

# Utjecaj različitih termina djelomične defolijacije na sastav i sadržaj hlapljivih i polifenolnih spojeva u grožđu sorte "Merlot" (*Vitis vinifera* L.)

---

Anić, Marina

Doctoral thesis / Disertacija

2023

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:204:603969>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-06-28**



Repository / Repozitorij:

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





Sveučilište u Zagrebu

Agronomski fakultet

Marina Anić

**UTJECAJ RAZLIČITIH TERMINA  
DJELOMIČNE DEFOLIJACIJE NA  
SASTAV I SADRŽAJ HLAPLJIVIH I  
POLIFENOLNIH SPOJEVA U GROŽĐU  
SORTE 'MERLOT' (*Vitis vinifera* L.)**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2023



University of Zagreb

Faculty of Agriculture

Marina Anić

**EFFECT OF TIMING OF LEAF REMOVAL  
ON VOLATILE AND POLYPHENOLIC  
CONTENT AND COMPOSITION OF VITIS  
VINIFERA CV. MERLOT GRAPEVINES**

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2023



Sveučilište u Zagrebu

Agronomski fakultet

Marina Anić

**UTJECAJ RAZLIČITIH TERMINA  
DJELOMIČNE DEFOLIJACIJE NA  
SASTAV I SADRŽAJ HLAPLJIVIH I  
POLIFENOLNIH SPOJEVA U GROŽĐU  
SORTE 'MERLOT' (*Vitis vinifera* L.)**

DOKTORSKI RAD

Mentor:  
prof.dr.sc. Marko Karoglan

Zagreb, 2023



University of Zagreb

Faculty of Agriculture

Marina Anić

**EFFECT OF TIMING OF LEAF REMOVAL  
ON VOLATILE AND POLYPHENOLIC  
CONTENT AND COMPOSITION OF VITIS  
VINIFERA CV. MERLOT GRAPEVINES**

DOCTORAL THESIS

Supervisor:  
prof.dr.sc. Marko Karoglan

Zagreb, 2023

## Bibliografska stranica

### Bibliografski podaci

- Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
- Znanstveno polje: Poljoprivreda (agronomija)
- Znanstvena grana: Vinogradarstvo i vinarstvo
- Institucija: Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zavod za vinogradarstvo i vinarstvo
- Voditelj doktorskog rada: prof.dr.sc. Marko Karoglan
- Broj stranica: 144
- Broj slika: 14
- Broj tablica: 15
- Broj grafikona: 6
- Broj priloga: 8
- Broj literaturnih referenci: 278
- Datum obrane doktorskog rada: 22.09.2023.
- Sastav povjerenstva za obranu doktorskog rada:
  1. prof.dr.sc. Bernard Kozina, Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet
  2. izv.prof.dr.sc. Željko Večenaj, Sveučilište u Zagrebu Prirodoslovno-matematički fakultet
  3. dr.sc. Mirela Osrečak, Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet

### Rad je pohranjen u:

- Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, Ulica Hrvatske bratske zajednice 4 p.p. 550, 10 000 Zagreb
- Knjižnici Sveučilište u Zagrebu Agronomskog fakulteta, Svetošimunska cesta 25, 10 000 Zagreb.

Tema rada prihvaćena je na sjednici Fakultetskog vijeća Sveučilište u Zagrebu Agronomskog fakulteta, održanoj dana 07.05.2019., te odobrena na sjednici Senata Sveučilišta u Zagrebu, održanoj dana 09.07.2019. u 350. akademskoj godini (2018./2019.) (Klasa 643-03/19-08/21; Ur.broj:380-130/134-21-2).

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja, **Marina Anić**, izjavljujem da sam samostalno izradila doktorski rad pod naslovom:

**UTJECAJ RAZLIČITIH TERMINA DJELOMIČNE DEFOLIJACIJE NA SASTAV I  
SADRŽAJ HLAPLJIVIH I POLIFENOLNIH SPOJEVA U GROŽĐU SORTE 'MERLOT'  
(*Vitis vinifera* L.)**

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica ovog doktorskog rada;
- da je doktorski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u izradi istoga nisam koristila drugim izvorima osim onih koji su u njemu navedeni;
- da sam upoznata s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19)

Zagreb, \_\_\_\_ . \_\_\_\_ . \_\_\_\_ . godine

---

Marina Anić

## Ocjena doktorskog rada

Ovaj doktorski rad ocijenilo je povjerenstvo u sastavu

1. prof.dr.sc. Bernard Kozina

*Redoviti profesor u trajnom zvanju Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu*

2. izv.prof.dr.sc. Željko Večenaj

*Izvanredni profesor Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu*

3. dr.sc. Mirela Osrečak

*Znanstveni suradnik Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu*

Doktorski rad obranjen je na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, 22.09.2023. godine pred povjerenstvom u sastavu:

1. prof.dr.sc. Bernard Kozina

---

*Redoviti profesor u trajnom zvanju Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu*

2. izv.prof.dr.sc. Željko Večenaj

---

*Izvanredni profesor Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu*

3. dr.sc. Mirela Osrečak

---

*Znanstveni suradnik Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu*



## Informacije o mentoru

prof.dr.sc. Marko Karoglan

Marko Karoglan rođen je 24. rujna 1976. godine u Dubrovniku. Nakon završene Opće gimnazije u Dubrovniku 1995. godine, upisuje Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Smjer Voćarstvo, vinogradarstvo i vinarstvo. Diplomirao je 2000. godine na istom fakultetu, na Zavodu za vinogradarstvo i vinarstvo, gdje iste godine počinje i raditi na mjestu znanstvenog novaka. Odmah upisuje i poslijediplomski studij na Agronomskom fakultetu u Zagrebu, smjer Bilinogojstvo. Magistarski rad naslova 'Utjecaj djelomične defolijacije na dozrijevanje grožđa i kakvoću vina cv. Traminac mirisavi (*Vitis vinifera* L.)' obranio je 17. prosinca 2004. godine. Doktorsku dizertaciju naslova 'Utjecaj dušične gnojidbe na kemijski sastav mošta i vina sorti Graševina, Chardonnay i Rizling rajnski (*Vitis vinifera* L.)' obranio je 18. lipnja 2009.

U znanstveno-nastavno zvanje docenta izabran je 15. lipnja 2011., a u znanstveno-nastavno zvanje izvanrednog profesora 5. travnja 2017. godine. U znanstveno-nastavno zvanje redovitog profesora izabran je 11. rujna 2022.

U sadašnjem sustavu obrazovanja aktivno sudjeluje kao nositelj ili suradnik na modulima 'Vinogradarstvo 2', 'Osnove voćarstva i vinogradarstva', 'Osnove vinogradarstva' i 'Predikatna, pjenušava i specijalna vina' na prediplomskom studiju (Bs), te 'Tehnologija proizvodnje grožđa', 'Table grape production' i 'Proizvodnja stolnog grožđa' na diplomskom studiju (Ms). Suradnik je na poslijediplomskom doktorskom studiju Poljoprivredne znanosti, na modulu 'Ampelofiziologija'.

Od trenutka zapošljavanja aktivno sudjeluje u znanstveno-istraživačkom radu te popularizaciji struke. Bio je voditelj projekta Ministarstva poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja RH 'Muškati ruža porečka- desertno vino', te više stručnih projekata. Sudjelovao je u realizaciji više znanstvenih projekata kao što su 'Vinogradarstvo i klimatske promjene na području Hrvatske', 'Potencijal polifenolnih spojeva sorti vinove loze', 'Ampelografska i genetička evaluacija autohtonih soata vinove loze' te 'Solarizacija vinove loze'. Osim toga, sudjeluje u provedbi europskih kompetitivnih projekata 'Procjena tolerantnosti hrvatske germplazme vinove loze na sušu' i 'CroViZone- Prilagodba vinogradarskih zona RH klimatskim promjenama'.

Od 2006. godine član je Povjerenstva za organoleptičko ocjenjivanje vina i voćnih vina. Član je Stručne skupine u potkomisiji OIV-a (Organization International du Vigne et du Vin) za stolno i sušeno grožđe i nefermentirane proizvode, Komisije za vinogradarstvo. Član je Hrvatskog enološkog društva i Hrvatskog agrometeorološkog društva.

## Zahvala

Od srca bi se htjela zahvaliti svima onima koji su pomogli u stvaranju ovoga doktorskog rada i bili tu uz mene te su ovo putovanje učinili lakšim i zabavnijim.

Htjela bih zahvaliti svim kolegama i kolegicama sa Zavoda za vinogradarstvo i vinarstvo što su me svakodnevno uveseljavali svojim društvom te mi dali lijepe trenutke i uspomene na mnogim terenskim putovanjima.

Zahvalila bi se prof.dr.sc. Bernardu Kozini na beskrajnoj pomoći, nesebičnim savjetima i idejama te velikoj stručnosti. Od prvog ste me dana pratili i bili velika podrška u svemu što sam radila i na tome vam od srca hvala.

Zahvalila bi se i izv.prof.dr.sc. Željku Večenaju na uloženom trudu i pomoći oko provedbe pokusa i pisanju rada. Hvala puno i dr.sc. Mireli Osrečak na pomoći i savjetima oko doktorskog rada, ali i lijepom i zabavnom društvu na mnogim terenskim putovanjima. Hvala i prof.dr.sc. Darku Preineru i izv.prof.dr.sc. Željku Andabaki na pomoći oko statistike.

Hvala i mojim cimericama- Petri, Ivi, Neri i Valentini, koje su mi zadnje mjesece pisanja rada učinile beskrajno veselijim i lakšim. Hvala vam što ste bile tu da me dižete kada sam loše volje, da me poslušate, da se zajedno nasmijemo i zabavimo. Hvala i pridruženim članovima Marinu i Zvezdani na zabavljanju i ohrabrivanju.

Hvala mom mentoru, prof.dr.sc. Marku Karoglanu, prije svega što si imao vjere u mene te me izabrao za svoju asistenticu. Hvala ti na pomoći, savjetima i idejama u svim dijelovima mojeg doktorskog putovanja. Hvala ti na stručnim savjetima, ali i na podršci te što si uvijek imao otvorena vrata i vremena za sve moje nedoumice i pitanja.

Hvala mojim roditeljima koji su mi oduvijek bili neizmijerna podrška i poticaj te su mi pokazali da se sve može postići radom i trudom.

I na kraju, ali najvažnije, najveća hvala ide mojoj maloj obitelji, Anti i Danijelu, bez kojih sve ovo nebi imalo nikakvog smisla i kojima dugujem sve ono što jesam danas. Ante, hvala ti na strpljivosti, razumijevanju, razgovorima i podršci koju si imao za mene kroz sve ove godine. Volim vas najviše.

## SAŽETAK

Prinos i kvaliteta grožđa ovise o postizanju odgovarajuće ravnoteže između opterećenja trsa i izloženosti sunčevoj svjetlosti, što je bitan uvjet za dobivanje odgovarajućeg fenolnog i aromatskog profila grožđa. Povećanje izloženosti grožđa sunčevoj svjetlosti povezano je s poboljšanjem kvalitete grožđa, te može dovesti do povećanja sadržaja šećera, polifenolnih i hlapljivih spojeva te smanjenja ukupne kiselosti i sadržaja jabučne kiseline u grožđu. Djelomična defolijacija u zoni grožđa često je korištena ampelotehnička mjera u vinogradu u cilju poboljšanja mikroklimata trsa te povećanja kvalitete grožđa. Termin provođenja zahvata djelomične defolijacije igra veliku ulogu u sintezi različitih polifenolnih i hlapljivih spojeva u grožđu, s obzirom na to da se oni u bobici sintetiziraju u različito vrijeme tijekom dozrijevanja grožđa. Utjecaj različitih termina djelomične defolijacije na sastav i sadržaj hlapljivih organskih spojeva u crnim sortama grožđa slabo je istražen. U kontekstu klimatskih promjena, kada visoke temperature i intenzivno sunčevo osvjetljenje u zoni grozdova dovode do ožegotina na bobicama i inhibicije sinteze polifenolnih spojeva, te dovode do modifikacije hlapljivih spojeva, nužno je istražiti i ranije termine provođenja djelomične defolijacije, a sve u cilju što bolje prilagodbe recentnim klimatskim promjenama.

S obzirom na navedeno, provedeno je dvogodišnje istraživanje (2018./2019.) na sorti 'Merlot' (*Vitis vinifera* L.) uzgajanoj u zagrebačkom vinogorju, u kontinentalnim klimatskim uvjetima, kako bi se proučili učinci djelomične defolijacije na mikroklimat trsa te procijenila opravdanost različitih termina provedbe zahvata djelomične defolijacije s obzirom na hlapljive i polifenolne spojeve grožđa. Djelomična defolijacije izvedena je u četiri termina- prije cvatnje, u vrijeme zametanja bobica, u vrijeme zatvaranja grozdova te na početku šare grožđa. Meteorološki podaci mezoklimata vinograda i mikroklimata trsa (temperatura, UV zračenje i relativna vlažnost zraka zone grožđa) snimljeni su simultano na meteorološkoj stanici instaliranoj unutar vinograda.

Djelomična defolijacije utjecala je na mikroklimat trsa, povećanjem UV zračenja unutar zone grožđa. Poboljšanjem uvjeta mikroklimata trsa, djelomična defolijacija utjecala je na povećanje sadržaja polifenolnih spojeva- antocijana, flavonola, flavan-3-ola i hidroksicimetnih kiselina te na smanjenje sadržaja nepoželjnih hlapljivih C6 spojeva u grožđu, koji daju zelene i vegetalne arome. Djelomična defolijacija nije utjecala na omjer lisne površine i prinosa te rodnost pupova. Djelomična defolijacija prije cvatnje utjecala je na smanjenje prinosa, mase grozda i mase bobice, zbog uklanjanja fotosintetski aktivnog lišća u vrijeme velike potrebe za asimilatima, ali samo jedne godine istraživanja. Tretmani djelomične defolijacije provedene nakon cvatnje utjecali su na smanjenje sadržaja ukupnih kiselina u grožđu. Djelomična defolijacija u vrijeme zametanja bobica i zatvaranja grozdova nije utjecala na sadržaj šećera u grožđu, dok je djelomična defolijacija provedena na početku šare dovela do povećanja sadržaja šećera u grožđu u usporedbi s kontrolom.

Modifikacijom mikroklimatskih uvjeta trsa može se značajno poboljšati polifenolni i hlapljivi sastav grožđa, a samim time i pridonijeti kvaliteti grožđa. Ovi rezultati otkrili su značajnu razliku u učinkovitosti uklanjanja lišća na sadržaj polifenolnih spojeva u grožđu u različitim klimatskim uvjetima tijekom rasta bobica i dozrijevanja grožđa te su pokazali da je djelomična defolijacija imala veći utjecaj na polifenolni sastav grožđa u sezoni s hladnijim uvjetima dozrijevanja grožđa. Raniji termini defolijacije pokazali su pozitivne učinke na kvalitetu grožđa sorte 'Merlot' uzgajanom u kontinentalnim uvjetima Hrvatske, ali posebnu pozornost treba posvetiti klimatskim uvjetima sezone.

**Ključne riječi:** djelomična defolijacija, antocijani, polifenolni spojevi, hlapljivi spojevi, mikroklimat trsa, UV zračenje

## EXTENDED SUMMARY

### EFFECT OF TIMING OF LEAF REMOVAL ON VOLATILE AND POLYPHENOLIC CONTENT AND COMPOSITION OF VITIS VINIFERA CV. MERLOT GRAPEVINES

Temperature and sunlight intensity are the main ecological conditions that influence the biochemical pathways of the grapes, with sunlight exposure been associated with an improvement in grape quality, resulting in grapes that are richer in soluble solids, phenolic and volatile organic compounds, especially anthocyanins and terpenes, and lower titratable acidity. The intensity and quality of sunlight exposure, especially UV radiation and the complex interaction with temperature affect the biosynthesis of various phenolic and volatile compounds- proanthocyanidins, anthocyanins, flavonols, terpenes- by altering their gene expression.

Leaf removal in the cluster zone is one of the commonly applied viticultural practices used to increase light penetration and to decrease humidity in dense foliage. The timing of leaf removal plays a major role in the synthesis of different polyphenolic and volatile compounds in grapes, since they are synthesized at different times during berry ripening. The influence of timing of leaf removal on the content and composition of volatile compounds in red grape varieties is poorly investigated.

Today's viticulture and wine production is facing new challenges in terms of climate change. Climatic changes can affect the relationship between the variety and its environmental conditions, thereby changing the time of occurrence of certain phenophases and the quantity and quality of the grapes. Considering the above, it is necessary to investigate earlier timings of leaf removal and its effect on the grape volatile and phenolic content, in order to better adapt to recent climate changes.

Due to above, two- year study (2018/2019) has been carried out on the 'Merlot' variety grown in the vineyard in the continental part of Croatia, Zagreb vineyard hills, to study the effects of basal leaf removal on canopy microclimate and to evaluate the justification of the different timings of leaf removal in relation to the volatile and phenolic profile of grape variety 'Merlot' (*Vitis vinifera* L.). Meteorological data of mesoclimatic measurements of the vineyard and microclimatic measurements of the vine (canopy temperature, UV radiation and relative humidity) were recorded simultaneously at the meteorological station installed inside the vineyard.

The first chapter, *Introduction*, focuses on the problem of research on climate influence on the chemical composition of grapes, which is sometimes difficult to interpret, because climate implies a large number of environmental conditions (temperature, humidity, rainfall, sunlight), each of which plays an important role in the growth and development of vines and grapes. Furthermore, the amount of phenolic and volatile compounds and their precursors varies within and between climate zones. Topographic characteristics of the vineyard, such as elevation, slope, and exposure of the terrain, as well as the orientation of vine rows in the vineyard, vigor of the vineyard, and different viticultural practices, can result in great variability in microclimatic conditions, especially the quality and intensity of sunlight. The hypotheses that were established and tested in this study are: (1) early leaf removal will reduce the yield and the content of total acids and increase of sugar content in the grapes of the 'Merlot' variety, (2) early leaf removal will increase the content of polyphenolic and volatile compounds in 'Merlot' grapes in compare to control treatment.

The second chapter, *Overview of the Previous Research*, starts with the overview of the berry development and the timing of synthesis of different secondary metabolites. Phenolic and volatile composition (anthocyanins, flavonols, flavan-3-ols, stilbenes, terpenes, volatile acids, alcohols and carbonyls) of the grape skins and their contribution to the grape quality are also reviewed. The main part of the chapter focuses on related research on the microclimate of the vines and their influence on the grape quality.

Previous research showed that microclimatic conditions within the grapevine canopy-temperature and solar radiation, are important parameters that directly regulate grape ripening parameters: sugars, organic acids and secondary metabolites. UVB radiation is important for the chemical composition and quality of grapes, since some phenolic and volatile compounds have the function of absorbing and screening UVB radiation and protecting the plant from its harmful effects. Solar radiation has been reported to increase sugar content and pH in grape juice and increase phenolic and volatile content in grapes. It is therefore important to evaluate different canopy manipulation treatments and their effects on grape microclimatic conditions, as they may contribute to the accumulation of numerous chemical components, especially the phenolic and volatile content of grapes. Leaf removal in the cluster zone is a common canopy management practice used to manipulate microclimate of grapevines by increasing light penetration and temperature in the fruiting zone and reducing canopy density, which affects relative humidity and reduces the incidence of pests and diseases. By improving microclimatic conditions and balancing the ratio of older, less photosynthetically active leaves to younger, more photosynthetically active leaves, basal leaf removal can improve grape and wine composition by increasing the content of polyphenolic and volatile compounds and reducing titratable acidity.

The third chapter, *Materials and methods*, provides all the information on how the research was conducted. The research was conducted in 2018. and 2019. on the Jazbina experimental field of the Department of Viticulture and Enology, Faculty of Agriculture, University of Zagreb, on the grape variety 'Merlot', planted in 2005. The vineyard is located on the slope with slightly southwestern exposure. The vines were subjected to cultural practices common to continental Croatia. Data for daily air temperatures and precipitation for both seasons were obtained from a weather station located in the vineyard. The experiment was conducted with five treatments; no leaf and lateral shoot removal, basal leaf removal and lateral shoot removal performed before flowering, at berry set, at grape closure and at the beginning of veraison, with 4 basal leaves and all lateral shoots per shoot removed. Leaf removal treatments were repeated on the same vines during the two years. Relative humidity, temperature and UVA+UVB radiation inside the foliage at the cluster level of the control treatment and when leaf removal was performed at berry set were continuously monitored (frequency of 1 second) throughout the growing season. During vegetation, for each vine in the experiment, the number of buds per vine, the number of shoots per vine and the number of fruit bearing shoots per vine were counted, from which the number of clusters per bud, the number of clusters per shoot and the number of clusters per cluster carrying shoot were calculated. The leaf area was calculated on vine basis. Grape harvest was determined by weekly monitoring the content of soluble solids, titratable acidity and pH. Merlot was harvested manually in the morning hours. Yield was measured on the vine basis, together with counting the number of clusters per vine. The grapes from each block of each treatment were manually pressed to obtain the must, from which soluble solids, titratable acidity and pH was measured. Content of phenolic and volatile compounds in grape berry skin was analysed according to the methods of Tomaz and Maslov (2016) and Šikuten et al. (2021), respectively. All data were analyzed using analysis of variance (treatment, year).

In the chapters *Results and Discussion*, all the research results are presented and discussed: weather conditions and phenological phases, canopy microclimatic conditions, vine growth and yield components, soluble solids, titratable acidity and pH at harvest, as well as total phenolic and volatile content of berry skin at harvest. Leaf removal altered microclimate by increasing the UV radiation within the grape zone. By improving the microclimate of the vines, leaf removal increased in the content of polyphenolic compounds - anthocyanins, flavanols, flavan-3-ols and hydroxycinnamic acids. Leaf removal reduced the content of C6 volatile compounds, that give green and vegetal aromas. The ratio of leaf area to yield and bud fruitfulness was not affected by leaf removal.

Early leaf removal (before flowering and at the time of berry setting) increased the content of polyphenolic compounds and decreased the content of volatile C6 compounds in grape skins. Early leaf removal (before flowering) increased the sugar content and reduced the yield of the 'Merlot' variety, but only in one year of research. Leaf removal performed after flowering reduced total acidity in the must. Removal of basal leaves at the time of berry setting and grape closure did not affect the sugar content in the must, while leaf removal carried out at the beginning of the veraison led to an increase in the sugar content in the must compared to the control.

Modification of the canopy microclimate can significantly improve phenolic and volatile composition of the grapes, and therefore contribute to the grape quality. These results revealed important differences in leaf removal efficiency on phenolic content of the grapes in different ecological conditions during ripening, with leaf removal having a higher influence on the grape phenolic content in a season with the cooler grape ripening conditions. Early leaf removal can lead to a positive effect on the quality of 'Merlot' grapes under the environmental conditions in which the present study was undertaken but particular attention has to be given to the ecological conditions of the vegetative season.

**Key words:** leaf removal, anthocyanins, polyphenol compounds, volatile compounds, vine microclimate, UV radiation

## Sadržaj

<b>1. UVOD</b> .....	1
1.1. Hipoteze i ciljevi.....	4
<b>2. PREGLED RELEVANTNE LITERATURE</b> .....	5
2.1. Vinova loza.....	5
2.2. Rast i razvoj bobice .....	7
2.3. Polifenolni spojevi u grožđu.....	9
2.3.1. Flavonoidi.....	10
2.3.2. Fenolne kiseline .....	16
2.3.3. Stilbeni.....	18
2.4. Hlapljivi spojevi u grožđu .....	19
2.4.1. Terpenoidi .....	21
2.4.2. Metoksipirazini .....	24
2.4.3. Tiolni spojevi.....	26
2.4.4. Alifatski spojevi .....	27
2.4.5. Hlapljivi fenoli .....	29
2.5. Klimatske promjene i vinogradarstvo .....	30
2.6. Mikroklimat trsa i njegov utjecaj na sintezu polifenolnih i hlapljivih spojeva u grožđu	34
2.6.1. Sunčevo zračenje i fotosinteza.....	34
2.6.2. UV zračenje .....	38
2.6.3. Temperatura zraka .....	40
2.6.4. Brzina vjetra, relativna vlažnost zraka i evaporacija .....	43
2.7. Utjecaj djelomične defolijacije na mikroklimat trsa te prinos i kemijski sastav grožđa	45
<b>3. MATERIJALI I METODE RADA</b> .....	50
3.1. Proizvodne karakteristike vinogradarskog položaja Jazbina .....	50
3.2. Karakteristike pokusne sorte 'Merlot' ( <i>Vitis vinifera</i> L.) .....	51
3.3. Postavljanje pokusa.....	52
3.4. Karakteristike mezoklimata i mikroklimata .....	52
3.5. Opažanje fenofaza, lisna površina i uzorkovanje grožđa .....	53
3.6. Osnovni kemijski sastav grožđa .....	54
3.7. Analiza polifenolnih spojeva u kožici grožđa .....	54
3.8. Analiza hlapljivih spojeva u kožici grožđa .....	55
3.9. Statistička analiza .....	55
<b>4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA</b> .....	56
4.1. Mezoklimatski uvjeti vinograda i fenofaze vinove loze.....	56
4.2. Mikroklimatski uvjeti trsa.....	58

4.3. Utjecaj termina djelomične defolijacije na rast vinove loze i elemente prinosa.....	63
4.4. Utjecaj termina djelomične defolijacije na osnovni sastav grožđa .....	66
4.5. Utjecaj termina djelomične defolijacije na sastav i sadržaj antocijana te ukupnih polifenola.....	68
4.6. Utjecaj termina djelomične defolijacije na sastav i sadržaj flavonola.....	70
4.7. Utjecaj termina djelomične defolijacije na sastav i sadržaj flavan-3-ola.....	72
4.8. Utjecaj termina djelomične defolijacije na sastav i sadržaj hidroksicimetnih kiselina i resveratrola.....	74
4.9. Utjecaj termina djelomične defolijacije na sastav i zastupljenost hlapljivih terpena ....	76
4.10. Utjecaj termina djelomične defolijacije na sastav i zastupljenost hlapljivih estera ....	78
4.11. Utjecaj termina djelomične defolijacije na sastav i zastupljenost hlapljivih alkohola.	80
4.12. Utjecaj termina djelomične defolijacije sastav i zastupljenost hlapljivih kiselina.....	82
4.13. Utjecaj termina djelomične defolijacije na sastav i zastupljenost karbonilnih spojeva	84
4.14. PCA.....	86
<b>5. RASPRAVA .....</b>	<b>88</b>
5.1. Utjecaj djelomične defolijacije na mikroklimat trsa.....	88
5.2. Utjecaj djelomične defolijacije na rast vinove loze i prinos .....	90
5.3. Utjecaj djelomične defolijacije na osnovni kemijski sastav grožđa.....	92
5.4. Utjecaj djelomične defolijacije na sadržaj polifenolnih spojeva u grožđu .....	94
5.5. Utjecaj djelomične defolijacije na sadržaj hlapljivih spojeva u grožđu .....	99
<b>6. ZAKLJUČCI .....</b>	<b>104</b>
<b>7. POPIS LITERATURE .....</b>	<b>106</b>
<b>8. PRILOZI.....</b>	<b>137</b>



## **POPIS TABLICA**

Tablica 1. Dan u godini koji obilježava početak pojedinih fenofaza sorte 'Merlot', Jazbina, 2018. i 2019. godina

Tablica 2. Srednja dnevna temperatura zraka, Jazbina, 2018. i 2019. godina

Tablica 3. Količina oborina, Jazbina, 2018. i 2019. godina

Tablica 4. Utjecaj termina djelomične defolijacije na rast vinove loze sorte 'Merlot', Jazbina, 2018. i 2019. godina

Tablica 5. Utjecaj termina djelomične defolijacije na elemente prinosa sorte 'Merlot', Jazbina, 2018. i 2019. godina

Tablica 6. Utjecaj termina djelomične defolijacije na osnovni sastav grožđa sorte 'Merlot', Jazbina, 2018. i 2019. godina

Tablica 7. Utjecaj termina djelomične defolijacije na sastav i sadržaj antocijana te ukupnih polifenola sorte 'Merlot', Jazbina, 2018. i 2019. godina

Tablica 8. Utjecaj termina djelomične defolijacije na sastav i sadržaj flavonola sorte 'Merlot', Jazbina, 2018. i 2019. godina

Tablica 9. Utjecaj termina djelomične defolijacije na sastav i sadržaj flavan-3-ola sorte 'Merlot', Jazbina, 2018. i 2019. godina

Tablica 10. Utjecaj termina djelomične defolijacije na sastav i sadržaj hidroksicimetnih kiselina i resveratrola sorte 'Merlot', Jazbina, 2018. i 2019. godina

Tablica 11. Utjecaj termina djelomične defolijacije na sastav i zastupljenost hlapljivih terpene te sorte 'Merlot', Jazbina, 2018. i 2019. godina

Tablica 12. Utjecaj termina djelomične defolijacije na sastav i zastupljenost hlapljivih estera sorte 'Merlot', Jazbina, 2018. i 2019. godina

Tablica 13. Utjecaj termina djelomične defolijacije na sastav i zastupljenost hlapljivih alkohola sorte 'Merlot', Jazbina, 2018. i 2019. godina

Tablica 14. Utjecaj termina djelomične defolijacije na sastav i zastupljenost hlapljivih kiselina sorte 'Merlot', Jazbina, 2018. i 2019. godina

Tablica 15. Utjecaj termina djelomične defolijacije na sastav i zastupljenost karbonilnih spojeva sorte 'Merlot', Jazbina, 2018. i 2019. godina

## POPIS SLIKA

Slika 1. Osnovna struktura flavonoida

Slika 2. Strukturna formula antocijana-3-O-glukozida

Slika 3. Strukturna formula flavonola

Slika 4. Strukturna formula monomera flavan-3-ola

Slika 5. Općenite strukture proantocijanidina tip A i tip B

Slika 6. Strukturne formule hidoksimetnih kiselina

Slika 7. Strukturne formule hidoksibenzojevih kiselina

Slika 8. Strukturna formula *trans*-resveratrola

Slika 9. Strukturne formule različitih monoterpena identificiranih u grožđu i vinu

Slika 10. Strukturne formule najvažnijih C13 norizoprenoida

Slika 11. Strukturne formule različitih metoksipirazina identificiranih u grožđu i vinu

Slika 12. Strukturne formule 4-MMP-a (4-metil-4-merkaptopentan-2-on), 3-MHA-a (3-merkptoheksil-acetat) i 3-MH-a (3-merkptoheksan-1-ol)

Slika 13. Strukturna formula nekih hlapljivih fenola

Slika 14. Valne duljine sunčevog zračenja važne za fiziologiju biljke

## POPIS GRAFIKONA

Grafikon 1. Srednja satna temperatura zraka zone grožđa a) od zametanja bobica do šare 2018. godine; b) od šare do berbe 2018. godine; c) od zametanja bobica do šare 2019. godine; d) od šare do berbe 2019. godine; —○— defolirani trsovi, —△— kontrolni trsovi

Grafikon 2. Udio pojedinih raspona dnevne (08:00-19:00) temperature zraka (u %) zone grožđa u različitim fenofazama defoliranih (D) i kontrolnih (C) trsova, 2018. i 2019. godine

Grafikon 3. Udio pojedinih raspona noćne (19:00-08:00) temperature zraka (u %) zone grožđa u različitim fenofazama defoliranih (D) i kontrolnih (C) trsova, 2018. i 2019. godine

Grafikon 4. Srednje satno UV zračenje unutar zone grožđa a) od zametanja bobica do šare 2018. godine; b) od šare do berbe 2018. godine; c) od zametanja bobica do šare 2019. godine; d) od šare do berbe 2019. godine; —○— defolirani trsovi, —△— kontrolni trsovi

Grafikon 5. Srednja satna relativna vlažnost zraka zone grožđa a) od zametanja bobica do šare 2018. godine; b) od šare do berbe 2018. godine; c) od zametanja bobica do šare 2019. godine d) od šare do berbe 2019. godine; —○— defolirani trsovi, —△— kontrolni trsovi

Grafikon 6a i b. Principal component analysis (PCA) na sadržaju pojedinačnih hlapljivih i polifenolnih spojeva na četiri termina provedene djelomične defolijacije te kontrolnog tretmana na sorti 'Merlot', 2018. i 2019. godine

# 1. UVOD

Grožđe sadrži veliki broj različitih kemijskih spojeva, koji se mogu podijeliti na primarne i sekundarne metabolite. U primarne metabolite grožđa spadaju šećeri, organske kiseline i aminokiseline, dok u sekundarne metabolite spadaju polifenoli i hlapljivi spojevi. Polifenoli i hlapljivi spojevi imaju važnu ulogu u organoleptičkim svojstvima vina. Polifenoli daju vinu boju i strukturu (Ribéreau-Gayon i sur., 2006), dok su hlapljivi spojevi nosioci arome vina (Darriet i sur., 2012).

Polifenolni i hlapljivi sastav grožđa je veoma kompleksan i uključuje velik broj različitih spojeva koji mogu djelovati sinergistički ili antagonistički te definiraju organoleptičke karakteristike vina. Vino tijekom kušanja kod potrošača potiče zanimljivo senzorno iskustvo, koje se ne temelji na jednom dominantnom okusu ili aromi, već na mnoštvu suptilnih aroma i doživljaja. Stoga su upravo okus i arome vina glavne karakteristike koje razlikuju pojedina vina, kao i različite stilove vina koji se proizvode u čitavom svijetu.

Vino je sastavni dio mnogih kultura diljem svijeta, bilo kao oblik zabave ili kao alkoholno piće koje doprinosi zdravlju, a vinova loza spada među gospodarski važne kulture. U 2022. godini proizvodnja grožđa u svijetu iznosila je 69,4 milijuna tona, proizvodnja vina 258 milijuna hektolitara, dok je površina vinograda iznosila 7,3 milijuna hektara (OIV, 2022). Stoga, kako bi se uspjelo na tržištu vina, potrebno je osigurati kvalitetan i prepoznatljiv proizvod, čija kvaliteta prije svega ovisi o kvalitetnoj sirovini, grožđu.

Sastav i sadržaj polifenolnih i hlapljivih spojeva u grožđu može varirati ovisno o genotipu, ali abiotski čimbenici kao što su temperatura i sunčevo zračenje u zoni grožđa, vodni status loze i različiti ampelotehnički zahvati mogu igrati važnu ulogu u rastu loze i fiziologiji bobice (Rienth i sur., 2021). Utjecaj okolišnih čimbenika na hlapljive i polifenolne spojeve u grožđu je veoma kompleksan, te je ponekad teško izvući jednoznačne zaključke, naročito kada više čimbenika djeluje na iste biokemijske procese. Razumijevanje kako abiotski čimbenici i ampelotehnički zahvati utječu na sintezu polifenolnih i hlapljivih spojeva, ali i njihovu degradaciju tijekom dozrijevanja grožđa, važno je za razvoj strategija prilagodbe ampelotehničkih zahvata klimatskim prilikama regije u korist fiziologije loze, sastava grožđa te željene kvalitete i stila vina.

Temperatura i intenzitet sunčeve svjetlosti glavni su ekološki uvjeti koji utječu na biokemijske procese tijekom dozrijevanja grožđa (Azuma i sur., 2012; Spayd i sur., 2002; Tarara i sur., 2008). Rast vinove loze i dozrijevanje grožđa u velikoj su mjeri ovisni o fotosintezi, na što uvelike utječe izloženost sunčevoj svjetlosti.

Istraživanja su pokazala da grožđe koje raste u uvjetima slabe izloženosti sunčevoj svjetlosti ima usporeno dozrijevanje, niži sadržaj šećera i pH te viši sadržaj ukupnih kiselina, od grožđa koje raste u uvjetima visoke izloženosti sunčevoj svjetlosti (Smart, 1985). Izloženost sunčevoj svjetlosti, višim temperaturama i blagom vodnom stresu povezano je s poboljšanjem kvalitete grožđa, te rezultira grožđem koje je bogatije šećerima, polifenolnim i hlapljivim spojevima, i nižom ukupnom kiselošću (Diago i sur., 2012b), povoljno utječe na senzorne karakteristike vina, te se naglašavaju voćne i cvjetne arome, a smanjuju vegetalne arome (Mendes-Pinto, 2009; Young i sur., 2016). Stoga su agrotehnički i ampelotehnički zahvati, kao i položaj vinograda prilagođeni maksimalnom iskorištavanju povoljnih utjecaja abiotičkih čimbenika s ciljem dobivanja što kvalitetnijeg grožđa u pogledu osnovnih kemijskih parametara, te hlapljivih i polifenolnih spojeva. Topografske karakteristike vinograda, kao što su nadmorska visina, nagib i ekspozicija terena, kao i orijentacija redova u vinogradu, bujnost vinograda i različiti ampelotehnički zahvati, mogu rezultirati velikom varijabilnošću mikroklimatskih uvjeta (Smart, 1985), a posebno u kvaliteti i intenzitetu sunčeve svjetlosti. Intenzitet i kvaliteta izloženosti sunčevoj svjetlosti, posebno UV zračenju i složena interakcija s temperaturom utječu na biosintezu antocijana, flavonola i terpena, mijenjajući njihovu ekspresiju gena (Azuma i sur., 2012; Blancquaert i sur., 2019b; Joubert i sur., 2016; Song i sur., 2015; Spayd i sur., 2002).

Djelomična defolijacija u zoni grozdova jedan je od najčešćih ampelotehničkih zahvata korištenih u proizvodnji grožđa s ciljem manipuliranja mikroklimatom trsa. Zahvatom djelomične defolijacije modificira se okolina grozda te se stvaraju povoljni uvjeti u smislu povećanja sunčevog zračenja unutar trsa, temperature u zoni grozdova i strujanja zraka (Zhang i sur., 2017b). Mikroklimatski pokazatelji kao što su temperatura i sunčevo zračenje utječu na fiziologiju grožđa i direktno su povezani sa sintezom šećera i sekundarnih metabolita u grožđu (Spayd i sur., 2002). Povećanje intenziteta sunčevog zračenja uzrokovano djelomičnom defolijacijom u zoni grožđa dovodi do smanjenja sadržaja ukupnih kiselina, povećanja sadržaja šećera te stimulira sintezu polifenolnih i hlapljivih spojeva, kao što su antocijani, stilbeni, flavonoli, terpeni i norizoprenoidi (Alessandrini i sur., 2018; Diago i sur., 2012b).

Temperatura zraka, prisutnost vode u tlu, sunčevo zračenje i koncentracija CO<sub>2</sub> u atmosferi glavni su abiotski čimbenici koji su pod utjecajem globalnog zatopljenja. Ovi abiotski čimbenici upravljaju sintezom i razgradnjom primarnih (šećera, aminokiselina, organskih kiselina) i sekundarnih (polifenolnih i hlapljivih spojeva i njihovih prekursora) metabolita izravno, putem regulacije njihovih biosintetskih putova, ili neizravno, putem njihovih učinaka na fiziologiju i fenologiju vinove loze (Rienth i sur., 2021).

Klimatske promjene imaju veliki utjecaj na globalnu vinsku industriju, te ovisno o području uzgoja mogu imati pozitivne ili negativne posljedice na kvalitetu grožđa i vina. Među najznačajnijim posljedicama klimatskih promjena su visoke temperature u vrijeme dozrijevanja grožđa, ranija berba, povišeni sadržaj šećera koji dovodi do visoke razine alkohola u vinu te niži sadržaj ukupnih kiselina (van Leeuwen i Darriet, 2016). Neke od predloženih mjera kako se prilagoditi posljedicama klimatskih promjena su uvođenje modificiranih ampelotehničkih i agrotehničkih zahvata u vinogradu, kao što su kasna zimska rezidba, djelomična defolijacija provedena nakon šare u ili iznad zone grozdova, primjena auksina te primjena deficitarnog navodnjavanja tijekom rasta bobice ili pri kraju dozrijevanja grožđa (Böttcher i sur., 2022; Caccavello i sur., 2017; Palai i sur., 2022; Palliotti i sur., 2013; Previtali i sur., 2021; Tessarin i sur., 2022; van Leeuwen i Destrac-Irvine, 2017).

U kontekstu klimatskih promjena, većina vinograda bilježi probleme kod djelomične defolijacije provedene početkom šare grožđa, kada visoke temperature i intenzivno sunčevo osvjetljenje u zoni grozdova dovodi do ožegotina na bobicama, inhibicije sinteze polifenolnih spojeva te modifikacije aromatskih spojeva. Naime, etanol iz vina utječe na osjet slatkoće i gorkoga, te doprinosi povećanoj astringenciji, povećanom osjećaju topline, te maskira voćne arome, jer smanjuje percepciju estera, a povećava hlapljivost ostalih spojeva u vinu (Drappier i sur., 2019). Stoga, velik izazov za vinogradare i vinare je kako se prilagoditi klimatskim promjenama, a ujedno zadržati specifičnost i tipičnost u pogledu senzornih karakteristika pojedine regije. S obzirom na navedeno, nužno je istražiti i ranije termine provođenja djelomične defolijacije, a sve u cilju što bolje prilagodbe recentnim klimatskim promjenama.

Bolje razumijevanje ključnog razdoblja u dozrijevanju grožđa u kojem izlaganje grozdova suncu povećava sadržaj željenih polifenolnih i hlapljivih spojeva moglo bi pomoći vinogradarima u donošenju odgovarajućih odluka o manipulaciji trsom za proizvodnju željenog aromatskog profila vina. Stoga je primjena djelomične defolijacije u različitim fenofazama radi postizanja optimalnog izlaganja sunčevoj svjetlosti važna za proizvodnju visokokvalitetnog grožđa. S obzirom na to da je u toplijim i sušnijim godinama teško postići polifenolnu zrelost u isto vrijeme kada su šećeri i ukupne kiseline na zadovoljavajućem nivou, važno je ispitati koji termini djelomične defolijacije utječu na povećano nakupljanje polifenolnih i hlapljivih spojeva, a da pritom ne utječu negativno na nakupljanje šećera, te smanjenje sadržaja ukupnih kiselina i prinosa. Istraživanje će dati nova znanja o utjecaju različitih termina djelomične defolijacije na sadržaj pojedinih hlapljivih spojeva u grožđu crne sorte 'Merlot', s obzirom na to da je sadržaj hlapljivih spojeva u crnim sortama grožđa slabo istražen. Također će se prikazati opravdanost pojedinog termina djelomične defolijacije ovisno o cjelokupnom polifenolnom i hlapljivom sadržaju u grožđu sorte 'Merlot'.

## 1.1. Hipoteze i ciljevi

Hipoteze:

Raniji termini provođenja djelomične defolijacije utjecat će na smanjenje prinosa i sadržaja ukupnih kiselina te na povećanje sadržaja šećera u grožđu sorte 'Merlot' u odnosu na kontrolu.

Raniji termini provođenja djelomične defolijacije utjecat će na povećanje sadržaja polifenolnih i hlapljivih spojeva u grožđu sorte 'Merlot' u odnosu na kontrolu.

Ciljevi istraživanja:

1. Utvrditi razlike u prinosu te sadržaju šećera i kiselina u grožđu ovisno o terminu provođenja djelomične defolijacije kod sorte 'Merlot'
2. Utvrditi razlike u sadržaju hlapljivih i polifenolnih spojeva u grožđu ovisno o terminu provođenja djelomične defolijacije kod sorte 'Merlot'

## 2. PREGLED RELEVANTNE LITERATURE

### 2.1. Vinova loza

Vinova loza (*Vitis vinifera* L.) je euroazijska, kultivirana loza, a naziva se još i europska, domaća i plemenita. Botanički se svrstava u porodicu lozica (*Vitaceae* Juss.), koju čine uglavnom višegodišnje drvenaste ili zeljaste povijuše, a najčešće grmovi – penjačice. Osnovno obilježje ove porodice jest nazočnost vitica kojima se pričvršćuju i penju uz potporanj. Porodica *Vitaceae* pripada redu *Rhamnales* u razredu dvosupnica (*Magnoliatae*, *Dicotyledonae*) i pododjeljku kritosjemenjača (*Magnoliophytina*, *Angiospermae*). Približno 70 vrsta roda *Vitis* obitava u umjerenim klimatskim područjima sjeverne Zemljine polutke, a dijeli se na dva podroda- *Euvitis* i *Muscadinia*. Vrste podroda *Euvitis* rastu većinom u područjima s umjerenom klimom, a prema zemljopisnoj pripadnosti mogu svrstati na: a) sjevernoameričke vrste, koje se zbog otpornosti prema kriptogamskim bolestima i filokseri koriste se kao podloge ili u oplemenjivačke svrhe; b) istočnoazijske vrste, s *Vitis amurensis* kao najpoznatijim predstavnikom otpornim na hladnoću i pepelnicu; c) europskoazijske vrste, tj. vrstu – euroazijska loza *Vitis vinifera* s dvije podvrste: divlja ili šumska loza - *Vitis vinifera* subsp. *sylvestris* C.C. Gmelin) i *Vitis vinifera* subsp. *vinifera* odnosno plemenita ili kultivirana loza (Maletić i sur., 2008).

Vinova loza uzgaja se diljem svijeta, a kao centar podrijetla navodi se područje između Crnog mora i Kaspijskog jezera, gdje se divlji predak vinove loze, *Vitis sylvestris* ili šumska loza i danas nalazi u velikom broju. Upravo je na tom području došlo do evolucije vinove loze iz divljih formi, a najstariji dokazi njezine domestifikacije potječu iz vremena neolitika (6000.- 5000.g. pr. Kr).

Danas se vinova loza uzgaja gotovo na svim kontinentima. Svjetska proizvodnja grožđa u 2020. g. iznosila je nešto manje od 70 milijuna tona. Približno 49 % proizvedenog grožđa prerađuje se u vino, 43 % konzumira u svježem stanju, dok se 8 % koristi za proizvodnju groždica, sokova, džemova i dr. Kina danas zauzima treće mjesto u svijetu po površinama pod vinovom lozom, pretekavši tako neke od tradicionalnih vinogradarskih zemalja poput Italije. Ipak, pogledom u strukturu potrošnje, vidi se da Kina na većini svojih površina uzgaja grožđe za uporabu u svježem stanju, dok je u tradicionalnim vinogradarskim država poput Italije, Španjolske i Francuske, većina grožđa namijenjena za proizvodnju vina (OIV, 2020).

Vinova loza iznimno je polimorfna vrsta te je mnogo sorata s velikim biološkim i morfološkim razlikama. Tijekom godina uzgoja vinove loze došlo je do značajnog povećanja genetske raznolikosti putem spolnog razmnožavanja.



Procjenjuje se da postoji oko 6000 sorata, od čega je u komercijalnoj upotrebi manje od 400. Danas je u svijetu najrasprostanjenija sorta vinove loze Cabernet sauvignon, a slijede je Sultanina i Merlot (OIV, 2020).

Kemijski sastav grožđa i vina, produkta njegove alkoholne fermentacije, vrlo je složen i može varirati ovisno o sorti, ekološkim uvjetima uzgoja, stupnju zrelosti i načinu i uvjetima prerade grožđa. U primarne metabolite grožđa spadaju šećeri, koji čine ugljikov skelet za sintezu organskih kiselina i spojeva sa dušikom, dok u sekundarne metabolite spadaju polifenoli i hlapljivi spojevi. Polifenoli i hlapljivi spojevi imaju važnu ulogu u organoleptičkim svojstvima vina. Polifenoli daju vinu boju i strukturu (Ribéreau-Gayon i sur., 2006), dok su hlapljivi spojevi nosioci arome vina (Darriet i sur., 2012).

## 2.2. Rast i razvoj bobice

Razvoj bobica grožđa uključuje složenu seriju fizikalnih i biokemijskih procesa, koje se mogu podijeliti u tri glavne faze: početna faza brzog rasta (faza 1), faza usporenog rasta ili lag faza (faza 2) i faza ponovnog rasta i dozrijevanja (faza 3) (Coombe i McCarthy, 2000). Tijekom cjelokupnog rasta i razvoja bobice dolazi do sinteze primarnih i sekundarnih metabolita, koji se sintetiziraju pod složenom genskom i enzimatskom kontrolom. Primarni metaboliti poput šećera, aminokiselina i organskih kiselina uključeni su u normalan rast, razvoj i razmnožavanje. Sekundarni metaboliti poput polifenola i hlapljivih spojeva nisu izravno uključeni u fotosintezu ili disanje, ali su neophodni da bi biljka preživjela u svojoj okolini te imaju funkciju u obrani biljke od abotskih i biotskih čimbenika (Blancquaert i sur., 2019a).

U prvoj fazi rasta bobice, koji traje do 60 dana nakon cvatnje, dolazi do formiranja bobice i sjemenke. Oplodene jajne stanice podliježu nizu mitotičkih dioba i širenju stanica čime nastaje perikarp bobice grožđa, dolazi do brzog dijeljenja stanica unutar bobice te bobica brzo povećava masu i obujam. Dioba stanica prestaje 3 tjedna nakon oplodnje. Spojevi koji se akumuliraju tijekom prve faze razvoja bobice su organske kiseline, prije svega vinska i jabučna kiselina, klorofili, karotenoidi, hidroksicimetne kiseline, flavan-3-oli i drugi tanini (Gambetta i sur., 2022; Kennedy, 2008). Hidroksicimetne kiseline akumuliraju se u mesu i kožici bobice, a igraju ulogu u reakcijama posmeđivanja te su prekursori u sintezi hlapljivih fenola. Tanini su u bobici prisutni u kožici i sjemenki, te su odgovorni za gorčinu i trpkost vina, ali i stabilnost boje. U prvoj fazi razvoja bobice dolazi i do nakupljanja minerala, mikroelemenata, aminokiselina, ali i tvari arome kao što su metokspirazini (Allen i Lacey, 1998; González-Barreiro i sur., 2015).

Druga faza (lag faza) razvoja bobice obilježena je sporim rastom perikarpa te dozrijevanjem sjemenke. Obično traje 7 do 40 dana. U ovoj fazi razvoja bobice ostaju zelene, sadržaj klorofila i fotosintetska aktivnost bobice opadaju, a ukupna kiselost doseže maksimum.

Početak treće faze razvoja bobice označen je nizom fizioloških promjena kao što su mekšanje bobice, promjena boje kožice te pojava antocijana i drugih pigmenata te se još naziva šara grožđa. Treća faza razvoja bobice traje oko 35 do 55 dana. Ponovni rast perikarpa vezan je uz porast postojećih stanica perikarpa, a bobica dostiže svoju maksimalnu veličinu. Povećanje volumena bobice događa se zbog povećanja sposobnosti usvajanja vode, a time i nakupljanja određenih metabolita u stanicama. Dolazi do nakupljanja šećera u bobici grožđa, što vodi do značajnog smanjenja osmotskog potencijala bobice.

Ostali metaboliti koji se skupljaju u bobici tijekom treće faze razvoja grožđa su sekundarni metaboliti, uključujući antocijane i terpene, ali i prekursore u sintezi hlapljivih spojeva (aldehidi i alkoholi) (Gambetta i sur., 2022; Keller, 2010). Iako sadržaj većine spojeva nakupljenih tijekom prve faze razvoja bobice opada zbog razrjeđenja, u nekim slučajevima do smanjenja sadržaja može doći i zbog degradacije spoja tijekom druge faze rasta bobice. U trećoj fazi razvoja bobice tako dolazi do pada sadržaja metokspirazina i tanina. Sadržaj tanina u sjemenkama smanjuju se kao posljedica oksidacije, te dolazi do smanjenja gorčine, dok se sadržaj tanina u kožici smanjuju na račun povezivanja sa pektinima i antocijanima (González-Barreiro i sur., 2015). Dolazi i do pada sadržaja ukupnih kiselina i jabučne kiseline, a pH vrijednost soka počinje rasti (Keller, 2010).

Bobica se opskrbljuje kroz peteljčicu putem elemenata ksilema i floema. Ksilem ima ulogu u prijenosu vode, hranjivih tvari i regulatora rasta od korijenovog sustava do nadzemnih dijelova loze. U prvim fazama razvoja bobice ksilem ima primarnu ulogu opskrbe bobice, dok u trećoj fazi razvoja dolazi do kidanja ksilema u bobicama uslijed širenja bobice, te ulogu u opskrbi bobice preuzima floem (Greenspan i sur., 1994).

### 2.3. Polifenolni spojevi u grožđu

Polifenolni spojevi su sekundarni metaboliti koji potječu iz šikimat/fenilpropanskog puta i/ili poliketid-acetat/malonatnog puta, a pri čemu nastaju monomerni ili polimerni fenolni oblici. Široko su rasprostranjeni u cijelom biljnom carstvu i djeluju kao pigmenti, antioksidansi, signalne molekule, strukturni elementi te kao zaštitni odgovor na stres od UV zračenja, sušu, ali i napade patogena ili predatora (Kolb i sur., 2003, Rienth i sur., 2021). Imaju antioksidativnu, protuupalnu i kardiovaskularnu zaštitnu funkciju i od velike su važnosti za ljudsko zdravlje (Monagas i sur., 2005). Sastoje se od više aromatskih prstenova s jednom ili više hidrosilnih skupina, a obično se nalaze u vakuolama stanica epiderme.

Zbog svoje izrazito složene građe, polifenoli su podijeljeni u brojne skupine i podskupine, a podjela se temelji na broju sadržanih fenolnih prstenova te na temelju strukturnih elemenata koji međusobno povezuju te prstenove. Najvažniji predstavnici polifenolnih spojeva u grožđu su hidrosicimentne i hidrosibenzojeve kiseline, stilbeni, flavonoli, flavan-3-oli i antocijani. Imaju značajan utjecaj na parametre kakvoće vina - aromu, boju, okus, gorčinu i trpkost (Boulton, 2001), a posebno su značajni u proizvodnji crnih vina. S obzirom na velik utjecaj polifenolnih spojeva na kvalitetu grožđa, postoje brojna istraživanja na temu utjecaja različitih okolinskih uvjeta te ampelotehničkih zahvata na polifenolni sastav grožđa.

Sastav i sadržaj polifenolnih spojeva u grožđu uvelike ovisi o genotipu vinove loze, okolinskim uvjetima te ampelotehničkim zahvatima u vinogradu (Rienth i sur., 2021), te mogu biti podijeljeni u tri glavne skupine- flavonoidi (antocijani, flavonoli i flavan-3-oli), fenolne kiseline (hidrosicimentne i hidrosibenzojeve kiseline) te stilbeni. Biosintetski put sinteze polifenola počinje od glukoze do aromatskih aminokiselina, L-tirozina, L-triptofana i L-fenilalanina, i zove se put šikiminske kiseline. Procijenjeno je da je u normalnim uvjetima rasta bez stresa, više od 20 % ukupnog fiksiranog ugljika fotosintezom teče kroz šikimatski put. Slijedi fenilpropanoidni biosintetski put u kojem L-fenilalanin i malonil CoA pomoću enzima fenilalanin amonijum-liaza (PAL) formira cinamat. U sljedećim koracima fenilpropanoidnog puta stvaraju se halkoni. Halkoni u nizu reakcije stvaraju prekursore u sintezi flavonola, flavan-3-ola i antocijana (Gouot i sur., 2019a).

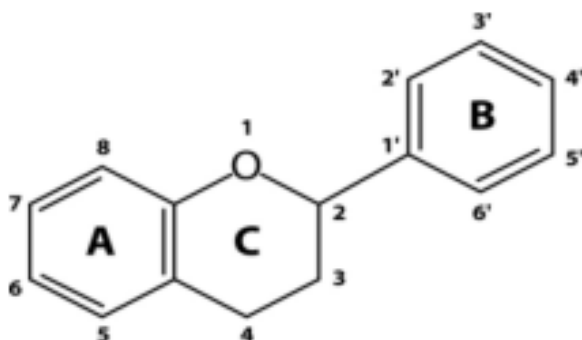
Od ukupnih polifenola sadržanih u bobici, 65 % se nalazi u sjemenci, 30 % u kožici, a 5 % u mesu. Kožicu grožđa čine tri sloja: vanjski sloj ili kutikula, središnji sloj ili epiderma te unutrašnji sloj ili hipoderma. Većina polifenola kože nalazi se u hipodermi. Položaj polifenola u stanicama hipoderme ovisi o strukturi i sastavu samih polifenola, tako da oni mogu biti u slobodnom obliku u vakuolama i citoplazmi (antocijani, flavonoli te monomeri i dimeri flavan-3-ola) ili mogu biti vezani uz staničnu stjenku (fenolne kiseline i flavan-3-oli) (Tomaz i sur., 2017).

Polifenoli se u grožđa sintetiziraju tijekom rasta bobice i dozrijevanja grožđa, a njihova sinteza ovisi o nekoliko čimbenika, kao što su sorta, zemljopisni položaj, tlo, mikroklimatski uvjeti (izloženost svjetlosti, temperatura) i upravljanje vinogradom (Chorti i sur., 2018; Diago i sur., 2012b; Mattivi i sur., 1990; Song i sur., 2015; Spayd i sur., 2002; Tarara i sur., 2008). Manji dio polifenolnih spojeva može nastati radom mikroorganizama ili ekstrakcijom iz drvenih bačvi tijekom dozrijevanja vina.

### 2.3.1. Flavonoidi

Flavonoidi čine značajan udio polifenolnih spojevi u crnom grožđu i mogu se smatrati najvažnijom skupinom spojeva za određivanje kvalitete crnog grožđa i vina, jer doprinose boji, okusu, teksturi i trpkosti. Flavonoidi su C<sub>6</sub>–C<sub>3</sub>–C<sub>6</sub> polifenoli spojevi, koje karakteriziraju dva benzenska prstena (prstenovi A i B) povezana piranskim prstenom koji sadrži kisik (Slika 1). Međusobno se razlikuju prema stupnju oksidacije centralnog piranskog prstena, izuzev halkona kod kojih je piranski prsten otvoren. Prema oksidacijskom stupnju C<sub>3</sub> prstena, ovi spojevi se dijele na flavonole, flavan-3-ole (koji uključuju jednostavne flavan-3-ole i njihove polimerne oblike proantocijanidine, također poznate kao tanini), i antocijane (Castellarin i sur., 2012).

Kod flavonoida postoji velika sklonost umrežavanju i polimerizaciji (Blancquaert i sur., 2019a). Svi polifenolni spojevi potječu od istih prekursora i dijele zajedničke gene. Biosinteza flavonoida rezultat je šikimskog i fenilpropanoidnog biosintetskog puta. U stanicama bobica grožđa, flavonoidi se sintetiziraju u citoplazmi, a zatim čuvaju u vakuolama.



Slika 1. Osnovna struktura flavonoida (izvor: Tomaz, 2016)

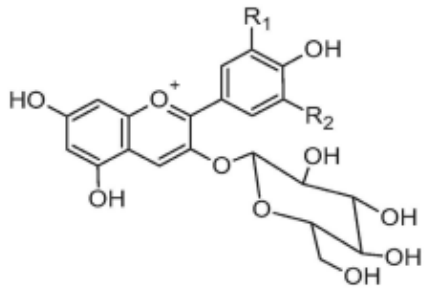
#### 2.3.1.1. Antocijani

Antocijani su vodotopivi pigmenti smješteni u vakuolama prvog staničnog sloja hipoderme kože grožđa, odgovorni su za boju grožđa i vina (Moskowitz i Hrazdina, 1981) i zajedno s ostalim polifenolnim spojevima poput flavonola važni su pokazatelji kakvoće grožđa. Sastoje se od antocijanidina (aglikona) i šećerne komponente (Slika 2), a međusobno se razlikuju s obzirom na broj hidroksilnih i metoksilnih skupina vezanih na osnovnu C6-C3-C6 strukturu. Povećani broj vezanih molekula glukoze na antocijanidin povećava stabilnost i topljivost nastalog antocijana.

Kod vrste *Vitis vinifera*, antocijani su prisutni kao monoglukozidi koji se mogu grupirati na temelju broja (2 ili 3) i vrste supstituenata (hidroksil i / ili metoksil) na B prstenu. Antocijani s dva supstituenta (3'-supstituirani) su cijanidin-3-O-glukozid i peonidin-3-O-glukozid, dok su antocijani s tri supstituenta (3', 5'-supstituirani) delfinidin-3-O-glukozid, petunidin-3-O-glukozid i malvidin-3-O-glukozid. Hidroksilacija i metilacija prstena B pod utjecajem je UV zračenja, a ona sama utječe na nijansu i stabilnost boje te može biti u rasponu od crvene do plave. Derivati delfinidina plave su boje, a što je izravno povezano s brojem slobodnih hidroksilnih skupina. Derivati cijanidina su crvene boje. Povećanjem broja metoksilnih skupina boja postaje tamnije crvene pa je tako malvidin s dvije metoksilne skupine najtamnije crven (Yin i sur., 2022).

Kod vrste *Vitis vinifera* postoje i acilirani oblici antocijana, a do aciliranja dolazi na C6 atomu glukoze s octenom kiselinom, p-kumarnom kiselinom i kafeinskom kiselinom (Blancquaert i sur., 2019a). Sadržaj aciliranih antocijana u kožici bobice ovisi o sorti grožđa. U većini sorata prevladavaju antocijani s tri supstituenta, i to najčešće malvidin-3-O-glukozid, dok je malvidin-3-O-(acetil)-glukozid dominantan acilirani antocijan.

Akumulacija antocijana započinje s početkom šare grožđa i nastavlja se do pune zrelosti (Blancquaert i sur., 2019b; Yin i sur., 2022), a događa se u vakuolama, gdje poprimaju svoju karakterističnu boju, koja ovisi o prisutnosti i broju navedenih hidroksilnih i metoksilnih skupina, šećernoj jedinici na koju je antocijan vezan te o pH mošta. Ljubičastu boju dobivaju u uvjetima pH iznad 4,5, bezbojni su pri pH od 4,0, a u kiselom mediju poprimaju crvenu boju. Dok su antocijani kod sorata vinove loze prisutni isključivo u monoglukozidnom obliku, kod američkih vrsta roda *Vitis* i međuvrsnih križanaca prisutni su i u obliku 3,5-diglukozida.



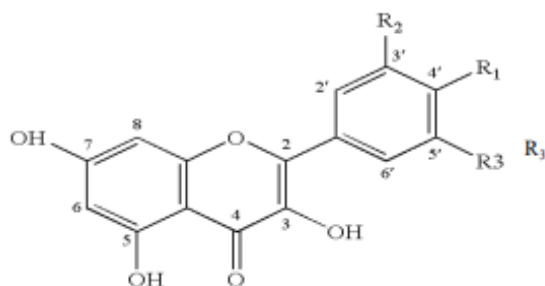
Pelargonidin-3-*O*-glukozid  $R_1 = R_2 = H$   
 Cijanidin-3-*O*-glukozid  $R_1 = OH; R_2 = H$   
 Delfinidin-3-*O*-glukozid  $R_1 = R_2 = OH$   
 Petunidin-3-*O*-glukozid  $R_1 = OCH_3; R_2 = H$   
 Peonidin-3-*O*-glukozid  $R_1 = OCH_3; R_2 = OH$   
 Malvidin-3-*O*-glukozid  $R_1 = R_2 = OCH_3$

Slika 2. Strukturna formula antocijana-3-*O*-glukozida (izvor: Tomaz, 2016)

### 2.3.1.2. Flavonoli

Flavonoli su skupina polifenolnih spojeva koji se sintetiziraju u vakuolama vanjskih slojeva epiderme u kožici grožđa, a karakterizira ih prisutnost karbonilne (keto) skupine na položaju 4 i dvostruka veza između položaja 2 i 3 prstena C. Glavni flavonoli identificirani u grožđu su miricetin, kvercetin, kemferol, izoramnetin, rutin, laricitrin te siringetin, a oni se međusobno razlikuju prema broju i vrsti supstituenata vezanih na prstenu B (Slika 3). S obzirom na broj supstituenata na prstenu B mogu se podijeliti na monosupstituirane (kemferol), disupstituirane (kvercetin i izoramnetin) te na trisupstituirane (miricetin, laricitrin te siringetin). Kao šećerne jedinice najčešće su vezane glukoza ili galaktoza, dok je ramnoza vezana isključivo na kvercetin. U grožđu su najzastupljeniji u obliku 3-O-glikozida.

Na akumulaciju flavonola u grožđu utječu uvjeti okoliša, posebno izloženost suncu i UV zračenju (Azuma i sur., 2012; Blancquaert i sur., 2019b; Del-Castillo-Alonso i sur., 2020; Gregan i sur., 2012; Price i sur., 1995; Spayd i sur., 2002), jer flavonoli štite bobicu od prekomjernog UV zračenja (Berli i sur., 2010; Kolb i sur., 2003). Izloženost grozdova UV zračenju može povećati ekspresiju gena koji sudjeluju u regulaciji nakupljanja flavonola (Carbonell-Bejerano i sur., 2014; Martínez-Lüscher i sur., 2014). Sinteza flavonola počinje nakon zametanja bobice (Blancquaert i sur., 2019b) te sadržaj u grožđu doseže maksimum na početku šare i većinom se ne mijenja sve do berbe grožđa (Downey i sur., 2003b). Iz tog razloga, klimatski uvjeti prije šare određuju sadržaj ukupnih flavonola koji se nalaze u kožici bobice. Iako su bezbojni, flavonoli zajedno s antocijanima tvore kopigmentacijski kompleks koji igra ulogu u stabilizaciji boje vina (Downey i sur., 2003b), a zanimljivi su i zbog pozitivnog utjecaja na ljudsko zdravlje zbog izražene antioksidacijske aktivnosti.



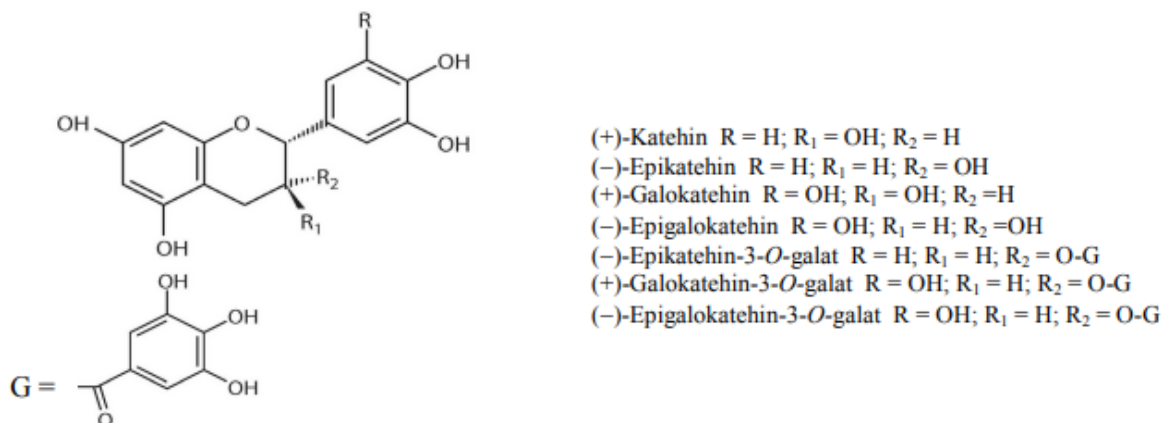
Kemferol  $R_1 = \text{OH}; R_2 = R_3 = \text{H}$   
Kvercetin  $R_1 = R_2 = \text{OH}; R_3 = \text{H}$   
Miricetin  $R_1 = R_2 = R_3 = \text{OH}$   
Izoramnetin  $R_1 = \text{OH}; R_2 = \text{OCH}_3; R_3 = \text{H}$   
Laricitrin  $R_1 = \text{OH}; R_2 = \text{OCH}_3; R_3 = \text{OH}$   
Siringetin  $R_1 = \text{OH}; R_2 = R_3 = \text{OCH}_3$

Slika 3. Strukturna formula flavonola (izvor: Tomaz, 2016)



### 2.3.1.3. Flavan-3-oli

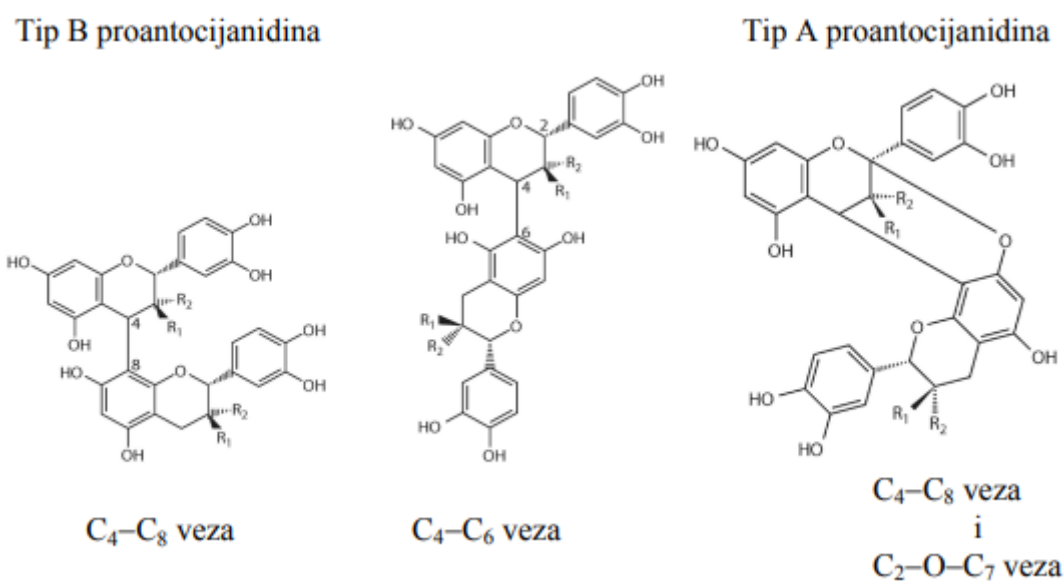
U flavan-3-ole spadaju mnogi polifenolni spojevi- monomeri, dimeri, oligomeri i polimeri, a hidroksilna skupina nalazi im se na položaju 3 prstena C. Veći sadržaj flavan-3-ola može se naći u kožici i sjemenki bobice, a u vinu doprinose okusu i stabilnosti boje (Boulton, 2001). U kožici bobice grožđa flavan-3-oli mogu biti vezani na polisaharide stanične stijenke te pohranjeni u vakuolama stanica hipoderme. Sinteza flavan-3-ola u kožici bobice započinje fenofazom zametanja bobica, svoj maksimum doseže na početku šare, nakon čega se primjećuje postupno smanjenje sadržaja, dok se u sjemenkama nastavlja još nekoliko tjedana nakon šare (Blancquaert i sur., 2019b; Downey i sur., 2003a). Monomeri sadržani u grožđu su: katehin, epikatehin, galokatehin, epigalokatehin te njihovi esteri s galnom kiselinom kao što su epikatehin-3-O-galat, epigalokatehin-3-O-galat te galokatehin-3-O-galat (Slika 4). Flavan-3-oli se u bobici sintetiziraju pomoću aktivnosti enzima leukoantocijanidin-reduktaze i antocijanidin-reduktaze.



Slika 4. Strukturna formula monomera flavan-3-ola (izvor: Tomaz, 2016)

Najbogatija skupina polifenolnih spojeva koja se nalazi u bobicama grožđa su polimerni flavan-3-oli, poznatiji kao kondenzirani tanini ili proantocijanidini (Adams, 2006). Predstavljaju polimere velikih molekularnih masa, a ekstrahiraju se iz kožice, sjemenke i peteljke grožđa. Imaju važnu ulogu u vinu dajući mu gorčinu i astringenciju. Astringencija predstavlja fizikalno-kemijsku, tj. taktilnu senzaciju u ustima, potaknutu interakcijom tanina i proteina slin, posebno onih bogatih prolinom, koji pokazuju veliki afinitet prema taninima. Zajedno s antocijanima stvaraju polimerne pigmente koji utječu na stabilnost boje crnih vina (Kennedy, 2008). Postupno smanjenje astringencije tijekom starenja vina povezano je sa pretvorbom proantocijanidina u polimerne pigmente te reakcijom tanini s proteinima, koji uzrokuju njihovo taloženje (Kennedy, 2008).

Stupanj polimerizacije proantocijanidina (engl. *Mean Degree of Polymerization*, mDP) mijenja se tijekom rasta i razvoja bobice. U kožicama bobica dolazi do povećanja mDP-a u razdoblju od šare do pune zrelosti, a što se očituje smanjenjem masenog udjela monomera flavan-3-ola. Stupanj polimerizacije proantocijanidina kože grožđa značajno je veći od onog sjemenki. S obzirom na vrstu veza koje nastaju između pojedinih podjedinica, proantocijanidini se dijele na tip A proantocijanidine i tip B proantocijanidine (Slika 5). Također, tanini iz kože u svojoj strukturi sadrže epigalokatehin, dok ga u taninima iz sjemenke obično nema, ali ima epikatehin galata, kojega u taninima kože nema (Adams, 2006).



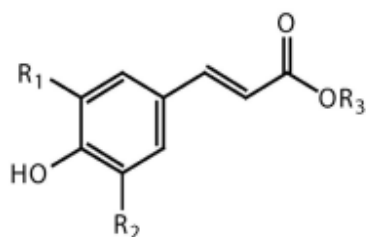
Slika 5. Općenite strukture proantocijanidina tip A i tip B (izvor: Tomaz, 2016)

### 2.3.2. Fenolne kiseline

Dvije osnovne grupe fenolnih kiselina u grožđu i vinu su hidroksicimetne i hidroksibenzojeve kiseline. One su smještene u staničnim vakuolama mesa i kože, te se prešanjem lako ekstrahiraju u mošt, odnosno vino. Hidroksicimetne i hidroksibenzojeve kiseline u grožđu su prisutne u glikoziliranom obliku te u obliku estera.

Hidroksicimetne kiseline imaju osnovnu strukturu s jedinicom C6–C3 koja sadrži dvostruku vezu na bočnom lancu, a koja može biti u *trans* i *cis* konfiguraciji (Slika 6). U grožđu su zastupljeniji *trans*-izomeri. Ove se kiseline međusobno razlikuju po broju i vrsti supstituenata vezanih na benzenski prsten. Najzastupljenije su kiseline p-kumarinska, kafeinska, ferulinska te sinapinska kiselina, koje mogu biti sadržane kao slobodne karboksilne kiseline ili kao esteri nastali povezivanjem s vinskom kiselinom, flavonoidima ili ugljikohidratima. Esteri kafeinske, p-kumarinske te ferulinske kiseline s vinskom kiselinom nazivaju se kaftarna, p-kutarna odnosno fertarna kiselina. Kaftarna i p-kutarna kiselina sklone su enzimskoj oksidaciji te uzrokuju smeđe tonove mošta (Ribéreau-Gayon i sur., 2006). Sadržaj hidokscimetnih kiselina u vinu kreće se između 150 i 200 mg/L (Kennedy i sur., 2008.).

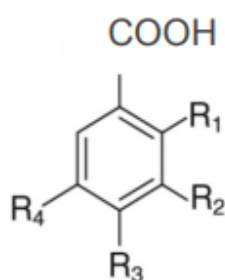
Sinteza hidroksicimetnih kiselina započinje prije šare grožđa, tj. u prvoj fazi rasta bobice, sve do lag faze rasta, i to putem modifikacije fenilpropanoidnog puta kataliziranog od strane enzima kafeat-3-O-metiltransferaze i kafeoil-CoA-3-O-metittransferaze. Kako uslijed prerade grožđa dolazi do hidrolize, dio hidroksicimetnih kiselina se oslobodi od tartaratnog dijela, te se u moštu i vinu mogu naći i u obliku kafeinske, p-kumarinske i ferulinske kiseline. Hidroksicimetne kiseline zaslužne su za aromu i stabilnost boje vina jer se vežu s antocijanima te sudjeluju u kopigmentaciji (Adams, 2006). Sadržaj hidroksicimetnih kiselina u grožđu ovisi o mnogo faktora kao što su sorta, klimatski uvjeti, ampelotehnički zahvati u vinogradu te rok berbe. Hidroksicimetne kiseline se u grožđu sintetiziraju sve do šare grožđa, kada njihov sadržaj doseže svoj maksimum, nakon čega slijedi pad sadržaja navedenih spojeva (Romeyer i sur., 1983).



Kafeinska kiselina  $R_1 = \text{OH}; R_2 = R_3 = \text{H}$   
Kaftarinska kiselina  $R_1 = \text{OH}; R_2 = \text{H}; R_3 = \text{C}_4\text{H}_5\text{O}_6$  (tartarat)  
*p*-Kumarinska kiselina  $R_1 = R_2 = R_3 = \text{H}$   
*p*-Kutarinska kiselina  $R_1 = \text{OH} = R_2 = \text{H}; R_3 = \text{C}_4\text{H}_5\text{O}_6$   
Ferulinska kiselina  $R_1 = \text{OCH}_3; R_2 = R_3 = \text{H}$   
Fertarinska kiselina  $R_1 = \text{OCH}_3; R_2 = \text{H}; R_3 = \text{C}_4\text{H}_5\text{O}_6$   
Sinapinska kiselina  $R_1 = R_2 = \text{OCH}_3; R_3 = \text{H}$

Slika 6. Strukturne formule hidokscimetnih kiselina (izvor: Tomaz, 2016)

Hidroksibenzojeve kiseline su skupina fenolnih kiselina, a sastoje se od sedam ugljikovih atoma (C6-C1). Najzastupljenije hidroksibenzojeve kiseline su galna, salicilna, siringinska, vanilijnska i prokatehinska, čije se strukture razlikuje s obzirom na broj i položaj hidroksilnih i metoksilnih skupina na benzenskom prstenu (Slika 7). Sadržaj u grožđu varira ovisno o sorti i okolinskim uvjetima dozrijevanja grožđa, a značajno je manji u odnosu na hidroksicimetne kiseline. U grožđu su većinom prisutne u sjemenkama kao esteri sa flavan-3-olima te u mesu u glikozidnom obliku. U vinu se većinom nalaze u slobodnom obliku, uslijed hidrolize ili toplinske razgradnje kompleksnih molekula kao što su antocijani (Ribéreau-Gayon i sur., 2006).



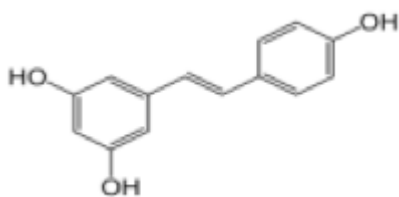
Galna kiselina  $R_1 = H$ ;  $R_2 = R_3 = R_4 = OH$   
 Gentizinska kiselina  $R_1 = OH$ ;  $R_2 = R_3 = H$ ;  $R_4 = OH$   
*p*-Hidroksibenzojeva kiselina  $R_1 = R_2 = H$ ;  $R_3 = OH$ ;  $R_4 = H$   
 Prokatehinska kiselina  $R_1 = H$ ;  $R_2 = OCH_3$ ;  $R_3 = R_4 = OCH_3$   
 Salicilna kiselina  $R_1 = OH$ ;  $R_2 = R_3 = R_4 = H$   
 Siringinska kiselina  $R_1 = H$ ;  $R_2 = OCH_3$ ;  $R_3 = OH$ ;  $R_4 = OCH_3$   
 Vanilinska kiselina  $R_1 = H$ ;  $R_2 = OCH_3$ ;  $R_3 = OH$ ;  $R_4 = H$

Slika 7. Strukturne formule hidoksibenzojevih kiselina (izvor: Tomaz, 2016)

### 2.3.3. Stilbeni

Stilbeni su vrlo značajna skupina polifenolnih spojeva smještena u kožici i sjemenki bobice, a nastaju kao reakcija na stres uzorkovan UV-zračenjem ili mikrobiološkom infekcijom te ih se naziva i fitoaleksinima. U lišću i bobicama vrsta roda *Vitis* otpornih na bolesti, kao što je *Vitis amurensis*, otkriveni su u značajnim koncentracijama, stoga predstavljaju važne biomarkere za strategije uzgoja s ciljem razvoja sorata otpornih na bolesti (Rienth i sur., 2021). Posjeduju antimikrobna, antioksidativna, antikancerogena i antimutagena svojstva (Flamini i sur., 2013). Oni su derivati cimetine kiseline, a sastoje se od dva benzenska prstena vezana etanskim ili etilenskim lancem (Ribéreau-Gayon i sur., 2006) (Slika 8). U grožđu se nakupljaju u zadnjoj fazi dozrijevanja grožđa. U vinu se nalaze u niskim koncentracijama.

Najzastupljeniji stilben je *trans*-resveratrol. Sadržaj resveratrola u grožđu i vinu variraju i ovise o mnogim faktorima, kao što su klima, sorta, infekcija patogenima te duljina maceracije tijekom fermentacije, tako da se veći sadržaj može pronaći u crnom vinu (Monagas i sur., 2005). Resveratrol se u literaturi povezuje s takozvanim "francuskim paradoksom", gdje se nizak rizik od kardiovaskularnih bolesti u Francuskoj, unatoč visokom unosu zasićenih masti, pripisuje relativno visokom unosu resveratrola kroz konzumaciju vina (Renaud i de Lorgeril, 1992). Resveratrol je prekursor u sintezi drugih stilbena, kao što su piceidi. Stilbeni se mogu javiti i kao dimeri i polimeri te se tada zovu viniferini. Oni nastaju oksidativnom polimerizacijom monomernog resveratrola aktivnošću enzima peroksidaze (Castellarin i sur., 2012).



Slika 8. Strukturna formula *trans*-resveratrola (izvor: Tomaz, 2016)

## 2.4. Hlapljivi spojevi u grožđu

Do danas je u grožđu i vinu identificirano više od 700 hlapljivih spojeva, a njihov sadržaj obično se kreće u rasponu od nekoliko ng/L do nekoliko mg/L. Arome vina mogu se podijeliti na temelju porijekla na: a) sortne arome- terpeni, norizoprenoidi i metokspirazini, koje su tipične za bijelu ili crnu sortu grožđa, a na njihovu sintezu utječu okolinski uvjeti- temperatura, svjetlost i dostupnost vode; b) predfermentacijske i fermentacijske arome- viši alkoholi i njihovi acetati te masne kiseline i njihovi etil esteri, nastaju tijekom prerade grožđa i stvaraju ih kvasci i bakterije tijekom alkoholne i malolaktične fermentacije; c) postfermentacijske arome- hlapljivi fenoli, koji se razvijaju transformacijama koje nastaju tijekom starenja vina u drvu i boci (Cataldo i sur., 2021a).

Iako se određeni hlapljivi spojevi koji doprinose kvaliteti vina oslobađaju tijekom fermentacije ili starenja vina iz nehlapljivih prekursora, jedan dio hlapljivih spojeva već je prisutan u grožđu te kroz fermentaciju prolazi nepromijenjen. Ti hlapljivi spojevi nosioci su tzv. sortne arome grožđa (Ribéreau-Gayon i sur., 2006). Spojevi sortne arome najviše doprinose ukupnoj aromi vina, a na sortne i predfermentacijske arome značajno utječe sorta grožđa, stupanj dozrelosti grožđa, mikroklimatski uvjeti, ampelotehnički zahvati i upravljanje tлом u vinogradu (Cataldo i sur., 2021a).

Različiti hlapljivi spojevi i njihov sadržaj u vinu važni su u određivanju sortnih aroma te utječu na kvalitetu samog vina. Najvažnije skupine hlapljivih spojeva u grožđu i vinu su monoterpeni, C13-norizoprenoidi, seskviterpeni, alkoholi, esteri, ketoni, aldehidi, masne kiseline, metokspirazini i polifunkcionalni tioli. Njihov sastav i sadržaj mogu poslužiti u kemotaksonomske svrhe zbog toga što utječe na prepoznatljivost arome vina, dajući mu herbalne, voćne ili cvjetne arome.

Kemijski sastav pojedine sorte grožđa predmet je mnogih istraživanja, s ciljem što boljeg razumijevanja podrijetla sortne arome grožđa. Neka istraživanja su uspješno razlikovala pojedine sorte prema ključnim spojevima ili dominantnim skupinama aromatskih spojeva koji se nalaze u grožđu, međutim, malo je studija uspjelo identificirati pojedinačni spoj koji je odgovoran za sortni karakter pojedine sorte. Sortna aroma ovisi, ne o jednom spoju, već o cjelokupnom aromatskom profilu hlapljivih spojeva sadržanih u grožđu i vinu (Robinson i sur., 2014). Ograničavajući faktori koji utječu na određivanje sastava i sadržaja arome grožđa i vina su relativno niski sadržaj pojedinih spojeva zaslužnih za aromu grožđa i vina, teškoće u povezivanju pojedinog spoja sa određenom aromom u vinu, ali i okolinski uvjeti (klima, tlo), sorta vinove loze, stupanj dozrelosti grožđa, uvjeti u fermentaciji (pH, temperatura, tip kvasaca), tretmani vinifikacije i uvjeti starenje vina (Rapp, 1995).

Svi hlapljivi spojevi sadržani su u perikarpu, a njihov najveći udio nalazi se u kožici (egzokarpu). Oni se u grožđu mogu vezati s aminokiselinama kao što je cistein, ili mogu biti prisuti u obliku glikozida i to najčešće u obliku diglukozida, s glukozom kao jedinicom izravno povezanom  $\beta$ -glikozidnom vezom s ne-šećernom molekulom, tj. aglikonom (Hjelmeland i Ebeler, 2014). Monoterpeni i C13-norizoprenoidi se sintetiziraju u plastidima, ali pohranjuju u staničnim vakuolama u obliku glikozida, koji su, za razliku od aglikona, stabilni, topljivi u vodi te ih je moguće pohraniti samo u vodenom mediju. Glikozilacija hlapljivih spojeva povećava njihovu topljivost u vodi, kako bi se omogućilo njihovo skladištenje u vakuolama te transport u druge dijelove biljke (Robinson i sur. 2014). Seskviterpeni su iznimka i nalaze se isključivo u slobodnom obliku u epikutikularnom vosku (Darriet i sur., 2012).

Nehlapljivi glikozidno vezani spojevi nemaju utjecaj na aromu, ali tijekom muljanja, prešanja, fermentacije ili prilikom čuvanja vina u hrastovim bačvama, može doći do oslobađanja tih spojeva iz ne-hlapljivih prekursora, koji u konačnici utječu na aromu vina (Alem i sur., 2019). Oslobađanje hlapljivih spojeva događa se pomoću enzima glikozidaza, čija je aktivnost pod utjecajem temperature, pH i prisutnosti etanola, glukoze i polifenola (Robinson i sur., 2014). Glikozidno vezani hlapljivi spojevi predstavljaju rezervu arome vina, pa je od velike važnosti proučavati ne samo slobodne, već i vezane oblike hlapljivih spojeva u grožđu, jer su potencijalne hlapljive molekule.

### 2.4.1. Terpenoidi

Terpenoidi su jedni od najvažnijih spojeva arome i jedna od najvećih skupina biljnih sekundarnih metabolita, te sudjeluju u procesima fotosinteze, regulacije rasta te u izgradnji membrana (Lin i sur., 2019). U biljkama igraju važnu ulogu u zaštiti od napada bakterija i gljivičnih bolesti (Gershenzon i Dudareva, 2007). Glavni predstavnici ove skupine spojeva su monoterpeni (C<sub>10</sub>), seskviterpeni (C<sub>15</sub>) i karotenoidi (C<sub>40</sub>) (Rienth i sur., 2021).

#### *Monoterpeni*

Monoterpeni su raznolika i mnogobrojna skupina spojeva te su među najistraživanijim hlapljivim spojevima u grožđu i vinu. Do danas je u grožđu i vinu identificirano oko 70 monoterpena, koji kao osnovnu građevnu jedinicu imaju izopren (C<sub>5</sub>), a građeni su od dvije takve jedinice, što čini kostur od 10 ugljikovih atoma. U bobicama grožđa, monoterpeni se mogu naći u kožici i mesu.

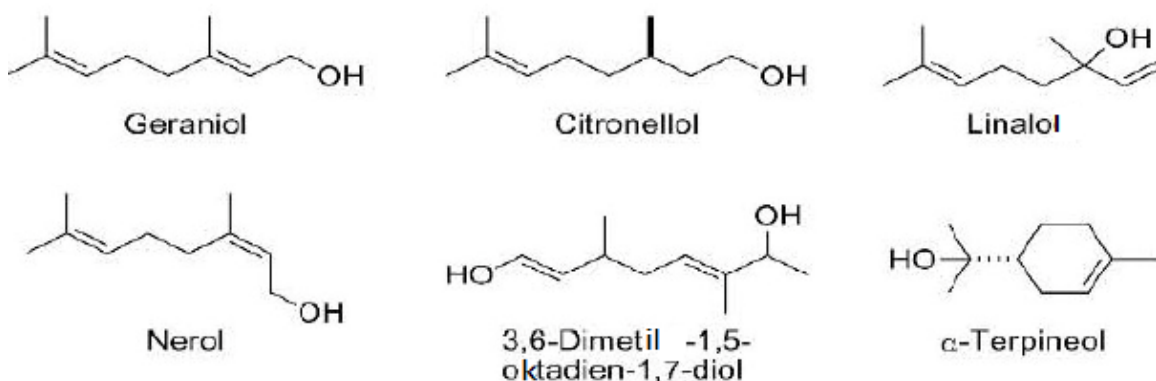
Monoterpeni i seskviterpeni se biološki sintetiziraju iz izopentil pirofosfata (IPP) i dimetilalil pirofosfata (DMAPP). Navedeni prekursori potječu iz dva metabolička puta – put mevaloanske kiseline (MVA), koji kreće od acetyl-CoA iz citosola, i metileritroil-fosfatni put (MEP), koji kreće od piruvata i gliceraldehid-3-fosfata u plastidima (Slika 10). Naknadno nastaju monoterpeni iz 2-(E)-geranil difosfata (GPP) i seskviterpeni iz 6-(E)-farnesil difosfata djelovanjem enzima terpen sintaze (TPS) (Robinson i sur., 2014).

Glavni monoterpeni u grožđu su alkoholi linalol, geraniol, limonen,  $\alpha$ -terpineol i nerol, koji su odgovorni za cvjetne i voćne arome (Slika 9), dok seskviterpen rotundon predstavlja ključni spoj zaslužan za papreni i začinski karakter vina sorte 'Syrah' (Schwab i Wüst, 2015). Akumulacija rotundona događa se u kožici bobice i to od šare do berbe grožđa. Sadržaj monoterpena najviši je u grožđu u vrijeme zamatanja bobica, nakon čega lagano opada sve do šare. Nakon šare započinje ponovna akumulacija slobodnih i vezanih oblika monoterpena. Najveći sadržaj slobodnih i glikoziliranih monoterpena nalazi se u kožici bobice (González-Barreiro i sur., 2015).

Osim u slobodnom obliku, u kojem pridonose aromi grožđa i vina, terpeni mogu biti i u vezanom obliku, u obliku glikozida (Mateo i Jiménez, 2000). Kao glikozidi mogu biti vezani za molekule glukoze, arabinoze i ramnoze (Alem i sur., 2019). Glikozilirani monoterpeni su 3 do 10 puta zastupljeniji od slobodnih aglikona. Tijekom fermentacije terpeni se hidroliziraju u slobodne hlapljive terpe ne tijekom enzimatske hidrolize, u kojoj sudjeluju enzimi glikozidaze, ili kisele hidrolize (pH ~ 3.5) (González-Barreiro i sur., 2015). Terpeni su u vinu, pod utjecajem pH i temperature, podložni i transformacijama. U kiselim uvjetima i pri višim temperaturama može doći do razgradnje geraniola i linalola u linalol oksid i  $\alpha$ -terpineol (Silva Ferreira i sur., 2002; Skouroumounis i Sefton, 2000).



Monoterpeni su tipični za muškadne sorte ('Muškataleksijski', 'Muškataleksijski', 'Muškataleksijski', 'Muškataleksijski'), u kojima mogu imati koncentraciju od čak 6 mg/L, ali i za druge nemuškatne aromatične sorte ('Traminac', 'Rizling rajnski', 'Graševina', 'Malvazija', 'Sauvignon bijeli'), u kojima koncentracija monoterpena može varirati između 1 i 4 mg/L, dok su u nearomatičnim sortama, ili tzv. „neutralnim“ sortama ('Chardonnay' i 'Plemenka bijela') prisutni ispod mirisnog praga detekcije (Mateo i Jiménez, 2000).



Slika 9. Strukturne formule različitih monoterpena identificiranih u grožđu i vinu (izvor: Marais, 1983.)

#### Norizoprenoidi

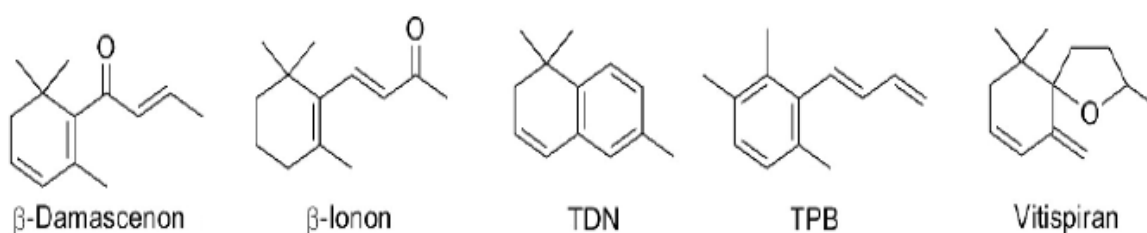
Norizoprenoidi su spojevi koji nastaju razgradnjom karotenoida (C<sub>40</sub>), biljnih pigmenta koji imaju veliku ulogu u fotosintezi i fotozaštiti, akumulirajući se u fotosintetskim tkivima kao dio fotosustava II kako bi zaštitili tkiva od oštećenja svjetlom. Karotenoidi su nestabilni spojevi zbog svojih konjugiranih struktura i dvostrukih veza, zbog čega, tijekom dozrijevanja grožđa, dolazi do biokonverzije ovih spojeva, pri čemu nastaju različiti spojevi, poput C<sub>13</sub> norizoprenoida, i to enzimatskim ili neenzimatski reakcijama (Baumes i sur. 2002; Winterhalter i Rouseff, 2002). Neenzimske reakcije stimuliraju uvjeti okoline- svjetlo, temperatura i kisik, dok enzimatske reakcije katalizira enzim CCD (engl. *Carotenoid cleavage dioxygenases*) (Mathieu i sur., 2005), nakon čega slijedi izravna razgradnja karotenoida, kao što su  $\beta$ -karoten, lutein, neoksantin i violaksantin, ili putem glikoziliranih međuprodukata (prekursora arome) (Baumes i sur., 2002), koji mogu otpustiti svoje hlapljive aglikone tijekom fermentacije i starenja vina (Skouroumounis i sur., 2000).

Norizoprenoidi mogu imati različiti broj atoma ugljika (18, 15, 13, 11, 10, 9 ili 8), no najzastupljeniji su C<sub>13</sub>-norizoprenoidi. Spadaju u skupinu hlapljivih spojeva te se obično nalaze u cvjetovima, u kojima privlače polinatore, te u plodovima, u kojima sudjeluju u aromi. U grožđu se većina akumulira u obliku glikozida, koji su nehlapljivi i bez mirisa, sve dok ne dođe do enzimatske ili kisele hidrolize i otpuštanja hlapljivih spojeva u grožđe i vino.

Norizoprenoidi su spojevi koji imaju vrlo niski prag detekcije u vinu i time uvelike utječu na sortnu aromu vina, zbog čega mogu služiti u kemotaksonomske svrhe. Nađeni su u vinima i crnih i bijelih sorata grožđa, kao što su 'Grenache', 'Merlot', 'Chenin blanc', 'Syrah', 'Semillon', 'Cabernet sauvignon', 'Sauvignon bijeli', 'Pinot crni', 'Rizling rajnski' i 'Chardonnay' (Mendes-Pinto, 2009).

Mnogo je različitih C13-norizoprenoida identificirano u grožđu i vinu, ali samo nekih od njih utječu na njihovu aromu, a to uključuje  $\beta$ -damascenon,  $\beta$ -ionon, TDN (1,1,6-trimetil-1, 2-dihidronaftalen), TPB ((E)-1-(2,3,6-trimetilfenil) buta-1, 3-dien) (Slika 10). Arome koje  $\beta$ -damascenon daje u vino opisuju se kao voćno-cvjetne i medne. Također,  $\beta$ -damascenon utječe na aromu crnih vina i može zamaskirati herbalne i travnate mirise. Arome koje  $\beta$ -ionon daje u grožđu i vinu često se opisuju kao slatke ili miris na ljubičice. Oba spoja se obično u grožđu nalaze iznad praga detekcije, te se smatra da pridonose cvjetnim aromama mnogih vina koja ih sadrže.

Za razliku od  $\beta$ -damascenona i  $\beta$ -ionona, koji imaju pozitivan utjecaj na aromu vina, spoj TDN ima štetan učinak na aromu, zbog njegovog mirisa na kerozin (Darriet i sur. 2012). Miris koji spoj TPB daje grožđu i vinu opisan je kao cvjetni te miris na pelargonije, kada je prisutan u niskim koncentracijama, ali koncentracije iznad 270 ng/L sugeriraju na manje poželjne arome na insekticid i plastiku. Obično se može naći u bijelim vinima iznad praga detekcije mirisa (40 ng/L), dok ga u crnim vinima nema (Darriet i sur. 2012). Miris koji vitispiran daje vinu može se opisati kao miris na kamfor i eukaliptus, a nađen je u vinima sorte 'Rizling rajnski', 'Chardonnay', 'Cabernet sauvignon', 'Sauvignon bijeli', 'Pinot crni' (Eggers i sur., 2006).



Slika 10. Strukturne formule najvažnijih C13 norizoprenoida (izvor: Darriet i sur., 2012)

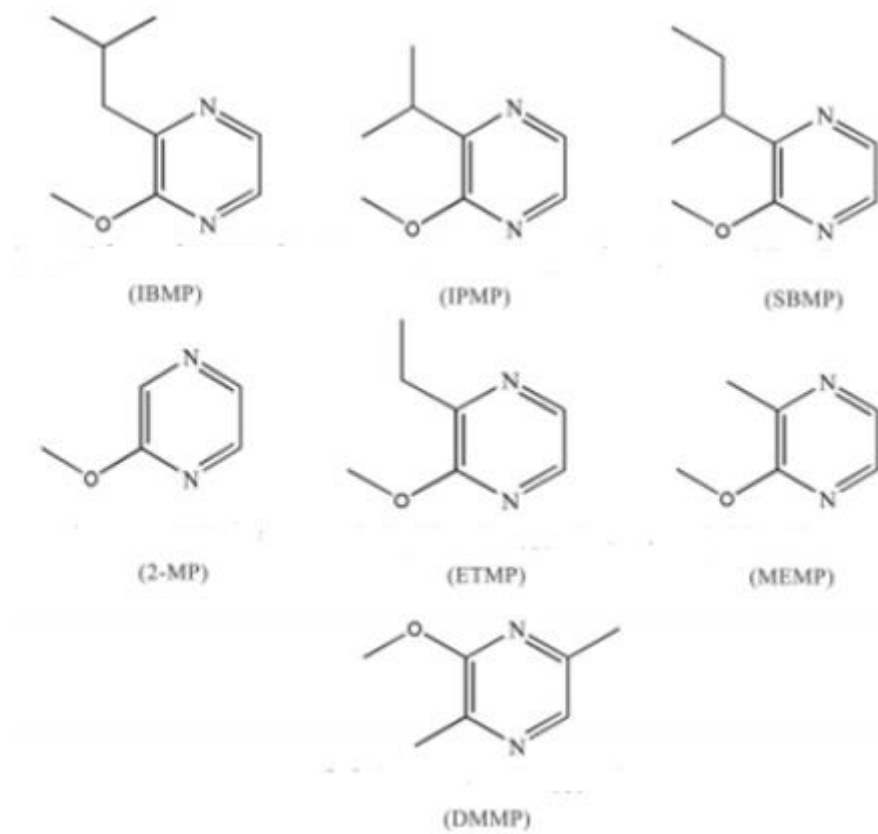
#### 2.4.2. Metokspirazini

Metokspirazini (3-alkil-2-metokspirazini) su heterociklički hlapljivi aromatski spojevi koji nastaju kao produkt metabolizma aminokiselina te u svojoj strukturi sadrže dušik. Zaslužni su za aromu i okus mnogih povrtnih vrsta, kao što su paprika, šparoga, salata i grašak, koja se opisuje kao vegetalna, zelena i zemljana (Sidhu i sur., 2015).

U vinogradarstvu i vinarstvu metokspirazini predstavljaju skupinu spojeva zaslužnih za zelenu, vegetalnu aromu koja se pripisuje vinima određenih sorata vinove loze. Do sada je u grožđu i vinu identificirano sedam različitih spojeva iz skupine metokspirazina, a to su 2-metokspirazin (2-MP), 3-metil-2-metokspirazin (MEMP), 3-etil-2-metokspirazin (ETMP), 3-izopropil-2-metokspirazin (IPMP), 3-izobutil-2-metokspirazin (IBMP), 3-sec-butil-2-metokspirazin (sBMP) i 2,5-dimetil-3-metokspirazine (DMMP) (Slika 11).

IBMP je najzastupljeniji i najznačajniji metokspirazin u grožđu i vinu te najviše utječe na aromu vinu, s obzirom na činjenicu da se njegove koncentracije obično nalaze iznad praga detekcije (Sala i sur. 2004). Vina kojima imaju visok sadržaj IBMP-a imaju vegetalnu aromu te mogu zamaskirati voćne arome (Falcao i sur., 2007), a obično se povezuju sa nedozrelim grožđem i vinima loše kvalitete (de Boubée i sur., 2000). Niske koncentracije metokspirazina pozitivno utječu na sortnu aromu bijelih vina 'Sauvignon bijeli', 'Chardonnay', 'Semillon' i 'Rizling rajnski' (Allen i sur. 1991), dok visoke koncentracije negativno utječu na aromu vina, dajući mu zelene note, što je posebno istaknuto u vinima crnih sorata, kao što su 'Cabernet sauvignon', 'Merlot' i 'Cabernet franc' (de Boubée i sur., 2002). Miris na zelenu papriku obično se povezuje sa višim koncentracijama IBMP-a, a arome na grašak i šparoge na koncentracije IPMP-a (Allen i Lacey, 1997).

Metokspirazini se akumuliraju se u različitim organima vinove loze, a njihova sinteza i sadržaj u grožđu i vinu ovisi o različitim klimatskim parametrima (temperatura zraka, sunčevo osvjetljenje, vlažnost zraka), sorti vinove loze, tipu tla, stupnju dozrelosti grožđa te o različitim ampelotehničkim zahvatima i tehnikama vinifikacije (Sidhu i sur., 2015). U bobicama se sadržaj IBMP-a povećava sve do 2 do 3 tjedna prije početka šare grožđa, nakon čega sadržaj počinje padati, prvenstveno radi povećanja volumena bobice, te je u vrijeme berbe iznosi samo 5 do 10 % od ukupnog sadržaja prije šare (Ryona i sur., 2010).



Slika 11. Strukturne formule različitih metokspirazina identificiranih u grožđu i vinu (izvor: Lei i sur., 2018.)

### 2.4.3. Tiolni spojevi

Polifunkcionalni tioli spadaju u skupinu hlapljivih organosumpornih spojeva koji, osim tiolne (-SH) skupine, sadrže i neku drugu funkcionalnu skupinu (npr. hidroksilnu, karbonilnu, itd.) te spadaju u skupinu spojeva koji daju sortnu aromu vinu. Polifunkcionalni tioli (ili merkaptani) nalaze se u grožđu u vezanom obliku, potječu od masnih kiselina i za njih su vezani glutation ili cistein. Do danas je u grožđu i vinu identificirano dvadesetak spojeva iz ove skupine spojeva, koji su sadržani u vrlo niskim koncentracijama (nižim od 1 ng/L) (Coetzee i du Toit, 2012), gdje pridonose vegetativnim i voćnim aromama (Alem i sur., 2019). Najvažniji spojevi iz skupine polifunkcionalnih tiola su 4-MMP (4-metil-4-merkaptopentan-2-on), 3-MHA (3-merkaptotioheksil-acetat), 3-MH (3-merkaptotioheksan-1-ol) i 4-MMPOH (4-merkaptotio-4-metilpentan-2-ol) (des Gachons i sur., 2000) (Slika 12). U vinu nastaju cijepanjem ne-mirisnih prekursora sadržanih u grožđu i moštu od strane kvasaca tijekom alkoholne fermentacije, pomoću enzima liaze koja cijepa vezu ugljik-sumpor (Roland i sur., 2011). Sama njihova prisutnost u grožđu i vinu iznad praga detekcije može poslužiti u kemotaksonomske svrhe, zbog toga što utječe na sortnu prepoznatljivost vina.

Polifunkcionalni spojevi doprinose aromi mnogih biljaka poput marakuje, crnog ribiza, češnjaka i šparoga (Lin i sur., 2019; Swiegers i sur., 2005). Arome koje polifunkcionalni tioli daju vinima opisuju se kao arome tropskog voća, a tu se najviše ističu spojevi 4-merkaptotio-4-metilpentan-2-on (4MMP), koji daju arome marakuje i šimišira te 3-merkaptotioheksan-1-ol (3MH) i 3-merkaptotioheksil acetat (3MHA), odgovorni za aromu grejpa, citrusa i marakuje i spoj 3-merkaptotioheksan-1-ol (3-MH), koji daje miris na crni ribiz (Roland i sur. 2011). 4-merkaptotio-4-metilpentan-2-ol (4MMPOH) također može pridonijeti aromi agruma, marakuje i grejpa, iako je njegova organoleptička uloga ograničena zbog sadržaja u vinu koja rijetko prelazi njen mirisni prag od 55 ng/L (Coetzee i sur. 2012).



Slika 12. Strukturne formule 4-MMP-a (4-metil-4-merkaptopentan-2-on), 3-MHA-a (3-merkaptotioheksil-acetat) i 3-MH-a (3-merkaptotioheksan-1-ol) (izvor: Coetzee i du Toit, 2012)

#### 2.4.4. Alifatski spojevi

U skupinu alifatskih spojeva spadaju alkoholi (izoamilni alkohol, feniletil alkohol, 1-heksanol, (E)-2-heksenol, 3-heksen-1-ol), masne kiseline (heksanska, nonanska, oktanska), esteri (acetatni esteri te etilni esteri), karbonilni spojevi- ketoni i aldehidi (heksanal, (E)-2-heksenal). Većinom nastaju tijekom fermentacije i različito doprinose aromama vina.

##### *Alkoholi i aldehidi*

C6 alkoholi i aldehidi su skupina spojeva koja potječu iz grožđa, ali mogu nastati i tijekom alkoholne fermentacije djelovanjem kvasaca. U bobicama grožđa aldehidi nastaju putem lipoksigenaze, gdje dolazi do oksidacije masnih kiselina pomoću lipoksigenaze (LOX) do hidrosiperoksida masnih kiselina, koji se pomoću hidrosiperoksid liaze razgrađuju do aldehida (Zhu i sur., 2012). C6 hlapljivi spojevi mijenjaju se iz acetatnih estera u aldehide i konačno u alkohole tijekom dozrijevanja grožđa (Kalua i Boss, 2009), ali i u vinu može doći do pretvorbe u odgovarajuće alkohole pomoću alkohol dehidrogenaze (Schwab i sur., 2008), te u estere (Dennis i sur., 2012). U bobicama grožđa tijekom dozrijevanja dolazi i do sinteze C9 aldehida, a njihov sadržaj u grožđu izuzetno je nizak. Najveći predstavnici C9 aldehida su nonanal i (E)-2-nonenal (Zhu i sur., 2012).

Mnogi čimbenici utječu na sadržaj C6 i C9 spojeva u grožđu, kao što su sorta, područje uzgoja, ampelotehničke mjere i okolinski uvjeti (Kalua i Boss, 2009; Schüttler i sur., 2015). Njihov sadržaj u grožđu značajno raste neposredno nakon šare, nakon čega slijedi pad sadržaja do berbe (Kalua i Boss, 2009). U vinima daju neugodnu travnatu aromu nezrelog voća (Koundouras, 2018), iako rijetko doprinose zelenom karakteru vina, s obzirom da se rijetko nalaze iznad mirisnog praga detekcije (Falchi i sur., 2019; Lin i sur., 2019). Osim što utječu na senzorna svojstva vina, C6 aldehidi i alkoholi mogu utjecati na otpornost biljke prema štetnicima (Schwab i sur., 2008). Alkoholi 2-feniletanol i benzil alkohol daju u vinu arome koje se opisuju kao voćne i cvjetne/ružine (Martin i sur., 2016).

##### *Hlapljive kiseline*

Hlapljive kiseline mogu nastati u grožđu, a njihova sinteza većinom se odvija prije šare grožđa. Ipak, većinom nastaju tijekom fermentacije kvasaca iz primarnih metabolita, tako da kiseline dugog lanca (C6 i više) nastaju iz masnih kiselina, kratke i razgranate alifatske kiseline nastaju iz aminokiselina, a octena kiselina nastaje iz šećera. Hlapljive kiseline u nižim koncentracijama pozitivno doprinose aromi vina, iako se generalno povezuju sa aromama sira, znoja i ukiseljenog povrća (Ilc i sur., 2016). Njihov sadržaj ovisi o sastavu mošta, sorti grožđa te uvjetima fermentacije (Robinson i sur. 2014).

Nezasićene C18 masne kiseline linolna i linolenska kiselina prekusori su u sintezi nekih hlapljivih spojeva kao što su C6 aldehid heksanal te alkohol heksanol. Hlapljive kiseline tijekom fermentacije mogu biti transformirane u estere koje utječu pozitivno na aromu vina (Ilc i sur., 2016). Octena kiselina od posebne je važnosti u proizvodnji određenih acetatnih estera, koji pozitivno utječu na aromu vina, dajući mu voćne arome, ali u povišenim koncentracijama daje vinu miris na ocat (Swiegers i sur., 2005). Heksanska kiselina u niskim koncentracijama pridonosi kompleksnosti arome vina, ali u višim koncentracijama vinu može dati užegli miris (Song i sur., 2015).

### *Esteri*

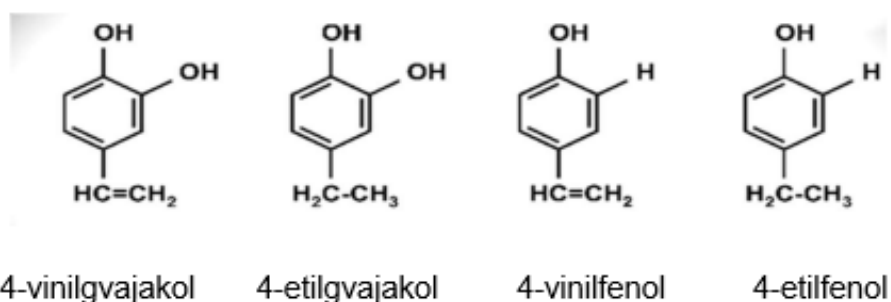
Većina estera nastaje djelovanjem kvasaca tijekom alkoholne fermentacije, te je njihova sinteza vezana uz metabolizam lipida i acetyl-CoA (Swiegers i Pretorius, 2005), no vrlo mala količina može nastati i tijekom rasta bobice, gdje sunčeva svjetlost igra najvažniju ulogu u njihovoj sintezi (Morrison i Noble, 1990). Vrlo mala promjena u njihovom sadržaju može imati snažan utjecaj na senzorna svojstva vina (Pineau i sur., 2009). Dvije glavne skupine estera su acetatni esteri te etilni esteri. U acetatne estere spadaju etil-acetat, izoamil-acetat (banana), izobutil-acetat (voćni mirisi) i fenil-acetat (ruže, med), a njihova sinteza najviše ovisi o aktivnosti enzima uključenih u njihovu biosintezu. Proizvodnja određenih acetatnih estera tijekom fermentacije može ovisiti i o prisutnosti određenih prekursora u grožđu, tako da su C6 spojevi heksan-1-ol, heksanal, (E)-2-heksen-1-ol i (E)-2-heksenal prekursori u sintezi heksil-acetata, a alkoholi oktanol i benzil alkohol prekursori u sintezi oktil-acetata i benzil-acetata (Dennis i sur., 2012).

U etilne estere srednje dugih masnih kiselina spadaju etil-heksanoat, etil-oktanoat, etil-propanoat i mnogi drugi, a njihov sadržaj većinom ovisi o sadržaju masnih kiselina iz kojih su nastale (Saerens i sur., 2010). Sadržaj etil-heksanoata i etil-oktanoata u snažnoj je pozitivnoj korelaciji sa sadržajem svojim prekursora, heksanske i oktanske kiseline (Ilc i sur., 2016). Veći sadržaj estera etil-propanoata, etil-2-metilpropanoata i etil-2-metilbutanoat povezuju se sa aromama kupine, dok se veći sadržaj etil-butanoata, etil-heksanoata, etil-oktanoata i etil-3-hidroksibutanoata povezuju sa aromama crvenog šumskog voća (Pineau i sur. 2009). Sintaza estera karakteristična je za rani razvoj bobica, zatim se sintetiziraju aldehidi, a alkoholi se većinom nakupljaju u zadnjoj fazi razvoja bobice (Kalua i Boss, 2009).

#### 2.4.5. Hlapljivi fenoli

Hlapljivi fenoli u grožđu kao što su feniletanol i fenilacetaldehid potječu iz l-fenilalanina, koji nastaje putem šikiminske kiseline (Robinson i sur. 2014), dok neki hlapljivi fenoli mogu nastati u grožđu i vinu kroz kontakt s vanjskim izvorima, kao što su izlaganje dimu (gvajakol i 4-metilgvajakol) ili odležavanjem vina u hrastovim bačvama (eugenol, 4-vinilgvajakol, vanilin) (Krstic i sur. 2015; Zhang i sur. 2015a) (Slika 13). *Brettanomyces* i *Dekkera* kvasci mogu utjecati na povećanje sadržaja hlapljivih fenola u vinima, razgradnjom hidroksicimetnih kiselina na vinil fenole i etil fenole, dajući vinu ugodne začinske arome. Zbog začinskih aroma, hlapljivi fenoli mogu igrati glavnu ulogu u senzornim karakteristikama neutralnih sorata vinove loze, tako da eugenol može dati mirise klinčića, a 4-vinilgvajakol i vanilin miris na vaniliju (Noguerol-Pato i sur., 2012). Etil fenoli vinu mogu dati negativne mirise na kožu i štalu (Cabrita i sur., 2012).

U grožđu se hlapljivi fenoli nalaze u mesu bobice i to u vezanom obliku, dok su slobodni oblici smješteni većinom u kožici bobice (Noguerol-Plato i sur., 2012). Maksimalan sadržaj hlapljivih fenola uočen je u vrijeme šare grožđa, nakon čega slijedi pad sadržaja tjedan dana nakon šare, te ponovno povećanje sadržaja tijekom dozrijevanja grožđa.



Slika 13. Strukturna formula nekih hlapljivih fenola (Šikuten i sur., 2020)



## 2.5. Klimatske promjene i vinogradarstvo

Temperatura zraka, sunčeva svjetlost, dostupnost vode u tlu i koncentracija CO<sub>2</sub> u atmosferi među najvažnijim su abiotičkim čimbenicima koji su pod utjecajem globalnog zatopljenja, a koji utječu na razvoj vinove loze i dozrijevanje grožđa (Rienth i sur., 2021).

Korištenje fosilnih goriva od početka industrijske revolucije (1750-ih godina) utjecalo je na kontinuirani rast koncentracije atmosferskog stakleničkog plina CO<sub>2</sub>. Koncentracija CO<sub>2</sub> porasla je sa 300 ppm, kolika je bila u ranim 1960-ima kada su započela sustavna atmosferska mjerenja, na 400 ppm, koliko je u današnje vrijeme i, ovisno o budućim scenarijima emisije CO<sub>2</sub>, do kraja dvadeset prvog stoljeća doseći će vrijednosti između 600 (umjereni scenarij) i 1000 ppm (najgori mogući scenarij) (IPCC, 2013). To povlači za sobom porast temperature zraka, za koji se očekuje da će biti u rasponu od 2 do 4,8 °C (IPCC, 2013; 2018). U nedavnom istraživanju Morales-Castilla i sur. (2020) prikazano je da će povećanjem temperature zraka od 2 °C do kraja stoljeća, 56 % trenutnih vinogradarskih područja postati klimatski neprikladno za vinogradarstvo, dok povećanjem temperature zraka za 4 °C, taj postotak narasti na 85 %.

Navedene promjene u plinskom sastavu atmosfere u budućnosti će utjecati i na količinu i sastav sunčevog zračenja koje dopire do Zemljine površine. Ultraljubičasto (UV) zračenje (valne duljine od 100 do 400 nm) igra ključnu ulogu u fiziologiji različitih biljaka, sisavaca i ljudi, te kopnenih ekosustava, a na UV-B zračenje koje dopire do Zemljine površine najviše utječe plinoviti sastav atmosfere. Ozonski sloj u gornjoj stratosferi apsorbira većinu UV zračenja, a zadnjih 40 godina postaje jako degradiran tvarima koje oštećuju ozon kao što su klorofluorouglijci (freoni- CFC), što je uzrokovalo značajan porast UV-B zračenja koje dopire do Zemlje površine.

Visoka i iznenadna izloženost grozdova sunčevoj svjetlosti može dovesti do fotooksidativnog oštećenja i opekline od sunca, osobito kada je temperatura okoline previsoka. Opekline od sunca mogu utjecati na sastav grožđa, što može dovesti do značajnih ekonomskih gubitaka zbog smanjenja prinosa i kvalitete grožđa. Iako je sunčevo zračenje ključno za razvoj vinove loze i dozrijevanje grožđa, prekomjerno sunčevo zračenje može rezultirati proizvodnjom reaktivnih vrsta kisika (engl. ROS- *reactive oxygen species*) i vodikova peroksida koji može oštetiti fotosustav i uzrokovati fotooksidaciju i peroksidaciju membranskih lipida. Bobica grožđa je razvila prilagodbe za privikavanje i ublažavanje učinaka prekomjernog sunčevog zračenja, koji uključuje i nakupljanje sekundarnih metabolita (Gambetta i sur., 2022).

Sekundarni metaboliti karotenoidi i polifenoli prirodni su biljni pigmenti koji imaju veliku ulogu u fotosintezi i fotozaštiti. Akumuliraju se u fotosintetskim tkivima kao dio fotosustava II kako bi zaštitili tkiva od oštećenja svjetlom. Kada fotosinteza proizvede previše kisika kao odgovor na povećani intenzitet svjetla, on postaje toksičan stvaranjem slobodnih radikala, pa karotenoidi, osobito lutein i  $\beta$ -karoten, djeluju kao hvatači singletnog kisika (Hirschberg, 2001). Oni također sudjeluju u raspršivanju viška svjetlosne energije i njenom pretvaranju u toplinu, pretvarajući violaksantin u zeaksantin putem anteraksantina u takozvanom ksantofilnom ciklusu, procesu kontroliranom povećanim intenzitetom svjetlosti (Hirschberg, 2001).

Prisutnost konjugiranih dvostrukih veza u strukturi flavonola pogoduje apsorpciji niskoenergetskog zračenja, prije svega UV zračenja. UV zračenje aktivira niz enzima u fenilpropanoidnom putu, a nekoliko je istraživanja potvrdilo značajno povećanje sadržaja navedenih spojeva u grožđu izloženom suncu (Kolb i sur., 2003). U novije vrijeme se pokazalo kako su i hlapljivi aromatski spojevi (npr. terpeni, alkoholi i aldehidi) također uključeni u zaštitu grožđa od fotooksidacije, te da oni također mogu djelovati kao antioksidansi i sredstva za zaštitu od sunčevog zračenja (He i sur., 2020; Young i sur., 2016).

Klimatske promjene imaju veliki utjecaj na globalnu vinsku industriju. Promjenjivi klimatski uvjeti utječu na fiziologiju i fenologiju vinove loze, a veća učestalost toplinskih i vodenih stresova imaju posljedice na kvalitetu grožđa i vina (Sadras i Moran, 2012; Sadras i sur., 2013). Među najznačajnijim posljedicama klimatskih promjena su visoke temperature u vrijeme dozrijevanja grožđa, ranija berba, povišeni sadržaj šećera koji dovodi do visoke razine alkohola u vinu (van Leeuwen i Darriet, 2016) te niži sadržaj ukupnih kiselina (Keller, 2010), što dovodi do gubitka tipičnosti i terroirskog izražaja (van Leeuwen i Darriet, 2016).

Ubrzano nakupljanje šećera, a samim time i odvajanje nakupljanja šećera i početka nakupljanja antocijana, ostaje jedna od najizazovnijih posljedica klimatskih promjena (Sadras i Moran, 2012). Grožđe podvrgnuto toplinskom i vodenom stresu također pokazuje viši stupanj smrti stanica mezokarpa te smanjenje prinosa zbog smežuranja bobica. Visoke temperature zraka dovode i do pojave prezrelih aroma u vinima crnih sorata grožđa, kao što su arome pekmeza i suhih šljiva, što dovodi do zaključka da će daljnjim povećanjem temperature zraka zbog klimatskih promjena povećati percepcija prezrelih voćnih nota, kao što se sada događa u vrućim godinama (Pons i sur., 2017). Zato u pitanje sve više dolaze tradicionalni postupci u vinogradarskoj i vinarskoj proizvodnji, kao i tipičnost sortimenta, senzornih karakteristika i stila vina pojedinih vinogradarskih regija.

Zbog toga će se vinogradarska proizvodnja morati prilagoditi novim klimatskim prilikama, u vidu korištenja novih tehnika uzgoja, otpornih podloga i sorata, ampelotehničkih zahvata, promjenom sortimenta i stila vina, ali i pronalaženje novih regija za proizvodnju određenih stilova vina.

Temperatura zraka je glavni pokretač fenologije vinove loze i njezino povećanje pospješuje vegetativni i reproduktivni ciklus vinove loze i posljedično pomiče dozrijevanje grožđa na najtoplije mjeseci u godini (van Leeuwen i Destrac-Irvine, 2017). Osim izravnog utjecaja na fiziologiju biljaka, više temperature zraka mogu dovesti do povećanja evapotranspiracije i povećanja potreba loze za vodom tijekom vegetacijske sezone. Zajedno s predviđenim promjenama u količini oborina, mogu se očekivati ozbiljnija sušna razdoblja koja su već primjećena u većini vinogradarskih regija (Schultz, 2016).

Utjecaj suše na razvoj bobica ovisi o intenzitetu i trajanju stresa kao i fenofazi rasta i razvoja loze. Stres ozrokovan sušom tijekom prve faze rasta ima najveći utjecaj na konačni volumen bobica, a time i prinos (Ojeda i sur., 2001). U fazi dozrijevanja grožđa, nedostatak vode može utjecati na sintezu flavonoida, posebno antocijana, u stanicama kože bobice (Chorti i sur., 2016; Koundouras, 2018.). Poznato je da je umjereni deficit vode, kada vodni potencijal lista prije zore iznosi  $-0,3$  do  $-0,5$  MPa, povoljan i pridonosi kvaliteti vina, što posebno vrijedi za crne sorte grožđa (Van Leeuwen i sur., 2009; Zufferey i sur., 2017).

Učinak suše na hlapljivi sastav grožđa manje je očit u odnosu na polifenolni sastav grožđa. U istraživanjima Bindon i sur. (2007), Brillante i sur. (2018), Koundouras i sur. (2009) i Song i sur. (2012), prikazan je pozitivan odnos između povećanja deficita vode i sadržaja C13-norizoprenoida kao što su  $\beta$ -damascenon,  $\beta$ -ionon i TDN u crnim sortama grožđa. U istraživanju Talaverano i sur. (2017), C6 spojevi (heksanal, *trans*-2-heksenal i 1-heksanol), hlapljivi fenoli, etil esteri i laktoni također su pokazali povećanje sadržaja u vinu u uvjetima nedostatka vode, za razliku od Songa i sur. (2012), koji su izvijestili o smanjenju sadržaja navedenih spojeva u uvjetima deficita vode u grožđu sorte 'Merlot'.

Nekoliko je istraživanja pokazalo povećanje sadržaja monoterpena kao što su limonen, linalol, geraniol i citronelol pod blagim do umjerenim vodnim stresom (Brillante i sur., 2018; Kovalenko i sur., 2021; Savoi i sur., 2016; Schüttler i sur., 2015), što je povezano s povećanom ekspresijom gena zaslužnih za sintezu terpena (Savoi i sur., 2016). Jedan od spojeva arome čiji je sadržaj u vinu u negativnoj korelaciji s umjerenim deficitom vode je seskviterpen rotundon (Geffroy i sur., 2014), povezan s notama crnog papra u vinima sorte 'Syrah'.

Postoje mnoga istraživanja prilagodbe posljedicama klimatskih promjena uvođenjem modificiranih ampelotehničkih i agrotehničkih zahvata u vinogradu, kao što su tehnika forsiranja (engl. *crop forcing*) (Oliver-Manera i sur., 2022), kasna zimska rezidba (Pallioti i sur., 2017; Zheng i sur., 2017), djelomična defolijacija provedena nakon šare u ili iznad zone grozdova (Caccavello i sur., 2017; Lu i sur., 2022; Pallioti i sur., 2013; Tessarin i sur., 2022), primjena auksina (Böttcher i sur., 2022) te primjena deficitarnog navodnjavanja tijekom rasta bobice ili pri kraju dozrijevanja grožđa (Palai i sur., 2022; Previtali i sur., 2021).

Zbog visokih temperatura tijekom dozrijevanja grožđa koji utječu na kvalitetu grožđa, u istraživanju Tessarin i sur. (2022) primijenio se ampelotehnički zahvat pozicioniranja mladica prema dolje u obliku tzv „polu-balerine“ (engl. *semi-ballerina*) kod VSP sustava uzgoja (engl. *vertical shoot positioning*), kako bi došlo do većeg zasjenjivanja grozdova u najtoplijim satima i smanjilo rizik od oštećenja grozdova. Uklanjanjem funkcionalnih listova iznad zone grozdova nakon šare mijenja se omjer lisne površine i prinosa, što može utjecati na smanjenje sadržaja šećera u grožđu, te alkohola u vinu, sa ili bez utjecaja na sadržaj polifenola, antocijana i hlapljivih spojeva u grožđu i vinu (Lu i sur., 2022; Pallioti i sur., 2013; Poni i sur., 2013; Zhang i sur., 2017b).

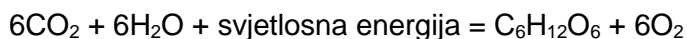
Kako bi se umanjili učinci visokih temperatura zraka na dozrijevanje grožđa, predloženo je nekoliko ampelotehničkih zahvata u vinogradu kako bi se odgodila fenologija vinove loze te pomaknulo dozrijevanje grožđa na hladnije mjesece. Neke od tehnika su kasna zimska rezidba i tehnika forsiranja (eng. *crop forcing*). Kasna zimska rezidba podrazumijeva odgađanje početka pupanja, pod pretpostavkom da će to odgoditi fenologiju vinove loze te dozrijevanje grožđa, tj. uzrokovati pomak faze sinteze šećera i polifenola na hladniji period godine, nakon nastupa visokih ljetnih temperatura, što može dovesti do poboljšanja kemijskog sastava grožđa (Pallioti i sur., 2017), dok tehnika forsiranja (engl. *crop forcing*) utječe na fenologiju vinove loze, „tjerajući“ lozu da započne novi ciklus vegetativnog i generativnog rasta, kako bi izbjegla dozrijevanje grožđa u periodu najtoplijih ljetnih mjeseci, te se pokazala da poboljšava kvalitetu grožđa odgađanjem datuma berbe do dva mjeseca. Tehnika forsiranja uključuje snažno orezivanje od sredine proljeća do ranog ljeta, uklanjanjem svih listova i grozdova, a na preostalim mladicama ostavlja se ukupno oko 2-6 pupova. Rezultat je prekid mirovanja u preostalim pupovima, što dovodi do novog vegetativnog i reproduktivnog ciklusa. Međutim, prinos je obično smanjen, što se pripisuje niskoj dostupnosti asimilata trsu ubrzo nakon forsiranja i vjerojatno nepotpunom formiranju cvatova (Oliver-Manera i sur., 2022).

## 2.6. Mikroklimat trsa i njegov utjecaj na sintezu polifenolnih i hlapljivih spojeva u grožđu

Mikroklimat trsa predstavlja sunčevo zračenje, temperaturu zraka, relativnu vlažnost zraka, vjetar i evaporaciju zone grožđa, koji snažno utječu na fiziologiju vinove loze, prinos, kvalitetu grožđa te mogućnost pojave gljivičnih bolesti (Smart, 1985). Mikroklimatski uvjeti zone grožđa ovise o orijentaciji redova (Hunter i sur., 2016; Minnaar i sur., 2022), ampelotehničkim zahvatima (Smart, 1985) i bujnosti vinove loze (Asproudi i sur., 2016). Čimbenici poput karakteristika tla, vodnog statusa i stanja hranjiva u tlu mogu utjecati na bujnost loze, što također utječe na izloženost grozdova sunčevoj svjetlosti, a pritom i na kvalitetu grožđa (Smart, 1985). Za razliku od mikroklimata, mezoklimat predstavlja klimu određenog vinogorja, položaja ili vinograda, mjeri se na visini od 2 m i ovisi o nadmorskoj visini, nagibu terena i udaljenosti od vodenih površina, a obično se mjeri na standardnim meteorološkim stanicama.

### 2.6.1. Sunčevo zračenje i fotosinteza

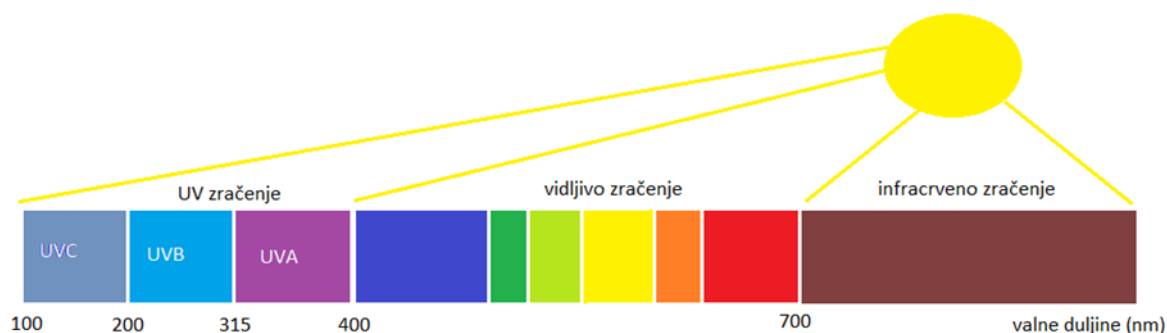
U procesu fotosinteze svjetlosna se energija pretvara u kemijsku energiju pomoću koje se ugljični dioksid iz atmosfere i voda iz tla povezuju u organske spojeve, tj. ugljikohidrate.



Kroz proces fotosinteze ugljikohidrati u biljkama stvaraju se tijekom dana, a energija se stvara disanjem, koje se događa tijekom dana i noći. Tijekom disanja dio ugljikohidrata se koristi za proizvodnju energije koja pokreće druge biljne procese (npr. rast, unos hranjiva, dozrijevanje plodova). Biljke trebaju određenu količinu svjetlosne energije za optimalno provođenje procesa fotosinteze. Što je više svjetlosne energije, intenzivniji je proces usvajanja  $\text{CO}_2$  iz zraka. Intenzitet sunčevog zračenja kod kojeg je usvajanje  $\text{CO}_2$  iz zraka jednako njegovom trošenju u procesu disanja naziva se točka svjetlosne kompenzacije. Daljnje povećanje intenziteta zračenja dovodi do povećanja intenziteta fotosinteze, sve dok se ne dostigne svjetlosno zasićenje. Listovi loze obično dostignu svjetlosno zasićenje pri intenzitetu sunčevog zračenja od 700 do 1200  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , što je daleko iznad intenziteta zračenja tijekom bistrog dana (oko 2000  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), ali ispod intenziteta zračenja tijekom oblačnog dana (100-1000  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) (Keller, 2010).

Vidljiva svjetlost važna je za fotosintetsku aktivnost biljke te se još naziva fotosintetski aktivno zračenje (eng. PAR- *Photosynthetically active radiation*) (Slika 16). Većina fotosintetski aktivnog zračenja apsorbirana je od strane listova (85-90 %), a ostatak se reflektira na površini lista ili prenese kroz list.

Zeleni pigmenti klorofili u listovima snažno upijaju svjetlost u plavom (430 nm) i crvenom (680 nm) dijelu spektra, dok se zeleni dio spektra većinom reflektira ili prenosi kroz list u obliku difuznog zračenja te su zato listovi zelene boje. Više razine fotosintetski aktivnog zračenja potiču rast biljaka, a njegovo praćenje u vinogradu važno je kako bi se osiguralo da loza dobiva odgovarajući intenzitet zračenje za proces fotosinteze.



Slika 14. Valne duljine sunčevog zračenja važne za fiziologiju biljke

Sunčevo zračenje potrebno je i za proces transpiracije. Transpiracija je proces gdje voda usvojena iz tla od strane korijena putuje do listova gdje evaporira kroz organe koje zovemo puči. Puči su tijekom dana otvorene, a tijekom noći se zatvaraju. Intenzitet transpiracije ovisi o klimatskim uvjetima te je veći tijekom sunčanog i toplog dana, sa nižom relativnom vlažnosti zraka i umjerenim vjetrom. Puči se otvaraju i zatvaraju kao reakcija na sunčevu svjetlost. Kako raste intenzitet sunčevog zračenje i temperatura tijekom dana, a pada relativna vlažnost zraka, dolazi do povećanja transpiracije. Puči se djelomično ili sasvim zatvaraju kada u tlu nema dovoljno vode. Taj mehanizam štiti biljku od ekstremne neštašice vode u tlu. Listovi sa vanjske strane trsa primaju više sunčeve svjetlosti te jače transpiriraju od onih u unutrašnjosti trsa (Keller, 2010).

Za optimalan rast loze i dozrijevanje grožđa potrebno je osigurati što veću izloženost cjelokupne lisne površine sunčevoj svjetlosti. Kod slabije bujnih trsova, većina lisne površine te visoki postotak grozdova izložen je sunčevoj svjetlosti, dok je kod bujnih trsova većina listova i grozdova u sjeni koju rade vanjski listovi. Sunčeva svjetlost igra važnu ulogu u procesu fotosinteze te u stvaranju pigmenta u kožici bobice, stoga je važno osigurati otvorenost, prozračnost i eksponiranost trsa sunčevoj svjetlosti. S obzirom da sunčeva svjetlost utječe na razvoj pupova, zametanje bobica i dozrijevanje grožđa, zasjenjivanje unutrašnjosti trsa uvelike utječe na prinos i kvalitetu grožđa. Rodnost pupova ovisi o dnevnom trajanju visokog intenziteta sunčevog zračenja koje osvjetljava pupove, tako da je važno osigurati otvorenost i prozračnost unutrašnjosti trsa. Pojava gljivičnih bolesti i štetnika u vinogradu češća je u zasjenjenim uvjetima (Smart, 1985).

Temperatura i sunčevo zračenje, te ravnoteža između lisne površine i prinosa važni su parametri koji izravno reguliraju parametre dozrijevanja- šećere, organske kiseline i sekundarne metabolite u grožđu (Bergqvist i sur., 2001; Gregan i sur., 2012; Spayd i sur., 2002; Šebela i sur., 2017). Greer i Weedon (2013) pokazali su da viša temperatura zraka i izloženost sunčevoj svjetlosti mogu utjecati na brzinu fotosinteze, što može imati ozbiljne učinke na rast i dozrijevanje grožđa, kao i na sastav grožđa. Izlaganje grozdova sunčevom svjetlu značajno povećava nakupljanje polifenola i antocijana (Azuma i sur., 2012; Downey i sur., 2004; Matus i sur., 2009; Song i sur., 2015; Spayd i sur., 2002). Izlaganje sunčevoj svjetlosti pojačava ekspresiju strukturnih i regulatornih gena fenilpropanoidnog puta sinteze fenola (Carbonell-Bejerano i sur., 2014; Martínez-Lüscher i sur., 2014) te monoterpenских metaboličkih gena u bobicama grožđa (Friedel i sur., 2016).

Različiti klimatski uvjeti različito utječu na sastav i sadržaj hlapljivih spojeve u grožđu i vinu. Sunčevo osvjetljenje povećava sadržaj većine hlapljivih spojeva u bobicama grožđa, ali prekomjerna izloženost grozdova suncu, kao i njezina potpuna odsutnost, inhibiraju nakupljanje većine hlapljivih spojeva (Bureau i sur., 2000b; Young i sur., 2016; Zhang i sur., 2014).

Karotenoidi djeluju kao fotosintetski pigmenti i njihova sinteza u grožđu traje od ranih faza razvoja bobica pa sve do šare. Izlaganje grožđa sunčevoj svjetlosti povećava sadržaj karotenoida sve do šare, nakon čega utječe na njihovu razgradnju (Bureau i sur., 1998; Razungles i sur., 1996). Budući da su karotenoidi prekursori za sintezu norizoprenoida (Young i sur., 2012), veći sadržaj karotenoida i time veća dostupnost prekursora mogu dovesti do većeg sadržaja norizoprenoida u grožđu izloženom suncu (Mendes-Pinto, 2009). Mnoga su istraživanja rađena na temu utjecaja izloženosti grozdova sunčevoj svjetlosti na sadržaj norizoprenoida  $\beta$ -damascenona u grožđu, bilo da povećava njihov sadržaj (Feng i sur., 2015; Meyers i sur., 2013), ne utječu na njihov sadržaj (Marais i sur., 1992) ili pokazuje veći sadržaj u kontrolnom grožđu (Lee i sur., 2007). Istraživanja su pokazala da je sadržaj prekursora TDN-a i vitispirana znatno veći u grožđu izloženom suncu u usporedbi sa zasjenjenim grožđem (Lee i sur., 2007; Meyers i sur., 2013; Schüttler i sur., 2015).

Pojačano sunčevo osvjetljenje prije šare smanjuje akumulaciju metokspirazina, spojeva koji u višim koncentracijama grožđu i vinu daju zelenu notu (Gregan i Jordan, 2016; Koch i sur., 2012). Povećana osvjetljenost grozdova utječe na smanjenje akumulacije metokspirazina IBMP-a sve do pojave šare grožđa, nakon čega ne utječe na degradaciju tog spoja (Ryona i sur., 2008).

Izlaganje grožđa sunčevoj svjetlosti potiče stvaranje metokspirazina u nezrelom grožđu i fotodegradaciju metokspirazina u zrelom grožđu, a konačan sadržaj metokspirazina rezultat je ravnoteže između ova dva događaja (Hashizume i Samuta 1999).

Povećanje izloženosti grozdova sunčevoj svjetlosti u kasnijim fazama razvoja grožđa pozitivno utječe na povećanje sadržaja monoterpena i norizoprenoida, spojeva koji daju voćne i cvjetne arome vina, te smanjenje sadržaja metokspirazina i C6 spojeva u grožđu, spojeva povezanih sa zelenim i vegetalnim aromama u vinu (Bureau i sur., 2000a; Feng i sur., 2015; Kalua i Boss, 2009; Marais i sur., 1992; Wang i sur., 2020b; Young i sur., 2016; Zhang i sur., 2014). Linalol, geraniol i nerol, jedni od najznačajnijih predstavnika terpena, pokazali su visoku osjetljivost prema sunčevoj svjetlosti (Belancic i sur., 1997; Pascual i sur., 2017; Zhang i sur., 2017a). Jedan od monoterpena najosjetljivijih na sunčevo osvjetljenje je linalol. Sinteza linalola inhibirana je nedostatkom sunčeve svjetlosti, dok ponovno izlaganje sunčevoj svjetlosti potiče njihovu sintezu. S druge strane, glikozilirani oblici geraniola i nerola pokazali su veći sadržaj u kožici i mesu bobice grožđa u zasjenjenim uvjetima, a prekomjerno izlaganje sunčevoj svjetlosti može negativno utjecati na njihov sadržaj u grožđu (Zhang i sur., 2017a).

Grožđe koje raste u uvjetima slabe izloženosti sunčevoj svjetlosti ima usporeno dozrijevanje, niži sadržaj šećera i pH te višu ukupnu kiselost od grožđa koje raste u uvjetima visoke izloženosti sunčevoj svjetlosti (Smart, 1985). U zasjenjenim uvjetima također dolazi do smanjenja formiranja polifenolnih spojeva (flavonola, tanina i antocijana) te nekih hlapljivih spojeva (monoterpena, norizoprenoida, sortnih tiola), dok dolazi do povećanja sinteze nekih nepoželjnih hlapljivih spojeva, kao što su heksanal i (E)-2-heksenal, što utječe na kvalitetu grožđa i vina (Bureau i sur., 2000b; Joubert i sur., 2016; Kolb i sur., 2003; Marais i sur., 1992).

S druge strane, i vrlo visoke temperature i prekomjerno izlaganje grozdova suncu mogu usporiti dozrijevanje, smanjiti ukupnu kiselost i sintezu metabolita, posebno polifenolnih spojeva (Bergqvist i sur., 2001; Mori i sur., 2007b; Spayd i sur., 2002), te norizoprenoida i terpena (He i sur., 2020; Lecourieux i sur., 2017; Scafidi i sur., 2013), koji mogu utjecati na organoleptička svojstva vina (van Leeuwen i Darriet sur., 2016).



### 2.6.2. UV zračenje

Kvaliteta sunčevog zračenja također je bitan čimbenik u fiziologiji loze, jer biljkama trebaju određene valne duljine za optimalan rast. Lišće apsorbira sunčevo zračenje u vidljivom dijelu spektra (400-700 nm), UV zračenje te infracrveno zračenje (Slika 14). UV zračenje dijeli se na UV-A (320-400 nm), UV-B (280-320 nm) i UV-C (<280 nm) te predstavlja dio sunčevog spektra sa vrlo velikim biološkim efektom. UV-A i UVB jedine su komponente koje mogu doprijeti do površine Zemlje i utjecati na fiziologiju biljke. UV-A, zbog svoje zastupljenosti, ima značajnu ulogu u sintezi sekundarnih metabolita. Većina UV-B i UV-C zračenja apsorbira se od strane ozonskog omotača i nikada ne dolazi do Zemljine površine. Ipak, oko 0,5 % ukupnog sunčevog zračenja koje dolazi na Zemljinu površinu pripada UV-B zračenju. Količina UV zračenja mijenja se ovisno o nadmorskoj visini, zemljopisnoj širini, godišnjem dobu, dobu dana i oblacima (Matus, 2016).

UV-B zračenje uglavnom se smatra štetnim za biljku, jer utječe na degradaciju DNA i klorofila, smanjenje fotosinteze i rasta te uzrokuje oksidativni stres. Međutim, većina tih istraživanja provedena je u nerealnim uvjetima, s pretjerao visokim dozama UV-B zračenja (De-Castillo-Alonso i sur., 2020). Sorte vinove loze relativno su dobro prilagođene izlaganju UV zračenju i općenito pokazuju aklimatizaciju jer ekološki relevantne doze UV-B zračenja djeluju kao modulatori okoliša, regulirajući ekspresiju gena, metabolizam i rast.

UV zračenje ima veliki značaj za kemijski sastav i kvalitetu grožđa, jer neki polifenolni i hlapljivi spojevi imaju funkciju apsorpcije UV zračenja i zaštite biljke od njegovih štetnih učinaka (Berli i sur., 2010; Gil i sur., 2013; Joubert i sur., 2016; Kolb i sur., 2003). Mikroklimatski uvjeti, poput izloženosti suncu, posebno UV zračenju, i temperatura mogu povećati sintezu antocijana i flavonola (Del-Castillo-Alonso i sur., 2020; Sun i sur., 2023; Yin i sur., 2022), jer povećavaju aktivnost enzima koji sudjeluju u regulaciji njihovog nakupljanja (Downey i sur., 2003b; Mori i sur., 2007a). Među fenolima najviše se ističu flavonoli, čiji se sadržaj u kožici grožđa drastično povećava s povećanjem izloženosti grozdova sunčevoj svjetlosti, što je povezano s njihovom aktivnošću zaštite od UV zračenja i njihovom sposobnošću da smanje oksidativno oštećenje izazvano sunčevim osvjetljenjem (Downey i sur., 2004; Martínez-Lüscher i sur., 2014).

Većina istraživanja pokazuje kako UV-B zračenje ne utječe na sadržaj fenolnih kiselina (Carbonell-Bejerano i sur., 2014; Price i sur., 1995), vjerojatno zbog činjenice da se flavonoidi (od kojih su neki inducirani UV-B zračenjem) i fenolne kiseline natječu za iste prekursore u njihovim putovima biosinteze (Kolb i sur., 2001).

Sinteza monoterpena povezana je sa zaštitom grozdova od UV-B zračenja i drugih biotičkih i abiotičkih stresova (Gil i sur., 2013; Joubert i sur., 2016). S obzirom da terpeni posjeduju antioksidativna svojstva, moguće je kako je jedna od njihovih bioloških uloga djelovati kao antioksidans u starijim tkivima, te tako spriječiti oštećenja od UV zračenja. Odgovor biljke na UV zračenje također može povećati sadržaj sortnih tiola u grožđu (Kobayashi i sur., 2011). Pokazalo se da UV-B zračenje regulira metabolizam C6 spojeva u bobicama grožđa (Joubert i sur., 2016; Liu i sur., 2015), spojeva zaslužnih za negativne vegetalne i zelene note u vinu. U istraživanju Šuklje i sur. (2014), smanjenje UV zračenja utjecalo je na smanjenje sadržaja sortnih tiola, linalola, estera i masnih kiselina u vinu sorte 'Sauvignon bijeli', dok je u istraživanju Song i sur. (2015), povećanje UV zračenja utjecalo na povećanje sinteze 2-feniletil alkohola.

### 2.6.3. Temperatura zraka

Temperatura zraka ima značajan utjecaj na rast loze i dozrijevanje grožđa. Kako raste temperatura zraka, dolazi i do povećanja rasta mladica. Temperatura zraka tijekom dozrijevanja grožđa ima snažan utjecaj na sadržaj hlapljivih spojeva grožđa, regulirajući stvaranje prekursora arome, ali i njihovu razgradnju.

Više temperature zraka utječu na smanjenje vegetalnih i zelenih nota, a doprinose voćnim i cvjetnim notama. Vina proizvedena u hladnijim klimatima imaju veći sadržaj metoksipirazina te pokazuju više vegetalnih i zelenih aroma, kao što je to prikazano kod sorata 'Cabernet sauvignon' i 'Sauvignon bijeli' (Allen i sur., 1991; Falcao i sur., 2007). Ovisno o klimatskim uvjetima područja, Marais i sur. (1999) opisali su dva stila vina sorte 'Sauvignon bijeli'. Vina 'hladnijeg klimata' karakteriziraju arome zelene paprike i šparoga, a vina 'toplijeg klimata' karakteriziraju cvjetne arome i arome tropskog voća. Više temperature zraka mogu utjecati i na kemijski sastav grožđa sorte 'Syrah' uzgajane u toplijoj klimi, s manje paprenim (povezano s sadržajem rotundona) i više voćnih aroma (povezano sa sadržajem C13-norizoprenoida) (Zhang i sur., 2015b).

Temperatura zraka tijekom dozrijevanja grožđa ima snažan utjecaj na sadržaj metoksipirazina, kada u toplijim godinama dolazi do pada sadržaja metoksipirazina ispod praga detekcije i prije kraja dozrijevanja grožđa (Lacey i sur., 1991). Temperatura utječe na sadržaj C6 spojeva u grožđu, gdje se pokazalo kako sadržaj (E)-2-heksenala i heksanala negativno kolerira sa povećanjem temperature zraka od cvatnje do berbe (Lu i sur., 2022; Wang i sur., 2020b), dok sadržaj 1-heksanola, (Z)-3-heksen-1-ola, (E)-2-heksen-1-ola i 2-nonenala pozitivno kolerira sa povećanjem temperature zraka od pupanja do berbe te od šare do berbe (Lu i sur., 2022). Povećana izloženost grozdova suncu može dovesti do povećanja temperature bobica, što može utjecati na sadržaj terpena i norizoprenoida u grožđu (Alessandrini i sur., 2018; Gambetta i sur., 2022; Lee i sur., 2007; Wang i sur., 2020b). Sadržaj C13-norizoprenoida TDN-a (1,1,6-trimetil-1,2-dihidronaftalena), koji daje arome nalik kerozinu vinima sorte 'Rizling rajnski', općenito je veći u toplim klimatima (Marais i sur., 1992; Schüttler i sur., 2015).

Razlika između dnevnih i noćnih temperatura zraka također je važna jer može imati značajan utjecaj na fiziološke procese vinove loze (Kliewer i Torres, 1972). Visoke dnevne i noćne temperature mogu ograničiti razvoj boje, dok su optimalne temperature za sintezu antocijana dnevne temperature između 20 i 25 °C i noćne temperature između 10 i 15 °C (Jackson i sur., 1993; Kliewer i Torres, 1972; Yan i sur., 2020).

I dnevne i noćne temperature utječu na aromu grožđa i vina, gdje više dnevne temperature (do 30 °C) pogoduju stvaranju šećera i hlapljivih spojeva, a niske noćne temperature usporavaju respiraciju tijekom noći te usporavaju dozrijevanje, zadržavajući tvari arome i boje (Koundouras, 2018). Visoke temperature zraka mogu izmijeniti sastav antocijana, sa većom sintezom metoksiliranih i aciliranih oblika antocijana (Mori i sur., 2005; Tarara i sur., 2008; Yan i sur., 2020).

Niske temperature zraka (<10 °C) mogu negativno utjecati na fiziologiju loze i bobice, inhibirajući fotosintezu, rast loze te usporavajući degradaciju jabučne kiseline. To može imati negativne posljedice na dozrijevanje grožđa te skladištenje rezervi potrebnih lozi za sljedeću vegetacijsku godinu (Keller, 2010; Smart, 1985).

S druge strane, vrlo visoke temperature zraka (>35 °C) mogu utjecati na smanjenje rasta mladica, smanjujući intenzitet fotosinteze te dozrijevanje grožđa, tj. nakupljanje šećera, degradaciju jabučne kiseline te sintezu metabolita, posebno polifenolnih spojeva (Spayd i sur. 2002; Gametta i sur., 2022; Yan i sur., 2020). Istraživanje Pons i sur. (2017) na crnim sortama grožđa 'Merlot' i 'Cabernet sauvignona' pokazalo je da visoke temperature utječu na sintezu laktona, ketona i furanona, a arome koje one daju u vinu opisuju se kao arome pekmeza i suhih šljiva te prezrelog grožđa.

Grožđe koje raste u uvjetima direktne izloženosti suncu može doživjeti temperature i do 15 °C više od okolne temperature. Direktno osvjetljenje u kombinaciji s visokom temperaturom zraka može izazvati ožegotine na bobicama (Guidoni i sur., 2008b). S druge strane, listovi loze, kod kojih je mnogo snažniji proces transpiracije nego kod bobica, nikad se ne zagriju u tolikoj mjeri. Ako je loza dobro opskrbljena vodom i transpiracija teče nesmetano, temperatura listova može biti do 5 °C viša od temperature zraka. Tek kad biljka pati od nedostatka vode, temperatura listova se može podići za još nekoliko stupnjeva.

Aktivnost transkripcijskih gena povezanih sa sintezom karotenoida i C13-norizoprenoida, kao što je fitoen sintaza (VviPSY), koja katalizira prvi korak biosinteze karotenoida, te ostali geni koji kodiraju aktivnost enzima zaslužnih za sintezu norizoprenoida, smanjeni su izloženošću grozdova visokim temperaturama (Lecourieux i sur., 2017). Također se smatra da povišena temperatura može inhibirati nakupljanje terpena zbog povećanja gubitka isparavanjem (Scafidi i sur., 2013).

Od posebnog su interesa učinci temperature na biosintetski put fenilpropanoida, koji sudjeluju u biosintezi flavonoida (antocijana, flavonola i tanina) i stilbena. Neki su autori pokazali učinak visokih temperatura na smanjenje enzimske aktivnosti nekih ključnih enzima koji sudjeluju u biosintezi flavonoida, kao što su fenilalanin amonijak-liaza (PAL), koji je uključen u prvi korak biosinteze fenilpropanoida, i UDP-glukoza:flavonoid-3-O-glukoziltransferaza (UFGT), koja je uključena u posljednji i specifični korak biosinteze antocijana (Mori i sur., 2007a; Movahed i sur., 2016; Rienth i sur., 2016). Drugi autori pokazali su kako toplinski stres ne utječe na sadržaj flavan-3-ola ili tanina u kožici grožđa (Pastore i sur., 2017; Gouot i sur., 2019). Temperatura se povećava s povećanjem intenziteta svjetlosti, pa je teško potpuno razdvojiti učinke sunčeve svjetlosti i temperature na uočene promjene u sastavu bobica.

#### 2.6.4. Brzina vjetra, relativna vlažnost zraka i evaporacija

Dovoljna vlažnost tla, kao i vlaga zraka povećavaju toleranciju loze na visoke temperature, jer se povećanjem transpiracije snižava temperatura površine listova i smanjuju oštećenja izazvana visokim temperaturama. U idealnim uvjetima, relativna vlažnost zraka za vinovu lozu trebala bi se kretati oko 70-80 % (Smart, 1985).

Optimalna vlažnost zraka posebno je važna u određenim fenofazama razvoja loze. To posebno dolazi do izražaja u vrijeme cvatnje i oplodnje, kada višak oborina često dovodi do slabijeg oprašivanja i osipanja cvjetova, a time i do rehljavih grozdova, te sitnijih bobica, što u konačnici utječe na smanjenje prinosa. Veća količina oborina, najčešće popraćena i nižim temperaturama, također je nepoželjna u vrijeme dozrijevanja grožđa, jer dovodi do značajnog pada kakvoće grožđa. Osim toga, ako se veća količina oborina pojavi nakon dužeg perioda suše, često dolazi do pucanja bobica, a takve pukotine su odlična mjesta za razvoj gljivičnih bolesti, osobito *Botrytis*. Relativna vlažnost zraka unutar slabije bujnih trsova slična je onoj okolnog zraka, dok kod bujnih trsova prevelika lisna masa transpiracijom može povećati relativnu vlažnost zraka unutar trsa za 10 % u odnosu na relativnu vlažnost okolnog zraka (Keller, 2010).

Vjetar smanjuje akumulaciju vodene pare u tankom graničnom sloju sporijeg strujanja zraka iznad površine lista (eng. *leaf's boundary layer*), što potiče transpiraciju i omogućuje evaporacijsko hlađenje biljke. Ovo je posebno važno u toplijim klimatskim uvjetima, zbog toga što se list može puno brže zagrijati ukoliko brzina vjetra padne ispod 0,5 m/s. S druge strane, vjetrovi jačine iznad 2,5 m/s mogu utjecati na djelomično zatvaranje puči, što smanjuje gubitak vode, ali i utječe na smanjenje fotosinteze i povećanje temperature lišća (Keller, 2010).

Cirkulacija zraka unutar zone grožđa ovisi o orijentaciji redova u vinogradu te smjeru puhanja glavnih vjetrova (Smart, 1985). Vjetar koji puše paralelno sa smjerom pružanja redova uzrokuje manje turbulencije listova u odnosu na vjetar koji puše okomito na smjer pružanja redova, što može smanjiti gubitak vode, posebno u suhim klimatskim uvjetima, i smanjiti negativni utjecaj zatvaranja puči na fotosintezu. Prejaki vjetrovi (>6 m/s), uz ozljede na lozi (lomljenje mladica i listova), mogu uzrokovati smanjenje duljine mladice, veličine listova te broja puči, te mogu uzrokovati probleme u cvatnji, utječući i na prinos loze (Keller, 2010).

Slabije sunčevo zračenje, niže dnevne temperature zraka, viša relativna vlažnost zraka i smanjena cirkulacija zraka unutar bujnih trsova utječe na smanjenje evaporacijskog potencijala, što dovodi do sporijeg sušenja lišća i grozdova u unutrašnjosti trsova nakon kiše ili rose u odnosu na otvorenije i prozračnije trsove.

Takvi mikroklimatski uvjeti mogu rezultirati češćom pojavom gljivičnih bolesti. Bujniji trsovi mogu reducirati penetraciju pesticida u unutrašnjost trsa, što može daljnje komplicirati i otežavati provedbu zaštite loze. Ampelotehnički zahvati u vinogradu, kao što su uklanjanje lišća, mladica i zaperaka, mogu pomoći u smanjenju relativne vlažnosti zraka i povećanju cirkulacije zraka unutar zone grožđa te tako smanjiti pojavu gljivičnih bolesti u vinogradu (Wurz i sur., 2020).

## 2.7. Utjecaj djelomične defolijacije na mikroklimat trsa te prinos i kemijski sastav grožđa

Djelomična defolijacija u zoni grožđa jedan je od ampelotehničkih zahvata koja se koristi u cilju manipulacije mikroklimatom trsa, u vidu povećanja sunčevog zračenja i temperature u zoni grožđa (Feng i sur., 2015; Young i sur., 2016; Torres i sur., 2021), smanjenja bujnosti loze i povećanja cirkulacije zraka (Chorti i sur., 2018; English i sur., 1990), što utječe na smanjenje relativne vlažnosti zraka u zoni grožđa i smanjenje pojave štetnika i bolesti (English, 1989; Mosetti i sur., 2016; Van der Weide i sur., 2020; Wurz i sur., 2020).

Istraživanja o utjecaju djelomične defolijacije na mikroklimat trsa pokazala su kako je intenzitet sunčeve svjetlosti znatno veći unutar zone grožđa defoliranih u odnosu na kontrolne trsove (Bubola i sur., 2019; Feng i sur., 2015; Frioni i sur., 2017; He i sur., 2020; Lu i sur., 2022; Riesterer-Loper i sur., 2019). Povećanje sunčevog zračenja utječe na povećanje temperature zraka u zoni grožđa, te defolirani trsovi imaju višu temperaturu zraka u zoni grožđa u odnosu na kontrole trsove (Yue i sur., 2019).

Poboljšanjem mikroklimatskih uvjeta trsa i ravnotežom između omjera starijih, manje fotosintetski aktivnih listova prema mlađim, fotosintetski aktivnijim listovima (Intrieri i sur., 2008), djelomična defolijacija može poboljšati sastav grožđa povećanjem sadržaja polifenolnih i hlapljivih spojeva (Alatzas i sur., 2023; Bubola i sur., 2019; Hickey i sur., 2018; Pascual i sur., 2017; Sivilotti i sur., 2016;2017). Izloženost grozdova svjetlosti uzrokovanom djelomičnom defolijacijom može povećati aktivnost enzima koji sudjeluju u regulaciji sinteze flavonoida (Mori i sur., 2007a). Budući da veliki broj polifenola u vinima potječe iz grožđa, uklanjanje lišća može utjecati na sastav vina i organoleptička svojstva poput strukture, arome i boje (Cincotta i sur., 2021; Diago i sur., 2012a; Gambacorta i sur., 2022; Hickey i sur., 2018; Iorio i sur., 2022). U istraživanju Šuklje i sur. (2014), vina dobivena od grožđa iz tretmana djelomične defolijacije povezana s aromama tropskog voća, dok su vina dobivena od kontrolnog grožđa povezana s aromama zelene paprike, šparoga i trave.

Povećanje temperature zone grozdova uzrokovane djelomičnom defolijacijom dovodi do povećanja intenziteta disanja i smanjenja sadržaja ukupnih kiselina u grožđu (Alatzas i sur., 2023; Hickey i sur., 2018). Djelomična defolijacija u zoni grozdova povećava izloženost bazalnih pupova suncu (Wang i sur., 2020a) i potiče diferencijaciju pupova, što može dovesti do povećanja prinosa iduće vegetacijske godine (Sánchez & Dokoozlian, 2005).



Uklanjanjem lišća u zoni grozdova smanjuje se lisna površina trsa, što može izazvati tjeranje zaperaka. Ukoliko se zaperci ne uklone tijekom vegetacije, djelomična defolijacija može samo privremeno smanjiti bujnost loze, dok za par tjedana nakon tretmana lateralni rast može ponovno smanjiti dostupnost sunčeve svjetlosti grozdovima (Intrieri i sur., 2008; Lu i sur., 2022; Poni i sur., 2006).

Iako je učinak uklanjanja lišća u zoni grozdova na polifenolni sastav grožđa predmet mnogih istraživanja (Bubola i sur., 2017; Chorti i sur., 2018; Hickey i sur., 2018; Osrečak i sur., 2016), malo je istraživanja učinjeno o utjecaju djelomične defolijacije na hlapljivi sastav grožđa u crnim sortama grožđa (Feng i sur., 2015). Poboľšanjem mikroklimata trsa, uklanjanje bazalnog lišća potiče sintezu pozitivnih hlapljivih spojeva, poput monoterpena i C13-norizoprenoida (Alessandrini i sur., 2018; Feng i sur., 2015; Joubert i sur., 2016; Kwasniewski i sur., 2010; Pascual i sur., 2017; Young i sur., 2016), a dolazi do smanjenja sadržaja nekih hlapljivih spojeva, poput metokspirazina (Ferrari i sur., 2017; Gregan i Jordan, 2016; Ryona i sur., 2008; Sivilotti i sur., 2016; Šuklje i sur., 2012) i C6 spojeva (Komm i Moyer, 2015; Sun i sur., 2023). Uklanjanje lišća u zoni grozdova povećava intenzitet svjetlosti oko grozdova, potičući ekspresiju metaboličkih gena odgovornih za biosintezu hlapljivih spojeva ili njihovih prekursora u grožđu (Alatzas i sur., 2023; Alem i sur., 2019; Sivilotti i sur., 2017; Yue i sur., 2020). Djelomična defolijacija, ovisno o klimatskim uvjetima godine, različito utječe na sadržaj norizoprenoida TDN-a, vitispirana,  $\beta$ -ionona i  $\beta$ -damascenona (Feng i sur., 2015; Lee i sur., 2007; Ristic i sur., 2010; Schüttler i sur., 2015).

Uklanjanje lišća u zoni grozda može se izvoditi različitim intenzitetima te u različitim terminima- oko cvatnje, u vrijeme zatvaranja grozdova ili na početku šare (Cataldo i sur., 2021b; Feng i sur., 2015; King i sur., 2012; Yue i sur., 2019;2020; Verdenal i sur., 2019), te ovisno o tome može različito utjecati na sastav grožđa. Ranijim terminima provedbe djelomične defolijacije smatraju se termini prije i poslije cvatnje te u vrijeme zametanja bobica. U hladnijim klimatskim uvjetima obično se provodi na početku šare, gdje ne postoji zabrinutost zbog štetnog učinka viših temperatura na sadržaj antocijana (Bergqvist i sur., 2001; Spayd i sur., 2002). Na učinkovitost djelomične defolijacije snažno utječu klimatski uvjeti sezone (Bavaresco i sur., 2008; Cincotta i sur., 2021; Gambacorta i sur., 2022; Guidoni i sur., 2008b; Van der Weide i sur., 2020), gdje u toplijim klimatskim uvjetima djelomična defolijacija može izazvati opekline na grozdovima te potaknuti razgradnju antocijana i polifenola u kožici grožđa (Spayd i sur., 2002). Termin provedbe djelomične defolijacije igra važnu ulogu u sadržaju hlapljivih spojeva u grožđu, budući da se različiti hlapljivi spojevi sintetiziraju u grožđu u različito vrijeme tijekom dozrijevanja grožđa (Wang i sur., 2018).

### *Djelomična defolijacija provedena prije cvatnje*

Djelomična defolijacija provedena prije cvatnje dovodi do smanjenja u cvatnji, u smislu smanjenja dostupnosti asimilata cvatovima, i utječe na smanjenje prinosa (Diago i sur., 2012b; Intrieri i sur., 2008; Mataffo i sur., 2023; Pastore i sur., 2013; Verdenal i sur., 2018; Wegher i sur., 2022), koje se očituje u smanjenju mase bobice (Poni i sur., 2006; Verdenal i sur., 2018) i mase grozda (Hickey i Wolf, 2018). Djelomična defolijacija provedena prije cvatnje, zbog poboljšanja mikroklimatskih uvjeta, utječe na povećanje sadržaja šećera (Hickey i Wolf, 2018; Pastore i sur., 2013; Van der Weide i sur., 2018), smanjenje sadržaja ukupnih kiselina (Pallioti i sur., 2012), te utječe na povećanje sadržaja polifenolnih spojeva u grožđu (Hickey i sur., 2018; Van der Weide i sur., 2018; Verdenal i sur., 2018).

Defolijacija prije cvatnje može dovesti i do rastresitijeg grozda koji prima više sunčevog zračenja (Tello i Ibáñez, 2018; Wegher i sur., 2022), a intenzivnije strujanje zraka u periodu prije zatvaranja grozdova dovodi do smanjenja pojave gljivičnih bolesti (Mosetti i sur., 2016). Defolijacija prije cvatnje potiče kompeticiju između vegetativnih i generativnih organa za asimilatima. Dio fotosintetski aktivnog lišća uklanja se u vrijeme velike potrebe za ugljikom i dušikom od strane cvatova, tjerajući vinovu lozu da asimilata crpi iz rezervi. Posljedica toga je slabiji vegetativni rast loze u godini nakon defolijacije (Pallioti i sur., 2012). Na ovaj se način može kvalitetno regulirati prevelika bujnost trsa vinove loze.

S druge strane, vinova loza može pokazivati mehanizme fiziološkog oporavka od rane defolijacije, kao što su povećana asimilacija, veća proizvodnja zaperaka te sličan ili veći omjer lisne površine i prinosa u usporedbi sa nedefoliranim trsovima (Mataffo i sur., 2023; Poni i sur., 2006). Mehanizmi oporavka dijelom bi mogli objasniti zašto ograničenje u asimilaciji koje nameće rana defolijacija obično nema negativan utjecaj na dozrijevanje grožđa, te može čak i poboljšati sastav sekundarnih metabolita u grožđu (Hickey i sur., 2018; Van der Weide i sur., 2020).

U pogodnim klimatskim uvjetima rana defolijacija može biti korisna praksa za poboljšanje kvalitete grožđa poboljšanjem hlapljivog sastava grožđa (Sivilotti i sur., 2017), gdje su vina dobivena od grožđa gdje je primijenjena rana defolijacija imala veći intezitet voćnih i cvjetnih aroma u odnosu na kontrolu (Alessandrini i sur., 2018; Moreno i sur., 2017). Kada se izvodi u vrijeme cvatnje, djelomična defolijacija može dovesti do povećanja sadržaja terpena i norizoprenoida te smanjenja nepoželjnih spojeva aldehida heksanala i 2-heksanala u grožđu (Alessandrini i sur., 2018; Komm i Moyer, 2015; Yue i sur., 2020), te može utjecati na sadržaj alkohola, C6 spojeva, etilnih estera, acetata, hlapljivih kiselina i fenola, laktona i karbonilnih spojeva u vinu (Iorio i sur., 2022; Moreno i sur., 2017; Vilanova i sur., 2012).

### *Djelomična defolijacija nakon cvatnje i u vrijeme zametanja bobica*

Djelomična defolijacija u zoni grozdova nakon cvatnje utječe na mikroklimat trsa te na povećanje sadržaja polifenola, antocijana, monoterpena i C13-norizoprenoida u grožđu (Alatzas i sur., 2023; Cataldo i sur., 2021b; Chorti i sur., 2018; Georgiadou i sur., 2022), ali ne utječe na prinos po trsu ni masu grozda (Bubola i sur., 2019; Feng i sur., 2015; Hickey i Wolf, 2018; Kwasniewski i sur., 2010; Mosetti i sur., 2016; Verdenal i sur., 2018; Young i sur., 2016). Što se tiče utjecaja na sadržaj šećera i ukupnih kiselina, tj. na dozrijevanje grožđa, efekt je različit ovisno o sorti i okolinskim uvjetima proizvodnje (Alatzas i sur., 2023; Cataldo i sur., 2021b; Chorti i sur., 2018; Feng i sur., 2015; Georgiadou i sur., 2022; Mucalo i sur., 2022; Riesterer-Loper i sur., 2019).

Povećanje sadržaja polifenolnih spojeva kod djelomične defolijacije provedene neposredno nakon cvatnje događa se zbog povećanja intenziteta sunčevog zračenja u zoni grozdova i zbog relativnog povećanja sadržaja u kožici zbog smanjenja bobice (Hickey i sur., 2018). Kao rezultat, vina dobivena od takvog grožđa intenzivnijih su boja i zrelih polifenola te zadovoljavajuće razine alkohola i sadržaja ukupnih kiselina (Chorti i sur., 2018).

Djelomična defolijacija provedena u vrijeme zametanja bobica može utjecati na povećanje sadržaja C13-norizoprenoida, linalola i  $\beta$ -damascenona zbog povećane izloženosti grozdova sunčevoj svjetlosti (Verzera i sur., 2016). Uklanjanje bazalnih listova kada su grozdovi veličine graška utjecalo je na povećanje sadržaja slobodnog i vezanog oblika  $\beta$ -damascenona i nekih vezanih oblika terpena, ali nije utjecalo na sadržaj C6 spojeva u grožđu sorte 'Pinot crni' (Feng i sur., 2015).

U istraživanju Mucalo i sur. (2022), djelomična defolijacija provedena prije cvatnje i u vrijeme zametanja bobica utjecala je na smanjenje sadržaja terpena, estera, viših alkohola i aldehida u vinima sorte 'Maraština', uzgajanoj u mediteranskim uvjetima, u odnosu na djelomičnu defolijaciju provedenu na početku šare, dok je u istraživanju Cincotta i sur. (2021), djelomična defolijacija provedena u vrijeme zametanja bobica pokazala povećanje sadržaja hlapljivih alkohola, kiselina, terpena te estera u vinu sorte 'Merlot' također uzgajanoj u mediteranskim uvjetima.

### *Djelomična defolijacija na početku šare*

Fotosintetska aktivnost bazalnog lišća u vrijeme šare grožđa niža je u odnosu na srednje i apikalne listove (Tessarini i sur., 2022). Iz tog razloga, djelomična defolijacija provedena u vrijeme šare ima jaki utjecaj na osvjetljenost i temperaturu grozdova, dok je utjecaj na ravnotežu između lisne površine i prinosa manje izražen u odnosu na ranije termine defolijacije te ne dolazi do smanjenja prinosa i mase grozda (Feng i sur., 2015).

Djelomična defolijacija provedena na početku šare utječe na povećanje pH i smanjenje sadržaja ukupnih kiselina u vrijeme berbe (Duan i sur., 2022; Frioni i sur., 2017; Zhang i sur., 2017b) te na povećanje sadržaja šećera (Duan i sur., 2022; Osrečak i sur., 2016.). Izloženost grozdova direktnom sunčevom osvjetljenju na početku šare, kao i povećanje temperature u zoni grozdova, dovodi do smanjenja pojave gljivičnih bolesti (Tessarini i sur., 2020), ali i do povećanja sadržaja hlapljivih i polifenolnih spojeva u grožđu (Duan i sur., 2022; Osrečak i sur., 2016; Pascual i sur., 2017), ali u toplijim godinama i u toplijim klimatima može negativno utjecati na dozrijevanje grožđa (Spayd i sur. 2002; Yan i sur., 2020) te utjecati na smanjenje sadržaja norizoprenoida i terpena u grožđu (He i sur., 2020).

Prevelika izloženost grozdova suncu uzrokuje povećanje temperature u zoni grozdova, što može dovesti do ožegotina na bobicama i inhibirati akumulaciju antocijana (Pastore i sur., 2013; Spayd i sur., 2002). Također, izlaganje grozdova visokim temperaturama zraka i sunčevoj svjetlosti zbog djelomične defolijacija provedene u šari može promijeniti udio pojedinačnih glukoziliranih oblika antocijana, s povećanjem di-supstituiranih oblika antocijana, posebno cijanidin-3-O-glukozida, i smanjenjem tri-supstituiranih oblika antocijana, posebno malvidin-3-O-glukozida (Pastore i sur., 2013; Tessarini i sur., 2022; Torres i sur., 2021).

### 3. MATERIJALI I METODE RADA

#### 3.1. Proizvodne karakteristike vinogradarskog položaja Jazbina

Istraživanje je provedeno 2018. i 2019. godine na vinogradarsko-vinarskom pokušalištu Jazbina, Zavod za vinogradarstvo i vinarstvo, Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu (45°51'23,6"N, 16°00'24,9"E). Pokusni nasad nalazi se na 252 m.n.v. Redovi su postavljeni u smjeru sjeverozapad-jugoistok, a prosječni nagib terena je oko 10 %. Sorta Merlot posađena je 2005. godine, a cijepljena je na podlozi *Vitis berlandieri* x *Vitis riparia* SO4. Razmak između redova iznosi 2,1 m, a razmak između trsova 1,2 m, što čini sklop od 4000 trsova/ha. Visina stabla je 80 cm, a uzgojni oblik je dvostruki Guyot, gdje su rezidbom u zrelo ostavljena dva reznika i dva lucnja, što čini prosječno opterećenje od 20-24 pupa. Vršikanje je obavljeno u lag fazi vegetativnog rasta loze, kako ne bi došlo do zasjenjivanja grožđa.

Tlo je antropogeni pseudoglej, nastao na nagnutim terenima na matičnom supstratu pleistocenih ilovina. Po teksturi je to glina prilično nepovoljnih fizikalnih i kemijskih svojstava. Reakcija tla je slabo kisela, a humoznost slaba ili vrlo slaba. Postupkom pripreme tla za sadnju vinograda i kasnijom redovitom obradom i gnojidbom osnovna svojstva tla su znatno popravljena. Intenzivnom obradom i fertilizacijom došlo je do jake promijene položaja horizonata, kao i kemijskih i fizikalnih svojstava, pa su tla poprimila antropogeni karakter, povoljan za uzgoj vinove loze. Zbog duboke kultivacije (>40 cm), eluvijalni horizont (E), karakterističan za pseudoglejna tla, je postepeno nestao, a zamijenila ga je mješavina antropogenog (A) i eluvijalnog (E) horizonta. Agriluvijalni (Btg) horizont (50-90 cm) sadrži više glinenih čestica zbog ispiranja iz viših horizonata. Nastao je stagnacijom površinske vode zbog neprestanih promjena mokre i suhe faze, i zbog toga ga karakterizira mramoran izgled. Dublje slojeve tla (>160 cm) karakterizira laganija struktura s više čestica krupnog pijeska, koje sadrže znatno više organske tvari nego bilo koji horizont u plićim slojevima tla. Ta pojava može se povezati s poravnavanjem nekadašnjih terasa, prilikom čega je došlo do prevrtanja slojeva tla, pa su površinski slojevi pali na tu dubinu. Gornji horizonti redovito sadrže manje organske tvari, a prosječna vrijednost je 2,21 %. Prosječna pH vrijednost u površinskim slojevima tla je 6,08, a kreće se od 5,57 do 7,55. U dubljim slojevima nema značajnih razlika. Opskrbljenost biljci dostupnim hranjivima prilično je uniformna po dubini cijelog profila, s ipak nešto nižim vrijednostima u dubljim slojevima tla. Prosječne vrijednosti su 49 mg/kg za fosfor i 149 mg/kg za kalij (Bažon i sur., 2013).

### 3.2. Karakteristike pokusne sorte 'Merlot' (*Vitis vinifera* L.)

Sorta 'Merlot' porijeklom je iz Francuske, ali je proširena u gotovo svim vinogradarskim zemljama svijeta, te drži treće mjesto po zastupljenosti, iza sorata 'Cabernet sauvignon' i 'Sultanina', sa ukupno 266 tisuća hektara vinograda. U Hrvatskoj se uzgaja na 806 ha, a najviše je zastupljena u Istri, sjevernim područjima Hrvatske te Dalmaciji. Po zastupljenosti je četvrta po redu, nakon 'Graševine', 'Malvazije istarske' i 'Plavca malog' (APRR, 2022).

Vršci mladica su vunasti, zelenkasto bijeli; mladi listići na rubovima su ružičasti. Cvijet je dvospolan. Odrasli list je okruglast, srednje velik ili veći; trodijelan do peterodijelan. Postrani gornji sinus najviše do polovine plojke, na dnu okrugli, kadšto s jednim zubom; postrani donji sinusi manjkaju ili su mali; sinus peteljke malo otvoren. Lice je zagasito zeleno, naličje rijetko paučinasto u čupercima. Plojka je žljebasto naborana; srednji dio plojke je širok; rebra dobro istaknuta. Glavni i sporedni zupci su nejednaki, široki često oštrij. Plojka je dosta čvrsta. Peteljka lista je duga kao glavno rebro, jaka, malo crvenkasta; list u jesen na rubovima pocrveni u mrljama. Zreo grozd je srednje veličine, valjkast, kadšto sa sugrozdićem na koljencu; peteljka grozda je duga, do koljenca odrvenjela. Zrele bobice su nejednake, okruglaste, modrocrno, modrosivo oprasene; kožica je srednje debljine, izdržljiva; meso srednje gustoće; sok malo crvenkast, sladak, ugodna okusa. Rozgva je srednje debljine ili deblja; članci kratki ili srednje dugi; smeđecrvene boje (kao drvo mahagonij), ljubičasto oprasena, s crnim točkama. Rast je snažan, poluuspravan.

'Merlot' je sorta srednje bujnosti, dobre i stabilne rodnosti. Kakvoća mu ovisi o položaju uzgoja. Traži svjež, toplu tlu, na suhim ocjeditim položajima. Ne podnosi vlagu zbog truljenja grožđa i bujnog razvitka. Prikladan je za umjerenu klimu, ako jesen nije redovito kišovita. U cvatnji je osjetljiv. Dozrijeva u drugom razdoblju. Podnosi različite sustave uzgoja, s kraćim ili duljim rezom rodno drva. Rodnost je srednja. Otpornost prema smrzavanju je srednja, a prema peronospori i truleži grožđa slaba. Srodnost s američkim podlogama je dobra (Mirošević i Turković, 2003).

### 3.3. Postavljanje pokusa

Zahvat djelomične defolijacije obavio se u četiri termina koja predstavljaju četiri tretmana, gdje su se sa svake mladice skidala 4 bazalna lista i svi zaperci, dok je peti tretman kontrola, na kojoj nije proveden zahvat djelomične defolijacije. Termini u kojima se obavio zahvat djelomične defolijacije su 1. neposredno prije cvatnje vinove loze (faza 8. po modificiranoj Eichhorn-Lorenz (E-L) skali), 2. u vrijeme zametanja bobica (faza 27. po modificiranoj Eichhorn-Lorenz (E-L) skali), 3. u vrijeme zatvaranja grozdova (faza 31. po modificiranoj Eichhorn-Lorenz (E-L) skali) i 4. na početku šare grožđa (faza 35. po modificiranoj Eichhorn-Lorenz (E-L) skali) (Coombe, 1995) (Prilog 4-7). Ranijim terminima provedbe djelomične defolijacije smatraju se termini prije cvatnje i u vrijeme zametanja bobica. Pokus je postavljen po slučajnom bloknom rasporedu u tri ponavljanja. Unutar ponavljanja, svaki tretman obuhvatio je tri susjedna trsa, što znači da je svaki tretman zastupljen sa 9 trsova. To ukupno čini 45 pokusnih trsova.

### 3.4. Karakteristike mezoklimata i mikroklimata

Podaci o dnevnim srednjim temperaturama zraka i količini oborina za obje sezone dobiveni su s meteorološke stanice smještene u vinogradu. Instrumenti za mjerenje temperature, relativne vlažnosti zraka i ukupnog sunčevog UV-A i UV-B zračenja smješteni su po jedan set u zoni grožđa gdje je tretman djelomične defolijacije proveden u vrijeme zametanja bobica te u kontrolnom trsu. Na navedeni način obuhvaćene su razlike u meteorološkim čimbenicima u relevantnim fenofazama (rast i razvoj bobice, šara, dozrijevanje grožđa) u kojima se odvijaju fiziološki i biokemijski procesi važni za osnovni kemijski sastav mošta i sadržaj hlapljivih i polifenolnih spojeva u kožici bobica.

Relativna vlaga zraka, temperatura zraka i UV-A + UV-B zračenje zone grožđa oba tretmana kontinuirano su se pratili tijekom vegetacije (zabilježena mjerenja svaku sekundu). Instrumenti su postavljeni 0,8 m iznad tla te su izravnani duž srednje visine zone grožđa. Srednje vrijednosti svih mikroklimatskih mjerenja temeljile su se na prosječnim 60-minutnim vrijednostima izračunatim iz podataka prikupljenih tijekom sezone.

Kako bi se pokazao učinak djelomične defolijacije na mikroklimat trsa, izračunati su satni prosjeci od vremena uklanjanja bazalnog lišća (od faze zametanja bobica) i podijeljeni u dva fenološka intervala - od faze zametanja bobica do početka šare te od početka šare do berbe. Prikupljeni podaci o temperaturi zone grožđa podijeljeni su na srednje satne temperature tijekom dana (od 8:00 do 19:00) i noći (od 19:00 do 08:00) i odvojeni po temperaturnim intervalima.

Vrijeme je izraženo kao univerzalno koordinirano vrijeme UTC + 0. Rasponi dnevnih temperatura bili su <20 °C, između 20 i 25 °C, između 25 i 30 °C i > 30 °C, a rasponi noćnih temperatura <10 °C, između 10 i 15 °C, između 15 i 20 °C i >20 °C. Za to je razdoblje izračunat postotak vremena u kojem je grožđe bilo izloženo navedenim temperaturama u različitim fenofazama vinove loze, koji su važni za rast i razvoj vinove loze i dozrijevanje grožđa.

Količina UVA + UVB zračenja izmjerena je Kipp & Zonen SUV5 UV radiometrom, temperatura i relativna vlaga s YOUNG modelom 41382 RH/T senzor sa štitom od zračenja. Svi su senzori povezani s datalogatorom Campbell Scientific CR-3000 3G sa solarnim punjenjem.

### 3.5. Opažanje fenofaza, lisna površina i uzorkovanje grožđa

Početak glavnih fenofaza u biološkom ciklusu vinove loze određen je vizualno. Da bi se utvrdio početak fenofaze, ona je morala biti registrirana na najmanje 50 % promatranih trsova i organa vinove loze (pupovi / mladice / grožđe). Pupanje je zabilježeno kad su bili vidljivi vrhovi mladih listova (faza 4. po modificiranoj Eichhorn-Lorenz (E-L) skali), cvatnja kada je otpalo 50 % cvjetnih kapica (faza 23. po modificiranoj Eichhorn-Lorenz (E-L) skali), zametanje bobica kada su bobice imale promjer oko 2-3 mm (faza 27. po modificiranoj Eichhorn-Lorenz (E-L) skali), zatvaranje grozdova kad su se bobice počele doticati (faza 32. po modificiranoj Eichhorn-Lorenz (E-L) skali) i šara grožđa kada je 50 % bobica promijenilo boju (faza 35. po modificiranoj Eichhorn-Lorenz (E-L) skali).

Lisna površina izračunata je pomoću metode Lopes i Pinto (2005.) za svaki trs u pokusu. Tijekom vegetacije, za svaki trs u eksperimentu evidentiran je broj pupova, mladica i rodni mladica po trsu. Berba grožđa određena je tjednim praćenjem sadržaja šećera, ukupnih kiselina i pH. Grožđe je brano ručno u jutarnjim satima 19. rujna 2018. i 20. rujna 2019., kada su se prikupili podaci o broju grozdova po trsu te prinos po trsu, na temelju čega se izračunala prosječna masa grozda. Masa bobice (g) izračunata je uzimanjem tri uzorka od 100 bobica po ponavljanju. Na temelju broja pupova, mladica, rodni mladica i grozdova po trsu utvrđeni su koeficijent potencijalne rodnosti (KpR- broj grozdova po pupu), koeficijent relativne rodnosti (KrR- broj grozdova po mladici) i koeficijent apsolutne rodnosti (KaR- broj grozdova po rodnoj mladici).



### 3.6. Osnovni kemijski sastav grožđa

Grožđe iz svakog ponavljanje od svakog tretmana ručno je prešano kako bi se dobio mošt. Udio šećera u grožđu određen je pomoću refraktometra, sadržaj ukupnih kiselina titracijskom metodom prema O.I.V.-u (2001), a pH je određen pH metrom (Hanna instruments Edge). Od svakog ponavljanja uzeo se i uzorak od 100 bobica, kojima se odvojila kožica za određivanje hlapljivih spojeva te pojedinačnih polifenola.

Kožice grožđa do trenutka ekstrakcije i same analize hlapljivih i polifenolnih spojeva čuvale su se u zamrzivaču na  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Prije analize, uzorci kožice zamrznuti su preko noći na  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  i osušeni postupkom liofilizacije.

### 3.7. Analiza polifenolnih spojeva u kožici grožđa

Ekstrakcija fenolnih spojeva izvedena je prema metodi Tomaz i sur. (2016). Nakon sušenja liofilizacijom, kožica je samljevena i ekstrahirano je 160 mg praha primjenom 10 ml otopine koja sadrži 79 %  $\text{H}_2\text{O}$ , 20 % acetonitrila i 1 % mravlje kiseline, koja je jedan dan ostala u mraku. Sve ekstrakcije provedene su u tri ponavljanja. Ekstrakt je centrifugiran 60 minuta pri 460 o/min na  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Razdvajanje, identifikacija i kvantifikacija fenolnih spojeva iz ekstrakata kožice grožđa provedeni su na sustavu serije Agilent 1100 (Agilent, Njemačka), opremljenom sustavom DAD, FLD i spojenom sa stanicom za obradu podataka Agilent Chem Station prema metodi Tomaz i Maslov (2016). Odvajanje je izvedeno s kolonom reverzne faze Luna Phenyl-Hexyl ( $4,6 \times 250\text{ mm}$ ; 5 mm čestica (Phenomenex, Torrance, USA), sa zaštitnom fenilnom kolonom ( $4,0 \times 3,0\text{ mm}$ ) zagrijanom na  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Otapala su voda / fosforna kiselina (99,5: 0,5, v / v, eluent A) i acetonitril / voda / fosforna kiselina; 50: 49,5: 0,5, v / v / v, eluent B), a brzina protoka 0,9 ml / min. Linearni gradijent za eluent B bio je: 0 min, 0 %; 7 min, 20 %; 35 min, 40 %; 40 min, 40 %; 45 min, 80 %; 50 min, 100 %; 60 min 0 %. Volumen injekcije za sve uzorke bio je 20  $\mu\text{L}$ . Detektor niza dioda postavljen je na opseg akvizicije od 200-700 nm.

Hidroksicimetne kiseline detektirane su na 320 nm, flavonoli na 360 nm i antocijani na 518 nm. Flavan-3-oli su otkriveni pri  $\alpha_{\text{ex}} = 225\text{ nm}$  i  $\alpha_{\text{em}} = 320\text{ nm}$ . Pojedinačni fenolni spojevi u ekstraktima kožica bobica identificirani su usklađivanjem vremena zadržavanja svakog kromatografskog pika s vanjskim standardima i DAD spektrom. Kvantifikacija pojedinih fenolnih pikova provedena je pomoću kalibracijske krivulje odgovarajućeg standardnog spoja. Kad referentni spojevi nisu bili dostupni, korištena je kalibracija strukturno srodnog spoja. Ukupno je identificirano 35 različitih spojeva. Ukupni sadržaj antocijana, flavonola, flavan-3-ola i hidroksicimetnih kiseline izražen je kao zbroj pojedinačnih spojeva koji pripadaju odgovarajućoj skupini.

### 3.8. Analiza hlapljivih spojeva u koži grožđa

Postupak analize hlapljivih spojeva temelji se na metodi opisanoj u Šikuten i sur. (2021). Analiza hlapljivih spojeva provedena je primjenom vezanog sustava plinski kromatograf-spektrometar masa (engl. *Gas chromatography – mass spectrometry*, GC-MS) uz prethodnu izolaciju analita primjenom mikroekstrakcije na čvrstoj fazi u izvedbi klina (engl. *Solid Phase Microextraction Arrow*) uz karboxen-polidimetilsiloksan-divinilbenzen (engl. *Carboxen-polydimethylsiloxane-divinylbenzene*, CAR-PDMS-DVB) (Thermo Scientific, Waltham, SAD) kao vezanu fazu pomoću automatiziranog sustava za pripremu uzoraka. Uzorci suhih kožica grožđa samljevene su u fini prah pomoću mlina MiniG Mill te pohranjene u zamrzivač na -20 °C do analize.

Uzorci mase 100 mg odvagani su u staklenu posudicu za uzorke volumena 20 mL koje su zatim zatvorene čepom koji sadrži PTFE/silikonski septum kapicu. Temperatura inkubacije i adsorpcije bila je postavljena na 60 °C, a vrijeme inkubacije i adsorpcije na 10, odnosno 46 minuta. Temperatura desorpcije bila je 250 °C, a vrijeme trajanja 7 minuta. Kromatografska analiza provedena je pomoću Wax kolone dimenzija 60 m x 0,25 mm x 0,25 µm uz linearni temperaturni program u rasponu temperatura od 40 do 210 °C uz povišenje temperature od 2 °C u minuti. Snimanje spektara masa provedeno je praćenjem struje svih iona u rasponu od 20 do 500 *m/z*, dok je energija elektrona bila postavljena na vrijednost 70 eV. Identifikacija spojeva provedena je pomoću usporedbe vremena zadržavanja, retencijskih indeksa, te usporedbom spektara masa s onima u NIST 17 i Wiley 12 bazi podataka.

### 3.9. Statistička analiza

Analizom varijance određena je signifikantnost razlike između tretmana u dvije godine istraživanja, za elemente rodnosti, prinos, osnovne kemijske pokazatelje kvalitete grožđa (sadržaj šećera, sadržaj ukupnih kiselina, pH vrijednost), te sadržaj polifenolnih i hlapljivih spojeva u koži bobice. Srednje vrijednosti uspoređene su korištenjem Tukey's testa na razini pouzdanosti od 5 %. PCA (engl. *Principal Component Analysis*) je korištena kao kako bi se utvrdilo grupiranje tretmana s obzirom na polifenolni i hlapljivi sastav grožđa. Statistička analiza provedena je primjenom računalnog programa XLSTAT (Addinsoft, 2020, New York, SAD).

## 4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

### 4.1. Mezoklimatski uvjeti vinograda i fenofaze vinove loze

Mezoklimatski uvjeti 2018. i 2019. godine u smislu oborina i temperatura zraka prikazani su u Tablicama 1, 2 i 3. Kao posljedica nižih temperatura zraka u travnju i svibnju 2019., cvatnja je započela 16 dana kasnije u odnosu na 2018. Nakon cvatnje, fenološki razvoj u obje sezone slijedio je sličan obrazac, te je šara nastupila 14 dana kasnije u 2019. u odnosu na 2018. godinu. U 2019. godini razdoblje od cvatnje do početka šare karakterizirale su više temperature zraka nego 2018. godine, sa srednjom dnevnom temperaturom  $\approx 1,6$  °C višom nego u 2018. godini. Kao rezultat toga, loze je u 2019. godini imala vremena za oporavak od hladnijih temperatura u travnju i svibnju koje su odgodile cvatnju, te je berba 2019. godine nastupila samo 1 dan kasnije u odnosu na 2018. godinu. Međutim, temperature od početka šare do berbe 2019. bile su niže nego u 2018., s dnevnom srednjom temperaturom  $\approx 1,7$  °C nižom nego u 2018. godini.

Tablica 1. Dan u godini koji obilježava početak pojedinih fenofaza sorte 'Merlot', Jazbina, 2018. i 2019. godina

Fenofaza	Dan u godini	
	2018	2019
Pupanje	90	92
Cvatnja	151	167
Zametanje bobica	162	178
Zatvaranje grozdova	185	198
Šara	207	221
Berba	261	262

Tablica 2. Srednja dnevna temperatura zraka, Jazbina, 2018. i 2019. godina

Fenofaza	Srednja dnevna temperatura zraka °C	
	2018	2019
Od pupanja do cvatnje	19,1	16,0
Od cvatnje do zametanja bobica	22,9	23,4
Od zametanja bobica do zatvaranja grozdova	20,3	22,2
Od zatvaranja grozdova do šare	22,3	23,8
Od šare do berbe	23,3	21,6
SvT	19,7	18,4
SgT	13,3	13,4
SvT- srednja vegetacijska temperatura zraka (1.4.-31.10.); SgT- srednja godišnja temperatura zraka		

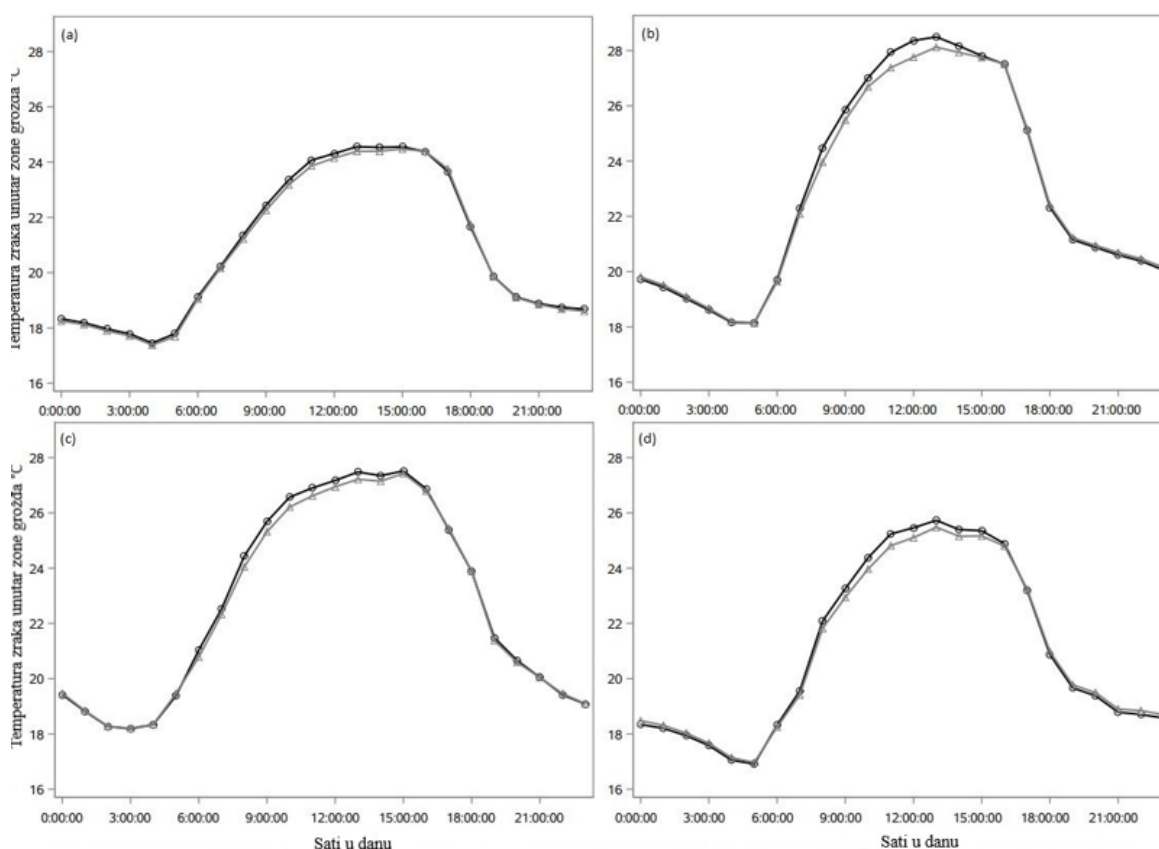
U sezoni 2018. bilo je 21 % više oborina od pupanja do berbe u odnosu na 2019. Međutim, sezona 2019. bilježila je više oborina od pupanja do zametanja bobica, s 33 % više oborina nego u 2018. Od zametanja bobica do početka šare grožđa, klimatski uvjeti su se promijenili, sa 142 % više oborina u 2018. u odnosu na 2019., dok je od početka šare do berbe zabilježena minimalna razlika u količini oborina u obje sezone.

Tablica 3. Količina oborina, Jazbina, 2018. i 2019. godina

Fenofaza	Oborine (mm)	
	2018	2019
Od pupanja do zametanja bobica	179,9	234,0
Od zametanja bobica do šare	212,4	87,5
Od šare do berbe	86,8	70,8
ΣvO	585,1	623,2
ΣgO	940	1037
ΣvO- suma oborina u vegetaciji (1.4.-31.10.); ΣgO- suma oborina u godini		

## 4.2. Mikroklimatski uvjeti trsa

Srednje satne temperature zraka zone grožđa defoliranog i kontrolnog trsa prikazane su na Grafikonu 1. Defolirani trs imao je za 0,3 °C višu temperaturu zraka zone grožđa od kontrolnog trsa u obje godine istraživanja u vremenu od 10:00 do 14:00, dok je razlika u temperaturama zraka zone grožđa između defoliranog i kontrolnog trsa u ostatku dana bila manje očita. Prikaz srednje satne temperature zraka od zametanja bobica do berbe pokazao je da su oba tretmana imala najvišu temperaturu zone grožđa u vremenu od 12:00 do 15:00, nakon čega se bilježi naglo smanjenje temperature. Najniže temperature zraka zone grožđa u oba tretmana izmjerene su u 04:00 - 05:00 ujutro, oko izlaska sunca.



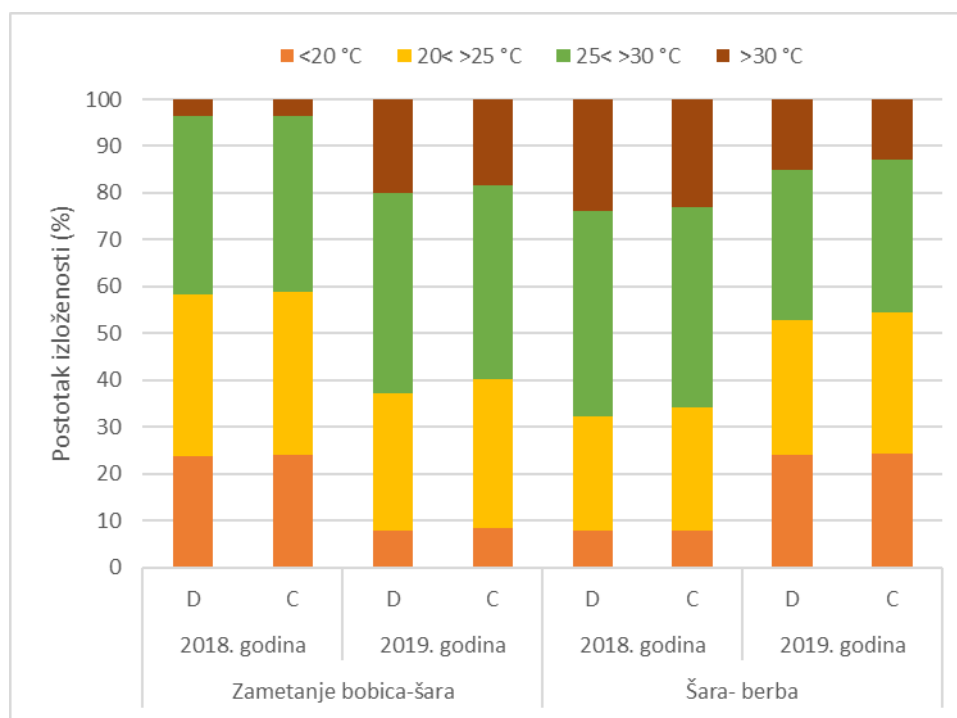
Grafikon 1. Srednja satna temperatura zraka zone grožđa a) od zametanja bobica do šare 2018. godine; b) od šare do berbe 2018. godine; c) od zametanja bobica do šare 2019. godine; d) od šare do berbe 2019. godine; —○— defolirani trsovi, —△— kontrolni trsovi

Da bi se bolje prikazali temperaturni uvjeti zone grožđa dvije sezone za optimalno nakupljanje šećera i za sintezu antocijana, zabilježena je pojava definiranih temperaturnih raspona odvojeno za dnevne i noćne temperature tijekom različitih fenofaza izračunavanjem postotka vremena kada su defolirani i kontrolni trsovi bili izloženi definiranim rasponima (Grafikon 2 i 3).

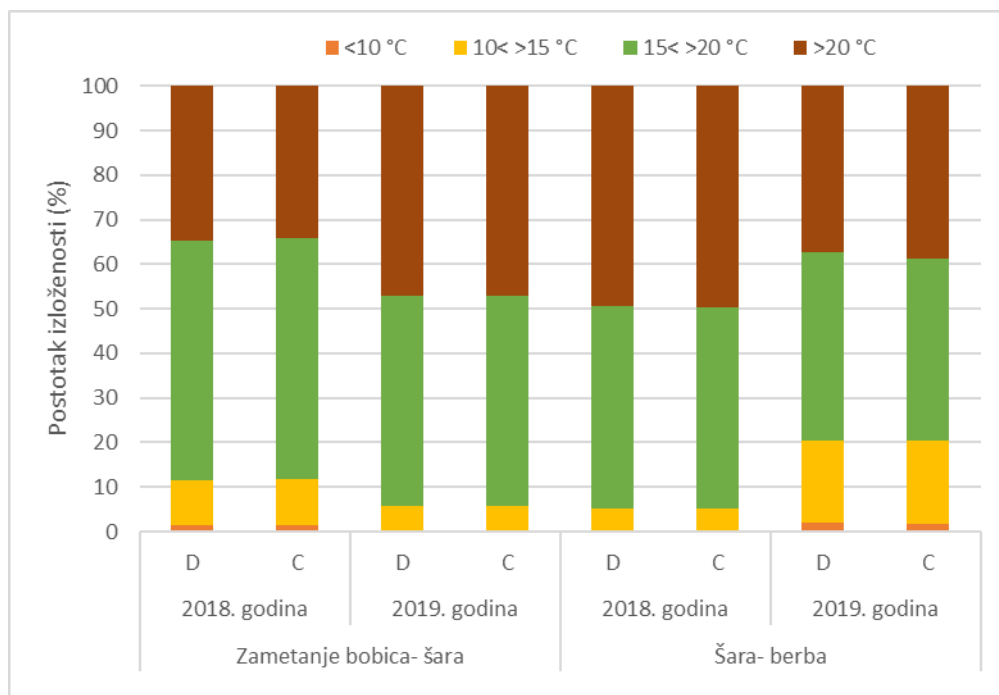
Temperaturni rasponi za dnevne temperature iznosili su <20 °C, 20< >25 °C, 25< >30 °C i >30 °C, dok su za noćne temperature iznosili <10 °C, 10< >15 °C, 15< >20 °C i >20 °C.

Postotak vremena kada je zona grožđa bila izložena definiranim rasponima nije se razlikovalo između dva tretmana, ali su se jasno razlikovale dvije vegetacijske godine. Temperatura zraka zone grožđa od zametanja bobica do šare bila je niža 2018. godine u odnosu na 2019. Dnevne temperature zone grožđa (od 8 do 19h) u 2018. godini u vremenu od zametanja bobica do šare bile su ispod 20 °C 24 % vremena, dok u 2019. godini samo 8 % vremena, dok je vrijeme koje je zona grožđa bila izložena temperaturama iznad 30 °C 2018. godine iznosilo je 3,5 %, dok je 2019. taj postotak iznosio 19 %.

Temperatura zraka zone grožđa od šare do berbe bila je viša u 2018. nego u 2019. godini. Dnevne temperature zraka zone grožđa 2018. godine od šare do berbe bile su iznad 30 °C 23 % vremena, dok je taj postotak u 2019. godini iznosio 15 %, dok su noćne temperature u 2018. godini bile 50 % vremena više od 20 °C, a u 2019. godini 38 % vremena. Tijekom dozrijevanja grožđa 2018. godine, dnevna temperatura zraka zone grožđa 8 % vremena bila je ispod 20 °C, a 2019. godine čak 24 % vremena.

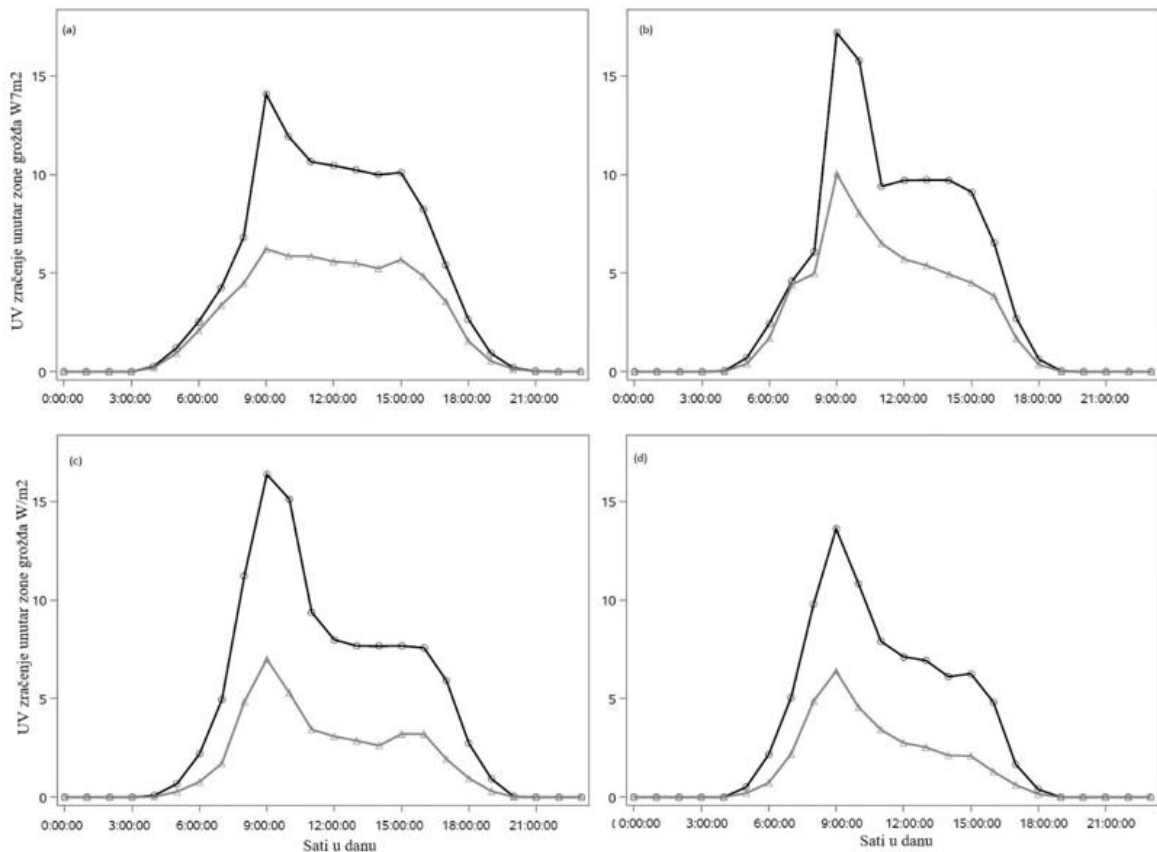


Grafikon 2. Udio pojedinih raspona dnevne (08:00-19:00) temperature zraka (u %) zone grožđa u različitim fenofazama defoliranih (D) i kontrolnih (C) trsova, 2018. i 2019. godine



Grafikon 3. Udio pojedinih raspona noćne (19:00-08:00) temperature zraka (u %) zone grožđa u različitim fenofazama defoliranih (D) i kontrolnih (C) trsova, 2018. i 2019. godine

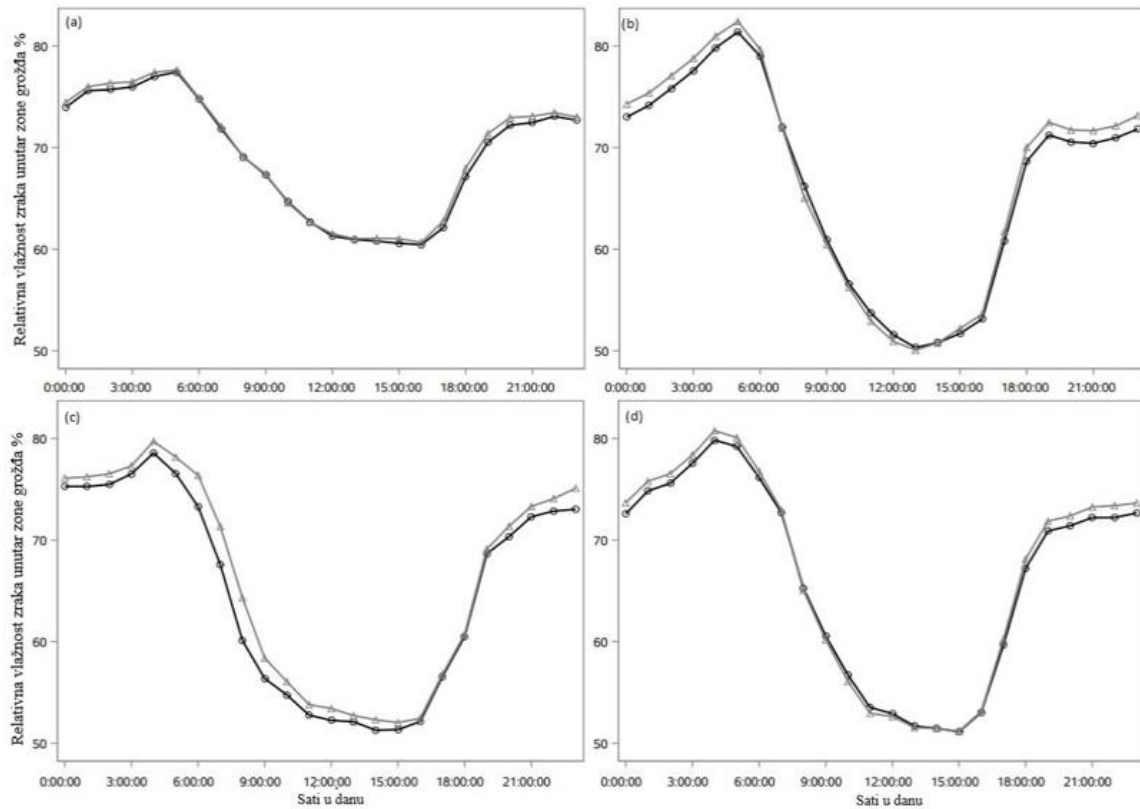
UVA + UVB zračenje unutar zone grožđa tijekom rasta bobica i dozrijevanja grožđa prikazano je na Grafikonu 4. Defolirani trsovi primili su znatno više UV zračenja od kontrolnih trsova u obje godine istraživanja. Veće UV zračenje u unutar zone grožđa tijekom dozrijevanja grožđa posljedica je uklanjanja lišća u zoni grožđa, koje je izvedeno u fenofazi zametanja bobica.



Grafikon 4. Srednje satno UV zračenje unutar zone grožđa a) od zametanja bobica do šare 2018. godine; b) od šare do berbe 2018. godine; c) od zametanja bobica do šare 2019. godine; d) od šare do berbe 2019. godine; —○— defolirani trsovi, —△— kontrolni trsovi

Rezultati mjerenja relativne vlažnosti zraka zone grožđa defoliranih i kontrolnih trsova tijekom dozrijevanja grožđa prikazani su na Grafikonu 5. Relativna vlažnost zraka zone grožđa pokazala je najviše vrijednosti u jutarnjim satima, u 5:00 sati i najniže vrijednosti u popodnevnim satima, od 12:00 do 15:00. Tijekom rasta bobica i dozrijevanja grožđa, razlike između relativne vlažnosti zraka zone grožđa između dva tretmana bile su najočitije u noćnim satima, između 19:00 i 05:00, u obje godine, kada su defolirani trsovi pokazali nižu relativnu vlažnost zraka zone grožđa u odnosu na kontrolne trsove.





Grafikon 5. Srednja satna relativna vlažnost zraka zone grožđa a) od zametanja bobica do šare 2018. godine; b) od šare do berbe 2018. godine; c) od zametanja bobica do šare 2019. godine d) od šare do berbe 2019. godine; —○— defolirani trsovi, —△— kontrolni trsovi

### 4.3. Utjecaj termina djelomične defolijacije na rast vinove loze i elemente prinosa

Elementi rasta sorte 'Merlot' 2018. i 2019. godine prikazani su u Tablici 4. Zimska rezidba svake je godine obavljena na način da prati tipičan broj pupova uzgojnog oblika dvostuki Guyot, zbog čega nije zamijećena statistički značajna razlika između broja pupova po trsu u obje pokusne godine između tretmana pokusa. Djelomična defolijacija nije utjecala na broj grozdova po pupu, broj grozdova po mladici te broj grozdova po rodnoj mladici u odnosu na kontrolu. Zahvat djelomične defolijacije statistički nije utjecao na broj grozdova po trsu.

Tretman djelomične defolijacije rezultirao je uklanjanjem 21-29 %, odnosno 22-28 % lisne površine u 2018. i 2019. godini (Tablica 4). Tijekom vegetacije uklonjeni su zaperci, a uklonjena površina listova sa zaperaka nije mjerena. DE 1 utjecala je na smanjenje prinosa, mase grozde i mase bobice 2018. godine u odnosu na kontrolu, dok 2019. godine nije utjecala na prinos (Tablica 5). Omjer između lisne površine i prinosa nije se razlikovao između tretmana.

Tablica 4. Utjecaj termina djelomične defolijacije na rast vinove loze sorte 'Merlot', Jazbina, 2018. i 2019. godina

	Pup/trs	Mladica/trs	Rodna mladica/trs	KpR	KrR	KaR	Grozd/trs	Lisna površina/trs (m <sup>2</sup> )	Lisna površina/prinos (m <sup>2</sup> /kg)
2018									
DE 1	24,9±9,7	14,7±4,0	12,8±3,7	0,9±0,3	1,5±0,2 <sup>b</sup>	1,7±0,2	22,0±7,5	2,8±0,4 <sup>b</sup>	0,9±0,3
DE 2	24,1±9,6	16,0±6,1	14,6±5,8	1,2±0,3	1,7±0,2 <sup>ab</sup>	1,8±0,1	27,4±10,8	2,8±0,8 <sup>b</sup>	0,8±0,2
DE 3	26,2±3,7	17,7±3,2	17,1±2,9	1,2±0,1	1,8±0,2 <sup>a</sup>	1,9±0,1	31,4±6,6	2,8±0,7 <sup>b</sup>	0,7±0,3
DE 4	24,7±4,8	17,2±3,0	16,0±2,8	1,2±0,2	1,7±0,2 <sup>ab</sup>	1,8±0,1	27,1±5,5	3,0±1,0 <sup>ab</sup>	0,8±0,4
K	27,0±2,3	18,1±2,5	17,2±2,6	1,2±0,1	1,7±0,1 <sup>ab</sup>	1,8±0,1	28,0±3,7	3,7±0,5 <sup>a</sup>	0,9±0,3
2019									
DE 1	24,3±4,9	13,8±3,0 <sup>a</sup>	12,7±2,7	1,0±0,2	1,7±0,3	1,9±0,2	24,1±4,1	2,7±0,4 <sup>b</sup>	0,7±0,1
DE 2	19,3±6,0	10,3±3,3 <sup>b</sup>	9,8±2,7	1,0±0,1	1,8±0,2	1,9±0,1	20,0±4,5	2,7±0,7 <sup>b</sup>	0,8±0,2
DE 3	24,4±4,9	12,6±1,6 <sup>ab</sup>	11,4±2,0	0,9±0,2	1,7±0,3	1,9±0,2	22,5±5,7	2,6±0,3 <sup>b</sup>	0,9±0,4
DE 4	25,7±3,5	12,7±2,3 <sup>ab</sup>	12,3±2,0	0,9±0,1	1,8±0,1	1,9±0,1	24,4±4,1	2,8±0,6 <sup>ab</sup>	0,7±0,1
K	22,3±6,8	13,3±2,6 <sup>ab</sup>	12,2±2,7	1,0±0,2	1,7±0,3	1,8±0,2	23,4±6,8	3,6±0,8 <sup>a</sup>	1,0±0,4
G	ns	***	***	***	ns	*	**	ns	ns
T*G	ns	ns	*	*	ns	ns	ns	*	ns
DE 1- djelomična defolijacija prije cvatnje; DE 2- djelomična defolijacija u vrijeme zametanja bobica; DE 3- djelomična defolijacija u vrijeme zatvaranja grozdova; DE 4- djelomična defolijacija na početku šare; K- kontrola; KpR- koeficijent potencijalne rodnosti- broj grozdova po pupu; KrR- koeficijent relativne rodnosti- broj grozdova po mladici; KaR- koeficijent apsolutne rodnosti- broj grozdova po rodnoj mladici; G- signifikantnost godine; G*T- signifikantnost interakcije godine i tretman; srednja vrijednost ± SD (n=9); različita slova kraj srednje vrijednosti označavaju statistički značajnu razliku između tretmana pomoću Tukey's test signifikantnosti $p < 0,05$ ; ns označava da nema statistički značajne razlike; *, ** i *** označavaju statistički značajnu razliku između godina i interakcije godine i tretmana sa $p < 0,05$ , $< 0,01$ i $> 0,0001$									

Tablica 5. Utjecaj termina djelomične defolijacije na elemente prinosa sorte 'Merlot', Jazbina, 2018. i 2019. godina

	Prinos/trs (kg)	Masa grozda (g)	Masa bobice (g)
2018			
DE 1	2,38±1,05 <sup>b</sup>	104,80±29,81 <sup>b</sup>	1,62±0,07 <sup>b</sup>
DE 2	3,98±1,64 <sup>ab</sup>	144,47±22,74 <sup>ab</sup>	1,80±0,18 <sup>ab</sup>
DE 3	4,47±1,43 <sup>a</sup>	143,57±34,68 <sup>ab</sup>	1,83±0,04 <sup>ab</sup>
DE 4	3,98±1,11 <sup>ab</sup>	146,16±21,60 <sup>ab</sup>	1,97±0,08 <sup>a</sup>
K	4,59±1,39 <sup>a</sup>	166,56±42,52 <sup>a</sup>	1,98±0,15 <sup>a</sup>
2019			
DE 1	4,13±0,92	168,86±22,30	1,51±0,02
DE 2	3,28±1,25	161,11±29,16	1,55±0,12
DE 3	3,31±1,03	145,50±31,68	1,44±0,07
DE 4	3,87±0,93	158,21±24,36	1,52±0,07
K	4,30±2,05	177,04±47,47	1,61±0,14
G	ns	**	***
T*G	*	**	ns
<p>DE 1- djelomična defolijacija provedena neposredno prije cvatnje; DE 2- djelomična defolijacija provedena u vrijeme zametanja bobica; DE 3- djelomična defolijacija provedena u vrijeme zatvaranja grozdova; DE 4- djelomična defolijacija provedena na početku šare; K- kontrola; G- signifikantnost godine; G*T-signifikantnost interakcije godine i tretmana; srednja vrijednost ± SD (n=9); različita slova kraj srednje vrijednosti označavaju statistički značajnu razliku između tretmana pomoću Tukey's test signifikantnosti <math>p &lt; 0,05</math>; ns označava da nema statistički značajne razlike, * , ** i *** označavaju statistički značajnu razliku između godina i interakcije godine i tretmana sa <math>p &lt; 0,05</math>, <math>&lt; 0,01</math> i <math>&gt; 0,0001</math></p>			

#### 4.4. Utjecaj termina djelomične defolijacije na osnovni sastav grožđa

U tablici 6. navedeni su sadržaji šećera, ukupnih kiselina i pH grožđa u berbi ovisno o terminu provođenja djelomične defolijacije. Postojala je značajna razlika u dozrijevanju grožđa u 2018. i 2019. godini, zbog promjena u mikroklimatu trsa između dvije vegetacijske sezone. U 2018. godini grožđe je doseglo 100-104 °Oe i 5,6-5,9 g/L ukupne kiselosti 54 dana nakon početka šare grožđa, dok je u 2019. godini grožđe doseglo 92-98 °Oe i 6,3-6,9 g/L ukupne kiselosti 41 dan nakon početka šare grožđa.

Termin provedbe djelomične defolijacije igrao je važnu ulogu u promjeni sadržaja šećera, ukupnih kiselina i pH grožđa sorte 'Merlot' 2018. i 2019. godine. DE 4 dovela je do povećanja sadržaja u šećeru u odnosu na kontrolu u obje godine istraživanja, dok je DE 1 2018. godine dovela do povećanja, a 2019. godine do smanjenja sadržaja šećera u grožđu u odnosu na kontrolu. DE 2 i DE 3 nisu utjecale na sadržaj šećera u grožđu u obje godine istraživanja.

U 2018. godini, DE 2, DE 3 i DE 4 utjecali su na smanjenje ukupne kiselosti u grožđu, dok DE 1 nije utjecala na sadržaj ukupnih kiselina u grožđu. U 2019. godini, djelomična defolijacija utjecala je na smanjenje sadržaja ukupnih kiselina u grožđu, neovisno o terminu provedbe zahvata. Najmanji sadržaj ukupnih kiselina u 2019. godini zabilježen je u tretmanu DE 4, zatim DE 1 i DE 2, a najmanje smanjenje sadržaja ukupne kiselosti u grožđu zabilježeno je u tretmanu DE 3. Termin provedbe djelomične defolijacije utjecao je na pH grožđa, iako s tehnološkog gledišta nema značajne razlike.

Tablica 6. Utjecaj termina djelomične defolijacije na osnovni sastav grožđa sorte 'Merlot', Jazbina, 2018. i 2019. godina

	Šećeri (°Oe)	Ukupna kiselost (g/L)	pH
2018			
DE 1	104,3±0,58 <sup>a</sup>	5,83±0,06 <sup>a</sup>	3,49±0,01 <sup>d</sup>
DE 2	100,7±0,58 <sup>b</sup>	5,57±0,06 <sup>b</sup>	3,49±0,01 <sup>d</sup>
DE 3	100,0±1,00 <sup>b</sup>	5,57±0,06 <sup>b</sup>	3,52±0,01 <sup>b</sup>
DE 4	103,3±0,58 <sup>a</sup>	5,57±0,06 <sup>b</sup>	3,54±0,01 <sup>a</sup>
K	100,3±0,58 <sup>b</sup>	5,87±0,06 <sup>a</sup>	3,51±0,01 <sup>c</sup>
2019			
DE 1	92,0±0,01 <sup>c</sup>	6,40±0,10 <sup>cd</sup>	3,34±0,01 <sup>a</sup>
DE 2	94,7±0,58 <sup>b</sup>	6,50±0,06 <sup>bc</sup>	3,33±0,01 <sup>a</sup>
DE 3	94,7±0,58 <sup>b</sup>	6,52±0,04 <sup>b</sup>	3,27±0,01 <sup>c</sup>
DE 4	97,7±0,58 <sup>a</sup>	6,29±0,06 <sup>d</sup>	3,32±0,01 <sup>b</sup>
K	94,3±0,58 <sup>b</sup>	6,91±0,01 <sup>a</sup>	3,32±0,01 <sup>b</sup>
G	***	***	***
T*G	***	***	***
DE 1- djelomična defolijacija provedena neposredno prije cvatnje; DE 2- djelomična defolijacija provedena u vrijeme zametanja bobica; DE 3- djelomična defolijacija provedena u vrijeme zatvaranja grozdova; DE 4- djelomična defolijacija provedena na početku šare; K- kontrola; G- signifikantnost godine; G*T-signifikantnost interakcije godine i tretmana; srednja vrijednost ± SD (n=3); različita slova kraj srednje vrijednosti označavaju statistički značajnu razliku između tretmana pomoću Tukey's test signifikantnosti $p<0,05$ ; ns označava da nema statistički značajne razlike; * , ** i *** označavaju statistički značajnu razliku između godina i interakcije godine i tretmana sa $p<0.05$ , $<0.01$ i $>0.0001$			

#### 4.5. Utjecaj termina djelomične defolijacije na sastav i sadržaj antocijana te ukupnih polifenola

Ukupno je identificirano i kvantificirano 35 pojedinačnih polifenolnih spojeva u kožici grožđa sorte 'Merlot', uključujući antocijane, flavonole, flavan-3-ole, hidroksicimentne kiseline i resveratrol. Tretman djelomične defolijacije utjecao je na povećanje sadržaja ukupnih polifenola u kožici grožđa u obje eksperimentalne godine (Tablica 7). U 2018. godini, najveći sadržaj ukupnih polifenola pokazao je tretman DE 1, zatim slijede tretmani DE 2, DE 3 i DE 4, koji se međusobno statistički ne razlikuju, a najmanji sadržaj ukupnih polifenola imao je kontrolni tretman. U 2019. godini, najveći sadržaj ukupnih polifenola pokazao je tretman DE 3, zatim slijede DE 1, DE 2 i DE 4, a najmanji sadržaj ukupnih polifenolnih spojeva imao je kontrolni tretman. Raniji termini provedbe djelomične defolijacije utjecali su na povećanje sadržaja ukupnih polifenola u obje godine istraživanja.

U kožici grožđa sorte 'Merlot' utvrđeno je ukupno 14 antocijana u 2018. i 2019. godini (Tablica 7, Prilog 1). Monoglukozid je bio prevladavajući oblik antocijana, dok su acetil i kumaril glukozidni oblici bili prisutni u nižim koncentracijama. Najzastupljeniji antocijan bio je malvidin-3-O-glukozid, dok je malvidin-3-O-(acetyl) glukozid dominantan acilirani antocijan, a malvidin-3-O-(kumaril) glukozid dominantan kumaril oblik antocijana. Kvantificiran je i jedan predstavnik oblika kafeoila- malvidin-3-O-(kafeoil) glukozid. Djelomična defolijacija je utjecala na povećanje sadržaja ukupnih antocijana u kožici grožđa sorte 'Merlot' u obje godine istraživanja. U 2018. godini, najveći sadržaj ukupnih antocijana pokazao je tretman DE 1, zatim slijede DE 2, DE 3 i DE 4, koji se međusobno statistički ne razlikuju, a najmanji sadržaj ukupnih polifenola imao je kontrolni tretman. U 2019. godini, najveći sadržaj ukupnih antocijana pokazao je tretman DE 3, zatim slijede DE 1, DE 2 i DE 4, a najmanji sadržaj ukupnih antocijana imao je kontrolni tretman.

Djelomična defolijacija je, neovisno o terminu provedbe, utjecala na povećanje sadržaja pojedinačnih antocijana delphinidin-3-O-glukozida, petunidin-3-O-glukozida i malvidin-3-O-glukozida, te malvidin-3-O-(kafeoil) glukozida u obje godine istraživanja (Tablica 7, Prilog 1). Raniji termini provedbe djelomične defolijacije (DE 1 i DE 2) utjecali su na povećanje sadržaja ukupnih antocijana u obje godine istraživanja. DE 1 i DE 2 utjecali su na povećanje sadržaja svih pojedinačnih antocijana, ali samo 2019. godine (Tablica 7, Prilog 1).

Tablica 7. Utjecaj termina djelomične defolijacije na sastav i sadržaj antocijana te ukupnih polifenola u kožici bobice sorte 'Merlot', Jazbina, 2018. i 2019. godina

	Mv-3-O-g	Pn-3-O-Ace-g	Mv-3-O-Ace-g	Pn-3-O-Cou-g	Mv-3-O-Cou-g	Mv-3-O-Caff-g	Ukupni antocijani	Ukupni polifenoli
2018								
DE 1	10292±442,7 <sup>a</sup>	169,6 ±9,1 <sup>a</sup>	1631,1±94,2	257,4±10,8 <sup>a</sup>	1357,6±76,2	221,9±13,5 <sup>a</sup>	21602,5±1013,0 <sup>a</sup>	25508,4±1121,0 <sup>a</sup>
DE 2	9015,5±376,5 <sup>b</sup>	130,1±8,3 <sup>c</sup>	1578,1±77,2	212,7±14,0 <sup>bc</sup>	1392,5±76,6	188,3±12,8 <sup>b</sup>	17790,9±842,0 <sup>b</sup>	21055,8±1077,0 <sup>b</sup>
DE 3	8953±272,9 <sup>b</sup>	117,2±4,1 <sup>c</sup>	1547,4±46,2	195,5±6,5 <sup>cd</sup>	1348,2±41,3	183,8±6,1 <sup>b</sup>	17609,5±531,2 <sup>b</sup>	20834,8±571,4 <sup>b</sup>
DE 4	8915,2±158,6 <sup>b</sup>	119,8±4,7 <sup>c</sup>	1513,4±38,0	183,8±7,5 <sup>d</sup>	1258,8±30,3	181,3±5,3 <sup>b</sup>	17701,7±339,0 <sup>b</sup>	20933,9±443,2 <sup>b</sup>
K	8027,6±94,7 <sup>c</sup>	150,5±4,8 <sup>b</sup>	1511,6±32,8	235,8±7,1 <sup>ab</sup>	1281,2±25,0	155,5±4,5 <sup>c</sup>	15772,5±226,7 <sup>c</sup>	18177,6±289,0 <sup>c</sup>
2019								
DE 1	12169,3±221,0 <sup>b</sup>	191,2±2,1 <sup>b</sup>	2132,2±12,9 <sup>a</sup>	271,2±6,6 <sup>b</sup>	1651,0±32,3 <sup>a</sup>	253,9±3,8 <sup>b</sup>	25088,1±331,0 <sup>b</sup>	28673,0±439,7 <sup>b</sup>
DE 2	10893,7±250,6 <sup>c</sup>	192,3±2,0 <sup>b</sup>	1754,9±44,6 <sup>b</sup>	273,9±3,2 <sup>b</sup>	1360,0±44,4 <sup>b</sup>	213,0±4,1 <sup>c</sup>	22375,5±471,8 <sup>c</sup>	26497,5±522,1 <sup>c</sup>
DE 3	13846,8±225,6 <sup>a</sup>	222,6±2,5 <sup>a</sup>	2222,0±37,5 <sup>a</sup>	319,2±3,9 <sup>a</sup>	1646,9±46,7 <sup>a</sup>	290,2±2,4 <sup>a</sup>	29647,2±414,7 <sup>a</sup>	34296,7±405,6 <sup>a</sup>
DE 4	9476,6±276,1 <sup>d</sup>	169,0±7,1 <sup>c</sup>	1513,1±45,6 <sup>c</sup>	237,4±10,1 <sup>c</sup>	1113,1±36,6 <sup>c</sup>	184,6±8,2 <sup>d</sup>	20490,5±628,5 <sup>d</sup>	23668,0±721,8 <sup>d</sup>
K	7490,7±353,1 <sup>e</sup>	149,9±9,9 <sup>d</sup>	1419,3±82,2 <sup>c</sup>	207,9±12,4 <sup>d</sup>	1124,1±75,4 <sup>c</sup>	135,2±8,7 <sup>e</sup>	15336,7±781,0 <sup>e</sup>	17617,0±859,0 <sup>e</sup>
G	**	***	**	***	***	*	***	***
T*G	***	***	***	***	***	***	***	***
DE 1- djelomična defolijacija provedena neposredno prije cvatnje; DE 2- djelomična defolijacija provedena u vrijeme zamatanja bobica; DE 3- djelomična defolijacija provedena u vrijeme zatvaranja grozdova; DE 4- djelomična defolijacija provedena na početku šare; K- kontrola; G- signifikantnost godine; G*T-signifikantnost interakcije godine i tretmana; srednja vrijednost ± SD (n=3); različita slova kraj srednje vrijednosti označavaju statistički značajnu razliku između tretmana pomoću Tukey`s test signifikantnosti s $p<0,05$ ; ns označava da nema statistički značajne razlike; *, ** i *** označavaju statistički značajnu razliku između godina i interakcije godine i tretmana sa $p<0.05$ , $<0.01$ i $>0.0001$ ; Mv i Pn označavaju malvidin i peonidin; g, Ace, Caff i Cou označavaju glukozid, acetil, kafeoil i kumaril; vrijednosti su izražene u mg/kg suhe kožice								



#### 4.6. Utjecaj termina djelomične defolijacije na sastav i sadržaj flavonola

U kožici grožđa sorte 'Merlot' identificirano je 10 pojedinačnih flavonola- kvercetin, miricetin, kempferol, rutin i izorhamnetin u obliku glukozida, glukuronida i galaktozida (Tablica 8, Prilog 2). Među njima je kvercetin-3-O-glukozid najzastupljeniji flavonol, a slijedi miricetin-3-O-glukozid. Sadržaj ukupnih flavonola bio je značajno veći kod tretmana djelomične defolijacije, neovisno o terminu, u usporedbi s kontrolom u obje sezone istraživanja.

Učinak djelomične defolijacije, neovisno o terminu provedbe djelomične defolijacije, bio je veći u 2019. godini, a kontrolni tretman imao je slični sadržaj ukupnih flavonola u obje godine istraživanja. U 2018. godini, najveći sadržaj ukupnih flavonola pokazao je tretman DE 1, zatim slijede DE 2, DE 3 i DE 4, koji se međusobno statistički ne razlikuju, a najmanji sadržaj ukupnih flavonola imao je kontrolni tretman. U 2019. godini, najveći sadržaj ukupnih flavonola pokazao je tretman DE 3, zatim slijede DE 2, DE 1 i DE 4, a najmanji sadržaj ukupnih flavonola imao je kontrolni tretman.

Raniji termini djelomične defolijacije (DE 1 i DE 2) utjecali su na povećanje sadržaja ukupnih flavonola, te svih pojedinačnih flavonola u obje godine istraživanja, osim miricetin-3-O-galaktozida 2018. godine.

Tablica 8. Utjecaj termina djelomične defolijacije na sastav i sadržaj flavonola u kožici bobice sorte 'Merlot', Jazbina, 2018. i 2019. godina

	Miricetin-3-O-glukozid	Miricetin-3-O-galaktozid	Kvercetin-3-O-glukonorid	Kvercetin-3-O-glukozid	Kvercetin-3-O-galaktozid	Kemferol-3-O-glukonorid	Kemferol-3-O-glukozid	Ukupni flavonoli
2018								
DE 1	420,4±17,2 <sup>a</sup>	98,9±4,4 <sup>a</sup>	165,2±1,8 <sup>a</sup>	1510,9±31,8 <sup>a</sup>	121,1±3,2 <sup>a</sup>	158,3±1,7 <sup>a</sup>	104,4±2,2 <sup>a</sup>	2704,4±62,3 <sup>a</sup>
DE 2	351,2±28,8 <sup>b</sup>	85,2±6,1 <sup>b</sup>	131,9±12,2 <sup>b</sup>	1239,5±106,1 <sup>b</sup>	113,9±11,1 <sup>a</sup>	144,9±14,2 <sup>a</sup>	99,7±10,2 <sup>b</sup>	2270,6±201,4 <sup>b</sup>
DE 3	366,5±8,6 <sup>b</sup>	88,6±2,4 <sup>ab</sup>	141,6±1,0 <sup>b</sup>	1283,5±10,2 <sup>b</sup>	114,8±0,7 <sup>a</sup>	143,6±2,3 <sup>a</sup>	102,4±1,2 <sup>ab</sup>	2352,7±18,8 <sup>b</sup>
DE 4	428,8±11,2 <sup>a</sup>	88,9±1,4 <sup>ab</sup>	128,7±4,5 <sup>b</sup>	1221,0±48,0 <sup>b</sup>	127,8±2,4 <sup>a</sup>	152,2±4,7 <sup>a</sup>	113,2±2,1 <sup>a</sup>	2365,8±76,8 <sup>b</sup>
K	254,2±7,8 <sup>c</sup>	79,9±3,5 <sup>b</sup>	79,9±3,8 <sup>c</sup>	681,2±38,0 <sup>c</sup>	84,6±3,1 <sup>b</sup>	95,1±4,4 <sup>b</sup>	79,5±1,9 <sup>c</sup>	1433,4±61,8 <sup>c</sup>
2019								
DE 1	337,4±22,9 <sup>b</sup>	109,9±5,0 <sup>a</sup>	146,7±11,6 <sup>c</sup>	1543,3±106,3 <sup>c</sup>	91,5±5,0 <sup>bc</sup>	135,8±10,3 <sup>d</sup>	85,7±2,3 <sup>a</sup>	2540,0±165,1 <sup>c</sup>
DE 2	356,0±10,8 <sup>b</sup>	105,7±3,3 <sup>a</sup>	194,9±2,2 <sup>b</sup>	2050,2±20,9 <sup>b</sup>	101,7±3,0 <sup>ab</sup>	178,2±0,3 <sup>b</sup>	91,0±2,6 <sup>a</sup>	3174,6±43,9 <sup>b</sup>
DE 3	445,3±5,3 <sup>a</sup>	112,8±5,4 <sup>a</sup>	223,9±2,1 <sup>a</sup>	2435,1±14,7 <sup>a</sup>	105,8±5,9 <sup>a</sup>	207,8±4,2 <sup>a</sup>	88,6±1,0 <sup>a</sup>	3733,7±23,3 <sup>a</sup>
DE 4	360,9±8,1 <sup>b</sup>	86,3±6,1 <sup>b</sup>	151,7±3,6 <sup>c</sup>	1399,4±37,8 <sup>d</sup>	83,9±1,4 <sup>c</sup>	161,1±3,9 <sup>c</sup>	76,7±1,3 <sup>b</sup>	2417,3±51,7 <sup>c</sup>
K	220,6±7,8 <sup>c</sup>	71,4±3,0 <sup>c</sup>	79,2±1,1 <sup>d</sup>	830,1±26,0 <sup>e</sup>	53,2±1,7 <sup>d</sup>	82,4±2,2 <sup>e</sup>	60,8±2,0 <sup>c</sup>	1466,8±41,6 <sup>d</sup>
G	**	***	***	***	***	***	***	***
T*G	***	***	***	***	***	***	***	***
DE 1- djelomična defolijacija provedena neposredno prije cvatnje; DE 2- djelomična defolijacija provedena u vrijeme zametanja bobica; DE 3- djelomična defolijacija provedena u vrijeme zatvaranja grozdova; DE 4- djelomična defolijacija provedena na početku šare; K- kontrola; G- signifikantnost godine; G*T-signifikantnost interakcije godine i tretmana; srednja vrijednost ± SD (n=3); različita slova kraj srednje vrijednosti označavaju statistički značajnu razliku između tretmana pomoću Tukey's test signifikantnosti $p < 0,05$ ; ns označava da nema statistički značajne razlike; *, ** i *** označavaju statistički značajnu razliku između godina i interakcije godine i tretmana sa $p < 0,05$ , $< 0,01$ i $> 0,0001$ ; vrijednosti su izražene u mg/kg suhe kožice								

#### 4.7. Utjecaj termina djelomične defolijacije na sastav i sadržaj flavan-3-ola

Sadržaj pojedinačni i ukupnih flavan-3-ola prikazan je u Tablici 9. U 2018. godini, najveći sadržaj ukupnih flavan-3-ola pokazao je tretman DE 1, zatim slijede DE 2 i DE 3, koje se međusobno statistički ne razlikuju, a najmanji sadržaj ukupnih flavan-3-ola imali su DE 4 i kontrola, koje se također međusobno statistički ne razlikuju. U 2019. godini, najveći sadržaj ukupnih flavan-3-ola pokazao je tretman DE 1, zatim slijede DE 2 i DE 3, koje se međusobno statistički ne razlikuju, a najmanji sadržaj ukupnih flavan-3-ola imao je tretman DE 4.

DE 1 i DE 2 utjecali su na povećanje sadržaja ukupnih flavan-3-ola u obje godine istraživanja, te su utjecali na povećanje sadržaja pojedinačnih flavan-3-ola galokatehina i epigalokatehina u obje godine istraživanja. Bez obzira na tretman, dominantni flavan-3-ol u kožici grožđa bio je epigalokatehin. Nije bilo utjecaja godine na sadržaj ukupnih flavan-3-ola u kožici grožđa sorte 'Merlot'.

Tablica 9. Utjecaj termina djelomične defolijacije na sastav i sadržaj flavan-3-ola u kožici bobice sorte 'Merlot', Jazbina, 2018. i 2019. godina

	Galokatehin	Procijanidin B1	Epigalokatehin	Katehin	Procijanidin B2	Epikatehin	Ukupni flavan-3-oli
2018							
DE 1	47,25±0,49 <sup>a</sup>	39,01±2,66 <sup>a</sup>	216,63±12,44 <sup>a</sup>	181,65±23,43 <sup>a</sup>	63,12±2,14 <sup>a</sup>	76,57±5,2 <sup>a</sup>	624,24±43,32 <sup>a</sup>
DE 2	39,46±1,33 <sup>b</sup>	32,59±1,81 <sup>b</sup>	189,49±1,71 <sup>b</sup>	130,15±2,65 <sup>b</sup>	58,84±0,8 <sup>b</sup>	64,46±0,19 <sup>b</sup>	515,00±3,31 <sup>b</sup>
DE 3	48,24±1,00 <sup>a</sup>	30,27±0,98 <sup>bc</sup>	171,52±6,95 <sup>bc</sup>	122,61±6,96 <sup>b</sup>	53,66±2,03 <sup>c</sup>	54,77±1,68 <sup>c</sup>	481,09±19,08 <sup>bc</sup>
DE 4	33,02±0,36 <sup>c</sup>	26,17±1,16 <sup>c</sup>	158,65±2,36 <sup>c</sup>	112,45±11,86 <sup>b</sup>	55,84±1,33 <sup>bc</sup>	51,00±0,84 <sup>c</sup>	437,15±14,97 <sup>c</sup>
K	18,73±0,65 <sup>d</sup>	26,58±0,73 <sup>c</sup>	164,71±4,75 <sup>c</sup>	105,01±2,31 <sup>b</sup>	57,40±0,57 <sup>bc</sup>	75,09±0,09 <sup>a</sup>	447,53±8,25 <sup>c</sup>
2019							
DE 1	49,39±2,13 <sup>c</sup>	28,43±1,12 <sup>a</sup>	194,65±5,74 <sup>a</sup>	160,73±3,17 <sup>a</sup>	42,85±4,4	102,95±0,62 <sup>a</sup>	579,02±7,52 <sup>a</sup>
DE 2	57,69±0,84 <sup>b</sup>	20,67±1,14 <sup>cd</sup>	185,25±3,88 <sup>ab</sup>	135,49±1,11 <sup>b</sup>	40,43±2,58	84,77±1,84 <sup>b</sup>	524,32±4,7 <sup>b</sup>
DE 3	71,10±0,95 <sup>a</sup>	24,85±1,44 <sup>ab</sup>	174,19±0,98 <sup>b</sup>	142,08±1,18 <sup>b</sup>	38,18±1,87	75,54±1,73 <sup>b</sup>	525,95±4,94 <sup>b</sup>
DE 4	29,63±2,22 <sup>d</sup>	17,03±1,73 <sup>d</sup>	138,78±7,49 <sup>d</sup>	95,89±5,87 <sup>d</sup>	41,76±5,34	64,23±3,02 <sup>c</sup>	387,33±23,79 <sup>d</sup>
K	25,98±1,24 <sup>d</sup>	21,57±1,34 <sup>bc</sup>	155,82±6,82 <sup>c</sup>	109,67±8,43 <sup>c</sup>	40,96±2,52	101,88±6,89 <sup>a</sup>	455,90±25,14 <sup>c</sup>
G	***	***	***	ns	***	***	ns
T*G	***	**	*	**	ns	**	**
DE 1- djelomična defolijacija provedena neposredno prije cvatnje; DE 2- djelomična defolijacija provedena u vrijeme zametanja bobica; DE 3- djelomična defolijacija provedena u vrijeme zatvaranja grozdova; DE 4- djelomična defolijacija provedena na početku šare; K- kontrola; G- signifikantnost godine; G*T-signifikantnost interakcije godine i tretmana; srednja vrijednost ± SD (n=3); različita slova kraj srednje vrijednosti označavaju statistički značajnu razliku između tretmana pomoću Tukey's test signifikantnosti $p < 0,05$ ; ns označava da nema statistički značajne razlike; *, ** i *** označavaju statistički značajnu razliku između godina i interakcije godine i tretmana sa $p < 0,05$ , $< 0,01$ i $> 0,0001$ ; vrijednosti su izražene u mg/kg suhe kožice							

#### 4.8. Utjecaj termina djelomične defolijacije na sastav i sadržaj hidroksicimetnih kiselina i resveratrola

Utjecaj termina djelomične defolijacije na ukupne hidroksicimetne kiseline varirao je između sezona (Tablica 10). Sadržaj ukupnih hidroksicimetnih kiselina 2018. godine bio je najveći kod tretmana DE 1, zatim slijedi DE 2, dok između kontrolnog tretmana, DE 3 i DE 4 ne postoji statistički značajna razlika, iako najmanji sadržaj ukupnih hidroksicimetnih kiselina pokazuje DE 3. U 2019. godini najveći sadržaj ukupnih hidroksicimetnih kiselina imao je tretman DE 1, zatim DE 2 i DE 3, a kontrolni tretman i DE 4 imali su najmanji sadržaj ukupnih hidroksicimetnih kiselina te međusobno nisu pokazali statistički značajnu razliku. Iako je ukupni sadržaj hidroksicimetnih kiselina neovisno o tretmanu bio veći u 2018. godini, u 2019. godini primjetan je veći učinak tretmana djelomične defolijacije na njihov sadržaj.

Tretman djelomične defolijacije nije utjecao na sadržaj kafeinske kiseline u 2018. godini, te fertarinske kiseline u 2019. godini. Tretman DE 1 utjecao je na povećanje sadržaja ukupnih hidroksicimetnih kiselina u obje godine istraživanja. Tretmani DE1 i DE 2 utjecali su na povećanje sadržaja kaftarinske kiseline u obje godine istraživanja.

Sadržaj resveratrol-3-O-glukozida 2018. godine bio je najveći u kontrolnom tretmanu te kod DE 1, dok je 2019. godine sadržaj resveratrol-3-O-glukozida bio najveći kod DE 2, a najmanji u kontrolnom tretmanu i kod DE 3 (Tablica 10).

Tablica 10. Utjecaj termina djelomične defolijacije na sastav i sadržaj hidroksicimetnih kiselina i resveratrola u kožici bobice sorte 'Merlot', Jazbina, 2018. i 2019. godina

	Kaftarinska kiselina	Kafeinska kiselina	Kutarinska kiselina	Fertarinska kiselina	Ukupne hidroksicimentne kiseline	Resveratrol-3-O-glukozid
2018						
DE 1	146,17±0,47 <sup>a</sup>	26,86±2,83	155,82±8,26 <sup>a</sup>	46,13±0,70 <sup>a</sup>	374,99±11,20 <sup>a</sup>	202,25±5,01 <sup>a</sup>
DE 2	150,36±2,12 <sup>a</sup>	25,07±0,55	137,43±9,82 <sup>b</sup>	27,63±7,90 <sup>bc</sup>	340,50±20,40 <sup>b</sup>	138,72±10,69 <sup>b</sup>
DE 3	127,59±4,85 <sup>c</sup>	24,00±2,27	126,68±2,76 <sup>b</sup>	17,63±0,72 <sup>c</sup>	295,91±1,92 <sup>c</sup>	95,45±3,42 <sup>d</sup>
DE 4	137,71±1,21 <sup>b</sup>	25,88 0,07	133,41±6,52 <sup>b</sup>	19,39±2,43 <sup>bc</sup>	316,41±9,60 <sup>bc</sup>	112,78±4,92 <sup>c</sup>
K	135,40±2,25 <sup>b</sup>	22,66±1,65	132,11±2,40 <sup>b</sup>	29,24±2,62 <sup>b</sup>	319,42±5,21 <sup>bc</sup>	204,73±2,90 <sup>a</sup>
2019						
DE 1	151,99±4,28 <sup>a</sup>	7,93±1,48 <sup>a</sup>	64,73±5,20 <sup>a</sup>	42,87±8,93	267,53±6,92 <sup>a</sup>	198,17±3,17 <sup>ab</sup>
DE 2	132,87±2,39 <sup>b</sup>	6,16±2,29 <sup>ab</sup>	43,88±7,50 <sup>ab</sup>	34,67±2,16	217,60±10,19 <sup>b</sup>	205,41±2,98 <sup>a</sup>
DE 3	119,32±3,96 <sup>c</sup>	5,54±0,76 <sup>ab</sup>	54,16±20,95 <sup>ab</sup>	31,09±0,59	210,12±19,08 <sup>bc</sup>	179,74±2,32 <sup>b</sup>
DE 4	110,39±0,64 <sup>c</sup>	3,70±0,72 <sup>b</sup>	31,58±4,70 <sup>b</sup>	37,13±8,50	182,82±12,50 <sup>cd</sup>	189,92±11,82 <sup>ab</sup>
K	98,50±4,48 <sup>d</sup>	4,76±0,09 <sup>ab</sup>	30,54±2,03 <sup>b</sup>	38,74±2,22	172,56±4,22 <sup>d</sup>	184,95±9,40 <sup>b</sup>
G	***	***	***	***	***	***
T*G	***	ns	ns	*	**	***
DE 1- djelomična defolijacija provedena neposredno prije cvatnje; DE 2- djelomična defolijacija provedena u vrijeme zametanja bobica; DE 3- djelomična defolijacija provedena u vrijeme zatvaranja grozdova; DE 4- djelomična defolijacija provedena na početku šare; K- kontrola; G- signifikantnost godine; G*T-signifikantnost interakcije godine i tretmana; srednja vrijednost ± SD (n=3); različita slova kraj srednje vrijednosti označavaju statistički značajnu razliku između tretmana pomoću Tukey's test signifikantnosti $p<0,05$ ; ns označava da nema statistički značajne razlike; * , ** i *** označavaju statistički značajnu razliku između godina i interakcije godine i tretmana sa $p<0.05$ , $<0.01$ i $>0.0001$ ; vrijednosti su izražene u mg/kg suhe kožice						

#### 4.9. Utjecaj termina djelomične defolijacije na sastav i zastupljenost hlapljivih terpena

Primjenom metode GC-MS detektirano je i kvantificirano ukupno 33 pojedinačnih hlapljivih spojeva u kožici grožđa sorte 'Merlot', uključujući hlapljive estere, terpene, alkohole, kiseline i karbonilne spojeve aldehide i ketone. Ukupno je detektirano i kvantificirano 6 aldehida (heksanal, (E)-2-heksenal, dekanal, benzaldehid, 4-etil-benzaldehid, 2,4-dimetil-benzaldehid), 2 ketona (acetoin, 6-metil-5-hepten-2-on), 11 alkohola ((Z)-3-heksen-1-ol, 1-heksanol, (E)-2-heksen-1-ol, benzilni alkohol, 1-nonanol, (E)-3-heksen-1-ol, izoamilalkohol, feniletil alkohol, (E)-2-heksenol, 1-metoksi-2-propanol, 3-metoksi-1-butanol), 8 kiselina (benzojeva, pentanska, heksanska, 2-etil-heksanka, (E)-2-heksenska, heptanska, oktanska, nonanska kiselina), 3 estera (etil-2-hidroksipropanoat, etil-heksanoat, etil-oktanoat) te 3 terpena (mentol, geranilaceton i metil-geraniat). Rezultati su izraženi u apsolutnim površinama pikova (APP), što je uobičajena praksa pri analizi SPME čvrstih uzoraka kada ne postoji komercijalno dostupna matrica uzorka (Šikuten i sur., 2021).

Djelomična defolijacija, neovisno o terminu provedbe, utjecala je na smanjenje zastupljenosti hlapljivih terpena mentola i geranilacetona 2018. godine. 2019. godine, djelomična defolijacija je, neovisno o terminu, utjecala na povećanje zastupljenosti geranilacetona i metil-geraniata. Tretamani DE 1 i DE 2 utjecali su na povećanje zastupljenosti terpena metil-geraniata u obje godine istraživanja, te mentola i geranilacetona, ali samo 2019. godine. Godina je utjecala na zastupljenost spojeva geranilacetona i metil-geraniata (Tablica 11).

Tablica 11. Utjecaj termina djelomične defolijacije na sastav i zastupljenost hlapljivih terpene u kožici bobice sorte 'Merlot', Jazbina, 2018. i 2019. godina

	Mentol	Geranilaceton	Metil-geraniat
2018			
DE 1	49,0±0,2 <sup>b</sup>	3,8±0,1 <sup>c</sup>	17,0±0,1 <sup>a</sup>
DE 2	30,0±0,2 <sup>d</sup>	nd <sup>d</sup>	14,0±0,1 <sup>b</sup>
DE 3	30,0±0,2 <sup>d</sup>	11,0±0,1 <sup>b</sup>	7,4±0,1 <sup>c</sup>
DE 4	33,0±0,2 <sup>c</sup>	11,0±0,1 <sup>b</sup>	7,1±0,1 <sup>d</sup>
K	53,0±0,3 <sup>a</sup>	12,0±0,1 <sup>a</sup>	7,2±0,1 <sup>d</sup>
2019			
DE 1	61,0±0,3 <sup>a</sup>	7,3,0±0,1 <sup>c</sup>	4,5±0,1 <sup>b</sup>
DE 2	36,0±0,2 <sup>c</sup>	7,1,0±0,1 <sup>d</sup>	5,7±0,1 <sup>a</sup>
DE 3	38,0±0,2 <sup>b</sup>	12,0±0,1 <sup>a</sup>	3,4±0,1 <sup>c</sup>
DE 4	18,0±0,1 <sup>e</sup>	9,3,0±0,1 <sup>b</sup>	1,9±0,1 <sup>d</sup>
K	23,0±0,1 <sup>d</sup>	5,3,0±0,1 <sup>e</sup>	nd <sup>e</sup>
G	ns	**	***
T*G	**	***	***
DE 1- djelomična defolijacija provedena neposredno prije cvatnje; DE 2- djelomična defolijacija provedena u vrijeme zametanja bobica; DE 3- djelomična defolijacija provedena u vrijeme zatvaranja grozdova; DE 4- djelomična defolijacija provedena na početku šare; K- kontrola; G- signifikantnost godine; G*T-signifikantnost interakcije godine i tretmana; srednja vrijednost ± SD (n=3); nd- nije detektirano; različita slova kraj srednje vrijednosti označavaju statistički značajnu razliku između tretmana pomoću Tukey`s test signifikantnosti $p < 0,05$ ; ns označava da nema statistički značajne razlike; *, **, i *** označavaju statistički značajnu razliku između godina i interakcije godine i tretmana sa $p < 0,05$ , $< 0,01$ i $> 0,0001$ ; vrijednosti su izražene u apsolutnoj površini pika $\times 10^5$			



#### 4.10. Utjecaj termina djelomične defolijacije na sastav i zastupljenost hlapljivih estera

U kožici grožđa sorte 'Merlot' utvrđena su 3 hlapljiva estera u 2018. i 2019. godini- etil-2-hidroksipropanoat, etil-heksanoat i etil-oktanoat (Tablica 12).

Djelomična defolijacija je, neovisno o terminu, 2018. godine utjecala na smanjenje zastupljenosti etil-hidroksipropanoata, dok je 2019. godine, neovisno o terminu, utjecala na povećanje zastupljenosti etil-hidroksipropanoata i etil-heksanoata.

Tablica 12. Utjecaj termina djelomične defolijacije na sastav i zastupljenost hlapljivih estera u koži bobice sorte 'Merlot', Jazbina, 2018. i 2019. godina

	Etil-2-hidroksipropanoat	Etil-heksanoat	Etil-oktanoat
2018			
DE 1	21,0±0,1 <sup>b</sup>	120,0±0,6 <sup>c</sup>	45,0±0,2 <sup>a</sup>
DE 2	11,0±0,1 <sup>d</sup>	170,0±0,8 <sup>a</sup>	40,0±0,2 <sup>c</sup>
DE 3	9,5±0,1 <sup>e</sup>	nd <sup>e</sup>	29,0±0,1 <sup>d</sup>
DE 4	13,0±0,1 <sup>c</sup>	36,0±0,2 <sup>d</sup>	28,0±0,1 <sup>e</sup>
K	26,0±0,1 <sup>a</sup>	140,0±0,7 <sup>b</sup>	41,0±0,2 <sup>b</sup>
2019			
DE 1	78,0±0,4 <sup>c</sup>	nd <sup>d</sup>	17,0±0,1 <sup>d</sup>
DE 2	210,0±1,0 <sup>a</sup>	130,0±0,6 <sup>c</sup>	55,0±0,3 <sup>b</sup>
DE 3	200,0±1,0 <sup>b</sup>	210,0±1,1 <sup>a</sup>	80,0±0,4 <sup>a</sup>
DE 4	200,0±1,0 <sup>b</sup>	140,0±0,7 <sup>b</sup>	39,0±0,2 <sup>c</sup>
K	46,0±0,2 <sup>d</sup>	nd <sup>d</sup>	39,0±0,2 <sup>c</sup>
G	***	***	***
T*G	***	***	***
DE 1- djelomična defolijacija provedena neposredno prije cvatnje; DE 2- djelomična defolijacija provedena u vrijeme zametanja bobica; DE 3- djelomična defolijacija provedena u vrijeme zatvaranja grozdova; DE 4- djelomična defolijacija provedena na početku šare; K- kontrola; G- signifikantnost godine; G*T-signifikantnost interakcije godine i tretmana; srednja vrijednost ± SD (n=3); nd- nije detektirano; različita slova kraj srednje vrijednosti označavaju statistički značajnu razliku između tretmana pomoću Tukey's test signifikantnosti $p < 0,05$ ; ns označava da nema statistički značajne razlike; * , ** i *** označavaju statistički značajnu razliku između godina i interakcije godine i tretmana sa $p < 0.05$ , $< 0.01$ i $> 0.0001$ ; vrijednosti su izražene u apsolutnoj površini pika $\times 10^5$			

#### 4.11. Utjecaj termina djelomične defolijacije na sastav i zastupljenost hlapljivih alkohola

U kožici grožđa sorte 'Merlot' utvrđeno je ukupno 11 hlapljivih alkohola (Tablica 13, Prilog 3)- (Z)-3-heksen-1-ol, 1-heksanol, (E)-2-heksen-1-ol, benzilni alkohol, 1-nonanol, (E)-3-heksen-1-ol, izoamilalkohol, feniletil alkohol, (E)-2-heksenol, 1-metoksi-2-propanol i 3-metoksi-1-butanol.

Djelomična defolijacija utjecala je na smanjenje zastupljenosti C6 alkohola 1-heksanola u kožici grožđa sorte 'Merlot' u obje godine istraživanja. Također, djelomična defolijacija 2018. godine utjecala je na smanjenje zastupljenosti (E)-2-heksen-1-ola, (E)-3-heksen-1-ola, (Z)-3-heksen-1-ola i izoamil alkohola, te je 2019. godine utjecala je na smanjenje zastupljenosti (E)-2-heksenola. DE 1 i DE 2 u obje godine istraživanja utjecala su na smanjenje zastupljenosti 1-heksanola i (E)-2-heksenola.

Tablica 13. Utjecaj termina djelomične defolijacije na sastav i zastupljenost hlapljivih alkohola u koži bobice sorte 'Merlot', Jazbina, 2018. i 2019. godina

	1-heksanol	(E)-2-heksenol	(E)-2-heksen-1-ol	(E)-3-heksen-1-ol	(Z)-3-heksen-1-ol	1-nonanol	Benzil alkohol	Feniletil alkohol	Izoamil alkohol
2018									
DE 1	620±3,1 <sup>e</sup>	470±2,3 <sup>e</sup>	15,0±0,1 <sup>b</sup>	28,0±0,1 <sup>d</sup>	14,0±0,1 <sup>e</sup>	15,0±0,1 <sup>a</sup>	93,0±0,4 <sup>a</sup>	39,0±0,2 <sup>b</sup>	1200,0±6,0 <sup>b</sup>
DE 2	750±3,7 <sup>c</sup>	650±3,2 <sup>d</sup>	3,3±0,1 <sup>d</sup>	55,0±0,3 <sup>b</sup>	21,0±0,1 <sup>b</sup>	11,0±0,1 <sup>b</sup>	71,0±0,3 <sup>c</sup>	34,0±0,2 <sup>d</sup>	1100,0±5,5 <sup>c</sup>
DE 3	730±3,6 <sup>d</sup>	760±3,8 <sup>c</sup>	10,0±0,1 <sup>c</sup>	43,0±0,2 <sup>c</sup>	18,0±0,1 <sup>c</sup>	7,0±0,1 <sup>d</sup>	44,0±0,2 <sup>e</sup>	24,0±0,1 <sup>e</sup>	820,0±4,1 <sup>d</sup>
DE 4	810±4,0 <sup>b</sup>	1200±6,0 <sup>a</sup>	15,0±0,1 <sup>b</sup>	28,0±0,5 <sup>d</sup>	17,0±0,1 <sup>d</sup>	8,7±0,1 <sup>c</sup>	57,0±0,1 <sup>d</sup>	44,0±0,2 <sup>a</sup>	810,0±4,1 <sup>d</sup>
K	960±4,8 <sup>a</sup>	1000±5,0 <sup>b</sup>	37,0±0,3 <sup>a</sup>	63,0±0,3 <sup>a</sup>	50,0±0,2 <sup>a</sup>	8,6±0,1 <sup>c</sup>	90,0±0,4 <sup>b</sup>	37,0±0,1 <sup>c</sup>	2200,0±11,0 <sup>a</sup>
2019									
DE 1	820±4,1 <sup>e</sup>	370±1,8 <sup>e</sup>	51,0±0,2 <sup>b</sup>	36,0±0,2 <sup>e</sup>	120,0±0,6 <sup>b</sup>	6,4±0,1 <sup>c</sup>	360,0±1,8 <sup>a</sup>	63,0±0,3 <sup>a</sup>	1400,0±7,0 <sup>d</sup>
DE 2	940±4,7 <sup>c</sup>	440±2,2 <sup>d</sup>	48,0±0,2 <sup>c</sup>	85,0±0,4 <sup>a</sup>	110,0±0,5 <sup>c</sup>	9,0±0,1 <sup>b</sup>	200,0±1,0 <sup>b</sup>	37,0±0,2 <sup>b</sup>	3000,0±1,0 <sup>a</sup>
DE 3	1000±5,0 <sup>b</sup>	1100±5,5 <sup>b</sup>	62,0±0,3 <sup>a</sup>	45,0±0,2 <sup>d</sup>	140,0±0,7 <sup>a</sup>	9,9±0,1 <sup>a</sup>	180,0±0,9 <sup>c</sup>	35,0±0,2 <sup>c</sup>	2600,0±13,0 <sup>b</sup>
DE 4	840±4,2 <sup>d</sup>	1000±5,0 <sup>c</sup>	37,0±0,2 <sup>d</sup>	54,0±0,2 <sup>b</sup>	87,0±0,4 <sup>e</sup>	6,4±0,1 <sup>c</sup>	170,0±0,8 <sup>d</sup>	27,0±0,1 <sup>e</sup>	2600,0±13,0 <sup>b</sup>
K	1200±6,0 <sup>a</sup>	1300±6,5 <sup>a</sup>	21,0±0,1 <sup>e</sup>	48,0±0,2 <sup>c</sup>	100,0±0,5 <sup>d</sup>	nd <sup>d</sup>	170,0±0,8 <sup>d</sup>	29,0±0,1 <sup>d</sup>	1900,0±9,5 <sup>c</sup>
G	***	ns	***	***	***	***	***	ns	***
T*G	***	**	***	***	***	ns	ns	ns	***
DE 1- djelomična defolijacija provedena neposredno prije cvatnje; DE 2- djelomična defolijacija provedena u vrijeme zametanja bobica; DE 3- djelomična defolijacija provedena u vrijeme zatvaranja grozdova; DE 4- djelomična defolijacija provedena na početku šare; K- kontrola; G- signifikantnost godine; G*T- signifikantnost interakcije godine i tretmana; srednja vrijednost ± SD (n=3); nd- nije detektirano; različita slova kraj srednje vrijednosti označavaju statistički značajnu razliku između tretmana pomoću Tukey` s test signifikantnosti $p < 0,05$ ; ns označava da nema statistički značajne razlike; *, ** i *** označavaju statistički značajnu razliku između godina i interakcije godine i tretmana sa $p < 0.05$ , $< 0.01$ i $> 0.0001$ ; vrijednosti su izražene u apsolutnoj površini pika $\times 10^5$									

#### 4.12. Utjecaj termina djelomične defolijacije sastav i zastupljenost hlapljivih kiselina

Zastupljenost hlapljivih kiselina u koži bobice sorte 'Merlot' prikazan je u Tablici 14. Ukupno je detektirano i kvantificirano 8 kiselina- benzojeva, pentanska, heksanska, (E)-2-heksenska, 2-etil-heksanska, heptanska, nonanska i oktanska kiselina.

Djelomična defolijacija utjecala je na smanjenje zastupljenosti heksanske i (E)-2-heksenske kiseline u koži grožđa sorte 'Merlot' u obje godine istraživanja (Tablica 14). Također, djelomična defolijacija 2019. godine utjecala je na smanjenje zastupljenosti 2-etil-heksanske, pentanske i benzojeve kiseline. DE 1 i DE 2 utjecale su na smanjenje zastupljenosti heksanske i (E)-2-heksenske kiseline u obje godine istraživanja.

Tablica 14. Utjecaj termina djelomične defolijacije na sastav i zastupljenost hlapljivih kiselina u kožici bobice sorte 'Merlot', Jazbina, 2018. i 2019. godina

	Heksanska kiselina	(E)-2-heksenska kiselina	2-etil-heksanska kiselina	Pentanska kiselina	Heptanska kiselina	Oktanska kiselina	Nonanska kiselina	Benzojeva kiselina
2018								
DE 1	230,0±1,1 <sup>b</sup>	27,0±0,1 <sup>d</sup>	22,0±0,1 <sup>a</sup>	14,0±0,1 <sup>b</sup>	13,0±0,1 <sup>a</sup>	32,0±0,1 <sup>a</sup>	76,0±0,1 <sup>a</sup>	60,0±0,3 <sup>a</sup>
DE 2	100,0±0,5 <sup>d</sup>	29,0±0,1 <sup>c</sup>	9,1±0,1 <sup>d</sup>	nd <sup>e</sup>	nd <sup>b</sup>	14,0±0,1 <sup>d</sup>	22,0±0,1 <sup>c</sup>	50,0±0,2 <sup>d</sup>
DE 3	220,0±1,1 <sup>c</sup>	15,0±0,1 <sup>e</sup>	13,0±0,1 <sup>c</sup>	16,0±0,1 <sup>a</sup>	nd <sup>b</sup>	11,0±0,1 <sup>e</sup>	11,0±0,1 <sup>e</sup>	52,0±0,3 <sup>c</sup>
DE 4	250,0±1,2 <sup>a</sup>	36,0±0,2 <sup>b</sup>	15,0±0,1 <sup>b</sup>	11,0±0,1 <sup>c</sup>	nd <sup>b</sup>	18,0±0,1 <sup>c</sup>	18,0±0,1 <sup>d</sup>	39,0±0,2 <sup>e</sup>
K	250,0±1,2 <sup>a</sup>	61,0±0,3 <sup>a</sup>	7,1±0,1 <sup>e</sup>	5,9±0,1 <sup>d</sup>	nd <sup>b</sup>	20,0±0,1 <sup>b</sup>	24,0±0,1 <sup>b</sup>	58,0±0,3 <sup>b</sup>
2019								
DE 1	77,0±0,4 <sup>e</sup>	35,0±0,2 <sup>e</sup>	9,5±0,1 <sup>d</sup>	nd <sup>d</sup>	1,3±0,1 <sup>d</sup>	18,0±0,1 <sup>a</sup>	51,0±0,2 <sup>a</sup>	37,0±0,1 <sup>c</sup>
DE 2	89,0±0,4 <sup>d</sup>	40,0±0,2 <sup>d</sup>	7,6±0,1 <sup>e</sup>	2,6±0,1 <sup>c</sup>	1,7±0,1 <sup>c</sup>	14,0±0,1 <sup>c</sup>	25,0±0,1 <sup>b</sup>	42,0±0,2 <sup>b</sup>
DE 3	210,0±1,0 <sup>c</sup>	46,0±0,2 <sup>b</sup>	18,0±0,1 <sup>b</sup>	nd <sup>d</sup>	2,5±0,1 <sup>b</sup>	16,0±0,1 <sup>b</sup>	21,0±0,1 <sup>c</sup>	36,0±0,2 <sup>d</sup>
DE 4	230,0±1,1 <sup>b</sup>	42,0±0,2 <sup>c</sup>	16,0±0,1 <sup>c</sup>	8,0±0,1 <sup>b</sup>	22,0±0,1 <sup>a</sup>	10,0±0,1 <sup>e</sup>	11,0±0,1 <sup>e</sup>	31,0±0,1 <sup>e</sup>
K	310,0±1,5 <sup>a</sup>	53,0±0,3 <sup>a</sup>	19,0±0,1 <sup>a</sup>	9,1±0,1 <sup>a</sup>	nd <sup>e</sup>	13,0±0,1 <sup>d</sup>	15,0±0,1 <sup>d</sup>	43,0±0,2 <sup>a</sup>
G	ns	***	ns	***	***	***	ns	***
T*G	*	***	***	***	***	***	***	***

DE 1- djelomična defolijacija provedena neposredno prije cvatnje; DE 2- djelomična defolijacija provedena u vrijeme zametanja bobica; DE 3- djelomična defolijacija provedena u vrijeme zatvaranja grozdova; DE 4- djelomična defolijacija provedena na početku šare; K- kontrola; G- signifikantnost godine; G\*T- signifikantnost interakcije godine i tretmana; srednja vrijednost ± SD (n=3); nd- nije detektirano; različita slova kraj srednje vrijednosti označavaju statistički značajnu razliku između tretmana pomoću Tukey's test signifikantnosti  $p < 0,05$ ; ns označava da nema statistički značajne razlike; \*, \*\* i \*\*\* označavaju statistički značajnu razliku između godina i interakcije godine i tretmana sa  $p < 0.05$ ,  $< 0.01$  i  $> 0.0001$ ; vrijednosti su izražene u apsolutnoj površini pika  $\times 10^5$

#### 4.13. Utjecaj termina djelomične defolijacije na sastav i zastupljenost karbonilnih spojeva

Ukupno je identificirano i kvantificirano 8 pojedinačnih karbonilnih spojeva u kožici grožđa sorte 'Merlot', uključujući hlapljive aldehide i hlapljive ketone. Ukupno je detektirano i kvantificirano 6 aldehida- heksanal, (E)-2-heksenal, dekanal, benzaldehid, 4-etil-benzaldehid, 2,4-dimetil-benzaldehid, te 2 ketona- acetoin i 6-metil-5-hepten-2-on.

Djelomična defolijacija, neovisno o terminu provedbe, utjecala je na smanjenje zastupljenosti aldehida (E)-2-heksenala i 4-etil-benzaldehida u obje godine istraživanja, te heksenala i benzaldehida, ali samo 2018. godine.

DE 1 i DE 2 utjecale su je na smanjenje zastupljenosti (E)-2-heksenala i 4-etil-benzaldehida u obje godine istraživanja. Heksanal nije detektiran u obje godine istraživanja kod tretmana D1.

Tablica 15. Utjecaj termina djelomične defolijacije na sastav i zastupljenost karbonilnih spojeva u kožici bobice sorte "Merlot", Jazbina, 2018. i 2019. godina

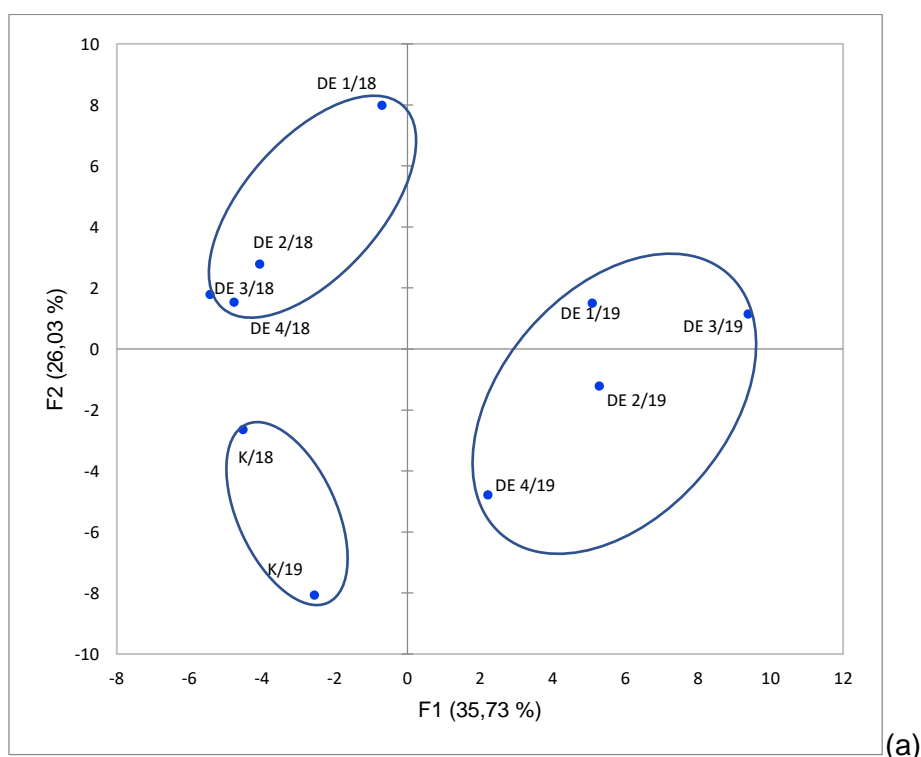
	(E)-2-heksenal	Heksanal	Benzaldehid	2,4-dimetil-benzaldehid	4-etil-benzaldehid	Dekanal	6-metil-5-hepten-2-on	Acetoin
2018								
DE 1	330,0±1,6 <sup>c</sup>	nd <sup>b</sup>	29,0±0,1 <sup>c</sup>	50,0±0,2 <sup>b</sup>	21,0±0,1 <sup>b</sup>	15,0±0,1 <sup>d</sup>	8,8±0,1 <sup>b</sup>	510±2,5 <sup>a</sup>
DE 2	310,0±1,5 <sup>e</sup>	nd <sup>b</sup>	30,0±0,1 <sup>b</sup>	53,0±0,2 <sup>a</sup>	18,0±0,1 <sup>c</sup>	48,0±0,2 <sup>a</sup>	6,0±0,1 <sup>d</sup>	13,0±0,1 <sup>e</sup>
DE 3	390,0±1,9 <sup>b</sup>	nd <sup>b</sup>	24,0±0,1 <sup>e</sup>	22,0±0,1 <sup>d</sup>	17,0±0,1 <sup>d</sup>	14,0±0,1 <sup>e</sup>	6,0±0,1 <sup>d</sup>	17,0±0,1 <sup>d</sup>
DE 4	320,0±1,6 <sup>d</sup>	nd <sup>b</sup>	26,0±0,1 <sup>d</sup>	6,7,0±0,1 <sup>e</sup>	15,0±0,1 <sup>e</sup>	18,0±0,1 <sup>c</sup>	9,0±0,1 <sup>a</sup>	120,0±0,6 <sup>b</sup>
K	520,0±2,6 <sup>a</sup>	220,0±1,1 <sup>a</sup>	60,0±0,3 <sup>a</sup>	37,0±0,1 <sup>c</sup>	24,0±0,1 <sup>a</sup>	23,0±0,1 <sup>b</sup>	6,1±0,1 <sup>c</sup>	22,0±0,1 <sup>c</sup>
2019								
DE 1	480,0±2,4 <sup>d</sup>	nd <sup>d</sup>	87,0±0,4 <sup>a</sup>	36,0±0,1 <sup>e</sup>	11,0±0,1 <sup>b</sup>	22,0±0,1 <sup>c</sup>	11,0±0,1 <sup>b</sup>	12,0±0,1 <sup>b</sup>
DE 2	470,0±2,3 <sup>e</sup>	170,0±0,1 <sup>a</sup>	67,0±0,3 <sup>c</sup>	140,0±0,7 <sup>a</sup>	11,0±0,1 <sup>b</sup>	20,0±0,1 <sup>d</sup>	14,0±0,1 <sup>a</sup>	19,0±0,1 <sup>a</sup>
DE 3	810,0±4,0 <sup>b</sup>	14,0±0,1 <sup>c</sup>	56,0±0,2 <sup>d</sup>	110,0±0,5 <sup>c</sup>	11,0±0,1 <sup>b</sup>	34,0±0,2 <sup>a</sup>	9,1±0,1 <sup>c</sup>	12,0±0,1 <sup>b</sup>
DE 4	620,0±3,1 <sup>c</sup>	160,0±0,8 <sup>b</sup>	79,0±0,3 <sup>b</sup>	60,0±0,3 <sup>d</sup>	9,2±0,1 <sup>c</sup>	18,0±0,1 <sup>e</sup>	11,0±0,1 <sup>b</sup>	12,0±0,1 <sup>b</sup>
K	850,0±4,2 <sup>a</sup>	nd <sup>d</sup>	44,0±0,2 <sup>e</sup>	120,0±0,6 <sup>b</sup>	12,0±0,1 <sup>a</sup>	25,0±0,1 <sup>b</sup>	7,9±0,1 <sup>d</sup>	nd <sup>c</sup>
G	***	***	***	***	***	ns	***	***
T*G	**	***	**	**	***	***	***	***
DE 1- djelomična defolijacija provedena neposredno prije cvatnje; DE 2- djelomična defolijacija provedena u vrijeme zametanja bobica; DE 3- djelomična defolijacija provedena u vrijeme zatvaranja grozdova; DE 4- djelomična defolijacija provedena na početku šare; K- kontrola; G- signifikantnost godine; G*T- signifikantnost interakcije godine i tretmana; srednja vrijednost ± SD (n=3); nd- nije detektiran; različita slova kraj srednje vrijednosti označavaju statistički značajnu razliku između tretmana pomoću Tukey's test signifikantnosti $p < 0,05$ ; ns označava da nema statistički značajne razlike; * , ** i *** označavaju statistički značajnu razliku između godina i interakcije godine i tretmana sa $p < 0.05$ , $< 0.01$ i $> 0.0001$ ; vrijednosti su izražene u apsolutnoj površini pika $\times 10^5$								

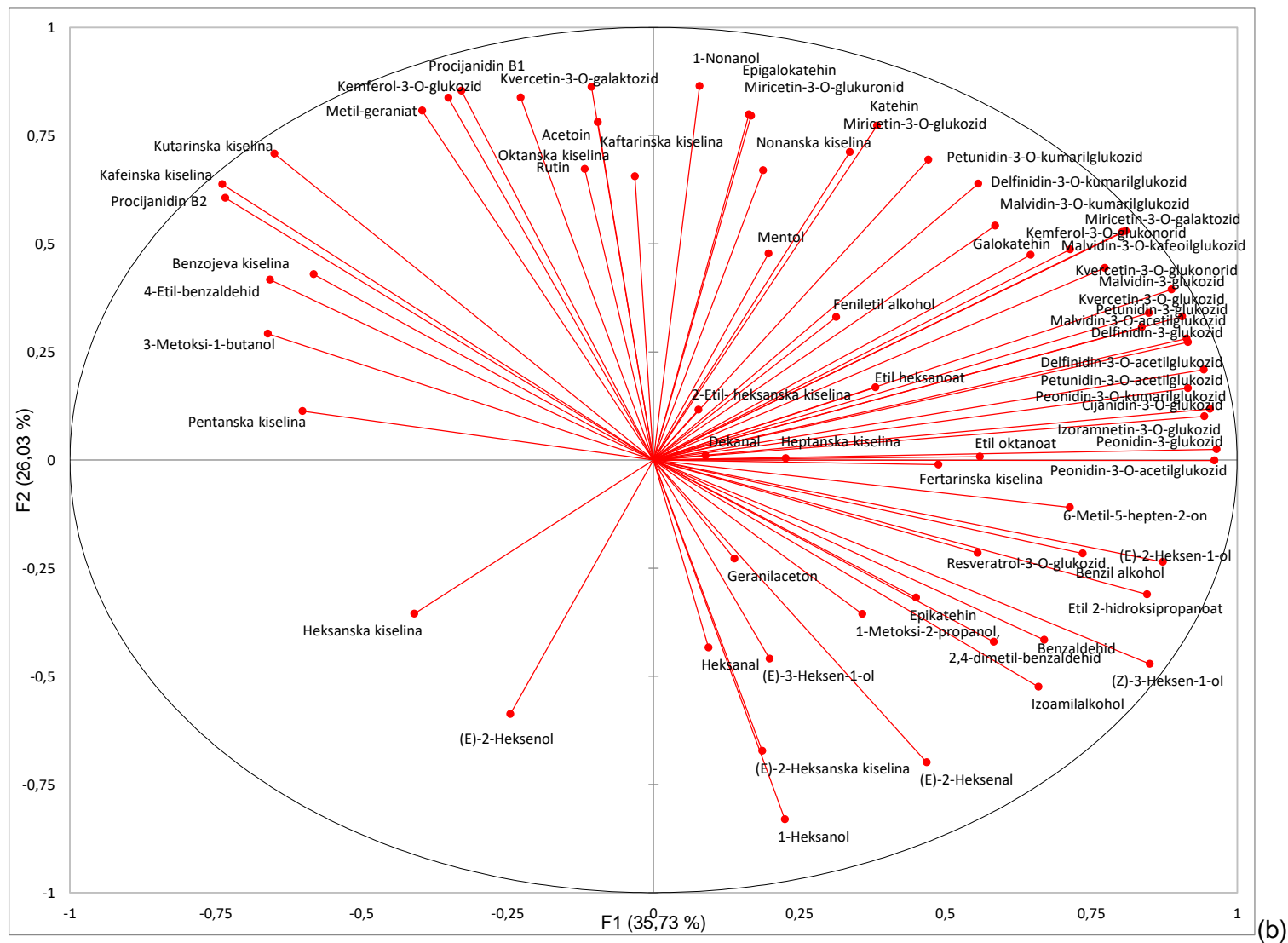


#### 4.14. PCA

Rezultat PCA primijenjene na četiri termina provedbe djelomične defolijacije (na početku šare, u vrijeme zametanja bobica, zatvaranja grozdova te na početku šare) te na kontrolnom tretmanu, tijekom dvije godine istraživanja, na temelju sadržaja polifenolnih i hlapljivih spojeva u kožicama grožđa (antocijani, flavonoli i flavan-3-oli, hlapljivi esteri, kiseline, alkoholi i karbonilni spojevi), predstavljen je u Grafikonu 6. Prve dvije glavne komponente predstavljene na ovom grafikonu objašnjavaju više od 61% ukupne varijabilnosti. Grafikon sadrži i vektore koji objašnjavaju smjer varijabli u istom prostoru. Iz navedenog prikaza vidljivo je jasno razdvajanje tretmana i godina u različite kvadrante.

Udaljenost između kontrolnog tretmana i tretmana D1 u 2018. godini temelji se na većem sadržaju mentola, katehina i miricetin-3-O-glukozida, dok se u 2019. godini temelji se na sadržaju antocijana petunidin-3-O-kumaril-glukozid i delfinidin-3-O-kumaril-glukozid u kožici grožđa. Udaljenost između kontrolnog tretmana i tretmana D2, D3 i D4 u 2018. godini temelji se na sadržaju kaftarinske kiseline, heksanala i 1-heksanola, dok u 2019. godini temelji na sadržaju malvidin-3-O-glukozida.





Grafikon 6a i b. Principal component analysis (PCA) na sadržaju pojedinačnih hlapljivih i polifenolnih spojeva na četiri termina provedene djelomične defolijacije te kontrolnog tretmana na sorti 'Merlot' 2018. i 2019. godine

## 5. RASPRAVA

### 5.1. Utjecaj djelomične defolijacije na mikroklimat trsa

Glavni cilj istraživanja bio je prikazati utjecaj termina djelomične defolijacije na mikroklimat trsa te sastav i sadržaj polifenolnih i hlapljivih spojeva u grožđu sorte 'Merlot' u kontinentalnim uvjetima Hrvatske. Defolirani trsovi primili su znatno više UV zračenja od kontrolnih trsova u obje godine istraživanja (Grafikon 4), što se slaže sa istraživanjima Gregan i sur. (2012), Joubert i sur. (2016) i Šuklje i sur. (2014). UV zračenje u zoni grožđa pokazalo je vrhunac u 09:00 sati, vjerojatno zato što je kod vinograda gdje su redovi orijentirani sjeveroistok-jugozapad, sunce u podne izravno iznad reda te listovi koji se nalaze iznad zone grožđa stvaraju sjenu u zoni grožđa (Bubola i sur., 2019; Feng i sur., 2015).

Temperatura zraka na visini od 2 m predstavlja mjerenje mezoklimata vinograda i specifična je za određeno vinogorje, vinograd ili dio vinograda. S druge strane, temperatura zraka zone grožđa, kao i temperatura samog grozda predstavljaju mjerenje mikroklimata trsa te se može uzeti u obzir pri ispitivanju učinka određenih ampelotehničkih zahvata na mikroklimat trsa i utjecaj temperature na kvalitetu grožđa (Chorti i sur., 2010; Nicholas i sur., 2011; Young i sur., 2016). Temperatura grozda defoliranih trsova obično pokazuje veće vrijednosti u odnosu na temperaturu grozda kontrolnih trsova, zbog toga što su senzori za mjerenje temperature postavljeni direktno na površinu bobice te su pod direktnim utjecajem sunčevog zračenja i zagrijavanja površine bobice (Bubola i sur., 2019; Cataldo i sur., 2021b; Hickey i sur., 2018), dok senzori koji mjere temperature zraka zone grožđa defoliranih i kontrolnih trsova često pokazuju slične trendove, kao što to prikazano i u Grafikonu 1, a i u istraživanju Lu i sur. (2022), vjerojatno zbog činjenice da je cirkulacija zraka unutar zone grožđa učinkovitija, tj. omogućuje veće kretanje zraka (Quinones i sur., 2020). He i sur. (2020) te Yue i sur. (2019) utvrdili su višu temperaturu zraka zone grožđa defoliranog trsa u odnosu na kontrolni trs. S druge strane, Young i sur. (2016) pokazali su više temperature zraka zone grožđa defoliranih trsova samo tijekom noći u odnosu na kontrolu, dok je razlika u temperaturi zraka zone grožđa tijekom dana bila manje izražena.

Mezoklimatska mjerenja u vinogradu odrazila su se na mjerenja mikroklimata trsa. I temperature zraka i temperature mikroklimata pokazale su da je sezona 2019. bila toplija od zemetanja bobica do šare, a sezona 2018. od šare do berbe, što se odrazilo na kemijski sastav grožđa. Iako su prosječne dnevne temperature zraka važni podaci za karakterizaciju vegetacijske sezone, oni nisu toliko kritični za fiziologiju grožđa, kao što je to je postotak izloženosti određenim temperaturama (Marais i sur., 1999; Spayd i sur., 2002).

Razlike u temperaturnim uvjetima tijekom različitih faza razvoja grožđa mogu utjecati na fiziologiju dozrijevanja grožđa (Bergqvist i sur., 2001; Hunter i Bonnardot, 2011; Spayd i sur., 2002) te nakupljanje fenolnih spojeva, posebno antocijana (Azuma i sur., 2012; Tarara i sur., 2008).

Postotak vremena izloženosti zone grožđa definiranim temperaturnim rasponima nije se razlikovao između dva tretmana (Grafikon 2 i 3), ali su se jasno razlikovale dvije vegetacijske sezone. Iako je zona grožđa u 2018. godini imala niže temperature zraka u vremenu od zametanja bobica do šare, kada su dnevne temperature zone grožđa bile ispod 20 °C 24 % vremena, grožđe je uspješno dozorilo zbog povećanja temperature zone grožđa tijekom dozrijevanja grožđa (od šare do berbe). Tijekom dozrijevanja grožđa 2019. godine, niske dnevne temperature unutar zone grožđa (24 % vremena ispod 20 °C) mogle su utjecati na nakupljanje šećera. Temperatura zraka optimalna za nakupljanje šećera je između 25 i 30 °C tijekom dana, dok više ili niže temperature tijekom dozrijevanja grožđa mogu ograničiti fotosintezu i nakupljanje šećera, vegetativni i generativni rast te proizvodnju prekursora za brojne spojeve poput organskih kiselina i sekundarnih metabolita (Ferrini i sur., 1995; Greer i Weedon, 2013; Hunter i Bonnardot, 2011; Keller, 2010; Kliewer, 1977; Rienth i sur., 2016).

Dnevna temperatura zraka zone grožđa od šare do berbe bila je viša u 2018. nego u 2019., te je grožđe bilo izloženo temperaturama iznad 30 °C 23 % vremena, dok je taj postotak u 2019. godini iznosio 15 % (Grafikon 2). Grožđe je tijekom perioda dozrijevanja 2018. godine bilo izloženo i noćnom temperaturnom stresu (Grafikon 3), s temperaturom zraka zone grožđa višom od 20 °C 50 % vremena. Temperature mikroklimata iznad 35 °C nisu bile česte i dogodile su se 2019. godine tijekom samo dva sata na početku šare grožđa. Povišene dnevne i noćne temperature mogu ograničiti sintezu i pospješiti razgradnju postojećih antocijana (Chorti i sur., 2010; Mori i sur., 2005; Pastore i sur., 2017; Spayd i sur., 2002), s time da dnevne temperature imaju jači utjecaj na sintezu flavonola i antocijana nego noćne temperature (Yan i sur., 2020).

## 5.2. Utjecaj djelomične defolijacije na rast vinove loze i prinosa

Djelomična defolijacija bazalnih listova učinkovita je mjera kojom se postiže povećanje osvjetljenosti pupova (Wang i sur., 2020a), što može dovesti do bolje diferencijacije pupova i povećanja broja grozdova po pupu iduće vegetacijske sezone. Djelomična defolijacija nije utjecala na broj mladica i grozdova po trsu u odnosu na kontrolu (Tablica 4), što se slaže sa istraživanjima Bubola i sur. (2020) i Feng i sur. (2015).

Kliwer i Dokoozlian (2005) pokazali su da odgovarajući omjer lisne površine i prinosa za potporu razvoju i dozrijevanju grožđa iznosi 0,8 - 1,2m<sup>2</sup>/kg, što je prikazano i u našem istraživanju (Tablica 4). Učinak djelomične defolijacije na rast vinove loze i komponente prinosa ovisi o terminu i intenzitetu provedbe tretmana. Djelomična defolijacija provedena prije cvatnje utjecala je na smanjenje prinosa, mase grozda i mase bobice (Tablica 5), ali samo 2018. godine. Uklanjanje bazalnog lišća prije cvatnje utjecalo je na smanjenje prinosa u istraživanjima Hickey i Wolf, (2018), Intrieri i sur. (2008), Lopes i sur. (2020), Poni i sur. (2006), Verdenal i sur. (2018), zbog uklanjanja fotosintetski aktivnog lišća u vrijeme velike potrebe za asimilatima od strane cvatova, što je utjecalo na ishranjenost loze.

Raniji termini provedbe djelomične defolijacije 2019. godine nisu utjecali na smanjenje prinosa, vjerojatno zbog povećanja intenziteta svjetlosti uslijed provedene djelomične defolijacije, što je dovelo do boljih uvjeta za diferencijaciju cvjetnih primordija prethodne godine (Vasconcelos i sur., 2009), a time i do povećanja broja bobica u grozdu, što je vidljivo iz povećanja mase grozda, ali smanjenja mase bobice navedene godine (Tablica 5). U eksperimentu Intrieri i sur. (2008) i Van der Weide i sur. (2020.), raniji termini djelomične defolijacije nisu imali utjecaja na rodnost pupova sljedeće vegetacijske godine. S druge strane, Lopes i sur. (2020) i Sabbatini i Howell (2010) pokazali su da je uklanjanje 6 bazalnih listova prije ili za vrijeme cvatnje smanjilo rodnost pupova. S obzirom na to da je bazalno lišće glavni izvor asimilata između cvatnje i zretanja bobica (Pallioti i sur., 2011), uklanjanje bazalnog lišća može utjecati na ravnotežu između prinosa i lisne površine, što može negativno utjecati na rezerve ugljikohidrata u lozi (Frioni i sur. 2018). To može smanjiti diferencijaciju cvjetnih primordija te smanjiti rodnost pupova iduće vegetacijske godine. Ako se uklanjanje lišća izvodi oko ili nakon zatvaranja grozdova, djelomična defolijacija obično nema učinka na komponente prinosa, kao što je prikazano u Tablici 5, ali i u istraživanjima Allegro i sur. (2019), Bubola i sur. (2019), Feng i sur. (2015), Kwasniewski i sur. (2010), Mosetti i sur. (2016), Young i sur. (2016).

Iako je 2018. godine bilo više mladica po trsu, ukupna lisna površina nije se razlikovala među godinama (Tablica 4), vjerojatno zbog činjenice da povećanjem broja mladica po trsu dolazi do smanjenja njihovog rasta (Kliwer i Dokoozlian 2005).

Značajno smanjenje ukupne lisne površine zabilježeno je kod ranijih termina provođenja djelomične defolijacije, dok se ukupna lisna površina trsova gdje je djelomična defolijacija provedena na početku šare nije statistički razlikovala od kontrolnih trsova. Slične rezultate dobili su Lopes i sur. (2020), sa smanjenjem ukupne lisne površine kada je uklanjanje bazalnih listova i zaperaka obavljeno prije cvatnje, te Cataldo i sur. (2021b), sa smanjenjem ukupne lisne površine gdje se djelomična defolijacija i uklanjanje zaperaka obavilo u vrijeme zametanja bobica. Feng i sur. (2015) nisu pronašli razliku u ukupnoj lisnoj površini između tretmana, vjerojatno zbog činjenice da zaperci nisu uklanjani tijekom vegetacije. Ako se zaperci ne uklone tijekom vegetacije, rana defolijacija samo privremeno smanjuje lisnu površinu trsa, dok za nekoliko tjedana nakon tretmana razvoj zaperaka smanjuje dostupnost sunčeve svjetlosti grozdovima (Intrieri i sur., 2008; Poni i sur., 2006).

Iako su raniji termini djelomične defolijacije utjecali na smanjenje ukupne lisne površine, omjer između lisne površine i prinosa nije se razlikovao između tretmana, vjerojatno zbog, iako većinom statistički neznačajnog, smanjenja prinosa na trsovima gdje je proveden zahvat djelomične defolijacije (Tablica 4 i 5).

### 5.3. Utjecaj djelomične defolijacije na osnovni kemijski sastav grožđa

Klimatski uvjeti vegetacijske sezone igraju važnu ulogu u dozrijevanju grožđa (Mosetti i sur. 2016). Iz Tablice 1 vidljivo je da su niske temperature zraka tijekom proljetnih mjeseci odgodile rast loze u 2019. godini (Tablica 6), ali su temperature zraka tijekom razdoblja dozrijevanja grožđa bile primjerene te je grožđe postiglo odgovarajuću tehnološku zrelost, iako sa neznatno nepovoljnijim vrijednostima osnovnog kemijskog sastava grožđa u odnosu na prethodnu godinu (Tablica 6). Također, postojala je značajna razlika u dozrijevanju grožđa u 2018. i 2019. godini, zbog promjena unutar mikroklimata trsa. Mikroklimatski uvjeti (sunčevo zračenje i temperatura zraka zone grožđa) zabilježeni u 2018. godini od šare do berbe doveli su do značajnog smanjenja ukupne kiselosti grožđa. Više temperature zraka od šare do berbe u 2018. godini rezultirale velikim brojem sati u kojima je temperatura zraka zone grožđa bila iznad optimalnih za dozrijevanje grožđa (Grafikon 2), što je moglo doprinijeti smanjenju sadržaja jabučne kiseline, jer s porastom temperature zraka dolazi do povećanje aktivnosti enzima jabučne kiseline te intenziteta disanja stanica koje utječe na razgradnju jabučne kiseline (Lakso i Kliewer, 1975; Rienth i sur., 2016). Razlika u sadržaju šećera između godina može se pripisati promjenama u temperaturi zraka zone grožđa i veličini bobica. Tijekom dozrijevanja grožđa (od šare do berbe) 2019. godine, zabilježene su niže temperature zraka i intenzitet sunčeve svjetlosti unutar zone grožđa u odnosu na 2018. (Grafikon 2), što je moglo utjecati na niži intenzitet fotosinteze i nakupljanja šećera, kao i na manju masu bobica, smanjenjem transpiracije i povećanje pritiska turgora, kao što je pokazano u istraživanju Blancquaert i sur. (2019b).

Termin provedbe djelomične defolijacije igrao je važnu ulogu u nakupljanju šećera, ukupnih kiselina i vrijednosti pH grožđa sorte 'Merlot' 2018. i 2019. godine (Tablica 6). Djelomična defolijacija na početku šare dovela je do povećanja sadržaja u šećeru u odnosu na kontrolu. Istraživanja pokazuju da je nakupljanje šećera veće u grozdovima izloženim suncu (Bubola i sur., 2019; Song i sur., 2015), jer povećana izloženost sunčevoj svjetlosti zbog uklanjanja lišća može povećati aktivnost enzima koji sudjeluju u regulaciji metabolizma šećera u grožđu (Rienth i sur., 2016).

Djelomična defolijacija provedena prije cvatnje, zbog poboljšanja mikroklimatskih uvjeta, može utjecati na povećanje sadržaja šećera i smanjenje sadržaja ukupnih kiselina u grožđu, što je prikazano u Tablici 6, ali i u istraživanjima Hickey i Wolf (2018) i Palliotti i sur. (2012).

U slučaju intenzivnog uklanjanja lišća (Cataldo i sur., 2021b) ili ako se djelomična defolijacija provodi prije cvatnje, može se očekivati poremećaj u dozrijevanju grožđa, smanjenje zametanja bobica i posljedično smanjenje prinosa, kao što je pokazano i u našem istraživanju 2018. godine, ali i u istraživanjima Diaga i sur. (2012b) i Intriaria i sur. (2008).

Promjene u sadržaju šećera tijekom dozrijevanja grožđa ovise o nakupljanju šećera, metabolizmu šećera te stupnju razrijeđenja bobice. Nakupljanje šećera u grožđu pod velikim je utjecajem ravnoteže između lisne površine i prinosa (engl. *leaf to fruit ratio*), te ukoliko je ona preniska ( $<0,7 \text{ m}^2/\text{kg}$ ), nakupljanje šećera je smanjeno (Kliewer i Dokoozlian, 2005), što može objasniti smanjenje sadržaja šećera kod djelomične defolijacije provedene prije cvatnje 2019. godine, gdje je primijećen vrlo nizak omjer između lisne površine i prinosa.

Djelomična defolijacija provedena u vrijeme zametanja bobica i zatvaranja grozdova nije utjecala na sadržaj šećera u grožđu u obje godine istraživanja, što je u skladu s istraživanjima koje su proveli Allegro i sur. (2019), Chorti i sur. (2018), Feng i sur. (2015), Riesterer-Loper i sur. (2019) i Van der Weide i sur. (2018), a može se objasniti mehanizmom oporavka te povećanom fotosintetskom aktivnosti preostalog lišća (Mataffo i sur., 2023; Poni i sur., 2006).

U obje godine istraživanja, termini provedbe djelomične defolijacije nakon cvatnje utjecali su na smanjenje sadržaja ukupne kiseline u grožđu (Tablica 6). Smanjenje ukupne kiselosti u grožđu kod tretmana djelomične defolijacije može se dogoditi zbog povećanja sunčeve svjetlosti i temperature unutar zone grožđa, što može dovesti do razgradnje jabučne kiseline uslijed pojačanog disanja stanica (Rienth i sur., 2016). Termin provedbe djelomične defolijacije utjecao je na pH grožđa, iako s tehnološkog gledišta nema značajne razlike. Neka istraživanja pokazala su da djelomična defolijacija utječe na ukupnu kiselost grožđa (Alatzas i sur., 2023; Frioni i sur. 2017; Lopes i sur. 2020; Mosetti i sur. 2016; Riesterer-Loper i sur. 2019; Yue i sur., 2020; Verdenal i sur. 2019), dok drugi ne pokazuju utjecaj djelomične defolijacije na primarni sastav grožđa (Feng i sur. 2015; Young i sur. 2016).



#### 5.4. Utjecaj djelomične defolijacije na sadržaj polifenolnih spojeva u grožđu

Godina istraživanja značajno je utjecala na sadržaj 33 pojedinačna polifenolna spoja (od 35) te 26 pojedinačna hlapljiva spoja (od 33) u kožici bobice sorte 'Merlot'. Veliki utjecaj godine na sadržaj polifenolnih i hlapljivih spojeva u kožici grožđa nije iznenađujuć jer se okolišni čimbenici, kao što su insolacija, temperatura zraka, dostupnost vode te pojava štetnika i bolesti, mijenjaju iz godine u godinu.

Djelomična defolijacija utjecala je na povećanje sadržaja polifenolnih spojeva u grožđu sorte 'Merlot' 2018. i 2019. godine (Tablica 7). Povećanje sadržaja polifenolnih spojeva, neovisno o terminu provedbe tretmana, može se pripisati razlikama u mikroklimatima defoliranih i kontrolnih trsova (Grafikon 4). Uklanjanje lišća u zoni grožđa može utjecati na biosintetski put i sintezu polifenolnih spojeva u grožđu kao rezultat povećane izloženosti UV zračenju (Gregan i sur., 2012).

Ampelotehnički zahvati u vinogradu, poput uklanjanja lišća u zoni grožđa, mogu imati značajan pozitivan učinak na sadržaj ukupnih polifenola u kožici grožđa (Chorti i sur., 2018; Diago i sur., 2012b; Ferlito i sur., 2020; Hickey i sur., 2018; Moreno i sur., 2015; Torres i sur., 2021), kao rezultat povećanja izlaganja grožđa sunčevoj svjetlosti. Izloženost grozdova sunčevoj svjetlosti može povećati aktivnost enzima koji sudjeluju u regulaciji nakupljanja flavonoida (Mori i sur., 2007a).

Porast sadržaja polifenolnih spojeva u tretmanu djelomične defolijacije (neovisno o terminu provedbe) u odnosu na kontrolni tretman bio je izraženiji u hladnijoj 2019. godini, sa značajnim povećanjima ukupnog sadržaja polifenola (+60% u 2019, +21% u 2018), ukupnih antocijana (+59% u 2019., +18% u 2018.), ukupnih flavonola (+102% u 2019., 69% u 2018.) i ukupnih hidroksicimentih kiselina (+27% u 2019., 4% u 2018.). Razlike u okolinskim uvjetima između dviju sezona vjerojatno su pridonijele razlikama uočanim u rezultatima između dvije godine, što potvrđuju i druga istraživanja koja su utvrdila da klimatski uvjeti sezone igraju važnu ulogu u učinku djelomične defolijacije (Guidoni i sur., 2008b; Kujundžić i sur., 2022; Verdenal i sur. 2019). Razlog manjem sadržaju polifenolnih spojeva u kožici grožđa 2018. godini može biti i zbog veće mase bobice u odnosu na 2019. godinu, što je moglo utjecati na smanjenje odnosa kožica-meso (engl. *skin to pulp ratio*) i posljedično smanjenjem sadržaja polifenolnih spojeva u kožici grožđa.

Djelomična defolijacija je, kroz povećanje UV zračenja unutar zone grožđa, utjecala na povećanje sadržaja antocijana u kožici grožđa sorte 'Merlot' u sezonama 2018. i 2019 (Tablica 7). Druga istraživanja također sugeriraju da su promjene u nakupljanju antocijana u kožici grožđa rezultat povećane izloženosti sunčevoj svjetlosti i višim temperaturama kao rezultat uklanjanja bazalnog lišća (Chorti i sur. 2018; Diago i sur. 2012b; Feng i sur. 2015; Ferlito i sur., 2020; Pavić i sur., 2019; Torres i sur., 2021). Mnoga su istraživanja pokazala da UV-B zračenje potiče nakupljanje flavonola i antocijana u kožici grožđa (Song i sur., 2015), jer izloženost grožđa sunčevoj svjetlosti utječe na sintezu antocijana, regulirajući gene biosintetskog puta sinteze flavonoida (Azuma i sur., 2012; Downey i sur., 2004; Martinez-Luscher i sur., 2014). Baiano i sur. (2015) su utvrdili da djelomična defolijacija provedena na početku šare nije utjecala na ukupni sadržaj antocijana u kožici bobice.

Sadržaj ukupnih antocijana u kontrolnom tretmanu bio je sličan u obje godine istraživanja, dok je sadržaj ukupnih antocijana u tretmanu djelomične defolijacije, neovisno o terminu, bio veći u 2019. godini, gdje je tretman uklanjanja bazalnog lišća povećao sadržaj svih pojedinačnih antocijana, što bi se moglo objasniti većim učinkom djelomične defolijacije u hladnijoj godini. Bavaresco i sur. (2008), Frioni i sur. (2017), Guidoni i sur. (2008b) i Osrečak i sur. (2016) pokazali su da je hladnijim godinama uklanjanje bazalnog lišća poboljšalo dozrijevanje grožđa i dovelo do boljeg kemijskog sastava grožđa u odnosu na topliju i sušniju godinu. U istraživanju Pavića i sur. (2019), u sezoni s više oborina i nižim temperaturama došlo je do značajnog povećanja sadržaja pojedinačnih antocijana kod tretmana djelomične defolijacije u odnosu na kontrolni tretman, dok u sezoni s višim temperaturama nije bilo razlike između tretmana, iako je općenito njihova sadržaj bio veći u toplijoj godini. U Tablici 7. prikazano je kako je djelomična defolijacija utjecala na povećanje sadržaja ukupnih antocijana u obje godine istraživanja, ali učinak je bio izraženiji u hladnijoj 2019. godini, vjerojatno kao rezultat izbjegavanja temperaturnog stresa u fazi dozrijevanja grožđa. U toplijim klimatskim uvjetima, povećano sunčevo zračenje te visoka temperatura grozda može dovesti do temperaturnog stresa i pojave opekline na grožđu (Chorti i sur., 2010), što u konačnici može utjecati na razgradnju antocijana u kožici bobica (Bergqvist i sur., 2001; Spayd i sur., 2002). Navedeno može pružiti objašnjenje za manji sadržaj antocijana u godini s višim temperaturama i UV zračenjem unutar zone grožđa, prikazan u Tablici 7. S druge strane, Diago i sur. (2012b) i Hickey i sur. (2018) uočili su veću učinkovitost djelomične defolijacije na polifenolni sastav grožđa u toplijim vremenskim uvjetima tijekom dozrijevanja grožđa.

Istraživanja su pokazala da temperatura zraka i intenzitet sunčeve svjetlosti imaju velik utjecaj na nakupljanje polifenola (Bergqvist i sur., 2001; Spayd i sur., 2002.), dok na nakupljanje šećera snažnije utječe omjer lisne površine i prinosa (Guidoni i sur. 2008a), iako temperatura i sunčevo zračenje koji pogoduju biosintezi antocijana također utječu na nakupljanje šećera (Zheng i sur., 2009). Istraživanja o nakupljanju antocijana i šećera u grožđu pri višim temperaturama (30-35 °C) pokazuje da više temperature mogu ograničiti sintezu antocijana, ali ne i nakupljanje šećera (Kliwer i Torres, 1972). U Tablicama 6 i 7 pokazano je da je 2018. godine, koja je bila toplija u periodu od šare do berbe, izmjeren veći sadržaj šećera, ali manji sadržaj antocijana u kožici bobice u tehnološkoj zrelosti. Visoke temperature zraka mogu utjecati na smanjenje sadržaja šećera i sintezu antocijana u bobicama, što dovodi do smanjenja omjera između sadržaja antocijana i šećera, vjerojatno zbog kašnjenja u početku sinteze antocijana (Sadras i Moran, 2012; Sadras i sur., 2013) ili zbog smanjenja nakupljanje antocijana tijekom dozrijevanja grožđa (Yan i sur., 2020), ovisno o sorti grožđa.

U istraživanju kvantificiran je i jedan predstavnik oblika kafeoila- malvidin-3-O-(kafeoil) glukozid, što je u skladu s nekoliko drugih istraživanja na sorti Merlot (Shi i sur., 2016; 2018), dok ga u nekim istraživanjima nema (Sivilotti i sur., 2016; Tarara i sur., 2008; Yan i sur., 2020), što sugerira da okolinski uvjeti, kao i ampelotehnički zahvati u vinogradu, ali i odabir klona može odrediti prisutnost i/ili razine kafeoil glukozida u grožđu sorte 'Merlot'.

Sadržaj ukupnih flavonola bio je značajno veći kod tretmana djelomične defolijacije, neovisno o terminu, u usporedbi s kontrolom u obje sezone (Tablica 8), što je u skladu s drugim istraživanjima (Allegro i sur., 2019; Feng i sur., 2015; Ferlito i sur., 2020; Moreno i sur., 2015; Torres i sur., 2021) i može se pripisati povećanom UV zračenju u zoni grozdova defoliranih trsova (Grafikon 4). Na akumulaciju flavonola utječu okolinski uvjeti, posebno izloženost grozdova suncu i UV zračenju (Azuma i sur., 2012; Blancquaert i sur., 2019b; Del-Castillo-Alonso i sur., 2020; Gregan i sur., 2012; Price i sur., 1995; Spayd i sur., 2002), jer flavonoli djeluju kao zaštita od prekomjernog UV zračenja (Berli, 2010; Kolb i sur., 2003). Izloženost grozdova UV zračenju može povećati ekspresiju gena koji sudjeluju u regulaciji nakupljanja flavonola (Carbonell-Bejerano i sur., 2014; Martinez-Luscher i sur., 2014). S obzirom na to da naši rezultati pokazuju veći sadržaj ukupnih flavonola i antocijana kod tretmana djelomične defolijacije, mogu se očekivati pozitivne učinke na kvalitetu vina. Iako su bezbojni, flavonoli zajedno s antocijanima tvore ko-pigmentacijski kompleks koji poboljšava stabilnost boje (Downey i sur., 2003b).

Učinak djelomične defolijacije na sadržaj ukupnih flavonola, neovisno o terminu provedbe djelomične defolijacije, bio je veći u 2019. godini, a kontrolni tretman imao je sličan sadržaj ukupnih flavonola u obje sezone. Kako sinteza flavonola započinje nakon zemetanja bobica (Blancquaert i sur. 2019b), dostiže najvišu razinu u šari i gotovo se ne mijenja do berbe (Downey i sur., 2003b), klimatski uvjeti sezone u prvom dijelu dozrijevanja grožđa mogli bi imati veći utjecaj na akumulaciju flavonola u kožici grožđa. Djelomična defolijacija u našem istraživanju pokazala je jači učinak na sintezu flavonola u 2019. godini, koja je bila toplija od zemetanja bobica do šare od 2018. Diago i sur. (2012b) pokazali su veći sadržaj flavonola u grožđu sorte Tempranillo u sušnjoj, sunčanijoj i toplijoj godini.

Sadržaj pojedinačnih i ukupnih flavan-3-ola prikazan je u Tablici 9. Raniji termini djelomične defolijacije (DE 1 i DE 2) utjecali su na povećanje sadržaja ukupnih flavan-3-ola u kožici bobice u obje godine istraživanja, dok nije bilo utjecaja godine na sadržaj ukupnih flavan-3-ola u kožici grožđa sorte 'Merlot'. Okolinski uvjeti poput temperature i sunčeve svjetlosti igraju važnu ulogu u sintezi antocijana i flavonola, ali učinak na sadržaj flavan-3-ola još uvijek nije do kraja poznat. Dok su Allegro i sur. (2019.), Del-Castillo-Alonso i sur. (2020), Gouot i sur., (2019b) i Pastore i sur. (2017), utvrdili da temperatura i sunčeva svjetlost ne utječu na nakupljanje flavan-3-ola, Ristić i sur. (2007) primijetili su smanjenje tanina u kožici bobice u nedostatku svjetlosti uzrokovano umjetnim zasjenjenjem zone grožđa. Hochberg i sur. (2015) pokazali su da više temperature zraka utječu na povećanje sadržaja epigalokatehina i smanjenje sadržaja epikatehina u grožđu sorte 'Syrah', ali nisu utjecale na sadržaj epigalokatehina grožđu sorte 'Cabernet sauvignon', dok su Cortell i Kennedy (2006) pokazali da zasjenjeni grozdovi imaju veći sadržaj epikatehina i manji sadržaj epigalokatehina u kožici grožđa sorte 'Pinot crni', što može objasniti veći sadržaj epikatehina u kontrolnom tretmanu u našem istraživanju. Feng i sur. (2015) i Moreno i sur. (2015) nisu utvrdili utjecaj djelomične defolijacije provedene u vrijeme zemetanja bobica ili prije cvatnje na sadržaj ukupnih flavan-3-ola u kožici bobice.

Utjecaj termina djelomične defolijacije na ukupne hidroksicimetne kiseline varirao je između sezona, ali je pokazao da rana defolijacija (DE 1) utječe na povećanje sadržaja navedene skupine spojeva (Tablica 10). U istraživanjima koje su proveli Bubola i sur. (2019; 2020), Diago i sur. (2012a) i Moreno i sur. (2015), uklanjanje bazalnog lišća povećalo je sadržaj hidroksicimetnih kiselina u grožđu i vinu zbog povećane izloženosti grozdova sunčevoj svjetlosti. To sugerira da vinogradarske prakse koje utječu na izlaganje grožđa sunčevoj svjetlosti mogu imati pozitivan učinak na kvalitetu vina, jer hidroksicimetne kiseline povećavaju stabilnost boje vina kopigmentacijom s antocijanima (Marković i sur., 2000).

Sadržaj resveratrol-3-O-glukozida 2018. godine bio je najveći u kontrolnom tretmanu te kod djelomične defolijacije provedene prije cvatnje, dok je 2019. godine sadržaj resveratrol-3-O-glukozida bio najveći kod djelomične defolijacije provedene u vrijeme zamatanja bobica, a najmanji u kontrolnom tretmanu i kod djelomične defolijacije provedene vrijeme zatvaranja grozdova (Tablica 10). Klimatski uvjeti sezone mogu objasniti različit učinak djelomične defolijacije na nakupljanje resveratrola u kožici bobica. Od zamatanja bobica do berbe, količina oborina bila je gotovo dvostruko veća u 2018. u odnosu na 2019. godinu (Tablica 3), što je moglo pokrenuti sintezu resveratrola u kontrolnom tretmanu, jer biljke prirodno induciraju nakupljanje resveratrola kao odgovor na pojavu gljivičnih bolesti. U 2019. godini, kada je od zamatanja bobica do berbe pala manja količina oborina, drugi čimbenici poput izloženosti suncu i UV zračenju mogli su utjecati na nakupljanje resveratrola u kožici bobice (Diago i sur., 2012a; Langcake i Pryce, 1977). Manjak oborina u posljednjim fazama dozrijevanja grožđa općenito su nepovoljni za sintezu resveratrola, zbog nepovoljnih uvjeta za rast patogena (Bavaresco i sur., 2009).

Bavaresco i sur. (2008) pokazali su da u toplijim, sušnijim godinama nije bilo značajnijeg učinka djelomične defolijacije na sadržaj *trans*-resveratrola, dok je u hladnijim uvjetima dozrijevanja uklanjanje lišća smanjilo sadržaj *trans*-resveratrola u grožđu sorata 'Croatina', 'Malvasia di Candia' i 'Barbera'. Neki stilbeni, posebno resveratrol, pokazuju širok spektar bioloških aktivnosti, poput antioksidativnog i protugljivičnog djelovanja, sposobnost uklanjanja slobodnih radikala, te su stoga korisni za ljudsko zdravlje (Bavaresco i sur. 2009).

## 5.5. Utjecaj djelomične defolijacije na sadržaj hlapljivih spojeva u grožđu

Većina hlapljivih organskih spojeva nastaju tijekom alkoholne fermentacije, ali dio njih može potjecati i iz grožđa. Brojna su istraživanja o utjecaju genotipa, okolinskih čimbenika i ampelotehničkih postupaka na hlapljivi sastav grožđa (Alessandrini i sur., 2018; Feng i sur., 2015; Joubert i sur., 2016; Lin i sur., 2019; Rienth i sur., 2021). Razumijevanje načina na koji okolinski čimbenici utječu na stvaranje hlapljivih spojeva u grožđu, kao i njihovu razgradnju tijekom dozrijevanja grožđa, ključno je za razvoj strategija za prilagodbu ampelotehničkih zahvata kako bi se postigao željeni aromatski profil vina. Rezultati analize zastupljenosti hlapljivih spojeva ovisno o terminu provedbe djelomične defolijacije razlikovali su se između dvije godine istraživanja, što potvrđuje da klimatski uvjeti sezone igraju važnu ulogu u učinku djelomične defolijacije na hlapljivi sastav grožđa i vina, što je potvrđeno i u istraživanju Cincotta i sur. (2021) te Kujundžić i sur. (2022). Općenito, djelomična defolijacija utječe na povećanje sadržaja hlapljivih spojeva u grožđu, zbog povećanja sunčevog zračenja u zoni grozdova (Georgiadou i sur., 2022).

Iako je učinak uklanjanja lišća u zoni grozda na fenolni sastav grožđa često istraživano na crnim sortama grožđa (Bubola i sur., 2017; Chorti i sur., 2018; Hickey i sur., 2018; Osrečak i sur., 2016), malo je istraživanja učinjeno na utjecaju djelomične defolijacije na hlapljivi sastav grožđa u crnim sortama grožđa (Feng i sur., 2015).

Važna skupina hlapljivih spojeva u grožđu su monoterpeni, koji su odgovorni za voćne i cvjetne arome grožđa i vina (Gonzales-Barreiro i sur., 2015). U analiziranim uzorcima identificirana su samo 3 monoterpena- mentol, geranilaceton i metil-geraniat, što nije iznenađujuće s obzirom da crne sorte nemaju visok sadržaj terpena (Hernandez-Orte i sur., 2015). Povećanje sadržaja monoterpena u pozitivnoj je korelaciji sa povećanjem izlaganja grozdova sunčevoj svjetlosti (Bureau i sur., 2000a; Feng i sur., 2017; Song i sur., 2015; Young i sur., 2016). U istraživanju koje su proveli Georgiadou i sur. (2022) i Yue i sur. (2020) djelomična defolijacija utjecala je na povećanje sadržaja monoterpena u grožđu, zbog povećanja sunčevog zračenja u zoni grozdova, što u našem istraživanju može objasniti povećanje zastupljenosti terpena geranilacetona i metil-geraniata kod tretmana djelomične defolijacije, neovisno o terminu provedbe, u odnosu na kontrolu, ali samo 2019. godine, koja je bila hladnija od šare do berbe (Tablica 11).

Monoterpeni su uključeni u zaštitu tkiva bobica od UV-B zračenja i drugih biotičkih i abiotičkih stresova (Joubert i sur., 2016, Gil i sur., 2013), a izloženost grožđa sunčevoj svjetlosti potiče ekspresiju monoterpenskih metaboličkih gena u bobicama (Friedel i sur., 2016). Geranilaceton jedan je od predstavnika terpena, koji je u vinu daje cvjetne arome (Cincotta i sur., 2021). U Tablici 11 prikazano je povećanje sadržaja geranilacetona uslijed djelomične defolijacije, ali samo 2019. godine. U istraživanju Cincotta i sur. (2021), djelomična defolijacija provedena u vrijeme zametanja bobica na sorti 'Merlot' utjecala je na povećanje sadržaja navedenog spoja, ali u vinu.

Djelomična defolijacija, neovisno o terminu provedbe, utjecala je na smanjenje zastupljenost hlapljivih terpena mentola i geranilacetona 2018. godine, koja je bila toplija od šare do berbe. Općenito se smatra da povišena temperatura zraka može inhibirati nakupljanje terpena zbog povećanja gubitak isparavanjem (Scafidi i sur., 2013.) i/ili zbog potisnute ekspresije gena koji kodiraju ključni enzim u biosintezi terpenoida (Lecourieux i sur., 2017.). U istraživanju He i sur. (2020), povećanje sunčevog zračenja zbog djelomične defolijacije provedene u vrijeme zametanja bobica te u šari utjecalo je na smanjenje sadržaja norizoprenoida i terpena, u izrazito vrućim i suhim uvjetima uzgoja vinove loze. U istraživanju Mucalo i sur. (2022), djelomična defolijacija provedena prije cvatnje, u vrijeme zametanja bobica te na početku šare smanjila je sadržaj terpena u vinu sorte 'Maraština', moguće radi toplinskog stresa uzrokovanog djelomičnom defolijacijom, što je moglo utjecati na smanjenu sintezu i degradaciju navedenih spojeva.

U analiziranim uzorcima kože grožđa sorte 'Merlot' identificirana su tri estera, etil-heksanoat, etil-oktanoat i etil-2-hidoksiopropanoat (Tablica 12). Veći sadržaj etil-heksanoata u vinu može se povezati sa aromama voća i zelene jabuke, dok se veći sadržaj etil-oktanoata u vinu može povezati s voćno-cvjetnim aromama te aromama ananasa i kruške (Cincotta i sur., 2021; Gambacorta i sur., 2022). Esteri se metaboliziraju tijekom alkoholne fermentacije radom kvasaca, a njihov sadržaj ovisi o sadržaju njihovih prekursora- masnih kiselina, u samome grožđu (Boss i sur., 2015), što su u našem istraživanju bile heksanska i oktanska kiselina. Esteri mogu biti identificirani već u samom grožđu i to u ranijim fazama rasta bobice, te njihov sadržaj može opadati tijekom šare grožđa (Kalua i Boss, 2009). Tretman djelomične defolijacije, neovisno o terminu, utjecao je na povećanje sadržaja hlapljivih estera etil-hidoksiopropanoata i etil-heksanoata u kožici bobice u 2019. godini. U istraživanju Cincotta i sur. (2021), djelomična defolijacija provedena u vrijeme zametanja bobica utjecala je na povećanje sadržaja estera u vinu sorte 'Merlot'.

Dvije glavne skupine hlapljivih spojeva povezane s zelenim aromama su metokspirazini i C6 hlapljivi spojevi. Smatra se da visoke razine zelenih i vegetalnih aroma u crnim vinima imaju negativan utjecaj na aromu samoga vina (Preston i sur., 2008). I C6 alkoholi i aldehidi u grožđu nastaju kao produkt oksidacije masnih kiselina (Ferreira i Lopez, 2019), a transformacija ide od acetatnih estera u aldehide i konačno u alkohole tijekom dozrijevanja grožđa (Kalua i Boss, 2009). C6 aldehidi heksanal i 2-heksenal povezuju se sa nedozrelim grožđem, s obzirom da im sadržaj pada tijekom dozrijevanja grožđa (Gao i sur., 2019). Djelomična defolijacija utjecala je na smanjenje sadržaja C6 spojeva (E)-2-heksanola, 1-heksanola, heksanske i (E)-2-heksenske kiseline u grožđu sorte 'Merlot' u obje godine istraživanja, te smanjenje sadržaja C6 spojeva heksanala, (E)-2-heksen-1-ola, (E)-3-heksen-1-ola i (Z)-3-heksen-1-ola, ali samo u jednoj godini, i to u godini sa toplijim uvjetima dozrijevanja grožđa. Djelomična defolijacija provedena prije cvatnje imala je najveći utjecaj na smanjenje nepoželjnih C6 hlapljivih spojeva u grožđu- 1-heksanola, (E)-2-heksenola, heksanala, heksanke i (E)-2-heksenske kiseline, u odnosu na ostale termine provedbe djelomične defolijacije (Tablice 13, 14, 15).

Na sintezu C6 spojeva uveliko utječu promjene u mikroklimatu trsa, gdje povećanje sunčevog osvjetljenja utječe na smanjenje sadržaja C6 spojeva (Wang i sur., 2020b). UV-B zračenje regulira metabolizam C6 spojeva n-heksanala i trans-2-heksanala u bobicama grožđa (Joubert i sur., 2016). U istraživanju Bureau i sur. (2000b) utvrđeno je da zasjenjivanje grozdova utječe na povećanje sadržaja heksanala i (E)-2-heksanala, što može objasniti smanjenje sadržaja C6 spojeva u našim uzorcima zbog povećanja sunčevog zračenja uslijed provedene djelomične defolijacije. I u istraživanju Komm i Moyer (2015), rana defolijacija utjecala je na smanjenje sadržaja heksanala u grožđu sorte 'Rizling rajnski'. U istraživanju Feng i sur. (2015), uklanjanje bazalnih listova u fenofazi bobica veličine graška nije utjecalo na sadržaj C6 spojeva u grožđu sorte 'Pinot crni', što je bilo povezano s nedostatkom razlika u stupnju dozrelosti grožđa.

U istraživanju He i sur. (2020), djelomična defolijacija utjecala je na povećanje sadržaja C6 alkohola, posebno (Z)-3-heksenola, uslijed pojačane ekspresije gena koji kodiraju aktivnost enzima lipoksigenaze i alkohol dehidrogenaze (VviADH1) uključene u lipoksigenaza-hidroperoksidni put, a također je utjecala na smanjenje C6 aldehida heksanala i (E)-2-heksanala, zbog povećanog sunčevog zračenja uzrokovanog djelomičnom defolijacijom. Rana defolijacija može utjecati je na smanjenje (Vilanova i sur., 2012), ali i povećanje (Gambacorta i sur., 2022; Iorio i sur., 2022) sadržaja C6 spojeva u vinu sorata 'Tempranillo' i 'Aglanico'. U Tablicama 13, 14 i 15 prikazan je veliki utjecaj godine na sadržaj C6 spojeva u grožđu.



Temperatura zraka utječe na sadržaj C6 spojeva u grožđu, gdje se pokazalo kako sadržaj C6 spojeva negativno korelira sa povećanjem temperature zraka od cvatnje do berbe (Lu i sur., 2022, Wang i sur., 2020b). S obzirom da se sadržaj C6 spojeva povezuje sa nedozrelim grožđem (Gao i sur., 2019), moguće je da je veći sadržaj navedenih spojeva u 2019. godini rezultat nižih temperatura od šare do berbe te nižeg sadržaja šećera u grožđu, kao što je pokazano i u istraživanju Wang i sur. (2020b).

Derivati benzena, alkoholi 2-feniletil alkohol i benzil alkohol, mogu dati cvjetne i voćne arome grožđu i njihovim odgovarajućim vinima (González-Barreiro i sur., 2015; Martin i sur., 2016). U našem istraživanju, ovisno o godini, djelomična defolijacija je utjecala na povećanje sadržaja benzil alkohola i feniletil alkohola (Tablica 13). Djelomična defolijacija može povećati sadržaj alifatskih alkohola i derivata benzena u grožđu (Georgiadou i sur., 2022), te izoamil alkohola, benzil alkohola i feniletil alkohola u vinu (Cincotta i sur., 2021; Gambacorta i sur., 2022). Zadnjih godina provedeno je nekoliko istraživanja o utjecaju djelomične defolijacije na sadržaj hlapljivih spojeva u grožđu i vinu, a dobiveni rezultati često su bili nekonzistentni, pokazujući da sorta vinove loze (Kozina i sur., 2008), klimatski uvjeti sezone (Feng i sur., 2017), dozrelost grožđa (Verzera i sur., 2016) i termin i intenzitet djelomične defolijacije (Feng i sur., 2017; Vilanova i sur., 2012) mogu biti odgovorni za opažene učinke djelomične defolijacije na hlapljivi sastav grožđa i vina.

Gore opisani rezultati sažeti su kroz PCA (Grafikon 6), koji je potkrijepio snažan utjecaj i godine i djelomične defolijacije na polifenolni i hlapljivi sastav grožđa sorte 'Merlot'. Konkretno, većina antocijana, zajedno s nekim flavonolima (miricetin-3-O-glukozid), flavan-3-olima (katehin), terpenima (mentol) i C6 spojevima (heksanal, 1-heksanol), bili su značajni faktori koji razdvajaju kontrolni tretman i tretmane djelomične defolijacije. PCA je također pokazala snažan utjecaj godine na učinkovitost djelomične defolijacije u odnosu na sadržaj hlapljivih i polifenolnih spojeva u kožici bobice sorte 'Merlot'. Posebno se istaknula djelomična defolijacija provedena 2019. godine, koja se jasno izdvojila od ostalih uzoraka, na račun većeg sadržaja malvidin-3-O-glukozida. PCA je pokazala i snažno grupiranje tretmana djelomične defolijacije provedene u vrijeme zametanja bobica, zatvaranja grozdova i na početku šare u odnosu na kontrolu 2018. godine, na račun većeg sadržaja kaftarinske kiseline te manjeg sadržaja heksanala i 1-heksanola.

Sastav i sadržaj hlapljivih i polifenolnih spojeva u grožđu uvelike ovisi o genotipu vinove loze, okolinskim uvjetima tijekom dozrijevanja grožđa te ampelotehničkim zahvatima u vinogradu.

Budući da C6 alkoholi i aldehidi imaju negativan utjecaj na aromu vina, uklanjanje lišća u zoni grožđa može dovesti do smanjenja njihovog sadržaja te može dovesti do stvaranja poželjnih spojeva poput monoterpena i polifenola, utječući pozitivno na aromu vina.

Jaka interakcija između tretmana djelomične defolijacije i godine na sadržaj pojedinačnih polifenolnih spojeva pokazala je da klimatski uvjeti sezone imaju veliki utjecaj na učinkovitost tretmana djelomične defolijacije te da je djelomična defolijacija imala veći utjecaj na polifenolni sastav grožđa u sezoni s hladnijim uvjetima dozrijevanja grožđa. Navedeni rezultati daju poseban izazov vinogradarima da prilagode strategiju upravljanja vinogradom, a samim time i ampelotehničke zahvate klimatskim uvjetima sezone te da je u kontekstu klimatskih promjena i povećanja temperature zraka nužna prilagodba zahvata djelomične defolijacije ovisno o željenoj kvaliteti grožđa i vina.

## 6. ZAKLJUČCI

H1: Raniji termini provođenja djelomične defolijacije utjecat će na smanjenje prinosa i sadržaja ukupnih kiselina te na povećanje sadržaja šećera u grožđu sorte 'Merlot' u odnosu na kontrolu.

Raniji termini provedbe djelomične defolijacije djelomice su utjecali na smanjenje prinosa u odnosu na kontrolu, ovisno o klimatskim uvjetima godine. Djelomična defolijacija provedena prije cvatnje 2018. godine utjecala je na smanjenje prinosa, mase grozda te mase bobice. Uklanjanje fotosintetski aktivnog lišća u vrijeme velike potrebe za asimilatima od strane cvatova utjecalo je na ishranjenost loze i smanjenje prinosa.

Ograničanja u asimilaciji koja nameću raniji termini provedbe djelomične defolijacije mogu se prebroditi poboljšanjem uvjeta za diferencijaciju zimskih pupova u smislu povećanja sunčevog osvjetljenja zbog djelomične defolijacije, što može rezultirati povećanim brojem začetaka cvjetnih primordija, a time i većim brojem bobica po grozdu, što se dogodilo 2019. godine, kada raniji termini provedbe djelomične defolijacije nisu utjecali na smanjenje prinosa.

Raniji termini djelomične defolijacije djelomice su utjecali na povećanje sadržaja šećera i smanjenje sadržaja ukupnih kiselina u odnosu na kontrolu, kao posljedica modifikacije mikroklimatskih uvjeta te povećanja sunčevog zračenje u zoni grožđa defoliranih trsova. Ipak, djelomična defolijacija prije cvatnje 2019. godine utjecala je na smanjenje sadržaja šećera u odnosu na kontrolu, zbog izrazitog niskog omjera lisne površine i prinosa, što negativno utječe na nakupljanje šećera u bobici.

H2: Raniji termini provođenja djelomične defolijacije utjecat će na povećanje sadržaja polifenolnih i hlapljivih spojeva u grožđu sorte 'Merlot' u odnosu na kontrolu.

Raniji termini provedbe djelomične defolijacije utjecali su na povećanje sadržaja ukupnih polifenolnih spojeva u odnosu na kontrolu, kao posljedica povećanje UV zračenja unutar zone grožđa defoliranih trsova. Unutar skupina polifenolnih spojeva, raniji termini provedbe djelomične defolijacije utjecali su na povećanje sadržaja ukupnih antocijana, flavonola i flavan-3-ola u odnosu na kontrolu. Jaka interakcija između tretmana djelomične defolijacije i godine na sadržaj ukupnih i pojedinačnih polifenolnih spojeva pokazuje da klimatski uvjeti sezone imaju veliki utjecaj na učinkovitost tretmana djelomične defolijacije, te je porast sadržaja polifenolnih spojeva- antocijana, flavonola i flavan-3-ola u tretmanu djelomične defolijacije (neovisno o terminu provedbe) u odnosu na kontrolni tretman bio izraženiji u sezoni sa hladnijim uvjetima dozrijevanja grožđa.

Utjecaj ranijih termina djelomične defolijacije na sadržaj hlapljivih spojeva u grožđu varirao je ovisno o skupini hlapljivih spojeva. Raniji termini provedbe djelomične defolijacije utjecali su na povećanje zastupljenosti terpena metil-geraniata i alkohola 1-nonanola, te na smanjenje sadržaja nepoželjnih C6 hlapljivih spojeva- heksanske i (E)-2-heksenske kiseline, 1-heksanola, (E)-2-heksenola i (E)-2-heksenala, kao posljedica modifikacije mikroklimatskih uvjeta tijekom dozrijevanja grožđa, tj. povećanja sunčevog zračenja unutar zone grožđa defoliranih trsova. Povećanjem sadržaja polifenolnih spojeva te smanjenjem sadržaja nepoženjih C6 spojeva, raniji termini djelomične defolijacije pozitivno su utjecali na kvalitetu grožđa.

## 7. POPIS LITERATURE

- Adams, D. O. (2006). Phenolics and ripening in grape berries. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57, 249-256.
- Agencija za plaćanje u poljoprivredi, ribarstvu i ruralnom razvoju (2022). Vinogradarski registar. Zagreb. Republika Hrvatska. <https://www.apprrr.hr/registri/>, pristupljeno dana 15.6.2023.
- Alatzas, A., Theocharis, S., Miliordos, D.E., Kotseridis, Y., Koundouras, S., Hatzopoulos, P. (2023). Leaf removal and deficit irrigation have diverse outcomes on composition and gene expression during berry development of *Vitis vinifera* L. cultivar Xinomavro. *OENO One*, 57(1), 289–305.
- Alem, H., Rigou, P., Schneider, R., Ojeda, H., Torregrosa, L. (2019). Impact of agronomic practices on grape aroma composition: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 99(3):975-985.
- Alessandrini, M., Battista, F., Panighel, A., Flamini, R., Tomasi, D. (2018). Effect of pre-bloom leaf removal on grape aroma composition and wine sensory profile of Semillon cultivar. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 98, 1674-1684.
- Allegro, G., Pastore, C., Valentini, G., Filippetti, I. (2019). Effects of Sunlight Exposure on Flavonol Content and Wine Sensory of the White Winegrape Grechetto Gentile. *American Journal of Enology and Viticulture*, 70, 277-285.
- Allen, M. S., Lacey, M. J. (1998). Methoxypyrazines of Grapes and Wines. *ACS Symposium Series 714*:31-38.
- Allen, M.S., Lacey, M.J., Harris, R.L.N., Brown, W.V. (1991) Contribution of Methoxypyrazines to Sauvignon Blanc Wine Aroma. *American Journal of Enology and Viticulture*. 42(2):109-12.
- Asproudi, A., Petrozziello, M., Cavalletto, S., Guidoni, S. (2016). Grape aroma precursors in cv. Nebbiolo as affected by vine microclimate. *Food Chemistry*. 15:947-56.
- Azuma, A., Yakushiji, H., Koshita, Y., Kobayashi, S. (2012). Flavonoid biosynthesis-related genes in grape skin are differentially regulated by temperature and light conditions. *Planta*. 236, 1067-1080.
- Baiano, A., de Gianni, A., Previtali, M. A., del Nobile, M. A., Novello, V., de Palma, L. (2015). Effects of defoliation on quality attributes of Nero di Troia (*Vitis vinifera* L.) grape and wine. *Food Research International*, 75:260-269.
- Baumes, R., Wirth, I., Bureau, S., Gunata, Y., Razungles, A. (2002). Biogenesis of C<sub>13</sub>-norisoprenoid compounds: experiments supportive for an apo-carotenoid pathway in grapevines. *Anal. Chim. Acta* 458: 3–14.

- Bavaresco, L., Fregoni, C., van Zeller de Macedo Basto Goncalves, M. I., Vezzulli, S. (2009). Physiology and molecular biology of grapevine stilbens: An update. *In: ROUBELAKIS-ANGELAKIS, K. A. (ed.) Grapevine molecular physiology and biotechnology*. Springer.
- Bavaresco, L., Gatti, M., Pezzutto, S., Fregoni, M., Mattivi, F. (2008). Effect of leaf removal on grape yield, berry composition, and stilbene concentration. *American Journal of Enology and Viticulture*. 59, 292-298.
- Bažon, I., Bakić, H., Romić, M. (2013). Soil geochemistry as a component of terroir of the wine-growing station Jazbina, Zagreb. *Agric. Conspec. Sci.* 78: 95-106.
- Belancic, A., Agosin, E., Ibacache, A., Bordeu, E., Baumes, R., Razungles, A., Bayonove, C. (1997). Influence of sun exposure on the aromatic composition of chilean Muscat grape cultivars Moscatel de Alejandria and Moscatel rosada. *American Journal of Enology and Viticulture*. 48: 181-186.
- Bergqvist, J., Dokoozlian, N., Ebisuda, N. (2001). Sunlight exposure and temperature effects on berry growth and composition of Cabernet Sauvignon and Grenache in the central San Joaquin Valley of California. *American Journal of Enology and Viticulture*. 52,1-7.
- Berli, F. J., Moreno, D., Piccoli, P., Hespanhol-Viana, L., Silva, M. F., Bressan-Smith, R., Cavagnaro, J. B., Bottini, R. (2010). Abscisic acid is involved in the response of grape (*Vitis vinifera* L.) cv. Malbec leaf tissues to ultraviolet-B radiation by enhancing ultraviolet- absorbing compounds, antioxidant enzymes and membrane sterols. *Plant, Cell and Environment*. 33, 1057-1057.
- Bindon, K. A., Dry, P. R., Loveys, B. R. (2007). Influence of plant water status on the production of C13-norisoprenoid precursors in *Vitis vinifera* L. Cv. cabernet sauvignon grape berries. *J. Agric. Food Chem.* 55, 4493–4500.
- Blancquaert, E. H., Oberholster, A., Ricardo-da-Silva, J. M., Deloire, A. J. (2019a). Effects of abiotic factors on phenolic compounds in the grape berry - A review. *South African Journal of Enology and Viticulture*. 40 (1).
- Blancquaert, E. H., Oberholster, A., Ricardo-da-Silva, J. M., Deloire, A. J. (2019b). Grape Flavonoid Evolution and Composition Under Altered Light and Temperature Conditions in Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.). *Frontiers in Plant Science*. 10:1062.
- Boss, P.K., Pearce, A.D., Zhao, Y., Nicholson, E.L., Dennis, E.G., Jeffery, D.W. (2015) Potential grape-derived contributions to volatile ester concentrations in wine. *Molecules*. 29;20(5):7845-73.

- Böttcher, C., Johnson, T., Burbidge, C., Nicholson, E., Boss, P., Maffei, S., Bastian, S., Davies, C. (2022). Use of auxin to delay ripening: sensory and biochemical evaluation of Cabernet Sauvignon and Shiraz. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 28: 208-217.
- Boulton, R. (2001). The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: A critical review. In *American Journal of Enology and Viticulture*. 52, 67-87.
- Brillante, L., Martínez-Lüscher, J., Kurtural, S. K. (2018). Applied water and mechanical canopy management affect berry and wine phenolic and aroma composition of grapevine (*Vitis vinifera* L., cv. Syrah) in Central California. *Sci. Hortic.* 227, 261–271.
- Bubola, M., Lukić, I., Radeka, S., Sivilotti, P., Grozić, K., Vanzo, A., Bavčar, D., Lisjak, K. (2019). Enhancement of Istrian Malvasia wine aroma and hydroxycinnamate composition by hand and mechanical leaf removal. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 99, 904-914.
- Bubola, M., Rusjan, D., Lukic, I. (2020). Crop level vs. leaf removal: Effects on Istrian Malvasia wine aroma and phenolic acids composition. *Food Chemistry*, 312.
- Bubola, M., Sivilotti, P., Poni, S. (2017). Early leaf removal has a larger effect than cluster thinning on grape phenolic composition in cv. Teran. *American Journal of Enology and Viticulture*. 68: 234-242
- Bureau, S., Razungles A., Baumes, R., Bayonove, C. (1998). Effect of vine or bunch shading on the carotenoid composition in *Vitis Vinifera* L. berries. I. Syrah grapes. *Vitic. Enol. Sci*, 53 (2), 64-71.
- Bureau, Sylvie M., Baumes, R. L., Razungles, A. J. (2000a). Effects of vine or bunch shading on the glycosylated flavor precursors in grapes of *Vitis vinifera* L. Cv. Syrah. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48, 4, 1290–1297.
- Bureau, S. M., Razungles, A. J., Baumes, R. L. (2000b). The aroma of muscat of frontignan grapes: effect of the light environment of vine or bunch on volatiles and glycoconjugates. *J. Sci. Food Agric.* 80, 2012–2020.
- Cabrita, M., Palma, V., Patão, R., Freitas, A.M. (2012). The conversion of hydroxycinnamic acids into volatile phenols (in a synthetic media and in red wine) by *Dekkera bruxellensis*. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 32:1-6.
- Caccavello, G., Giaccone, M., Scognamiglio, P., Forlani, M., Basile, B. (2017) Influence of intensity of post-veraison defoliation or shoot trimming on vine physiology, yield components, berry and wine composition in Aglianico grapevines. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 23: 226– 239.

- Cataldo, E., Salvi, L., Paoli, F., Fucile, M., Mattii, G.B. (2021a) Effect of Agronomic Techniques on Aroma Composition of White Grapevines: A Review. *Agronomy*.11, 2027.
- Cataldo, E., Salvi, L., Paoli, F., Fucile, M., Mattii, G.B. (2021b). Effects of Defoliation at Fruit Set on Vine Physiology and Berry Composition in Cabernet Sauvignon Grapevines. *Plants*. 10(6):1183.
- Carbonell-Bejerano, P., Diago, M. P., Martínez-Abaigar, J., Martínez-Zapater, J. M., Tardáguila, J., Núñez-Olivera, E. (2014). Solar ultraviolet radiation is necessary to enhance grapevine fruit ripening transcriptional and phenolic responses. *BMC Plant Biology*. 14, 183.
- Castellarin, S. D., Bavaresco, L., Falginella, L., Gonçalves, M. I. V. Z., di Gaspero, G. (2012). Phenolics in grape berry and key antioxidants, in *In The Biochemistry of the Grape Berry*, eds H. Gerós, M. Chaves, and S. Delrot, Bussum: Bentham Science, 89–110.
- Chorti, E., Guidoni, S., Ferrandino, A., Novello, V. (2010). Effect of Different Cluster Sunlight Exposure Levels on Ripening and Anthocyanin Accumulation in Nebbiolo Grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, 61:23-30.
- Chorti, E., Kyraleou, M., Kallitharaka, S., Pavlidis, M., Koundouras, S., Kotseridis, Y. (2016). Irrigation and leaf removal effects on polyphenolic content of grapes and wines produced from cv. “Agiorgitiko” (*Vitis vinifera* L.). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 44, 133–139
- Chorti, E., Theocharis, S., Boulokostas, K., Kallitharaka, S., Kotseridis, Y., Koundouras, S. (2018). Row Orientation and Defoliation Effects on Grape Composition of *Vitis vinifera* L. Agiorgitiko in Nemea (Greece). XII Congreso Internacional Terroir. E3S Web of Conferences 50. 01039.
- Cincotta, F., Verzera, A., Prestia, O., Tripodi, G., Lechhab, W., Sparacio, A., Conduro, C. (2021). Influence of leaf removal on grape, wine and aroma compounds of *Vitis vinifera* L. cv. Merlot under Mediterranean climate. *Eur Food Res Technol* 248, 403–413.
- Coetzee, C., du Toit, W. J. (2012). A comprehensive review on Sauvignon blanc aroma with a focus on certain positive volatile thiols. *Food Research International*. 45(1), 287-298.
- Coombe, B. G. (1995). Growth Stages of the Grapevine: Adoption of a system for identifying grapevine growth stages. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 1:100-110.
- Coombe, B. G., McCarthy, M. G. (2000). Dynamics of grape berry growth and physiology of ripening. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 6:131-135.



- Cortell, J. M., Kennedy, J. A. (2006). Effect of shading on accumulation of flavonoid compounds in (*Vitis vinifera* L.) Pinot noir fruit and extraction in a model system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 8510-8520.
- Darriet, P., Thibon, C., Dubourdieu, D. (2012). Aroma and aroma precursors in grape berry. In *The Biochemistry of the Grape Berry*. 26, 111-136.
- de Boubee, D.R., Van Leeuwen, C., Dubourdieu, D. (2000). Organoleptic impact of 2-methoxy-3-isobutylpyrazine on red Bordeaux and Loire wines. Effect of environmental conditions on concentrations in grapes during ripening. *J Agr Food Chem*. 48(10):4830-4.
- de Boubee, D.R., Cumsille, A.M., Pons, M., Dubourdieu, D. (2002). Location of 2-methoxy-3-isobutylpyrazine in Cabernet Sauvignon grape bunches and its extractability during vinification. *American Journal of Enology and Viticulture*. 53(1):1-5.
- Del Castillo, M., Monforte, L., Tomás, R., Núñez-Olivera, E., Martínez-Abaigar, J. (2020). A supplement of ultraviolet-B radiation under field conditions increases phenolic and volatile compounds of Tempranillo grape skins and the resulting wines. *European Journal of Agronomy*. 121. 126150.
- Dennis, E. G., Keyzers, R. A., Kalua, C. M., Maffei, S. M., Nicholson, E. L., Boss, P. K. (2012). Grape contribution to wine aroma: production of hexyl acetate, octyl acetate, and benzyl acetate during yeast fermentation is dependent upon precursors in the must. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60 (10):2638-2646.
- des Gachons, C.P., Tominaga, T., Dubourdieu, D. (2000). Measuring the aromatic potential of *Vitis vinifera* L. Cv. Sauvignon blanc grapes by assaying S-cysteine conjugates, precursors of the volatile thiols responsible for their varietal aroma. *J Agr Food Chem*. 48(8):3387-91.
- Diago, M. P., Ayestarán, B., Guadalupe, Z., Garrido, Á., Tardaguila, J. (2012a). Phenolic composition of Tempranillo wines following early defoliation of the vines. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 92(4):925-34.
- Diago, M. P., Ayestarán, B., Guadalupe, Z., Poni, S., Tardaguila, J. (2012b). Impact of prebloom and fruit set basal leaf removal on the flavonol and anthocyanin composition of Tempranillo grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*. 63: 367-376.
- Drappier, J., Thibon, C., Rabot, A. Geny-Denis, L. (2019.) Relationship between Wine Composition and Temperature: Impact on Bordeaux Wine Typicity in the Context of Global Warming-Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59, 14-30.
- Downey, M. O., Harvey, J. S., Robinson, S. P. (2003a). Analysis of tannins in seeds and skins of Shiraz grapes throughout berry development. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 9(1), 15-27

- Downey, M. O., Harvey, J. S., Robinson, S. P. (2003b). Synthesis of flavonols and expression of flavonol synthase genes in the developing grape berries of Shiraz and Chardonnay (*Vitis vinifera* L.). *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 9(2), 110-121
- Downey, M. O., Harvey, J. S., Robinson, S. P. (2004). The effect of bunch shading on berry development and flavonoid accumulation in Shiraz grapes. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 10, 55-73.
- Duan, B., Mei, Y., Chen, G., Su-Zhou, C., Li, Y., Merkeryan, H., Cui, P., Liu, W., Liu, X. (2022). Deficit irrigation and leaf removal modulate anthocyanin and proanthocyanidin repartitioning of Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.) grape and resulting wine profile. *J Sci Food Agric*, 102: 2937-2949.
- Eggers, N.J., Bohna, K., Dooley, B. (2006). Determination of vitispirane in wines by stable isotope dilution assay. *American Journal of Enology and Viticulture*. 57(2):226-32
- English, J. T. (1989). Microclimates of Grapevine Canopies Associated with Leaf Removal and Control of Botrytis Bunch Rot. *Phytopathology*. 79:395-401
- English, J. T., Bledsoe, A. M., Marois, J. J. (1990). Influence of leaf removal from the fruit cluster zone on the components of evaporative potential within grapevine canopies. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 31, 49-61.
- Falcão, L. D., De Revel, G., Perello, M. C., Moutsiou, A., Zanusi, M. C., Bordignon-Luiz, M. T. (2007). A survey of seasonal temperatures and vineyard altitude influences on 2-methoxy-3-isobutylpyrazine, C13-norisoprenoids, and the sensory profile of Brazilian Cabernet Sauvignon wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55(9):3605-12
- Falchi, R., Wong, D. C. J., Yan, Y., Savoi, S., Gambetta, G. A., Castellarin, S. D. (2019). The Genomics of Grape Berry Ripening. *The Grape Genome*. 247-274.
- Feng, H., Yuan, F., Skinkis, P. A., Qian, M. C. (2015). Influence of cluster zone leaf removal on Pinot noir grape chemical and volatile composition. *Food Chemistry*. 173, 414-423.
- Feng, H., Skinkis, P. A., Qian, M. C. (2017). Pinot noir wine volatile and anthocyanin composition under different levels of vine fruit zone leaf removal. *Food Chem*. 214, 736–744.
- Ferreira, B., Hory, C., Bard, M. H., Taisant, C., Olsson, A., Le Fur, Y. (1995). Effects of skin contact and settling on the level of the C18:2, C18:3 fatty acids and C6 compounds in burgundy chardonnay musts and wines. *Food Qual. Prefer*. 6, 35–41.
- Ferreira, V., Lopez, R. (2019.) The Actual and Potential Aroma of Winemaking Grapes. *Biomolecules* 9.12:818

- Ferlito, F., Allegra, M., Torrisini, B., Pappalardo, H., Gentile, A., la Malfa, S., Continella, A., Stagno, F., Nicolosi, E. (2020). Early defoliation effects on water status, fruit yield and must quality of 'Nerello mascalese' grapes. *Scientia Agricola*, 77.
- Ferrini, F., Mattii, G. B., Nicese, F. P. (1995). Effect of Temperature on Key Physiological-Responses of Grapevine Leaf. *American Journal of Enology and Viticulture*, 46, 375-379.
- Ferrari, V., Disegna, E., Dellacassa, E., Coniberti, A. (2017). Influence of timing and intensity of fruit zone leaf removal and kaolin applications on bunch rot control and quality improvement of Sauvignon blanc grapes, and wines, in a temperate humid climate. *Scientia Horticulturae*. 223, 62-71.
- Flamini, R., Mattivi, F., de Rosso, M., Arapitsas, P., Bavaresco, L. (2013). Advanced Knowledge of Three Important Classes of Grape Phenolics: Anthocyanins, Stilbenes and Flavonols. *International Journal of Molecular Sciences*, 14, 19651-19669.
- Friedel, M., Frotscher, J., Nitsch, M., Hofmann, M., Bogs, J., Stoll, M., Dietrich, H. (2016). Light promotes expression of monoterpene and flavonol metabolic genes and enhances flavour of winegrape berries (*Vitis vinifera* L. cv. Riesling). *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 22(3).
- Frioni, T., Zhuang, S., Palliotti, A., Sivilotti, P., Falchi, R., Sabbatini, P. (2017). Leaf removal and cluster thinning efficiencies are highly modulated by environmental conditions in cool climate viticulture. *American Journal of Enology and Viticulture*. 68: 325-335
- Frioni, T., Acimovic, D., Tombesi, S., Sivilotti, P., Palliotti, A., Poni, S., Sabbatini, P. (2018). Changes in within-shoot carbon partitioning in Pinot Noir grapevines subjected to early basal leaf removal. *Frontiers in Plant Science* 9, 1–11.
- Gambacorta, G., Faccia, M., Natrella, G., Noviello, M., Masi, G., Tarricone, L. (2022). Early Basal Leaf Removal at Different Sides of the Canopy Improves the Quality of Aglianico Wine. *Foods*. 11(19):3140.
- Gambetta, J.M., Romat, V., Schmidtke, L.M., Holzapfel, B.P. (2022). Secondary Metabolites Coordinately Protect Grapes from Excessive Light and Sunburn Damage during Development. *Biomolecules*.28;12(1):42.
- Gao, X. T., Li, H. Q., Wang, Y., Peng, W. T., Chen, W., Cai, X. D., Wang, J. (2019). Influence of the harvest date on berry compositions and wine profiles of *Vitis vinifera* L. cv. 'Cabernet Sauvignon' under a semiarid continental climate over two consecutive years. *Food Chemistry*, 292, 237–246.
- Geffroy, O., Dufourcq, T., Carcenac, D., Siebert, T., Herderich, M., Serrano, E. (2014). Effect of ripeness and viticultural techniques on the rotundone concentration in red wine made from *Vitis vinifera* L. cv. *Duras*. 20, 401–408.

- Georgiadou, E.C., Mina, M., Neoptoleμου, V., Koundouras, S., D'Onofrio, C., Bellincontro, A., Mencarelli, F., Fotopoulos, V., Manganaris, G.A. (2022). The beneficial effect of leaf removal during fruit set on physiological, biochemical, and qualitative indices and volatile organic compound profile of the Cypriot reference cultivar 'Xynisteri'. *J Sci Food Agric.* 13.
- Gershenzon, J., Dudareva, N. (2007). The function of terpene natural products in the natural world. *Nature Chemical Biology.* 3, 408–414.
- Gil, M., Bottini, R., Berli, F., Pontin, M., Silva, M. F., Piccoli, P. (2013). Volatile organic compounds characterized from grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Malbec) berries increase at pre-harvest and in response to UV-B radiation. *Phytochemistry.* 96, 148-157
- González-Barreiro, C., Rial-Otero, R., Cancho-Grande, B., Simal-Gándara, J. (2015). Wine Aroma Compounds in Grapes: A Critical Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* 55(2).
- Gouot, J. C., Smith, J. P., Holzappel, B. P., Walker, A. R., Barril, C. (2019a). Grape berry flavonoids: A review of their biochemical responses to high and extreme high temperatures. *Journal of Experimental Botany.* 70(2):397-423.
- Gouot, J. C., Smith, J. P., Holzappel, B. P., Barril, C. (2019b). Impact of short temperature exposure of *Vitis vinifera* L. cv. Shiraz grapevine bunches on berry development, primary metabolism and tannin accumulation. *Environ. Exp. Bot.* 168:103866.
- Greenspan, M. D., Shackel, K. A., Matthews, M. A. (1994). Developmental changes in the diurnal water budget of the grape berry exposed to water deficits. *Plant, Cell & Environment.* 17, 811-820.
- Greer, D. H., Weedon, M. M. (2013). The impact of high temperatures on *Vitis vinifera* cv. Semillon grapevine performance and berry ripening. *Frontiers in Plant Science,* 4.
- Gregan, S. M., Wargent, J. J., Liu, L., Shinkle, J., Hofmann, R., Winefield, C., Trought, M., Jordan, B. (2012). Effects of solar ultraviolet radiation and canopy manipulation on the biochemical composition of Sauvignon Blanc grapes. *Australian Journal of Grape and Wine Research.* 18, 227-238.
- Gregan, Scott M., Jordan, B. (2016). Methoxypyrazine Accumulation and O-Methyltransferase Gene Expression in Sauvignon blanc Grapes: The Role of Leaf Removal, Light Exposure, and Berry Development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 23;64(11):2200-8.
- Guidoni, S., Ferrandino, A., Novello, V. (2008a). Effects of seasonal and agronomical practices on skin anthocyanin profile of Nebbiolo grapes. *American Journal of Enology and Viticulture,* 59:22-29.

- Guidoni, S., Oggero, G., Cravero, S., Rabino, M., Cravero, M.C., Balsari, P. (2008b). Manual and mechanical leaf removal in the bunch zone (*Vitis vinifera* L., cv Barbera): Effects on berry composition, health, yield and wine quality, in a warm temperate area. *OENO One*. 42, 49–58.
- Hashizume K, Samuta T. (1999). Grape maturity and light exposure affect berry methoxypyrazine concentration. *American Journal of Enology and Viticulture*. 50(2):194-8.
- He, L., Xu, X.-Q., Wang, Y., Chen, W.-K., Sun, R.-Z., Cheng, G., Pan, Q.-H. (2020). Modulation of volatile compound metabolome and transcriptome in grape berries exposed to sunlight under dry-hot climate. *BMC Plant Biology*, 20(1), 59.
- Hernandez-Orte, P., Concejero, B., Astrain, J., Lacau, B., Cacho, J., Ferreira, V. (2015). Influence of viticulture practices on grape aroma precursors and their relation with wine aroma. *J. Sci. Food Agric.*, 95: 688-701.
- Hickey, C. C., Kwasniewski, M. T., Wolf, T. K. (2018). Leaf removal effects on Cabernet franc and Petit Verdot: II. grape carotenoids, phenolics, and wine sensory analysis. *American Journal of Enology and Viticulture*. 69: 231-246.
- Hickey, C. C., Wolf, T. K. (2018). Leaf removal effects on Cabernet franc and Petit Verdot: I. crop yield components and primary fruit composition. *American Journal of Enology and Viticulture*. 69: 221-230.
- Hirschberg, J. (2001). Carotenoid biosynthesis in flowering plants. *Curr Opin Plant Biol*. 4(3):210-8.
- Hjelmeland, A., Ebeler, S. (2014). Glycosidically Bound Volatile Aroma Compounds in Grapes and Wine: A Review. *American Journal of Enology and Viticulture*. 66:1-11.
- Hochberg, U., Batushansky, A., Degu, A., Rachmilevitch, S., Fait, A. (2015). Metabolic and Physiological Responses of Shiraz and Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.) to Near Optimal Temperatures of 25 and 35 degrees C. *International Journal of Molecular Sciences*, 16, 24276-24294.
- Hunter, J. J., Volschenk, C. G., Zorer, R. (2016). Vineyard row orientation of *Vitis vinifera* L. cv. Shiraz/101-14 Mgt: Climatic profiles and vine physiological status. *Agricultural and Forest Meteorology*, 228, 104-119.
- Hunter, J. J., Bonnardot, V. (2011). Suitability of Some Climatic Parameters for Grapevine Cultivation in South Africa, with Focus on Key Physiological Processes. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 32, 137-154.
- Ilic, T., Werck-Reichhart, D., Navrot, N. (2016). Meta-Analysis of the Core Aroma Components of Grape and Wine Aroma. *Frontiers in Plant Science*. 7.15.

- Intrieri, C., Filippetti, I., Allegro, G., Centinari, M., Poni, S. (2008). Early defoliation (hand vs mechanical) for improved crop control and grape composition in Sangiovese (*Vitis vinifera* L.). *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 14, 25-32.
- Iorio, D., Gambacorta, G., Tarricone, L., Vilanova, M., Paradiso, V.M. (2022). Effect of Early Basal Leaf Removal on Phenolic and Volatile Composition and Sensory Properties of Aglianico Red Wines. *Plants*.11(5):591.
- IPCC (2013). *Climate Change 2013: The Physical Science Basis*. Working Group I Contribution to the IPCC Fifth Assessment Report. Geneva: IPCC.
- IPCC (2018). Summary for policymakers, in *Global Warming of 1.5°C*. An IPCC Special Report on the Impacts of Global Warming of 1.5°C Above Pre-industrial Levels and Related Global Greenhouse Gas Emission Pathways, in the Context of Strengthening the Global Response to the Threat of Climate Change, Sustainable Development, and Efforts to Eradicate Poverty (Geneva).
- Jackson, D. I., Lombard, P. B. (1993). Environmental and Management-Practices Affecting Grape Composition and Wine Quality - a Review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 44, 409-430.
- Joubert, C., Young, P. R., Eyéghé-Bickong, H. A., Vivier, M. A. (2016). Field-grown grapevine berries use carotenoids and the associated xanthophyll cycles to acclimate to UV exposure differentially in high and low light (Shade) conditions. *Frontiers in Plant Science*. 7:786.
- Kalua, C. M., Boss, P. K. (2009). Evolution of volatile compounds during the development of Cabernet Sauvignon grapes (*Vitis vinifera* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57, 9, 3818–3830.
- Keller, Markus. (2010). *The Science of Grapevines*. London: Academic Press.
- Kennedy, J. (2008). Grape and wine phenolics: Observations and recent findings. *Ciencia Investig. Ciencia e investigación agraria: revista latinoamericana de ciencias de la agricultura*, 35(2)107-120.
- King, P. D., McClellan, D. J., Smart, R. E. (2012). Effect of severity of leaf and crop removal on grape and wine composition of Merlot vines in Hawke's Bay vineyards. *American Journal of Enology and Viticulture*. 63: 500-507.
- Kliewer, W. M. (1977). Influence of Temperature, Solar-Radiation and Nitrogen on Coloration and Composition of Emperor Grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28, 96-103.
- Kliewer, W. M., Dokoozlian, N. K. (2005). Leaf area/crop weight ratios of grapevines: Influence on fruit composition and wine quality. *American Journal of Enology and Viticulture*, 56, 170-181.

- Kliewer, W. M., Torres, R. E. (1972). Effect of Controlled Day and Night Temperatures on Grape Coloration. *American Journal of Enology and Viticulture*, 23, 71.
- Kobayashi, H., Takase, H., Suzuki, Y., Tanzawa, F., Takata, R., Fujita, K., Kohno, M., Mochizuki, M., Suzuki, S., Konno, T. (2011). Environmental stress enhances biosynthesis of flavor precursors, S-3-(hexan-1-ol)-glutathione and S-3-(hexan-1-ol)-L-cysteine, in grapevine through glutathione S-transferase activation. *Journal of Experimental Botany*. 62(3):1325-36.
- Koch, A., Ebeler, S. E., Williams, L. E., Matthews, M. A. (2012). Fruit ripening in *Vitis vinifera*: Light intensity before and not during ripening determines the concentration of 2-methoxy-3-isobutylpyrazine in Cabernet Sauvignon berries. *Physiologia Plantarum*. 145(2):275-85.
- Kolb, C.A., Käser, M.A., Kopecky, J., Zotz, G., Riederer, M., Pfündel, E.E. (2001). Effects of natural intensities of visible and ultraviolet radiation on epidermal ultraviolet screening and photosynthesis in grape leaves. *Plant Physiol*. 127, 863–875
- Kolb, C. A., Kopecký, J., Riederer, M., Pfündel, E. E. (2003). UV screening by phenolics in berries of grapevine (*Vitis vinifera*). *Functional Plant Biology*. 30(12).
- Komm, B. L., Moyer, M. M. (2015). Effect of early fruit-zone leaf removal on canopy development and fruit quality in Riesling and Sauvignon blanc. *American Journal of Enology and Viticulture*. 66: 424-434.
- Koundouras, S. (2018). Environmental and viticultural effects on grape composition and wine sensory properties. *Elements*. 14(3):173-178.
- Koundouras, S., Hatzidimitriou, E., Karamolegkou, M., Dimopoulou, E., Kallithraka, S., Tsialtas, J. T. (2009). Irrigation and rootstock effects on the phenolic concentration and aroma potential of *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon grapes. *J. Agric. Food Chem*. 57, 7805–7813.
- Kovalenko, Y., Tindjau, R., Madilao, L. L., Castellarin, S. D. (2021). Regulated deficit irrigation strategies affect the terpene accumulation in Gewürztraminer (*Vitis vinifera* L.) grapes grown in the Okanagan valley. *Food Chem*. 341:128172. 6, 28–33
- Kozina, B., Karoglan, M., Herjavec, S., Jeromel, A., Orlic, S. (2008). Influence of basal leaf removal on the chemical composition of Sauvignon Blanc and Riesling wines. *J. Food Agric. Environ*.
- Krstic, M., Johnson, D., Herderich, M. (2015), Review of smoke taint in wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 21: 537-553.
- Kujundžić, T., Rastija, V., Šubarić, D., Jukić, V., Schwander, F., Drenjančević, M. (2022). Effects of Defoliation Treatments of Babica Grape Variety (*Vitis vinifera* L.) on Volatile Compounds Content in Wine. *Molecules*.21;27(3):714.

- Kwasniewski, M. T., Vanden Heuvel, J. E., Pan, B. S., Sacks, G. L. (2010). Timing of cluster light environment manipulation during grape development affects C13 norisoprenoid and carotenoid concentrations in Riesling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58, 11, 6841–6849.
- Langcake, P., Pryce, R. J. (1977). Production of Resveratrol and Viniferins by Grapevines in Response to UV Irradiation. *Phytochemistry*, 16:1193-1196.
- Lacey, M. J., Allen, M. S., Harris, R. L. N., Brown, W. V. (1991). Methoxypyrazines in Sauvignon blanc Grapes and Wines. *American Journal of Enology and Viticulture*. 42(2):103-108
- Lakso, A. N., Kliewer, W. M. (1975). Influence of Temperature on Malic Acid Metabolism in Grape Berries .1. Enzyme Responses. *Plant Physiology*, 56, 370-372.
- Lecourieux, F., Kappel, C., Pieri, P., Charon, J., Pillet, J., Hilbert, G. (2017). Dissecting the biochemical and transcriptomic effects of a locally applied heat treatment on developing cabernet sauvignon grape berries. *Front. Plant Sci*. 8:53.
- Lee, S. H., Seo, M. J., Riu, M., Cotta, J. P., Block, D. E., Dokoozlian, N. K., Ebeler, S. E. (2007). Vine microclimate and norisoprenoid concentration in Cabernet Sauvignon grapes and wines. *American Journal of Enology and Viticulture*. 58: 291-301.
- Lei, Y.J., Xie, S., Guan, X.Q., Song, C.Z., Zhang, Z.W., Meng, J.F. (2018) Methoxypyrazines biosynthesis and metabolism in grape: A review. *Food Chem*. 2018;245:1141-7.
- Lin, J., Massonnet, M., Cantu, D. (2019). The genetic basis of grape and wine aroma. *Hortic Res* 6, 81.
- Liu, D., Gao, Y., Li, X. X., Li, Z. Pan, Q. H. (2015.). Attenuated Uv Radiation Alters Volatile Profile in Cabernet Sauvignon Grapes under Field Conditions. *Molecules*, 20, 16946-16969.
- Lopes, C. M., Egipto, R., Zarrouk, O., Chaves, M. M. (2020). Carry-over effects on bud fertility makes early defoliation a risky crop-regulating practice in Mediterranean, 290-299.
- Lopes, C., Pinto, P. A. (2005). Easy and accurate estimation of grapevine leaf area with simple mathematical models. *Vitis*, 44:55-61.
- Lu, H., Lu, L., Liu, Y., Cheng, C., Chen, W., Li, S., He, F., Duan, C., Wang, J. (2022). Reducing the source/sink ratio of grapevine to face global warming in a semi-arid climate: Effects on volatile composition of Cabernet Sauvignon grapes and wines. *Food chemistry*:15,100449.
- Maletić, E., Karoglan Kontić, J., Pejić, I. (2008). *Vinova loza: ampelografija, ekologija i oplemenjivanje*. Školska knjiga, Zagreb.



- Marais J. (1983). Terpenes in the aroma of grapes and wines: a review. *S Afr J Enol Vitic.*4(2):49-58.
- Marais, J., Wyk, C., Rapp, A. (1992). Effect of sunlight and shade on norisoprenoid levels in maturing Weisser Riesling and Chenin blanc grapes and Weisser Riesling wines. *South African Journal for Enology and Viticulture.* 13(1).
- Marais, J., Hunter, J. J., Haasbroek, P. D. (1999). Effect of Canopy Microclimate, Season and Region on Sauvignon blanc Grape Composition and Wine Quality. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 20, 19-30.
- Markovic, J. M. D., Petranovic, N. A., Baranac, J. M. (2000). A spectrophotometric study of the copigmentation of malvin with caffeic and ferulic acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 5530-5536.
- Martin, V., Giorello, F., Fariña, L., Minteguiaga, M., Salzman, V., Boido, E., Aguilar, P.S., Gaggero, C., Dellacassa, E., Mas, A., Carrau, F. (2016) De Novo Synthesis of Benzenoid Compounds by the Yeast *Hanseniaspora vineae* Increases the Flavor Diversity of Wines. *J Agric Food Chem.* 8;64(22):4574-83.
- Martínez-Lüscher, J., Sánchez-Díaz, M., Delrot, S., Aguirreolea, J., Pascual, I., Gomès, E. (2014). Ultraviolet-B radiation and water deficit interact to alter flavonol and anthocyanin profiles in grapevine berries through transcriptomic regulation. *Plant and Cell Physiology.* 55(11):1925-36.
- Mataffo, A., Scognamiglio, P., Molinaro, C., Corrado, G., Basile, B. (2023). Early Canopy Management Practices Differentially Modulate Fruit Set, Fruit Yield, and Berry Composition at Harvest Depending on the Grapevine Cultivar. *Plants.*12(4):733.
- Mateo, J. J., Jiménez, M. (2000). Monoterpenes in grape juice and wines. *Journal of Chromatography A.* 881, 557-567.
- Matese, A., Crisci, A., Di Gennaro, S. F., Primicerio, J., Tomasi, D., Marcuzzo, P., Guidoni, S. (2014). Spatial variability of meteorological conditions at different scales in viticulture. *Agricultural and Forest Meteorology*, 189:159-167.
- Mathieu, S., Terrier, N., Procureur, J., Bigey, F., Günata, Z. (2005). A carotenoid cleavage dioxygenase from *Vitis vinifera* L.: functional characterization and expression during grape berry development in relation to C13-norisoprenoid accumulation. *J Exp Bot.* 56(420):2721-31.
- Mattivi, F., Scienza, A., Failla, O., Villa, P., Anzani, R., Tedesco, G., Gianazza, E., Righetti, P. (1990). *Vitis vinifera* - a chemotaxonomic approach: anthocyanins in the skin. *Vitis.* 119-133.
- Matus, J. T. (2016). Transcriptomic and Metabolomic Networks in the Grape Berry Illustrate That It Takes More Than Flavonoids to Fight against Ultraviolet Radiation. *Frontiers in Plant Science*, 7, 8.

- Matus, J. T., Loyola, R., Vega, A., Peña-Neira, A., Bordeu, E., Arce-Johnson, P. (2009). Post-veraison sunlight exposure induces MYB-mediated transcriptional regulation of anthocyanin and flavonol synthesis in berry skins of *Vitis vinifera*. *J. Exp. Bot.*, 60, 853–867.
- Mendes-Pinto, M. M. (2009). Carotenoid breakdown products the-norisoprenoids-in wine aroma. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 483, 236-245.
- Meyers, J. M., Sacks, G. L., Vanden Heuvel, J. E. (2013). Glycosylated aroma compound responses in “Riesling” wine grapes to cluster exposure and vine yield. *HortTechnology*. 23(5):581-588.
- Minnaar, P., Van Der Rijst, M., Hunter, J. (2022). Grapevine row orientation, vintage and grape ripeness effect on anthocyanins, flavan-3-ols, flavonols and phenolic acids: I. *Vitis vinifera* L. cv. Syrah grapes. *OENO One*, 56(1), 275–293.
- Mirošević, N., Turković, Z. (2003). *Ampelografski atlas*. Golden Marketing - Tehnička knjiga, Zagreb, Hrvatska.
- Monagas, M., Bartolomé, B., Gómez-Cordovés, C. (2005). Updated knowledge about the presence of phenolic compounds in wine. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 45(2):85-118.
- Morales-Castilla, I., García de Cortázar-Atauri, I., Cook, B. I., Lacombe, T., Parker, A., van Leeuwen, C. (2020). Diversity buffers winegrowing regions from climate change losses. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 117, 2864–2869.
- Moreno, D., Valdés, E., Uriarte, D., Gamero, E., Talaverano, I., Vilanova, M. (2017). Early leaf removal applied in warm climatic conditions: Impact on Tempranillo wine volatiles. *Food Research International*. 98, 50-58.
- Moreno, D., Vilanova, M., Gamero, E., Intrigliolo, D. S., Talaverano, M. I., Uriarte, D., Valdes, M. E. (2015). Effects of Preflowering Leaf Removal on Phenolic Composition of Tempranillo in the Semiarid Terroir of Western Spain. *American Journal of Enology and Viticulture*, 66, 204-211.
- Mori, K., Goto-Yamamoto, N., Hashizume, K., Kitayama, M. (2007a). Effect of high temperature on anthocyanin composition and transcription of flavonoid hydroxylase genes in “Pinot noir” grapes (*Vitis vinifera*). *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 82, 199-206.
- Mori, K., Goto-Yamamoto, N., Kitayama, M., Hashizume, K. (2007b). Loss of anthocyanins in red-wine grape under high temperature. *Journal of Experimental Botany*, 58, 1935-1945.
- Mori, K., Sugaya, S., Gemma, H. (2005). Decreased anthocyanin biosynthesis in grape berries grown under elevated night temperature condition. *Scientia Horticulturae*, 105, 319-330.

- Morrison, J.C., Noble, A.C. (1990). The effects of leaf and cluster shading on the composition of Cabernet Sauvignon grapes and on fruit and wine sensory properties. *Am J Enol Vitic* 41:193–200
- Mosetti, D., Herrera, J. C., Sabbatini, P., Green, A., Alberti, G., Peterlunger, E., Lisjak, K., Castellarin, S. D. (2016). Impact of leaf removal after berry set on fruit composition and bunch rot in “Sauvignon blanc” *Vitis* - Geilweilerhog. 55(2):57-64.
- Moskowitz, A. H., Hrazdina, G. (1981). Vacuolar Contents of Fruit Subepidermal Cells from *Vitis* Species. *Plant Physiology*. 68(3): 686–692.
- Movahed, N., Pastore, C., Cellini, A., Allegro, G., Valentini, G., Zenoni, S., Cavallini, E., D’Incà, E., Tornielli, G. B., Filippetti, I. (2016). The grapevine VviPrx31 peroxidase as a candidate gene involved in anthocyanin degradation in ripening berries under high temperature. *Journal of Plant Research*. 129(3):513-26.
- Mucalo, A., Lukšić, K., Budić-Leto, I., Zdunić, G. (2022). Cluster Thinning Improves Aroma Complexity of White Maraština (*Vitis vinifera* L.) Wines Compared to Defoliation under Mediterranean Climate. *Applied Sciences*.12(14):7327.
- Nicholas, K. A., Matthews, M. A., Lobell, D. B., Willits, N. H., Field, C. B. (2011). Effect of vineyard-scale climate variability on Pinot noir phenolic composition. *Agricultural and Forest Meteorology*, 151:1556-1567.
- Noble, A.C., Elliottfisk, D.L., Allen, M.S. (1995). Vegetative Flavor and Methoxy-pyrazines in Cabernet-Sauvignon. *Fruit Flavors*. 596:226-34.
- Noguerol-Pato, R., González-Barreiro, C., Cancho-Grande, B., Santiago, J.L., Martínez, M.C., Simal-Gándara, J. (2012). Aroma potential of Brancellao grapes from different cluster positions, *Food Chemistry*, Volume 132, Issue 1.
- O.I.V. (2001). Compendium of international methods of wine and must analysis. Office international de la vigne et du vin. Paris.
- O.I.V. (2022). State of the world vine and wine sector in 2022. International Organisation of Vine and Wine.
- Ojeda, H., Deloire, A., Carbonneau, A. (2001). Influence of water deficits on grape berry growth. *Vitis* 40, 141–145.
- Oliver-Manera, J., Anić, M., García-Tejera, O., Girona, J. (2022). Evaluation of carbon balance and carbohydrate reserves from forced (*Vitis vinifera* L.) cv. Tempranillo vines. *Front Plant Sci*.13:998910.
- Osrečak, M., Karoglan, M., Kozina, B. (2016). Influence of leaf removal and reflective mulch on phenolic composition and antioxidant activity of Merlot, Teran and Plavac mali wines (*Vitis vinifera* L.). *Scientia Horticulturae*. 209:261-269.

- Palai, G., Caruso, G., Gucci, R. D'Onofrio, C. (2022). Deficit irrigation differently affects aroma composition in berries of *Vitis vinifera* L. (cvs Sangiovese and Merlot) grafted on two rootstocks. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 28: 590-606.
- Palliotti, A., Gatti, M. Poni, S. (2011). Early leaf removal to improve vineyard efficiency: gas exchange, source-to-sink balance, and reserve storage responses. *American Journal of Enology and Viticulture* 62, 219–228
- Palliotti, A., Gardi, T., Berrios, J. G., Civardi, S., Poni, S. (2012). Early source limitation as a tool for yield control and wine quality improvement in a high-yielding red *Vitis vinifera* L. cultivar. *Scientia Horticulturae*. 145, 10-16.
- Palliotti, A., Panara, F., Silvestroni, O., Lanari, V., Sabbatini, P., Howell, G., Gatti, M., Poni, S. (2013). Delay of grape ripening through late leaf removal. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 19: 369-377.
- Palliotti, A., Frioni, T., Tombesi, S., Sabbatini, P., Cruz-Castillo, J.G., Lanari, V., Silvestroni, O., Gatti, M., Poni, S. (2017). Double-pruning grapevines as a management tool to delay berry ripening and control yield. *American Journal of Enology and Viticulture* 68, 412–421.
- Pascual, G.A., Serra, I., Calderón-Orellana, A., Laurie, V.F., López, M.D. (2017). Changes in concentration of volatile compounds in response to defoliation of Muscat of Alexandria grapevines grown under a traditional farming system. *Chil. J. Agric. Res.* 77, 373–381.
- Pastore, C., Zenoni, S., Fasoli, M., Pezzotti, M., Tornielli, G. B., Filippetti, I. (2013). Selective defoliation affects plant growth, fruit transcriptional ripening program and flavonoid metabolism in grapevine. *BMC Plant Biology*. 13(1):30.
- Pastore, C., Dal Santo, S., Zenoni, S., Movahed, N., Allegro, G., Valentini, G., Filippetti, I., Tornielli, G. B. (2017). Whole Plant Temperature Manipulation Affects Flavonoid Metabolism and the Transcriptome of Grapevine Berries. *Frontiers in Plant Science*, 8.
- Pavić, V., Kujundzic, T., Kopic, M., Jukic, V., Braun, U., Schwander, F., Dernjancevic, M. (2019). Effects of Defoliation on Phenolic Concentrations, Antioxidant and Antibacterial Activity of Grape Skin Extracts of the Varieties Blaufrankisch and Merlot (*Vitis vinifera* L.). *Molecules*, 24.
- Pineau, B., Barbe, J.C., Van Leeuwen, C., Dubourdieu, D. (2009). Examples of perceptive interactions involved in specific “red-“ and “black-berry” aromas in red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57:3702- 3708.
- Poni, S., Casalini, L., Bernizzoni, F., Civardi, S., Intrieri, C. (2006). Effects of early defoliation on shoot photosynthesis, yield components, and grape composition. *American Journal of Enology and Viticulture*. 57: 397-407.

- Poni, S., Gatti, M., Bernizzoni, F., Civardi, S., Bobeica, N., Magnanini, E., Palliotti, A. (2013). Late leaf removal aimed at delaying ripening in cv. Sangiovese: physiological assessment and vine performance. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 19(3), 378-387.
- Pons, A., Allamy, L., Lavigne, V., Dubourdieu, D., Darriet, P. (2017). Study of the contribution of massoia lactone to the aroma of Merlot and Cabernet Sauvignon musts and wines. *Food Chem.* 232, 229–236.
- Preston, L.D., Block, D.E., Heymann, H., Soleas, G., Noble, A.C., Ebele, S.E. (2008). Defining vegetal aromas in Cabernet Sauvignon using sensory and chemical evaluations. *American Journal of Enology and Viticulture*.59:137-145.
- Previtali, P., Dokoozlian, N.K., Pan, B.S., Wilkinson, K.L., Ford, C.M. (2021). Crop Load and Plant Water Status Influence the Ripening Rate and Aroma Development in Berries of Grapevine (*Vitis vinifera* L.) cv. Cabernet Sauvignon. *J Agric Food Chem.* 14;69(27):7709-7724.
- Price, S. F., Breen, P. J., Valladao, M., Watson, B. T. (1995). Cluster sun exposure and quercetin in Pinot noir grapes and wine. *American Journal of Enology and Viticulture.* 46: 187-194.
- Quinones, A.J.P., Hoogenboom, G., Gutierrez, M.R.S., Stockle, C., Keller, M. (2020). Comparison of air temperature measured in a vineyard canopy and at a standard weather station. *PLoS ONE* 15 (6), 1–20.
- Rapp, A. (1995). Possibilities of characterizing wine varieties by means of volatile flavor compounds. *Developments in Food Science.* 37, 1703-1722.
- Razungles, A. J., Babic, I., Sapis, J. C., Bayonove, C. L. (1996). Particular Behavior of Epoxy Xanthophylls during Veraison and Maturation of Grape. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 44, 12, 3821–3825.
- Renaud, S., de Lorgeril, M. (1992). Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet* 339, 1523–1526.
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., Dubourdieu, D. (2006). *Handbook of Enology, The Chemistry of Wine: Stabilization and Treatments: Second Edition (Vol. 2, pp. 1–441).*
- Rienth, M., Vigneron, N., Darriet, P., Sweetman, C., Burbidge, C., Bonghi, C., Walker, R.P., Famiani, F., Castellarin, S.D. (2021). Grape Berry Secondary Metabolites and Their Modulation by Abiotic Factors in a Climate Change Scenario—A Review. *Front. Plant Sci.* 12:643258.
- Rienth, M., Torregrosa, L., Sarah, G., Ardisson, M., Brillouet, J. M., Romieu, C. (2016). Temperature desynchronizes sugar and organic acid metabolism in ripening grapevine fruits and remodels their transcriptome. *BMC Plant Biology.* 16(1).

- Riesterer-Loper, J., Workmaster, B. A., Atucha, A. (2019). Impact of fruit zone sunlight exposure on ripening profiles of cold climate interspecific hybrid winegrapes. *American Journal of Enology and Viticulture*. 70:286-296.
- Ristic, R., Bindon, K., Francis, L. I., Herderich, M. J., Iland, P. G. (2010). Flavonoids and C13-norisoprenoids in *Vitis vinifera* L. cv. Shiraz: Relationships between grape and wine composition, wine colour and wine sensory properties. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 16:369-388.
- Robinson, L.A., Boss P.K., Solomon, P.S., Trengove, R.D., Heymann, H., Ebeler, S.E. (2014). Origins of Grape and Wine Aroma. Part 1. Chemical Components and Viticultural Impacts. *American Journal of Enology and Viticulture*. 65:1-24.
- Roland, A., Schneider, R., Razungles, A., Cavelier, F. (2011). Varietal thiols in wine: Discovery, analysis and applications. *Chemical Reviews*. 111, 11, 7355–7376.
- Romeyer, F. M., Macheix, J. J., Goiffon, J. P., Reminiac, C. C., Sapis, J. C. (1983). The browning capacity of grapes. III. Changes and importance of hydroxycinnamic acidtartaric acid esters during development and maturation of the fruit. *J. Sci. Food Agric.*, 31.
- Roujou de Boubée, D., Cumsille, A. M., Pons, M., Dubourdieu, D. (2002). Location of 2-methoxy-3-isobutylpyrazine in Cabernet Sauvignon grape bunches and its extractability during vinification. *American Journal of Enology and Viticulture*. 53:1-5.
- Roujou de Boubée, D., Van Leeuwen, C., Dubourdieu, D. (2000). Organoleptic impact of 2-methoxy-3-isobutylpyrazine on red Bordeaux and Loire wines. Effect of environmental conditions on concentrations in grapes during ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48(10):4830-4.
- Ryona, I., Leclerc, S., Sacks, G.L. (2010). Correlation of 3-Isobutyl-2-methoxypyrazine to 3-Isobutyl-2-hydroxypyrazine during Maturation of Bell Pepper (*Capsicum annuum*) and Wine Grapes (*Vitis vinifera*). *J Agr Food Chem*. 58(17):9723-30.
- Ryona, I., Pan, B. S., Intrigliolo, D. S., Lakso, A. N., Sacks, G. L. (2008). Effects of cluster light exposure on 3-isobutyl-2-methoxypyrazine accumulation and degradation patterns in red wine grapes (*Vitis vinifera* L. Cv. Cabernet franc). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56, 22, 10838–10846.
- Sabbatini, P., Howell, G. S. (2010). Effects of Early Defoliation on Yield, Fruit Composition, and Harvest Season Cluster Rot Complex of Grapevines. *Hortscience*, 45, 1804-1808.
- Sadras, V. O., Moran, M. A. (2012). Elevated temperature decouples anthocyanins and sugars in berries of Shiraz and Cabernet Franc. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 18, 115–122.

- Sadras, V. O., Moran, M. A., Bonada, M. (2013). Effects of elevated temperature in grapevine. I berry sensory traits. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 19, 95–106.
- Saerens, S.M., Delvaux, F.R., Verstrepen, K.J., Thevelein, J.M. (2010). Production and biological function of volatile esters in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microb Biotechnol*.3(2):165-77.
- Sala, C., Guasch, J., Zamora, F. (2004). Factors Affecting the Presence of 3-Alkyl-2-methoxypyrazines in Grapes and Wines. A review. *Universitat Rovira i Virgili*.
- Sánchez, L. A., Dokoozlian, N. K. (2005). Bud microclimate and fruitfulness in *Vitis vinifera* L. *American Journal of Enology and Viticulture*. 56:319-329.
- Savoi, S., Wong, D. C. J., Arapitsas, P., Miculan, M., Bucchetti, B., Peterlunger, E. (2016). Transcriptome and metabolite profiling reveals that prolonged drought modulates the phenylpropanoid and terpenoid pathway in white grapes (*Vitis vinifera* L.). *BMC Plant Biol*. 16:67.
- Scafidi, P., Pisciotta, A., Patti, D., Tamborra, P., Di Lorenzo, R., Barbagallo, M. G. (2013). Effect of artificial shading on the tannin accumulation and aromatic composition of the Grillo cultivar (*Vitis vinifera* L.). *BMC Plant Biology*, 13(1), 175.
- Schultz, H. R. (2016). Global climate change, sustainability, and some challenges for grape and wine production. *J. Wine Econ*. 11, 181–200.
- Schüttler, A., Guthier, C., Stoll, M., Darriet, P., Rauhut, D. (2015). Impact of grape cluster defoliation on TDN potential in cool climate Riesling wines. *BIO Web of Conferences*. 5:01006.
- Schwab, W., Davidovich-Rikanati, R., Lewinsohn, E. (2008). Biosynthesis of plant-derived flavor compounds. *Plant J*. 54(4):712-32.
- Schwab, W., Wüst, M. (2015). Understanding the Constitutive and Induced Biosynthesis of Mono- and Sesquiterpenes in Grapes (*Vitis vinifera*): A Key to Unlocking the Biochemical Secrets of Unique Grape Aroma Profiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 63, 49, 10591–10603.
- Shi, P. B., Yue, T. X., Ai, L. L., Cheng, Y. F., Meng, J. F., Li, M. H. (2016). Phenolic compound profiles in grape skins of Cabernet Sauvignon, Merlot, Syrah and Marselan cultivated in the Shacheng area (China). *South Afr. J. Enol. Vitic* 37 (2), 132–138.
- Shi, P., Song, C., Chen, H., Duan, B., Zhang, Z., Meng, J. (2018). Foliar applications of iron promote flavonoids accumulation in grape berry of *Vitis vinifera* cv. Merlot grown in the iron deficiency soil. *Food Chem*. 253, 164–170.

- Sidhu, D., Lund, J., Kotseridis, Y., Saucier, C. (2015). Methoxypyrazine Analysis and Influence of Viticultural and Enological Procedures on their Levels in Grapes, Musts, and Wines. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 55(4):485-502.
- Silva Ferreira, A.C., Guedes de Pinho, P., Rodrigues, P., Hogg, T. (2002). Kinetics of oxidative degradation of white wines and how they are affected by selected technological parameters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50:5919-5924.
- Sivilotti, P., Falchi, R., Herrera, J. C., Škvarč, B., Butinar, L., Sternad Lemut, M., Bubola, M., Sabbatini, P., Lisjak, K., Vanzo, A. (2017). Combined Effects of Early Season Leaf Removal and Climatic Conditions on Aroma Precursors in Sauvignon Blanc Grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 65, 38, 8426–8434
- Sivilotti, P., Herrera, J. C., Lisjak, K., Baša Česnik, H., Sabbatini, P., Peterlunger, E., Castellarin, S. D. (2016). Impact of Leaf Removal, Applied before and after Flowering, on Anthocyanin, Tannin, and Methoxypyrazine Concentrations in Merlot' (*Vitis vinifera* L.) Grapes and Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 64(22):4487-449.
- Skouroumounis, G.K., M.A. Sefton. (2000). Acid-catalyzed hydrolysis of alcohols and their  $\beta$ -d-glucopyranosides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48:2033-2039.
- Smart, R. E. (1985). Principles of Grapevine Canopy Microclimate Manipulation with Implications for Yield and Quality. Review. *American Journal of Enology and Viticulture*. 36:230-239.
- Song, J., Shellie, K. C., Wang, H., Qian, M. C. (2012). Influence of deficit irrigation and kaolin particle film on grape composition and volatile compounds in merlot grape (*Vitis vinifera* L.). *Food Chem*. 134, 841–850.
- Song, J., Smart, R., Wang, H., Dambergs, B., Sparrow, A., Qian, M. C. (2015). Effect of grape bunch sunlight exposure and UV radiation on phenolics and volatile composition of *Vitis vinifera* L. cv. Pinot noir wine. *Food Chemistry*. 173:424-431.
- Spayd, S. E., Tarara, J. M., Mee, D. L., Ferguson, J. C. (2002). Separation of sunlight and temperature effects on the composition of *Vitis vinifera* cv. Merlot berries. *American Journal of Enology and Viticulture*. 53:171-182.
- Sun, M., Jordan, B., Creasy, G., Zhu, Y.F. (2023). UV-B Radiation Induced the Changes in the Amount of Amino Acids, Phenolics and Aroma Compounds in *Vitis vinifera* cv. Pinot Noir Berry under Field Conditions. *Foods*, 12, 2350.
- Swiegers, J. H., Pretorius, I. S. (2005). Yeast Modulation of Wine Flavor. In: LASKIN, A. I., BENNETT, J. W. & GADD, G. M. (eds.) *Advances in Applied Microbiology*, Vol 57. San Diego: Elsevier Academic Press Inc.



- Šebela, D., Turoczy, Z., Olejnickova, J., Kumsta, M., Sotolar R. (2017). Effect of Ambient Sunlight Intensity on the Temporal Phenolic Profiles of *Vitis Vinifera* L. Cv. Chardonnay During the Ripening Season - A Field Study. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 38:94-102.
- Šikuten, I., Anić, M., Štambuk, P., Tomaz, I., Stupić, D., Andabaka, Ž., Marković, Z., Karoglan Kontić, J., Maletić, E., Karoglan, M., Preiner, D. (2020). Biosynthesis and Profiling of Grape Volatile Compounds. *Vitis Biology and Species*. Jordao, Antonio Manuel Santos Tomas(ur.). New York: Nova Science Publisher. 271-320.
- Šikuten, I., Štambuk, P., Karoglan Kontić, J., Maletić, E., Tomaz, I., Preiner, D. (2021). Optimization of SPME-Arrow-GC/MS Method for Determination of Free and Bound Volatile Organic Compounds from Grape Skins. *Molecules* 26: 7409.
- Šuklje, K., Antalick, G., Coetzee, Z., Schmidtke, L. M., Baša Česnik, H., Brandt, J., du Toit, W. J., Lisjak, K., Deloire, A. (2014). Effect of leaf removal and ultraviolet radiation on the composition and sensory perception of *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon Blanc wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 20:223-233.
- Šuklje, K., Lisjak, K., Baša Česnik, H., Janeš, L., Du Toit, W., Coetzee, Z., Vanzo, A., Deloire, A. (2012). Classification of grape berries according to diameter and total soluble solids to study the effect of light and temperature on methoxypyrazine, glutathione, and hydroxycinnamate evolution during ripening of Sauvignon blanc (*Vitis vinifera* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 60(37):9454-61.
- Talaverano, I., Valdes, E., Moreno, D., Gamero, E., Mancha, L., Vilanova, M. (2017). The combined effect of water status and crop level on tempranillo wine volatiles. *J. Sci. Food Agric*. 97, 1533–1542.
- Tarara, J. M., Lee, J., Spayd, S. E., Scagel, C. F. (2008). Berry temperature and solar radiation alter acylation, proportion, and concentration of anthocyanin in Merlot grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*. 59:235-247.
- Tello, J., Ibáñez, J. (2018) What do we know about grapevine bunch compactness? A state-of-the-art review. *Aust. J. Grape Wine Res*. 24, 6–23.
- Tessarini, P., Ricci, A., Baraldi, G., Lombini, A., Parpinello, G. P., Rombolà, A. D. (2022). Beneficial effects of bunch-zone late defoliations and shoot positioning on berry composition and colour components of wines undergoing aging in an organically-managed and rainfed Sangiovese vineyard. *OENO One*, 56(4), 13–27.
- Tomaz, I. (2016). Optimiranje priprave uzoraka za analizu polifenolnih spojeva u kožici grožđa tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti. Doktorska dizertacija. Sveučilište u Zagrebu Prirodoslovno-matematički fakultet. Kemijski odsjek. Zagreb.

- Tomaz, I., Štambuk, P., Andabaka, Ž., Preiner, D., Stupić, D., Maletić, E., Karoglan Kontić, J., Ašperger, D. (2017). The Polyphenolic Profile of Grapes. In: Grapes: Polyphenolic Composition, Antioxidant Characteristics and Health Benefits. New York: Nova Science Publishers, Inc. 1-70.
- Tomaz, I., Maslov, L. (2016). Simultaneous Determination of Phenolic Compounds in Different Matrices using Phenyl-Hexyl Stationary Phase. *Food Analytical Methods*, 9:401-410.
- Tomaz, I., Maslov, L., Stupic, D., Preiner, D., Asperger, D., Karoglan Kontic, J. (2016). Solid-liquid Extraction of Phenolics from Red Grape Skins. *Acta Chimica Slovenica*, 63:287-97.
- Torres, N., Martínez-Lüscher, J., Porte, E., Yu, R., Kurtural, K. (2021). Impacts of leaf removal and shoot thinning on cumulative daily light intensity and thermal time and their cascading effects of grapevine (*Vitis vinifera* L.) berry and wine chemistry in warm climates, *Food Chemistry*. 343, 128447.
- Van der Weide, J., Frioni, T., Ma, Z., Stoll, M., Poni, S., Sabbatini, P. (2020). Early leaf removal as a strategy to improve ripening and lower cluster rot in cool climate (*Vitis vinifera* L.) Pinot grigio. *American Journal of Enology and Viticulture*. 71:70-79
- Van der Weide, J., Medina-Meza, I. G., Frioni, T., Sivilotti, P., Falchi, R., Sabbatini, P. (2018). Enhancement of Fruit Technological Maturity and Alteration of the Flavonoid Metabolomic Profile in Merlot (*Vitis vinifera* L.) by Early Mechanical Leaf Removal. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 66, 37, 9839–9849.
- Van Leeuwen, C., Tregoat, O., Chone, X., Bois, B., Pernet, D., Gaudillere, J.P. (2009). Vine water status is a key factor in grape ripening and vintage quality for red Bordeaux wine. How can it be assessed for vineyard management purposes? *J. Int. Sci. Vigne Vin*. 43, 121–134.
- Van Leeuwen, C., Darriet, P. (2016). The Impact of Climate Change on Viticulture and Wine Quality. *Journal of Wine Economics*. 11(01):150-167.
- Van Leeuwen, C., Destrac-Irvine, A. (2017). Modified Grape Composition under Climate Change Conditions Requires Adaptations in the Vineyard. *Oeno One*, 51, 147-154.
- Vasconcelos, M., Greven, M., Winefield, C., Trought, M., Raw, V. (2009). The flowering process of *Vitis vinifera*: a review. *American Journal of Enology and Viticulture*. 60 (4), 411–434
- Verdenal, T., Zufferey, V., Dienes-Nagy, A., Belcher, S., Lorenzini, F., Rösti, J., Koestel, C., Gindro, K., Spring, J. L. (2018). Intensity and timing of defoliation on white cultivar Chasselas under the temperate climate of Switzerland. *Oeno One*. 52(2).

- Verdenal, T., Zufferey, V., Dienes-Nagy, A., Bourdin, G., Gindro, K., Viret, O., Spring, J. L. (2019). Timing and intensity of grapevine defoliation: An extensive overview on five cultivars in Switzerland. *American Journal of Enology and Viticulture*. 70:427-434.
- Verzera, A., Tripodi, G., Dima, G., Conduro, C., Scacco, A., Cincotta, F., Giglio, D. M. L., Santangelo, T., Sparacio, A. (2016). Leaf removal and wine composition of *Vitis vinifera* L. cv. Nero d'Avola: The volatile aroma constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 96(1).
- Vilanova, M., Diago, M.P., Genisheva, Z., Oliveira, J.M., Tardaguila, J. (2012). Early leaf removal impact on volatile composition of Tempranillo wines. *J. Sci. Food Agric.*, 92: 935-942.
- Wang, X., Lesefko, S., de Bei, R., Fuentes, S., Collins, C. (2020a). Effects of canopy management practices on grapevine bud fruitfulness. *Oeno One*. 54(2).
- Wang Y. (2020b). Influence of attenuated reflected solar radiation from the vineyard floor on volatile compounds in Cabernet Sauvignon grapes and wines of the north foot of Mt. Tianshan. *Food Res Int* 137:109688.
- Wang, Y., He, L., Pan, Q., Duan, C., Wang, J. (2018). Effects of basal defoliation on wine aromas: A meta-analysis. *Molecules*. 23(4):779.
- Wegher, M., Faralli, M., Bertamini, M. (2022). Cluster-Zone Leaf Removal and GA<sub>3</sub> Application at Early Flowering Reduce Bunch Compactness and Yield per Vine in *Vitis vinifera* cv. Pinot Gris. *Horticulturae*. 8, 81.
- Winterhalter, P., Rouseff, R. (2002). Carotenoid Derived Aroma Compounds. *ACS Symposium Series*; American Chemical Society: Washington, DC.
- Würz, D. A., Rufato, L., Bogo, A., Allebrandt, R., Pereira de Bem, B., Marcon Filho, J. L., Bonin, B. F. (2020). Effects of leaf removal on grape cluster architecture and control of Botrytis bunch rot in Sauvignon Blanc grapevines in Southern Brazil. *Crop Protection*, 131, 105079.
- Yan, Y. F., Song, C. Z., Falginella, L. & Castellarin, S. D. (2020). Day Temperature Has a Stronger Effect Than Night Temperature on Anthocyanin and Flavonol Accumulation in 'Merlot' (*Vitis vinifera* L.) Grapes During Ripening. *Frontiers in Plant Science*, 11.
- Yin, H., Wang, L., Wang, F., Xi, Z. (2022). Effects of UVA disappearance and presence on the acylated anthocyanins formation in grape berries. *Food Chem (Oxf)*. 18;5:100142.
- Young, P. R., Eyeghe-Bickong, H. A., du Plessis, K., Alexandersson, E., Jacobson, D. A., Coetzee, Z., Deloire, A., Vivier, M. A. (2016). Grapevine plasticity in response to an altered microclimate: Sauvignon Blanc modulates specific metabolites in response to increased berry exposure. *Plant Physiology*. 170 (3), 1235-1254.

- Young, P. R., Lashbrooke, J. G., Alexandersson, E., Jacobson, D., Moser, C., Velasco, R., Vivier, M. A. (2012). The genes and enzymes of the carotenoid metabolic pathway in *Vitis vinifera* L. *BMC Genomics*. 13:243.
- Yuan, F., Qian, M. C. (2016). Development of C-13-norisoprenoids, carotenoids and other volatile compounds in *Vitis vinifera* L. Cv. Pinot noir grapes. *Food Chemistry*, 192:633-641.
- Yue, X., Ju, Y., Tang, Z., Zhao, Y., Jiao, X., Zhang, Z. (2019). Effects of the severity and timing of basal leaf removal on the amino acids profiles of Sauvignon Blanc grapes and wines. *Journal of Integrative Agriculture*, 18(9):2052–2062.
- Yue, X., Ma, X., Tang, Y., Wang, Y., Wu, B., Jiao, X., Zhang, Z., Ju., Y. (2020). Effect of cluster zone leaf removal on monoterpene profiles of Sauvignon Blanc grapes and wines. *Food Research International*. 131.109028.
- Zhang, H., Fan, P., Liu, C., Wu, B., Li, S., Liang, Z. (2014). Sunlight exclusion from muscat grape alters volatile profiles during berry development. *Food Chem*. 164, 242–250.
- Zhang, B., Cai, J., Duan, C. Q., Reeves, M. J., He, F. (2015a). A review of polyphenolics in oak woods. *International journal of molecular sciences*, 16(4), 6978–7014.
- Zhang, P., Howell, K., Krstic, M., Herderich, M., Barlow, E. W. R., Fuentes, S. (2015b). Environmental factors and seasonality affect the concentration of rotundone in *vitis vinifera* L. Cv. Shiraz wine. *PLoS ONE*.10(7)
- Zhang, E., Chai, F., Zhang, H., Li, S., Liang, Z., Fan, P. (2017a). Effects of sunlight exclusion on the profiles of monoterpene biosynthesis and accumulation in grape exocarp and mesocarp. *Food Chemistry*. 237.
- Zhang, P., Wu, X., Needs, S., Liu, D., Fuentes, S., Howell, K. (2017b). The influence of apical and basal defoliation on the canopy structure and biochemical composition of *Vitis vinifera* cv. Shiraz grapes and wine. *Frontiers in Chemistry*. 5
- Zheng, W., García, J., Balda, P., de Toda, F. M. (2017). Effects of late winter pruning at different phenological stages on vine yield components and berry composition in La Rioja, north-central Spain. *Oeno One*, 51(4), 363-363.
- Zheng, Y. J., Tian, L., Liu, H. T., Pan, Q. H., Zhan, J. C., Huang, W. D. (2009). Sugars induce anthocyanin accumulation and flavanone 3-hydroxylase expression in grape berries. *Plant Growth Regulation*, 58:251-260.
- Zhu, B.Q., Xu, X.Q., Wu, Y.W., Duan, C.Q., Pan, Q.H. (2012). Isolation and characterization of two hydroperoxide lyase genes from grape berries : HPL isogenes in *Vitis vinifera* grapes. *Mol Biol Rep*.39(7):7443-55.
- Zufferey, V., Spring, J.-L., Verdenal, T., Dienes, A., Belcher, S., Lorenzini, F. (2017). The influence of water stress on plant hydraulics, gas exchange, berry composition and quality of pinot noir wines in Switzerland. *OENO One* 51, 17–27.

## ŽIVOTOPIS KANDIDATA

Marina Anić rođena je 24. rujna 1990. godine u Zagrebu gdje je završila osnovnu školu i Gimnaziju Lucijana Vranjanina. Diplomirala je 10. srpnja 2015. godine na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, studij Hortikultura, smjer Vinogradarstvo i vinarstvo. Diplomski rad pod naslovom „Utjecaj pripreve uzoraka grožđa kultivara Regent na sastav pojedinačnih polifenola“ izradila je pod mentorstvom prof.dr.sc. Jasminke Karoglan Kontić. Dobitnica je Državne stipendije (2009.-2013.) za izvanredne studente, Dekanove nagrade za uspjeh u studiranju (2014.) te stipendije Zaklade Miljenka Grgića (2014.), koja je stipendirala tromjesečnu praksu u vinariji 'Opolo vineyards', Paso Robles, Kalifornija, SAD.

Nakon studija dvije godine radi kao enolog u vinariji Blato 1902 na Korčuli. U kolovozu 2017. godine zapošljava se kao asistent na Zavodu za vinogradarstvo i vinarstvo Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, kada upisuje i doktorski studij Poljoprivredne znanosti, pod mentorstvom prof.dr.sc. Marka Karoglana. Sudjeluje u izvedbi nastave na preddiplomskom i diplomskom studiju Agronomskog fakulteta kao suradnik na modulima: Vinogradarstvo 2, Osnove vinogradarstva i voćarstva, Proizvodnja stolnog grožđa, Tehnologija proizvodnje pjenušavih i desertnih vina i Table grapes production. Boravila je na tromjesečnom stručnom usavršavanju na IRTA Fruitcentre u Lleidi, Španjolska.

Sudjelovala je na znanstvenom projektu HEKTOR- Specifikacije heterogenog autonomnog robotskog sustava, te stručnim projektima 'Gospodarska evaluacija autohtonih sorata otoka Mljeta s ciljem njihove revitalizacije', 'Primjena mikorize u vinogradarsko-vinarskoj proizvodnji na području Zagrebačke županije', 'Istraživanje i identifikacija nove sorte vinove loze s područja Konavala' te 'Pametna poljoprivreda u Zagrebačkoj županiji – unaprjeđenje vinogradarske proizvodnje na području Zagrebačke županije primjenom preciznog vinogradarstva'. Sudjelovala je na raznim tečajevima i radionicama poput Pioneers into practice 2020. i Med Gold Living Lab 2020.

Koautorica je deset znanstvenih radova A1 kategorije, dva znanstvena rada A2 kategorije te više znanstvenih radova prezentiranim na međunarodnim kongresima. Koautorica je knjige 'Biosynthesis and Profiling of Grape Volatile Compounds', te monografije 'Pošip bijeli u čašama zlato s Korčule'. Dobitnica je nagrade za najbolji znanstveni rad doktoranda u akademskoj 2020./2021. godini. Udana je i majka jednog dječaka.

## Popis radova

### Radovi u časopisima

Znanstveni i pregledni radovi

Oliver-Manera, J., **Anić, M.**, García-Tejera, O., Girona, J. (2022). Evaluation of carbon balance and carbohydrate reserves from forced (Vitis vinifera L.) cv. Tempranillo vines. *Frontiers in Plant Science*.13.998910.

Kapetanović, N., Goričanec, J., Vatauvuk, I., Hrabar, I., Stuhne, D., Vasiljević, G., Kovačić, Z., Mišković, N., Antolović, N., **Anić, M.**, Kozina, B. (2022). Heterogeneous Autonomous Robotic System in Viticulture and Mariculture: Vehicles Development and Systems Integration. *Sensors*.22.8.1-29.

Andabaka, Ž., Žarak, M., Maletić, E., Karoglan Kontić, J., Periner, D., Marković, Z., Stupić, D., Karoglan, M., **Anić, M.**, Tomić, A. et al. (2022). Promjene u sastavu i sadržaju polifenolnih spojeva tijekom dozrijevanja crnih sorata vinove loze (Vitis vinifera L.). *Journal of Central European agriculture*.4.851-861.

Rendulić Jelušić, I., Šakić Bobić, B., Grgić, Z., Žiković, S., Osrečak, M., Puhelek, I., **Anić, M.**, Karoglan, M. (2022). Grape Quality Zoning and Selective Harvesting in Small Vineyards—To Adopt or Not to Adopt. *Agriculture*.6.852.22.

Štambuk, P., **Anić, M.**, Huzanić, N., Preiner, D., Karoglan, M., Karoglan Kontić, J., Tomaz, I. (2022). A Simple Method for the Determination of Polyphenolic Compounds from Grapevine Leaves. *Separations*.2.24.12.

Karoglan, M., Radić, T., **Anić, M.**, Andabaka, Ž., Stupić, D., Tomaz, I., Mesić, J., Karažija, T., Petek, M., Lazarević, B., et al. (2021). Mycorrhizal Fungi Enhance Yield and Berry Chemical Composition of in Field Grown “Cabernet Sauvignon” Grapevines (V. vinifera L.). *Agriculture*.7.615.12.

Tomaz, I., Štambuk, P., **Anić, M.**, Šikuten, I., Huzanić, N., Karoglan, M., Maletić, E., Karoglan Kontić, J., Preiner, D. (2021). Effect of different drying methods on the content of polyphenolic compounds of red grape skins. *Journal of Central European agriculture*.2.429-442.

**Anić, M.**, Osrečak, M., Andabaka, Ž., Tomaz, I., Večenaj, Ž., Jelić, D., Kozina, B., Karoglan Kontić, J., Karoglan, M. (2021). The effect of leaf removal on canopy microclimate, vine performance and grape phenolic composition of Merlot (Vitis vinifera L.) grapes in the continental part of Croatia. *Scientia horticultrae*.285.110161.8.

Osrečak, M., Jeromec, A., Puhelek, I., Jagatić Korenika, A., Karakaš, D., **Anić, M.**, Karoglan, M. (2021). Utjecaj mikorize na kemijski sastav vina 'Portugizac'. Glasnik zaštite bilja.3. 33-40.

Omazić, B., Telišman Prtenjak, M., Prša, I., Belušić V. A., Vučetić, V., Karoglan, M., Karoglan Kontić, J., Prša, Ž., **Anić, M.**, Šimon, S., Güttler, I. (2020). Climate change impacts on viticulture in Croatia; viticultural zoning and future potential. International journal of climatology.13.5634-5655.

Andabaka, Ž., Stupić, D., Šikuten, I., Štambuk, P., Tomaz, I., **Šeparović, M.**, Karoglan, M. (2020). Promjene sastava i sadržaja polifenolnih spojeva u listovima crnih sorata tijekom pojedinih fenofaza. Agronomski glasnik.5-6.271-280.

Tomaz, I., **Šeparović, M.**, Štambuk, P., Preiner, D., Maletić, E., Karoglan Kontić, J. (2018). Effect of freezing and different thawing methods on the content of polyphenolic compounds of red grape skins. Journal of food processing and preservation.3.e13550.10.

## Knjige

### Monografija

Mirošević, N., Bašić, Ž., Jelaska, V., **Anić, M.**, Maletić, E., Jagatić Korenika, A., Alpeza, I., Brkan, B. Tvrdeić, I., Margaritoni, M., et al. (2022). Pošip bijeli u čašama zlato s Korčule. Zagreb: Nova Stvarnost.

### Poglavlje u knjigama

Šikuten, I., **Anić, M.**, Štambuk, P., Tomaz, I., Stupić, D., Andabaka, Ž., Marković, Z., Karoglan Kontić, J., Maletić, E., Karoglan, M., Preiner, D. (2020). Biosynthesis and Profiling of Grape Volatile Compounds. *Vitis Biology and Species*. Jordao, Antonio Manuel Santos Tomas(ur.).New York: Nova Science Publisher. 271-320.



## Radovi u zbornicima skupova

Znanstveni radovi u zbornicima skupova

**Anić, M.**, Osrečak, M., Štambuk, P., Ljubičić, L., Karoglan M. (2023). Impact of late winter pruning of Portugieser grapevines (*Vitis vinifera* L.) on yield components and grape composition. 58th Croatian & 18th International Symposium on Agriculture Dubrovnik, Croatia.189-194.

**Anić, M.**, Rajić, P., Osrečak, M., Karoglan, M. (2021). Usporedba temperature mezoklime vinograda i mikroklike trsa. 56th Croatian & 16th International Symposium on Agriculture Vodice, Hrvatska. 677-681.

Goričanec, J., Kapetanović, N., Vatauvuk, I., Hrabar, I., Vasiljević, G., Gledec, G., Stuhne, D., Bogdan, S., Orsag, M., Petrović, T., **Anić, M.** (2021). Heterogeneous autonomous robotic system in viticulture and mariculture – project overview. Proceedings of the 16th International Conference on Telecommunications: ConTEL 2021 / AntoniĆ, M., Babić, J. (ur.). Zagreb: University of Zagreb, Faculty of Electrical Engineering and Computing. 181-188.

Rendulić Jelušić, I., **Anić, M.**, Puhelek, I., Osrečak, M., Šakić Bobić, B., Grgić, Z., Karoglan, M. (2020). Pregled novih tehnologija za praćenje vinogradarske proizvodnje i primjenu preciznog vinogradarstva. 55th Croatian & 15th International Symposium on Agriculture / Mioč, B., Širić, I. (ur.). Zagreb: Agronomski fakultet. 510-514.

Karoglan, M., Telišman Prtenjak, M., Šimon, S., Osrečak, M., Karoglan Kontić, J., Andabaka, Ž., Tomaz, I., Grisogono, B., Belušić, A., Marki, A., **Anić, M.** (2019). Within-vineyard temperature variability in the Jazbina hills of Croatia. Proceedings of 54th Croatian & 14th International Symposium on Agriculture/ Mioč, B., Širić, I. (ur.). Zagreb: Grafomark d.o.o., Zagreb, 541-545.

Karoglan, M., Telišman Prtenjak, M., Šimon, S., Osrečak, M., **Anić, M.**, Karoglan Kontić, J., Andabaka, Ž., Tomaz, I., Grisogono, B., Belušić, A. (2018). Classification of Croatian winegrowing regions based on bioclimatic indices. E3S Web of Conferences 50, 01032 XII Congreso Internacional Terroir Zaragoza: Sociedad Aragonesa de Gestión Agroambiental, 1-5.

## **Sažeci sa skupova**

Sažeci u zbornicima i časopisima

**Anić, M.**, Osrečak, M., Štambuk, P., Ljubičić, L., Karoglan, M. (2022). Effect of delayed winter pruning of Portugieser grapevine on grape primary and phenolic composition. Book of abstracts IV International Symposium for Agriculture and Food / - Skopje: Faculty of Agricultural Sciences and Food, Ohrid, Sjeverna Makedonija. 183-183.

## **Stručni radovi**

Osrečak, M., Jeromec, A., Puhelek, I., Jagatić Korenika, A., **Anić, M.**, Huzanić, N., Karoglan, M. (2020). Mikoriza u vinogradarskoj proizvodnji. Glasnik zaštite bilja.4,4;26-30.

### Stručni radovi u zbornicima skupova

Stupić, D., Filipović S.M., Andabaka, Ž., Marković, Z., Preiner, D., Štambuk, P., Šikuten, I., **Anić, M.** (2022). Značaj autohtonih sorata vinove loze (*Vitis vinifera* L.) u ukupnoj proizvodnji grožđa i vina u Republici Hrvatskoj. 57. Hrvatski i 17. međunarodni simpozij agronoma. Vodice, Hrvatska. 591-595.

## 8. PRILOZI

### PRILOG 1.

Tablica 1. Utjecaj termina djelomične defolijacije na sadržaj pojedinačnih i ukupnih antocijana te ukupnih polifenola u kožici bobice sorte 'Merlot', Jazbina, 2018. i 2019. godina																
	Dp-3-O-g	Cy-3-O-g	Pt-3-O-g	Pn-3-O-g	Mv-3-O-g	Dp-3-O-Ace-g	Pt-3-O-Ace-g	Pn-3-O-Ace-g	Mv-3-O-Ace-g	Dp-3-O-Cou-g	Pt-3-O-Cou-g	Pn-3-O-Cou-g	Mv-3-O-Cou-g	Mv-3-O-Caff-g	Ukupni antocijani	Ukupni polifenoli
2018																
DE 1	4266,2± 216,9 <sup>a</sup>	607,0± 22,3 <sup>a</sup>	1285,7± 63,3 <sup>a</sup>	869,5± 27,1 <sup>a</sup>	10292,0± 442,7 <sup>a</sup>	128,0± 13,0 <sup>a</sup>	241,1± 17,6 <sup>a</sup>	169,6± 9,1 <sup>a</sup>	1631,1± 94,2	254,8± 18 <sup>a</sup>	20,0± 6,2 <sup>a</sup>	257,4± 10,8 <sup>a</sup>	1357,6± 76,2	221,9± 13,5 <sup>a</sup>	21602,5± 1013,4 <sup>a</sup>	25508,4± 1121,9 <sup>a</sup>
DE 2	2972,0± 136,8 <sup>b</sup>	355,1± 23,1 <sup>bc</sup>	948,8± 43,0 <sup>b</sup>	597,6± 33,2 <sup>b</sup>	9015,5± 376,5 <sup>b</sup>	42,9± 9,8 <sup>b</sup>	176,2± 9,1 <sup>b</sup>	130,1± 8,3 <sup>c</sup>	1578,1± 77,2	167,4± 20,5 <sup>b</sup>	13,0± 3,4 <sup>ab</sup>	212,7± 14,5 <sup>bc</sup>	1392,5± 76,6	188,3± 12,8 <sup>b</sup>	17790,9± 842,4 <sup>b</sup>	21055,8± 1077,3 <sup>b</sup>
DE 3	3059,2± 89,0 <sup>b</sup>	332,5± 8,2 <sup>cd</sup>	963,8± 29,6 <sup>b</sup>	524,9± 13,1 <sup>c</sup>	8953,0± 272,9 <sup>b</sup>	34,1± 3,8 <sup>b</sup>	175,8± 6,6 <sup>b</sup>	117,2± 4,1 <sup>c</sup>	1547,4± 46,2	157,5± 7,1 <sup>bc</sup>	16,1± 1,1 <sup>ab</sup>	195,5± 6,5 <sup>cd</sup>	1348,2± 41,3	183,8± 6,1 <sup>b</sup>	17609,5± 531,2 <sup>b</sup>	20834,8± 571,4 <sup>b</sup>
DE 4	3158,4± 46,5 <sup>b</sup>	393,5± 7,3 <sup>b</sup>	992,6± 15,6 <sup>b</sup>	590,4± 14,3 <sup>b</sup>	8915,2± 158,6 <sup>b</sup>	49,7± 4,9 <sup>b</sup>	179,7± 5,7 <sup>b</sup>	119,8± 4,7 <sup>c</sup>	1513,4± 38,0	153,5± 8,9 <sup>bc</sup>	11,0± 0,7 <sup>bc</sup>	183,8± 7,5 <sup>d</sup>	1258,8± 30,3	181,3± 5,3 <sup>b</sup>	17701,7± 339,0 <sup>b</sup>	20933,9± 443,2 <sup>b</sup>
K	2364,4± 18,5 <sup>c</sup>	304,9± 6,6 <sup>d</sup>	768,9± 6,1 <sup>c</sup>	640,7± 9,4 <sup>b</sup>	8027,6± 94,7 <sup>c</sup>	35,2± 4,1 <sup>b</sup>	161,7± 3,7 <sup>b</sup>	150,5± 4,8 <sup>b</sup>	1511,6± 32,8	128,1± 13,8 <sup>c</sup>	5,8± 0,3 <sup>c</sup>	235,8± 7,1 <sup>ab</sup>	1281,2± 25,0	155,5± 4,5 <sup>c</sup>	15772,5± 226,7 <sup>c</sup>	18177,6± 289,0 <sup>c</sup>
2019																
DE 1	4825,7± 73,6 <sup>b</sup>	630,9± 11,1 <sup>b</sup>	1427,9± 30,6 <sup>b</sup>	896,9± 3,9 <sup>c</sup>	12169,3± 221,1 <sup>b</sup>	130,6± 5,4 <sup>b</sup>	327,6± 2,3 <sup>b</sup>	191,2± 2,1 <sup>b</sup>	2132,2± 12,9 <sup>a</sup>	147,0± 14,4 <sup>b</sup>	32,2± 1,7 <sup>a</sup>	271,2± 6,6 <sup>b</sup>	1651,0± 32,3 <sup>a</sup>	253,9± 3,8 <sup>b</sup>	25088,1± 331,6 <sup>b</sup>	28673,0± 439,7 <sup>b</sup>
DE 2	4218,7± 100,4 <sup>c</sup>	651,9± 7,5 <sup>b</sup>	1280,1± 29,5 <sup>c</sup>	993,7± 6,6 <sup>b</sup>	10893,7± 250,6 <sup>c</sup>	102,5± 1,4 <sup>c</sup>	251,0± 5 <sup>c</sup>	192,3± 2,0 <sup>b</sup>	1754,9± 44,6 <sup>b</sup>	171,7± 7,6 <sup>b</sup>	17,5± 6,5 <sup>b</sup>	273,9± 3,2 <sup>b</sup>	1360,0± 44,4 <sup>b</sup>	213,0± 4,1 <sup>c</sup>	22375,5± 471,8 <sup>c</sup>	26497,5± 522,1 <sup>c</sup>
DE 3	6396,3± 69,3 <sup>a</sup>	877,8± 7,7 <sup>a</sup>	1832,1± 20,1 <sup>a</sup>	1128,2± 9,3 <sup>a</sup>	13846,8± 225,6 <sup>a</sup>	177,6± 2,4 <sup>a</sup>	368,9± 8,2 <sup>a</sup>	222,6± 2,5 <sup>a</sup>	2222,0± 37,5 <sup>a</sup>	297,0± 9,0 <sup>a</sup>	20,9± 3,2 <sup>b</sup>	319,2± 3,9 <sup>a</sup>	1646,9± 46,7 <sup>a</sup>	290,2± 2,4 <sup>a</sup>	29647,2± 414,7 <sup>a</sup>	34296,7± 405,6 <sup>a</sup>
DE 4	4451,5± 121,0 <sup>c</sup>	650,4± 26,0 <sup>b</sup>	1273,8± 37,9 <sup>c</sup>	895,8± 38,2 <sup>c</sup>	9476,6± 276,1 <sup>d</sup>	107,1± 8,8 <sup>c</sup>	246,3± 5 <sup>c</sup>	169,0± 7,1 <sup>c</sup>	1513,1± 45,6 <sup>c</sup>	171,2± 16,3 <sup>b</sup>	nd <sup>c</sup>	237,4± 10,1 <sup>c</sup>	1113,1± 36,6 <sup>c</sup>	184,6± 8,2 <sup>d</sup>	20490,5± 628,5 <sup>d</sup>	23668,0± 721,8 <sup>d</sup>
K	2602,0± 121,1 <sup>d</sup>	418,3± 21,2 <sup>c</sup>	784,0± 32,4 <sup>d</sup>	704,5± 33,2 <sup>d</sup>	7490,7± 353,1 <sup>e</sup>	47,3± 9,5 <sup>d</sup>	174,4± 13 <sup>d</sup>	149,9± 9,9 <sup>d</sup>	1419,3± 82,2 <sup>c</sup>	78,4± 18,8 <sup>c</sup>	nd <sup>c</sup>	207,9± 12,4 <sup>d</sup>	1124,1± 75,4 <sup>c</sup>	135,2± 8,7 <sup>e</sup>	15336,7± 781,9 <sup>e</sup>	17617,0± 859,0 <sup>e</sup>
G	***	***	***	***	***	***	***	***	***	ns	ns	***	*	***	***	***
T*G	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
DE 1- djelomična defolijacija provedena neposredno prije cvatnje; DE 2- djelomična defolijacija provedena u vrijeme zamatanja bobica; DE 3- djelomična defolijacija provedena u vrijeme zatvaranja grozdova; DE 4- djelomična defolijacija provedena na početku šare; K- kontrola; G- signifikantnost godine; G*T-signifikantnost interakcije godine i tretmana; srednja vrijednost ±SD (n=3); nd- nije detektirano; različita slova kraj srednje vrijednosti označavaju statistički značajnu razliku između tretmana pomoću Tukey's test signifikantnosti $p < 0,05$ ; ns označava da nema statistički značajne razlike; *, ** i *** označavaju statistički značajnu razliku između godina i interakcije godine i tretmana sa $p < 0,05$ , $< 0,01$ i $> 0,0001$ ; Cy, Pt, Mv, Dp i Pn označavaju cijanidin, petunidin, malvidin, delphinidin and peonidin; g, Ace, Caff and Cou označavaju glukozid, acetil, kafeoil i kumaril; vrijednosti su izražene u mg/kg suhe kožice																

## PRILOG 2.

Tablica 2. Utjecaj termina djelomične defolijacije na sadržaj pojedinačnih i ukupnih flavonola u kožici bobice sorte 'Merlot', Jazbina, 2018. i 2019. godina											
	Miricetin-3-O-glukuronid	Miricetin-3-O-glukozid	Miricetin-3-O-galaktozid	Rutin	Kvercetin-3-O-glukonorid	Kvercetin-3-O-glukozid	Kvercetin-3-O-galaktozid	Kemferol-3-O-glukonorid	Kemferol-3-O-glukozid	Izoramnetin-3-O-glukozid	Ukupni flavonoli
2018											
DE 1	68,40±1,37 <sup>a</sup>	420,48±17,20 <sup>a</sup>	98,95±4,43 <sup>a</sup>	34,42±0,56 <sup>a</sup>	165,26±1,85 <sup>a</sup>	1510,90±31,80 <sup>a</sup>	121,10±3,25 <sup>a</sup>	158,30±1,72 <sup>a</sup>	104,47±2,20 <sup>a</sup>	22,12±0,35 <sup>a</sup>	2704,45±62,30 <sup>a</sup>
DE 2	54,69±8,97 <sup>b</sup>	351,24±28,80 <sup>b</sup>	85,24±6,14 <sup>b</sup>	29,41±4,60 <sup>ab</sup>	131,94±12,20 <sup>b</sup>	1239,55±106,10 <sup>b</sup>	113,98±11,10 <sup>a</sup>	144,95±14,20 <sup>a</sup>	99,75±10,23 <sup>b</sup>	19,81±0,29 <sup>b</sup>	2270,68±201,40 <sup>b</sup>
DE 3	62,54±0,40 <sup>ab</sup>	366,57±8,68 <sup>b</sup>	88,67±2,42 <sup>ab</sup>	31,64±1,83 <sup>a</sup>	141,69±1,03 <sup>b</sup>	1283,57±10,21 <sup>b</sup>	114,85±0,73 <sup>a</sup>	143,62±2,30 <sup>a</sup>	102,48±1,20 <sup>ab</sup>	17,09±0,87 <sup>c</sup>	2352,77±18,85 <sup>b</sup>
DE 4	62,10±1,80 <sup>ab</sup>	428,87±11,20 <sup>a</sup>	88,96±1,45 <sup>ab</sup>	24,42±0,10 <sup>bc</sup>	128,75±4,57 <sup>b</sup>	1221,05±48,06 <sup>b</sup>	127,80±2,48 <sup>a</sup>	152,22±4,76 <sup>a</sup>	113,24±2,12 <sup>a</sup>	18,45±0,57 <sup>bc</sup>	2365,85±76,85 <sup>b</sup>
K	39,75±5,14 <sup>c</sup>	254,26±7,87 <sup>c</sup>	79,98±3,50 <sup>b</sup>	20,49±1,67 <sup>c</sup>	79,91±3,81 <sup>c</sup>	681,28±38,01 <sup>c</sup>	84,66±3,17 <sup>b</sup>	95,10±4,44 <sup>b</sup>	79,58±1,98 <sup>c</sup>	18,34±0,31 <sup>c</sup>	1433,40±61,87 <sup>c</sup>
2019											
DE 1	47,33±3,14 <sup>c</sup>	337,48±22,95 <sup>b</sup>	109,90±5,02 <sup>a</sup>	20,16±0,25 <sup>c</sup>	146,76±11,60 <sup>c</sup>	1543,31±106,30 <sup>c</sup>	91,56±5,08 <sup>bc</sup>	135,88±10,30 <sup>d</sup>	85,72±2,39 <sup>a</sup>	21,98±0,62 <sup>c</sup>	2540,02±165,10 <sup>c</sup>
DE 2	52,55±1,05 <sup>b</sup>	356,04±10,80 <sup>b</sup>	105,77±3,32 <sup>a</sup>	19,82±0,06 <sup>c</sup>	194,94±2,20 <sup>b</sup>	2050,20±20,90 <sup>b</sup>	101,79±3,00 <sup>ab</sup>	178,28±0,34 <sup>b</sup>	91,03±2,68 <sup>a</sup>	24,15±0,34 <sup>ab</sup>	3174,61±43,93 <sup>b</sup>
DE 3	65,98±1,08 <sup>a</sup>	445,36±5,34 <sup>a</sup>	112,83±5,45 <sup>a</sup>	22,16±0,32 <sup>a</sup>	223,97±2,12 <sup>a</sup>	2435,11±14,72 <sup>a</sup>	105,81±5,90 <sup>a</sup>	207,82±4,26 <sup>a</sup>	88,65±1,08 <sup>a</sup>	25,97±0,10 <sup>a</sup>	3733,74±23,35 <sup>a</sup>
DE 4	52,89±0,63 <sup>b</sup>	360,91±8,14 <sup>b</sup>	86,30±6,15 <sup>b</sup>	21,24±0,33 <sup>b</sup>	151,79±3,64 <sup>c</sup>	1399,41±37,82 <sup>d</sup>	83,93±1,48 <sup>c</sup>	161,19±3,93 <sup>c</sup>	76,78±1,33 <sup>b</sup>	22,87±1,30 <sup>bc</sup>	2417,37±51,70 <sup>c</sup>
K	32,06±0,30 <sup>d</sup>	220,69±7,88 <sup>c</sup>	71,40±3,02 <sup>c</sup>	17,64±0,35 <sup>d</sup>	79,28±1,17 <sup>d</sup>	830,10±26,04 <sup>e</sup>	53,22±1,72 <sup>d</sup>	82,46±2,20 <sup>e</sup>	60,84±2,07 <sup>c</sup>	19,07±0,22 <sup>d</sup>	1466,85±41,63 <sup>d</sup>
G	***	**	***	***	***	***	***	***	***	***	***
T*G	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
DE 1- djelomična defolijacija provedena neposredno prije cvatnje; DE 2- djelomična defolijacija provedena u vrijeme zamatanja bobica; DE 3- djelomična defolijacija provedena u vrijeme zatvaranja grozdova; DE 4- djelomična defolijacija provedena na početku šare; K- kontrola; G- signifikantnost godine; G*T-signifikantnost interakcije godine i tretmana; srednja vrijednost (n=3); različita slova kraj srednje vrijednosti označavaju statistički značajnu razliku između tretmana pomoću Tukey's test signifikantnosti $p < 0,05$ ; ns označava da nema statistički značajne razlike; *, ** i *** označavaju statistički značajnu razliku između godina i interakcije godine i tretmana sa $p < 0,05$ , $< 0,01$ i $> 0,0001$ ; vrijednosti su izražene u mg/kg suhe kožice											

**PRILOG 3.**

Tablica 3. Utjecaj termina djelomične defolijacije na sastav i zastupljenost hlapljivih alkohola u kožici bobice sorte 'Merlot', Jazbina, 2018. i 2019. godina											
	3-metoksi-1-butanol	1-heksanol	1-nonanol	(E)-2-heksen-1-ol	1-metoksi-2-propanol	(E)-3-heksen-1-ol	(Z)-3-heksen-1-ol	Benzil alkohol	Izoamil alkohol	Feniletil alkohol	(E)-2-heksenol
2018											
DE 1	130,0±0,6 <sup>d</sup>	620,0±3,1 <sup>e</sup>	15,0±0,1 <sup>a</sup>	15,0±0,1 <sup>b</sup>	nd <sup>d</sup>	28,0±0,1 <sup>d</sup>	14,0±0,1 <sup>e</sup>	93,0±0,4 <sup>a</sup>	1200,0±6,1 <sup>b</sup>	39,0±0,2 <sup>b</sup>	470,0±2,3 <sup>e</sup>
DE 2	180,0±0,9 <sup>b</sup>	750,0±3,7 <sup>c</sup>	11,0±0,1 <sup>b</sup>	3,3±0,1 <sup>d</sup>	nd <sup>d</sup>	55,0±0,3 <sup>b</sup>	21,0±0,1 <sup>b</sup>	71,0±0,3 <sup>c</sup>	1100,0±5,5 <sup>c</sup>	34,0±0,2 <sup>d</sup>	650,0±3,2 <sup>d</sup>
DE 3	150,0±0,7 <sup>c</sup>	730,0±3,6 <sup>d</sup>	7,0±0,1 <sup>d</sup>	10,0±0,1 <sup>c</sup>	46,0±0,2 <sup>a</sup>	43,0±0,2 <sup>c</sup>	18,0±0,1 <sup>c</sup>	44,0±0,2 <sup>e</sup>	820,0±4,1 <sup>d</sup>	24,0±0,1 <sup>e</sup>	760,0±3,8 <sup>c</sup>
DE 4	150,0±0,7 <sup>c</sup>	810,0±4,0 <sup>b</sup>	8,7±0,1 <sup>c</sup>	15,0±0,1 <sup>b</sup>	43,0±0,2 <sup>b</sup>	28,0±0,1 <sup>d</sup>	17,0±0,1 <sup>d</sup>	57,0±0,1 <sup>d</sup>	810,0±4,1 <sup>d</sup>	44,0±0,2 <sup>a</sup>	1200,0±6,0 <sup>a</sup>
K	240,0±1,2 <sup>a</sup>	960,0±4,8 <sup>a</sup>	8,6±0,1 <sup>c</sup>	37,0±0,3 <sup>a</sup>	20,0±0,1 <sup>c</sup>	63,0±0,3 <sup>a</sup>	50,0±0,2 <sup>a</sup>	90,0±0,4 <sup>b</sup>	2200,0±1,1 <sup>a</sup>	37,0±0,2 <sup>c</sup>	1000,0±5,0 <sup>b</sup>
2019											
DE 1	11,0±0,1 <sup>e</sup>	820,0±4,1 <sup>e</sup>	6,4±0,1 <sup>c</sup>	51,0±0,2 <sup>b</sup>	nd <sup>b</sup>	36,0±0,2 <sup>e</sup>	120,0±0,6 <sup>b</sup>	360,0±1,8 <sup>a</sup>	1400,0±7,0 <sup>d</sup>	63,0±0,3 <sup>a</sup>	370,0±1,8 <sup>e</sup>
DE 2	130,0±0,6 <sup>a</sup>	940,0±4,7 <sup>c</sup>	9,0±0,1 <sup>b</sup>	48,0±0,2 <sup>c</sup>	1000,0±5,1 <sup>a</sup>	85,0±0,4 <sup>a</sup>	110,0±0,5 <sup>c</sup>	200,0±1,0 <sup>b</sup>	3000,0±1,0 <sup>a</sup>	37,0±0,2 <sup>b</sup>	440,0±2,2 <sup>d</sup>
DE 3	18,0±0,1 <sup>c</sup>	1000,0±5,1 <sup>b</sup>	9,9±0,1 <sup>a</sup>	62,0±0,3 <sup>a</sup>	nd <sup>b</sup>	45,0±0,2 <sup>d</sup>	140,0±0,7 <sup>a</sup>	180,0±0,9 <sup>c</sup>	2600,0±13,0 <sup>b</sup>	35,0±0,2 <sup>c</sup>	1100,0±5,5 <sup>b</sup>
DE 4	47,0±0,2 <sup>b</sup>	840,0±4,2 <sup>d</sup>	6,4±0,1 <sup>c</sup>	37,0±0,2 <sup>d</sup>	1000,0±5,1 <sup>a</sup>	54,0±0,2 <sup>b</sup>	87,0±0,4 <sup>e</sup>	170,0±0,8 <sup>d</sup>	2600,0±13,0 <sup>b</sup>	27,0±0,2 <sup>e</sup>	1000,0±5,0 <sup>c</sup>
K	16,0±0,1 <sup>d</sup>	1200,0±6,1 <sup>a</sup>	nd <sup>d</sup>	21,0±0,1 <sup>e</sup>	nd <sup>b</sup>	48,0±0,2 <sup>c</sup>	100,0±0,5 <sup>d</sup>	170,0±0,8 <sup>d</sup>	1900,0±9,5 <sup>c</sup>	29,0±0,1 <sup>d</sup>	1300,0±6,5 <sup>a</sup>
G	***	***	***	***	***	***	***	***	***	n.s.	n.s.
T*G	***	***	n.s.	***	***	***	***	n.s.	***	n.s.	**
DE 1- djelomična defolijacija provedena neposredno prije cvatnje; DE 2- djelomična defolijacija provedena u vrijeme zametanja bobica; DE 3- djelomična defolijacija provedena u vrijeme zatvaranja grozdova; DE 4- djelomična defolijacija provedena na početku šare; K- kontrola; G- signifikantnost godine; G*T-signifikantnost interakcije godine i tretmana; srednja vrijednost (n=3); nd- nije detektirano; različita slova kraj srednje vrijednosti označavaju statistički značajnu razliku između tretmana pomoću Tukey's testa signifikantnosti $p < 0,05$ ; ns označava da nema statistički značajne razlike; *, ** i *** označavaju statistički značajnu razliku između godina i interakcije godine i tretmana sa $p < 0,05$ , $< 0,01$ i $> 0,0001$ ; vrijednosti su izražene u apsolutnoj površini pika $\times 10^5$											

## PRILOG 4.



Slika 1. Senzori za mjerenje mikroklimata trsa

**PRILOG 5.**



Slika 2. Djelomična defolijacija provedena prije cvatnje



**PRILOG 6.**



Slika 3. Djelomična defolijacija provedena u vrijeme zmetanja bobica

**PRILOG 7.**



Slika 4. Djelomična defolijacija provedena u vrijeme zatvaranja grozdova

**PRILOG 8.**



Slika 5. Djelomična defolijacija provedena na početku šare