

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

STUDIJ: Hortikultura - Vinogradarstvo i vinarstvo

ANTONELA MRŠIĆ

**Utjecaj ektomikorize na mehanički i kemijski sastav grožđa cv. Cabernet sauvignon
(Vitis vinifera L.)**

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2016.

Ovaj diplomski rad je ocijenjen i obranjen dana _____

s ocjenom _____ pred Povjerenstvom u sastavu:

1. doc. dr. sc. Marko Karoglan _____

2. prof. dr. sc. Sanja Sikora _____

3. izv. prof. dr. sc. Ana Jeromel _____

ZAHVALA

Veliku zahvalu, u prvom redu dugujem mom mentoru doc. dr. sc. Marku Karoglanu na izuzetnom vodstvu, stručnim savjetima i velikoj pomoći pri pisanju diplomskog rada.

Zahvale i svim profesorima i asistentima Zavoda za vinogradarstvo i vinarstvo na suradnji, ugodnom boravku i stečenim znanjima.

Ovim putem također se želim zahvaliti mojim prijateljima koji su svojim prisustvom uljepšali moje studentsko razdoblje.

Posebnu zahvalu iskazujem svojoj obitelji kao znak beskrajne podrške na putu prema ostvarenju željenog uspjeha.

Mojim roditeljima, najvećim uzorima u mom životu, od srca posvećujem ovaj diplomski rad.

SAŽETAK

Cilj ovog istraživanja je ustanoviti kako primjena živog ektomikoriznog micelija na korijen vinove loze (podloga *Vitis berlandieri x Vitis riparia* SO4), utječe na mehanički i kemijski sastav grožđa sorte Cabernet sauvignon, berbe 2014. Cjepivo je aplicirano na 40 trsova 2013. godine na Vinogradarsko – vinarskom pokušalištu u Jazbini. Temeljem dobivenih rezultata utvrđeno je da je mikoriza pozitivno utjecala na prinos po trsu, masu grozda i bobice. Također, udio mesa u varijanti mikorize manji je u odnosu na kontrolu, a veći udio kožice i peteljke. Prateći kemijske parametre uočen je povećan sadržaj šećera i ukupne kiselosti te fenolnog sastava, dok je koncentracija antocijana smanjena u mikorizi s obzirom na kontrolu.

Ključne riječi: mikoriza, Cabernet sauvignon, prinos, sadržaj šećera, ukupna kiselost, polifenoli

ABSTRACT

The focus of this research was to establish how the use of living ectomycorrhizal mycelium on the root of the vine (rootstock *Vitis berlandieri* x *Vitis riparia* SO4) affects on the mechanical and chemical composition of the grape cultivar Cabernet sauvignon from the harvest of year 2014. The vaccine was applied to 40 vines in the Winegrowing and winemaking experimental station in Jazbina in the year of 2013. From the given results it is established that mycorrhizae positively influences yield per vine as well as the mass of the cluster and the berries. In the addition, the share of meat in the variation where mycorrhizae was used is lower when compared to the control group, and the shares of the membrane and petiole are higher. By observing chemical parameters higher levels of sugar and acidity, as well as fenol composition, were observed, while the concentration of the anthocyanins was lower in the mycorrhizae then in the control group.

Keywords: mycorrhiza, Cabernet sauvignon, yield, sugar content, total acidity, poliphenols

SADRŽAJ:

1. UVOD	1
2. MATERIJALI I METODE ISTRAŽIVANJA	4
2.1. Sorta Cabernet sauvignon crni.....	4
2.2. Podloga <i>Vitis berlandieri</i> x <i>Vitis riparia</i> SO4	6
2.3. Pokusni vinograd	7
2.3.1. Karakteristike tla u pokusnom vinogradu	8
2.4. Klima	9
2.4.1. Temperatura	9
2.4.2. Svjetlost.....	10
2.4.3. Vlaga	11
2.5. Plan pokusa.....	12
2.6. Uvometrijska i mehanička analiza grozda i bobice	13
2.7. Metode kemijskih analiza	14
2.7.1. Određivanje sadržaja šećera.....	14
2.7.2. Određivanje razine ukupne kiselosti	15
2.7.3. Određivanje sadržaja ukupnih polifenola	16
2.7.3.1. Ekstrakcija kože.....	16
2.7.3.2. HPLC metoda	16
2.7.3.3. Postupak brzog određivanja ukupnih fenola	16
2.7.3.4. Određivanje sadržaja ukupnih antocijana	17
3. REZULTATI I RASPRAVA	18
3.1. Utjecaj ektomikorize na prinos po trsu, masu grozda i bobice.....	18
3.2. Utjecaj ektomikorize na mehanički sastav grožđa	19
3.3. Utjecaj ektomikorize na kemijski sastav grožđa	19
3.4. Utjecaj ektomikorize na sadržaj pojedinačnih organskih kiselina.....	20
3.5. Utjecaj ektomikorize na sadržaj ukupnih fenola u grožđu	21
3.6. Utjecaj ektomikorize na sadržaj antocijana u grožđu	22
4. ZAKLJUČAK	24
5. LITERATURA.....	25

1. UVOD

Naziv mikoriza dolazi od grčkih riječi „mykes“ (gljiva) i „rhiza“ (korijen) te bi u doslovnom prijevodu značio „gljivino korijenje“. Azcón-Aguilar i Barea (1997) u svom radu prikazuju mikorizu kao simbiotsku povezanost između korijenja biljaka i gljiva u tlu, koja igra ključnu ulogu u transportu hranjiva u ekosustavu te također štite biljke od stresa i utjecaja iz okoliša. Mikoriza je prvenstveno zaslužna za snabdijevanje biljke domaćina hranjivim mineralnim tvarima, osobito onima čiji ionski oblici imaju nisku stopu mobilnosti ili onima koji su prisutni u niskim količinama u otopini tla (fosfati, cink, amonijak, bakar), ali mikoriza ima i mnogih drugih prednosti (Barea, 1991).

Mikorizne gljive u uzajamnoj simbiozi sa vinovom lozom poboljšavaju njezin rast i ishranu (Aguín i sur., 2004). U ovom visoko-ovisnom odnosu uspostavljenom između oba partnera, vinova loza prima mineralne hranjive tvari putem micelija gljiva. S druge strane, heterotrofne gljive dobivaju ugljične spojeve od fotosinteze domaćina. Gljiva u stvari postaje sastavni dio korjenova sustava. Vinova loza koja kao autotrofni domaćin putem fotosinteze proizvodi organska hranjiva na taj način je i ekološki zaštićeno stanište za gljive budući da one dobivaju sve potrebne nutrijente za normalan rast i razvoj (Azcón-Aguilar i sur., 1996).

Isti autori navode kako mikoriza ima pozitivan učinak na zdravlje i rast biljaka budući da djeluje kao biognojivo i biozaštita. Na taj se način, između ostalog, smanjuje unošenje kemijskih gnojiva i pesticida u tlo. Maksimalna korist dobit će se samo inokulacijom s učinkovitim mikoriznim gljivicama i pažljivim odabirom kompatibilne kombinacije domaćin (u ovom slučaju vinova loza) – gljiva – podloga.

Schreiner (2003) i Ozdemir i sur. (2010) ističu važnost esencijalnih elemenata u ovoj simbiozi. Naime, mikorizne gljive formiranjem simbioze s biljkama mogu povećati dostupnost esencijalnih biljnih hranjivih tvari kao što su fosfor (P), cink (Zn), bakar (Cu), za koje se smatra da su sporo mobilni u tlu. Dok je u mnogo slučajeva povećani rast vinove loze povezan sa pojačanim unosom fosfora u tlo, ostale hranjive tvari, uključujući željezo (Fe), bakar (Cu), cink (Zn), također uzrokuju povećani rast kod različitih kultivara vinove loze. Osim toga, mikorizne gljive mogu oslobađati fosfor i kroz mineralizaciju organske tvari, hidrolizom fosfatno-esterskih veza uz pomoć fosfataza (Lazarević, 2013). Budući da imaju sposobnost skladištenja vode, mikorizne gljive također potpomažu u stjecanju dodatne otpornosti na sušu kod vinove loze.

Tri tipa mikorize značajna su i poznata: endomikoriza, ektomikoriza i ektoendomikoriza. Jednom kada simbiotski odnos između jedinki bude uspostavljen, kroz određeni vremenski period i pod djelovanjem okolinskih uvjeta, takav se odnos može mijenjati kroz sva tri tipa simbiotskih odnosa (Šolić, 2005). U ovom istraživanju govorimo o ektomikorizi kod koje ektomikorizni micelij formira gust omotač oko korijena.

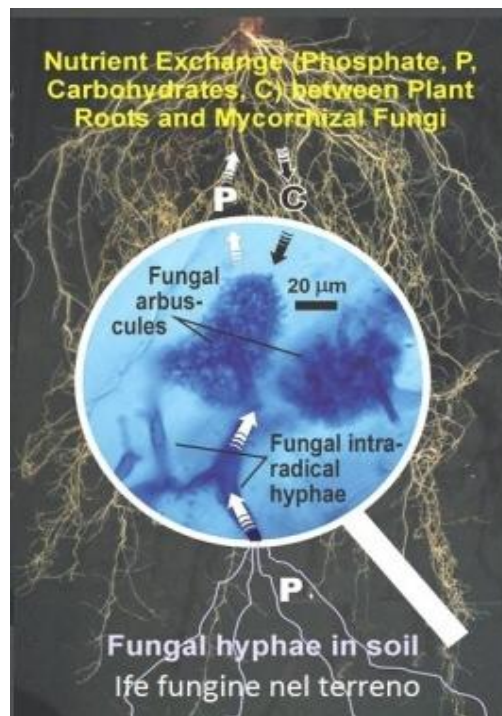
Ektotrofna mikoriza ili ektomikoriza, osim vinove loze (*Vitis vinifera*), obuhvaća i neke druge drvenaste vrste iz porodica: *Aceraceae*, *Bignoniaceae*, *Casuarinaceae*, *Compositae*, *Cupressaceae*, *Dipterocarpaceae*, *Ericaceae*, *Fagaceae*, *Gnetaceae*, *Mimosaceae*, *Myrtaceae*, *Pinaceae*, *Rosaceae*, *Sapindaceae*. Ektomikorizne gljive koje koloniziraju korijenje vinove loze i stvaraju gustu micelijsku ovojnici na površini korijena i oko njegove površine u tlu pripadaju rodovima *Ascomycota*, *Basidiomycota*.

Specifičnost ove vrste mikorize čini gusti splet hifa različite debljine koje obavijaju kratko i debelo postrano korijenje biljaka domaćina. Hife su tanje i mogu ući u najsitnije pore u tlu te se povećava učinkovitost upijanja hranjivih tvari i vode. Uz to, značajan je i intercelularni ulazak gljivičnih hifa između stanica kore. Gljivične hife kod ektomikorize odlikuju se osim micelijskim plaštem (engl. *mantle*) oko vanjske površine korijena i tzv. Hartigovom mrežom, koja se nalazi u međustaničnim prostorima kore.

Hife s površine korijena, točnije iz plašta, osim što se radijalno šire u tlo, ulaze i u apoplast korijena gdje zajedno s kortikalnim ili epidermalnim stanicama korijena biljke formiraju Hartigovu mrežu. Upravo zbog takve građe olakšan je i povećan kontakt između dvaju simbionata. Sukladno tome, dva glavna ektomikorizna organa su plašt i Hartigova mreža. Hife imaju funkciju korijenovih dlačica te zbog svoje površine omogućuju olakšanu apsorpciju vode s otopljenim mineralnim tvarima. Naime, micelijski plašt djeluje kao uređaj za odabir i apsorpciju, dok Hartigova mreža vrši funkciju razmjene tvari između gljive i biljke domaćina, u ovom slučaju vinove loze (Brundrett, 2004).

Zbog dobro razvijene mreže micelija ektomikoriza olakšava apsorpciju fosfata i nitrata. Ova pojava je posebno značajna na siromašnijim tlima. Ektomikorizom se proizvode metaboliti koji utječu na regulaciju rasta biljke domaćina te regulaciju otpuštanja elemenata iz biljke domaćina. Uz to, kao posljedica simbiotskog odnosa ektomikoriznih gljiva s korijenjem vinove loze, javljaju se pozitivni učinci vidljivi na nadzemnim dijelovima i na plodovima, odnosno na zrelom grožđu spremnom za preradu. Mikoriza utječe na kemijski sastav grožđa, odnosno povećava koncentraciju šećera, polifenola koji su zaslužni za formiranje okusa, boje

i astrigencije budućeg vina te antocijana, nosioca boje crnih vina (Klasa, 2012). Pregledavajući brojne znanstvene radove i internetske članke može se zaključiti da mikoriza osim gore navedenih prednosti, ima i brojne druge koje će biti spomenute u nastavku.



Slika 1. Mikroskopski prikaz mikorize. (Izvor: Internet)

2. MATERIJALI I METODE ISTRAŽIVANJA

2.1. Sorta Cabernet sauvignon crni

Ovaj visokokvalitetni kultivar francuskog podrijetla (Bordeaux) često nazivan i „kraljem crvenih vina“, osim u Francuskoj, rasprostranjen je u gotovo svim vinogradarskim zemljama svijeta. Potomak je spontanog križanja sorata Cabernet franc i Sauvignon bijeli (Mirošević i sur. 2008). Poznat je još i pod sinonimima, franc.: C. S. Noir., Vidure Sauvignon, Carbonet i dr., C. S. Nero, Blauer, black.

Kod nas je rasprostranjen u Istri, Dalmaciji i nekim dijelovima Kontinentalne Hrvatske. Na Nacionalnoj listi priznatih kultivara vinove loze preporučena je sorta za podregije: Podunavlje, Slavonija, Moslavina, Prigorje – Bilogora, Istra, Hrvatsko primorje, Sjeverna Dalmacija, Dalmatinska zagora, Srednja i Južna Dalmacija.

Mirošević i sur. (2003) navode kako ga karakteriziraju jako runjavi vršci mladica sa ružičasto obojenim rubovima mladih listića. Sorta je dvospolnog cvijeta. List može biti peterodijelan do sedmerodijelan, okruglast, srednje veličine. Postrani gornji sinusi karakterističnog su trokutnog ili okruglog otvora, duboki, preklopljenih rubova. Ponekad i na dnu ureza imaju rub. S druge strane, postrani donji sinusi srednje su duboki, okruglog, često trokutnog otvora te preklopljenih rubova. Sinus peteljke ima okruglasti otvor a rubovi plojke su preklopljeni. Lice je tamnozeleno, naličje rijetko paučinasto. Plojka lista je valovita, naborana i dosta debela. Rebra su svijetlozelena. Glavni zupci su široki i tupi, često uglasti, produljeni, šiljasti. Sporedni zupci su široki, tupi i obli. Peteljka lista je kraća od glavnog rebra te malo crvenkasta.

Zreo grozd je dosta malen i stožast, slabo razgranat te na vršku malo zakrenut. Često ima sugrozdiće na zglobu donjega grozda. Peteljkovina je zelena sa srednje dugom i srednje debelom peteljkom grozda.

Zrele bobice su crnomodre, male do srednje veličine, okrugle. Otporna kožica čvrsto se drži čaške. Meso je sočno, sok skladnog specifičnog okusa.

Rozgva je srednje debljine, kestenjasta, tvrda sa srednje dugim člancima. Na koljencima koja su malo istaknuta je nešto tamnije boje, usko prugasta.



Slika 2. Cabernet sauvignon crni. (Izvor: Internet)

Sorta nema posebne zahtjeve prema tlu. U pravilu mu odgovaraju viši brežuljkasti položaji koji nisu izloženi smrzavicama. Dobro podnosi sušna a tako i kišna razdoblja u jesen, ako ne traju predugo. Dozrijeva potkraj drugog razdoblja.

Cabernet sauvignon se uzgaja na različite sustave. Male je do srednje, ali redovite rodnosti, visoke kakvoće. Potreban mu je dugačak rez.

Sorta je dosta dobre otpornosti prema smrzavicama, peronospori i truljenju grožđa. Otpornost prema Oidiumu je slaba.

Srodnost s američkim podlogama je dobra.

Od ove visokokvalitetne sorte proizvode se jedna od najpoznatijih vina svijeta. Vina karakterizira granatna boja, specifični sortni miris i okus. Dosta su jaka, malo trpk, s razmjerno niskim kiselinama. Naglašena rubinski crvena boja vina proizlazi iz malih grozdova visoke kakvoće. Iako je prinos manji, cijena koju postižu dobro odnjegovana vina ove sorte mogu izjednačiti manjak mase prinosa. Često dolaze u mješavini. Daleko je poznata

francuska kupaža „bordoški blend“, koja se radi od nekoliko različitih sorti među kojima je uz Cabernet franc, Merlot, Petit verdot i Malbec, također i Cabernet sauvignon.

2.2. Podloga *Vitis berlandieri* x *Vitis riparia* SO4

Sinonimi: Berlandieri x Riparia selekcija Oppenheim 4, selekcija Oppenheim 4, Oppenheim 4, SO4.

Mirošević i sur. (2008) navode kako je ovaj križanac selekcioniran u vinogradarskoj školi Oppenheim (Njemačka) iz populacije *Vitis berlandieri* x *Vitis riparia* Teleki 4B. Ta je podloga rasprostranjena u gotovo svim vinogradarskim zemljama svijeta, i to u posljednjih desetak godina. Dosta je dobro prihvaćena u Njemačkoj, Austriji, Bugarskoj, državama bivšeg SSSR-a i dr. u sjevernim krajevima preporučuje se križanac SO4 zbog ranijeg dozrijevanja drva (Licul i sur., 1985).

Pup je pri otvaranju bubrežast, blijedo zelenkast s crvenkastim preljevom, pahuljast. Vrh mladice je uspravan ili povinut, nježan, malo paučinast, zelenkast, crvene osi. Mladi listići crvenkasto bronzirani, okrugli, često vrlo urezani.

Listovi su srednje veliki do veliki, klinasti, cijeli, ponekad s jednim ili oba urezana gornja sinusa. Naglašena su tri terminalna uska, žljebasta zupca, a ostali su mali trokutasti, oštro vrha. Plojka je mekana, mjehurasta, mala, međunervno užljebljena, zelena sjajna s crvenkastom nervaturom, kratke crvenkaste peteljke, široko otvorenog sinusa oblika slova „U“.

Cvijet je dvospolan odnosno hermafroditan.

Mladica je rebrasta, zelenkasta s ljubičastim nodijima što se razlijeva po dužini mladice na osunčanoj strani; po nodijima često čekinjaste dlačice.

Rozgva je žućkastosmeđe boje, svijetle do smeđe-ružičaste boje, žljebasta. Zimski pupovi mali do srednje veliki, izduženi.

U spomenutoj literaturi ističe se kako je ovo podloga koja je selekcionirana na raniju dob dozrijevanja drva. Taj podatak je osobito važan za sjeverne vinogradarske krajeve, gdje dopijeva do 15 dana prije u usporedbi s 5BB. Podloga to pozitivno svojstvo prenosi i na plemku, tj. utječe i na ranije dozrijevanje grožđa i raniji ulazak trsa u fazu mirovanja. Dosta je dobre rezistentnosti na vapno (40-45% ukupnog odnosno 17-19% fiziološki aktivnog vapna).

Dobro se ukorjenjuje i otporna je na korijenovu formu filoksere i vrlo je visoke otpornosti na nematode. Afinitet s kultivarima *V. vinifera* je dobar. Preporuča se za bolja vinogradarska tla.

Podloga je vrlo produktivna što nam pokazuje i podatak da u povoljnim uvjetima daje 80-120.000 reznica prve klase. Znatno utječe na nakupljanje šećera bez promjene koncentracije ukupnih kiselina u moštu.

2.3. Pokusni vinograd

Planine Medvednica, Kalnik i Bilogora karakteriziraju reljef podregije Prigorje-Bilogora, čiji se obronci spuštaju prema jugu. Brežuljke i obronke presijecaju mnogobrojne rječice i potoci koji pripadaju slijevu rijeke Save. Obronci Medvednice povoljnih su južnih i zapadnih ekspozicija te su vinogradarski položaji rasprostranjeni praktično duž podnožja cijele planine. Upravo na južnim padinama Medvednice, točnije na brijegu Biškupov čret, smješteno je Vinogradarsko-vinarsko pokušalište Jazbina. Navedeno pokušalište dio je Zagrebačkog vinogorja. Pokušalište površine oko 25 ha smješteno je između 202 i 280 metara nadmorske visine. Na ovom području pad terena je blag do umjeren, prosječne vrijednosti 16%. Na pojedinim dijelovima nagib je 30%, a na najstrmijim dijelovima pristranka i veći (Dolanjski i Stričević, 1996).

Jazbina je suvremeni znanstveno-nastavni poligon koji u sastavu fakulteta djeluje već 17 godina. Nalazi se u neposrednoj blizini fakulteta, značajna kao mjesto znanstveno-istraživačkog rada i edukacije studenata u području vinogradarstva i vinarstva. U vinogradima je zastupljeno preko 50 kultivara vinove loze. Na površini od 25 ha nalazi se 8 ha proizvodnih nasada vinskog grožđa, 0.3 ha kolekcijskog nasada s preko 100 različitih genotipova vinove loze, 0.2 ha međuvrsnih križanaca, 0.1 ha stolnih kultivara te veliki i mali eksperimentalni podrum.



Slika 3. Mikorizirani redovi, Jazbina 2014.

2.3.1. Karakteristike tla u pokusnom vinogradu

Prema Škoriću (1957) tla Jazbine klasificiraju se u antropogenizirano podzolirano tlo i podzolirano smeđe tlo. Međutim, autor navodi kako morfologija profila i dijagnostički znakovi nisu bili tipični za procese podzolizacije. Promatrajući aktualnu klasifikaciju tala, na području Jazbine zastupljeno je rigolano tlo vinograda iz obronačnog pseudogleja na podlozi pleistocenskih ilovina i pliocenskih glina. Teksturno je to tlo prilično nepovoljnih fizikalnih i kemijskih svojstava. Tlo je vrlo antropogenizirano. Obrada tla, hidro- i agromelioracije značajno modificiraju profil tla.

Kroz oba profila tla proteže se gotovo ujednačeni pH. Budući da to nije uobičajeno za tipični pseudoglej, kao glavni uzrok ove pojave navodi se kalcifikacija. Ona je kao agromelioracijska mjera provedena prilikom uređenja površina radi smanjivanja kiselosti tla. Uz nisku pH vrijednost ova su tla vrlo siromašna humusom. U bliskom okruženju nalazi se sporadično i eutrični i distrični kambisol.

Na većini jazbinskih tala retencijski kapacitet za vodu je osrednji i kreće se od 35 do 45% maksimalnog kapaciteta. Sadržaj pora od 45 do 60% ukazuje nam na činjenicu da su ova tla vrlo porozna. Škorić (1986) navodi kako je izmjena mokre i vlažne faze glavni čimbenik postanka i razvoja pseudogleja. Naime, u kišnom dijelu godine oborine se ne procjeđuju zbog nepropusnog horizonta te se zbog toga zadržavaju u površinskom dijelu profila, ispunjavaju

makro pore iz kojih potiskuju zrak i prekomjerno navlažuju tlo. Nasuprot tome, u ljetnom dijelu godine, kada oborine izostaju, tlo se suši.

2.4. Klima

Vinova loza višegodišnja je kultura koja se uzgaja u umjerenom pojasu između 25 i 52° sjeverne zemljopisne i 30 i 45° južne zemljopisne širine. U umjerenom klimatskom pojasu izražena su četiri godišnja doba koja omogućavaju pravilno odvijanje pojedinih fenofaza u tijeku godišnjeg biološkog ciklusa. Temperatura, vlaga i svjetlost najvažniji su klimatski čimbenici vinove loze značajni za uspješan rast i razvoj, redovit i obilan prinos dobre kakvoće.

2.4.1. Temperatura

Toplinska obilježja nekog područja primarna su za procjenu njegove prikladnosti za uzgoj vinove loze. Temperaturu od 10°C, pri kojoj se u proljeće počinje događati vidljiva životna aktivnost vinove loze, nazivamo biološkom nulom. Srednje dnevne temperature više od 10°C su aktivne temperature. Odbijanjem biološke nule od aktivnih temperatura dobivamo efektivnu temperaturu. Suma efektivnih temperatura potrebna je za postizanje pune zrelosti grožđa i završetak cijelog vegetacijskog ciklusa.

U sjevernim vinogradarskim krajevima, u kojima je i provedeno naše istraživanje, dobra kakvoća priroda postiže se pri srednjoj temperaturi zraka od 10 do 12°C. Nije poželjno da srednja godišnja temperatura bude niža od 8°C jer je pri takvim uvjetima kakvoća priroda prilično slaba.

Ekstremne temperature koje izazivaju oštećenja pojedinih organa često se negativno odražavaju na rentabilnost proizvodnje gubitkom dijela prinosa. Na ovom području, a isto tako i u cijeloj Hrvatskoj, češća su oštećenja od ekstremno niskih temperatura. Prema Miroševiću i sur. (2008) vinova loza je najosjetljivija na niske temperature u početku vegetacije, a u razdoblju zimskog mirovanja pokazuje najveću otpornost na niske temperature. Isto tako, količina rezervnih tvari u rozgvi, starom drvu i korijenu također utječe na otpornost prema niskim temperaturama. Otpornost je uvjetovana i genetički.

U vrijeme vegetacije zeljasti organi vinove loze izuzetno su osjetljivi na pozebu. Cvijet strada već pri 0°C, mladi listići na -2°C, a pup u otvaranju i listovi na -4 do -5°C.

Tablica 1. Srednja temperatura zraka (°C), Zagreb-Maksimir, travanj-listopad 2014.

Srednja temperatura zraka (°C), travanj – listopad 2014.							
Mjesec	4	5	6	7	8	9	10
Srednja mjesečna temperatura	13,3	15,7	20,2	21,8	20,2	16,2	13,6
Srednja vegetacijska temperatura	18						

Iz podataka u tablici 1 jedan vidljivo je da je srednja vegetacijska temperatura 18 °C. Navedena srednja vegetacijska temperatura pogodna je za normalan rast i razvoj vinove loze. Mjesec s najvišom temperaturom zraka u vegetaciji bio je srpanj. Temperatura se do srpnja postepeno dizala, nakon čega opet počinje lagano padati prema najhladnijem mjesecu u vegetacijskom razdoblju, listopadu. Lipanj i kolovoz imali su istu temperaturu zraka, otprilike 2°C nižu od najtoplijeg mjeseca u vegetaciji. Promatramo li razdoblje prije berbe uočavamo da su temperature bile u prosjeku oko 15°C. Temperature u rujnu, mjesec dana prije berbe, bile su nekoliko stupnjeva više nego u istom razdoblju u listopadu. Na dan berbe, 9. listopada temperatura je dosegla maksimum toga mjeseca i iznosila je 19,6 °C.

2.4.2. Svjetlost

Svjetlo, budući da omogućava fotosintezu u listu, odnosno stvaranje organske tvari neophodne za razvoj i plodonošenje loze, neophodan je čimbenik za rast i razvoj loze. Insolacijom, odnosno brojem sati sijanja sunca tijekom vegetacije izražava se količina svjetla.

Vinova loza koristi se izravnim sunčevim svjetlom, koje je i najvažnije, te difuznim ili reflektirajućim svjetlom (Mirošević i sur., 2008). Crvene i plave valne duljine najpovoljnije su za fotosintetsku aktivnost.

Ampelotehničkim zahvatima potrebno je osigurati dobro prodiranje svjetla u unutrašnjost trsa. Na taj način većina listova maksimalno je fotosintetski aktivna, diferencira se veći broj rodni pupova te na taj način kvalitativni potencijal dolazi do potpunog izražaja.

Za uspješan uzgoj vinove loze potrebno je tijekom vegetacije od 1500 do 2500 sati sijanja sunca te oko 150-170 vedrih i mješovitih dana (Mirošević i sur., 2008).

Tablica 2. Insolacija (sati), Zagreb-Maksimir, travanj – listopad 2014.

Mjesečna insolacija (h), travanj listopad 2014.							
Mjesec	4	5	6	7	8	9	10
Mjesečna suma	123,6	232,1	269,9	241,2	219,8	102,2	119,2
Vegetacijski period (suma)	1308						

Tablica 2 prikazuje nam broj sati sijanja sunca u vegetacijskom periodu koji iznosi 1308 sati. U 2014. godini lipanj je bio mjesec s najviše sunčanih sati u vegetacijskom razdoblju za razliku od rujna koji postiže čak više od dva puta manji broj sati sijanja sunca od lipnja. Dani prije berbe bili su relativno oblačni, sa vrlo malo sunca. Općenito je cijelo vegetacijsko razdoblje kao i cijela 2014. godina bilo promjenjivo i to se odrazilo i na insolaciju, koja je za razliku od 2013. godine bila manja za oko 250 sati.

2.4.3. Vlaga

Uz svjetlost i toplinu, vlaga je još jedan vrlo važan čimbenik rasta i razvitka loze. Vlaga obuhvaća sve vrste oborina u svim oblicima (kiša, snijeg, rosa i dr.). Prevelika količina vlage nije poželjna, a ni njezin nedostatak u tlu, budući da se negativno odražava na razvoj vegetacije te na veličinu i kakvoću priroda.

Potrebnom količinom vode za normalan razvoj loza se opskrbljuje uglavnom preko korijena iz tla. U vodi se nalaze otopljene hranjive tvari, koje se putem korijenova sustava prenose u ostale dijelove trsa. Voda u trsu prenosi asimilacijom nastale organske tvari iz lista u ostale organe (Mirošević i sur., 2008).

Svaka faza razvoja loze ima različite zahtjeve u pogledu potrebne količine vlage. Najviše je vlage potrebno u početku vegetacije za intenzivan rast mladica i poslije za razvoj bobica, a višak može štetno djelovati u fazi cvatnje i oplodnje te u fazi dozrijevanja. Isto tako, velika količina vlage jedan je od osnovnih preduvjeta za razvoj gljivičnih bolesti.

Najpovoljnija godišnja količina padalina je 600-800 mm uz povoljan raspored tijekom vegetacijskog perioda. Mirošević i sur. (2008) u literaturi ističu kako u našim vinogradarskim krajevima godišnje padne oko 600-1300 mm oborina. Kiša umjerene jačine padanja najpovoljniji je oblik.

Tablica 3. Oborine (mm), Zagreb-Maksimir, travanj - listopad 2014.

Mjesečna količina oborina (mm), travanj – listopad 2014.							
Mjesec	4	5	6	7	8	9	10
Mjesečna suma	70,4	145	147	157,8	115,2	178,6	128
Vegetacijski period (suma)	942						

Tablični prikaz 3 predstavlja količinu oborina u vegetaciji čiji zbroj iznosi 942 mm. Najveća količina oborina izmjerena je u srpnju i iznosila je 157,8 mm. S druge strane, mjesec travanj donio je najmanje padalina, samo 70,4 mm. Budući da je ova godina bila ekstremno vlažna to se odrazilo i na vinovu lozu. Praktički cijeli vegetacijski period, ako isključimo mjesec travanj, popraćen je vrlo visokom količinom oborina. Vinova loza je u razdoblju dozrijevanja, umjesto veće količine sunca dobila ekstremno veliku količinu vlage. To je u konačnici rezultiralo vrlo lošim prinosom i kakvoćom grožđa, popraćenom truljenjem i raznim gljivičnim bolestima. Najbolji pokazatelj ekstremno velike količine padalina je usporedba s prethodnom godinom u kojoj je u vegetacijskom periodu palo 532,5 mm oborina. Ova količina je gotovo dvostruko manja u odnosu na 2014. godinu.

2.5. Plan pokusa

Pokus je postavljen 2013. godine na Vinogradarsko – vinarskom pokušalištu u Jazbini. Cjepivo je aplicirano na 40 trsova Cabernet sauvignona, a isti broj trsova poslužio je kao kontrola. Aplicirano ektomikorizno cjepivo trgovačkog naziva Mykoflor® potječe iz prirode. Proizvedeno je od uzoraka korijena iz odabranih ekosistema divlje loze iz cijele Hrvatske i Europe.

U cjepivima se nalazi živi mikorizni micelij koji je spreman za trenutno nastajanje korijena. On se nalazi u vodenoj otopini i spreman je za trenutnu simbiozu s biljkom. U obliku gela, na temperaturi od oko 0°C može trajati čak nekoliko godina. Funkciju gubi jedino ako se osuši ili pregrije. Specifičnost ovakvog cjepiva je u tome što gljiva jako brzo stupa u simbiozu s biljkom, jer su žive hife spremne za to i jedva čekaju njeno korijenje, koje je njihov hranitelj. Za razliku od toga, dodajući suho cjepivo, teško je postići takav poticaj jer spore nerado kliju. U ovom slučaju potreban je biokemijski poticaj koji je vrlo teško postići u modernom uzgoju bilja. Tehnologija kojom se proizvode ova cjepiva ganatira najvišu kakvoću i mogućnost primjene u svim uvjetima.

Preporuča se mikorizaciju izvršiti već u rasadnicima jer su troškovi proizvodnje manji a kvaliteta rasadnog materijala veća. Na taj se način smanjuje propadanje prilikom sadnje i garantira se bolji rast. Sadnja se vrši umakanjem korijena u suspenziju. Pri tome se vinova loza štiti i od suše te se skraćuje vrijeme do punog uroda. Postoji još jedan način apliciranja mikorize koji je izvršen u našem slučaju. Naime, suspenzija mikorize se aplicira u korijen biljke pomoću uređaja Kwazar.

2.6. Uvometrijska i mehanička analiza grozda i bobice

Mehanička analiza grozda i bobice najčešće se provodi zajedno s uvometrijskim mjerenjima. Ona je zapravo orijentirana na procjenu tehnoloških obilježja sorte, odnosno na ocjenu njezinih obilježja kao sirovine za preradu u vino ili za neku drugu namjenu (proizvodnja suhica, upotreba u svježem stanju i sl.).

Analiza je provedena na 10 grozdova, odnosno 100 bobica, u vrijeme pune zrelosti. Svakom grozdu je posebno izbrojeno 10 bobica i odvojeno od peteljkovine. Nakon toga mjerena je masa bobica i masa peteljkovine. Od cjelokupnog uzorka uzeto je 100 bobica s kojih je odvojena kožica, meso i sjemenke. Masa kožica 100 bobica i masa sjemenki 100 bobica izvagane su nakon što su se osušile.

Temeljem ovih izmjera možemo utvrditi pokazatelje sastava grozda i bobica. Ovi parametri se mogu iskazivati u apsolutnim vrijednostima. Međutim, najinformativniji i za gospodarsku evaluaciju najvažniji su reletivni pokazatelji kao: postotak peteljkovine u grozdu, postotak mesa (što na određeni način pokazuje iskorištenje sirovine), strukturni pokazatelj grozda (masa mesa naprama masa čvrstog ostatka, koji čine peteljkovina, kožica i sjemenke) te pokazatelj bobica (broj bobica u 100 g grozda). Sorte koje imaju povoljniji odnos mesa u odnosu na čvrsti ostatak imaju i veći randman, što je osobito važno za vinske sorte (Maletić i sur., 2008).

Uvometrijom (lat. uva-grozd) utvrđujemo mjeriva obilježja grozda i bobice. Iz reprezentativnog uzorka mjerimo masu grozda, dužinu i širinu grozda, broj bobica te dimenzije (dužinu i širinu) bobica (Maletić i sur., 2008). Temeljem tih izmjera možemo sorte razvrstati u grupe prema veličini grozda. Ovom metodom također utvrđujemo osnovni oblik i veličinu bobice. Na temelju odnosa dužine i širine računa se indeks bobice.

Uvometrijska istraživanja se provode u fazi pune zrelosti grožđa. Uzorak ne smije biti manji od 10 grozdova i 100 bobica. Grozdovi moraju biti neoštećeni i uzimaju se na točno propisan način koji osigurava reprezentativnost uzorka.



Slika 4. Mjerenje grozdova za uvometrijsku analizu grozda i bobice

2.7. Metode kemijskih analiza

U trenutku pune zrelosti grožđe je pobrano sa svih pokusnih trsova, te su izmjereni prosječna masa grozda i prinos po trsu. Dio grožđa je odmah prerađen i iskorišten za analizu osnovnih parametara kakvoće (šećer i ukupna kiselost). Drugi dio nasumično odabranih grozdova je zamrznut i pohranjen za analizu fenolnog sastava. Sadržaj šećera i ukupnih kiselina određen je prema metodama O.I.V.-a (2001). Pojedinačni fenolni spojevi određeni su tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti, po metodi Tomaz i Maslov (2016).

2.7.1. Određivanje sadržaja šećera

Sadržaj šećera u moštu izmjeren je pomoću refraktometra. Refraktometar je optički instrument čiji se rad zasniva na prelamanju svjetlosti koja prolazi kroz sloj mošta. Veličina kuta pod kojim se svjetlost lomi zavisi od gustoće mošta. Što je gustoća veća to je lom svjetla veći i obrnuto. Lom svjetla se na skali refraktometra vidi u obliku manjeg ili većeg stupca sjene. Očitavaju se vrijednosti koje se nalaze na granici svijetlog i tamnog polja. Stariji refraktometri na skali imaju postotak suhe tvari dok se kod novijih modela direktno očitavaju

°Oe. Uz Oechsle sadržaj šećera može se izraziti pomoću Babo-a i Brix-a (Jeromel, 2015). Refraktometar najčešće ima jednu skalu, a može ih imati i tri, jednu uz drugu.

2.7.2. Određivanje razine ukupne kiselosti

Razina ukupne kiselosti u ovom je slučaju određena metodom direktne titracije.

Metoda direktne titracije bazira se na neutralizaciji svih kiselih frakcija otopinom neke lužine. Na osnovi utroška lužine (NaOH) izračunava se ukupna kiselost. Kao indikator najčešće se koristi bromtimol plavi, koji je upotrijebljen i u ovom slučaju. Titracijska kiselost izražava se u g/L (kao vinska).

Postupak je proveden na način da se u laboratorijsku čašu otpipetiralo 10 ml uzorka te dodalo 2 do 3 kapi indikatora bromtimol plavog. Titracija je izvršena sa 0,1 M NaOH do pojave maslinasto zelene boje. Naime, 1 mL 0,1 M NaOH neutralizira 0,0075 g vinske kiseline, pa iz tog slijedi da razinu ukupne kiselosti računamo prema formuli:

$$\text{ukupna kiselost (g/L kao vinska)} = \text{mL utrošene 0,1 M NaOH} \times 0,0075 \times 100$$

(Jeromel, 2015).



Slika 5. Metoda direktne titracije

2.7.3. Određivanje sadržaja ukupnih polifenola

2.7.3.1. Ekstrakcija kože

Prije početka same ekstrakcije sjemenka je odvojena od mesa dok je bobica bila u smrznutom stanju te su tako odvojene sjemenke ostavljene da se odmrznu. Odmrznute sjemenke su sušene na zraku te usitnjene. Na uzorak mase od 125 mg dodano je 10 mL ekstrakcijskog otapala (20% acetonitril, 1% mravlja kiselina, 79% voda). Ekstrakcijska smjesa ostavljena je na magnetskoj mješalici pri temperaturi 50°C u trajanju od jednog sata. Ona se potom centrifugirala, a dobiveni supernatant je odvojen te potom prebačen u odmjernu tikvicu od 10 mL i nadopunjen otapalom A do oznake. Dobivena otopina se prije HPLC analize filtrirala preko PTFE membranskog filtera.

2.7.3.2. HPLC metoda

Sadržaj pojedinačnih polifenola u dobivenim ekstraktima iz kože određeni je RP-HPLC metodom (Tomaz i Maslov 2015) pomoću HPLC instrumenta Agilent 1100 Series (Agilent, SAD). Odvajanje polifenola provedeno je na Phenomenex Luna Phenyl – hexyl koloni (250 x 4,6 mm, Phenomenex, SAD) uz gradijentno eluiranje korištenjem 0,5 % (v/v) vodene otopine fosforne kiseline (otapalo A) dok se kao otapalo B koristila otopina koja je sadržavala acetonitril:vodu:fosforu kiselinu (50:49,5:0,5; v/v/v) s brzinom protoka od 0,9 mL/min. Tijekom analize su korišteni slijedeći uvjeti: volumen ubrizganog uzorka 20 µl/L, temperatura kolone 50 °C. Flavonoli su određeni pri valnoj duljini od 360 nm te antocijani pri 518 nm. Flavan-3-oli su određeni primjenom fluorescencijskog detektora pri $\lambda_{ex} = 225$ nm i $\lambda_{em} = 320$ nm. Identifikacija pikova temeljila se na usporedbi vremena zadržavanja komponenti iz uzorka sa vremenima zadržavanja kao i usporedbom s UV spektrima standarda, dok je za kvantifikaciju korištena metoda vanjskog standarda.

2.7.3.3. Postupak brzog određivanja ukupnih fenola

Na uzorak od 10 kože dodano je 20 mL ekstrakcijskog otapala (70% EtOH, 1 % HCOOH, 29% H₂O). Ekstrakcijska smjesa ostavljena je na maceraciji 24 sata. Smjesa se centrifugirala, dobiveni supernatant je odvojen i podvrgnut daljnjoj analizi.

U odmjernu tikvicu od 10 mL dodano je 2,5 ml H₂O i 0,5 mL razrijeđenog ekstrakta, zatim je dodano 0,5 mL Folin Ciocalteuovog reagensa i ostavljeno 3 do 5 min te dodano 10 %

Na₂CO₃. Tikvica je nadopunjena do oznake s vodom. Nakon 90 minuta izmjerena je apsorbanacija pri $\lambda = 700$ nm. Ukupni fenoli izračunati su prema formuli:

$$\gamma \text{ (ukupni fenoli)} = 186,5 \times A \times d = \text{mg/L}$$

2.7.3.4. Određivanje sadržaja ukupnih antocijana

Prvi dio postupka je isti kao i kod određivanja ukupnih fenola. Dakle, dobiveni supernatant je podvrgnut daljnjoj analizi nakon koje se ekstrakcijsko otapalo koristilo se za slijepu probu. U kivetu je prenesen supernatant i očitana apsorbanacija na $\lambda = 540$ nm. Uzorak se po potrebi razrijedi s ekstrakcijskim otapalom. Sadržaj antocijana izračunat je prema sljedećoj formuli:

$$\gamma \text{ (ukupni antocijani)} = A \times 16,17 \times d = \text{mg/L}$$

$A_{540,1\text{cm}}$ = apsorbanacija pri 540 nm, d= razrijeđenje

3. REZULTATI I RASPRAVA

3.1. Utjecaj ektomikorize na prinos po trsu, masu grozda i bobice

Mikorizne gljive snabdijevaju biljku esencijalnim biljnim hranjivim tvarima koje selektivno upijaju iz tla te povećavaju površinu za uzimanje vode. S druge strane, hormoni rasta potiču korijen na rast i grananje. Upravo taj razgranatiji korijen pojačano usvaja vodu, a s njom i hranjive tvari od kojih je najznačajniji fosfor, esencijalni element koji uzrokuje povećani rast vinove loze. Isto tako, gusti splet hifa koje obavijaju korijenje domaćina mogu ući u najsitnije pore u tlu te tako povećati učinkovitost upijanja hranjivih tvari i vode. Pojačano usvajanje vode uzrokuje u konačnici, zbog većeg i razgranatijeg korijena, veće parametre prinosa.

Tablica 4. Prinos po trsu, masa grozda i bobice, Cabernet sauvignon, Jazbina, 2014. g.

Cabernet sauvignon, Jazbina, 2014. g.			
Tretman	kg/trs	grozd (g)	bobica (g)
KONTROLA	2,37	100,3	1,22
MIKORIZA	3,74	121,3	1,30

Iz tablice 4 vidljivo je da je prosječna masa grozda, kao i prosječna masa bobice, bila veća u varijanti mikorize. Prosječni prinos po trsu također je evidentno veći u varijanti mikorize, čak više od kilograma po trsu u prosjeku. Budući da je prinos jedan od važnijih čimbenika u proizvodnji grožđa, ovaj parametar je od iznimne važnosti. Osim generativnog potencijala kao sortnog svojstva na prinos utječu i okolinski uvjeti te primjena agro i ampelotehnike u vinogradu. Iz navedenih rezultata možemo zaključiti da je mikoriza pozitivno utjecala na sve parametre povezane s prinosom. Stoga, zaključujemo da tretman mikorizom donosi sa sobom pozitivne učinke te da se u smislu rodnosti sa sigurnošću isplati aplicirati mikorizu u vinogradu.

3.2. Utjecaj ektomikorize na mehanički sastav grožđa

Tablica 5. Mehanički sastav grožđa, Cabernet sauvignon, Jazbina, 2014. g.

Cabernet sauvignon, Jazbina, 2014. g.				
Tretman	meso (%)	kožica (%)	sjemenke (%)	peteljka (%)
KONTROLA	82,3	10	2,6	5,1
MIKORIZA	79,4	11,8	2,6	6,2

Iz tablice 5 može se iščitati da je udio mesa u varijanti mikorize manji u odnosu na kontrolu. S druge strane, veća je masa grozda i bobice, što dovodi do zaključka da je povećan prosječan broj bobica po grozdu. Upravo zbog toga je i veći udio kože u odnosu na meso. To je bilo i očekivano jer zbog boljeg usvajanja hranjiva, naročito fosfora, bolja je oplodnja kod mikoriziranih trsova. Sukladno tome, povećava se udio kože i peteljke u bobici. Pozitivan učinak povećanja udjela kože pozitivno se očituje na grupe spojeva locirane u kožici bobice - polifenolne i aromatske spojeve.

3.3. Utjecaj ektomikorize na kemijski sastav grožđa

Tablica 6. Kemijski sastav grožđa, Cabernet sauvignon, Jazbina, 2014. g.

Cabernet sauvignon, Jazbina, 2014. g.		
	šećer (Oe°)	kiseline (g/L)
KONTROLA	77	12,9
MIKORIZA	83	14,2

U tablici 6 uočava se kako je mikoriza utječući na povećanje gotovo svih parametara prinosa (osim udjela mesa) utjecala i na očekivano smanjenje koncentracije šećera. Iako je koncentracija šećera na donjoj granici prihvatljivosti za Cabernet sauvignon, mikoriza je svejedno utjecala na povećanje sadržaja šećera u odnosu na kontrolu, te ovim primjerom još jednom pokazala da čak i u klimatski nepogodnijoj vinogradarskoj godini donosi pozitivne učinke.

Razina ukupne kiselosti pokusnih i mikoriziranih varijanti bila je vrlo visoka. Uzevši u obzir da se razina ukupne kiselosti kod Cabernet sauvignona u pravilu kreće oko 7 g/L može se zaključiti da su dobivene vrijednosti daleko iznad prosjeka. Klimatski iznimna i vrlo

nepogodna vinogradarska godina te tretman mikorizom utjecali su na ove iznadprosječne rezultate koji su vrlo nepoželjni.

Rezimirajući rezultate sadržaja šećera i ukupnih kiselina, dolazi se do zaključka da je grožđe s mikoriziranih trsova doseglo veći stupanj zrelosti na što ukazuje sadržaj šećera. No, s druge strane, mikoriza je utjecala i na veći sadržaj ukupne kiselosti koji se u ovom slučaju može objasniti izuzetno nepovoljnim klimatskim uvjetima vinogradarske godine. Uz specifičnu godinu, povećanje količine lisne mase uslijed bolje ishranjenosti i kondicije trsova također je dovelo do povećane tvorbe organskih kiselina, posebice jabučne.

3.4. Utjecaj ektomikorize na sadržaj pojedinačnih organskih kiselina

Dominantne organske kiseline u vinu su vinska, jabučna i limunska. U manjoj mjeri zastupljene su jantarna, glikolna, oksalna, glukonska i glukuronska kiselina. Promjenom sadržaja bilo koje od njih, a naročito vinske i jabučne, dovodi se do osjetnih promjena u kiselosti mošta.

Tablica 7. Pojedinačne organske kiseline, Cabernet sauvignon, Jazbina, 2014. g.

Cabernet sauvignon, Jazbina, 2014. g.		
	KONTROLA	MIKORIZA
vinska	6,90	6,69
jabučna	2,09	2,37
limunska	0,19	0,19

Uzmemo li u obzir da se u pravilu kreće u granicama od 1-8 g/l, razina vinske kiseline u našem je istraživanju bila povišena. Međutim, tretman mikorizom u ovom slučaju je utjecao na njeno smanjenje budući da je ona pala sa 6,90 g/l na 6,69 g/l. S obzirom da je vinska kiselina najjača među najzastupljenijim organskim kiselinama u grožđu, moštu i vinu ona je odgovorna i za osnovni okus kiselosti te o njenom prisustvu ovisi realni aciditet (pH) mošta. Stvara se u mladim organima te se količina smanjuje tijekom dozrijevanja prelaskom u tartarate. U punoj je zrelosti gotovo i nema u slobodnoj formi budući da se veže na ione metala. Naime, mikoriza pospješuje usvajanje mineralnih tvari, a time i njeno pojačano vezanje u tartarate, čime možemo objasniti nižu koncentraciju slobodne vinske kiseline u grožđu mikoriziranih trsova.

Jabučnu kiselinu bobica grozda najviše iskorištava kao organski materijal u respiracijskim procesima. Dok je bobica zelena sadržaj ove kiseline kreće se od 15-25 g/l, u razdoblju pune zrelosti 3-6 g/l. U grožđu i moštu više se nalazi u obliku svojih soli – malata (Zoričić, 2005). Jabučna kiselina nastaje u vrijeme razvoja vegetacije u mladim zelenim listovima. Bolja ishranjenost biljke uzrokovana mikorizom, veća otpornost na bolesti i štetnike te hormoni rasta koje luče gljive također potiču na rast i grananje. Na taj način utječu na veću količinu lisne mase čime u konačnici dolazi do veće koncentracije jabučne kiseline. Zoričić (2005) također navodi kako jabučna kiselina iz mošta prelazi u vino, tako da će u godinama nepovoljnim za dozrijevanje grožđa vino biti bogatije tom kiselinom. Vina sjevernih vinogradarskih krajeva također imaju povećanu koncentraciju jabučne kiseline. Navedena kiselina u vinu je nepostojana jer podliježe pretvorbi u blažu i okusom ugodnu mliječnu kiselinu. Tu pretvorbu nazivamo malolaktičnim vrenjem ili biološkim smanjenjem kiseline.

Limunska kiselina nalazi se u moštu i vinu u manjoj količini od vinske i jabučne. Tijekom razvoja bobice i sazrijevanja grožđa sadržaj limunske kiseline se mnogo ne mijenja i kreće se u prosjeku od 0,3-0,8 g/l. U našem istraživanju sadržaj limunske kiseline je nešto niži, oko 0,2 g/l te se nije razlikovao među varijantama pokusa.

3.5. Utjecaj ektomikorize na sadržaj ukupnih fenola u grožđu

Polifenoli su organski spojevi koji na aromatskom benzenskom prstenu imaju OH – skupinu – slabe su kiseline. Riječ je o skupini spojeva koje sadržava grožđe iz kojeg prelaze u mošt i vino (Zoričić, 2005). Ukupnom zastupljenošću, polifenoli zauzimaju značajan dio kemijskog sastava grožđa. To su molekule biljnog podrijetla koje preradom grožđa, ovisno o tehnologiji, prenose se u vino i tako sudjeluju u stvaranju kompleksnih spojeva koji svojim fizikalno-kemijskim karakteristikama utječu na kakvoću vina. Njihove koncentracije ovise o sortimentu, stupnju zrelosti, ekološkim uvjetima uzgoja, primijenjenim agrotehničkim i ampelotehničkim zahvatima u vinogradu, te procesima tijekom vinifikacije. Polifenolni sastav grožđa i vina predmet su brojnih istraživanja zbog velikog utjecaja polifenola na organoleptička svojstva vina. U samom grožđu, količina ukupnih polifenola je viša, nego u vinu. Tradicionalnim postupcima vinifikacije ekstrahira se maksimalno 60% fenola koji su prisutni u grožđu. U kožici bobice crnog grožđa nalazi se 50%, dok je kod bijelog prisutno 25% ukupne količine fenola (Tupajić, 2012).

Tablica 8. Koncentracija ukupnih fenola u grožđu Cabernet sauvignona (mg/kg), Jazbina, 2014. g.

Cabernet sauvignon, Jazbina, 2014. g.	
	Ukupni fenoli mg/kg SVJEŽEG UZORKA
KONTROLA	3019,75
MIKORIZA	3134,27

Tablica 8 prikazuje rezultate koncentracije ukupnih fenola u svježem uzorku grožđa iz kojih je vidljiv pozitivan učinak mikorize na sadržaj ovih spojeva. Naime, koncentracija ukupnih fenola povećala se u odnosu na kontrolu. Povećanje koncentracije polifenola u svakom je slučaju poželjna karakteristika budući da njihovo povećanje pozitivno utječe na stabilnost i čuvanje vina, na njegovu boju, miris i okus.

3.6. Utjecaj ektomikorize na sadržaj antocijana u grožđu

Antocijani su organske tvari boje crnoga (crvenoga) grožđa i cvijeća. Nakupljanje antocijana u kožici bobici praćeno je nakupljanjem šećera te raste jednu desetinu dnevno u odnosu na ukupnu količinu tijekom dozrijevanja grožđa. Količina antocijana nakupljenih u kožici bobice utječe na jačinu obojenosti crnog vina te se razlikuje od kultivara do kultivara. Uz to, na količinu antocijana utječe i dozrelost grožđa, koja je povezana s vremenskim (ne)prilikama, odnosno klimom, posebice u tijeku dozrijevanja grožđa, zatim tlom te položajem vinograda. Isto tako, boja je jače izražena pri nižem pH. Značajno je naglasiti i kako su molekule antocijana poprilično nestabilne, u nekim uvjetima mogu se očuvati, u drugima degradirati ili kondenzirati s drugim spojevima vina. Na očuvanje i/ili degradaciju antocijana, kako je i prije spomenuto, utječe osim pH i SO₂ temperatura, etanol, metanol, aceton i dr. Boja crnih vina ovisi o količini i obliku antocijana.

Tablica 9. Koncentracija ukupnih antocijana u grožđu Cabernet sauvignona (mg/kg), Jazbina, 2014. g.

Cabernet sauvignon, Jazbina, 2014. g.	
	Ukupni antocijani mg/kg SVJEŽEG UZORKA
KONTROLA	89,07
MIKORIZA	82,10

U tablici 9 prikazane su vrijednosti antocijana u svježem uzorku. Iz rezultata je vidljivo kako se količina antocijana smanjila u tretmanu mikorizom. Budući da je mikoriza utjecala na povećanje prinosa, povećao se i udio mesa u odnosu na kožicu, što je moglo biti uzrokom smanjenja koncentracije antocijana. Isto tako, smanjenje količine antocijana može biti pitanje godine, koja je bila vrlo specifična s velikom količinom padalina. S druge strane, povećanje udjela kožice trebalo bi voditi većoj koncentraciji i fenola i antocijana. Po pitanju fenola rezultati su kontradiktorni s obzirom da je veća koncentracija ukupnih fenola u odnosu na kontrolu.

4. ZAKLJUČAK

Na temelju provedenog istraživanja o utjecaju mikorize na mehanički i kemijski sastav grožđa kultivara Cabernet sauvignon, 2014. godine, mogu se donijeti sljedeći zaključci:

1. Mikoriza je utjecala na povećanje prosječne mase grozda.
2. Mikoriza je utjecala na povećanje prosječnog prinosa po trsu.
3. Mikoriza je utjecala na povećanje prosječne mase bobice.
4. Mikoriza je utjecala na smanjenje udjela (%) mesa, te povećanje udjela kože i peteljke.
5. Mikoriza je utjecala na povećanje sadržaja šećera i kiselina, te fenolnog sastava grožđa.
6. Mikoriza je utjecala na smanjenje koncentracije antocijana u grožđu.

Navedeni rezultati nam potvrđuju činjenicu da mikoriza utječe na bolju ishranjenost i mineralizaciju organske tvari, veću mogućnost preživljavanja biljke u nepogodnim uvjetima klime i tla te brojne druge prednosti navedene u prethodnom tekstu. Rezultat toga u konačnici je veći prinos i kvaliteta finalnog proizvoda. Naime, kako se radi o rezultatima jednogodišnjeg istraživanja, iste nije moguće smatrati u potpunosti relevantnima. Da bi rezultati bili sigurniji i pouzdaniji, istraživanje je potrebno provesti tijekom više proizvodnih godina, u više proizvodnih područja i na više različitih kultivara vinove loze.

5. LITERATURA

1. Aguin O., Mansilla J.P., Vilarino A., Sainz M.J. (2004). Effects of mycorrhizal inoculation on root morphology and nursery production of three grapevine rootstocks. *American Journal of Enology and Viticulture*. 55:1
2. Azcon-Aguilar C., Barea J.M. (1997). Applying mycorrhiza biotechnology to horticulture: significance and potentials. *Scientia Horticulturae*. 68: 1-24
3. Barea J. M. (1991). Vesicular – arbuscular mycorrhizae as modifiers of soil fertility. In: B.A. Stewart (Editor), *Advances in Soil Science*. Springer-Verlag, New York, pp. 1-40.
4. Brundrett M.C. (2004). Diversity and classification of mycorrhizal associations. *Biol. Rev.* 79, 473-495.
5. Dolanjski D., Stričević I. (1996). Uređenje vodnog režima tla nastavno pokusnog objekta "Jazbina".
6. Jeromel A. (2015). Interna skripta vježbe
7. Lazarević J.S. (2013). Ektomikoriza četinarskih vrsta drveća u Crnoj gori sa posebnim osvrtom na mikorizu munike – *Pinus heldreichii* christ. Doktorska disertacija. Šumarski fakultet, Beograd.
8. Licul R., Premužić D. (1985.). *Praktično vinogradarstvo i podrumarstvo*. Nakladni zavod Znanje, Zagreb.
9. Maletić E., Pejić I., Karoglan Kontić J. (2008). *Vinova loza – Ampelografija, ekologija, oplemenjivanje*. Školska knjiga, Zagreb.
10. Mirošević N., Karoglan Kontić J. (2008). *Vinogradarstvo*. Nakladni zavod Globus, Zagreb.
11. Mirošević N., Turković Z. (2003). *Ampelografski atlas*. Golden marketing – Tehnička knjiga, Zagreb.
12. Ozdemir G., C. Akpinar C., Sabir A., Bilir H., Tangolar S., Ortas I. (2010). *European Journal of Horticultural Science*. Vol. 75, No. 3 pp. 103-110

13. Pajač Živković I., Britvec M., Pajač M., Vitasović Kosić I., Karoglan Kontić J., Ostojić Z., Ljubičić I. (2012) Samonikla flora pokušališta „Jazbina“ u Zagrebu. *Agronomski glasnik* 4, ISSN 0002-1954.
14. Schreiner R.P. (2003). Mycorrhizal colonization of grapevine rootstocks under field conditions. *American Journal of Enology and Viticulture*. 54: 143-149
15. Škorić A. (1982). Priručnik za pedološka istraživanja. Sveučilišna naknada Liber, Zagreb.
16. Škorić A. (1977). Tipovi naših tala. Sveučilišna naknada Liber, Zagreb.
17. Šolić M. (2005). Ekologija – interna skripta studija Biologija i ekologija mora, Split.
18. Tupajić P. (2012). Uvod u tehnologiju proizvodnje grožđa i vina, interna skripta. Agronomski fakultet, Zagreb.
19. Zoričić M. (2005). Domaće vino: bijelo, ružičasto, crno. *Gospodarski list*, Zagreb
20. http://www.agr.unizg.hr/hr/category/poku%C5%A1ali%C5%A1te_jazbina/60
Pristupljeno: 10. travnja 2016.
21. <http://alternativa-za-vas.com/index.php/clanak/article/mikoriza> Pristupljeno: 21. veljače 2016.
22. <http://www.bio-buducnost.com/mikoriza.html> Pristupljeno: 21. veljače 2016.
23. <http://www.bio-buducnost.com/mikorizavinovaloza.pdf> Pristupljeno: 3. ožujka 2016.
24. <http://blog.vino.hr/archives/2180> Pristupljeno: 19. travnja 2016.
25. <https://bs.wikipedia.org/wiki/Mikoriza> Pristupljeno: 1. travnja 2016.
26. <http://www.gnojidba.info/mikoriza-2/mikoriza-u-uzgoju-povrca-iii/> Pristupljeno: 22. veljače 2016.
27. <http://www.gospodarski.hr/Publication/2015/7/mikoriza-i-cijepljenje-povean-prinos-povra/8208#.VyOmyjCLTIU> Pristupljeno: 25. veljače 2016.
28. http://www.medp.unist.hr/moduli/pedologija/predavanja/Antropogena_tla.pdf
Pristupljeno: 4. travnja 2016.
29. <http://meteo.hr/> Pristupljeno: 25. svibnja 2016.

30. http://www.moulis.hr/moulis_hr/project/mikoriza/ Pristupljeno: 8. svibnja 2016.
31. <http://www.nature.com/subjects/arbuscular-mycorrhiza> Pristupljeno: 12. travnja 2016.
32. http://pinova.hr/hr_HR/katalog-proizvoda/mjerni-instrumenti/instrumenti-za-odredivanje-stupnja-zrelosti-voca-i-povrca/refraktometri Pristupljeno: 5. svibnja 2016.
33. <http://www.savjetodavna.hr/savjeti/16/683/mikoriza-nova-tehnologija-u-poljoprivredi/> Pristupljeno: 3. travnja 2016.
34. <http://www.sraspopovic.com/Baza%20znanja%20dokumenti/Polj.i%20prehr/IV%20razred/vinarstvopraktikum.pdf> Pristupljeno: 29. ožujka 2016.
35. <http://vinopedia.hr/wiki/index.php?title=Hrvatska> Pristupljeno: 13. svibnja 2016.
36. https://hr.wikipedia.org/wiki/Teku%C4%87inska_kromatografija_visoke_djelotvornosti Pristupljeno: 2. svibnja 2016.
37. <http://www.wineland.co.za/technical/why-is-mycorrhiza-important-for-grapevines> Pristupljeno: 13. svibnja 2016.

POPIS SLIKA

Slika 1. Mikroskopski prikaz mikorize. http://www.greenfaber.eu/LG_Descrizione_it.htm Pristupljeno: 07. svibnja 2016.

Slika 2. Cabernet sauvignon crni. <http://www.njuskalo.hr/literatura-knjige/ampelografski-atlas-ii-dio-zdenko-turkovic-greta-turkovic-oglas-15417517> Pristupljeno: 3. lipnja 2016.

Slika 3. Mikorizirani redovi, Jazbina 2014. (Izvor: Antonela Mršić)

Slika 4. Mjerenje grozdova za uvometrijsku analizu grozda i bobice. (Izvor: Antonela Mršić)

Slika 5. Metoda direktne titracije. (Izvor: Antonela Mršić)

ŽIVOTOPIS

Antonela Mršić rođena je 13. lipnja 1992. u Zadru. Osnovnu školu završila je u Biogradu na Moru (Osnovna škola Biograd), a srednju školu također u Biogradu na Moru (Srednja škola Biograd na Moru; Opća gimnazija). U 2011. godini upisuje se na Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, preddiplomski smjer Hortikulture, koji je završila 2014. godine i time stekla naziv sveučilišna prvostupnica inženjerka Hortikulture. Iste godine, upisuje diplomski studij usmjerenja Vinogradarstvo i vinarstvo.