tako so celotne površine rozete sončnih rastlin praviloma manjše od površine rozete senčnih rastlin.

Največjo dolžino in širino največjega lista smo izmerili pri ciklamah iz lokacije Dol pri Hrastovljah, in sicer 5 cm in 5,7 cm, najmanjšo dolžino in širino največjega lista pa smo izmerili na lokaciji Mengore - 4,4 cm in 4,4 cm. Te tendence o manjših listih na lokacijah, ki smo jih uvrstili v sončne potrjujejo navedbe Trošt Sedeja (2005). Med lokacijami ni bilo statistično značilnih razlik v dolžini in širini največjega lista.

Pri številu listov prav tako ni bil viden vpliv lokacije, saj med lokacijami v številu ni bilo statistično značilnih razlik.

5.1.2 Antociani

Vsebnost skupnih antocianov je bila najmanjša v listih ciklam iz lokacije Dol pri Hrastovljah in Mengore, največja pa v listih ciklam iz lokacije Dragonja. Med lokacijama Dragonja in Mengore ni bilo statistično značilnih razlik.

Schmitzer in sod. (2008) so ugotovili, da na sintezo in količino barvila, pri vrsti *Acer palmatum*, vpliva položaj listov v krošnji. V raziskavah, ki so jih izvedli, so največ prevladujočega pigmenta cianidin 3-glukozida vsebovali krovni (zunanji) listi, najmanj pa listi znotraj krošnje. To pomeni, da so največ pigmenta vsebovali listi, ki so bili bolj izpostavljeni sončnemu sevanju, kar potrjujejo tudi naši rezultati ciklam iz lokacije

Dragonja. Nekoliko pa presenečajo najmanjše vrednosti skupnih antocianov pri ciklamah iz lokacije Dol pri Hrastovljah, ki smo jo tudi uvrstili med sončne lokacije.

Meng in sod. (2014) so raziskovali vpliv sončne svetlobe na akumulacijo antocianov v kožici jabolk (*Malus domestica* Borkh.). Ugotovili so, da so plodovi, ki so bili bolj izpostavljeni sončnemu sevanju, tvorili več antocianov v primerjavi s plodovi, ki so bili manj izpostavljeni sončnemu sevanju. S tem so potrdili, da izpostavljenost plodov sončnemu sevanju vpliva na indukcijo ključnih genov za biosintezo antocianov v kožici jabolk.

Yu in sod. (2003) so na Univerzi v Koloradu preučevali vsebnost skupnih fenolov v treh sortah ozimne pšenice ('Trego', 'Akron' in 'Platte'), gojene na petih različnih lokacijah (Julesburg, Akron, Burlington, Fort Collins in Walsh) na vzhodnem delu Kolorada. Fort Collins so označili kot mokrotno lokacijo, ostale pa kot sušne. Sorta 'Akron' je trda rdeča ozimna pšenica, sorti 'Trego' in 'Platte' pa sta trdi beli sorti ozimne pšenice. V vseh treh vzorcih so odkrili visoke količine skupnih fenolov. Najmanjšo količino skupnih fenolov na vseh petih lokacijah (113-212 µg/g) je vsebovala sorta 'Akron', največjo količino skupnih fenolov pa so odkrili v sorti 'Platte' (200–306 µg/g). V svoji raziskavi so potrdili, da na količino skupnih fenolov vplivata sorta in rastne razmere, v kateri rastlina raste.

Vsebnost antociana malvidin-3,5-diglukozida, je znašala med 69,1 µg/mg v listih ciklam iz lokacije Dol pri Hrastovljah in 120,5 µg/mg v listih ciklam iz lokacije Dragonja. Listi iz lokacije Dragonja so imeli statistično največjo vsebnost antociana malvidin-3,5-diglukozida, kar potrjuje ugotovitve prej omenjenih avtorjev o močnejši sintezi antocianov v različnih rastlinskih tkivih na močnejše osonečenih lokacijah.

Vsebnost antociana cianidin-3-neohesperidozida je bila najmanjša v listih ciklam iz lokacije Dol pri Hrastovljah in Dragonja, največja pa v listih ciklam iz lokacije Mengore (5,2 µg/mg). Med lokacijama Dol pri Hrastovljah in Dragonja ni bilo statistično značilnih razlik.

Pri vsebnosti antociana peonidin-neohesperidozida, malvidin-3-rutinozida in malvidin-3-glukozida vpliv lokacije ni viden, saj v vsebnosti le-teh med lokacijami ni statistično značilnih razlik.

Sternad Lemut in sod. (2011) so preučevali vsebnost antocianov v sorti grozdja 'Modri pinot', v dveh različnih vinogradih v Vipavi (Podraga in Potoče). Vsebnost antocianov (delfinidin-3-glukozid in petunidin-3-glukozid) v kožici grozdja je bila večja v grozdju iz vinograda Podraga. Vinograd v Podragi je imel večjo nadmorsko višino, kot vinograd v Potočah, več svetlobe, značilen nižji donos in manjšo velikost jagod, kar lahko potrdi boljše zorenje grozdja iz vinograda Podraga.

Kim in sod. (2013) so preučevali vsebnost antocianov v črni soji ('Cheongjakong 3'), gojeni na treh različnih lokacijah v Koreji (Miryang, Suwon in Yesan). Najmanjšo vsebnost antocianov je vsebovala črna soja iz lokacije Miryang, največjo vsebnost skupnih antocianov pa je vsebovala soja iz lokacije Suwon. V semenu črne soje so odkrili osem različnih antocianov, prevladovala je vsebnost antociana cianidin-3-glukozida. Največjo vsebnost le tega so prav tako odkrili v soji, gojeni v kraju Suwon. Povprečna temperatura v semenski razvojni stopnji je bila nižja v kraju Suwon in Yesan, medtem ko je bila v kraju Miryang povprečna temperatura višja. V svoji raziskavi so pokazali, da se je vsebnost antocianov povečala s povečano količino padavin v zgodnjih fazah rasti in razvoja in da se je vsebnost skupnih antocianov povečala z nižjimi temperaturami v fazi dozorevanja, previsoke temperature (nad 30°C) pa zavirajo sintezo antocianov.

5.1.3 Klorofil

Vsebnost klorofila a v listih ciklam je bila statistično značilno največja na lokaciji Mengore (5,7 µg/mg).

Pri vsebnosti klorofila b ni bil viden vpliv lokacije, saj ni bilo statistično značilnih razlik v njegovi vsebnosti med lokacijami.

Najmanjša vsebnost karotenoidov se je pokazala v listih ciklam iz lokacije Dol pri Hrastovljah in Dragonja. Največja vsebnost karotenoidov se je pokazala v listih ciklam iz lokacije Mengore in sicer 1,5 µg/mg. Med lokacijama Dol pri Hrastovljah in Dragonja ni bilo statistično značilnih razlik v vsebnosti karotenoidov in prav tako tudi ne med lokacijama Dragonja in Mengore.

Vsebnost skupnih pigmentov je bila najmanjša v listih ciklam iz lokacije Dol pri Hrastovljah in Dragonja. Listi iz lokacije Mengore so imeli statistično značilno največjo vsebnost skupnih pigmentov.

Že Middleton in Teramura (1993) poročata, da pod vplivom povečanega UV-B sevanja pride pogosto do zmanjšanja vsebnosti fotosinteznih barvil, klorofilov in karotenoidov, čeprav poznamo tudi primere, ko vsebnost fotosinteznih barvil naraste, o čemer poročajo Bavcon in sod. (1995). Različen odziv rastline na povečano jakost svetlobe je odvisen od številnih dejavnikov, kot so odpornost rastline na UV sevanje, ontogenetska stopnja razvoja in interakcije UV sevanja z drugimi dejavniki okolja. V zgodnjih stopnjah razvoja rastlin, pod vplivom UV sevanja pogosto pride do zmanjšanja jakosti fotosinteze. Te ugotovitve pojasnjujejo naše meritve največje vsebnosti skupnih pigmentov na lokaciji Mengore, ki smo jo uvrstili med senčne.

5.1.4 Osnovna barva listov

Listi iz lokacije Dol pri Hrastovljah in Mengore so imeli statistično značilno svetlejšo liste (parameter L^*), kot listi na lokaciji Dragonja. Še posebej rezultati na lokaciji Mengore presenečajo, saj smo to lokacijo uvrstili med senčne.

Ubi in sod. (2006) so namreč v svoji raziskavi ugotavljali vpliv svetlobe na sintezo antocianov in sicer v kožici jabolk. Ugotovili so, da UV-B sevanje in nizke temperature (17 °C) ključno vplivajo na povečano ekspresijo genov za biosintezo antocianov, medtem ko so imele nizke temperature v tej raziskavi v kombinaciji brez UV-B sevanja ali visoke temperature (27 °C) v kombinaciji z UV-B sevanjem manjši učinek na stimulacijo genske ekspresije. Pomanjkanje svetlobe vodi v slabšo obarvanost rastlinskih delov. Določeno število plodov na drevesu so zavili v vrečko in počakali en mesec. Pokriti plodovi so bili slabše obarvani, saj je pomanjkanje svetlobe preprečilo izražanje genov, ki so glavni za biosintezo antocianov oziroma obarvanost kože jabolk.

5.2 SKLEPI

Namen poskusa je bilo ugotoviti, kako različne matične lokacije vplivajo na parametre listov navadne ciklame in ali se značilne lastnosti ciklam (barva in marmoriranost listov) ohranjajo tudi pri naslednjih generacijah, npr. če spremenimo rastišče ciklame. Želeli smo ugotoviti tudi ali obstajajo razlike med različnimi tipi ciklam, želeli smo ugotoviti ali obstajajo razlike v morfoloških (širina in dolžina lista, površina rozete in število listov) in kemijskih lastnostih (vsebnost klorofila, zastopanost in vsebnost antocianov). Domnevamo, da samo rastišče ključno vpliva na rast in razvoj rastline.

V vrtnarski proizvodnji okrasnih rastlin si želimo kakovostno in intenzivno barvo cvetov, prav tako tudi ostalih delov rastlin. Kakovostna in intenzivna barva rastline je med drugim pomembna na tržišču, saj je od nje odvisna uspešna prodaja rastline.

Pri morfoloških meritvah (površina rozete, dolžina in širina največjega lista in število listov) ni bilo statistično značilnih razlik med lokacijami, tako lahko sklepamo, da lokacija na te parametre nima vpliva.

Vsebnost skupnih antocianov je bila največja v listih ciklam iz lokacije Dragonja in Mengore. Med lokacijama Mengore in Dol pri Hrastovljah ni bilo razlik v vsebnosti skupnih antocianov. Listi iz lokacije Dragonja so imeli statistično značilno največjo vsebnost antociana malvidin-3,5-diglukozida. Vsebnost antociana cianidin-3-neohesperidozida je bila statistično značilno največja v listih ciklam iz lokacije Mengore. Pri vsebnosti antocianov peonidin-neohesperidozida, malvidin-3-rutinozida in malvidin-3-glukozida vpliv lokacije ni viden, saj v vsebnosti le-teh med lokacijami ni bilo statistično značilnih razlik.

Zavrnilo smo delovno hipotezo, da med lokacijami ni razlik v vsebnosti antocianov. V vsebnosti antocianov so bile razlike med lokacijami.

Statistično značilno največja vsebnost klorofila a v listih ciklam je bila na lokaciji Mengore. Pri vsebnosti klorofila b ni bil viden vpliv lokacije, saj v njegovi vsebnosti ni bilo statistično značilnih razlik med lokacijami.

Največja vsebnost skupnih karotenoidov se je pokazala v listih ciklam iz lokacije Mengore in Dragonja. Med lokacijama Dragonja in Dol pri Hrastovljah ni bilo razlik v vsebnosti skupnih karotenoidov.

Na lokaciji Mengore so imeli listi statistično značilno največjo vsebnost skupnih pigmentov. Osnovna barva listov je bila svetlejša pri listih iz lokacije Dol pri Hrastovljah in Mengore.

6 POVZETEK

Namen poskusa je bilo ugotoviti, kako različne matične lokacije vplivajo na parametre listov navadne ciklame in ali se značilne lastnosti ciklam (barva in marmoriranost listov) ohranjajo tudi pri naslednjih generacijah, npr. če spremenimo rastišče ciklame. Želeli smo ugotoviti tudi ali obstajajo razlike med različnimi tipi ciklam, želeli smo ugotoviti ali obstajajo razlike v morfoloških (širina in dolžina lista, površina rozete in število listov) in kemijskih lastnostih (vsebnost klorofila, zastopanost in vsebnost antocianov). Domnevamo, da rastišče ključno vpliva na samo rast in razvoj rastline.

V letih 2013 in 2014 smo izvedli poskus v Botaničnem vrtu Univerze v Ljubljani. Vzorčili smo 16 genotipov navadne ciklame. Iz vsakega genotipa smo vzeli po 3 liste. Po prenosu izbranih listov v laboratorij, smo izvedli morfološke meritve, izmerili barvne parametre, vsebnost antocianov in njihovo zastopanost ter vsebnost klorofila.

Pri morfoloških meritvah smo s pomočjo šolskega ravnila izmerili dolžino in širino največjega lista, površino celotne rozete in spremljali število listov. Barvne parametre smo določili s pomočjo ročnega kolorimetra. Vsebnost antocianov v listih smo določili s pomočjo HPLC- MS analize, njihovo zastopanost pa s pomočjo primerjave absorpcijskega spektra in fragmentacije posameznih antocianov ter s primerjavo retencijskih časov s standardi. Vsebnost klorofila v listih smo po pripravi vzorcev določili s pomočjo spektrofotometra.

Pri morfoloških lastnostih ni bil viden vpliv lokacije, saj med lokacijami ni bilo statistično značilnih razlik.

Najsvetlejšje liste so imele ciklame iz lokacije Dol pri Hrastovljah in Mengore. Listi ciklam iz lokacije Dragonja so bili temnejši.

Vsebnost skupnih antocianov je bila največja v listih ciklam iz lokacije Dragonja in Mengore. Med lokacijama Mengore in Dol pri Hrastovljah ni bilo statistično značilnih razlik. Listi ciklam so vsebovali največ antociana malvidin-3,5-diglukozid in sicer na lokaciji Dragonja. Najmanj pa so listi vsebovali antociana cianidin-3-neohesperidozid in sicer na lokacijah Dol pri Hrastovljah in Dragonja.

Vsebnost skupnih pigmentov je bila največja v listih ciklam iz lokacije Mengore. Najvišja vsebnost klorofila a v listih ciklam je bila na lokaciji Mengore, značilno najmanjša pa na lokaciji Dol pri Hrastovljah in Dragonja. Pri vsebnosti klorofila b ni bil viden vpliv lokacije, saj v njegovi vsebnosti ni bilo statistično značilnih razlik med lokacijami. Največja vsebnost karotenoidov se je pokazala v listih ciklam iz lokacije Mengore in Dragonja.

7 VIRI

- Bavcon J. 2009. Navadna ciklama (*Cyclamen purpurascens* Mill.) in njena raznolikost v Sloveniji. Ljubljana, Botanični vrt, Oddelek za biologijo, Biotehniška fakulteta: 163 str.
- Bavcon J., Gabersčik A., Gogala N. 1995. Influence of low temperatures and UV-B radiation on chlorophyll fluorescence kinetic in *Picea abies* (L.) Karst. *Acta pharmaceutica*, 1, 2: 359-362
- Botanični vrt Univerze v Ljubljani. Ko zadišijo ciklame.
<http://www.botanicni-vrt.si/zbirka-ciklam> (15.8.2015)
- Cooper-Driver G. A. 2000. Contributions of Jeffrey Harborne and co-workers to the study of antocyanins. *Phytochemistry*, 56, 3: 229-236
- Davies K. M. 2004. An introduction to plant pigments in biology and commerce. V: Plant pigments and their manipulation. Davies K. M. (ed.). Oxford, Blackwell Publishing (Annual Plant Reviews, 14): 1-22
- Feng F., Li M., Ma F., Cheng L. 2012. Phenylpropanoid metabolites and expression of key genes involved in anthocyanin biosynthesis in the shaded peel of apple fruit in response to sun exposure. *Plant Physiology and Biochemistry*, 69: 54-61
- Foto-narava.com.
<http://galerija.foto-narava.com/displayimage.php?album=search&cat=0&pos=11>
(20.8.2015)
- Grey-Wilson C. 1988. The genus cyclamen. London, Christopher Helm/Timber: 147 str.
- Grey-Wilson C. 2002. Cyclamen: a guide for gardeners, horticulturists and botanists. 2. izdaja. London, B T Batsford: 224 str.
- Harborne J.B., Williams C.A. 2000. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55, 6: 481-504
- JISC Digital Media. Modelling colour.
<http://www.jiscdigitalmedia.ac.uk/infokit/colour-management/modelling-colour>
(10.8.2015)

- Kitamura S., Akita Y., Ishizaka H., Narumi I., Tanaka A. 2011. Molecular characterization of an anthocyanin-related glutathione S-transferase gene in cyclamen. *Journal of Plant Physiology*, 169: 636–642
- Kim E., Lee O., Kim J., Kim S., Lee J., Kim S., Chung I. 2013. Isoflavones and anthocyanins analysis in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) from three different planting locations in Korea. *Field Crops Research*, 156: 76–83
- Kromar J., 1979. Strupene rastline. Ljubljana, Založba Borec: 119 str.
- Martinčič A., Wraber T., Jogan N., Podobnik A., Turk B., Vreš B., 2007. Mala flora Slovenije: ključ za določanje praprotnic in semenk. 4. izdaja. Ljubljana, Tehniška založba Slovenije: 481 str.
- Mathew B. 2013. Genus cyclamen: science, cultivation, art and culture. Chicago, University of Chicago Press: 574 str.
- Meng R., Qu D., Liu Y., Gao Z., Yang H., Shi X., Zhao Z. 2014. Anthocyanin accumulation and related gene family expression in the skin of dark-grown red and non-red apples (*Malus domestica* Borkh.) in response to sunlight. *Scientia Horticulturae*, 189: 66–73
- Middleton E. H., Teramura A. H. 1993. The role of flavonol glycosides and carotenoids in protecting soybean from UV-B damage. *Plant Physiology*, 103: 741-752
- Miller R., Owens S. J., Rorslet B. 2011. Plants and colour: flowers and pollinators. *Optics & Laser Technology*, 43: 282-294
- Nelson P. V. 2011. Greenhouse operation and management. Prentice Hall, New Jersey: 518 str.
- Osterc G., Cunja V., Mikulič- Petkovšek M., Schmitzer V., Štampar. F., Bavcon J. 2014. Foliage indentification of different autochthonous common cyclamen genotypes (*Cyclamen purpurascens* Mill.) using various biochemical parameters. *Scientia Horticulturae*, 173: 37-44
- Petauer T. 1993. Leksikon rastlinskih bogastev. Ljubljana, Tehniška založba Slovenije: 684 str.
- Petroni K., Tonelli C. 2011. Recent advances on the regulation of anthocyanin synthesis in reproductive organs. *Plant Science*, 181: 219-229

- Schmitzer V., Osterc G., Štampar F., Veberič R. 2008. Phase change modifies anthocyanin synthesis in *Acer palmatum* Thunb. (Japanese maple) cultivars. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31: 415-418
- Schmitzer V., Veberič R., Štampar F. 2012. Prohexadione-Ca application modifies flavonoid composition and color characteristics of rose (*Rosa hybrida* L.) flowers. *Scientia Horticulturae*, 146: 14-20
- Schwinn K. E., Davies K. M. 2004. Flavonoids. V: Plant pigment and their manipulation. Davies K.M. (ed.). Oxford, Blackwell Publishing (Annual Plant Reviews, 14): 92-149
- Sternad Lemut M., Trost K., Sivilotti P., Vrhovsek U. 2011. Pinot Noir grape colour related phenolics as affected by leaf removal treatments in the Vipava Valley. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24: 777–784
- Taiz L., Zaiger E. 2006. Plant physiology. 4th edition, Sunderland (Massachusetts), Sinauer Associates: 690 str.
- Trošt Sedej T. 2005. Učinek ultravijoličnega sevanja na smreko (*Picea abies* L.) in posledice za gorski gozdni ekosistem. *Zbornik gozdarstva in lesarstva*, 78: 5-27
- Ubi B. E., Honda C., Bessho H., Kondo S., Wada M., Kobayashi S., Moriguchi T. 2006. Expression analysis of anthocyanin biosynthetic genes in apple skin: Effect of UV-B and temperature. *Plant Science*, 170: 571-578
- Ultravijolična in infrardeča spektroskopija.
<http://keminfo.pef.uni-lj.si/ro03m/uvirspl.htm> (19.8.2015)
- Uredba o zavarovanih prosto živečih rastlinskih vrstah. 2004. Ur. l. RS, št. 46/2004
- Veberič R., Jakopič J., Štampar F., Schmitzer V. 2008. European elderberry (*Sambucus nigra* L.) rich in sugars, organic acids, anthocyanins and selected polyphenols. *Food Chemistry*, 114: 511-515
- Vodnik D. 2012. Osnove fiziologije rastlin. Ljubljana, Oddelek za agronomijo, Biotehniška fakulteta: 141 str.
- Yu L., Haley S., Perret J., Harris M. 2003. Comparison of wheat flours grown at different locations for their antioxidant properties. *Food Chemistry*, 86: 11–16

Kermavnar N. Razlike v morfoloških in kemijskih lastnostih ciklam (*Cyclamen purpurascens* Mill.).
Mag. delo. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, 2016

Zupan A. 2010. Gensko spreminjanje barve pri nageljčku (*Dianthus caryophyllus* L.). Dipl.
projekt. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za agronomijo: 25 str.

ZAHVALA

Za strokovno vodenje in kritični pregled se zahvaljujem mentorici, doc. dr. Maji Mikulič Petkovšek in recenzentu, prof. dr. Gregorju Ostercu.

Zahvaljujem se Botaničnemu vrtu v Ljubljani, za pomoč in dovoljenje za izvajanje poskusa na ciklamah. Hvala somentorju doc. dr. Jožetu Bavconu za vsestransko pomoč in strokovni pregled magistrskega dela.

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