

# Utjecaj ektomikorize na kemijski sastav vina 'Kraljevina'

---

**Kos, Karlo**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2019**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:204:249749>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-12-03**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET**

**UTJECAJ EKTOMIKORIZE NA KEMIJSKI SASTAV VINA  
‘KRALJEVINA’**

**DIPLOMSKI RAD**

Karlo Kos

Zagreb, srpanj, 2019.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET**

Diplomski studij:  
Hortikultura – Vinogradarstvo i vinarstvo

**UTJECAJ EKTOMIKORIZE NA KEMIJSKI SASTAV VINA  
‘KRALJEVINA’**

DIPLOMSKI RAD

Karlo Kos

Mentor: Prof.dr.sc. Ana Jeromel

Zagreb, srpanj, 2019.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET**

**IZJAVA STUDENTA  
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI**

Ja, **Karlo Kos**, JMBAG 0178095581, rođen dana 10.02.1995. u Zagrebu, izjavljujem da sam samostalno izradio diplomski rad pod naslovom:

**UTJECAJ EKTOMIKORIZE NA KEMIJSKI SASTAV VINA 'KRALJEVINA'**

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
*Potpis studenta*

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET**

**IZVJEŠĆE**

**O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA**

Diplomski rad studenta **Karla Kosa, JMBAG 0178095581**, naslova

**UTJECAJ EKTOMIKORIZE NA KEMIJSKI SASTAV VINA 'KRALJEVINA'**

obranjen je i ocijenjen ocjenom \_\_\_\_\_, dana \_\_\_\_\_.

Povjerenstvo:

potpisi:

1. Prof.dr.sc. Ana Jeromel mentor

\_\_\_\_\_

2. Doc.dr.sc. Ana-Marija Jagatić Korenika član

\_\_\_\_\_

3. Prof.dr.sc. Sanja Sikora član

\_\_\_\_\_



# SAŽETAK

Diplomskog rada studenta **Karla Kosa**, naslova

## **UTJECAJ EKTOMIKORIZE NA KEMIJSKI SASTAV VINA 'KRALJEVINA'**

Cilj ovog diplomskog rada bio je utvrditi kako živi ektomikorizni micelij komercijalnog naziva „Mykoflor“, apliciran na korijen vinove loze sorte 'Kraljevina' (*Vitis vinifera* L.), utječe na kemijski sastav mošta te kemijskog sastava vina po završetku alkoholne fermentacije. Mikorizni inokulat je aplicirano na 40 trsova, a pokus je postavljen 2016. u vinogradu na području Zelinskog vinogorja u vlasništvu OPG Kos Karlo "Vina Kos". Analiza u vinu je provedena nakon berbe 2017. na Zavodu za vinogradarstvo i vinarstvo Agronomskog fakulteta u Zagrebu. Kemijskim analizama utvrđen je sadržaj šećera, ukupna kiselost, pH vrijednost, koncentracija pojedinačnih organskih kiselina u moštu te aromatski profil vina. Temeljem dobivenih rezultata utvrđeno je da je mikoriza imala pozitivan utjecaj na kemijski sastav povećanjem sadržaja šećera, povećanjem ukupne kiselosti, smanjenjem pH vrijednosti te povećanjem koncentracije vinske i jabučne kiseline dok nije utvrđeno povećanje spojeva nositelja primarnih aroma vina.

**Ključne riječi:** mikoriza, 'Kraljevina', kemijski sastav vina, aromatski profil vina

## SUMMARY

Of the master's thesis – student **Karlo Kos**, entitled

### **ECTOMYCORRHIZAL INFLUENCE ON CHEMICAL COMPOSITION OF 'KRALJEVINA' WINE**

Objective of this Master's thesis was to determine the way that ectomycorrhizal mycelium under commercial name “Mykoflor” applied to the root of the vine varieties ‘Kraljevina’ (*Vitis vinifera* L.) affects the quality of grapes and chemical composition of wine. Mycotic inoculant was applied on 40 ‘Kraljevina’ grapevines. The experiment was placed in 2016. on vineyard OPG Kos Karlo “Vina Kos” which are located in viticultural subregion of Zelina. Wine analyses were done after the 2017. harvest at the Department of Viticulture and Enology on Faculty of Agriculture in Zagreb. Sugar content, titratable acidity, pH values, organic acid concentration of grape juice and aromatic profile of wine was determined by chemical analysis. It was found that mycorrhiza affected on chemical composition by increasing sugar content, increasing total acidity, decreasing pH, increasing concentration of tartaric and malic acid but no effect was determined in primary aroma concentrations.

**Keywords:** mycorrhiza, ‘Kraljevina’, chemical composition of wine, aromatic profile of wine



# Sadržaj

Sadržaj.....	I
Popis slika .....	III
Popis tablica .....	IV
1. Uvod.....	1
1.1. Hipoteza.....	2
1.2. Cilj istraživanja.....	2
2. Pregled literature .....	2
2.1. Simbioza .....	3
2.2. Mikorizne asocijacije.....	4
2.3. Ektomikoriza .....	4
2.3.1. Utjecaj ektomikorize na vinovu lozu .....	6
3. Materijali i metode .....	7
3.1. Pokusni vinograd .....	7
3.2. Klima .....	8
3.2.1. Temperatura .....	9
3.2.2. Svjetlost.....	11
3.2.3. Vlaga .....	12
3.2.4. Vjetrovi.....	14
3.3. Tlo.....	15
3.3.1. Tlo pokusnog vinograda.....	16
3.4. Sorta 'Kraljevina' .....	17
3.5. Podloga <i>V. berlandieri</i> x <i>V. riparia</i> Kober 5BB.....	18
3.6. Plan pokusa.....	19
3.7. Kemijska analiza vina.....	21
3.8. Aromatski profil vina.....	25
3.9. Senzorno ocjenjivanje vina.....	27
4. Rezultati i rasprava .....	27
4.1. Utjecaj ektomikorize na kemijski sastav mošta.....	27
4.2. Utjecaj ektomikorize na sadržaj pojedinačnih organskih kiselina.....	28
4.3. Utjecaj ektomikorize na osnovna fizikalno-kemijska svojstva vina .....	29
4.4. Utjecaj ektomikorize na aromatski profil vina .....	30
4.5. Utjecaj mikorize na rezultate senzornog ocjenjivanja vina .....	34

5. Zaključak.....	35
6. Literatura.....	36

## Popis slika

Slika 1.	Shematski prikaz ektomikorize .....	5
Slika 2.	Satelitski prikaz pokusnog vinograda .....	8
Slika 3.	Mjesečna insolacija, Zagreb-Maksimir, travanj-listopad 2017. godina izražena u satima (izvor: <a href="http://meteo.hr/">http://meteo.hr/</a> ).....	12
Slika 4.	Odstupanje količine oborine u 2017. godini (izvor: <a href="http://meteo.hr/">http://meteo.hr/</a> ) .....	13
Slika 5.	Optički refraktometar .....	22
Slika 6.	Digitalni refraktometar.....	22

## Popis tablica

Tablica 1.	Prikaz srednjih mjesečnih temperatura zraka (°C) za Zagreb-Maksimir .....	11
Tablica 2.	Ukupne mjesečne količine oborina, Zagreb-Maksimir, 2017. godina (mm) .....	14
Tablica 3.	Analiza hranjiva u tlu .....	16
Tablica 4.	Propisane minimalne količine ekstrakta bez šećera za pojedine kategorije vina	23
Tablica 5.	Sadržaj šećera i ukupna kiselost u vinu 'Kraljevina' berba 2017. ....	28
Tablica 6.	Sadržaj pojedinih organskih kiselina u vinu 'Kraljevina' berba 2017. ....	29
Tablica 7.	Osnovna fizikalno-kemijska analiza vina .....	30
Tablica 8.	Aromatski profil (µg/l) vina 'Kraljevina' berba 2017.....	31
Tablica 9.	Rezultati ocjenjivanja metodom 'Paired sample' .....	34
Tablica 10.	Rezultati ocjenjivanja metodom 100 bodova .....	34

# 1. Uvod

Vinogradarstvo je važna gospodarske grana Republike Hrvatske. Specifični i vrlo povoljni ekološki uvjeti, a također i bogatstvo autohtonih i introduciranih sorti vinove loze omogućuju proizvodnju vina vrlo širokog spektra, vrhunske kakvoće i prepoznatljivosti. S dugom tradicijom i potencijalom daljnjeg razvoja u proizvodnji vina mogućnost profiliranja Hrvatske kao globalno prepoznatljive vinske zemlje je iznimno velika. Vinska industrija je jedna od glavnih poljoprivrednih grana u agrobiznisu Republike Hrvatske.

Vinova loza (*Vitis vinifera*), koja pripada porodici *Vitaceae* odlikuju se iznimnom ekološkom prilagodljivošću, a daje dobre rezultate na različitim tipovima tla. U cilju postizanja što boljih prinosa i osiguranja kvalitete grožđa, a kasnije vina, vinogradarski agro-ekosustavi podvrgnuti su značajnom pritisku primjene mineralnih gnojiva i kemijskih sredstava za zaštitu, zbog čega, osim izravnih onečišćenja okoliša, konvencionalna poljoprivreda je uzrok i drugih ekoloških degradacija, poput smanjenja bioraznolikosti i gubitka biljnih i životinjskih vrsta, erozije tla i gubitka humusa, salinizacije tla, eutrofikacije<sup>1</sup> voda, desikacije<sup>2</sup> (Znaor, 1996) Mogućnost izbjegavanje tih negativnih utjecaja na degradaciju ekosustava vinove loze je uvođenje novih ekoloških metoda, praksa i tehnologija. U Europskoj uniji i u ostatku svijeta, jedan od ciljeva poljoprivredne politike je poboljšati održivost proizvodnje agro-sustava primjenjujući održive poljoprivredne prakse bez nanošenja štete na ljudsko zdravlje i okoliš, a jedan od takvih ekološki prihvatljivih pristupa je primjena biostimulanasa u vinogradarstvu koji uključuju primjenu korisnih mikroorganizama kao što su mikorizne gljive koje stvaraju simbiozne zajednice sa većinom biljnih vrsta (Popescu 2016). Simbioza označava blisku zajednicu dva ili više organizama koji pripadaju različitim vrsta. Takvi odnosi su vrlo česti u prirodi.

---

<sup>1</sup> Eutrofikacija (grč. εὐτροφία: dobro hranjenje), povećanje primarne proizvodnje org. tvari u vodenim ekosustavima zbog stalnoga vanjskog unosa hranjivih soli (posebice nitrata i fosfata). Eutrofikacija može biti prirodna ili može nastati djelovanjem čovjeka zbog prekomjernog ispuštanja hranjivih tvari u otpadnim vodama, ispiranja poljop. površina uz masovnu upotrebu umjetnih gnojiva

<sup>2</sup> desikacija (od lat. *desiccare*: osušiti), potpuno ili gotovo potpuno gubljenje vode iz pornog prostora u tlu ili talogu kao posljedica ishlapljivanja vodnog tijela u aridnim (sušnim) uvjetima.

## 1.1. Hipoteza

Veliki broj znanstvenih radova u Hrvatskoj tako i u ostatku svijeta ukazuje na pozitivno djelovanje koegzistencije biljaka i gljiva. Rezultati velikog broja istraživanja ukazuju na pozitivan učinak mikorizne simbioze na vinovu lozu, tako je za pretpostaviti da će pozitivno utjecati i na parametre proučavane u ovom radu. Pretpostavlja se da će kod inokuliranih biljaka rezultat biti vidljiv na samoj biljci u vidu boljeg rasta i razvoja, te se kasnije pozitivno odraziti na kakvoću grožđa, odnosno vina.

## 1.2. Cilj istraživanja

Cilj ovog istraživanja je utvrditi na koji način i u kojoj mjeri aplikacija preparata živog ektomikoriznog micelija komercijalnog naziva MYKOFLOR tvrtke Bio-budućnost d.o.o. iz Zagreba utječe na sadržaj šećera, ukupnu kiselost, pH vrijednost, koncentraciju pojedinačnih organskih kiselina u moštu te aromatski profil vina sorte 'Kraljevina' berbe 2017. Aplikacija mikoriznog preparata izvršena je u vinograd na području Svetog Ivana Zeline u jesen 2016. godine.

## 2. Pregled literature

Riječ mikoriza je složenica dviju grčkih riječi, *mycos*, što znači gljiva i *riza*, što znači korijen, koja je prvi put upotrijebljena 1885., za opis povezanosti između biotrofne mikorizne gljive i korijena biljaka (Garg i sur., 2010).

Mikorizu se može definirati kao simbiozu između biljaka i gljiva lokaliziranu u području korijena, u kojoj dolazi do obostrane koristi (Buscot, 2015). Biljka putem simbioze s mikoriznom gljivom ima bolji pristup hranjivima koje gljiva usvaja iz velikog volumena tla putem mreže razgranatih hifa. Zauzvrat, biljka gljivi osigurava asimilate i druge organske tvari. Osim na ishranu bilja i bolje usvajanje hranjiva, mikoriza ima višestruki pozitivan utjecaj na biljku. Mikroorganizmi, a tako i mikorizne gljivice doprinose boljem biološkom kontroliranju biljnih patogena i infekcije. Gljive proizvode antibiotike i time sprječavaju rast patogena. Kod

vinove loze koja je pod utjecajem mikorize zapažena je bolja obrambena reakcija na pepelnicu (lat. *Uncinula necator*) – (*Erysiphe necator*) i manja pojava bolesti korijena (*Armillaria sp.*, *Fusarium*, *Phytophthora*). Uz biološko kontroliranje biljnih patogena, mikoriza doprinosi i poboljšanoj opskrbi vinove loze hranjivim tvarima, čime se održava zdravlje kulture i ekonomičnosti proizvodnje. Prema Garg (2010) mikorizne gljive djeluje na način da stimuliraju proizvodnju hormona kod biljaka, povećavaju razinu klorofila u listovima i otpornost biljaka na vodni stres, zaslanjenost, kiselost tla i toksičnost uzrokovanu teškim metalima. Simbiozne mikorizne gljive čine ključnu komponentu mikrobne populacije koje utječu na rast biljaka i produktivnost tla.

## 2.1. Simbioza

Simbioza je povezanost između dva ili više različitih vrsta organizama. U simbiozi različiti organizmi međusobno djeluju osiguravajući jedan drugome stanište ili ekološku nišu, izvor hranjiva i reprodukciju, također ostvaruju metaboličke funkcije, morfološka svojstva i bihevioralne osobine za koje niti jedan od njih ne bi bio sposoban sam za sebe (Balestrini.,2018.). Domaćin i simbiot često razvijaju nova svojstva, a ponekad dolazi i do formiranja nove jedinice s karakteristikama drugačijim od onih s kojima su ušli u simbiozu (Margulis, 1991). Biljka pruža gljivama konstantan pristup ugljikohidratima kao što su glukoza i saharoza, a zauzvrat dobiva pristup teško dostupnim hranjivima i otpornost na stres.

Simbiotske interakcije u prirodi su sveprisutne, bilo da su parazitske, komenzalističke ili mutualističke (obostrane). U parazitskom odnosu jedan partner ima korist na račun drugoga. Mutualizam je odnos u kojemu oba partnera imaju korist, odnosno odnos je povoljan za oba partnera, a dok je komenzalizam odnos u kojemu jedan partner ima korist dok je na drugoga utjecaj neutralan. Međutim, takvi odnosi između partnera nisu konstantni te se pod utjecajem okolišnih čimbenika, vremena i biološkog razvoja jedinice konstantno mijenjaju (Leung i sur. 2008).

## 2.2. Mikorizne asocijacije

Mikoriza predstavlja jedan tip mutualističke simbioze micelija gljiva i korijena viših biljaka. Važnost mikorize iznesena je u istraživanju Smith i Read (2008) koji navode da su za usvajanje hranjiva zaslužne mikorizne asocijacije, a ne sami korijen. Gljive u mikorizi iz korijenja koriste jednostavne šećere koji provodnim tkivom, floemom, dospijevaju u korijen iz lista u kojima se sintetiziraju tijekom procesa fotosinteze (Torres i sur., 2018). Zauzvrat biljka korist iz mikorizne zajednice dobiva tako da micelij gljive povećava površinu korijena putem koje će biljka iz tla olakšano uzimati vodu i mineralne tvari (Azcón-Aguilar, 1997).

Prema svojoj morfologiji i fiziologiji, mikorize se dijele na sedam kategorija: ektomikoriza, endomikoriza (arbuskularna mikoriza), ektoendomikoriza, arbutoidna mikoriza, monotropoidna mikoriza, erikoidna mikoriza i orhidejska mikoriza (Garg,2010).

Prema poljskom znanstveniku Franciszek Dionizy Kamiński, koji je prvi otkrio mikorizu 1880-ih, mikoriza se može podijeliti u dvije glavne kategorije: ektomikoriza i endomikoriza. Podjela se odnosi na međusoban odnos hifa gljive i stanice korijena. Kod ektomikoriza stvara se mreža hifa između korijenovih stanica i hife koje obavijaju korijenje te prodiru u okolno tlo, dok se kod endomikoriza stvaraju posebne strukture za izmjenu tvari s domaćinom unutar korijenovih stanica i tvore mrežu finih hifa u tlu.

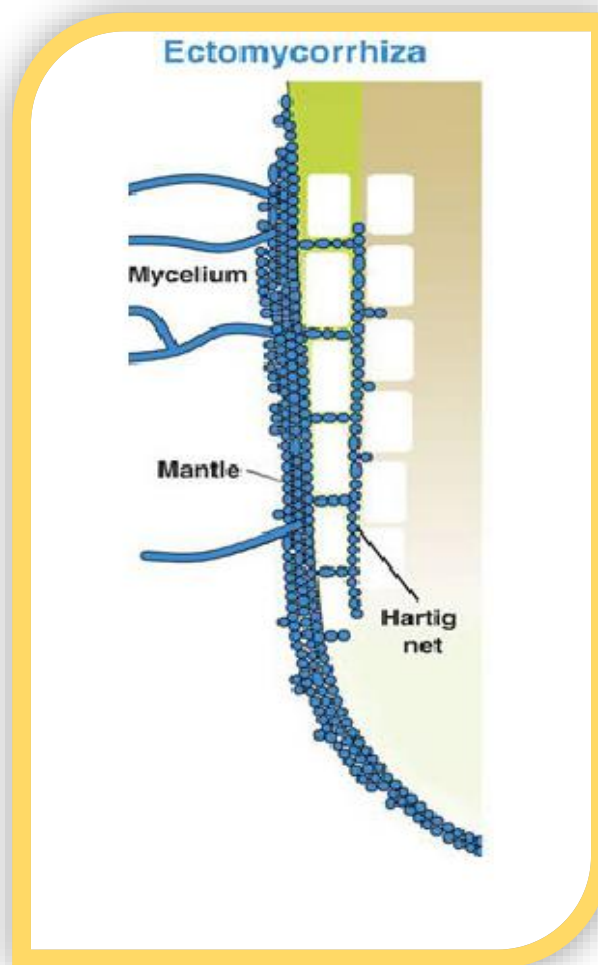
## 2.3.Ektomikoriza

Oblik mikorize u kojoj hife gljive simbionta ne ulaze u stanicu biljke domaćina naziva se ektomikoriza. Iako ju može formirati između 5000 i 6000 vrsta gljiva, ektomikorizu u prirodi tvori samo oko 3 % viših biljaka (Paracer i sur., 2000). Na korijenu jedne biljke može se naći do čak nekoliko desetaka mikoriznih gljiva. (Bruns, 1995) Ektomikorizne gljive većinom pripadaju razredu *Basidiomycetes* (npr. *Amanita muscaria*, *Hebeloma cylindrosporum*, *Laccaria bicolor*, *Paxillus involutus*, *Pisolithus tinctorius*, *Suillus bovinus*, *Xerocomus badius*), no pripadaju im i neke *Ascomycetes* (*Tuber borchii*, *Cenococcum geophilum*, *Scleroderma hypogaeum*) (Zrnić i Širić, 2017).

Korijen biljke u ektomikorizi morfološki vidljivo se razlikuje od korijena biljaka kod kojih ne dolazi do simbioze, a također se razlikuje i od korijena biljaka u drugim oblicima mikorize. Na korijenu biljaka koje su stupile u mikorizu nedostaju korijenove dlačice, korijen



usporava rast u dubinu i grana se u širinu. Kod ektomikoriznog korijenovog sustava uočljive su tri strukture: a) micelijski plašt koji okružuje korijen biljke, b) Hartigova mreža, odnosno labirint i splet hifa koji prodiru između epidermalnih stanica i stanica korteksa, zbog takve građe olakšan je i povećan kontakt između dvaju simbionata c) i vanjska struktura hifa koje su zaslužne za uspostavljanje veze između tla i sporokapa<sup>3</sup> gljivice koje tvore ektomikorizu (slika 1.). Hife imaju funkciju korijenovih dlačica te zbog svoje površine omogućuju olakšanu apsorpciju vode s otopljenim mineralnim tvarima. Micelijski plašt djeluje kao uređaj za odabir i apsorpciju, a Hartigova mreža obavlja funkciju razmjene tvari između gljive i biljke domaćina (Brundrett, 2004.).



Slika 1. Shematski prikaz ektomikorize

<sup>3</sup> sporokarp. Opći termin za organ gljive na kojem se razvijaju spore kojima se gljiva razmnožava i rasprostire

### 2.3.1. Utjecaj ektomikorize na vinovu lozu

U vinogradarskoj proizvodnji često nalazimo na teška tla s visokim sadržajem gline, degradirana tla nižeg pH. Zbog relativno niskog sadržaja minerala u takvom tlu biljke su osjetljive na vanjske stresove, patogene, štetnike te daju manji prinos. Takva tla nisu idealna za vinogradarsku proizvodnju budući da je u takvim tlima ograničena ishrana vinove loze koja je presudna i utječe na kvalitetu vina. Vinova loza za rast i razvoj potrebuje određene količine mnogih mikro i makro elementima ( dušik, fosfor, kalij, kalcij, magnezij, sumpor, bor, bakar, željezo, mangan, cink, molibden) (Veber, 2005).

Dušik je jedan od najvažnijih elemenata čija se fiziološka uloga usko veže uz rast i razvoj vinove loze jer direktno utječe na izgradnju novih stanica u procesu rasta i razvoja svih dijelova trsa, te je element koji najviše utječe na razvoj loze ali i sastav grožđa (Reynolds, 2010). Suprotno tome, višak dušika štetno djeluje na lozu kod prekomjerne gnojidbe dušikom, pogotovo bez dovoljne i izbalansirane gnojidbe fosforom i kalijem. Mineralni dušik iz tla, zbog svoje brze transformacije do nitrata lako može biti i ispran iz tla.

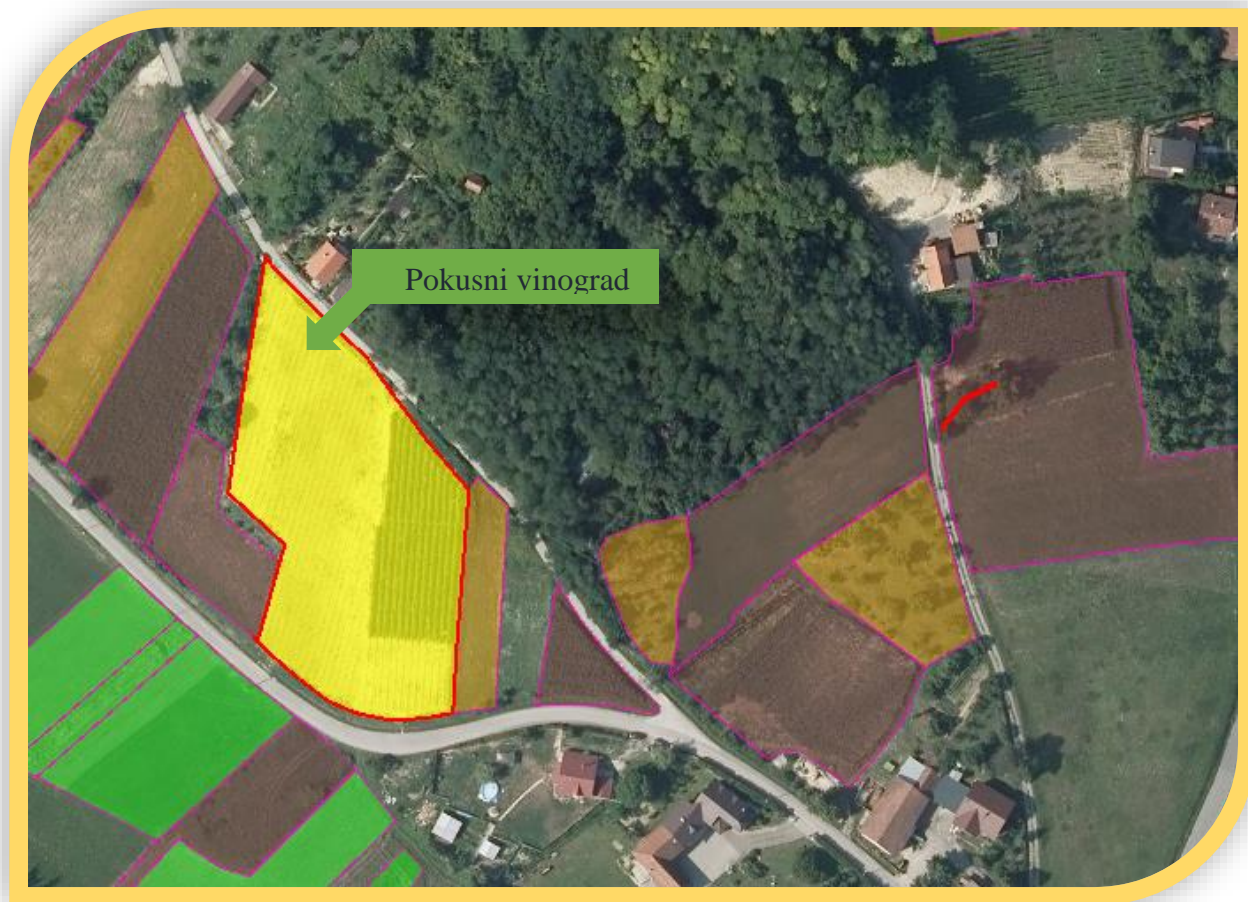
Vinova loza veliki je potrošač kalija koji joj je potreban za sintezu ugljikohidrata. Osiguravajući u ishrani vinove loze dovoljnu količinu kalija povoljno se djeluje na nakupljanje šećera u bobicama grožđa (Trdenić, 2012.) Kalij ima vrlo važnu ulogu u fotosintezi, floemskom transportu asimilata, metabolizmu dušika, otpornosti biljaka na sušu, mraz, salinitet i patogene.

Pojava nedostatka fosfora uglavnom je zabilježena u kiselim tlima koja su povoljna za fiksaciju fosfora, isto kao i u kišnim područjima ili nakon fumigacije tala siromašnih fosforom (Menge i sur., 1983). Rizosferne interakcije mikoriznih gljivica pozitivno utječu na kvalitetu tla. Širenjem i grananjem micelija u tlu utječe se na strukturu te vodozračni režim tla, smanjuje gubitak hranjiva putem ispiranja, a samim time i ispiranje fosfora i drugih elemenata. Gljive potpomažu bolje usvajanje hranjiva što direktno utječe na bolji opstanak te brži rast i razvoj biljke, povećavaju otpornost na bolesti i abiotske stresove na što ukazuju i mnoga istraživanja (Denh 1990; Marx, 1972).

### 3. Materijali i metode

#### 3.1. Pokusni vinograd

Na obiteljskom poljoprivrednom gospodarstvu Kos Karlo izabran je vinograd (arkod ID 1985272) za istraživanje (slika 2.). Na parceli ukupne površine 0,56 ha zasađena je isključivo vinska sorta vinove loze, 'Kraljevina' (*Vitis vinifera* L.). Pokusni vinograd Kraljevine nalazi se u sjeverozapadnom dijelu Hrvatske, na istočnim obroncima Medvednice. Vinograd je smješten u području Zagrebačke županije, na udaljenosti od 8 km od Svetog Ivana Zeline. Područje vinograda pripada Zelinskom vinogorju unutar regije Prigorje-Bilogora. Reljef oblikuju planine Medvednica, Kalnik i Bilogora. Teren vinograda pogodan je za kontinuiranu kvalitetnu proizvodnju. Cijeli položaj je južne i južnozapadne ekspozicije. Najviša točka vinograda nalazi se na nadmorskoj visini od 160 m dok se najniža točka vinograda nalazi na nadmorskoj visini od 130 m. Nagib terena je umjeren, jednak je na svim dijelovima. Vinograd je posađen u sklopu projekta „Klonska selekcija cv. Kraljevina (*Vitis vinifera* L.)” pod vodstvom prof. dr. sc. I. Pejića i prof. dr. sc. E. Maletića, Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet s ciljem definiranja razlika i rješavanje dileme o tipovima Kraljevine. U kolekciji se nalaze 24 klonska kandidata odabrana u sklopu projekta iz različitih proizvodnih nasada. Sadnja vinograda obavljena je 20.04.2011. Sadnji vinograda prethodile su analize hranjivih tvari u tlu. Temeljem rezultata analize stanja hranjiva u tlu date su smjernice za pripremu terena za sadnju i meliorativnu gnojidbu.



Slika 2. Satelitski prikaz pokusnog vinograda

### 3.2. Klima

Vinova loza je vrsta koja ima posebne zahtjeve prema uvjetima klime. Uspijeva u umjerenom klimatskom pojasu. Rentabilne granice uzgoja vinove loze su u područjima umjerenoga klimatskog pojasa, gdje su srednje godišnje temperature između 10 i 20 °C, odnosno pojas između 25° i 52° sjeverne zemljopisne širine i 30° i 45° južne zemljopisne širine. (Maletić E. i sur. 2008).

Povoljni uvjeti tla i klime potrebni su za uspješnu vinogradarsku proizvodnju. Vinova loza se uspješno uzgaja u umjerenom klimatskom području. Prema Köppenovoj klasifikaciji

klime vinograd podregija Prigorje-Bilogora nalazi se u klimatskoj zoni B<sup>4</sup>. Prema navodima autora Šegote (2007) Prigorje se odlikuje umjerenom toplom kišnom klimom prijelaznog kontinentalno maritimnoga podtipa koja se prema Köppenovoj klasifikaciji obilježava formulom Cbwbx<sup>5</sup>. Uzgojno područje Republike Hrvatske nalazi se u umjerenom klimatskom pojasu koji se specifičan zbog četiri godišnja doba koja se ciklički izmjenjuju i omogućavaju vinovoj lozi pravilnu provedbu fenofaza koje čine njen godišnji biološki ciklus. (Nikola Mirošević i Jasminka Karoglan Kontić, 2008.) Kao specifičan faktor podizanja vinograda javlja se mikroklima koja uvjetuje rentabilnost budućeg nasada. Od klimatskih čimbenika za uzgoj vinove loze najvažniji su toplina, svjetlost, oborine (vlaga) i vjetrovi.

### 3.2.1. Temperatura

Sve životne funkcije vinove loze i njezin cjelokupan rast ovise o temperaturi. Određene faze rasta kod loze mogu se odvijati samo uz dovoljnu količinu topline. Količina topline izražava se sumom temperatura u doba vegetacije (od travnja do rujna) i čini zbroj svih srednjih temperatura iznad 10 °C. Temperatura iznad 10 °C naziva se biološkom nulom. U proljeće vinova loza ne počinje s vegetacijom dok temperatura zraka ne dosegne biološku nulu, odnosno dok se ne nakupi određena suma srednjih dnevnih temperatura viših od 10 °C (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008.). Za početak vegetacije najpovoljnija srednja dnevna temperatura iznosi 10-12 °C, a dok za cvatnju i oplodnju 20-30 °C. Za intenzivan rast i oblikovanje pupova potrebna joj je temperatura od 25-35 °C, dok poželjne temperature u vrijeme sazrijevanja grožđa iznose 20-25 °C. Temperature niže i više od optimalnih mogu negativno djelovati na rast i razvoj vinove loze. Toplina određenog područja ovisi o nadmorskoj visini, geografskoj širini, ekspoziciji, blizini vodenih površina i šuma (Licul i Premužić, 1979).

Podregija Prigorje-Bilogora, s obzirom na zemljopisni položaj te horizontalnu i vertikalnu izraženost reljefa, ima umjereno kontinentalnu klimu sa srednjom godišnjom temperaturom od 10 – 12 °C (Zdunić, 1995) Ukupno je broj od oko 187 dana u kojima je izmjerena temperatura viša od 10 °C (Mirošević i sur., 2003). Srednje dnevne temperature iznad

---

<sup>4</sup> Sva vinogradarska područja svijeta podijeljena su prema zbiru efektivnih temperatura na klimatske zone; Hrvatsku čine 4 klimatske zone: B, C1, C2, C3. (Hrvatska enciklopedija, Leksikografski zavod Miroslav Krleža, 2017)

<sup>5</sup> Cbwbx- Osnovno obilježje tog tipa klime je izostanak suhog razdoblja. Srednja mjesečna temperatura najhladnijeg mjeseca je iznad – 3°C, a srednja mjesečna temperatura najtoplijeg mjeseca je ispod 22°C

10 °C nastupaju polovicom travnja, a prestaju polovicom listopada. Prema tome vegetacija u tijeku godine traje oko 185 dana što je dovoljno dugo razdoblje za sazrijevanje sorata III. dobi. Suma temperatura u našim krajevima kreće se od 3560 do 4580 °C. Za visoki prirod i visoku kakvoću, suma temperatura mora se kretati između 3200 i 4000 °C (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008). Na rentabilnost često se negativno odražavaju ekstremne temperature. Kod takvih slučajeva dolazi do oštećenja pojedinih organa vinove lože što dovodi do gubitka prinosa (Maletić, 2008). U Prigorju-Bilogora češće su štete od niskih temperatura. Vinova loza najpodložnija je utjecaju niskih temperatura na početku vegetacije. Tijekom razdoblja zimskog mirovanja loza pokazuje najveću otpornost, no svaki pojedini organi različito reagiraju na određene temperature. Naime, najveću otpornost prema niskim zimskim temperaturama pokazuje staro drvo, koje strada pri temperaturama od -24 do -26 °C i rozgva od -22 do -25 °C. Pupovi tijekom zimskog mirovanja stradaju pri temperaturi od -15 do -18 °C. Mladice i listovi stradaju pri temperaturi od -2 °C, dok je cvat najosjetljiviji organ na niske temperature i podložan je stradavanju već pri temperaturi od 0 °C. Osim toga, do oštećenja korijena i korijenovog sustava dolazi pri temperaturama tla od -5 °C, odnosno -8 °C. Sorte se međusobno ne razlikuju u otpornosti na niske temperature tijekom vegetacije, ali kod nekih sorata šteta od proljetnih mrazova je učestalija što je povezano s vremenom kretanja vegetacije. Osjetljivost na niske temperature također ovisi o starosti trsa, bujnosti vegetacije i stupnju dozrelosti rozgve, o vremena reza u zrelo, ishranjenosti trsa te svojstvima tla.

Prema podacima Državnog hidrometeorološkog zavoda (DHMZ) srednja godišnja temperatura zraka za 2017. godinu na području Hrvatske bila je iznad višegodišnjeg prosjeka u odnosu na podatke u razdoblju od 1961. do 1990. Toplinske prilike u Hrvatskoj za 2017. godinu opisane su dominantnom kategorijom ekstremno toplo. Srednja godišnja temperatura zraka za 2017. godinu izmjerena je na meteorološkoj postaji Zagreb-Maksimir prikazana je u tablici 1. Srednja godišnja temperatura zrak iznosila je 12,6 °C, a srednja vegetacijska temperatura je iznosila 18,2 °C. Prosječne temperature u 2017. godini u vrijeme zimskog mirovanja znatno su se razlikovale od prosječnih vrijednosti za temperature u tom razdoblju. Nadalje, mjesec veljača u godini istraživanja imao je srednju mjesečnu temperaturu višu od prosjeka za 3,3°C, a nastavno u ožujku srednja mjesečna temperatura bila je iznadprosječno visoka, a iznosila je 10,0 °C, što je rezultiralo i na raniji početak sušenja vinove lože i kretanje vegetacije, a kasnije i na raniju tehnološku i fenološku zrelost grožđa. Tijekom ljetnih mjeseci srednja mjesečna temperatura bila je za nekoliko stupnjeva viša od višegodišnjeg prosjeka. Mjesec s najvišom

srednjom mjesečnom temperaturom bio je srpanj i njegova srednja temperatura iznosila je 24 °C, dok je najhladniji mjesec bio siječanj čija je srednja dnevna temperatura iznosila -3,2 °C.

Tablica 1. Prikaz srednjih mjesečnih temperatura zraka (°C) za Zagreb-Maksimir

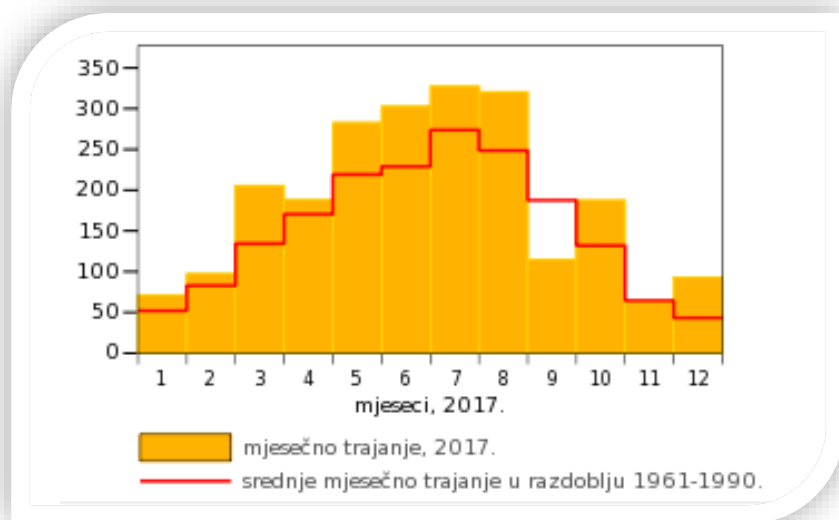
Mjesec	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.	XII.
Temperatura	-3,2	5,2	10,0	12,4	17,7	22,5	24,0	23,7	15,4	11,9	7,3	4,0
Srednja vegetacijska temperatur	18,2											
Srednja godišnja temperatura	12,6											

### 3.2.2. Svjetlost

Svijetlo ima veliki značaj u fiziološkom razvoju vinove loze jer loza traži veliki broj sunčanih sati tijekom vegetacije. Sunčevo svjetlo vrlo povoljno utječe na dozrijevanje i kvalitetu grožđa. Omogućava fotosintezu u listu, procesom kojim dolazi do stvaranja organske tvari potrebne za razvoj i plodonošenje loze. Vinova loza je biljka dugog dana i traži intenzivno osvjetljenje i velik broj vedrih i mješovitih dana. Prema navodima Maletić i sur. (2008) za diferencijaciju pupova od presudne je važnosti svjetlo, što znači da zimski pupovi koji se razvijaju u uvjetima dobre osunčanosti nose veći broj začetaka grozdova. Količina svjetlosti izražava se zbrojem sati sijanja sunca tijekom vegetacije – insolacija. Međutim, uz insolaciju za rodnost i kakvoću vinove loze bitna je i valna duljina svjetla. Pigmenti lista najbolje apsorbiraju crvene i plave valne duljine svjetlosnog spektra<sup>6</sup>. Potreban broj sati osvjetljenja za vinovu lozu varira prema klimatskim područjima i svojstvima sorte i kreće se približno u granicama 1500 do 2500 sati, a potreban broj vedrih i mješovitih dana iznosi 150 – 170 (Mirošević, 2008.). Vinova loza koristi se izravnim sunčevim svjetlom, koje je najizražajnije i najvažnije, te difuznim ili reflektirajućim svjetlom. Količina i intenzitet svjetla koje dopire do listova i grozdova ovisi o razmaku sadnje, uzgojnom obliku i načinu rezidbe. Nadalje, na osvjetljenje utječu nadmorska visina, geografska širina, ekspozicija, inklinacija i smjer pružanja

<sup>6</sup> Sunčeva svjetlost sadrži različite valne duljine vidljivog dijela spektra. Pigmenti (poglavito klorofil) u listu vinove loze apsorbiraju valne duljine od 400 do 500 nm ( plavi dio spektra) i od 660 do 700 nm ( crveni dio spektra)

redova. (Licul i Premužić 1979). Prema podacima DHMZ-a za 2017. godinu, kontinentalna Hrvatska imala je preko 2000 sati sijanja sunca. Sa slike 3., koja prikazuje broj sati sijanja sunca, vidljivo je da je broj sati sijanja sunca u 2017. godini viši od višegodišnjeg prosjeka (1961. – 1990.). Suma broja sati sijanja sunca u vegetacijskom periodu 2017. godine iznosila 1722,9 sati, što u potpunosti zadovoljava zahtjevima loze. Mjesec sa najviše sati sijanja sunca bio je srpanj sa 327 sunčana sata.



Slika 3. Mjesečna insolacija, Zagreb-Maksimir, travanj-listopad 2017. godina izražena u satima (izvor: <http://meteo.hr/>)

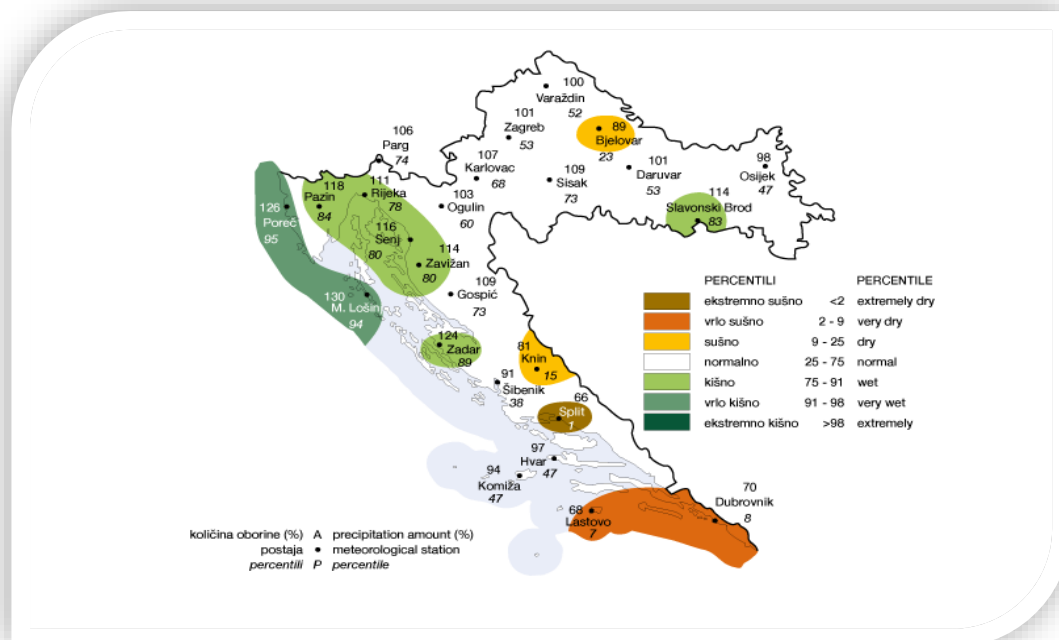
### 3.2.3. Vlaga

Iako se smatra vrstom koja dobro uspijeva i u sušnim uvjetima, za pravilan rast i razvoj vinove loze važan utjecaj ima redovita i optimalna opskrbljenost vlagom. Zbog dobro razvijenog korijenovog sustava, vinova loza može se uspješno uzgajati i u krajevima s relativno malom količinom padalina. No u suvremenoj proizvodnji, osobito u sušnijim područjima neophodno je navodnjavanje, u protivnom dolazi do smanjenja prinosa i lošije kvalitete grožđa. Pojam vlaga obuhvaća sve vrste oborina, u obliku: kiše, snijega, rose i dr. (Mirošević i Karlogran–Kontić, 2008). Dovoljna količina vlažnosti nužna je za pravilno odvijanje svake od pojedinih faza vinove loze (Maletić i sur., 2008). Kod promatranja mjesečnih količina oborina, važna dva razdoblja u uzgoju poljoprivrednih kultura, a to su vegetacijsko razdoblje i razdoblje izvan vegetacije. Prema navodima Mirošević i Karoglan Kontić (2008.) najmanja potrebna godišnja količina oborina za uzgoj vinove loze i proizvodnju grožđa 300 – 350 mm, dok je



optimalna 600 – 800 mm oborina na godinu, uz povoljan raspored tijekom vegetacijskog ciklusa. Najviše vlage je potrebno u početku vegetacije za intenzivan rast mladica, te za intenzivan rast bobica. Nedostatak vode uzrokuje smanjen rast mladica, kasnije i bobica koje ostaju sitne i bez dovoljno soka. Međutim, povećana količina padalina se štetno odražava na faze cvatnje i oplodnje. Veća vlaga prije cvatnje utječe na snažan porast mladica i lišća, za što se troši velika količina organske tvari koja ne stigne do cvata. Česte padaline u vrijeme cvatnje ometaju oplodnju, uzrokuju osipanje cvjetova što rezultira rehljavošću grozdova i smanjenim urodom. Osim što se velika količina vlage štetno odražava na faze cvatnje, oplodnje i dozrijevanja, može biti jedan od preduvjeta za razvoj gljivičnih bolesti (Mirošević i Karoglan–Kontić, 2008). U vrijeme zriobe, povećana vlažnost, uzrokuje razvoju i širenju sive plijesni i kisele truleži na grožđu u dozrijevanju.

Vlaga u tlu, a tako i vlaga u zraku povećava tolerantnost loze na visoke temperature, jer se procesom transpiracije snižava temperatura površine lista i ne dolazi do štete (Maletić, 2008). Količina vode potrebna vinovoj lozi tijekom vegetacije ovisi o svojstvima kultivara, načinu uzgoja, gustoći sadnje i svojstvima tla.



Slika 4. Odstupanje količine oborine u 2017. godini (izvor: <http://meteo.hr/>)

Analiza DHMZ-a godišnje količine oborina, koje su izražene u postotcima (%) višegodišnjeg prosjeka (1961. - 1990.) pokazuje da je u 2017. godini u području Zelinskog vinogorja količina oborine bila jednaka prosjeku, te se nalazi u kategoriji „normalno“, što je i vidljivo sa slike 4.

Tablica 2. Ukupne mjesečne količine oborina, Zagreb-Maksimir, 2017. godina (mm)

Mjesec	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.	XII.
Oborine	34,3	41,4	19,8	44,3	35,2	107,8	58,0	39,1	239,6	72,0	113,2	92,3
Ukupne godišnje oborine	897											
Ukupne oborine u vegetaciji	596											

Tablica 2. prikazuje da ukupna godišnja količina oborina za 2017. godinu iznosi 897 mm, a ukupna vegetacijska količina oborina iznosi 596 mm. Analizom količina oborina za 2017. godinu pokazuje da je godina okarakterizirana optimalnim količinama oborina. Raspored oborina isto kao i količina bio je optimalan. U proljetnim mjesecima količine oborine bilo je dovoljno za normalno odvijanje prvih faza u godišnjem ciklusu razvoju vinove loze. Od prosjeka iskače mjesec rujan u kojem je bilo 239,6 mm oborina, ujedno je i mjesec s najviše oborina u godini 2017. Iako je bilo iznadprosječne količine oborina u rujnu, to nije naštetilo kakvoći grožđa.

### 3.2.4. Vjetrovi

U sklopu klimatskih čimbenika veliki utjecaj može imati i vjetar. Način na koji će vjetar utjecati na vinovu lozu ovisi o njegovim obilježjima, jačini i smjeru te vremenu pojave, a ponajprije utječe na fiziološka procese vinove loze. Lagani i umjereni vjetrovi povoljno utječu na rast i razvoj vinove loze. Oni pomažu pri oprašivanju i oplodnji, isušuju rosu s lišća, sprječavaju pojavu kasnih proljetnih mrazova. (Mirošević i Karoglan-Kontić, 2008). Jaki

vjetrovi izrazito su nepovoljni jer uzrokuju lom mladica i grožđa, te sprječavaju oplodnju. Položaj pokusnog vinograda nije na udaru jakih vjetrova. Osim ljetnih kratkotrajnih udara vjetra tijekom ostatka godine nema nepovoljnog utjecaja vjetra.

### 3.3. Tlo

Odmah nakon klime, tlo igra važnu ulogu za uspjeh kvalitetnog vinogradarenja. Vinova loza nije toliko zahtjevna kultura prema izboru tipu tla, kao što je zahtjevna prema klimi, a što se može zaključiti iz činjenice velikog broja različitih tala na kojima uspijeva. Prema navodima Fazinić (1997) na području Hrvatske vinograde nalazimo: na pijescima (otok Susak, Korčula, dio Podravine), degradiranim černozeu (Podunavlje), smeđe karbonatnim tlima (Baranja), flišu i laporu (Dalmacija, Istra, Plešivica), podzolu i pseudogleju (zapadno područje kontinentalne Hrvatske) i crvenici (Dalmacija i Istra). Iako vinova loza nije toliko zahtjevna prema tipu tla, matični supstrat i na njemu razvijen određeni tip tla znatno utječu na prinos i kvalitetu grožđa, a kasnije i vina. Iako se tla formiraju pod utjecajem svih pedogenetskih faktora, svojstva poljoprivrednih tala dominantno su pod utjecajem čovjeka, odnosno agrotehničkih zahvata. Zbog toga se ljudska aktivnost uvodi kao zaseban pedogenetski faktor. Obrada, kalcifikacija i gnojidba često imaju ključni utjecaj na poljoprivredno tlo.

Kod uzgoja vinove loze najbolji rezultati se postižu na tlima lakšeg mehaničkog sastava; takva tla su propusna, s velikim kapacitetom za zrak i visokom mikrobiološkom aktivnošću. Uz fiziološka i mehanička svojstva tla, za rast i razvoj vinove loze važan je njegov kemijski sastav. U otopini tla nalaze se anorganske i organske tvari. Od anorganskih su najvažniji: kalcij, kalij, dušik, silicij, željezo i drugi mikroelementi, a od organskih tvari nalazi se humus. Na optimalnu opskrbljenost hranjivima možemo utjecati gnojidbom i različitim mjerama održavanja tla, pa količina hranjiva prije podizanja nasada nije od presudne važnosti za uspješan rast i razvoj (Maletić E., 2008). Gnojidbu vinograda treba prilagoditi potrebi same loze, kako bi regulirali mogućnost prekomjerne bujnosti uslijed koje dolazi do pada kakvoće te povećanje osjetljivosti na bolesti i niske temperature.

### 3.3.1. Tlo pokusnog vinograda

Tlo pokusnog vinograda okarakterizirano je kao pseudoglejno tlo. Tipično je za humidna i semihumidna klimatska područja, čija su karakteristika izraženi kasno jesensko-zimsko-proljetni vlažni period i vrlo sušna ljeta. Prije sadnje vinograda, temeljem rezultata analize stanja hranjiva u tlu dane su smjernice za meliorativnu gnojidbu i pripremu terena. Analiza stanja hranjiva u tlu provedena je u laboratoriju Zavoda za ishranu bilja (Agronomski fakultet) s datumom 15. 02.2017. Uzorci su uzeti s reprezentativnih dijelova nasada, i to uzorak broj I. s dubine 0-30cm i uzorak broj II. s dubine 30-60 cm. Analizom je određena opskrbljenost fizioloških aktivnih hranjiva (P i K), ukupan dušik, količina humusa, fiziološko aktivno vapno i reakcija tla.

Tablica 3. Analiza hranjiva u tlu

uzorak	oznaka	pH		%		AL-mg/100g		%
		H <sub>2</sub> O	nKCl	humus	N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	CaCO <sub>3</sub>
I.	0 – 30 cm	8,11	7,39	1,38	0,09	5,2	12,2	17,9
II.	30 – 60 cm	8,10	7,41	0,92	0,07	7,9	15,3	18,8

Mnogi procesi koji se odvijaju u tlu, dostupnost pojedinih elemenata kao i mikrobiološka aktivnost povezani su s reakcijom tla. Reakcija otopine tla izražava se kao pH-vrijednost, odnosno negativan logaritam koncentracije H<sup>+</sup> iona u otopini tla. Iz tablice 3. vidljivo je da je tlo pokusnog nasada neutralno do blago alkalno.

Sadržaj fiziološki aktivnih, odnosno biljkama pristupačnih P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> i K<sub>2</sub>O određen je AL-metodom. Koncentracija biljkama pristupačnih hranjiva je vrlo bitna za prinos i kvalitetu grožđa i vina. Iz tablice 3. je vidljivo kako su oba uzorka nisko opskrbljena biljkama pristupačnim oblikom fosfora. Sadržaj AL-K<sub>2</sub>O u površinskom sloju (uzorak I) iznosi 12,2 mg/100g tla, a u potpovršinskom (uzorak II.) 15,3 mg /100 g, što je okarakterizirano kao niska do dobra opskrbljenost kalijem. Površinski sloj tla sadrži 1,38 % humusa, dok je u uzorku broj II. 0,92%. Oba uzorka su slabo humozna. Opskrbljenost tla dušikom je umjerena, dok je sadržaj zemnoalkalijskih karbonata srednje visok.

### 3.4. Sorta 'Kraljevina'

Iako je Hrvatska površinom relativno mala zemlja, geografski se nalazi na dobrom položaju pa njezina tla i klima pogoduju rastu vinove loze. Dobar geografski položaj, pogodna klima i tlo rezultat su velikih broja autohtonih sorata. Autohtone sorte vinove loze imaju vrlo značajnu ulogu u vinogradarstvu Republike Hrvatske. Zadnjih godina bilježi se tendencija porasta u zasađenim površinama. Udio autohtonih sorata pri podizanju novih nasada se povećava, tj. u proizvodnji sadnog materijala koji je bio zastupljen sa 21,6% u 2004. godini i porastao je na 37,8% u 2010. godini (Andabaka i sur., 2011). Tome uvelike potpomažu projekti klonskih selekcija autohtonih sorata. Kultivar 'Kraljevina' pripada skupini zapadnoeuropskih sorata: *Prolesoccidentalis*. Točno podrijetlo, nije utvrđeno, ali s obzirom na to da ni u dostupnim literaturnim izvorima iz povijesti niti danas sorta nije u uzgoju osim na području Hrvatske i manjim dijelom Slovenije, može se smatrati autohtonim kultivarom sjeverozapadne Hrvatske. Proširena na relativnom velikom području, njeno ime se usko veže uz područje Svetog Ivana Zeline gdje se i najviše uzgaja. Na ovom području kultivar 'Kraljevina' ima dugu tradiciju. (Mirošević, 2003). Veliki broj pisanih radova navodi prisutnost 'Kraljevine' u vinogradarskom sortimentu kontinentalne Hrvatske. Prvi zapisi o kultiviranoj 'Kraljevini' datiraju iz 1841. godine, u Trummer-ovoj ampelografiji. Iz 19. stoljeća postoji mnogo literaturnih izvora koji ukazuju kako je 'Kraljevina' oko Zagreba i u samom Zagrebu bila jedna od najpoznatijih sorata tog razdoblja u Hrvatskoj (Maletić i sur. 2015). Poznata je i pod sinonimima: Kraljevina crvena, Imbrina, Brina, Moravina, Kralešina, Kralovina, Königstraube, Roter Portugieser, Piros oporto, Porthogese rosso, Portugais rose, Portugais rouge. Iako nam sinonimi (Portugieserroter, Portugaisrouge) sugeriraju mogućnost podrijetla sorte iz Portugala, no prema autorima Mirošević i Turković (2003) kultivar Kraljevina nema zajedničkih točaka sa sortom Portugiscem crnim, niti potječe iz Portugala.

Danas je sorta regionalizacijom preporučena za sva vinogorja podregija Prigorje-Bilogora, Zagorje-Međimurje i Moslavine, a nešto je ima i na Plešivici i Pokuplju, dok je u ostalim podregijama zastupljena u vrlo malom postotku ili uopće nije zastupljena (Pravilnik o nacionalnoj listi priznatih kultivara vinove loze (NN 14/2014)). Osim u Hrvatskoj, uzgaja se još i u Sloveniji, pod sinonimom Rdeča Kraljevina, te Mađarskoj pod sinonimom Piros leánya. Prema podacima iz Vinogradarskog registra za 2017. godinu u Republici Hrvatskoj 'Kraljevina' se uzgaja na 255,01 ha (APPRRR).

### *Botanički opis*

Sortu 'Kraljevina' karakterizira velika unutarSORTNA varijabilnost. Populaciju sorte 'Kraljevina' čine tri tipa 'Kraljevine' koje se međusobno razlikuju po veličini grozda, obojenosti kože bobica i po kakvoći: Kraljevina crvena, Kraljevina zelena i Kraljevina pikasta.

Zimski pup je svijetlo smeđe boje, konusan, srednje veličine. Pri otvaranju je dlakav s listićima, blijedo smeđe boje s tamnozelenim listićima, koji se primjećuju pri izlazu iz vunastih dlačica, a vršni obodi listića su blago crvenkasti. Vrh mladice je otvoren i slabo dlakav, s rubnim antocijanskim obojenjem na dlačicama, dok je kod ostatka vrha prisutno intenzivno antocijansko obojenje. Boja lica mladog lista je brončanozelena. (Maletić i sur. 2015). Rozgva je duga i prugasta. članci na rozgvi su srednje dugi, sa srednje istaknutim koljencima. Kora rozgve je dosta jednolična, žućkasto-sive boje (Mirošević i Turković, 2003). Odrasli list je okrugao, listovi su najčešće trodijelni, a u nekim slučajevima su asimetrični (gornji sinus prisutan je samo s jedne strane lista). Sinus peteljke je široko otvoren oblik slova „U“, s često prisutnim zupcem s jedne strane ili objiju strana. Gornji sinusi najčešće su zatvoreni ili čak preklapljeni. List je na licu gladak i sjajan, a glavne žile su zelene boje s tek ponekad antocijanskim obojenjem u peteljkinjoj točki. Peteljka lista može biti u potpunosti zelena, ali u određenim uvjetima (stariji trsovi na siromašnim tlima) može biti u potpunosti crvena, a razlika se javlja i unutar sorte (kod različitih klonova). Na naličju između glavnih žila list je gotovo potpuno gol. (Maletić i sur. 2015). Cvijet je morfološki i funkcionalno hermafroditan (Maletić i sur. 2015), a u slučaju nepovoljnog vremena u doba cvatnje, često se osipa (Mirošević i Turković, 2003).

Zreli grozd je srednje dug do dug, ljevkastog ili konusnog oblika te srednje zbijen dok je kod nekih klonova jače zbijen. Veličina grozda i izgled bobica variraju zbog visoke unutarSORTNE varijabilnosti, pa bobice mogu biti i potpuno crvene te posute točkama i pjegama različite veličine i intenziteta. Meso je srednje čvrsto i neutralnog mirisa (Maletić i sur. 2015). Kraći ili dulji ogranci se pojavljuju na grozdu (Slika 4.) (Mirošević i Turković, 2003).

### **3.5. Podloga *V. berlandieri* x *V. riparia* Kober 5BB**

Pojavom filoksere nastala je era „novog vinogradarstva“ i vinova loza se morala cijepiti na američke vrste i njihove križance (divlja loza) kao podloge u borbi (nezaobilazna praksa)

protiv navedenog štetnika. Najvažniji način vegetativnog razmnožavanja je cijepljenje, odnosno mehaničko spajanje dvaju presjeka živih, vegetativno zelenih, poludrvenastih ili zrelih dijelova različitih vrsta ili sorata loze. Moderno i ekonomski isplativo vinogradarstvo je gotovo nezamislivo bez cijepljenja plemke europske loze na podlogu američke vrste ili njihovih križanaca. Iako je otpornost prema filokseri najvažnija karakteristika podloga, selekcija podloga se nije samo zaustavila na otpornosti prema filokseri već su nastavljena istraživanja prema brojnim drugim ciljevima kao što su: tolerantnost na fiziološki aktivno vapno, usvajanje hranjiva, lakše ukorjenjivanje i tolerantnost na sušu. Pravilan odabir podloge je vrlo bitan jer podloga direktno utječe na rast i razvoj vinove loze.

U pokusnom vinogradu sorta Karaljevina cijepljena je na podlozi *Vitis berlandieri* x *Vitis riparia* Kober 5BB. Kod odabire podloge za pokusni vinograd uzeto je u obzir da je ova podloga prikladna za sjevernije vinogradarske krajeve.

Podloga Kober 5BB križanac je selekcioniran od strane inženjera Franc Kobera iz populacije *Vitis berlandieri* x *Vitis riparia* Teleki 5A. Kober 5BB spada u skupinu američko-američki križanci podloga i to u podskupinu *Vitis berlandieri* x *Vitis riparia*. Podloga je izdvojena 1920. te se vrlo brzo proširila u Austriji, a potom u svim vinogradarskim područjima Europe (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008.). Zbog niza pozitivnih svojstava kod nas je zastupljena u velikom postotku. Dosta je bujna, dobro podnosi fiziološki aktivno vapno (do 20 %) te ukupno vapno (60%). Ima kratak vegetacijski ciklus pa je povoljna za sjevernije krajeve. Razvija veliki broj mladica i zaperaka. Pokazuje dobru adaptaciju prema različitim tipovima tala. Osjetljiva je na sušu i jako otporna na nematode. Sklona je osipanju cvjetova uz jaku gnojidbu dušikom. Dobro usvaja fosfora iz tla, srednje usvajanje kalija i magnezija. Mnogobrojna istraživanja dovela su do prihvaćanja raznih klonova unutar Kober 5BB, što omogućuje specifičiraniji izbor podloge za pojedini mikrolokalitet (Mirošević i Karoglan-Kontić, 2008).

### **3.6. Plan pokusa**

Istraživanje je provedeno u svrhu utvrđivanja utjecaja mikoriznog inokulata na fizikalno-kemijska i senzorna svojstva vina sorte 'Kraljevina'- Pokus je proveden 2017. u vinogradima vinarije Kos. U sklopu istraživanja odrađena je fizikalno-kemijska i senzorna analiza vina na Zavodu za vinogradarstvo i vinarstvo na Agronomskom fakultetu u Zagrebu.

U ovom istraživanju korišten je mikorizni inokulat komercijalnog naziva *Mykoflor*, tvrtke *Bio-budućnost d.o.o.*. Projekt ovog istraživanja je započeo u jesen 2016. godine, kada je i provedena aplikacija inokulata. Navedeni inokulat je suspenzija živog ektomikoriznog micelija u obliku gela. Inokulat sadrži različite rodove gljiva koji su izolirani s korijena vinove loze iz prirodnih staništa Hrvatske. Kada je proces izolacije završen, gljive su podvrgnute čišćenju i razmnožavanju u laboratorijskim uvjetima. Kada se gljive razmnože, testiraju se na biljkama, a najbolje od njih idu u komercijalnu proizvodnju. U ovom pokusu, mikorizni inokulat je pomoću ručnog zemljišnog injektora aplicirano u zonu korijena. Za cijeli životni vijek biljke dovoljna je jedna aplikacija inokulata. U spomenutom inokulatu nalaze se živi mikorizni miceliji koji su spremni za trenutno nastanjenje korijenja, koje se nalazi u njegovom dosegu. Proizvođač ovog preparata kao glavne prednosti ovog navodi smanjenje ukupnih troškova proizvodnje, povećan prinos i kvaliteta te smanjenje posljedica suše, budući da su hife sposobne prodrijeti u mikropore tla kako bi dosegle vodu i hranjive tvari. Prema navodima proizvođača, živi mikorizni micelij pogodniji je od suhih preparata jer spore nerado **kliju**, a budući da se živi mikorizni micelij nalazi u vodenoj otopini, kada je apliciran u tlo, hife vrlo brzo koloniziraju korijen vinove loze i dolazi do uspostave obostrano korisne zajednice – mikorize.

Grožđe sa pokusnih trsova je ručno pobrano u trenutku tehnološke zrelosti. Temeljni pokazatelj određivanja roka berbe je omjer ukupnih kiselina i nakupljenog šećera u grožđu. Berba je obavljena na način da se pobralo po jednak broj trsova kontrole i trsova mikorize pri čemu se pazilo da trsovi sa kojih je grožđe brano budu reprezentativni. Grožđe je zatim preneseno do vinarije gdje se nakon mjerenja nakupljenog šećera i ukupnih kiselina krenulo s primarnom preradom grožđa. U vinima su određeni sljedeći kemijski parametri: alkohol, ukupne kiseline, pH, ukupni suhi ekstrakt, reducirajući šećeri, ekstrakt bez šećera, pepeo, ukupni i slobodni SO<sub>2</sub>, te pH. Sadržaj šećera i ukupnih kiselina određen je prema metodama O.I.V.-a (2001). Metodom plinske kromatografije provedena je analiza aromatskog profil vina.

Proizvodnja vina 'Kraljevina' kontrole i mikorizirane varijante provedena je po uobičajenom postupku tehnologije proizvodnje bijelih vina koja je obuhvatila muljanje i runjenje grožđa, prešanje pneumatskom prešom pod niskim pritiskom te taloženje dobivenog mošta 24 sata na temperaturi ispod 10 °C, nakon čega je slijedio pretok te pokretanje alkoholne fermentacije. Za provođenje alkoholne fermentacije korišten je komercijalni soj kvasca



Uvaferm QA23<sup>7</sup> koji je rehidriran uz dodatak hrane za kvasce Go-ferm. Tijekom fermentacije praćena je razgradnja šećera te temperatura, koja u niti jednom trenutku nije prelazila 16 °C. S obzirom na varijante, u istraživanju nisu primijećene razlike u kinetici i brzini razgradnje šećera. Prema sastavu reducirajućeg šećera oba vina se nalaze u kategoriji suhих, a vrijednosti hlapive kiseline ukazuju na pravilan tijek alkoholne fermentacije pri čemu nije došlo do sinteze većih količina octene kiseline. Po završetku alkoholne fermentacije vina su pretočena te čuvana u uvjetima podruma do trenutka provođenja senzorne analize, a istovremeno su uzeti i uzorci u kojima je metodom plinske kromatografije provedena analiza aromatskog profila.

### 3.7. Kemijska analiza vina

Međunarodna organizacija za vinovu lozu i vino (O.I.V.) sa sjedištem u Parizu brine o uvođenju i unificiranju enoloških analitičkih metoda i propisuje referentne (provjerene) metode. Prema O.I.V.-u, mošt je definiran kao tekući proizvod dobiven od svježeg grožđa, a proizveden je spontano ili pomoću fizikalnih procesa kao što su muljanje, runjenje, ocjeđivanje i/ili prešanje.

Nakon što je grožđe pobrano s pokusnih trsova i odneseno u laboratorij, provedene su određene kemijske i fizikalne metode kojima je utvrđen sadržaj šećera (°Oe) i ukupnih kiselina (g/L) u moštu te je izmjeren pH.

U fizikalno–kemijsku analizu vina spada: evaluacija specifične težine alkohola (g/L te vol%), ekstrakata, reducirajućeg šećera, ukupnih hlapivih i nehlapivih kiselina, pH vrijednosti, slobodnog, vezanog i ukupnog SO<sub>2</sub> te pepela.

*Određivanje sadržaja šećera.* Šećer u bobicu dolazi iz lišća floemskim putem i to u obliku disaharida saharoze koja se odmah hidrolizira na heksoze (glukoze i fruktoze), a tijekom dozrijevanja koncentracija šećera se povećava, a omjer glukoze i fruktoze mijenja. Koncentracija šećera u moštu određuje se kemijskim i/ili fizikalnim metodama. Najpoznatija kemijska metoda određivanja sadržaja šećera je Rebelein metoda. S druge strane, fizikalne metode su brže i jednostavnije.

---

<sup>7</sup> Kvasac roda *Saccharomyces cerevisiae*. Selekcioniran je u Portugalu. Daje izrazito voćna, otvorena, lepršava, svježa vina

Sadržaj šećera u moštu u ovom je pokusu mjeran fizikalnom metodom, odnosno pomoću refraktometra. Refraktometar je optički uređaj pomoću kojeg se određuje indeks loma svjetlosti kroz sloj mošta. Budući da je indeks loma otopina razmjernan njihovoj koncentraciji, kut pod kojim se svjetlost lomi ovisi o gustoći mošta.



Slika 5. Optički refraktometar

(izvor: <http://www.pavin.hr/>)



Slika 6. Digitalni defraktometar

(izvor: <https://hannainst.com/>)

*Specifična težina ili relativna gustoća.* Gustoća je masa vina ili mošta po jedinici volumena pri temperaturi od 20° C. Izražena je u gramima po mililitru i označena simbolom P20°C. Relativna gustoća pri 20/20° C (ili specifična težina pri 20° C) je omjer gustoće nekoga određenog volumena vina ili mošta pri 20° C prema gustoći istog volumena vode pri istoj temperaturi. Specifična težina vina redovito je manja nego specifična težina mošta i kreće se u granicama između 0,9850 – 0,9970, dok u moštu iznosi 1,050 – 1,120 (NN 106/04). Gustoća i relativna gustoća pri 20° C mjere se na pokusnom uzorku uporabom referentne metode (piknometrija) ili uobičajene metode (hidrometrija ili denzitometrija uporabom hidrostatske vage). Za vrlo precizno mjerenje potrebna je korekcija gustoće zbog učinka sumpornoga dioksida.

*Alkohlona jakost.* Alkoholna jakost izražena volumenom je broj litara etanola sadržanog u 100 litara vina, a oba volumena mjerena pri temperaturi od 20° C. Izražava se simbolom „%”

vol“. Etanol (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH) – predstavlja glavni proizvod alkoholne fermentacije, te je iza vode količinski najzastupljeniji sastojak u vinu. Alkoholna jakost vina određena je metodom destilacije prema specifičnoj težini destilata na 20°C, d(20/20). Konačni rezultat volumnih postotaka dobiven je očitavanjem vrijednosti na Riechardovim tablicama.

*Ukupni suhi ekstrakt.* Ukupan suhi ekstrakt ili ukupna suha tvar uključuje sve tvari koje nisu hlapive pod specifičnim fizičkim uvjetima (NN106/04). Ovi fizički uvjeti moraju biti takvi da tvari koje čine ekstrakt pretrpe što je moguće manje promjene u tijeku izvođenja testa. Ukupan suhi ekstrakt izračunava se indirektno iz relativne gustoće mošta, a za vino iz relativne gustoće bezalkoholnog vina. Ovaj suhi ekstrakt predstavlja količinu saharoze koja, otopljena u 1 litri vode daje otopinu iste relativne gustoće kao mošt ili bezalkoholno vino.

*Reducirajući šećer.* Reducirajući šećeri su svi šećeri, koji imaju keto ili aldehidne funkcionalne skupine (NN106/04). Njihovo određivanje vezano je za redukciju alkalne otopine bakar (II) soli. Pročišćeno vino ili mošt reagira s određenom količinom otopine alkalne bakrene soli (II), a višak iona bakra određuje se jodometrijski.

*Ekstrakt bez šećera.* Nereducirani ekstrakt (ekstrakt bez šećera) predstavlja ukupni suhi ekstrakt umanjen za vrijednost ukupnog šećera (NN 106/04) Prema Pravilniku o proizvodnji vina (NN02/2005) propisane su i minimalne količine ekstrakta bez šećera za pojedine kvalitetne kategorije vina (tablica 4.).

Tablica 4. Propisane minimalne količine ekstrakta bez šećera za pojedine kategorije vina

	KAKVOĆA VINA	
	KVALITETNO VINO	VRHUNSKO VINO
<b>Bijelo</b>	17 g/L	18 g/L
<b>Rosé</b>	18g/L	19 g/L
<b>Crno</b>	19 g/L	20 g/L

*Ukupna kiselost u vinu.* Glavne organske kiseline grožđa, mošta i vina su vinska, jabučna i limunska kiselina te one predstavljaju skoro 90% ukupne sume svih kiselina. Njihova koncentracija mijenja se tijekom razvoja bobice i dozrijevanja grožđa, a osim o kultivaru,

uvelike ovisi o položaju vinograda, stupnju zrelosti grožđa, vremenskim uvjetima tijekom dozrijevanja grožđa (godištu) te protjecanju alkoholne fermentacije. Vinska i jabučna kiselina predstavljaju skoro 90% od ukupne sume svih kiselina grožđa.

Ukupne kiseline (slobodne organske i neorganske te njihove soli) određene su metodom direktne titracije, odnosno neutralizacijom lužinom. Kao indikator korišten je bromtimol plavi, a koncentracija je izražena u g/L vinske kiseline. Za uzorak se uzima 10 ml vina, uz dodatak 2-3 kapi bromtimola nakon čega se tretira s 0,1 M NaOH do promjene boju u modro-zelenu. Ukupna kiselost vina u prometu mora biti najmanje 4 g/l, izraženo kao vinska kiselina, a najviše do 14 g/l (Pravilnik o proizvodnji vina, NN 02/2005)

*Određivanje koncentracije pojedinačnih organskih kiselina* Kiselost grožđa i mošta je drugo važno svojstvo koje zajedno sa koncentracijom šećera karakterizira tehnološku vrijednost grožđa. Najznačajniji predstavnici organskih kiselina su vinska, jabučna, limunska i jantarna kiselina, a koncentracija im se izražava u g/l. Odnos između pojedinačnih organskih kiselina se određuje metodom tekućinske kromatografije, enzimatski te metodom papir kromatografije. Odnos između kiselina je određen sortom, položajem i klimatskim prilikama tijekom dozrijevanja. Koncentracija vinske kiseline se kreće od 3 do 10 g/l, a jabučne kiseline od 1 do 4 g/l. U ovom istraživanju su pojedinačne organske kiseline određene tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti (engl. *High Performance liquid Chromatography, HPLC*). Analiza je provedena uz izokratno eluiranje pri protoku od 0,6 ml/min, temperaturu kolone od 65 °C i detekciju pri 210 nm. Korištena kolona je bila kationski izmjenjivač *Aminex HPX-87H 300 x 7.8 mm i.d.* (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA) dok je kao mobilna faza korištena 0.0065%-tna vodena otopina fosforne kiseline.

*Hlapiva kiselost.* Vino redovito sadrži određenu količinu hlapljivih kiselina, u koje spadaju octena, mravlja, propionska i maslačna. Međutim, od cjelokupne količine hlapive kiselelosti na octenu otpada 95-99%. Hlapive kiseline određene su metodom neutralizacije s 0,1M otopinom NaOH uz indikator 1% otopinu fenolftaleina, a uzorak je prethodno destiliran vodenom parom. Količina hlapljivih kiselina u vinu najčešće se kreće između 0,4 i 0,8 g/l izraženo u octenoj kiselini, a ovisi najviše o koncentraciji šećera u moštu, uvjetima vrenja, te vrsti i soju kvasaca koji sudjeluju u alkoholnoj fermentaciji. Maksimalna koncentracija hlapive kiselosti u bijelim vinima je 1 g/l (Pravilnik o proizvodnji vina, NN 02/2005).

*Nehlapiva kiselost.* Nehlapiva kiselost predstavlja razliku između ukupne i hlapive kiselosti (NN106/04). Nehlapivu kiselost izražavamo u gramima vinske kiseline po litri (g vinske kiseline/l).

*Određivanje pH.* pH vrijednost je određena koncentracijom vodikovih iona u nekoj otopini. Ako ima više vodikovih od hidroksidnih iona tada je tvar kisela, a ako je obrnuto tada je lužnata. Vrijednost pH kod mošta i vina uglavnom se kreće između 2,7 i 3,9. Realna kiselost utječe na niz biokemijskih i fizikalno-kemijskih procesa tijekom dozrijevanja i starenja vina. Vina koja imaju nižu vrijednost pH kiselija su i pogodnija za čuvanje budući da se u njima teže razmnožavaju nepoželjni mikroorganizmi. pH vrijednost mošta i vina određuje se uređajem koji se naziva pH-metar.

*Određivanje SO<sub>2</sub>.* Sumporni dioksid ima značajnu ulogu u vinarstvu. U moštu i vinu sumporni dioksid djeluje antioksidativno (inaktiviranje oksidacijskih enzima i vezivanje s kisikom), aseptičko (djeluje baktericidno, insketicidno i fungicidno) što je bitno kod eliminacije divlje mikroflore, te koagulirajuće (brže i lakše bistrenje vina). Slobodni i ukupni sumporni dioksid u vinu određen je alkalimetrijski metodom po Paulu prema O.I.V.-u

*Određivanje pepela.* Pepeo odnosno minerali u vinu, čine metali i nemetali. Od metala najzastupljeniji je kalij (40%), a od nemetala karbonati (18%), fosfor (15%) i sumpor (10%) Uzorak se upari do suha, spaljivanjem karbonizira, a zatim mineralizira žarenjem kod propisane temperature do konstantne težine. Minimalna količina pepela u vinu (Pravilnik o proizvodnji vina NN 02/2005) iznosi 1,4 g/l za kvalitetna vina i 1,5g/l za vrhunska vina.

### **3.8. Aromatski profil vina**

#### *Monoterpeni*

Najjednostavniji terpeni su monoterpeni sa 10 ugljikovih atoma. Najveći doprinos aromi vina daju monoterpeni koji se nalaze u slobodnom obliku, slobodno hlapivi terpeni. Oni se mogu nalaziti i u vezanom glikozidnom obliku, a nazivaju se potencijalno hlapivi terpeni. Sortna aroma vina određena je specifičnom kombinacijom terpenskih spojeva, od kojih su najvažniji linalol, geraniol, hotrienol,  $\alpha$ -terpineol, citronelol, nerol.

### *Viši alkoholi*

Pojam viši alkoholi odnosi se na alkohole kojima je temperatura vrelišta viša od vrelišta etanola (78,35 °C). Mogu se prepoznati po svom snažnom, oštrom mirisu i okusu te mogu imati značajan utjecaj na okus i karakter vina. Viši alkoholi u koncentraciji do 300 mg/L doprinose razvoju željene arome vina, dok koncentracije veće od 400 mg/L negativno utječu na aromatske karakteristike vina. Na povećanje udjela viših alkohola tijekom alkoholne fermentacije utječu kvašćeva biomasa, oksidacija, povišena temperatura, prisutnost određenih tvari u suspenziji. Aminokiseline doprinose koncentraciji ukupnog dušika u podlozi, a količina viših alkohola nastalih anaboličkim putem ovisi u velikoj mjeri o koncentraciji dušika. Uvjeti uzgoja loze i upotreba različitih kvasaca doprinose značajnim varijacijama količine viših alkohola. Viši alkoholi također su važni prekursori nastajanja estera, a esteri viših alkohola povezani su s ugodnim aromama.

### *Esteri*

Esteri su produkti kondenzacije karboksilne skupine organskih kiselina i hidroksilne skupine alkohola. U vinima je identificirano više od 160 estera, no samo oni učestaliji prisutni su u koncentracijama koje prelaze granice osjetnog zapažanja. Najzastupljenije su dvije skupine estera: acetatni esteri koji nastaju iz octene kiseline i viših alkohola, i etilni esteri koji nastaju iz etanola i viših masnih kiselina, ili nehlapljivih organskih kiselina. Od svih estera, najčešći i ujedno najistraživaniji je etil-acetat koji u koncentracijama 50 – 100 mg/L može doprinijeti olfaktornim svojstvima vina, ali u većim koncentracijama je nepoželjan zbog odbojnog mirisa koji može upućivati na bakteriološku kontaminaciju vina.

### *Sumporni spojevi*

Sumporovi spojevi značajno pridonose okusu vina zbog svoje ekstremno niske vrijednosti praga osjetljivosti. Neki sojevi kvasca *Saccharomyces cerevisiae* proizvode veće količine sumporovodika. Neki sojevi mogu biti odgovorni za nepoželjan miris i okus vina, a drugi izazivaju neznatno povećanje sumporovih spojeva koji ne uzrokuju nepoželjan okus vina.

Arome su analizirane u 2 koraka, najprije je primijenjena ekstrakcija na čvrstoj fazi pomoću Lichrolut EN sorbensa (Merck, Njemačka) kolona. Postupak se sastojao od

kondicioniranja kolonice s 4 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 4 mL CH<sub>2</sub>OH te 4 mL 12 %-tne vodene otopine etanola. Na kolonicu je nanoseno 50 mL uzorka vina. Analiti su potom eluirani s 0,7 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Eluat je zatim uveden u plinskrokromatografski sustav te je provedena analiza na HP 6850 plinskom kromatografu uz Agilent 5973 spektrometar masa uz temperaturni program: 5 min pri 40 °C te potom brzinom od 2°C min<sup>-1</sup> do temperature od 240°C uz 20 minuta zadržavanja. Plin nosioc bio je helij s protokom od 1 mL min<sup>-1</sup>. Separacija analita provedena je na ZB-WAX koloni (60 m x 0,25 mm i.d., 0,25 µm).

### **3.9.Senzorno ocjenjivanje vina**

Po završetku vinifikacije vina su senzorno ocijenjena, 'Paired sample testom', metodom kojom se ocjenjivaču daju dva uzorka vina, od kojih treba izabrati uzorak s većim intenzitetom pojedinog sastojka, naglašenijeg svojstva ili bolje sveukupne kakvoće. Primijenjena je i metoda 100 pozitivnih bodova prema O.I.V.-u. U ocjenjivanju je sudjelovalo 9 ocjenjivača s Agronomskog Fakulteta u Zagrebu.

## **4. Rezultati i rasprava**

### **4.1.Utjecaj ektomikorize na kemijski sastav mošta**

Osim o potencijalu sorte, sadržaj šećera i kiseline uvelike ovise o okolinskim uvjetima, ali i agrotehničkim i ampelotehničkim zahvatima u vinogradu. Poznato je da su kvantiteta prinosa i kvaliteta prinosa obrnuto proporcionalne. Proizvođač primijenjenog mikoriznog inokulata navodi kako ono pozitivno utječe na kvantitetu, ali i na kvalitetu prinosa (Bio-budućnost d.o.o.).

Osnovni sastojci mošta su voda, šećeri, kiseline, fenolni spojevi, sastojci arome, spojevi s dušikom, te minerali. Osnovni šećeri su glukoza i fruktoza, a čine preko 95% ukupnih šećera u grožđu. Količina šećera u grožđu varira ovisno o sorti, stupnju zrelosti i zdravstvenom stanju grožđa. Tijekom sazrijevanja, glukoza je zastupljenija od fruktoze, no taj odnos se mijenja u korist fruktoze. U punoj zrelosti je količina obaju šećera podjednaka, dok je kod prezrelog

grožđa nešto viši udio fruktoze. Osim toga, u fazi zrelosti, koncentracija šećera u grožđu može rasti zbog dehidracije i koncentriranja sadržaja bobice.

Rezultati sadržaja šećera i ukupnih kiselina, ukazuju da je grožđe s mikoriziranih trsova doseglo veći stupanj zrelosti, a na to ukazuje sadržaj šećera. Iz tablice 5 je vidljivo da je sadržaj šećera kod mikoriziranih trsova (68 °Oe) veći nego kod kontrolnih trsova (64 °Oe). Mikoriza utječe na bolje usvajanje kalija koji pospješuje sintezu ugljikohidrata te je glavni element vezan uz postizanje kvalitetnog prinosa vinove loze. S druge strane, mikoriza je utjecala i na veći sadržaj ukupne kiselosti, što se u ovom slučaju može objasniti kao utjecaj mikorize na povećanje količine lisne mase uslijed bolje ishranjenosti i kondicije trsova, što je dovelo do povećane tvorbe organskih kiselina. Ukupna kiselost je veća u varijanti mikorize (6,6 g/L) u odnosu na varijantu kontrole (6,4 g/L). Budući da Kraljevina glasi kao sorta viših organskih kiselina, razmjerno nižu ukupnu kiselost u oba uzorka možemo pripisati činjenici da je 2017. godina agroklimatološki bila izrazito vruća i godina s nešto nižom količinom padalina. Obzirom na globalno zatopljenje i uz to vezani problem niskih vrijednosti pojedinačnih organskih kiselina u grožđu i vinu, veće vrijednosti ukupne kiselosti grožđa sa inficiranih trsova pozitivan je pokazatelj.

Tablica 5. Sadržaj šećera i ukupna kiselost u moštu 'Kraljevina' berba 2017.

Uzorak	Šećer °Oe	Ukupna kiselost (g/L)
Mikoriza	68	6,6
Kontrola	64	6,4

#### 4.2. Utjecaj ektomikorize na sadržaj pojedinačnih organskih kiselina

Vinska kiselina je najjača kiselina u moštu i vinu i zbog toga najviše utječe na pH vrijednost. Koncentracija vinske kiseline u zreloom grožđu kreće se od 1 do 7 g/L. Koncentracija jabučne kiseline najčešće iznosi 1 – 4 g/l, a ovisi o sorti, stupnju zrelosti grožđa i klimatskim uvjetima. Jabučna kiselina se najviše iskorištava kao organski materijal u procesu disanja, a relativno niske temperature u vrijeme dozrijevanja grožđa uvjetovale su slabiji intenzitet disanja, posljedično i slabiju razgradnju jabučne kiseline. Ostale organske kiseline vina, kao



limunska, izolimunska, fumarna i  $\alpha$ -ketoglutarina, međuproducti su ciklusa limunske kiseline. Većina tih kiselina u vinu se nalaze u malim koncentracijama te općenito nemaju značajnijeg utjecaja na organoleptička svojstva vina.

Tablica 6. Sadržaj pojedinih organskih kiselina u vinu 'Kraljevina' berba 2017.

Uzorak	Ukupna kiselost (g/L)	Limunska kiselina (g/L)	Vinska kiselina (g/L)	Jabučna kiselina (g/L)
Mikoriza	6,6	0,16	5,81	1,33
Kontrola	6,4	0,15	5,65	1,31

U tablici 6. su prikazane vrijednost sadržaja pojedinačnih organskih kiselina (g/L) Kraljevine, 2017. godine. Tablica prikazuje da su mikorizirani trsovi imali veći sadržaj vinske kiseline u punoj zrelosti (5,81 g/L) u odnosu na kontrolne trsove (5,65 g/L). Jabučna kiselina je također bila viša kod mikoriziranih trsova (1,33 g/L) nego kod kontrolnih trsova (1,31 g/L). Kod limunske kiseline došlo je do minimalnih promjena, kod kontrolnih trsova iznosila je 0,15 g/L, dok kod inficiranih trsova 0,16 g/L.

Uzevši u obzir dobivene rezultate, sa sigurnošću možemo zaključiti da ektomikoriza utjecala na povećanje sadržaja vinske, jabučne kiseline i limunske kiseline.

### 4.3. Utjecaj ektomikorize na osnovna fizikalno-kemijska svojstva vina

U tablici 7. prikazan je osnovni kemijski sastav vina 'Kraljevine' po završetku alkoholne fermentacije. Poznato je da vina 'Kraljevine' imaju problema sa relativno niskim vrijednostima navedenih parametara koji u pojedinim godinama mogu biti i limitirajući čimbenik pri puštanju vina u promet. U vinu inficiranog uzorka uočen je pozitivan utjecaj mikorize na vrijednost pepela, parametara kakvoće koji značajno može utjecati na povećanje punoće okusa. Tako je vrijednost pepela kod kontrolnog vina iznosila 1,19 g/L dok je kod mikoriznog vrijednost pepela bila 1,26 g/L. Vrijednost ekstrakt bez šećera u kontrolnom je vinu bio 17,5 g/L, a u vinu varijanti mikoriza 17,2 g/L. Iz tablice 7. je vidljivo da je razgradnja šećera bila potpuna te da je tijekom alkoholne fermentacije bio pravilan tj. nije došlo do sinteze većih količina hlapive kiseline. Opravdana različitost među varijantama kontrole i mikorize ponovno je uočena i

potvrđena u koncentracijama ukupne kiselosti i vrijednostima pH, odnosno vidljivo je kako su pH vrijednosti u korelaciji s udjelom ukupne kiselosti. Iz rezultata su vidljive razlike u vrijednostima pH, vrijednost pH u vinu varijanti mikoriza manja je za 0,07 u odnosu na kontrolno vino. Razlika u vrijednostima pH sa stajališta mikrobiološke stabilnosti vina nije zanemariva.

Analizom je utvrđeno da vino kontrole sadrži 38,0 mg /L slobodnog SO<sub>2</sub> te 100 mg/L ukupnog SO<sub>2</sub>, dok vino mikorizirane varijante sadrži 31,0 mg/L slobodnog SO<sub>2</sub> i 118,0 mg/L ukupnog SO<sub>2</sub>. Analizirano vino po ovom parametru spada unutar granica određenih Pravilnikom o vinu.

Tablica 7. Osnovna fizikalno-kemijska analiza vina

	Kontrola	Mikoriza
Specifična težina (20/20°C)	0,9925	0,9937
Alkohol (vol%)	11,56	11,91
Ekstrakt ukupni g/l	20,0	20,1
Šećer reducirajući g/l	2,5	2,9
Ekstrakt bez šećera g/l	17,5	17,2
Ukupne kiseline (kao vinska) g/l	5,0	5,9
Hlapive kiseline (kao octena) g/l	0,61	0,67
Nehlapive kiseline g/l	4,4	5,3
pH	3,14	3,07
SO <sub>2</sub> slobodni mg/l	38,0	31,0
SO <sub>2</sub> ukupni mg/l	100,0	118,0
Pepeo g/l	1,19	1,26

#### 4.4. Utjecaj ektomikorize na aromatski profil vina

Dobiveni rezultati prikazani su u tablici 8. pri čemu su analizirani spojevi grupirani prema svojoj kemijskoj strukturi. Najveći doprinos aromi vina daju monoterpeni od kojih su najvažniji linalol, geraniol, hotrienol,  $\alpha$ -terpineol, citronelol, nerol. Navedene spojeve sorta Kraljevina nije u stanju nakupiti u većim koncentracijama. Ta tvrdnja potvrđena je i u ovom istraživanju. Monoterpenski aldehid neral iako je po koncentracijama bio najzastupljeniji nije

bio prisutan u koncentracijama iznad olfaktivnog praga detekcije. Prema nakupljenoj sumi monoterpena uočene su razlike između mikoriziranih uzoraka ( 617,60 µg/L) i kontrole (491,86 µg/L).

Plinskom kromatografijom dokazana je prisutnost sljedećih hlapljivih spojeva: viših alkohola, estera i aldehida, koji su proizvodi alkoholne fermentacije. Viši alkoholi su spojevi koji izrazito doprinose aromi vina. Od viših alkohola u većim koncentracijama u analiziranom vinu kontrole prisutan je feniletanol (8226,79 µg/L) i 3-Metil-1-butanol (286020,44 µg/L), dok je u mikoriziranoj varijanti feniletanol iznosi 8548,41 µg/L, a 3-Metil-1-butanol 28855,11 µg/L.

U provedenoj analizi sadržaja estera, koji imaju mirisni doprinos, u vinima Kraljevine utvrđene su koncentracije pojedinih spojeva u rasponu od 2,42 do 86,46 µg/L. Dobivena je veća ukupna koncentracija estera u vinu kontrole i iznosi 1720,23 µg /L, od kojih je pojedinačno najzastupljeniji etil-oktanoat s koncentracijom od 86,46 µg /L, dok kod mikoriziranog uzorka ukupna koncentracija estera iznosila 1692,13 µg /L, a od pojedinačno najzastupljenijih izdvojio se etil-heksonoat s koncentracijom od 69,98 µg /L.

Utvrđene koncentracije sumpornih spojeva svojom prisutnošću mogu imati negativan utjecaj na kakvoću vina. Analizom je potvrđeno da su sumporni spojevi ispod senzornog praga detekcije iako je u kontrolnom vinu utvrđena nešto veća koncentracija (90,00 µg /L) u odnosu na mikoriziranu varijantu (46,71 µg /L).

Važno je za izdvojiti i niži sadržaj masnih kiselina kod vina varijante mikoriza što se može povezati sa većim koncentracijama stvorenih etil estera masnih kiselina ali i sintezom zasićenih masnih kiselina.

Tablica 8. Aromatski profil (µg/l) vina 'Kraljevina' berba 2017.

	OPT*	OAV**	Deskriptor	Mirisna serija	KOS kontrola	KOS mikoriza
Aldehidi						
<b>Heksanal</b>	4,5	+	zelena trava	vegetalni, biljni	7,08	6,37
<b>2-Heptenal</b>			zeleni, travnati	vegetalni, biljni	110,69	120,23
<b>2-Oktenal</b>	3	+	zeleni	vegetalni, biljni	249,64	197,45
<b>Nonanal</b>	2,5	+	zeleni, travnati	vegetalni, biljni	19,66	16,27

<b>Dekanal</b>	3	+	biljni	biljni	2,34	2,32
$\Sigma$					<b>389,41</b>	<b>342,64</b>
Esteri						
<b>Izobutil-acetat</b>	1600		slatki, voćni	voćni	9,11	11,23
<b>Izoamil-acetat</b>	30		banana	voćni	301,23	312,21
<b>Heksil-acetat</b>	670		cvjetni, kruška, jabuka	cvjetni, voćni	1,83	3,10
<b>2-Feniletil acetat</b>	250		med, cvjetni	cvjetni, voćni	34,33	22,14
<b>Etil-piruvat</b>	100000		zeleni	vegetalni	13,22	8,72
<b>Etil-butanoat</b>	20	+	voćni	voćni	29,42	54,01
<b>Etil-heksanoat</b>	14	+	zeleni jabuka	voćni	65,68	69,98
<b>Etil-oktanoat</b>	5	+	banana, ananas	voćni	86,46	68,18
<b>Etil-dekanoat</b>	200		grožđe, voće	voćni	25,07	24,02
<b>Etil-2-metilbutanoat</b>	1	+	slatko voće	voćni	2,42	2,97
<b>Etil-3-metilbutanoat</b>	3	+	voćni, borovnice	voćni	3,29	3,45
<b>Etil-3-hidroksiheksanoat</b>	45		guma	kemijski	0,53	0,13
<b>Etil-2-hidroksi-3-metilbutanoat</b>					19,63	16,41
<b>Etil-3-hidroksibutanoat</b>	20000		grožđe, voće, karamel	voćni	27,45	24,65
<b>Dietil-sukcinat</b>	6000		zrelo voće	cvjetni, voćni	105,59	74,89
<b>Etil-hidrogensukcinat</b>					950,12	949,07
<b>Dietil-malat</b>	760000		breskva, šljiva	voćni	44,85	46,97
$\Sigma$					<b>1720,23</b>	<b>1692,13</b>
Viši alkoholi						
<b>trans-3-Heksen-1-ol</b>	400		zeleni trava	vegetalni, zeleni	5,09	5,23
<b>1-Heksanol</b>	500		zeleni trava	vegetalni, zeleni	14,15	17,32
<b>cis-3-Heksen-1-ol</b>	400		zeleni trava	vegetalni, zeleni	9,69	12,05
<b>trans-2-Heksen-1-ol</b>	100		zeleni trava	vegetalni, zeleni	0,58	0,54
<b>Feniletanol</b>	10000	+	ruža, med	cvjetni	8226,79	8548,41
<b>2-Metil-1-propanol</b>	16000		kemijski, na lak	kemijski	4364,34	3638,64
<b>1-Butanol</b>	150000		kemijski,	kemijski	21,57	30,41
<b>2-Metil-1-butanol</b>	30000	+	kemijski, otapalo	kemijski	0,00	0,00
<b>3-Metil-1-butanol</b>	30000	+	kemijski, na lak	kemijski	286020,44	28855,11
<b>1-Pentanol</b>	80000		kemijski	kemijski	10,73	9,32
<b>4-Metil-1-pentanol</b>	50000		bademi, tost	voćni	28,12	29,04
<b>2-Heptanol</b>	425		uljnasti	masni	2,19	2,73
<b>3-Metil-1-pentanol</b>	50000		zeleni, vegetalni	vegetalni, zeleni	59,76	58,10
<b>3-Etoksi-1-propanol</b>	50000		prezrelo	voćni	7,19	4,48
<b>2-Etil-1-heksanol</b>	8000		ruža, zeleno	biljni, zeleni	5,47	5,57
<b>1-Okten-3-ol</b>	1	+	gljive	zemljani, začini	0,86	0,71
<b>1-Heptanol</b>	2500		masno, uljnato	masni	7,40	5,69
<b>1-Oktanol</b>	110		jasmin, limun	cvjetni	1,87	1,55
<b>2-Okten-1-ol</b>			vegetalno, zeleno	vegetalno	3,42	4,04
<b>2,6-Dimetil-4-heptanol</b>			zemljani	masni	31,88	32,35
$\Sigma$					<b>298821,54</b>	<b>40261,29</b>
Sumporni spojevi						
<b>Methionol</b>	500		kuhano povrće		87,32	45,30
<b>4-(Methyltio)-1-butanol</b>	80		zemljani		2,68	1,41

$\Sigma$					<b>90,00</b>	<b>46,71</b>
Monoterpeni						
<b>Neral</b>	1000		voćni	voćni	562,00	420,82
<b>Farnezol</b>	1000		cvjetni	cvjetni	18,52	15,35
<b>a-Ionol</b>			cvjetni	cvjetni	0,22	0,04
<b>a-Terpineol</b>	250		kamfor, ljubica	cvjetni	1,67	1,57
<b>8-Hidroksilinalol</b>					1,75	10,89
<b>Linalol</b>	15		cvjetni	cvjetni, terpenski	6,64	8,31
<b>Terpinen-4-ol</b>	110		začin, drvo	začinski, terpenski	3,99	2,97
<b>Hotrienol</b>	110		voćni, cvjetni	voćni, cvjetni	3,45	3,60
<b>Citronelol</b>	18		citrusi	voćni	2,55	1,80
<b>Nerol</b>	15		cvijet naranče	cvjetni	0,94	0,67
<b>Geraniol</b>	30		ruža, geranium	cvjetni	2,05	1,64
<b>Terpendiol I</b>					10,91	19,73
$\Sigma$					<b>617,60</b>	<b>491,86</b>
Masne kiseline						
<b>Butanska (maslačna) kiselina</b>	33	+	sir, mlječni	masni	265,50	257,11
<b>Heksanska (kapronska) kiselina</b>	420	+	masni, mlječni	masni	1149,51	1046,02
<b>Heptanska (enantinska) kiselina</b>	3000		masni, mlječni	masni	1,82	1,34
<b>Oktanska (kaprilna) kiselina</b>	500	+	masni, mlječni	masni	1820,68	1542,59
<b>Dekanska (kaprinska) kiselina</b>	1000	+	masni, mlječni	masni	1495,75	1271,05
<b>3-Metilbutanska (izovalerijanska) kiselina</b>	3000		sir, mlječni	masni	934,38	702,59
<b>Izobutanska kiselina</b>	20000		mlječni	masni	1148,45	724,67
$\Sigma$					<b>6816,09</b>	<b>5545,37</b>
Hlapivi fenoli						
<b>4-Etilgvajakol</b>	46		začin, dim	začinski	2,40	1,88
<b>4-Etilfenol</b>	140000		miris štale	kemijski	27,26	27,55
<b>4-Vinilgvajakol</b>	3	+	začin, dim	začinski	16,81	10,88
<b>4-Vinilfenol</b>			medicinalni, kemijski		36,78	38,58
<b>Vanilin</b>	60		vanilija, slatko	slatko	2,97	3,30
<b>Homovanilil-alkohol</b>					0,54	8,19
<b>Metil-vanilat</b>	3000		vanilija, slatko	slatko	3,40	3,01
<b>Etil-vanilat</b>	990				0,46	0,48
$\Sigma$					<b>90,62</b>	<b>93,87</b>
Laktoni						
<b><math>\gamma</math>-Butirolakton</b>	100000		karamel		609,58	606,33
<b><math>\gamma</math>-Heksalakton</b>	359000		breskva	voćni	2,96	1,54
<b><math>\delta</math>-Nonalakton</b>			kokos		1,52	1,33
<b><math>\gamma</math>-Nonalakton</b>	30		kokos, breskva	začinski	1,93	1,79
<b>Pantolakton</b>	500000		tost, korica kruhazačinski		78,62	81,30
<b><math>\gamma</math>-Dekalakton</b>	1000		breskva	voćni	0,44	0,28
<b><math>\gamma</math>-Karboetoksi-<math>\gamma</math>-butirolakton</b>					297,75	157,38
$\Sigma$					<b>992,80</b>	<b>849,95</b>

#### 4.5. Utjecaj mikorize na rezultate senzornog ocjenjivanja vina

Rezultati senzornog ocjenjivanja vina 'Paired sample' metodom prikazani su u tablici 9. Ukupno 7 ocjenjivača, od njih 9, izdvojilo je vino mikorizirane varijante kao vino kompleksnije u strukturi te vino s boljom kakvoćom mirisa i okusa.

Tablica 9. Rezultati ocjenjivanja metodom 'Paired sample'

Uzorak	Kontrola	Mikoriza
Zbroj	2	7

Rezultati ocjenjivanja metodom 100 pozitivnih bodova, vidljivi u tablici 10., potvrdili su rezultate 'Paired sample' metode. Uzorak vina varijante mikoriza ocijenjen je s 3 boda više od kontrolnog vina, odnosno ocijenjen je sa 78 bodova, dok je kontrolni uzorak dobio 75 bodova. Razlog tome moguće je povezati sa nešto većim vrijednostima pepela i ekstrakta kao i ukupnoj kiselosti koji su pozitivno pridonijeli punoći i svježini okusa dok je kompleksnija struktura mirisa te postojanost arome najvjerojatnije vezana uz veću zastupljenost aromatskih spojeva odgovornih za navedena svojstva u vinima mikorize.

Tablica 10. Rezultati ocjenjivanja metodom 100 bodova

Uzorak	Kontrola	Mikoriza
Zbroj	75	78

Jedan od razloga bolje senzorne ocjene vina Kraljevina iz varijante mikoriza može se objasniti izraženijim voćnim notama te izraženijom čistoćom mirisa. Dobiveni rezultati kemijskog sastava vina, a tako i rezultati senzornog ocjenjivanja vina ukazuju na različitost u početnom kemijskom sastavu samog mošta koji je uz uvjete fermentacije te odabrani soj kvasca jedan od značajnijih faktora formiranja fermentacijskih aroma vina.

## 5. Zaključak

Na temelju rezultata dobivenih istraživanjem utjecaja ektomikorize na kemijski sastav vina sorte 'Kraljevina' provedenog 2017. godine u vinogradu Zelinskog vinogorja, može se zaključiti kako je mikoriza utjecala na porast koncentracije šećera, ukupne kiselosti i pojedinačnih organskih kiselina u moštu te također povećanju sadržaja pepela u vinu. Sukladno promjenama u koncentraciji kiselina i pH vrijednost je u vinima mikorize bila niža u odnosu na kontrolno vino. Iz analize aromatskog profila potvrđeno je da su glavni predstavnici nositelja primarne arome vina, monoterpeni u koncentracijama ispod olfaktivnog praga detekcije. Prema nakupljenoj sumi monoterpena uočene su razlike među varijantama pri čemu je kod vina varijante mikoriza koncentracija bila nešto niža. Međutim isto tako u vinima varijante mikoriza utvrđene su niže koncentracije sumpornih spojeva koji svojom prisutnošću mogu imati negativan utjecaj u vinu. Pozitivne promjene analiziranih parametra potvrđuju i rezultati senzornog ocjenjivanja pri čemu je vino varijante mikoriza bilo ocjenjeno višom ocjenom.

Dobiveni rezultati kako kemijskog sastava tako i senzornih svojstava vina ukazuju na različitost u početnom kemijskom sastavu samog mošta koji je uz uvjete fermentacije te odabrani soj kvasca jedan od značajnijih faktora formiranja fermentacijskih aroma vina. Budući da se radi o rezultatima jednogodišnjeg istraživanja na jednoj sorti te na jednoj lokaciji, spomenute rezultate nije moguće smatrati u potpunosti relevantnima, a početnu hipotezu nije moguće potvrditi niti odbaciti. Kako bi ove rezultate potvrdili i mogli ih uzeti u obzir, potrebno je nastaviti s istraživanjima tijekom više godina na različitim lokacijama. No zaključak koji možemo donijeti je kako ektomikoriza u većoj ili manjoj mjeri ima utjecaj na kemijski sastav grožđa i vina kroz sastav šećera, organskih kiselina kao i aromatskih spojeva, a sve navedene promjene mogu utjecati i na senzorna svojstva vina.

## 6. Literatura

1. Azcón-Aguilar C., Barea J.M. (1997). Applying mycorrhiza biotechnology to horticulture: significance and potentials. *Scientia Horticulturae*. 68: 1-24
2. Andabaka Željko, Domagoj Stupić, Zvezdana Marković, Darko Preiner (2011). Novi trendovi u proizvodnji sadnog materijala autohtonih sorata vinove loze u Hrvatskoj. *Glasnik zaštite bilja (0350-9664)* 34 (2011), 1; 46-56
3. Balestrini Raffaella, Erica Lumini(2018). Focus on mycorrhizal symbioses. *Applied Soil Ecology*, Volume 123, February 2018, Pages 299-304
4. Brundrett, M.F., Piche, Y., Peterson, R.L. (1985): A developmental study of the early stages in vesicular-arbuscular mycorrhiza formation. *Can.J.Bot.* 63.194
5. Bruns T. D. (1995). Thoughts on the processes that maintain local species diversity of ectomycorrhizal fungi. *Plant and Soil*, 170, 63-73
6. Buscot Francois (2015). Implication of evolution and diversity in arbuscular and ectomycorrhizal symbioses. *Journal of Plant Physiology* 172, 55–61
7. Dehn B., Schuepp H. (1990). Influence of VA mycorrhizae on the plant uptake and distribution of heavy metals in plants. *Agric. Ecosys. Environ.* 29, 79-83.
8. Fazlić N., Melita Fazlić (1997) *Agronomski glasnik* 5-6-/1997. Izvorni znanstveni članak: Ekologija u službi hrvatskog vinogradarstva.
9. Garg, N., Chandel, S. (2010). Arbuscular mycorrhizal networks: process and functions. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 30(3), 581-599.
10. Maletić E., Jasminka Karoglan Kontić, Ivan Pejić (2008). *Vinova loza*, Zagreb.
11. Margulis L, Fester R, (1991). *Symbiosis as a source of evolutionary innovation*. MIT Press, [Google Scholar](#).
12. Marx D. H. (1972). Ectomycorrhizae as biological deterrents to pathogenic root infections. *Annu. Rev. Phytopathol.* 19: 429-454.
13. Menge J. A., Raski D., Lider L. A. (1983). Interactions between mycorrhizal fungi, soil fumigation, and growth of grapes in California. *Am J Enol Vitic* 34:117-121.
14. Mirošević, N., Turković, Z. (2003). *Ampelografski atlas, Golden marketing, Tehnička knjiga*, Zagreb
15. Mirošević Nikola, Jasminka Karoglan Kontić (2008). *Vinogradarstvo*. Nakladni zavod Globus, Zagreb
16. Mirošević N. i Turković Z. (2003.) *Ampelografski atlas.; Golden marketing- Tehnička knjiga*, Zagreb



17. Leung T. L. F., R. Poulin. (2008). Parasitism, Commensalism, and Mutualism: Exploring the many shades of symbioses. Department of zoology, University of Otago, Life and environment, 58 (2): 107-115
18. Licul, R., Premužić, D. (1979.): Praktično vinogradarstvo i podrumarstvo, Nakladni zavod Znanje, Zagreb.
19. Paracer Surindar, Vernon Ahmadjian (2000). Symbiosis. An Introduction to Biological Associations. Second edition. Oxford University Press
20. Popescu Gheorghe Cristian, (2016 ). Arbuscular mycorrhizal fungi - an essential tool to sustainable vineyard development: A review. Current Trends in Natural Sciences Vol. 5, Issue 10, pp. 107-116
21. Reynolds A. G. (2010). Managing wine quality: viticulture and wine quality. Science, Elsevier.
22. Torres Nazareth, M. Carmen Antolín, Idoia Garmendia, Nieves Goicoechea (2018). Nutritional properties of Tempranillo grapevine leaves are affected by clonal diversity, mycorrhizal symbiosis and air temperature regime. Plant Physiology and Biochemistry Volume 130, September 2018, Pages 542-554
23. Trdenić M., 2012. Ishrana i gnojdba vinove loze. Glasnik zaštite bilja 3
24. Zdunić D. (1995) - Hrvatsko zagorje i Međimurje, Laurana, Zagreb, TRSAT.
25. Znaor D. (1996): Ekološka poljoprivreda; Nakladni zavod Globus, Zagreb.
26. Zrnić M., Širić I. (2017). Primjena mikorize u hortikulturi. Journal of Central European Agriculture. 18 (3), p. 706-732
27. Veber G. 2005. Folijarna ishrana vinove loze. Glasnik zaštite bilja 6.
28. Šegota Tomislav, Filipčić Anita . (2003). Köppenova podjela klima i hrvatsko nazivlje, Stručni članak PMF Zagreb, Geografski odsjek Volumen 8/1 str. 17-37 Zadar.

## Internetski izvori

1. < <http://www.bio-buducnost.com> > pristupljeno: 20.1.2019.
2. < <http://meteo.hr/> > pristupljeno: 27.12.2018.
3. < <http://www.pavin.hr/> > pristupljeno: 19.02.2019.
4. < <https://hannainst.com/>> pristupljeno: 19.02.2019.
5. < <https://www.apprrr.hr/>> pristupljeno: 21.03.2019.