Utjecaj ektomikorize na prinos i kakvoću grožđa sorte Cabernet sauvignon (Vitis vinifera L.)

Dunaj, Valentin

Master's thesis / Diplomski rad

2018

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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:935533

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

UTJECAJ EKTOMIKORIZE NA PRINOS I KAKVOĆU GROŽĐA SORTE ´CABERNET SAUVIGNON´ (*Vitis vinifera* L.)

DIPLOMSKI RAD

Valentin Dunaj

Zagreb, srpanj, 2018.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

Hortikultura – Vinogradarstvo i vinarstvo

UTJECAJ EKTOMIKORIZE NA PRINOS I KAKVOĆU GROŽĐA SORTE ´CABERNET SAUVIGNON´ (*Vitis vinifera* L.)

DIPLOMSKI RAD

Valentin Dunaj

Mentor: Izv.prof.dr.sc. Marko Karoglan

Zagreb, srpanj, 2018.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA STUDENTA

O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Valentin Dunaj**, JMBAG 0178095389, rođen 02.07.1994. u Zagrebu, izjavljujem da sam samostalno izradio diplomski rad pod naslovom:

UTJECAJ EKTOMIKORIZE NA PRINOS I KAKVOĆU GROŽĐA SORTE ´CABERNET SAUVIGNON´ (*Vitis vinifera* L.)

Svojim potpisom jamčim:

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

U Zagrebu, dana _____ _____

Potpis studenta

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studenta Valentina Dunaj, JMBAG 0178095389, naslova

UTJECAJ EKTOMIKORIZE NA PRINOS I KAKVOĆU GROŽĐA SORTE ´CABERNET SAUVIGNON´ (*Vitis vinifera* L.)

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____ , dana _____ .

Povjerenstvo: potpisi:

1. Izv.prof.dr.sc. Marko Karoglan _____
2. Izv.prof.dr.sc. Snježana Topolovec-Pintarić _____
3. Doc.dr.sc. Ana-Marija Jagatić Korenika _____

Sažetak

Diplomskog rada studenta Valentina Dunaj, naslova

UTJECAJ EKTOMIKORIZE NA PRINOS I KAKVOĆU GROŽĐA SORTE ´CABERNET SAUVIGNON´ (*Vitis vinifera* L.)

Cilj istraživanja ovog diplomskog rada bio je ustanoviti kako primjena živog ektomikoriznog micelija na korijen vinove loze utječe na prinos i kakvoću grožđa sorte ´Cabernet sauvignon´. Cjepivo komercijalnog naziva Mykoflor aplicirano je na 40 trsova ´Cabernet sauvignona´ na Vinogradarsko-vinarskom pokušalištu Jazbina. Istraživanje je provedeno 2017. godine. Uvometrijskim metodama utvrđena je prosječna masa grozda i prinos po trsu. Mehaničkom analizom mjerena je masa bobica i masa peteljkovine, a kemijskom analizom određen je sadržaj šećera, ukupne kiselosti i pojedinačnih fenolnih spojeva. Rezultati su pokazali da mikoriza ima utjecaj na povećanje prinosa po trsu, na povećanje prosječnog broja grozdova po trsu, na povećanje prosječne mase grozda te na smanjenje prosječne mase bobica. Mikoriza je, osim na mehanički, utjecala i na kemijski sastav na način da je smanjen sadržaj šećera, smanjena je ukupna kiselost, snižena je pH vrijednost, a vinska i jabučna kiselina su povišene, dok promjena u sadržaju limunske kiseline nije signifikantna. Sadržaj ukupnih antocijana i ukupnih polifenola je povišen.

Ključne riječi: mikoriza, ´Cabernet sauvignon´, prinos, kakvoća grožđa, Mykoflor

Summary

Of the master's thesis – student **Valentin Dunaj,** entitled

EFFECT OF ECTOMYCORRHIZA ON THE YIELD AND QUALITY OF ´CABERNET SAUVIGNON´ GRAPE (Vitis vinifera L.)

This master´s thesis deals with influence of ectomycorriza grown on root system of grapevine on yield and quality of ´Cabernet sauvignon´ grapes. Mycotic vaccine Mykoflor was applied on 40 ´Cabernet sauvignon´ grapevines on viticulture-wine experimental field Jazbina. Research was conducted in 2017. Mechanical analysis determined awerage cluster weight, yield per vine, awerage berry weight and petiole weight. Chemical analysis determined soluble solids, titrable acidity and phenols. Results showed that mycorrhiza increased yield per vine, increased awerage number of clusters per vine, increased awerage cluster weight and decreased awerage berry weight. Results also showed that mycorrhiza influenced on chemical composition by decreasing soluble solids, decreasing titrable acidity, decreasing pH and increasing tartaric and malic acid concentration. Citric acid concentration wasn´t significantly different. Total anthocyanins and total polyphenols were increased.

Keywords: mycorrhiza, Cabernet sauvignon, yield, grape quality, Mykoflor

Sadržaj

1. Uvod ... 1
1.1 Cilj istraživanja ... 1
1.2 Hipoteza ... 2
2. Pregled literature ... 3
2.1 Ektomikoriza ... 3
2.1.1 Utjecaj ektomikorize na vinovu lozu ... 4
3. Materijali i metode ... 6
3.1 Pokusni vinograd ... 6
3.2 Tlo pokusnog vinograda ... 6
3.3 Klima ... 6
3.3.1 Temperatura ... 7
3.3.2 Svjetlost ... 8
3.3.3 Oborine ... 9
3.3.4 Vjetrovi ... 10
3.4 Sorta ´Cabernet sauvignon´ ... 10
3.5 Podloga Vitis berlandieri x Vitis riparia SO4 ... 11
3.6 Plan pokusa ... 12
3.7 Uvometrijska analiza grozda ... 12
3.8 Kemijska analiza ... 13
3.8.1 Određivanje sadržaja šećera ... 13
3.8.2 Određivanje ukupne kiselosti ... 13
3.8.3 Određivanje pH ... 13
3.8.4 Određivanje pojedinačnih organskih kiselina ... 14
3.8.5 Određivanje sadržaja pojedinačnih polifenola ... 14
3.9 Statistička obrada podataka ... 15
4. Rezultati i rasprava ... 16
4.1 Rezultati uvometrijskih analiza ... 16
4.2 Sadržaj šećera, koncentracija ukupne kiselosti i pH ... 17
4.3 Sadržaj pojedinačnih organskih kiselina ... 18
4.4 Sadržaj antocijana ... 18
4.5 Sadržaj flavonola ... 19
4.6 Sadržaj flavan-3-ola ... 20
4.7 Sadržaj ukupnih polifenola ... 21
5. Zaključak ... 23

6. Literatura 24
7. Životopis 26

Popis Tablica

Tablica 1 Srednje mjesečne temperature zraka, Zagreb-Maksimir, 2017. godina (°C) 8
Tablica 2 Mjesečna insolacija, Zagreb-Maksimir, travanj-listopad 2017. godina (sati) 9
Tablica 3 Ukupne mjesečne količine oborina, Zagreb-Maksimir, 2017. godina (mm) 10
Tablica 4 Uvometrijski parametri, ´Cabernet sauvignon´, 2017. godina 16
Tablica 5 Sadržaj šećera, ukupna kiselost i pH, ´Cabernet sauvignon´, 2017. godina 17
Tablica 6 Sadržaj pojedinačnih organskih kiselina, ´Cabernet sauvignon´, 2017. godina 18
Tablica 7 Sadržaj pojedinačnih i ukupnih antocijana (mg/kg), ´Cabernet sauvignon´, 2017. godina 19
Tablica 8 Sadržaj flavonola (mg/kg), ´Cabernet sauvignon´, 2017. godina 20
Tablica 9 Sadržaj flavan-3-ola (mg/kg), ´Cabernet sauvignon´, 2017. godina 21
Tablica 10 Sadržaj ukupnih polifenola (mg/kg), ´Cabernet sauvignon´, 2017. godina 21

1. Uvod

Riječ mikoriza dolazi od dviju grčkih riječi, *mykos* (gljiva) i *riza* (korijen), a predstavlja simbiozu korijena fotoautotrofnih biljaka i gljiva. Mikoriza je odnos koristan kako za gljivu tako i za biljku. Pomoću micelija gljive korijen biljke lakše dolazi do vode i hranjivih tvari, dok gljive od biljke dobivaju asimilate i druge organske tvari. Hife gljiva zbog svoje građe i manje veličine od korijenovih dlačica lakše prodiru u tlo i zbog toga efikasnije upijaju vodu i hranjiva. Gljive se obavijaju oko korijena i samim time postaju njegovim dijelom, pa se samim time povećava aktivna zona, odnosno aktivna površina korijena. Zajednica korijena biljke i gljive igra značajnu ulogu u kruženju hranjiva u prirodi, te se može promatrati kao odnos gljiva-biljka-tlo. Osim na ishranu bilja i bolje usvajanje pojedinačnih hranjiva, mikoriza ima utjecaj i na rast i prinos kultura. Istraživanja pokazuju da mikorizirane biljke bolje podnose stres uzrokovan nedostatkom hraniva i vode te zaslanjenost i toksične koncentracija teških metala u tlu. Također, pokazan je i pozitivan učinak simbioze na kulture pri napadu folijarnih patogena i nematoda (Zrnić i Širić, 2017). Osim toga, mikoriza može imati i indirektnu ulogu u zaštiti vinove loze od patogenih mikroorganizama.

Mikoriza se prilikom sjetve može pomiješati sa sjemenom. Ukoliko je sjeme grubo, gljive će same prionuti na sjeme kulture koju sijemo, a kod glatkog sjemena primjenjuje se prirodno ljepilo. Kod presadnica korijen se može umakati u suspenziju. Mikoriza višestruko povećava površinu korijenovog sustava, a sposobna je regulirati i pH tla, također smanjuje potrebe za navodnjavanjem i gnojidbom, a povećava otpornost na negativne okolinske faktore. Mikoriza se može koristiti u svim poljoprivrednim sustavima, u konvencionalnoj, integriranoj i ekološkoj poljoprivredi. Mikoriza ima velik značaj kod upijanja hranjiva koja su slabije zastupljena u tlu kao i kod slabije pokretnih hranjiva. Mikorizne gljive imaju i zaštitnu funkciju. One stvaraju zaštitnu zonu između korijena biljke i tla i samim time otežavaju i usporavaju prodor štetnih tvari (Azcón-Aguilar i Barea, 1997).

Prema načinu simbioze razlikujemo ektomikorizu, endomikorizu i ektoendomikorizu, ali i neke druge manje česte vrste simbioza gljiva i biljaka. Kod ektomikorize micelij formira gust omotač oko korijena biljke. Hife se šire iz tog omotača u tlo i znatno povećavaju upijanje vode i minerala iz tla. Kod endomikorize nema gustog omotača oko korijena, već je potreban mikroskop da bi se vidjele sitne hife koje se šire iz korijena u tlo. Ovaj tip mikorize puno je češći, pa ga nalazimo u simbiozi s više od 90% biljnih vrsta. Ektoendomikoriza je prijelazni oblik između prethodno navedenih. Mikorizacija kod vinove loze provodi se umakanjem korijena u suspenziju.

1.1 Cilj istraživanja

Cilj ovog istraživanja je ustanoviti kako primjena živog ektomikoriznog micelija na korijen vinove loze utječe na prinos i kakvoću grožđa sorte ´Cabernet sauvignon´, proizvodne godine 2017.

1.2 Hipoteza

Veliki broj znanstvenih radova dokazao je pozitivan utjecaj mikorize na vinovu lozu, stoga se i u ovom istraživanju pretpostavlja da će ektomikorizno cjepivo polučiti dobre rezultate i da će pozitivno utjecati na prinos i kakvoću grožđa sorte ´Cabernet sauvignon´.

2. Pregled literature

Smatra se da je mikorizu oko 1880-ih otkrio Franciszek Dionizy Kamieński, poljski znanstvenik, no zbog svoje kompleksnosti ona ni dan danas nije do kraja razjašnjena. U ovakvoj simbiotskoj zajednici živi veliki broj gljiva i viših biljaka. Do uspostave simbiotskog odnosa između gljive i biljke domaćina dolazi nakon njihove interakcije i molekularnog dijaloga (Smith i Gianinazzi-Pearson, 1988). Prednosti ove simbioze su uočljive, pogotovo na strani vinove loze koja ima puno veću korist od gljiva nego obratno. Micelij gljive širi se tlom i usvaja teško dostupna hraniva, a lozi nepristupačna hraniva pretvara u pristupačna. Učinci mikorize posebno su uočljivi u uvjetima niske koncentracije hraniva u tlu (Barea, 1991).

Hife su cijevaste stanice koje grade gljive. Hife su tanje od korijenovih dlačica koje koloniziraju, stoga imaju veću sposobnost upijanja vode i hraniva na lozi nepristupačnim mjestima. Zbog razlike u veličini, hife mogu prodrijeti u najsitnije pore u koje korijen loze ne može ući (Quinn, 2011). Debljina hifa je od 1 do 2 μm, a stanična stijenka im je građena od hitina, lignina, ugljikohidrata, celuloze, pektina i dr. (Ćosić i sur., 2006). Hife rastu izduživanjem vrha i tvore postrane ogranke, a grananjem ogranaka stvara se micelij (Smith i Read, 2008).

U ovom odnosu gljive od biljaka dobivaju prijekopotrebne ugljikohidrate i druge organske spojeve koje biljka stvara procesom fotosinteze (Harley i Smith, 1983; Harley, 1989). U procesu fotosinteze biljka veže ugljik i u obliku topivih šećera i organskih kiselina ga translocira iz lišća u korijen domaćina gdje se prenosi u obliku saharoze u gljivu (Azcón-Aguilar i Barea, 1997). Biljka opskrbljuje gljivu s oko 20% ugljikohidrata dobivenih u procesu fotosinteze, a u zamjenu za ugljikohidrate dobiva oko 70% dušika, fosfora i drugih hraniva (Daguerre i sur., 2016). Nakon uspostave mikorize, gljiva postaje dio korijenovog sustava biljke domaćina, u ovom slučaju vinove loze.

Postoje tri oblika mikorize, odnosno dva glavna i prijelazni. Glavni oblici mikorize su endomikoriza i ektomikoriza, a prijelazni oblik je ektoendomikoriza. Najčešći oblik mikorize je endomikoriza.

2.1 Ektomikoriza

O ektomikorizi govorimo u slučaju kada gljiva obavija korijen izvana. Ektomikoriza kolonizira više od 2000 biljnih vrsta, a uglavnom se javlja kod drveća. Ektomikorizu je sposobno formirati između 5000 i 6000 vrsta gljiva (Molina i sur., 1992). Najčešće se javljaju gljive iz odjela *Basidiomycota*, *Ascomycota* te *Zygomycota* (Pöder, 1996). Na jednoj biljci može se naći čak i nekoliko desetaka ektomiziranih gljiva, a jedna biljna vrsta može se udružiti s tisućama vrsta gljiva (Bruns, 1995; Trappe, 1997). Ova vrsta mikorize je posebna zbog toga što hife obavijaju postrano korijenje biljke domaćina i one preuzimaju ulogu korijenovih dlačica. Nakon obavijanja korijena, hife se kružno šire u tlo.

Ektomikorizne gljive sastoje se od micelijskog plašta i Hartigove mreže. Micelijski plašt služi za odabir i apsorpciju, odnosno usvaja vodu i otopljena hranjiva iz tla, dok Hartigova mreža odrađuje razmjenu tvari između gljive i biljke domaćina (Brundrett, 2004). Vrlo velika razgranatost micelija posebno je važna za apsorpciju fosfata i nitrata koji su vinovoj lozi prijeko potrebni za rast. Njihov učinak posebno je uočljiv na siromašnijim tlima.

2.1.1 Utjecaj ektomikorize na vinovu lozu

Kao posljedica simbioze ektomikoriznih gljiva i korijena vinove loze javljaju se pozitivni učinci vidljivi na lisnoj masi, ali i na grožđu. Između ostalog, mikoriza utječe i na kemijski sastav grožđa. U ovom simbiotskom odnosu, vinova loza prima hraniva potrebna za rast, a gljiva ugljične spojeve nastale fotosintezom. U ovom odnosu gljiva postaje sastavni dio korijena vinove loze. Nadalje, mikoriza pozitivno djeluje na rast biljke, ali i na njeno zdravlje jer djeluje kao biozaštita i biognojivo, čime se smanjuje unos kemijskih gnojiva i sredstava za zaštitu. Osobitu pozornost treba obratiti na kompatibilnost simbionata kako bi se postigli zadovoljavajući rezultati (Azcón-Aguilar i sur., 1996). Obzirom da gljive imaju veliku sposobnost zadržavanja i skladištenja vode, uvelike pomažu vinovoj lozi u stjecanju otpornosti na sušu.

Gnojidba, odnosno ishrana vinove loze vrlo je bitna jer upravo ona određuje rast i funkcije loze, kao i kvalitetu grožđa, a samim time i kvalitetu vina. Gnojidba ovisi o biljci, tlu, ali i o uzgoju i opterećenju same loze. Razgranati micelij mikoriznih gljiva omogućava i osigurava vinovoj lozi intenzivniji rast zbog veće pristupačnosti vode i hranjiva, osobito onih slabo pokretnih i hranjiva sadržanih u malim količinama u tlu.

Dušik usvojen iz tla vrlo je bitan element koji utječe na metabolizam vinove loze i izgradnju drvenih dijelova (Wermelinger i sur., 1991), element koji najviše utječe na razvoj loze i sastav grožđa (Reynolds, 2010). U biljku može ući na dva načina, folijarno (putem lista) i putem korijena iz tla. Mikorizne gljive uvelike olakšavaju ulaz u biljku iz tla. Dovoljne količine dušika osiguravaju brži rast i razvoj presadnica i brži rast mladica u početku vegetacijske sezone. Vinova loza prima dušik u obliku nitratnog iona (NO_3^-) i u obliku amonijevog iona (NH_4^+). Osim količine dušika, vrlo je važan i njegov omjer s ostalim elementima u tlu, osobito fosforom i kalijem. U slučaju suviška dušika u odnosu na fosfor i kalij dolazi do vrlo bujnog rasta mladica i smanjene kvalitete grožđa. Također, veća je osjetljivost na bolesti. U slučaju nedostatka dušika opažamo slabiji porast mladica, svjetliju boju lišća, osipanje cvjetova što dovodi do rehuljavosti grozdova i sitnije bobice. Dušik kao element vrlo je mobilan, čak i do 10 puta mobilniji od fosfora, ali je isto tako i potreban u velikoj koncentraciji osobito u početku vegetacije i tijekom intenzivnog porasta mladica i korijena.

Fosfor je element koji je vrlo rijetko u deficitarnoj količini u tlu. Razlog tome je ograničena potreba za njim. U tlima u kojima nedostaje vrlo važnu ulogu imaju mikorize

koje uvelike doprinose u usvajaju. Biljke fosfor usvajaju najčešće u obliku aniona HPO_4^{2-} koji je izrazito slabo mobilan, pa je iz tog razloga i teško dostupan u tlu. Za razliku od pokretljivosti u tlu, pokretljivost u biljci je izrazito dobra. Fosfor je biljci najpotrebniji u početku vegetacije i u reproduktivnoj fazi. Kod nedostatka fosfora uočavamo usporeni rast mladica, usporeni metabolizam biljke, smanjenje bobica i povećanu osjetljivost na nepovoljne uvjete (Skinner i Matthews, 1989).

Osim dušika i fosfora još je jedan elementa vrlo važan za vinovu lozu, a to je kalij. Njegov nedostatak javlja se zbog njegovog manjka u tlu, nepovoljne vlažnosti i nedovoljne razvijenosti korijenovog sustava (Christensen i sur., 1978). Manjak kalija primjećujemo po slabijoj otpornosti vinove loze na sušu i hladnoću.

Uz hranjiva i voda je jedan od ključnih faktora za rast i razvoj vinove loze, a isto tako i za prinos i kvalitetu grožđa. Nedostatak vode česta je pojava i negativno utječe na fotosintezu i prinos, a samim time i na rentabilnost uzgoja vinove loze. Mikorizne gljive svojim razgranatim micelijem, kojim povećavaju volumen korijena, povećavaju usvajanje vode od strane biljke. Zbog sitnije građe, hife prodiru u sitnije pore od korijenovih dlačica i usvajaju vodu koju biljka korijenom ne može usvojiti.

Mikorizne gljive imaju veliku ulogu u zaštiti biljke domaćina. Između ostalog, gljive služe kao barijera. Sprječavaju napade patogena i infekcije. Gljive proizvode antibiotike i time sprječavaju rast patogena. Kod vinove loze koja je mikorizirana zapažena je bolja obrambena reakcija na pepelnicu (lat. *Uncinula necator*) – (*Erysiphe* necator) i manja je pojava bolesti korijena (*Armillaria sp., Fusarium, Phytophthora*). Osim toga, gljive štite biljku od teških metala, otrovnih tvari i povećane kiselosti tla.

3. Materijali i metode

3.1 Pokusni vinograd

Vinogradarsko-vinarsko pokušalište Jazbina smješteno je u sjeverozapadnom dijelu Hrvatske, na obroncima Medvednice, točnije na brijegu Biskupov čret i pripada Zagrebačkom vinogorju koje je dio vinogradarske podregije Prigorje-Bilogora. Cijeli kompleks okrenut je jugu i jugozapadu što ga čini izuzetno prikladnim za vinogradarsku proizvodnju. Jazbina je pod utjecajem umjerene kontinentalne klime koju karakteriziraju topla i vlažna ljeta te hladne zime. Osim u proizvodne, pokušalište Jazbina koristi se i u edukacijske i znanstveno istraživačke svrhe.

Pokušalište Jazbina zauzima oko 25 ha površine. Od toga se 8 ha koristi za proizvodnju vinskog grožđa, 0,1 ha za proizvodnju stolnog grožđa, 0,3 ha zauzima kolekcijski nasad te 0,2 ha zauzimaju međuvrsni križanci. Osim proizvodnih površina, na pokušalištu se nalaze i veliki i mali eksperimentalni podrum. Nadmorska visina vinograda varira od oko 200 pa do gotovo 300 m. Nagib terena je umjeren. Nagib najstrmijih dijelova je 30%, a prosječan nagib je oko 16% (Dolanjski i Stričević, 1996).

3.2 Tlo pokusnog vinograda

Jazbinsko tlo svrstava se u antropogeni pseudoglej na podlozi pliocenskih glina i pleistocenskih ilovina. Prosječna pH vrijednost tla je iznosi 6,08, a mogući razlog tome je agromelioracijska mjera kalcifikacije provedena u svrhu smanjenja kiselosti tla (Bažon, 2011). Sadržaj humusa relativno je nizak, dok je na dubini od 160 cm povišen što se pripisuje ravnanju terena. Na strmom reljefu tlo je sklono eroziji. Pseudoglej je tipičan za humidnu klimu koju karakterizira sušno ljeto i jesensko-zimsko-proljetni vlažni period. To su tla plitkog aktivnog profila s nepovoljnim zračnim, vodnim i toplinskim svojstvima i stoga su uglavnom manje plodna. Tlo Jazbine je porozno. Sadržaj pora kreće se od 45 do 60%. Kapacitet tla kreće se od 35 do 45% pa ga možemo okarakterizirati kao osrednjeg. Zbog nepropusnosti gornjeg sloja, oborine se u kišnom dijelu godine ne procjeđuju i zbog toga dolazi do istiskivanja zraka iz tla i prekomjernog vlaženja tla. Iz istog razloga, tijekom ljetnih mjeseci kada nedostaje oborina, tlo se suši jer plitak aktivni profil tla nije u stanju zadržati dovoljne količine vlage (Škorić, 1986). Promjenu fizikalnih i kemijskih svojstava tla kao i položaj horizonata tla uzrokovale su fertilizacija, obrada tla i hidro i agromelioracijski zahvati. Uslijed tih promjena, tlo poprima antropogeni i homogeni karakter koji je povoljan za uzgoj vinove loze.

3.3 Klima

Dva najvažnija faktora za uzgoj vinove loze su klima i tlo. Za uspješnu i rentabilnu proizvodnju, važna su četiri klimatska faktora, a to su svjetlost, toplina, oborine i vjetrovi (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008). Područje uzgoja vinove loze prostire se između 25 i

52° sjeverne zemljopisne širine i između 30 i 45° južne zemljopisne širine, odnosno u umjerenom klimatskom pojasu koji se specifičan zbog četiri godišnja doba koja se ciklički izmjenjuju i omogućavaju vinovoj lozi pravilnu provedbu fenofaza koje čine njen godišnji biološki ciklus.

Pokusni vinograd na pokušalištu Jazbina pod utjecajem je umjerene kontinentalne klime. Ljeta su topla i vlažna, a zime oštre. Za prikaz klimatskih prilika korišteni su podaci Državnog hidrometeorološkog zavoda, hidrometeorološke postaje Zagreb - Maksimir za 2017. godinu.

3.3.1 Temperatura

Toplina je u životnom ciklusu svake biljke, pa tako i vinove loze izuzetno važan čimbenik. Životne funkcije i faze rasta i razvoja mogu se odvijati samo uz povoljnu količinu topline. Područja sa srednjom godišnjom temperaturom između 10 i 20 °C povoljna su za uzgoj vinove loze (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008). Temperatura od 10 °C naziva se biološkom nulom. Dok temperatura ne dosegne 10 °C nema vidljive životne aktivnosti vinove loze. Za praćenje određenih fenofaza, ali i za postizanje pune zrelosti potrebna je određena suma aktivnih i efektivnih temperatura.

Srednja dnevna temperatura vrlo je važna za početak svake fenofaze. Za kretanje vegetacije najpovoljnija srednja dnevna temperatura iznosi od 10 do 12 °C, a za cvatnju i oplodnju optimum je 20 do 30°C. U slučaju spuštanja temperature ispod 15 °C tijekom fenofaze cvatnje i oplodnje dolazi do njenog usporavanja ili čak prestanka. Temperatura od 25 do 35 °C potrebna je za intenzivan rast mladica i oblikovanje pupova, a za dozrijevanje grožđa optimalna temperatura je od 20 do 25 °C. U slučaju pada temperature ispod 18 °C dozrijevanje je usporeno. Suma temperatura u našim krajevima kreće se od 3560 do 4580 °C. Za visoki prirod i visoku kakvoću, suma temperatura mora se kretati između 3200 i 4000 °C (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008).

Dobra kvaliteta grožđa u sjevernim vinogradarskim krajevima, u kojima je proveden ovaj pokus, postiže se pri srednjoj godišnjoj temperaturi od 10 do 12 °C. Najniža srednja godišnja temperatura ne smije pasti ispod 8 °C. Srednja dnevna temperatura od 18 do 20 °C pogodna je za optimalni prinos i kakvoću, a njezina najniža vrijednost ne bi smjela iznositi manje od 16 °C (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008).

Ekstremno visoke i niske temperature uzrokuju zastoj u rastu i razvoju, a ponekad mogu dovesti i do oštećenja pojedinih organa, a samim time i do gubitka prinosa. Visoke temperature tijekom vegetacije mogu uzrokovati opekline na lišću, mladicama i bobicama. Prirodni rast i razvoj odvija se do 38 °C. Ako temperatura prijeđe tu vrijednost, dolazi do zastoja u rastu mladica i do oštećenja. Visoke temperature osim oštećenja uzrokuju i suše što utječe na prinos. U našim se krajevima češće pojavljuju oštećenja vinove loze zbog niskih temperatura. Najosjetljiviji je cvat koji strada pri 0 °C. Mladice i lišće stradaju pri temperaturi od -2 °C, nabubrjeli pupovi na -3 °C. Pupovi tijekom zimskog

mirovanja otporniji su na niske temperature i mogu izdržati od -15 do -18 °C. Najotporniji na niske temperature su rozgva koja podnosi od -22 do -25 °C i staro drvo -24 do -26 °C. Mladi korijen strada na -5 °C, a cijeli korijenov sustav na -8 °C. Osjetljivost na niske temperature nije jednaka kod svakog kultivara. Otpornost na niske temperature ovisi o starosti trsa, o svojstvima kultivara, bujnosti vegetacije, stupnju dozrelosti rozgve, o vremenu reza, položaju, ishrani i dr. (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008).

Tablica 1 Srednje mjesečne temperature zraka, Zagreb-Maksimir, 2017. godina (°C)

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

Tablica 1 prikazuje da je srednja godišnja temperatura za 2017. godinu iznosila 12,6 °C, a srednja vegetacijska temperatura je iznosila 18,2 °C. Iako nisu idealne, te su temperature bile zadovoljavajuće za rast i razvoj vinove loze. Srpanj je bio najtopliji mjesec i njegova srednja temperatura iznosila je 24 °C, dok je najhladniji mjesec bio siječanj čija je srednja dnevna temperatura iznosila -3,2 °C.

3.3.2 Svjetlost

Svjetlost ima izrazitu važnost tijekom cijele godine. Važna je jer omogućava fotosintezu. Pri dovoljnoj količini svjetlosti sve se faze razvoja odvijaju pravilno, dok se pri nedovoljnoj količini svjetlosti na trsu razvijaju manji listovi, internodiji su izduženi, mladice ostaju tanke i etiolirane, cvatovi se slabo razvijaju, grožđe lošije dozrijeva te se diferencira manji broj rodnih pupova. Količina svjetlosti izražava se zbrojem sati sijanja sunca tijekom vegetacije (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008).

Za vinovu lozu najvažnija je izravna sunčeva svjetlost, ali se koristi i difuznom i reflektirajućom svjetlosti. Ukupna količina svjetlosti koja dopire do vinove loze ovisi o geografskoj širini, nadmorskoj visini, inklinaciji, ekspoziciji, blizini većih vodenih površina itd. Količina i jačina svjetla u samom vinogradu ovisi o razmaku sadnje, smjeru pružanja redova, rezu, načinu uzgoja i o drugim čimbenicima. Potreban broj sunčanih sati tijekom

vegetacije za uspješan uzgoj vinove loze varira od 1500 do 2500 sati. Također, potrebno je oko 150 do 170 vedrih i mješovitih dana (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008).

Tablica 2 Mjesečna insolacija, Zagreb-Maksimir, travanj-listopad 2017. godina (sati)

Mjesec	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.
Mjesečna insolacija	187,8	282,8	302,6	327,2	320,4	114,6	187,5
Insolacija vegetacijskog perioda				1722,9			

Tablica 2 prikazuje da je broj sati sijanja sunca u vegetacijskom periodu 2017. godine iznosio 1722,9 sati. Tim brojem sati postignuta je zadovoljavajuća inoslacija za uspješan uzgoj vinove loze. Mjesec sa najvećim brojem sati sijanja sunca bio je srpanj sa 327,2 sunčana sata, mjesec sa najmanjim brojem sati sijanja sunca bio je rujan sa 114,6 sunčanih sati.

3.3.3 Oborine

Uz toplinu i svjetlost, vlaga ima vrlo važan utjecaj na rast i razvoj vinove loze. Vlaga obuhvaća sve vrste oborina, bilo u obliku kiše, snijega, rose i dr. Prevelika količina vlage, ali i njezin nedostatak, negativno se odražavaju na razvoj trsa te na količinu i kvalitetu grožđa. Potrebnom količinom vode za normalan razvoj loza se opskrbljuje uglavnom putem korijena iz tla. Svaka faza u razvoju ima različite potrebe za vlagom. Najveća je količina vlage potrebna u početku vegetacije za intenzivan rast mladica, te kasnije za porast bobica. Višak vlage može biti štetan u fazi cvatnje i oplodnje te u fazi dozrijavanja. Količina vode potrebna vinovoj lozi tijekom vegetacije ovisi o kultivaru, gustoći sadnje, načinu uzgoja, značajkama tla i dr. (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008).

Najpovoljnija količina oborina tijekom godine iznosi od 600 do 800 mm. Najniža količina iznosi od 300 do 350 mm. Nije samo važna količina oborina, vrlo je važan i njen raspored. Velike količine oborina tijekom cvatnje ometaju cvatnju i oplodnju, a u fazi dozrijevanja uzrokuju pucanje bobica, što omogućava razvoj plijesni, a time se smanjuje prirod i kakvoća grožđa. Osim količine oborina, vrlo važan čimbenik je i oblik oborina. Kiša umjerene jačine najbolji je oblik. Jake kiše su štetan oblik jer lome mladice i grožđe i uzrokuju erozijske procese. Snijeg je povoljan jer povećava pričuve vlage u tlu i djeluje kao regulator temperature te sprječava štetan utjecaj niskih temperatura. Osim jake kiše, nepovoljni oblici oborina su tuča, magla i rosa (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008).

Tablica 3 Ukupne mjesečne količine oborina, Zagreb-Maksimir, 2017. godina (mm)

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

Tablica 3 prikazuje da ukupna godišnja količina oborina za 2017. godinu iznosi 897 mm. Ukupna vegetacijska količina oborina iznosi 596 mm. Možemo uočiti da je količina oborina u optimalnoj vrijednosti za rast i razvoj vinove loze. Raspored oborina isto kao i količina bio je optimalan. Jedino se negativno izdvaja mjesec rujan s velikim količinama oborina. Rujan je ujedno i mjesec s najvećom količinom oborina u 2017. godini.

3.3.4 Vjetrovi

Vjetar je klimatski čimbenik koji može na uzgoj loze utjecati i povoljno i nepovoljno. O njegovom utjecaju ovisi njegova jačina, svojstva i vrijeme pojave. Lagani i umjereni vjetrovi povoljno utječu na rast i razvoj vinove loze. Oni pomažu pri oprašivanju i oplodnji, isušuju rosu s lišća, sprječavaju pojavu kasnih proljetnih mrazova i dr. Suhi i topli vjetrovi u fazi cvatnje i oplodnje nepovoljni su jer isušuju njušku tučka i onemogućavaju oplodnju. Jaki vjetrovi izrazito su nepovoljni jer uzrokuju lom mladica i grožđa, sprječavaju oplodnju, isušuju tlo, naglo snižavaju temperaturu i dr. (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008). Vjetrovi u sjeverozapadnom području uglavnom imaju pozitivan utjecaj na vinovu lozu jer ju štite od mraza, isušuju lozu i pomažu pri oprašivanju.

3.4 Sorta ´Cabernet sauvignon´

´Cabernet sauvignon´ vrlo je stara i svjetski poznata sorta koja se uzgaja u gotovo svim vinogradarskim područjima na svijetu. U svijetu ju možemo naći pod raznim imenima, a neka od njih su Petit vidure, Petit cabernet, Bordeaux, Carbonet i dr. Često ga se u nazivu miješa s Cabernet francom. ´Cabernet sauvignon´ potječe iz jugozapadne Francuske, iz regije Bordeaux. Nastao je spontanim križanjem Cabernet franca i Sauvignona bijelog. Iako zahtjeva svjetlost i toplinu, rasprostranjen je i u hladnijim područjima. Najviše ga ima na jugozapadu i jugoistoku Francuske. Što se tiče drugih europskih zemalja, najveće površine pod Cabernet sauvignonom imaju Bugarska,

Rumunjska i Moldavija. Vodeća je sorta u Kaliforniji, Čileu, Australiji, Argentini i Južnoafričkoj Republici. U Hrvatskoj se uzgaja u svim područjima, a preporučena je za gotovo sve vinogradarske podregije (Maletić i sur., 2015).

Vrh mladice Cabernet sauvignona otvoren je i vunasto dlakav s crvenkastim rubovima. Mladica je zelena, rebrasta. Mladi listići su slabije dlakavi, sjajni i brončano crveni. List je srednje velik, mjehurast, tamnozelen, peterodjelan. Postrani sinusi su duboko urezani, a na vrhu su zatvoreni. Sinus peteljke u obliku je lire, blago preklopljen. Rub plojke oštro je nazubljen. Naličje je paučinasto do vunasto dlakavo s čekinjastim dlačicama na nervaturi. Cvijet je morfološki i funkcionalno hermafroditan. Grozd je mali do srednji, srednje zbijen, piramidalan. Bobice su male i okrugle s debelom kožicom tamno modre boje i obilnim maškom (Maletić i sur., 2015).

´Cabernet sauvignon´ je sorta koja dozrijeva u III. razdoblju. Srednje je bujna do bujna sorta. Otporan je na niske zimske temperature, a kasne proljetne mrazove najčešće izbjegava zbog kasnijeg kretanja vegetacije. Srednje je osjetljiv prema pepelnici i plamenjači, dok je nešto otporniji prema *Botrytisu*. Srednje je rodnosti, ali postoje i klonovi koji su umjereno visokih prinosa. Najčešći prinos je 7 do 10 t/ha. U toplijim područjima kakvoća je izvrsna. ´Cabernet sauvignon´ jedna je od najkvalitetnijih svjetskih sorata. Šećeri su visoki, 18 do 25 ° B, a kiselost je zadovoljavajuća 5 do 7 g/l. Intenzitet boje i mirisa vrlo je visok (Maletić i sur., 2015).

Vina ove sorte intenzivne su, duboke i zagasite rubinskocrvene boje. Miris je intenzivan i karakterističan za uzgojno područje te varira od cvjetnih, preko voćnih mirisa, zatim prezrelog i kandiranog voća, pa do začinskih mirisa. Na okus su najčešće vrlo bogata, puna, jaka i skladna, s vrlo velikim potencijalom starenja. Razlog tome je visok sadržaj tanina u kožici, stoga ova vina zahtijevaju duže razdoblje dozrijevanja. Kao mlada su izrazito astringentna i neskladna. Zbog svojih se svojstava najčešće kupažiraju s drugim „mekšim“ sortama kao što su Merlot, Cabernet franc, Malbec i Petit verdot (Maletić i sur., 2015).

3.5 Podloga *Vitis berlandieri* x *Vitis riparia* SO4

´Cabernet sauvignon´ na pokušalištu Jazbina na kojem je proveden ovaj pokus nacijepljen je na podlogu *Vitis berlandieri x Vitis riparia* SO4. Ova se podloga još može naći pod nazivima *Berlandieri x Riparia* selekcija Oppenheim 4, selekcija Oppenheim 4, Oppenheim 4, SO4. Ovaj je križanac selekcioniran u vinogradarskoj školi Oppenheim iz populacije *Vitis berlandieri x Vitis riparia* Teleki 4B. Ova je podloga zbog svojih karakteristika rasprostranjena gotovo svugdje u svijetu. Podloga SO4 selekcionirana je na raniju dob dozrijevanja drva. Dospijeva do 15 dana ranije u odnosu na podlogu 5BB što je vrlo značajno za sjeverne vinogradarske krajeve. To svojstvo prenosi i na plemku, što znači da utječe na ranije dozrijevanja grožđa i trs ranije ulazi u fazu mirovanja. Vrlo je dobro otporna na vapno. Podnosi 40 do 45 % ukupnog i 17 do 18 % fiziološki aktivnog

vapna. Otporna je na filokseru, dobro se ukorjenjuje i ima dobar afinitet s kultivarima *V. vinifera*. Preporučuje se za bolja vinogradarska tla. Visoko je otporna na nematode. Vinogradari ju često koriste zbog njenog utjecaja na nakupljanje šećera bez promjene koncentracije ukupnih kiselina u moštu (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008).

3.6 Plan pokusa

Ovaj je pokus proveden 2017. godine na VVP-Jazbina u sklopu Agronomskog fakulteta u svrhu utvrđivanja utjecaja ektomikoriznog cjepiva na prinos i kakvoću grožđa sorte ´Cabernet sauvignon´. Cjepivo je aplicirano 2012. godine na 40 trsova sorte ´Cabernet sauvignon´. Na isti broj trsova cjepivo nije bilo aplicirano i ti trsovi su služili kao kontrola.

Za ovaj pokus korišteno je cjepivo čiji je komercijalni naziv „Mykoflor“. Cjepivo proizvodi tvrtka Bio-budućnost d.o.o. Navedeno cjepivo je suspenzija živog ektomikoriznog micelija u obliku gela. Cjepivo sadrži različite rodove gljiva koji su izolirani s korijena vinove loze iz prirodnih staništa Hrvatske. Kada je proces izolacije završen, gljive su podvrgnute čišćenju i razmnožavanju u laboratorijskim uvjetima. Kada se gljive razmnože testiraju se na biljkama, a najbolje od njih idu u komercijalnu proizvodnju. U ovom pokusu, cjepivo je pomoću ručnog zemljišnog injektora aplicirano u zonu korijena. Za cijeli životni vijek biljke dovoljna je jedna aplikacija cjepiva.

U trenutku pune zrelosti grožđe je pobrano sa svih pokusnih trsova. Grožđe je zatim odneseno u laboratorij gdje su izmjereni prosječna masa grozda i prinos po trsu. Prosječan uzorak grozdova izdvojen je za mehaničke analize. Analiza je provedena na 10 grozdova, odnosno 100 bobica, u vrijeme pune zrelosti. Svakom je grozdu posebno izbrojeno 10 bobica i odvojeno od peteljkovine. Nakon toga mjerena je masa bobica i masa peteljkovine. Od cjelokupnog uzorka uzeto je 100 bobica s kojih je odvojena kožica, meso i sjemenke. Dio grožđa odmah je prerađen i iskorišten za analizu sadržaja šećera i ukupne kiselosti. Sadržaj šećera i ukupnih kiselina određen je prema metodama O.I.V.-a (2001). Pojedinačni fenolni spojevi određeni su tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti (HPLC) po metodi Tomaz i Maslov (2016).

3.7 Uvometrijska analiza grozda

Uvometrijskom se analizom određuju mjerljiva obilježja grozda i bobice. U mjerljiva obilježja spadaju veličina grozda, odnosno njegova dužina i širina, zatim masa grozda, broj bobica po grozdu i veličina bobica. Uvometrija se provodi u fazi pune zrelosti grožđa. Provodi se na reprezentativnom uzorku ne manjem od 10 grozdova i 100 bobica koji ne smiju biti oštećeni i moraju biti uzeti s trsova na točno propisan način (Maletić i sur., 2008).

3.8 Kemijska analiza

Po završetku uvometrijske i mehaničke analize, uzorak je podvrgnut kemijskoj analizi. U izmuljanom uzorku od 100 bobica izmjeren je sadržaj šećera i ukupna kiselost te pH. Kako bi se naknadno provele dodatne kemijske analize zamrznut je uzorak od 100 g bobica skupa sa još dva uzorka od 100 bobica.

3.8.1 Određivanje sadržaja šećera

Sadržaj šećera u moštu u ovom je pokusu mjeren fizikalnom metodom, odnosno pomoću refraktometra. Refraktometar je optički uređaj pomoću kojeg se određuje indeks loma svjetlosti kroz sloj mošta. Kut pod kojim se svjetlost lomi ovisi o gustoći mošta. Pogledom kroz refraktometar možemo uočiti svjetlo i tamno polje. Vrijednost koja je nama potrebna nalazi se na granici između ta dva polja i nju očitavamo.

3.8.2 Određivanje ukupne kiselosti

Kiselost izražavamo kao ukupnu (titracijska kiselost) i realnu (pH vrijednost). Ukupnu kiselost čine slobodne organske i neorganske kiseline. Najveći udio zauzimaju vinska i jabučna kiselina i njihove soli kao i druge kisele tvari koje se mogu titrirati bazom. Ukupna se kiselost može odrediti na dva načina, a to su metoda potenciometrijske titracije i metoda direktne titracije.

U ovom je pokusu ukupna kiselost određena metodom direktne titracije. Metoda je bazirana na nautralizaciji svih kiselih frakcija otopinom lužine. Ukupna se kiselost izračunava na osnovi utroška lužine (NaOH). Indikator je bromtimol pavi. Titracijska se kiselina izražava u g/l kao vinska kiselina.

Postupak direktne titracije je slijedeći: u laboratorijsku čašu se otpipetira 10 ml uzorka te se doda 2-3 kapi indikatora. Titraciju provodimo s 0,1 M NaOH dok se boja uzorka ne promijeni u maslinasto zelenu. Nakon pojave maslinasto zelene boje očitava se vrijednost utrošene lužine koja je izražena u ml. Vrijednost utrošene lužine pomnoži se s 0,75. Dobivena vrijednost označava koncentraciju ukupne kiselosti (g/l kao vinska kiselina).

3.8.3 Određivanje pH

Vrijednost pH je broj koji služi kao mjera kiselosti, odnosno lužnatosti vodenih otopina, a dobiva se kao negativan dekadski logaritam množinske koncentracije vodikovih iona u otopini. Dakle, pH vrijednost je u izravnoj vezi sa koncentracijom vodikovih iona u moštu ili vinu. pH vrijednost ovisi o stupnju disocijacije pojedinačnih organskih kiselina te koncentraciji kalijevih i natrijevih iona. Vinska kiselina disocira najjače. Jabučna kiselina disocira slabije od vinske, a ostale kiseline još slabije.

Vrijednost pH utječe na mnoge biokemijske i fizikalno-kemijske procese u moštu i vinu, a njena vrijednost u moštu i vinu kreće se između 2,8 i 4,0. Obzirom da su vina s nižom pH vrijednosti kiselija, u njima se teže razmnožavaju nepoželjni mikroorganizmi i ta su vina pogodnija za čuvanje. pH vrijednost mošta i vina određuje se pH-metrom.

3.8.4 Određivanje pojedinačnih organskih kiselina

Tehnološku vrijednost grožđa osim koncentracije šećera određuje i kiselost grožđa i mošta. Organske se kiseline izražavaju u g/l, a njeni najvažniji predstavnici su vinska, jabučna, limunska i jantarna kiselina. Razlike u koncentraciji kiselina čine njihov međusobni odnos. Taj se odnos može odrediti enzimski, metodom papir kromatografije i metodom tekućinske kromatografije. Odnos među kiselinama određuje sorta, položaj i klimatske prilike u fazi dozrijevanja. Koncentracija vinske kiseline varira od 3 do 10 g/l, a jabučne od 1 do 4 g/l.

Organske su kiseline u ovom pokusu određene tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti (engl. *High performance liquid Chromatography* HPLC). Analiza je provedena uz izokratno eluiranje pri protoku od 0,6 ml/min, temperaturu od 65 °C i detekciju pri 210 nm. Korištena kolona bila je kationski izmjenjivač Aminex HPX-87H 300 x 7,8 mm i.d. (Bio-Rad Labaratories, Hercules, CA), dok je kao mobilna faza korištena 0,0065 %-tna vodena otopina fosforne kiseline.

3.8.5 Određivanje sadržaja pojedinačnih polifenola

Polifenoli su organski spojevi karakteristične građe koji se u grožđu nalaze u različitim oblicima. Iz grožđa dospijevaju u mošt i vino. Uglavnom dolaze iz peteljke i sjemenke, dok ih u kožici i soku ima u manjoj količini. Njihova ekstrakcija ovisi o načinu prerade grožđa. Polifenoli utječu na boju, okus i miris vina, ali i na stabilnost i čuvanje vina. Osim toga, polifenoli imaju izrazitu antioksidativnu aktivnot koja utječe na zdravlje čovjeka. Njihova koncentracija u grožđu varira ovisno o sorti, klimatskim uvjetima tijekom dozrijevanja te o ampelotehnici i agrotehnici. Polifenole dijelimo na neflavonoide i flavonoide. U neflavonoide spadaju stilbeni i fenolne kiseline, a u flavonoide flavonoli, flavanonoli, antocijani i flavan-3-oli.

Ekstrakcija kožice bobice izvodi se na način da kožicu odvajamo od mesa bobice dok je još zamrznuta i nakon toga ju ostavljamo da se odmrzne. Kada se odmrznu, kožice se suše i nakon toga se usitnjavaju. Na uzorak od 125 mg dodaje se 10 mL ekstrakcijskog otapala. Smjesa se stavlja na magnetsku miješalicu pri temperaturi od 50 °C. Postupak miješanja traje 60 minuta. Nakon miješanja, smjesa se centrifugira. Supernatant se odvaja i prebacuje u odmjernu tikvicu te se puni otapalom do oznake. Otopina se filtrira i provodi se HPLC analiza.

Nakon ekstrakcije kožice slijedi ekstrakcija sjemenki. Postupak je gotovo identičan. Sjemenke se ekstrahiraju u smrznutom stanju te se nakon toga odmrzavaju i suše. Osušene sjemenke se usitnjavaju. Na uzorak od 125 mg dodaje se 10 mL ekstrakcijskog otapala. Smjesa se stavlja na magnetsku miješalicu pri temperaturi od 50 °C. Postupak miješanja traje 120 minuta. Smjesa se centrifugira, supernatant se prebacuje u odmjernu tikvicu koja se nadopunjava otapalom. Nakon filtracije dobivene otopine provodi se HPLC analiza.

Kako bi se odredio sadržaj pojedinačnih polifenola iz ekstrakata dobivenih iz kožica i sjemenki korištena je HPLC metoda koju su opisale Tomaz i Maslov (2015.). Za potrebe pokusa korišten je HPLC instrument Agilent 1100 Series (Agilent, SAD). Odvajanje polifenola provedeno je na Phenomenex Luna Phenyl-hexyl koloni (250 x 4,6 mm,

Phenomenex, SAD) uz gradijentno eluiranje korištenjem 0,5% (v/v) vodene otopine fosforne kiseline (otapalo A), dok se kao otapalo B koristila otopina koja je sadržavala acetonitril:vodu:fosfornu kiselinu (50:49,5:0,5; v/v/v) s brzinom protoka od 0,9 mL/min. Analiza je provedena u slijedećim uvjetima: volumen ubrzanog protoka 20 µL i temperatura kolone 50 °C. Antocijani su određeni pri valnoj duljini od 518 nm, dok su flavonoli određeni pri valnoj duljini od 360 nm. Flavan-3-oli su određeni primjenom fluoresencijskog detektora pri λex = 225 nm i λem = 320 nm. Identifikacija pikova temeljena je na usporedbi vremena zadržavanja komponenti iz uzorka s vremenima zadržavanja te usporedbom s UV spektrima standarda. Za kvantifikaciju je korištena metoda vanjskog standarda.

Brzo određivanje polifenola iz grožđa radi se na slijedeći način: uzorku od 10 kožica dodaje se 20 mL ekstrakcijskog otapala. Dobivena se ekstrakcijska smjesa ostavlja na maceraciji 24 sata nakon čega se centrifugira, a dobiveni se supernatant odvaja i ide na daljnju analizu.

Koncentracija ukupnih polifenola u ovom je pokusu određena Folin-Ciocalteu reagensom prema AOAC metodi (Amerine i Ough, 1988), a izraženi su u mg/kg galne kiseline.

3.9 Statistička obrada podataka

Dobiveni rezultati obrađeni su uz pomoć statističkog softvera SAS 9.1. 3. Service Pack 4. (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.). Statističku obradu podataka činila je analiza varijance (ANOVA). Usporedba srednjih vrijednosti između mikoriziranih i nemikoriziranih varijanti provedena je Bonferronijevim t testom.

4. Rezultati i rasprava

4.1 Rezultati uvometrijskih analiza

U vinogradarskoj je proizvodnji rentabilnost vrlo bitna. Iz tog je razloga prinos jedan od najvažnijih čimbenika u proizvodnji. Na prinos osim same sorte i njenih karakteristika utječu i okolinski uvjeti, ali i agrotehnički i ampelotehnički zahvati. Poznato je da veći prinos utječe na smanjenje kvalitete, no unatoč tome, proizvođač cjepiva navodi da će ono imati pozitivan utjecaj na prinos, ali i kakvoću grožđa.

Tablica 4 Uvometrijski parametri, ´Cabernet sauvignon´, 2017. godina

´Cabernet sauvignon´	Kontrola	Mikoriza	Signifikantnost
Prinos po trsu (g)	676,7 b	1443,3 a	*
Broj grozdova po trsu	9,4 b	16,5 a	*
Prosječna masa grozda (g)	70,9 b	85,5 a	*
Prosječna masa bobice (g)	1,22 a	1,09 b	*

* i ns označavaju signifikantnu razliku, odnosno da nema razlike kod p=0,05

vrijednosti označene različitim slovima su signifikantno različite

Tablica 4 prikazuje da je prinos po trsu (g) znatno veći kod trsova podvrgnutih ektomikoriznom cjepivu nego kod kontrolnih trsova. U kontroli je prinos po trsu iznosio 676,7 g dok je kod mikorize prinos bio 1443,3 g. Broj grozdova također je bio veći kod mikoriziranih trsova (16,5) nego kod kontrolinih trsova (9,4). Mikorizirani trsovi dali su grozdove veće prosječne mase (85,5 g) od nemikoriziranih (70,9 g). Od uvometrijskih parametara jedino je prosječna masa bobice manja kod mikorize (1,09 g) nego kod kontrolnih trsova (1,22 g).

Obzirom da mikoriza putem micelija uvelike doprinosi unosu vode i hranjiva dobiveni rezultati nisu začuđujući, može se reći i da su očekivani. Možemo zaključiti da je primjena ektomikoriznog cjepiva u 2017. godini utjecala na povećanje prinosa po trsu, broja grozdova po trsu i na prosječnu masu grozda.

4.2 Sadržaj šećera, koncentracija ukupne kiselosti i pH

Glavni sastojci koji čine mošt su voda, šećeri, kiseline, fenolni spojevi, sastojci arome, minerali i spojevi s dušikom. Glukoza i fruktoza kao glavni šećeri u grožđu zauzimaju 95% ukupnih šećera. Količina šećera u grožđu ovisi o sorti, zdravstvenom stanju grožđa i stupnju zrelosti. Uz šećere, i kiselost je svojstvo koje određuje kvalitetu grožđa. razina kiselosti varira tijekom dozrijevanja. Razina kiselosti raste do fenofaze šare, a nakon nje opada. To se događa zahvaljujući padu koncentracije jabučne kiseline. Koncentracija vinske kiseline ostaje gotovo nepromijenjena.

Tablica 5 Sadržaj šećera, ukupna kiselost i pH, ´Cabernet sauvignon´, 2017. godina

´Cabernet sauvignon´	Kontrola	Mikoriza	Signifikantnost
Sadržaj šećera (Oe°)	104,7 a	95,7 b	*
Ukupna kiselost (g/L)	6,6 a	6,4 b	*
pH	3,21 a	3,19 b	*

* i ns označavaju signifikantnu razliku, odnosno da nema razlike kod p=0,05

vrijednosti označene različitim slovima su signifikantno različite

Tablica 5 prikazuje da je sadržaj šećera kod mikoriziranih trsova (97,5 °Oe) signifikantno manji nego kod kontrolnih trsova (104,7 °Oe). Mikoriza utječe na usvajanje kalija koji je glavni element za postizanje visoke kakvoće i ima veliku ulogu u sintezi ugljikohidrata. Ako uzmemo u obzir da je prinos kod mikoriziranih trsova bio više nego duplo veći u odnosu na kontrolne trsove, te da su prinos i sadržaj šećera u obrnuto proporcionalnom odnosu, onda je rezultat sasvim očekivan i opravdan.

Ukupna je kiselost isto kao i sadržaj šećera nešto viša kod kontrolnih trsova (6,6 g/l) u odnosu na mikorizirane (6,4 g/l). To se može objasniti nešto sporijim dozrijevanjem i razgradnjom organskih kiselina kod mikoriziranih trsova zbog znatno višeg prinosa. Ukupna je kiselost očekivana i unutar graničnih vrijednosti.

I pH vrijednost je kod mikoriziranih trsova (3,19) niža nego kod kontrolnih trsova (3,21). pH je niži zbog više koncentracije vinske kiseline koja od svih kiselina u grožđu najjače disocira i time snižava pH.

Klimatski, 2017. godina bila je povoljna za vinogradarsku proizvodnju. Iz tog razloga možemo zaključiti da je na smanjenje sadržaja šećera, ukupne kiselosti i pH utjecaj imala mikoriza.

4.3 Sadržaj pojedinačnih organskih kiselina

Tri osnovne organske kiseline u grožđu su vinska, jabučna i limunska. Njihov sadržaj ovisi o klimatskim uvjetima i sastavu tla. Najveći utjecaj na kiselost mošta imaju vinska i jabučna kiselina. Ako dođe do promjene njihovog sadržaja, dolazi i do promjene u kiselosti mošta.

Vinska kiselina je najjača kiselina u moštu i vinu i zbog toga najviše utječe na pH vrijednost. Koncentracija vinske kiseline u zrelom grožđu kreće se od 1 do 7 g/L. Koncentracija jabučne kiseline ovisi o kultivaru, stupnju zrelosti grožđa i klimatskim uvjetima. Njena koncentracija kreće se od 1 do 4 g/L. Jabučna je kiselina zastupljenija u grožđu u ranijoj fazi dozrijevanja, ali njezina koncentracija naglo pada, te je u zrelom grožđu vinska kiselina zastupljenija od jabučne. Limunska kiselina je u grožđu zastupljena u niskim koncentracijama, od 100 do 300 mg/L.

Tablica 6 Sadržaj pojedinačnih organskih kiselina, ´Cabernet sauvignon´, 2017. godina

´Cabernet sauvignon´	Kontrola	Mikoriza	Signifikantnost
Vinska kiselina (g/L)	4,3 b	5,1 a	*
Jabučna kiselina (g/L)	0,7 b	0,8 a	*
Limunska kiselina (g/L)	0,1	0,1	ns

* i ns označavaju signifikantnu razliku, odnosno da nema razlike kod p=0,05

vrijednosti označene različitim slovima su signifikantno različite

Tablica 6 prikazuje da su mikorizirani trsovi imali veći sadržaj vinske kiseline u punoj zrelosti (5,1 g/L) u odnosu na kontrolne trosve (4,3 g/L). Jabučna kiselina je također bila viša kod mikoriziranih trsova (0,8 g/L) nego kod kontrolnih trsova (0,7 g/L). Limunska je kiselina ostala nepromijenjena, njena koncentracija bila je jednaka i kod mikoriziranih trsova i u kontroli (0,1 g/L).

Dobiveni rezultati ukazuju na to da je 2017. godine mikoriza utjecala na povećanje vinske i jabučne kiseline, dok na limunsku kiselinu nije imala utjecaj.

4.4 Sadržaj antocijana

Antocijani su pigmenti koji spadaju u skupinu flavonoida. Najčešće se pojavljuju u kožici grožđa, ali se mogu nalaziti i u mesu bobice. Antocijani se javljaju u obliku monoglikozida. Sorte kod kojih se antocijani nalaze u mesu bobice nazivaju se bojadiseri. Antocijani u najvećoj mjeri određuju boju crnih vina. Njihova koncentracija varira ovisno

o sorti i ekološkim uvjetima. Boja antocijana ovisi o pH vrijednosti. Zbog toga su crna vina različitih nijansi. Najzastupljeniji među antocijanima sa 50 do 90% je malvidin-3-*O*-glukozid. Antocijani u obliku monoglikozida su delfinidin-3-*O*-glukozid, cijanidin-3-*O*-glukozid, petunidin-3-*O*-glukozid, peonidin-3-*O*-glukozid i malvidin-3-*O*-glukozid.

Tablica 7 Sadržaj pojedinačnih i ukupnih antocijana (mg/kg), ´Cabernet sauvignon´, 2017. godina

´Cabernet sauvignon´	Kontrola	Mikoriza	Signifikantnost
Delfinidin-3-*O*-glukozid	3144,0 b	7323,0 a	*
Cijanidin-3-*O*-glukozid	284,2	258,9	ns
Petunidin-3-*O*-glukozid	1089,6	1605,3	ns
Peonidin-3-*O*-glukozid	408,1	399,5	ns
Malvidin-3-*O*-glukozid	10053,0	15635,0	ns
Ukupni antocijani	14979,0 b	25222,0 a	*

* i ns označavaju signifikantnu razliku, odnosno da nema razlike kod p=0,05

vrijednosti označene različitim slovima su signifikantno različite

Tablica 7 prikazuje da je jedino kod delfinidin-3-*O*-glukozida došlo do signifikantne promjene, do značajnog povećanja koncentracije uslijed tretiranja ektomikoriznim cjepivom. Shodno tome, kod mikoriziranih trsova došlo je i do povećanja ukupnih antocijana. Razlog vjerojatno leži u činjenici da su se kod mikoriziranih trsova grozdovi sastojali od većeg broja manjih bobica, pa je kod njih bio veći omjer kožice u odnosu na meso. Budući da su antocijani locirani u kožici bobice, to je dovelo do povećanja njihove koncentracije. Možemo zaključiti da je mikoriza imala pozitivan utjecaj na prosječan sadržaj ukupnih antocijana i delfinidin-3-*O*-glukozida.

4.5 Sadržaj flavonola

Kao i antocijani, i flavonoli spadaju u skupinu flavonoida. Flavonoli su žuti pigmenti, koji određuju boju bijelih vina. I oni, kao i antocijani imaju pozitivan učinak na ljudsko zdravlje. Nalaze se u kožici bobice i djeluju kao UV zaštitna tvar. Javljaju se u glikozidnom obliku. Glavni predstavnici su kvercetin, kempferol i miricetin. Njihov se sadržaj kreće od 1 do 80 mg/kg.

Tablica 8 Sadržaj flavonola (mg/kg), ´Cabernet sauvignon´, 2017. godina

´Cabernet sauvignon´	Kontrola	Mikoriza	Signifikantnost
Miricetin	420,6	519,8	ns
Kvercetin-glukuronid	100,3	119,2	ns
Kvercetin-glukozid	783,6	1005,3	ns
Kempferol	128,8	132,8	ns
Isorhamnetin	44,0	57,1	ns
Ukupni flavonoli	1477,5	1834,2	ns

* i ns označavaju signifikantnu razliku, odnosno da nema razlike kod p=0,05

vrijednosti označene različitim slovima su signifikantno različite

Tablica 8 prikazuje da nije došlo do značajnih promjena u sadržaju flavonola kod mikoriziranih trsova u odnosu na kontrolne. Bez obzira na statističku opravdanost ipak se može primijetiti da su koncentracije svih flavanola veće u mikorizi, što se opet može povezati s manjim bobicama, s obzirom da su flavanoli smješteni uglavnom u kožici. Prema dobivenim rezultatima možemo zaključiti da u 2017. godini mikoriza nije imala značajan utjecaj na sadržaj flavonola sorte ´Cabernet sauvignon´.

4.6 Sadržaj flavan-3-ola

Flavan-3-oli su kao i antocijani i flavonoli predstavnici skupine flavonoida. Dva glavna predstavnika flavan-3-ola su katehin i epikatehin. Najviše flavan-3-ola ima u kožici bobice, ali možemo ih naći i u sjemenci i peteljci. Koncentracija katehina u moštu i vinu može varirati od 5 do 100 mg/kg.

Tablica 9 Sadržaj flavan-3-ola (mg/kg), ´Cabernet sauvignon´, 2017. godina

´Cabernet sauvignon´	Kontrola	Mikoriza	Signifikantnost
Procijanidin b1	8,5 b	15,6 a	*
Epigalokatehin	52,9	77,5	ns
Katehin	36,5 b	63,3 a	*
Procijanidin b2	31,1 b	33,8 a	*
Epikatehin	18,3	25,9	ns
Ukupni flavan-3-oli	147,4 b	216,1 a	*

* i ns označavaju signifikantnu razliku, odnosno da nema razlike kod p=0,05

vrijednosti označene različitim slovima su signifikantno različite

Tablica 9 prikazuje da je mikoriza pozitivno utjecala na procijanidin b1, katehin, procijanidin b2 jer su njihove koncentracije bile veće na mikoriziranim trsovima nego na kontrolnim. Sukladno tome, povećana je i koncentracija ukupnih flavan-3-ola. Koncentracije epikatehina i epigalokatehina također su veće, no nedovoljno da bi te razlike bile signifikantne. Ukupni flavan-3-oli kod mikoriziranih trsova iznosili su 216,1 mg/kg, a kod kontrolnih trsova 147,4 mg/kg. I oni su smješteni uglavnom u kožici i sjemenci bobice, tako da se povećanje koncentracije opet može povezati s manjom bobicom. Možemo zaključiti da je mikoriza u 2017. godini utjecala na povećanje ukupnih flavan-3-ola, ali i na neke pojedinačne.

4.7 Sadržaj ukupnih polifenola

Već je navedeno da polifenole, između ostalog, čine antocijani, flavonoli i flavan-3-oli. Koncentracija ukupnih fenola veća je u grožđu nego u vinu. Ukupni polifenoli dobivaju se analizom kožice i sjemenke.

Tablica 10 Sadržaj ukupnih polifenola (mg/kg), ´Cabernet sauvignon´, 2017. godina

´Cabernet sauvignon´	Kontrola	Mikoriza	Signifikantnost
Ukupni polifenoli	16604,0 b	27272,0 a	*

* i ns označavaju signifikantnu razliku, odnosno da nema razlike kod p=0,05

vrijednosti označene različitim slovima su signifikantno različite

Tablica 10 prikazuje da su ukupni polifenoli kod mikoriziranih trsova (27272,0 mg/kg) veći nego kod kontrolnih trsova (16604,0 mg/kg). Na temelju prikazanih podataka

možemo zaključiti da je mikoriza 2017. godine utjecala na povećanje koncentracije ukupnih polifenola sorte ′Cabernet sauvignon′.

5. Zaključak

Na temelju rezultata dobivenih u istraživanju utjecaja ektomikorize na prinos i kakvoću grožđa sorte ´Cabernet sauvignon´ provedenog 2017. godine na vinogradarsko-vinarskom pokušalištu Jazbina možemo donijeti određene zaključke:

1. Mykoflor je utjecao na povećanje prinosa po trsu.
2. Mykoflor je utjecao na povećanje broja grozdova po trsu.
3. Mykoflor je utjecao na povećanje prosječne mase grozda.
4. Mykoflor je utjecao na smanjenje prosječne mase bobica.
5. Mykoflor je utjecao na smanjenje koncentracije šećera, na smanjenje ukupne kiselosti te na smanjenje pH.
6. Mykoflor je utjecao na povećanje koncentracije vinske i jabučne kiseline, dok na koncentraciju limunske kiseline nije imala signifikantan utjecaj.
7. Mykoflor je utjecao na koncentraciju ukupnih antocijana i flavan-3-ola, dok na koncentraciju flavonola nije imala signifikantan utjecaj.
8. Mykoflor je utjecao na povećanje koncentracije ukupnih polifenola.

Treba uzeti u obzir da se ovdje radi o rezultatima jednogodišnjeg istraživanja na jednoj sorti i na jednoj lokaciji, stoga rezultati ne mogu biti smatrani relevantnima. Kako bi ove rezultate potvrdili i mogli ih uzeti u obzir, potrebno je nastaviti s istraživanjima tijekom više godina na različitim lokacijama i na različitim sortama. Sa sigurnošću možemo donijeti samo jedan zaključak, a to je da Mykoflor u jednoj mjeri ima utjecaj na rast i razvoj vinove loze, kao i na kvalitetu i kemijski sastav grožđa.

6. Literatura

1. Amerine i Ough (1988). Methods for Analysis of musts and Wines, John Wiley & Sons Inc, Hoboken, NY USA.
2. Azcón-Aguilar C., Barea J. M. (1997). Applying mycorrhiza biotechnology to horticulture: significance and potentials. Scientia Horticulturae 68 (1997) 1-24.
3. Azcón-Aguilar C. i sur. (1996). Arbuscular mycorrhizal inoculation enhances plant growth and changes root system morphology in micropropagated Annona cherimola Mill, Agronomie, EDP Sciences, 16 (10), pp. 647-652.
4. Barea J. M. (1991). Vesicular-arbuscular mycorrhizae as modifiers of soil fertility. In: B.A. Stewart (Editor), Advances in Soil Science. Springer-Verlag, New York, pp. l-40.
5. Bažon I. (2011). Geokemijska karakterizacija i plodnost tala kao elementi terroir-a vinogradarskog položaja «Jazbina», Zagreb. Studentski rad, Agronomski fakultet, Sveučilište u Zagrebu.
6. Brundrett M. C. (2004). Diversity and classification of mycorhizal associations. Biol. Rev. 79, 473-495.
7. Bruns T. D. (1995). Thoughts on the processes that maintain local species diversity of ectomycorrhizal fungi. Plant and Soil, 170, 63-73.
8. Christensen L. P., Kasamatis A. N., Jensen F. L. (1978). Grapevine nutrition and fertilization in the San Joaquin Valley. UC ANR Pub 4087 Oakland, CA. 41 p.
9. Ćosić J., Jurković D., Vrandečić K. (2006). Praktikum iz fitopatologije. Poljoprivredni fakultet, Osijek.
10. Daguerre Y., Plett J. M., Veneault-Fourrey C. (2016). Signaling pathways driving the development of ectomycorrhizal symbiosis. In F. Martin (Ed.), Molecular Mycorrhizal Symbiosis (pp. 141-157).
11. Dolanjski D., Stričević I. (1996). Uređenje vodnog režima tla nastavno pokusnog objekta "Jazbina".
12. Državni hidrometeorološki zavod, Klimatološko meteorološki sektor, Zagreb-Grič 3
13. Harley J. L., Smith S. E,. (1983). Mycorrhizal Symbiosis. London and New York: Academic Press.
14. Harley J. L. (1989). The significance of mycorrhiza. Mycol. Res. 92, 129-139.
15. Maletić E., Karoglan Kontić J., Pejić I. (2008). Vinova loza. Školska knjiga, Zagreb.
16. Maletić E. i sur. (2015). Sorte vinove loze Hrvatskog zagorja. Print Centar Krapina d.o.o. Krapina
17. Mirošević N., Karoglan Kontić J. (2008). Vinogradarstvo. Nakladni zavod Globus, Zagreb.
18. Molina R., Massicotte H., Trappe J. M. (1992). Specificity phenomena in mycorrhizal symbioses: community-ecological consequences and practical implications. Mycorrhizal Functioning (ed. M.F. Allen), pp. 357-423. Chapman & Hall, New York.
19. O.I.V. „International Code of Oenological Practices", edition 2001, Paris.
20. Pöder R. (1996). Ectomycorrhizae In: Methods in Soil Biology (eds. F. Schinner, R. Öhlinger, E. Kandeler, R. Margesin), Springer: 281-294.

21. Reynolds A. G. (2010). Managing wine quality: viticulture and wine quality. Science, Elsevier.
22. Skinner P. W., Matthews M. A. (1989). Reproductive development in grape (Vitis vinifera L.) under phosphorus-limited conditions. Sci Horticult-Amsterdam 38:49-60.
23. Smith S. E., Read D. J. (2008). Mycorrhizal Symbiosis Third Edition. Academic Press, New York.
24. Škorić A. (1986). Postanak, razvoj i sistematika tala. Fakultet poljoprivrednih znanosti Sveučilišta u Zagrebu.
25. Tomaz I., Maslov L. (2015). Simultaneous Determination of Phenolic Compounds in Different Matrices using Phenyl-Hexyl Stationary Phase. Food Anal. Methods DOI 10.1007/s12161-015-0206-7.
26. Trappe J. M. (1977). Selection of fungi for ectomycorrhizal inoculation in nurseries. Ann. Rev. Phytopath. 15, 203-222.
27. Quinn G. (2011). Mycorrhizae help feed your plants. Fine Gardening 96:82.
28. Smith, S.E., Gianinazzi-Person, V. (1988). Physiological interactions between symbionts in vesicular arbuscular mycorrhizal plants. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 39: 221-244.
29. Wermelinger B., Baumgartner J., Gutierrez A.P. (1991). A demographic model of assimilation and allocation of carbon and nitrogen in grapevines. Ecol. Modelling, 53: 1-26.
30. Zrnić M., Širić I. (2017). Primjena mikorize u hortikulturi. Journal of Central European Agriculture. 18 (3), p. 706-732.

7. Životopis

Valentin Dunaj rođen je 02. srpnja 1994. godine u Zagrebu. Osnovnu školu grofa Janka Draškovića završava 2009. godine i iste godine upisuje opću gimnaziju u srednjoj školi Gimnazija Lucijana Vranjanina u Zagrebu. Po završetku srednje škole, 2013. godine upisuje preddiplomski studij Hortikultura na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Nakon obrane završnog rada 2016. godine postaje sveučilišni prvostupnik inženjer Hortikulture. Iste godine upisuje diplomski studij Hortikultura, smjer Vinogradarstvo i vinarstvo.