

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA

Mateja LOGAR

**VSEBNOST NEKATERIH PRIMARNIH IN
SEKUNDARNIH METABOLITOV V STROKIH
NAVADNEGA FIŽOLA (*Phaseolus vulgaris* L.)
OKUŽENIH Z GLIVO *Colletotrichum lindemuthianum*
(Sac. & Mag.) Briosi & Cavara**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Ljubljana, 2015

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA

Mateja LOGAR

**VSEBNOST NEKATERIH PRIMARNIH IN SEKUNDARNIH
METABOLITOV V STROKIH NAVADNEGA FIŽOLA (*Phaseolus
vulgaris* L.) OKUŽENIH Z GLIVO *Colletotrichum lindemuthianum*
(Sac. & Mag.) Briosi & Cavara**

DOKTORSKA DISERTACIJA

**CONTENT OF SOME PRIMARY AND SECONDARY
METABOLITES IN PODS OF DWARF FRENCH BEAN (*Phaseolus
vulgaris* L.) INFECTED WITH FUNGUS *Colletotrichum lindemuthianum*
(Sac. & Mag.) Briosi & Cavara**

DOCTORAL DISSERTATION

Ljubljana, 2015

Doktorska disertacija je zaključek študija na Interdisciplinarnem doktorskem študijskem programu Bioznanosti, znanstveno področje: hortikultura. Poskusa sta bila izvedena na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete v Ljubljani. Analize vzorcev so potekale na Katedri za sadjarstvo, vinogradništvo in vrtnarstvo Oddelka za agronomijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani. Statistična obdelava podatkov je potekala na Katedri za sadjarstvo, vinogradništvo in vrtnarstvo ter na Katedri za genetiko, biotehnologijo, statistiko in žlahtnenje rastlin Oddelka za agronomijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Na podlagi Statuta Univerze v Ljubljani ter po sklepu Senata Biotehniške fakultete in sklepa Komisije za doktorski študij Univerze v Ljubljani z dne 19.9.2012, je bilo potrjeno, da kandidatka izpolnjuje pogoje za opravljanje doktorata znanosti na Interdisciplinarnem doktorskem študijskem programu Bioznanosti, znanstveno področje: hortikultura. Za mentorico je bila imenovana izr. prof. dr. Nina Kacjan Maršič.

Komisija za oceno in zagovor:

- Predsednik: prof. dr. Franci ŠTAMPAR
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
- Član: izr. prof. dr. Robert VEBERič
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
- Član: prof. dr. Mario LEŠNIK
Univerza v Mariboru, Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede

Datum zagovora:

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

Mateja Logar

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA (KDI)

- ŠD Dd
- UDK 635.654:632.4:547.56(043.3)
- KG navadni fižol/*Phaseolus vulgaris*/fižolova vdrta pegavost/*Colletotrichum lindemuthianum*/primarni metaboliti/sekundarni metaboliti
- AV LOGAR, Mateja, uni. dipl. inž. agr.
- SA KACJAN MARŠIČ, Nina (mentorica)
- KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Interdisciplinarni doktorski študijski program Bioznanosti, znanstveno področje: hortikultura
- LI 2015
- IN VSEBNOST NEKATERIH PRIMARNIH IN SEKUNDARNIH METABOLITOV V STROKIH NAVADNEGA FIŽOLA (*Phaseolus vulgaris* L.) OKUŽENIH Z GLIVO *Colletotrichum lindemuthianum* (Sac. & Mag.) Briosi & Cavara
- TD Doktorska disertacija
- OP XVI, 109, [13] str., 11 pregl., 58 sl., 2 pril., 153 vir.
- IJ sl
- JI sl/en
- AI V dveh ločenih poskusih smo preučevali kemijsko sestavo strokov rumeno in zeleno stročnega nizkega fižola, v prvem poskusu glede na kultivar, stopnjo zrelosti strokov in rastne razmere, v drugem pa smo poleg vpliva kultivarja preučevali tudi vpliv okužbe z glivo *Colletotrichum lindemuthianum*. V poskusa smo vključili 4 kultivarje nizkega stročnega fižola 'Paulista' in 'Berggold' (tolerantna na glivo) ter 'Top crop' in 'Re dei burri' (občutljiva na glivo). Izvedli smo umetno okužbo z glivo in ocenili njen vpliv na različne dele stroka: okuženo tkivo, zdravo tkivo okuženega stroka in neokužene stroke. Vpliv spremenjenih rastnih razmer pod črno protitočno mrežo na sestavo strokov je bil ocenjen na mladih in tehnološko zrelih strokih vseh štirih kultivarjev. Primarni in sekundarni metaboliti so bili količinsko analizirani z uporabo HPLC in fenolne spojine dodatno identificirane s HPLC-MS. Zmanjšanje osvetlitve in temperature pod mrežo je povzročilo zmanjšanje vsebnosti fruktoze (za 42,0 %), glukoze (49,6 %), vitamina C (15,2 %), fumarne kisline (44,4 %), skupnih fenolov (15,7 %) ter povečanje vsebnosti jabolčne kisline (34,7 %). Okužba z glivo je povzročila povečanje vsebnosti šikimske (50,0 %), fumarne (25,9 %), skupnih kislin (25,0 %), skupnih fenolov (5,7 krat), flavanolov (6,5 krat), flavanonov (36,5 krat), dihidrohalkonov (2,9 krat), povzročila sintezo izoflavonov ($3678,9 \pm 1316,0 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) in flavonov ($2425,7 \pm 520,2 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) ter izginotje flavanolov. Fruktoza in glukoza sta prevladujoča sladkorja ($25,5\text{-}43,2 \text{ g kg}^{-1}$ sveže mase), jabolčna kislina ($2,3\text{-}3,6 \text{ g kg}^{-1}$ sveže mase) pa prevladujoča organska kislina okuženih in neokuženih strokov vseh štirih kultivarjev. Določili smo 70 fenolov iz naslednjih skupin: derivati hidroksicimetnih kislin, flavonoli, flavanoli, flavanoni, dihidrohalkoni, izoflavoni in flavoni, od tega je 33 ob okužbi novo nastalih fenolov, ki pripadajo vsem naštetim skupinam razen flavanolom. Največje vsebnosti so imeli fenoli dihidrokempferol heksoza ($3052,8 \pm 609,6 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase), naringenin heksoza 3 ($2779,6 \pm 1232,0 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase), dihidrokempferol diheksoza ($1950,3 \pm 361,6 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase).

KEY WORDS DOCUMENTATION (KWD)

- DN Dd
- UDC 635.654:632.4:547.56(043.3)
- CX dwarf French bean/*Phaseolus vulgaris*/anthracnose/*Colletotrichum lindemuthianum*/primary metabolites/secondary metabolites
- AU LOGAR, Mateja
- AA KACJAN MARŠIČ, Nina (supervisor)
- PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Interdisciplinary doctoral study programme of Biosciences, scientific field: horticulture
- PY 2015
- TI CONTENT OF SOME PRIMARY AND SECONDARY METABOLITES IN PODS OF DWARF FRENCH BEAN (*Phaseolus vulgaris* L.) INFECTED WITH FUNGUS *Colletotrichum lindemuthianum* (Sac. & Mag.) Briosi & Cavar
- DT Doctoral dissertation
- NO XVI, 109, [13] p., 11 tab., 58 fig., 2 ann., 153 ref.
- LA sl
- AL sl/en
- AB In two separate experiments the chemical composition of yellow and green dwarf French beans were studied, in the first experiment depending on the cultivar, pod maturity and growing conditions, and in the second experiment depending on cultivar and fungus *Colletotrichum lindemuthianum* infection. In experiments were included 4 cultivars of dwarf French beans, 'Paulista' and 'Berggold' (tolerant) and 'Top crop' and 'Re dei Burri' (susceptible). An artificial infection with the fungus was made to evaluate its impact on different parts of the pod: the infected tissue, healthy tissue on infected pod and non-infected pods. Effect of changes in growing conditions under black hailnet on the composition of pods was estimated on young and technologically mature pods of four cultivars. Primary and secondary metabolites were quantitatively determined by using HPLC, and phenolic compounds further identified by HPLC-MS. Reduced lighting and temperature under the hailnet decreased levels of fructose (42,0 %), glucose (49,6 %), vitamin C (15,2 %), fumaric acid (44,4 %), total phenols (15,7 %) and increased the levels of malic acid (34,7 %). Fungus infection cause increased content of shikimic (50,0 %), fumaric (25,9 %), total acids (25,0 %), total phenols (5,7 fold), flavonols (6,5 fold), flavanols (36,5 fold), dihydrochalcones (2,9 fold), synthesis of isoflavones (3678,9 ± 1316,0 µg 100 g⁻¹ fresh weight) and flavones (2425,7 ± 520,2 µg 100 g⁻¹ fresh weight) and the disappearance of flavanols. Fructose and glucose are main sugars (25,5-43,2 g kg⁻¹ fresh weight), malic acid is the main organic acid (2,3-3,6 g kg⁻¹ fresh weight) of infected and uninfected pods of four cultivars. 70 phenols were determined, belonging to the following groups: derivatives of hydroxycinnamic acids, dihydrochalcones, flavonols, flavanols, flavanones, isoflavones and flavones, of which 33 phenolics are newly formed in infected pods and they belong to all of the mentioned groups except flavanols. The highest concentrations had phenols dihydrokaempferol hexose (3052,8 ± 609,6 µg 100 g⁻¹ fresh weight), naringenin hexose 3 (2779,6 ± 1232,0 µg 100 g⁻¹ fresh weight) and dihydrokaempferol dihexose (1950,3 ± 361,6 µg 100 g⁻¹ fresh weight).

KAZALO VSEBINE

| | str. |
|---|-----------|
| Ključna dokumentacijska informacija (KDI) | III |
| Key words documentation (KWD) | IV |
| Kazalo vsebine | V |
| Kazalo preglednic | IX |
| Kazalo slik | XI |
| Kazalo prilog | XV |
| Okrajšave in simboli | XVI |
| 1 UVOD | 1 |
| 1.1 POVOD ZA RAZISKAVO | 1 |
| 1.2 NAMEN RAZISKAVE | 2 |
| 1.3 DELOVNE HIPOTEZE | 2 |
| 1.3.1 Vpliv rastnih razmer, zrelosti stroka in kultivarja na vsebnost nekaterih primarnih in sekundarnih metabolitov v stroku nizkega fižola | 2 |
| 1.3.2 Vpliv okuženosti z glivo <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> in kultivarja na vsebnost nekaterih primarnih in sekundarnih metabolitov v stroku nizkega fižola | 3 |
| 2 PREGLED OBJAV | 4 |
| 2.1 NAVADNI FIŽOL (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) | 4 |
| 2.1.1 Razširjenost fižola po svetu in v Sloveniji | 4 |
| 2.1.2 Kultivarji fižola | 5 |
| 2.1.3 Pridelovanje fižola in spravilo pridelka | 6 |
| 2.2 UPORABA PROTITOČNE MREŽE | 7 |
| 2.3 GLIVA <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> | 8 |
| 2.3.1 Klasifikacija glive | 8 |
| 2.3.2 Razširjenost glive | 8 |
| 2.3.3 Bolezenska znamenja | 8 |
| 2.3.4 Potek okužbe z glivo <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> | 10 |
| 2.3.5 Razvojni krog | 11 |
| 2.3.6 Vpliv temperature in vlage na razvoj bolezni | 12 |
| 2.3.7 Zatiranje bolezni | 12 |
| 2.4 OBRAMBA RASTLIN PRED PATOGENI | 13 |
| 2.5 PRIMARNI METABOLITI V NAVADNEM FIŽOLU | 13 |
| 2.5.1 Ogljikovi hidrati (sladkorji) | 13 |
| 2.5.2 Organske kisline in vitamin C | 14 |
| 2.5.2.1 Organske kisline | 14 |

| | | |
|--------------|--|----|
| 2.5.2.2 | Vitamin C | 15 |
| 2.6 | SEKUNDARNI METABOLITI | 15 |
| 2.6.1 | Fenolne spojine | 16 |
| 2.6.1.1 | Hidroksicimetne kisline | 18 |
| 2.6.1.2 | Flavonoidi | 18 |
| 2.6.2 | Fenolne spojine v fižolu | 22 |
| 3 | MATERIAL IN METODE DELA | 24 |
| 3.1 | MATERIAL | 24 |
| 3.1.1 | Opis kultivarjev nizkega stročjega fižola | 24 |
| 3.1.2 | Drugi uporabljeni material | 25 |
| 3.2 | METODE DELA | 25 |
| 3.2.1 | Poskusna zasnova in vzorčenje | 25 |
| 3.2.1.1 | Zasnova poskusa o vplivu rastnih razmer, zrelosti stroka in kultivarja na vsebnost nekaterih primarnih in sekundarnih metabolitov v stroku nizkega fižola | 25 |
| 3.2.1.2 | Vzorčenje strokov nizkega fižola za ugotavljanje vpliva rastnih razmer, zrelosti stroka in kultivarja na vsebnost nekaterih primarnih in sekundarnih metabolitov v stroku nizkega fižola | 28 |
| 3.2.1.3 | Zasnova poskusa o vplivu okužbe z glivo <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> in kultivarja na vsebnost nekaterih primarnih in sekundarnih metabolitov v stroku nizkega fižola | 29 |
| 3.2.1.4 | Vzorčenje strokov nizkega fižola za ugotavljanje vpliva okužbe z glivo <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> in kultivarja na vsebnost nekaterih primarnih in sekundarnih metabolitov v stroku nizkega fižola | 31 |
| 3.2.2 | Analize vzorcev, meritve in statistične analize | 32 |
| 3.2.2.1 | Meritve svetlobe in temperature | 32 |
| 3.2.2.2 | Ekstrakcija in analiza sladkorjev in organskih kislin | 33 |
| 3.2.2.3 | Ekstrakcija in analiza vitamina C | 34 |
| 3.2.2.4 | Ekstrakcija in analiza skupnih fenolov | 34 |
| 3.2.2.5 | Ekstrakcija in analiza posamičnih fenolov | 35 |
| 3.2.2.6 | Statistične analize | 38 |
| 4 | REZULTATI | 39 |
| 4.1 | REZULTATI POSKUSA O VPLIVU RASTNIH RAZMER, ZRELOSTI STROKA IN KULTIVARJA NA VSEBNOST NEKATERIH PRIMARNIH IN SEKUNDARNIH METABOLITOV V STROKU NIZKEGA FIŽOLA, LJUBLJANA, 2011 | 39 |
| 4.1.1 | Fotosintetsko aktivna osvetlitev in temperaturne razmere tekom poskusa | 39 |

| | | |
|--------------|--|----|
| 4.1.1.1 | Fotosintetsko aktivna osvetlitev | 39 |
| 4.1.1.2 | Temperaturne razmere | 40 |
| 4.1.2 | Vsebnost nekaterih primarnih in sekundarnih metabolitov v strokih nizkega fižola glede na rastne razmere, zrelost stroka in kultivar | 41 |
| 4.1.2.1 | Vsebnost sladkorjev v strokih nizkega fižola glede na rastne razmere, zrelost stroka in kultivar | 41 |
| 4.1.2.2 | Vsebnost organskih kislin v strokih nizkega fižola glede na rastne razmere, zrelost stroka in kultivar | 44 |
| 4.1.2.3 | Vsebnost vitamina C v strokih nizkega fižola glede na rastne razmere, zrelost stroka in kultivar | 45 |
| 4.1.2.4 | Vsebnost skupnih fenolov v strokih nizkega fižola glede na rastne razmere, zrelost stroka in kultivar | 46 |
| 4.2 | REZULTATI POSKUSA O VPLIVU OKUŽENOSTI Z GLIVO <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> IN KULTIVARJA NA VSEBNOST NEKATERIH PRIMARNIH IN SEKUNDARNIH METABOLITOV V STROKU NIZKEGA FIŽOLA, LJUBLJANA, 2012 | 47 |
| 4.2.1 | Vsebnost nekaterih primarnih in sekundarnih metabolitov v neokuženih strokih nizkega fižola glede na kultivar | 48 |
| 4.2.1.1 | Vsebnost sladkorjev v neokuženih strokih nizkega fižola glede na kultivar | 48 |
| 4.2.1.2 | Vsebnost organskih kislin v neokuženih strokih nizkega fižola glede na kultivar | 50 |
| 4.2.1.3 | Vsebnost in struktura fenolnih spojin v neokuženih strokih nizkega fižola glede na kultivar | 52 |
| 4.2.2 | Vpliv okužbe z glivo <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> in kultivarja nizkega fižola na obseg okužbe, količino in kakovost pridelka | 64 |
| 4.2.2.1 | Skupna okuženost strokov nizkega fižola | 64 |
| 4.2.2.2 | Povprečen pridelek na rastlino | 65 |
| 4.2.2.3 | Število strokov na rastlino | 66 |
| 4.2.2.4 | Teža stroka nizkega fižola | 66 |
| 4.2.3 | Vpliv okužbe z glivo <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> in kultivarja nizkega fižola na vsebnost nekaterih primarnih in sekundarnih metabolitov v strokih | 67 |
| 4.2.3.1 | Vsebnost sladkorjev v strokih nizkega fižola glede na okužbo z glivo <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> in kultivar | 67 |
| 4.2.3.2 | Vsebnost organskih kislin v strokih nizkega fižola glede na okužbo z glivo <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> in kultivar | 71 |

| | | |
|--------------|---|----|
| 4.2.3.3 | Vsebnost in struktura fenolnih spojin v strokih nizkega fižola glede na okužbo z glivo <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> in kultivar | 72 |
| 5 | RAZPRAVA IN SKLEPI | 83 |
| 5.1 | RAZPRAVA | 83 |
| 5.1.1 | Poskus o vplivu rastnih razmer, zrelosti stroka in kultivarja na vsebnost nekaterih primarnih in sekundarnih metabolitov v strokih nizkega fižola | 83 |
| 5.1.2 | Poskus o vplivu okuženosti z glivo <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> in kultivarja na vsebnost nekaterih primarnih in sekundarnih metabolitov v stroku nizkega fižola | 87 |
| 5.2 | SKLEPI | 93 |
| 6 | POVZETEK (SUMMARY) | 95 |
| 6.1 | POVZETEK | 95 |
| 6.2 | SUMMARY | 96 |
| 7 | VIRI | 98 |
| | ZAHVALA | |
| | PRILOGE | |

KAZALO PREGLEDNIC

| | | |
|-----------------|---|----|
| Preglednica 1: | Svetovna pridelava nizkega stročjega fižola v letu 2012 (FAOSTAT, 2013). | 4 |
| Preglednica 2: | Pridelava nizkega stročjega fižola v Sloveniji v letih 2004, 2007, 2010 in 2013 (SURSTAT, 2014). | 5 |
| Preglednica 3: | Identificirane fenolne spojine v okuženih in neokuženih strokih nizkega fižola z glivo <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> štirih različnih kultivarjev ('Paulista', 'Berggold', 'Rei dei burri', 'Top crop'), z navedeno valovno dolžino identificiranja, uvrstitvijo spojin v skupine in navedeno snovjo v ekvivalentih katere je bila izražena posamezna fenolna spojina. | 36 |
| Preglednica 4: | Povprečna vsebnost (\bar{x}) in standardna napaka (Se) za fruktozo, glukozo in saharozo (g kg^{-1} sveže mase) v strokih nizkega fižola glede na rastne ramere, zrelost stroka in kultivar in analize variance za linearno mešane modele. | 43 |
| Preglednica 5: | Povprečna vsebnost (\bar{x}) in standardna napaka (Se) jabolčne, citronske, šikimske in fumarne kisline (g kg^{-1} sveže mase) v strokih nizkega fižola glede na rastne razmere, zrelost stroka in kultivar ter analiza variance (ANOVA) za podatke. | 45 |
| Preglednica 6: | Stopnje statistične značilnosti, povprečne vsebnosti sladkorjev (g kg^{-1} svežih strokov nizkega fižola) v neokuženih strokih fižola in pripadajoče standardne napake glede na kultivar nizkega fižola ('Paulista', 'Berggold', 'Re dei burri' in 'Top crop'). | 49 |
| Preglednica 7: | Stopnje statistične značilnosti, povprečne vsebnosti organskih kislin v neokuženih strokih (g kg^{-1} svežih strokov nizkega fižola) in pripadajoče standardne napake glede na kultivar nizkega fižola ('Paulista', 'Berggold', 'Re dei burri' in 'Top crop'). | 51 |
| Preglednica 8: | Stopnje statistične značilnosti, povprečne vsebnosti posamičnih fenolnih spojin v neokuženih strokih nizkega fižola ($\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ svežih strokov nizkega fižola) in pripadajoče standardne napake glede na kultivar nizkega fižola ('Paulista', 'Berggold', 'Re dei burri' in 'Top crop'). | 52 |
| Preglednica 9: | Stopnje statistične značilnosti, povprečne vsebnosti sladkorjev (g kg^{-1} svežih strokov nizkega fižola) in pripadajoče standardne napake glede na okuženost (O) strokov nizkega fižola z glivo <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> (neokuženo, okuženo) in kultivar nizkega fižola (K) ('Re dei burri' ('R') in 'Top crop' ('T')). | 69 |
| Preglednica 10: | Stopnje statistične značilnosti, povprečne vsebnosti organskih kislin (g kg^{-1} svežih strokov nizkega fižola) in pripadajoče standardne napake glede na okuženost (O) strokov nizkega fižola z glivo <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> (neokuženo, okuženo) in kultivar nizkega fižola (K) ('Re dei burri' ('R') in 'Top crop' ('T')). | 70 |

Preglednica 11: Stopnje statistične značilnosti, vsota povprečnih vsebnosti posamezne fenolne skupine ($\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ svežih strokov nizkega fižola) in pripadajoče standardne napake glede na okuženost (O) strokov nizkega fižola z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* (neokuženo (NEOK), zdravo tkivo okuženega stroka (ZTOS) in okuženo tkivo (OK)) in kultivar nizkega fižola (K) ('Re dei burri' ('R') in 'Top crop' ('T')).

KAZALO SLIK

| | | |
|-----------|---|----|
| Slika 1: | Povprečna površina pridelave nizkega stročjega fižola (ha) v Sloveniji v letih 2003-2013 (SURs, 2014). | 5 |
| Slika 2: | Povprečen pridelek nizkega stročjega fižola/hektar v Sloveniji v letih 2003-2013 (SURs, 2014). | 5 |
| Slika 3: | Stroki navadnega fižola (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.). | 6 |
| Slika 4: | Rastline nizkega stročjega fižola. | 6 |
| Slika 5: | Bolezenska znamenja pri okužbi z glivo <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> na strokih fižola (a, b, c) in na stebelu (d) (FITO-INFO, 2014). | 9 |
| Slika 6: | Bolezenska znamenja pri okužbi z glivo <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> na kaleči rastlini (a) in na zrnju (b) (FITO-INFO, 2014). | 9 |
| Slika 7: | Potek okužbe z glivo <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> (Bailey in Jeger, 1992). | 11 |
| Slika 8: | Razvojni krog glive <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> (Bailey in Jeger, 1992). | 11 |
| Slika 9: | Povezave primarnega in sekundarnega metabolizma v rastlinah (Reis Giada, 2013). | 16 |
| Slika 10: | Kemijska struktura hidroksicimetnih kislin (Manach in sod., 2004). | 18 |
| Slika 11: | Kemijska struktura flavonoidov (Stefek, 2011). | 19 |
| Slika 12: | Kemijska struktura flavonolov (Manach in sod., 2004). | 20 |
| Slika 13: | Kemijska struktura flavanolov (Manach in sod., 2004). | 20 |
| Slika 14: | Kemijska struktura flavanonov (Manach in sod., 2004). | 20 |
| Slika 15: | Kemijska struktura dihidrohalkonov (Crozier in sod., 2006). | 21 |
| Slika 16: | Kemijska struktura izoflavonov (Manach in sod., 2004). | 21 |
| Slika 17: | Kemijska struktura flavonov (Manach in sod., 2004). | 21 |
| Slika 18: | a) Gojitvene plošče s 40 vdolbinami, b) polnjenje plošč s šotnim substratom Klasmann, c) plošče napolnjene s šotnim substratom Klasmann, d) ročna setev semena nizkega fižola v gojitvene plošče. | 26 |
| Slika 19: | a) Vznikanje nizkega fižola, b) enakomeren vznik nizkega fižola, c) sadike nizkega fižola pripravljene na presajanje. | 26 |
| Slika 20: | Zasnova poskusa o vplivu rastnih razmer, zrelosti stroka in kultivarja na vsebnost nekaterih primarnih in sekundarnih metabolitov v strokih nizkega fižola. | 27 |
| Slika 21: | a) Pripravljena gredica za presajanje sadik nizkega fižola, b) presajenje sadik nizkega fižola na gredico, c) posajene sadike nizkega fižola, d) pregled in spremljanje rasti sadik nizkega fižola. | 27 |

| | | |
|-----------|---|----|
| Slika 22: | a) Nasad nizkega fižola, b) namestitvev lokov, ki služijo kot držalo protitočne mreže, c) namestitvev protitočne mreže nad rastline nizkega fižola (ustvarimo tunel), d) pogled na rastline, ki so pokrite s protitočno mrežo, e) rastline že začenjajo s cvetenjem. | 28 |
| Slika 23: | a) Nabiranje vzorčnih strokov nizkega fižola, b) in c) mladi stroki fižola in tehnološko zreli stroki, d) stroki skrbno shranjeni v dobro označenih vrečkah za vzorčenje. | 28 |
| Slika 24: | Zasnova poskusa o vplivu okužbe z glivo <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> in kultivarja na vsebnost nekaterih primarnih in sekundarnih metabolitov v stroku nizkega fižola (oranžne podparcele so bile okužene z glivo, zelene kontrola). | 29 |
| Slika 25: | a) Setev nizkega fižola, b) sajenje sadik nizkega fižola na polje. | 30 |
| Slika 26: | a) in b) Umetna okužba rastlin nizkega fižola z glivo <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> , c) s PVC folijo smo zagotovili 100 % zračno vlago. | 31 |
| Slika 27: | a) in b) Simptomi fižolove vdrtje pegavosti, c) simptomi bolezni na fižolovem stebelu. | 31 |
| Slika 28: | a) Pobiranje strokov nizkega fižola, b) stroki nizkega fižola pripravljene na sortiranje, štetje, tehtanje in nadaljnje delo, c) sortiranje in štetje strokov. | 32 |
| Slika 29: | a) Sekljanje strokov nizkega fižola, b) prelitje sesekljanih strokov s 25 ml bidestilirane vode, c) homogeniziranje z ultraturraxom, d) stresanje na stresalniku za 30 minut. | 33 |
| Slika 30: | a) Prelivanje vsebine v centrifugirko, b) centrifugiranje (7 min, 12 000 obr/min, 4 °C), c) filtriranje supernatanta skozi rumen celulozen 0,45 µm filter, d) shranjevanje vzorcev v vialah na -20 °C do opravljanja analiz. | 34 |
| Slika 31: | a) Drobno sekljanje strokov nizkega fižola, b) prelitje vzorca z 10 ml 100 % metanola, c) vzorci potopljeni v ultrazvočno kopel (pri 0 °C) za eno uro, d) filtriranje supernatanta skozi 0,45 µm poliamidni filter v vijale, e) shranjevanje vzorcev v vialah v zamrzovalniku na -20 °C do opravljanja nadaljnjih analiz. | 35 |
| Slika 32: | Dnevne krivulje fotosintetsko aktivne osvetlitve PAR ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) pod vplivom pokritosti s protitočno mrežo ali nepokritosti, globalno sončno obsevanje (W m^{-2}) (prikazano s stolpci) in relativne razlike v zmanjšanju PAR (rel. razl. = $(\text{PAR}_{\text{prosto}} - \text{PAR}_{\text{mreža}}) / \text{PAR}_{\text{prosto}}$) (pikasta črta) na sončne in oblačne dni v juniju in juliju 2011. | 40 |
| Slika 33: | Maksimalne, minimalne in povprečne dnevne temperature pod mrežo in na odprtem polju tekom poskusa. | 41 |
| Slika 34: | Povprečna sestava sladkorjev v strokih nizkega fižola glede na rastne razmere, zrelost stroka in kultivar. | 42 |
| Slika 35: | Povprečna vsebnost vitamina C in standardne napake v strokih nizkega fižola (mg kg^{-1} FW), glede na kultivar, rastne razmere in zrelost strokov. | 46 |

| | | |
|-----------|--|----|
| Slika 36: | Povprečna vsebnost skupnih fenolov (mg GAE kg ⁻¹ FW) in pripadajoče standardne napake v strokih nizkega fižola. Različne črke označujejo statistično značilne razlike v vsebnosti skupnih fenolov glede na kultivar rastne razmere in zrelost stroka pri $p < 0,05$. | 47 |
| Slika 37: | Povprečni deleži fruktoze, glukoze in saharoze v neokuženih strokih nizkega fižola glede na kultivar. | 48 |
| Slika 38: | Povprečni deleži organskih kislin (jabolčna, šikimska, citronska in fumarna) v neokuženih strokih nizkega fižola glede na kultivar. | 50 |
| Slika 39: | Deleži posameznih podskupin flavonoidov določenih v neokuženih strokih glede na kultivar. | 55 |
| Slika 40: | Deleži flavonolov v neokuženih strokih glede na kultivar. | 57 |
| Slika 41: | Deleži derivatov hidroksicimetnih kislin v neokuženih strokih glede na kultivar. | 60 |
| Slika 42: | Deleži flavanolov določenih v neokuženih strokih glede na kultivar. | 61 |
| Slika 43: | Deleži flavanonov določenih v neokuženih strokih glede na kultivar. | 62 |
| Slika 44: | Deleži dihidrohalkonov določenih v neokuženih strokih glede na kultivar. | 63 |
| Slika 45: | Skupna okuženost strokov nizkega fižola glede na kultivar ('Berggold', 'Paulista', 'Rei dei burri' in 'Top crop') in okuženost z glivo <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> v % in deleži okužbe po posameznih pobiranjih nizkega fižola (15, 22, 37, 50, 70 in 91 dni po okužbi). | 64 |
| Slika 46: | Povprečen pridelek na rastlino nizkega fižola (g) glede na kultivar. | 65 |
| Slika 47: | Povprečno število strokov na rastlino glede na kultivar. | 66 |
| Slika 48: | Povprečna teža stroka (g) glede na kultivar. | 67 |
| Slika 49: | Povprečni deleži fruktoze, glukoze in saharoze glede na okužbo z glivo <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> . | 68 |
| Slika 50: | Povprečni deleži organskih kislin (jabolčne, citronske, šikimske in fumarne) glede na okužbo z glivo <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> . | 71 |
| Slika 51: | Deleži posameznih podskupin flavonoidov določenih v strokih nizkega fižola glede na okuženost z glivo <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> . | 73 |
| Slika 52: | Deleži flavanolov določenih v strokih nizkega fižola glede na okuženost z glivo <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> . | 75 |
| Slika 53: | Deleži derivatov hidroksicimetnih kislin določenih v strokih nizkega fižola glede na okuženost z glivo <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> . | 77 |
| Slika 54: | Deleži flavanolov določenih v strokih nizkega fižola glede na okuženost z glivo <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> . | 78 |
| Slika 55: | Deleži flavanonov določenih v strokih nizkega fižola glede na okuženost z glivo <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> . | 79 |

- Slika 56: Deleži dihidrohalkonov določenih v strokih nizkega fižola glede na okuženost z glivo *Colletotrichum lindemuthianum*. 80
- Slika 57: Deleži izoflavonov določenih v strokih nizkega fižola glede na okuženost z glivo *Colletotrichum lindemuthianum*. 81
- Slika 58: Deleži flavonov določenih v strokih nizkega fižola glede na okuženost z glivo *Colletotrichum lindemuthianum*. 82

KAZALO PRILOG

- PRILOGA A: Statistične analize odvisnih spremenljivk vsebnost posamičnih fenolov v strokih nizkega fižola glede na okužbo z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* in kultivar nizkega fižola
- PRILOGA B: Statistične analize odvisne spremenljivke povprečni pridelek na rastlino

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

| OKRAJŠAVA | POMEN |
|--------------------------|---|
| FAO | Food and agriculture organization of the united nations |
| SURS | Statistični urad Republike Slovenije |
| S | sever |
| V | vzhod |
| N | dušik |
| P | fosfor |
| K | kalij |
| Ca | kalcij |
| PVC folija | folija iz polivinil klorida (polyvinyl chloride foil) |
| PAR | fotosintetsko aktivna osvetlitev |
| Obr/min | obrati na minuto |
| HPLC | tekočinska kromatografija visoke ločljivosti (high performance liquid chromatography) |
| BTH | 2,6-di-tetr-butyl-4-metilfenol |
| PDA | krompirjev dekstrozni agar (potato dextrose agar) |
| CO ₂ | ogljikov dioksid |
| SE | standardna napaka (standard error) |
| ekv. | ekvivalent |
| n.v. | nadmorska višina |
| <i>C. lindemuthianum</i> | <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> |
| HPLC-MS | tekočinska kromatografija visoke ločljivosti-masna spektrometrija |

1 UVOD

1.1 POVOD ZA RAZISKAVO

Fižol (*Phaseolus vulgaris* L.) spada med najbolj razširjene vrtnine v našem okolju (Osvald in Kogoj-Osvald, 2005). Pridelava fižola ponavadi poteka na prostem, kjer so rastline izpostavljene ekstremnim ravnim razmeram kot so močni nalivi, toča, močni sunki vetra, ki v kmetijstvu povzročajo pomembno škodo (Kunz in Kottmeier, 2009). Za zmanjšanje škode ob pojavu toče, se uporabljajo protitočne mreže, ne le v sadovnjakih (Dussi in sod., 2005; Stampar in sod., 2002), ampak tudi v pridelavi zelenjave. V literaturi smo zasledili navedbe o pozitivnih učinkih protitočne mreže na količino pridelka, zelo malo pa je podatkov o ravnim razmerah pod protitočno mrežo in kako le-te vplivajo na kakovost pridelka oziroma na kemijsko sestavo plodov.

Gliva *Colletotrichum lindemuthianum*, ki povzroča vrsto fižolovo pegavost ali fižolov ožig, je razširjena po vsem svetu in je ena najbolj uničujočih boleznih, ki se pojavljajo na fižolu (Tu, 1992). Gliva okužuje različne dele rastline, liste, stebela, zrele in nezrele stroke, kar se odraža kot gniloba, ožigi in defoliacija rastlin (Maček, 1986).

Patogeni lahko zmanjšajo količino in kakovost pridelka do stopnje, ki ekonomsko ni več sprejemljiva. Naravne ali sintetične fungicide uporabimo šele takrat, ko rastlina ni sposobna sama ali s pomočjo koristnih organizmov omejiti napada patogena. Pri rastlinah, za katere je značilno postopno zorenje plodov, je uporaba fungicidov zelo omejena, saj mora biti zagotovljena korenica od uporabe sredstva do obiranja in uživanja plodov. Za glive iz rodu *Colletotrichum* je značilno, da po okužbi zelo hitro napredujejo in lahko v zelo kratkem času povzročijo gnilobo in propad plodov (Bailey in Jeger, 1992).

Rastline se na okužbo s patogenom odzovejo različno, pogosto s povečano sintezo obrambnih snovi, kot so sekundarni metaboliti in znotraj njih skupina fenolov. Ti lahko zmanjšajo agresivnost glive na različne načine, bodisi predstavljajo fizično oviro v celičnih stenah za prodirajoče hife glive, inhibirajo encime patogena ali pa zmanjšajo škodo zaradi prostih radikalov, ki se pojavijo v celici. Mnogi znanstveniki trdijo, da prisotnost fenolnih snovi in njihova hitra sinteza pripomoreta k večji odpornosti rastlin na patogene (Taiz in Zeiger, 2010). V primeru, da je sinteza sekundarnih metabolitov vzpodbujena z okužbo, jih poimenujemo fitoaleksini (Grayer in Kokubun, 2001). Raziskovanje le teh je v zadnjem času poglobljeno, saj naj bi poleg obrambne funkcije pri kmetijskih rastlinah imeli ugodne vplive tudi na človekovo zdravje, delovali naj bi antioksidativno, protivnetno, vplivali na zmanjšanje vsebnosti holesterola in preprečevali nastanek rakavih obolenj (Boue in sod., 2009). Poznavanje obrambnih mehanizmov rastline v povezavi s sestavo in vsebnostjo fenolnih spojin je zato pomemben raziskovalni izziv.

1.2 NAMEN RAZISKAVE

Za pridelovanje stročjega fižola je na voljo več kultivarjev, za katere poznamo predvsem podatke o njihovi potencialni rodnosti in količini pridelka. Pogosto od semenarjev izvemo tudi podatke o tolerantnosti kultivarjev in njihovi odpornosti na izbrane patogene organizme. Podatki o kakovostnih parametrih so v večini primerov vezani na prehransko vrednost pridelka, medtem ko podrobnejših podatkov, povezanih z obrambno sposobnostjo rastlin v literaturi za fižol nismo našli. Prav ti pa so pomembni za nadzor bolezni, kjer je poleg omejevanja izgub pridelka zaradi okužbe pomembno tudi zmanjšanje stroškov za kemično in mehanično varstvo rastlin.

Naša raziskava je bila razdeljena v dva dela: v prvem delu smo z analizo vsebnosti primarnih in sekundarnih metabolitov v strokih različnih kultivarjev zeleno in rumenostročnega nizkega fižola ugotavljali razlike v vsebnosti glede na kultivar in starost stroka (polovično razvit strok in polno razvit strok) ter na rastne razmere, ustvarjene pod protitočno mrežo. Analizirani parametri iz prvega leta raziskave so bili osnova za delo v drugem letu raziskave, ko smo rastline okužili z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* in proučevali prilagoditve in obrambne mehanizme v strokih fižola, ki bi jih lahko koristno uporabili za alternativne pristope varstva rastlin pred to glivično boleznijo.

S proučitvijo sekundarnih metabolitov, povezanih z obrambnim odzivom rastlin fižola na okužbo z glivo *C. lindemuthianum* želimo pri bolj in manj občutljivih kultivarjih fižola prepoznati možnosti iskanja okolju prijaznejših načinov varstva rastlin, ki bi s predhodno višjim nivojem obrambnih snovi zagotovili večjo toleranco rastlin na okužbo z omenjeno glivo.

1.3 DELOVNE HIPOTEZE

Postavili smo naslednje hipoteze:

1.3.1 Vpliv ravnih razmer, zrelosti stroka in kultivarja na vsebnost nekaterih primarnih in sekundarnih metabolitov v stroku nizkega fižola

H1: Uporaba protitočne mreže vpliva na spremenjene temperaturne razmere in na zmanjšano osvetlitev rastlin.

H2: Spremenjene svetlobne in temperaturne razmere pod protitočno mrežo vplivajo na zmanjšanje vseh primarnih in sekundarnih metabolitov, razen organskih kislin, kjer pričakujemo zvišanje vsebnosti.

- H3: Vsebnost primarnih in sekundarnih metabolitov se z rastjo stroka spreminja: vsebnost organskih kislin in skupnih fenolov se zmanjšuje, povečuje pa se vsebnost sladkorjev in vitamina C.
- H4: Vsebnost primarnih in sekundarnih metabolitov je v tehnološko zrelih strokih kultivarjev rumeno in zelenostročnega fižola različna.

1.3.2 Vpliv okuženosti z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* in kultivarja na vsebnost nekaterih primarnih in sekundarnih metabolitov v stroku nizkega fižola

- H5: Kultivarji stročjega fižola, ki imajo različno toleranco na okužbo z glivo *C. lindemuthianum* se razlikujejo po vsebnosti primarnih in sekundarnih metabolitov. Pričakujemo, da imajo kultivarji z večjo toleranco na okužbo z omenjeno glivo večjo vsebnost fenolnih spojin glede na kultivarje, ki niso odporni na omenjeno glivo.
- H6: V strokih kultivarjev 'Paulista' in 'Berggold' bomo zaznali fenolne spojine, ki jih ne bomo zaznali v strokih preostalih dveh kultivarjev.
- H7: Pričakovali smo uspešnost umetne okužbe z glivo *C. lindemuthianum* pri kultivarjih 'Top crop' in 'Re dei burri' (kultivarja sta neodporna na glivo) in neokuženost rastlin kultivarjev 'Berggold' in 'Paulista' (kultivarja sta deklarirana kot odporna na omenjeno glivo).
- H8: Pri neodpornih kultivarjih okuženost z glivo *C. lindemuthianum* povzroči zmanjšanje tržnega pridelka strokov fižola.
- H9: Odziv rastline na okuženost z glivo *C. lindemuthianum* se bo pokazal v različnem številu in vsebnosti metabolitov v strokih fižola. Vsebnost in število fenolnih spojin bosta v okuženem tkivu večja kot v neokuženem tkivu.
- H10: V okuženem tkivu se bodo kot posledica okužbe na novo sintetizirali sekundarni metaboliti, ki jih v neokuženem tkivu ne bomo našli.

Rezultati dvoletnih raziskav bodo pokazali, kako je vsebnost primarnih in sekundarnih produktov v strokih nizkega fižola različna glede na kultivar in se spreminja glede na svetlobne in temperaturne razmere. Poleg odziva na delovanje abiotskih dejavnikov bo zanimivo spremljati tudi odziv rastlin na delovanje biotskega dejavnika, v našem primeru okužbe z glivo *C. lindemuthianum*.

Ugotovitev o sestavi in vsebnosti sekundarnih metabolitov povezanih z obrambno funkcijo rastline v primeru okužbe, bo pripomogla k razjasnitvi odgovorov rastlin na biotski stres in s tem približala možnost iskanja okolju prijaznejšega načina varstva rastlin, v smislu da bi s predhodno povečanim nivojem obrambnih snovi zagotovili večjo toleranco rastlin na omenjeno okužbo.

2 PREGLED OBJAV

2.1 NAVADNI FIŽOL (*Phaseolus vulgaris* L.)

2.1.1 Razširjenost fižola po svetu in v Sloveniji

Fižol je razširjen po vsem svetu in je poleg soje druga najpomembnejša stročnica, namenjena za prehrano (Lim, 2012). Z njim je letno zasejanih (za pridelek zrnja in stročja) cca 31 milijonov hektarjev (FAOSTAT, 2013). Razširjen je na širokem območju med 52° severne in 32° južne geografske širine in raste na območju od 0 do 3000 m n.v. (Kogoj Osvald, 2008).

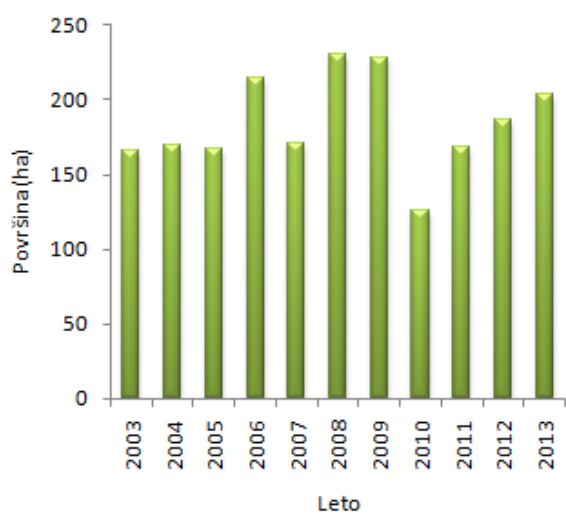
Po podatkih FAO (FAOSTAT, 2013) smo v letu 2012 v svetovnem merilu imeli nizek stročji fižol posajen na približno poldrugem milijonu hektarjev, na hektar pa smo v povprečju pridelali približno 13,5 t (Preglednica 1). Azija je po številu pridelovalnih površin (1,27 milijona ha) na prvem mestu in zavzema kar 82,9 % vseh pridelovalnih površin, ima tudi največji pridelek na hektar (14,9 t ha⁻¹). Sledijo Evropa z 7,1 %, Amerika z 4,8 %, Afrika z 4,65 % in Oceanija z 0,54 % vseh pridelovalnih površin nizkega stročjega fižola na svetu.

Največje tri pridelovalke nizkega stročjega fižola v Evropi so Španija (165 400 t), Italija (134 124 t) in Belgija (88 500 t) (FAOSTAT, 2013). Evropa v povprečju na hektar pridelala 7,3 t nizkega stročjega fižola (Preglednica 1). Slovenija je v letu 2012 v povprečju pridelala 2,8 t ha⁻¹ (SURS, 2014) s čimer bistveno zaostajamo za evropskim povprečjem in še veliko bolj za svetovnim povprečjem.

Preglednica 1: Svetovna pridelava nizkega stročjega fižola v letu 2012 (FAOSTAT, 2013).
Table 1: World production of green bean in year 2012 (FAOSTAT, 2013).

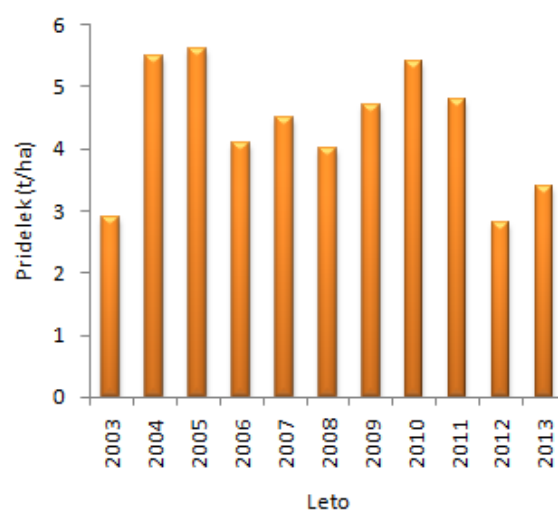
| | Površina (ha) | Pridelek (t ha ⁻¹) |
|-------------|------------------|--------------------------------|
| Azija | 1.272.906 | 14,9 |
| Evropa | 108.929 | 7,3 |
| Amerika | 73.936 | 4,0 |
| Afrika | 71.341 | 9,0 |
| Oceanija | 8.276 | 5,2 |
| Svet | 1.535.388 | 13,5 |

Na sliki 1 vidimo nihanje Slovenskih pridelovalnih površin nizkega stročjega fižola po letih. V letu 2004 smo stročje pridelovali na 169 ha, v letu 2007 na 171 ha. Leta 2010 sledi padec na 126 ha pridelovalnih površin, v letu 2013 pa doživimo porast na 204 ha. Tudi pridelek nizkega stročjega fižola na hektar se zelo spreminja, kar vidimo na sliki 2. V letu 2004 smo pridelali 5,5 t ha⁻¹, tri leta kasneje 4,5 t ha⁻¹, leta 2010 5,4 t ha⁻¹, v letu 2013 pa smo zabeležili padec pridelka na samo 3,4 t ha⁻¹.



Slika 1: Povprečna površina pridelave nizkega stročjega fižola (ha) v Sloveniji v letih 2003-2013 (SURS, 2014).

Figure 1: Average area harvested of green bean (ha) in Slovenia in years 2003-2013 (SURS, 2014).



Slika 2: Povprečen pridelek nizkega stročjega fižola/hektar v Sloveniji v letih 2003-2013 (SURS, 2014).

Figure 2: Average production of green beans (ha) in Slovenia in years 2003-2013 (SURS, 2014).

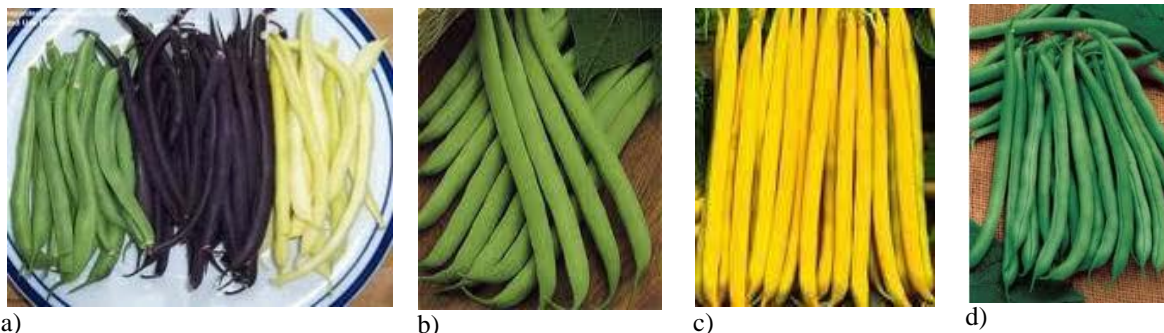
Preglednica 2: Pridelava nizkega stročjega fižola v Sloveniji v letih 2004, 2007, 2010 in 2013 (SURS, 2014).
Table 2: Green bean production in Slovenia in years 2004, 2007, 2010 and 2013 (SURS, 2014).

| Leto | 2004 | 2007 | 2010 | 2013 |
|--------------------------------|------|------|------|------|
| Površina (ha) | 169 | 171 | 126 | 204 |
| Pridelek (t) | 920 | 770 | 607 | 704 |
| Pridelek (t ha ⁻¹) | 5,5 | 4,5 | 5,4 | 3,4 |

2.1.2 Kultivarji fižola

Poznamo veliko različnih kultivarjev fižola, ki jih delimo glede na namen gojenja, tip rasti, višino stebela, obliko zrna, barvo zrna, barvo in obliko stroka, dolžino rastne dobe, odpornost na posamezne bolezni, prilagojenost na določene klimatske razmere in prilagojenost na določen način gojenja (Kogoj-Osvald, 2008). Stročki fižol ponavadi pobiramo še preden stroki popolnoma dozori in sicer, ko je zrnje v stroku še zelo drobno. To je 12-14 dni po odprtju cveta, na kar pa imajo vpliv tudi vremenske razmere (Lim, 2012). Poznamo veliko različnih kultivarjev stročjega fižola, katerih stroke lahko pobiramo v različnih velikostih strokov (Fox in sod., 2005; Sanchez-Mata in sod., 2000; Villanueva in sod., 2004) v odvisnosti od zahtev kupca in kuhinje na posameznih območjih (Koutsika-Sotiriou in Traka-Mavrona, 2008). Čas pobiranja strokov ugotavljamo z rednim opazovanjem razvoja zrn v stroku, pomagamo si z meritvami vsebnosti v alkoholu netopnih snovi, lahko pa s tendometrom ali teksturomertom. Najpogosteje pa določimo čas pobiranja strokov z opazovanjem razvoja strokov, ki morajo biti nežni, v njih razvita semena pa ne večja od zrna pšenice. Pri določanju tehnološke zrelosti prelomimo več

strokov, da dobimo povprečno oceno dozorelosti. Če ugotavljamo delež suhe snovi, so vsebnosti v začetku tehnološke zrelosti 7-8 %, ob koncu pa 9-12 %.



Slika 3: Stroki navadnega fižola (*Phaseolus vulgaris* L.).
Figure 3: Bean pods (*Phaseolus vulgaris* L.).

Stroki vsebujejo beljakovine, ogljikove hidrate, vlaknine, minerale, vitamine in spojine z antioksidativnim delovanjem (Lim, 2012). Toplotno jih lahko obdelamo na več načinov. Po skoraj vseh načinih toplotne obdelave se antioksidativni potencial ne spremeni, kar je med kmetijskimi rastlinami redkost (Jimenez-Monreal in sod., 2009).



Slika 4: Rastline nizkega stročjega fižola.
Figure 4: Plants of bush green bean.

2.1.3 Pridelovanje fižola in spravilo pridelka

Nizek fižol sejemo direktno na prosto ali pa vzgajamo sadike. Sadike presadimo na prosto, ko mine nevarnost poznih slan. Rastline fižola so občutljive na točo, dež, meglo, neustrezne rastne razmere močno zmanjšajo pridelek. Poletne setve so uspešne le, če imamo urejeno namakanje. Nizek fižol sejemo na medvrstni razdalji 50 do 60 cm, v vrsti pa na razmik 4 do 6 cm. Čas vznika je 6-8 dni. Sejemo lahko ročno ali strojno. Ob setvi mora biti zemljišče ogreto na 10-12 °C. Pognojimo s preperelim hlevskim gnojem (20-40 t ha⁻¹). Gnojimo s 50-100 kg ha⁻¹ dušika, 150-200 kg ha⁻¹ fosforja, 100-150 kg ha⁻¹ kalija.

Dobro uspeva na srednje globokih, srednje vlažnih, dobro odcednih ter dobro pognojenih tleh s pH 5,5 do 7. Namakanje je potrebno v fazi vznika in intenzivne rasti. Posevek pred pleveli varujemo mehansko z okopavanjem ali kemično s herbicidi (Osvald in Kogoj-Osvald, 2005).

Fižol pobiramo v fazi tehnološke ali fiziološke zrelosti. Pri nizkih kultivarjih je v ugodnih rastnih razmerah rastna doba od setve do tehnološke zrelosti od 50 do 70 dni. Normalno razvite stroke lahko pobiramo ročno (večkratno spravilo) ali mehanizirano (enkratno spravilo). Sveže stroke lahko shranjujemo v hladilnici pri temperaturi 1-5 °C, a le za krajši čas (Osvald in Kogoj-Osvald, 2005).

2.2 UPORABA PROTITOČNE MREŽE

Pridelava fižola ponavadi poteka na prostem, kjer so rastline izpostavljene ekstremnim vremenskim razmeram kot so močni nalivi, toča, močni sunki vetra, ki v kmetijstvu povzročajo pomembno škodo (Kunz in Kottmeier, 2009). Za zmanjšanje škode ob pojavu toče predvsem v sadovnjakih uporabljamo različne protitočne mreže, uporabimo pa jih lahko tudi v pridelavi zelenjave (Dussi in sod., 2005; Stampar in sod., 2002). V sadovnjakih uporabljamo predvsem črne protitočne mreže (Dussi in sod., 2005), zadnje čase pa imamo za fizično zaščito na prostem (proti vetru, insektom, proti premočni radiaciji) na voljo tudi barvne mreže. Učinkovitost uporabe protitočnih mrež v pridelavi sadja in njen vpliv na propustnost svetlobe, barvo in vsebnost kemičnih spojin v plodovih ter tudi na spremenjene klimatske razmere v sadovnjaku so dobro preučili v jugozahodni Evropi in južnoameriških sadovnjakih (Andrews in Johnson, 1996; Dussi in sod., 2005; Gindaba in Wand, 2007; Jakopic in sod., 2009; Stampar in sod., 2002), kjer so ugotovili, da črne mreže zmanjšajo sončno osvetlitev do 45 % in v nekaterih primerih imajo negativen vpliv na razvoj in na končno barvo plodu, ki je pomemben parameter zunanje kakovosti in tržne vrednosti jabolka (Iglesias in Alegre, 2006; Shahak, 2008; Stamps, 2009). V ostalih študijah, kjer so uporabljali črno protitočno mrežo, fotosintezna aktivnost listov dreves v sončnih dneh in končna kakovost pridelka nista bili zmanjšani (Andrews in Johnson, 1996; Dussi in sod., 2005; Gindaba in Wand, 2007; Jakopic in sod., 2009; Stampar in sod., 2002), razen v centralno Evropskih razmerah (Andrews in Johnson, 1996; Dussi in sod., 2005; Gindaba in Wand, 2007; Jakopic in sod., 2009; Stampar in sod., 2002). V literaturi je na voljo le malo informacij o protitočni zaščiti v pridelavi zelenjave in študije so osredotočene predvsem na izboljšanje pridelave, kakovosti in čas pobiranja pridelkov z uporabo barvnih senčilnih mrež (Rajapakse in Kelly, 1995; Shahak, 2008). V pridelavi listnate zelenjave je bil pridelek značilno večji pod rdečo ali belo mrežo v primerjavi z mrežami drugih barv (modra, aluminijasta in črna) (Shahak, 2008). V Izraelu poteka pridelava paprike pod zaščitnimi senčilnimi mrežami, da se izognejo sončnim ožigom in zmanjšajo količino vode za namakanje. V pridelavi paprike pod fotoselektivnimi

mrežami (rdeča, rumena in bela) so ugotovili značilno povečanje (30-40 %) števila plodov na rastlino in s tem značilno povečanje količine pridelka (20-30 %) v primerjavi s kontrolo (črna mreža). Velikost ploda je bila primerljiva s kontrolo (črna mreža) (Shahak, 2008). V literaturi najdemo malo informacij o kazalcih kakovosti kot je kemični profil pridelkov zelenjave pridelane pod črno zaščitno mrežo.

2.3 GLIVA *Colletotrichum lindemuthianum*

2.3.1 Klasifikacija glive

Glivo *Colletotrichum lindemuthianum* uvrščamo med prave glive (Fungi) in sicer med zaprtotrošnice (Ascomycota). Hife so septirane, torej večcelične. Je heterotrofen organizem, za svojo rast in razvoj potrebuje organsko snov rastlinskega izvora. Je parazitska gliva in se razmnožuje spolno ali nespolno. Spolna oblika se pojavlja zelo redko in v posebnih razmerah, imenujemo jo *Glomerella lindemuthiana* Shear (sinonim: *Glomerella cingulata* f. sp. *phaseoli*), nespolno obliko pa imenujemo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. in Mag.) Biosi & Cavara (Bailey in Jeger, 1992).

2.3.2 Razširjenost glive

Gliva *C. lindemuthianum* je razširjena po vsem svetu, povzroča ekonomsko pomembne izgube pridelkov fižola (*Phaseolus vulgaris* L.) in je ena najbolj uničujočih boleznih, ki se pojavljajo na fižolu (Tu, 1992). Prisotna je skoraj na vseh svetovnih površinah, kjer se prideluje fižol, razen v območjih z zelo suho klimo in tam kjer pri namakanju ne orošujejo rastlin. Prvič je bila odkrita leta 1875 v Italiji, kmalu zatem pa v Nemčiji (Ivanović in Ivanović, 2001). V naših razmerah je najpomembnejša patogena gliva na fižolu. V vlažnih letih se lahko okužba zelo razširi. Zelo je raziskana v Severni Ameriki in Evropi, vendar kljub temu ostaja ena najresnejših boleznih na navadnem fižolu (Maček, 1986).

2.3.3 Bolezenska znamenja

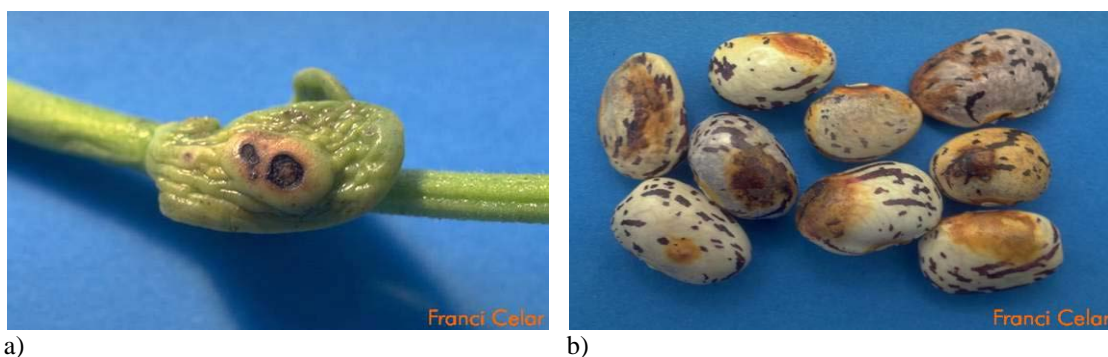
Najbolj očitna znamenja boleznih se pojavijo na strokih, ki dobijo rjave, škrlatno rdeče obrobljene, v sredini vleknjene nepravilne ali okroglaste pege. Zaradi vleknjenosti peg ji pravimo vdrti fižolova pegavost, ker pa so pege videti, kot bi bile vžgane v tkivo pravimo boleznih tudi fižolov ožig. Gliva okužuje vse nadzemne dele rastline. Propadejo že kalčki, stročje postane manj kakovostno ali celo neužitno. Okužuje lahko tudi stebela in liste, prizadete so lahko tudi listne žile (Maček, 1986; Tu, 1992).



Slika 5: Bolezenska znamenja pri okužbi z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* na strokih fižola (a, b, c) in na stebelu (d) (FITO-INFO, 2014).

Figure 5: The symptoms on bean pods (a, b, c) and on stem (d) infected with the fungus *Colletotrichum lindemuthianum* (FITO-INFO, 2014).

Močne okužbe lahko povzročijo celo izgubo vseh listov in propad rastline (Tu, 1992). Rastlino lahko gliva *C. lindemuthianum* okuži v različnih razvojnih fazah, kot sadike, odraslo rastlino ali seme. Vsi deli rastline niso enako občutljivi za okužbo z glivo. Nekrotični predeli se največkrat pojavijo na mladih poganjkih, na najmlajših steblih, listih in plodovih. Ponavadi koreninski sistem ostane neokužen. To, da so nekateri deli rastlin manj okuženi, je posledica dejstva, da patogen ne more predreti skozi to tkivo (Bailey in Jeger, 1992).



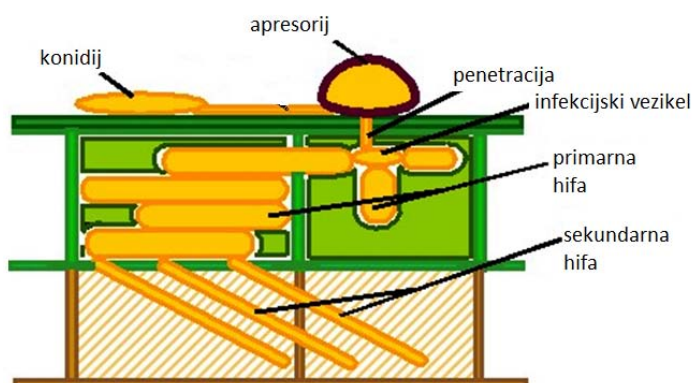
Slika 6: Bolezenska znamenja pri okužbi z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* na kaleči rastlini (a) in na zrnju (b) (FITO-INFO, 2014).

Figure 6: The symptoms on sprouting plant (a) and bean seeds (b) infected with the fungus *Colletotrichum lindemuthianum* (FITO-INFO, 2014).

2.3.4 Potek okužbe z glivo *Colletotrichum lindemuthianum*

Za nastanek rastlinske bolezni je v danih vremenskih razmerah potreben stik in reakcija rastline in patogena. Na uspešnost okužbe vplivajo rastlina (vrsta, kultivar, starost, prehranjenost...), patogen (virulenčnost seva, število...) in okolje (vlaga, temperatura, veter...). Med okužbo patogen iz mrtvega protoplasta z neposrednim sprejemanjem ali predhodno encimsko razgradnjo pridobi hranila, s tem pa na rastlini povzroči nastanek bolezenskih znakov (Agrios, 1997). Okužba z glivo *C. lindemuthianum* poteka v dveh fazah: v kratki biotropični fazi gliva ne povzroča vidnih poškodb, ampak se prilagaja na življenje v celici, za tem pa nastopi nekrotropična faza, ki je uničevalna. Simptomi vdrte fižolove pegavosti se pojavijo v drugi fazi in samo na občutljivih rastlinah (Bailey in Jeger, 1992).

Glive neposredno vstopajo v rastlino s pomočjo apresorija (nabrekla konica hife) in prodornega klina, ki nastaneta na stiku klične hife ali micelija s površino rastline. Glive se na rastlinsko površino pritrjuje s pomočjo apresorija zgrajenega iz polisaharidov, glikoproteinov, polimerov heksozaminov in vlaknastih snovi, ki ob prisotnosti vlage postane lepljiv in nudi dober stik s podlago in zaščito pred škodljivimi zunanjimi vplivi. Prodorni klin nato predre kutikulo in celično steno z mehansko silo in izločanjem encimov (Agrios, 1997). Melanin daje apresoriju temno barvo, ščiti pred škodljivim sevanjem, ojača steno apresorija in mu s tem omogoča prodiranje v rastlino. Konidiji ali askospore glive *C. lindemuthianum* se pritrjuje na hipokotil rastline. Ta vezava ni specifična, kar pomeni, da se na vse površine veže enako. Nato gliva začne kaliti in ustvari apresorij, ki se pritrdi na površje rastline. Pritrdi se na mestu, kjer je izvedba penetracije možna. *C. lindemuthianum* vstopa v rastlino direktno s penetracijo skozi celično steno. Gliva neposredno prodira na tri različne načine: z mehansko močjo, izločanjem encimov, ki razgradijo kutin, ali pa kombinacijo obeh naštetih možnosti (Bailey in Jeger, 1992). Glive ob okužbi sproščajo različne encime, toksine, rastne regulatorje in polisaharide, med njimi so zelo pomembni encimi kutinaze, ki služijo razgradnji kutina in jih najdemo v največjih koncentracijah ob prodiranju penetracijskega klina (Agrios, 1997). Glive iz rodu *Colletotrichum* tvorijo veliko encimov, ki lahko uničijo rastlinsko tkivo in jih razdelimo v dve skupini. V prvi skupini so encimi, ki razgradijo ogljikove hidrate in s tem raztopijo celično steno in v drugi tisti, ki hidrolizirajo kutikule. Prvi imajo vlogo pri širjenju infekcije, drugi pa pri prehrani patogena (Bailey in Jeger, 1992).

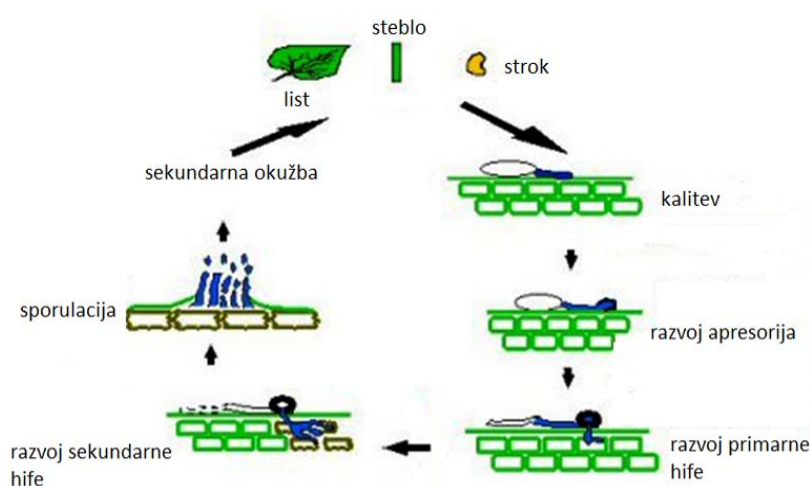


Slika 7: Potek okužbe z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* (Bailey in Jeger, 1992).

Figure 7: *Colletotrichum lindemuthianum* plant infection (Bailey in Jeger, 1992).

2.3.5 Razvojni krog

Micelij glive *Colletotrichum lindemuthianum* spomladi zraste v kalečo rastlinico, kjer se na kličnih listih vidijo prva bolezenska znamenja. Na vleknjenih pegah gliva zelo hitro oblikuje ležišča trosov (acervule) in v njih veliko enoceličnih hialinih konidijev. Ti haploidni konidiji se širijo le ob veliki vlažnosti in v vetrovnem vremenu. V razmerah ugodnih za glivo, se oblikujejo nova bolezenska znamenja na listih, stebelcih in še posebej na strokih, kjer se med rastno dobo lahko na opisani način večkrat ponovno oblikujejo konidiji. Pri zgodnji okužbi stroka preraste micelij v zrno, v katerem prezimi z vidnimi simptomi ali brez njih. Okuženi rastlinski ostanki so le redko vir nove okužbe (Maček, 1986).



Slika 8: Razvojni krog glive *Colletotrichum lindemuthianum* (Bailey in Jeger, 1992).

Figure 8: Development cycle of the *Colletotrichum lindemuthianum* fungus (Bailey in Jeger, 1992).

2.3.6 Vpliv temperature in vlage na razvoj bolezni

Temperatura in vlaga sta pomembna dejavnika, ki vplivata na razvoj in širjenje vdrte fižolove pegavosti. Idealni pogoji so toplo, vlažno vreme s temperaturami 15-26 °C in večjo zračno vlago kot 92 %. Patogen se širi z brizganjem spor na krajše razdalje, še posebno v vlažnem vremenu. V Kanadi so raziskovalci ugotovili, da so se tekom nevihte spore širile do 4,6 m od žarišča. V eni sezoni ena rastlina lahko razširi bolezen v radiju 30 m. Smer širjenja bolezni sovпада s smerjo pihanja vetra in bolezen se hitreje širi v letu, ko je več padavin. Nove infekcije se pojavijo 3 do 7 dni po padavinah, odvisno od temperaturnih razmer (Bailey in Jeger, 1992). Najhuje se bolezen pojavlja v vlažnem letu, v vlažnem podnebjju z veliko padavinami, v vlažni zemlji in na nizkih kultivarjih fižola (Tu, 1992). Vlažnost torej zelo pospešuje bolezen, zlasti zato, ker je temperaturno območje za kalitev trosov zelo široko (od 4 do 34 °C, z optimumom med 22 in 23 °C) (Maček, 1986).

2.3.7 Zatiranje bolezni

Fižolovo vrsto pegavost zatiramo oziroma omejujemo s sajenjem odpornih kultivarjev, razkuževanjem semena (95-98 % uspeh), nadzorovano pridelavo semena, uporabo fitofarmaceutskih sredstev, optimalno gostoto setve rastlin, optimalnim gnojenjem rastlin in z zadelavo rastlinskih ostankov v tla (Bailey in Jeger, 1992; Kelly in Vallejo, 2004; Krupinsky in sod., 2002; Maček, 1986; Naqvi in sod., 2011; Smith in sod., 1988). Uporaba razkuženega semena in odpornih kultivarjev omejuje bolezen v razvitem svetu, v nerazvitem svetu pa prevladuje uporaba fitofarmaceutskih sredstev (Bailey in Jeger, 1992; Maček, 1986; Smith in sod., 1988). Karantena je uporaben ukrep ob pojavu novega seva glive ali pri širitvi obstoječega seva v nova območja (Krupinsky in sod., 2002). Patogen lahko preživi tudi 5 let v posušeni strokih in semenih skladiščenih pri 4 °C, na prostem v zimskih razmerah pa patogen ne preživi (Bailey in Jeger, 1992). Kljub vsem ukrepom se še vedno dogaja, da občasno bolezen izbruhne v velikem obsegu, še posebno na območjih, kjer uporabljajo občutljive kultivarje. Z gojenjem odpornih kultivarjev se dokaj učinkovito obranimo okužbe z glivo *C. lindemuthianum* (Bailey in Jeger, 1992; Kelly in Vallejo, 2004). Vemo, da se mehanizmi rezistence rastline nanašajo na lastnosti, ki omejujejo napad patogena, mehanizmi odpornosti pa povečajo odpornost rastline s prilagoditvijo fiziologije, da bi ublažili posledice napada patogena ali herbivora (Naqvi in sod., 2011).

Ob pregledu najnovejše literature o glivi *Colletotrichum lindemuthianum* v povezavi z njenim gostiteljem navadnim fižolom, smo ugotovili, da raziskave o glivi potekajo na zelo različnih področjih. Raziskovalci preučujejo gene fižola odgovorne za odpornost na glivo, preučujejo odzive rastline fižola na različne rase patogena, vplive okužbe z glivo na fotosintetsko aktivnost rastline, preučujejo možnosti uporabe novih fitofarmaceutskih

sredstev za zatiranje bolezni, tretiranja rastlin z določenimi pripravki za povečanje odpornosti rastline na glivo, preučujejo uporabo mikrovalov za zatiranje glive na okuženih semenih... (Campa in sod., 2014; Friesen in sod., 2014; Polanco in sod., 2014; Quintana-Rodriguez in sod., 2015; Rodrigues in sod., 2015).

2.4 OBRAMBA RASTLIN PRED PATOGENI

Tvorba fizičnih preprek in tvorba toksičnih sekundarnih metabolitov sta glavna načina obrambe rastline pred različnimi patogeni. Uporaba in kombiniranje teh dveh sistemov je odvisna od rastlinske vrste in napadenega organa, starosti in prehranjenosti rastline, podnebnih razmer in vrste patogena. Odpornost proti patogenom je odvisna predvsem od kemične obrambe oziroma tvorbe sekundarnih metabolitov, te pa v rastlinskem tkivu najdemo v aktivni obliki ali pa v obliki neaktivnih prekurzorjev. Slednji se aktivirajo z encimi gostitelja, ki se tvorijo kot odgovor na napad patogena ali na poškodbo tkiva (Agrios, 1997). Sekundarni metaboliti so v rastlinskem tkivu lahko v večjih ali manjših količinah prisotni že v naprej ali pa inducirani z okužbo in jim pravimo fitoaleksini. Fitoaleksini in druge vnaprej sintetizirane snovi, ki imajo antipatogeni učinek, so značilne za posamezno rastlinsko vrsto in številne med njimi pripadajo različnim skupinam fenolov (Grayer in Kokubun, 2001). Hitro prepoznavanje patogena je ključno za pravočasen odgovor rastline na okužbo (Agrios, 1997).

2.5 PRIMARNI METABOLITI V NAVADNEM FIŽOLU

Primarni metaboliti imajo ključno vlogo v procesih fotosinteze, dihanja, rasti in razvoja. Med primarne metabolite uvrščamo ogljikove hidrate (sladkorji), organske kisline, maščobe, aminokisline in klorofil (Taiz in Zeiger, 2010). Vsebnost metabolitov se razlikuje glede na rastlinsko vrsto, pomemben vpliv pa imajo tudi klimatske razmere, agrotehnični ukrepi, stopnja dozorelosti in način ter čas skladiščenja (Štampar in sod., 2009). Za pridelovalce so najpomembnejši ogljikovi hidrati in organske kisline, saj imajo najpomembnejši vpliv na okus plodov. Vsebnost nekaterih metabolitov je tesno povezana z zmožnostjo rastline, da ta zmanjša obseg okužbe s patogenom. Nekaj študij navaja antimikrobni efekt organskih kislin in sladkorjev na rast mikroorganizmov v hrani (Naqvi in sod., 2011).

2.5.1 Ogljikovi hidrati (sladkorji)

Ogljikovi hidrati sodijo med najbolj razširjene spojine med biomolekulami, ki nastajajo v procesu fotosinteze in predstavljajo najpomembnejši vir energije za živa bitja (Belitz in sod., 2009). Delimo jih na monosaharide, disaharide in polisaharide. Monosaharidi so zgrajeni iz ene molekule in so najbolj preprosto zgrajeni ogljikovi hidrati. Med

monosaharide uvrščamo glukozo in fruktozo, ki sta produkt fotosinteze v citosolu fotosintetskih celic in se ne moreta premeščati po floemu, služita pa kot vmesna člena pri sintezi saharoze (Požar, 2003; Scott, 2008). Disaharidi so zgrajeni iz dveh molekul monosaharidov, sem uvrščamo saharozo, ki v večini rastlin služi kot oblika za premeščanje ogljikovih hidratov po rastlini (Jackson in sod., 2011; Požar, 2003). Pri rastlinah, ki so sposobne pokončati patogena ali vsaj preprečevati njegovo rast, so raziskovalci opazili povezavo med količino sladkorjev in količino proizvedenih antimikrobnih spojin (Naqvi in sod., 2011).

Koliko zelenjave bomo zaužili je med drugim odvisno tudi od okusa, ki ga zelenjava ima (Glanz in sod., 1998). Okus pa je zelo povezan s kemično sestavo (Auerswald in sod., 1999). Med primarnimi metaboliti sladkorji, predvsem fruktoza, glukoza in saharoza pomembno vplivajo na okus in uživanje stročjega fižola. Stroki stročjega fižola vsebujejo največ fruktoze (60 g kg⁻¹ suhe snovi), sledi glukoza (30 g kg⁻¹ suhe snovi) in saharoza (4 g kg⁻¹ suhe snovi) (VandenLangenberg in sod., 2012).

2.5.2 Organske kisline in vitamin C

2.5.2.1 Organske kisline

Organske kisline so pomembne za rastline, saj so vmesni členi metaboličnih procesov in so neposredno povezane z rastjo, razvojem in senescenco. V zelenjavi so prisotne v različnih koncentracijah, imajo vpliv na aromo, okus in barvo plodov in tudi posreden vpliv na metabolizem fenolov, saj regulirajo pH v celici (Belitz in sod., 2009; Flores in sod., 2012). Najbolj zastopani organski kislini v zelenjavi sta jabolčna in citronska kislina. Nizek stročji fižol vsebuje 37,6-51,6 g kg⁻¹ suhe mase jabolčne in 6,1-11,7 g kg⁻¹ suhe mase citronske kisline. Poleg teh dveh pa vsebuje še fumarno (3,7-5,1 g kg⁻¹ suhe mase) in šikimsko kislino (2,0-2,4 g kg⁻¹ suhe mase) (Mikulic-Petkovsek in sod., 2014). Vsebnost prostih titracijskih kislin je 0,2-0,4 g/100 g sveže mase, kar je v primerjavi s sadjem zelo nizka vsebnost (Belitz in sod., 2009). Organske kisline vplivajo na kislost tkiva in na zaznavo, kaj je sladko in kaj ne. Pri nekaterem sadju in zelenjavi je razmerje organskih kislin in sladkorjev uporabljeno kot indikator zrelosti (Martinez in sod., 1995). Organske kisline in njihove soli lahko same ali v kombinaciji zmanjšujejo rast nekaterih patogenov. Glivo *C. gloeosporioides* so raziskovalci gojili ob dodatku različnih organskih kislin v različnih koncentracijah. Med preizkušenimi kislinami se je najbolje izkazala očetna kislina, ki je pri koncentraciji 25 mM zmanjšala rast glive le na 9,2 % v primerjavi s kontrolo, pri koncentraciji 50 mM pa ni bilo rasti glive. Jabolčna, oksalna in citronska kislina so tudi uspešno preprečevale rast glive, saj so pri koncentraciji 25 mM zmanjšale rast glive na 13,5, 17 in 20,6 % v primerjavi z rastjo glive v kontroli. Očetna kislina je enako uspešno preprečila tudi rast gliv *C. coccodes* in *C. dematium* (Kang in sod., 2003).

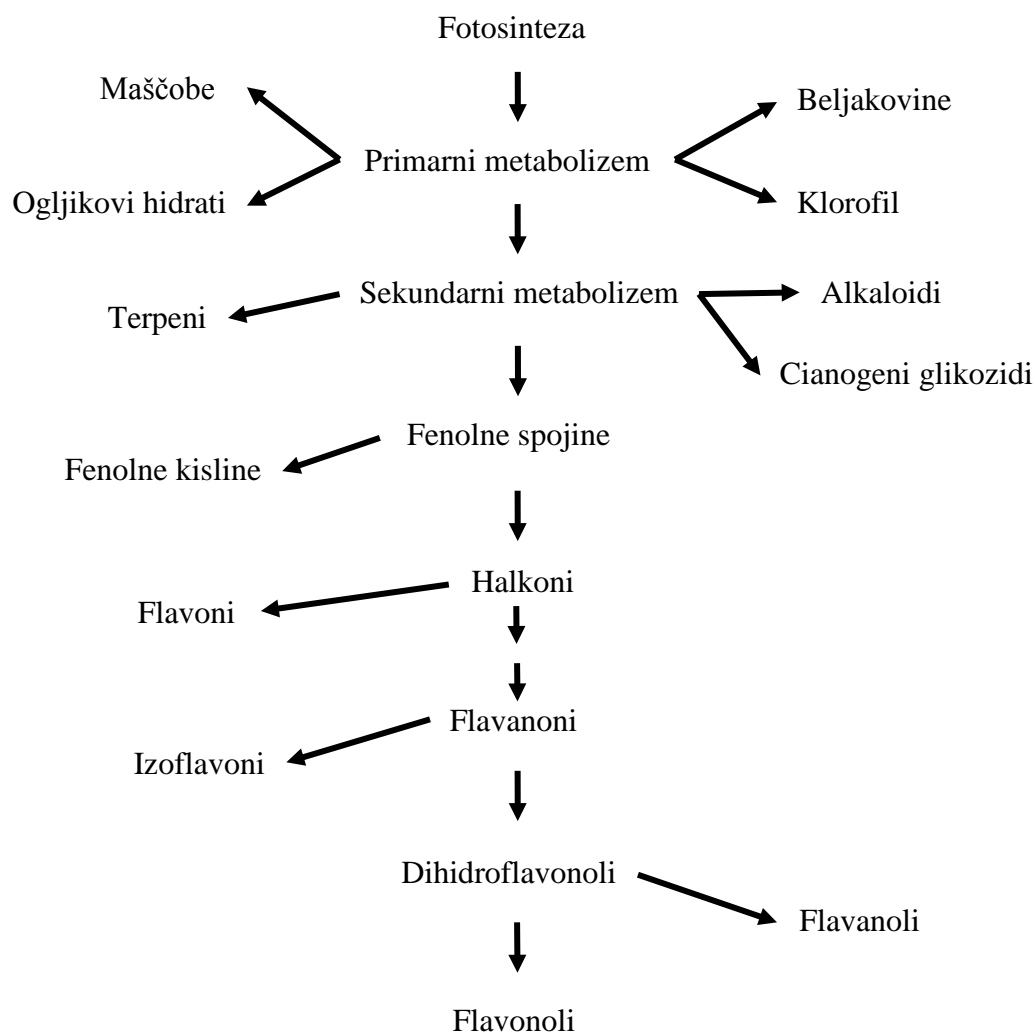
2.5.2.2 Vitamin C

Vitamin C ali askorbinska kislina je vodotopen vitamin. Največ ga najdemo v svežem sadju in zelenjavi. Najbogatejši vir vitamina C so šipek, črni ribez, češnje, plodovi citrusov, listnata zelenjava, paprika, zelje, paradižnik, krompir, zeleni in črni poper ter iglice zimzelenega grmičja. Kemično je askorbinska kislina ketolakton s šestimi ogljikovimi atomi, struktura je podobna glukozi in drugim heksozam. Je nenasičeni lakton z dvema hidroksilnima skupinama z močnimi reduktivnimi lastnostmi (Medić-Šarić in sod., 2002).

Vitamin C je najpomembnejši vitamin v človeški prehrani, ki ga lahko dobimo v sadju in zelenjavi. Je antioksidant, znižuje tveganje za nastanek arterioskleroze, srčnožilnih bolezni in nekaterih vrst raka (Harris, 1996). Priporočena dnevna količina (RDA) zaužitega vitamina C je za odraslega zdravega moškega 90 mg, za ženske pa 75 mg (Medić-Šarić in sod., 2002). Njegova sinteza je odvisna od mnogih dejavnikov pred in po spravilu strokov fižola, kot na primer različnih genotipov, klimatskih razmer, obdelovalnih razmer, velikosti strokov oziroma njihove stopnje zrelosti ob spravilu, način spravila strokov in nadaljnje obdelave strokov (Harris, 1996; Kader, 1996). Vitamina C je v nizkem stročjem fižolu 146 mg kg⁻¹ sveže mase (Baardseth in sod., 2010).

2.6 SEKUNDARNI METABOLITI

Sekundarni metaboliti nastanejo iz primarnih metabolitov ali njihovih intermediatov, so kompleksnejši in se velikokrat tvorijo v posebnih celicah oziroma tkivih. Sekundarne metabolite razdelimo v tri večje skupine: terpeni, fenoli in dušik vsebujoče spojine (Taiz in Zeiger, 2010). Za razliko od primarnih, sekundarni metaboliti nimajo direktnega vpliva na rast in razvoj celic, omogočajo pa rastlini preživeti v okolju. Danes vemo, da sekundarni metaboliti rastline varujejo pred napadom herbivorov in mikroorganizmov, rastlinam poleg tega služijo za privabljanje oprasovalcev in raznašalcev semen, v boju za rastni prostor, pri vzpostavitvi simbioze med rastlino in mikroorganizmi, za pigmentacijo, rast, reprodukcijo, varuje rastline pred UV- sevanjem in oksidacijo (Taiz in Zeiger, 2010).



Slika 9: Povezave primarnega in sekundarnega metabolizma v rastlinah (Reis Giada, 2013).
Figure 9: Inter-relationships between the primary and secondary metabolism in plants (Reis Giada, 2013).

2.6.1 Fenolne spojine

Fenolne spojine tvorijo drugo največjo skupino rastlinskih sekundarnih metabolitov s prepoznanimi že več kot 10000 spojinami. Fenolne spojine imenujemo vse spojine, ki imajo vsaj en aromatski obroč in na obroč vezano vsaj eno ali več -OH skupin. V naravi so običajno prisotne spojine z vezanimi več -OH skupinami, zato se je zanje uveljavilo tudi ime polifenoli (Abram in sod., 2000). Fenolne spojine so v velikih koncentracijah prisotne v epidermu listov in kožici plodov in imajo raznovrstne in pomembne vloge kot sekundarni metaboliti. Večina jih nastane po sintezni poti šikimske kisline (Scott, 2008). Biosintezna pot fenolnih snovi se začne s fenilalanin amonijak liazo, ključnim encimom med primarnim in sekundarnim metabolizmom rastlin, ki katalizira pretvorbo fenilalanina v cimetno kislino, katere derivati so prekurzorji širokega spektra sekundarnih metabolitov.

Flavonoidna pot se nadaljuje preko halkon sintaze, halkon izomeraze, flavonon-3 β -hidroksilaze, dihidroflavonol-4-reduktaze in antocianin sintaze do sinteze antocianinov. Različne glikoziltransferaze in druge transferaze pa določajo v katero smer se bodo razvijali končni produkti v fenilpropanoidni poti (Carbone in sod., 2009; Forkmann in Heller, 1999). Aktivnost encima fenilalanin amonijak liaze se močno poveča, kadar rastline izpostavimo mehanskim poškodbam, patogenom ali rdeči in ultravijolični (UV) svetlobi (Roemmelt in sod., 2003). Rastlinska vrsta, kultivar, vremenske razmere, rastišče, agrotehnični ukrepi, način pridelave ter okužba s patogeni vplivajo na vsebnost fenolnih spojin v rastlinah (Häkkinen in sod., 1999).

Rastline na mehanski stres (mehanske poškodbe, poškodbe insektov, okužb z glivami, bakterijami ali virusi) odgovorijo z izkoriščanjem v celici že prisotnih fenolnih spojin ali s tvorbo novo nastalih fenolnih spojin-fitoaleksinov (Abram in Simčič, 1997; Russell in sod., 2009). Znanstveniki pripisujejo fenolom tudi pomembno signalno vlogo pri cvetenju, oplojevanju in rastlinski simbiozi. Rastline se ob napadu potencialnih patogenov odzovejo z aktiviranjem obrambnih genov, tvorbo reaktivnih kisikovih spojin, sintezo proteinov povezanih s patogenezjo, lokalizirano okrepitevijo celične stene in proizvodnjo protimikrobnih spojin. Fenoli se lahko tudi oksidirajo in reagirajo s proteini ter tako povzročijo inaktivacijo encimov, s čimer zmanjšajo življenjsko sposobnost patogena (Forkmann in Heller, 1999; Hammerschmidt, 1999; Pedras in sod., 2011).

Veliko raziskav o vplivu genotipa, tehnologije pridelave in zunanjih dejavnikov na vsebnost fenolnih spojin je bilo opravljenih predvsem na paradižniku in papriki (Dumas in sod., 2003; George in sod., 2004; Ghasemnezhad in sod., 2011; Marin in sod., 2004), v literaturi pa najdemo malo informacij o vsebnosti fenolnih spojin v strokih fižola.

Fenolne spojine so v odpornih kultivarjih sintetizirane hitreje kot v občutljivih kultivarjih. Toksičnost lahko rastlina doseže s sintezo ene same spojine ali pa kombinacijo večih različnih fenolnih spojin (Agrios, 1997). Odpornost rastlin na nekatere ekonomsko pomembne bolezni in škodljivce je povezana z vsebnostjo in raznovrstnostjo fenolnih spojin v rastlinski celici (Mikulic-Petkovsek in sod., 2009; Rusjan in sod., 2012). V primerjavi listov občutljivih in odpornih kultivarjev hrušk na hrušev ožig, so raziskovalci ugotovili, da imajo kultivarji, odporni na hrušev ožig, višjo raven fenolnih spojin v listih (Gunen in sod., 2005). Vsebnost fitokemikalij v različnem sadju in zelenjavi je zelo zanimiva tema v prehranski znanosti predvsem zato, ker imajo te spojine pomembno vlogo za človekovo zdravje (Lundegardh in Martensson, 2003).

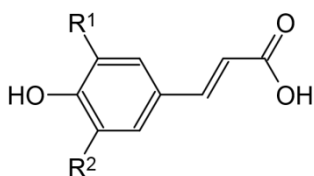
Fitoaleksini so toksične spojine, ki jih rastlina tvori le po stiku z različnimi tipi patogenih mikroorganizmov ali po kemični ali mehanski poškodbi. Fitoaleksini so raznolika skupina spojin in so lahko molekularni označevalci odpornosti na različne bolezni

(Hammerschmidt, 1999; Huffaker in sod., 2011; Pedras in sod., 2011; Schmelz in sod., 2011; Shinbo in sod., 2006). Rastlina po prejemu signalnih spojin, ki jih sprostijo poškodovane celice, širjenje glive zaustavi s tvorbo primerne količine toksičnih fitoaleksinov. Pri stročnicah so fitoaleksini največkrat izoflavonoidi (Agrios, 1997). Fitoaleksini se tvorijo v odpornih in občutljivih rastlinskih vrstah oz. kultivarjih, toda v občutljivih gostiteljih je njihova sinteza po okužbi hitra (Kuć, 1997). Fitoaleksini naj bi poleg obrambne funkcije kmetijskih rastlin imeli tudi ugodne vplive na človekovo zdravje, saj delujejo antioksidativno, protivnetno, zmanjšujejo nivo holesterola v krvi in preprečujejo nastanek rakavih obolenj (Boue in sod., 2009).

Povprečna vsebnost skupnih fenolov v strokih nizkega fižola je 221 mg GAE kg⁻¹ sveže mase (Baardseth in sod., 2010). Fenolne spojine najdene v strokih nizkega stročjega fižola lahko razdelimo v naslednje skupine: fenolne kisline, flavonoli, flavanoli, flavoni, dihidrohalkoni, flavanoni, izoflavoni in izoflavanoni (Abu-Reidah in sod., 2013). Mikulič in sod. (2014) so pri analizi zdravega in okuženega tkiva na fižolovem stroku ugotovili, da zdravo tkivo vsebuje 3500 µg g⁻¹ suhe mase skupnih fenolov, od tega 200 µg g⁻¹ suhe mase derivatov hidroksicimetnih kislin, 1800 µg g⁻¹ suhe mase flavan-3-olov, 25-30 µg g⁻¹ suhe mase dihidrohalkonov in 240-540 µg g⁻¹ suhe mase flavonolov. Vsebnosti omenjenih spojin pa so bile v mejnem tkivu, ki obdaja okuženo pego, nekajkrat večje: najbolj se je povečala vsebnost flavan-3-olov in dihidrohalkonov (v povprečju za 8 krat), nekoliko manj je narasla vsebnost hidroksicimetnih kislin in flavonolov (v povprečju za 5 krat).

2.6.1.1 Hidroksicimetne kisline

Hidroksicimetne kisline in derivati imajo C6-C3 skelet. Med seboj se razlikujejo v vezavi funkcionalnih skupin na C6 obroču. V tej skupini so cimetna, kavna, kumarna, ferulna kislina in druge ter njihovi derivati (Crozier in sod., 2006).



Slika 10: Kemijska struktura hidroksicimetnih kislin (Manach in sod., 2004).

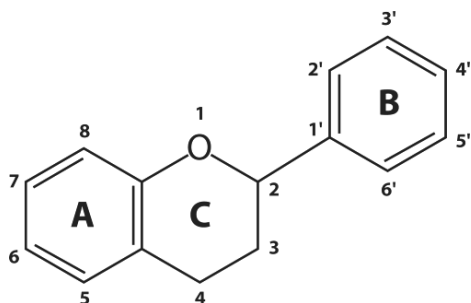
Figure 10: Chemical structure of hydroxycinnamic acids (Manach in sod., 2004).

2.6.1.2 Flavonoidi

Najbolj razširjena skupina fenolnih spojin v rastlinskem svetu so flavonoidi, ki šteje okrog 6500 različnih spojin. Flavonoidi se običajno nahajajo v celičnih vakuolah, včasih pa tudi v kromoplastih in kloroplastih (Oven in sod., 2011). Osnovo flavonoidov predstavlja

flavonoidno jedro. Jedro je sestavljeno iz dveh fenolnih obročev (A in B) in piroanskega obroča (C). Benzenski obroč A je kondenziran s piroanskim obročem C, ki na mestu 2 nosi fenilni benzenski obroč B. Velika raznolikost flavonoidov obstaja zaradi zamenjav, združevanja, razlik v strukturi, različnih stopenj hidroksilacije in različnih stopenj polimerizacije (Lapornik, 2005). V naravi so flavonoidi običajno glikozilirani. To pomeni, da imajo na obroč vezane različne monosaharide (glukoza, galaktoza, arabinoza, ramnoza), ali pa tudi daljše verige. Sladkor je največkrat vezan na C3, C5 ali C7 atom. Nesladkorni del molekule imenujemo aglikon (Abram in sod., 2000).

Flavonoidi so pogosto zastopani v rastlinah in imajo številne biokemične in farmakološke učinke. Večina spojin je vidna v UV spektru. Glede na stopnjo oksidacije heterocikličnega obroča flavonoide razdelimo v nekaj podskupin: flavonoli (kvercetin in kempferol), flavanoli (katehin in epikatehin) in njihovi polimeri (proantocianidini), flavoni (apigenin in luteolin), flavanoni (naringenin in hesperetin), izoflavoni (genistein in daidzein), antocianini (cianidin in malvidin). V manjših količinah se pojavljajo flavan-3,4-dioli, dihidroflavonoli, halkoni, kumarini, auronin in dihidrohalkoni (Crozier in sod., 2006).

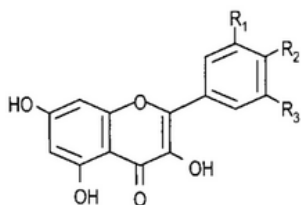


Slika 11: Kemijska struktura flavonoidov (Stefek, 2011).
Figure 11: Chemical structure of flavonoids (Stefek, 2011).

Flavonoli

Flavonoli so zelo razširjen podrazred flavonoidov (Robards in sod., 1999). V skupino flavonolov so uvrščeni kvercetin, kempferol, izoramnetin in miricetin, ki se najpogosteje nahajajo kot 3-glikozidi in redkeje kot 7-glikozidi (Lapornik, 2005).

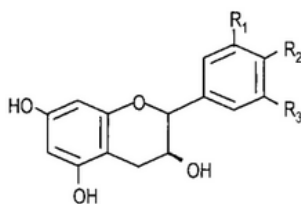
Mnogi flavonoli lahko predstavljajo obrambo pred glivami (Del Rio in sod., 2003; Mikulic-Petkovsek in sod., 2009; Treutter in Feucht, 1990).



Slika 12: Kemijska struktura flavonolov (Manach in sod., 2004).
 Figure 12: Chemical structure of flavonols (Manach in sod., 2004).

Flavanoli

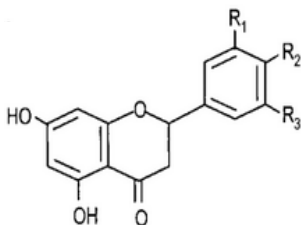
Flavanoli so skupina kamor so uvrščeni monomeri (katehin, epikatehin), oligomeri ali polimeri proantocianidinov, imenovani tudi kondenzirani tanini (Crozier in sod., 2006). Mnogi flavanoli lahko predstavljajo obrambo pred glivami (Del Rio in sod., 2003; Mikulic-Petkovsek in sod., 2009; Treutter in Feucht, 1990).



Slika 13: Kemijska struktura flavanolov (Manach in sod., 2004).
 Figure 13: Chemical structure of flavanols (Manach in sod., 2004).

Flavanoni

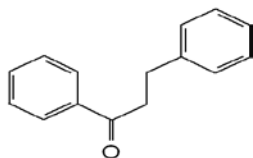
Značilnosti flavanonov so, da nimajo dvojne vezi med drugim in tretjim C atomom, imajo keto (oksi) skupino na C4 atomu in prisotnost kiralnega centra na C2 atomu. Najpogosteje se pojavljajo v citrusih (Crozier in sod., 2006). Lahko so grenkega ali nevtralnega okusa, z odprtjem obroča se spremenijo v sladke halkone, ki se po dodatni hidrogenaciji stabilizirajo kot sladki dihidrohalkoni (Lapornik, 2005).



Slika 14: Kemijska struktura flavanonov (Manach in sod., 2004).
 Figure 14: Chemical structure of flavanons (Manach in sod., 2004).

Dihidrohalkoni

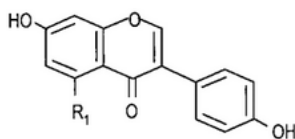
V to skupino uvrščamo floridzin. Našli so ga v listih jablane in trdijo, da ima pomembno vlogo v obrambnih sistemih rastline proti različnim boleznim (Vermeris in Nicholson, 2007).



Slika 15: Kemijska struktura dihidrohalkonov (Crozier in sod., 2006).
Figure 15: Chemical structure of dihydrochalcones (Crozier in sod., 2006).

Izoflavoni

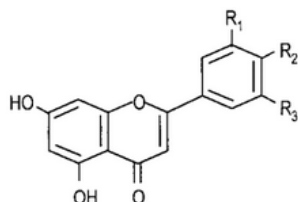
Izoflavoni imajo B-obroč pritrjen na C3 in ne na C2 mesto. Najdemo jih skoraj izključno v stročnicah. Izoflavona genistein in daidzein lahko poimenujemo tudi rastlinski estrogen, saj imata značilno estrogensko delovanje, ki lahko resno vpliva na reprodukcijo pašnih živali kot so krave in ovce (blokira ovulacijo). Zato je potrebno uporabo metuljnic v krmi omejiti ali pa uporabljati kultivarje z nizkimi vsebnostmi izoflavonov (Crozier in sod., 2006).



Slika 16: Kemijska struktura izoflavonov (Manach in sod., 2004).
Figure 16: Chemical structure of isoflavones (Manach in sod., 2004).

Flavoni

Flavoni so strukturno zelo podobni flavonolom. Flavone pa za razliko od flavonolov ne najdemo tako široko zastopane v rastlinskem svetu. Med sadnimi vrstami poročajo njihovo prisotnost v citrusih (nobiletin in tangeretin) (Crozier in sod., 2006).



Slika 17: Kemijska struktura flavonov (Manach in sod., 2004).
Figure 17: Chemical structure of flavones (Manach in sod., 2004).

2.6.2 Fenolne spojine v fižolu

Mikulic-Petkovsek in sod. (2014) navajajo, da so rastline nizkega fižola na stresne razmere ob prisotnosti *Colletotrichum lindemuthianum* odreagirale s povečano sintezo specifičnih sekundarnih metabolitov, med kultivarjema 'Re dei burri' in 'Top crop' pa niso opazili značilnih razlik v vsebnosti skupnih fenolov. V strokih nizkega fižola štirih kultivarjev so določili 25 različnih fenolnih spojin, ki so jih razvrstili v sledeče skupine: derivati hidroksicimetnih kislin, flavanoli, dihidrohalkoni in flavonoli. Največji delež določenih fenolnih spojin so predstavljali flavanoli (50-75 %) in flavonoli (15-30 %). V skupini flavanolov so bili pomembni različni procianidin monomeri, dimeri in trimeri ter katehin. Našli so razlike v količini flavanolov med kultivarji. Vsebnost flavanolov je bila najvišja v odpornih kultivarjih nizkega fižola 'Paulista' in 'Berggold'. V strokih kultivarjev 'Re dei burri' in 'Top crop' so zaznali glikozide kvercetina (70 do 80 % skupnih flavanolov), kempferola (15 do 25 %) in izoramnetina (manj kot 5 %). Derivati hidroksicimetnih kislin so predstavljali 5 do 10 % skupnih fenolov, določili so 7 različnih derivatov. Večjo vsebnost derivatov hidroksicimetnih kislin ugotavljajo v občutljivih kultivarjih nizkega fižola 'Re dei burri' in 'Top crop'. Iz skupine dihidrohalkonov so določili floretin-C-diglikozid in floridzin-C-diglikozid. Med proučevanimi kultivarji je kultivar 'Paulista' vseboval največ dihidrohalkonov, kar bi lahko bilo povezano z njegovo odpornostjo na okužbo z glivo *C. lindemuthianum*. Campos in sod. (2004) so pri štirih kultivarjih fižola ugotovili pozitivno povezavo med vsebnostjo fenolov in odpornostjo na antraknozo.

Abu-Reidah in sod. (2013) so v strokih nizkega fižola treh kultivarjev določili 72 različnih spojin, ki so jih razporedili v različne skupine: fenolne kisline (hidroksibenzojske in hidroksicimetne kisline), flavonoide (flavonoli, flavanoli, flavoni, dihidrohalkoni, flavanoni, izoflavoni in izoflavanoni), lignine in ostale. Poročajo, da je največji delež skupnih fenolov v strokih nizkega fižola pripadal flavanolom in njihovim derivatom. Določili so 41 različnih flavanolov, pet različnih spojin iz skupine derivatov hidroksicimetnih kislin, šest flavanonov, dva izoflavona in tri flavone. Escarpa in Gonzalez (2000) sta v svoji raziskavi določila fenolne spojine v strokih fižola, semenih stročjega fižola in strokih brez semen. Kromatogrami vzorcev strokov so bili bolj kompleksni, semen pa manj. Kromatogram strokov s semeni je bil podoben kromatogramu strokov brez semen. Najpomembnejši fenoli v strokih fižola so bili flavanol glikozidi in flavanoli, opazili so razlike med kultivarji. Flavanol glukozidi so bili razporejeni v kvercetin in kamferol razrede in so jih našli v zunanjih delih ploda. Katehin, epikatehin in procianidini so bili določeni v strokih in semenih. Hempel in Bohm (1996) navajata, da so v rumeno in zelenostročnih kultivarjih nizkega fižola glavni identificirani fenoli 3-*O*-glukuronidi in 3-*O*-rutinozidi kvercetina in kempferola.

Jakopic in sod. (2013) so preučili vpliv različnih pridelovalnih sistemov na kemično sestavo strokov nizkega fižola kultivarja 'Top crop'. Našli so 16 različnih fenolnih spojin iz štirih skupin. Ugotovili so, da so različni pridelovalni sistemi vplivali le na vsebnost nekaterih posamičnih fenolov, med tem ko na skupno kemično sestavo strokov ni bilo vpliva. Stroki iz integrirane pridelave so vsebovali največ katehina, procianidin dimerov in derivatov vanilne kisline. Organsko in biodinamično pridelovanje je zmanjšalo vsebnost katehina in *p*-kumaroil alderičnih kislin. Stroki iz konvencionalne pridelave so imeli najnižjo vsebnost veliko fenolnih spojin iz različnih skupin. Baardseth in sod. (2010) so preučili vpliv različnih načinov konzerviranja stročjega fižola na spremenjeno kemično sestavo strokov fižola. Vsebnost skupnih fenolov se je gibala od 218,8 do 289, 1 mg GAE kg⁻¹ sveže mase stročjega fižola. Blanširanje in zmrzovanje stročjega fižola ni vplivalo na vsebnost skupnih fenolov. Tudi kuhanje ni zmanjšalo vsebnosti fenolov. Lin in sod. (2008) so analizirali vzorce 17 različnih kultivarjev zrnatega fižola in ugotovili, da so vsi kultivarji vsebovali enake derivate hidroksicimetnih kislin, razlikovali pa so se v sestavi flavonoidov in zato so kultivarje razvrstili v 6 različnih skupin. V nekaterih kultivarjih niso določili flavonoidov.

Ahuja in sod. (2012) navajajo da metuljnice na stresne razmere odgovarjajo predvsem s tvorbo fitoaleksinov, ki večinoma pripadajo skupini izoflavonov. V čičeriki sta glavna fitoaleksina medikarpin in makiain, v grahu pa pisatin. Lucerna je po okužbi z glivo *Colletotrichum trifolii* povečala izražanje genov povezanih s tvorbo flavonoidov in povečala proizvodnjo medikarpina in sativana. Veitch (2013) ugotavljajo, da so stročnice največji naravni vir izoflavonoidov in navajajo 275 novo odkritih izoflavonoidov v različnih stročnicah v letih 2008 do 2011. Abu-Reidah in sod. (2014) so v semenih boba določili 104 različne fenolne spojine, večino teh je pripadalo flavonoidom. Nekatere teh fenolnih spojin so bile prvič določene v semenih boba. Pedras in Ahiahonu (2005) trdijo, da so fitopatogene glive sposobne razgradnje njim toksičnih fitoaleksinov različnih stročnic naprimer fitoaleksine graha, fižola, čičerike in lucerne...

3 MATERIAL IN METODE DELA

3.1 MATERIAL

V poglavju so naštet in opisani materiali in metode dela, ki smo jih uporabili v naši raziskavi. Poskusa sta bila izvedena na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete v Ljubljani v letih 2011 (med aprilom in julijem) in 2012 (med aprilom in septembrom).

3.1.1 Opis kultivarjev nizkega stročjega fižola

V raziskavo smo vključili štiri tržne okroglostročne kultivarje nizkega stročjega fižola. 'Paulista' (Royal Sluis, Nizozemska) in 'Top crop' (Franchi Sementi, Italija) kot zelenostročna kultivarja ter 'Berggold' (Semenarna Ljubljana, Slovenija) in 'Re dei burri' (Franchi Sementi, Italija) kot rumenostročna kultivarja. Kultivarji se razlikujejo po odpornosti na glivo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc & Mgnus) Bri & Cav, kultivarja 'Paulista' in 'Berggold' sta odporna, 'Top crop' in 'Re dei burri' pa občutljiva (Franchi Sementi, 2010; Franchi Sementi, 2014; Semenarna Ljubljana, 2010; Semenarna Ljubljana, 2014).

'Paulista'

Rastline zrastejo 45 cm visoko, pridelek pobiramo po 58 dneh, je visoko roden kultivar primeren za stročje, naredi temno zelene stroke dolžine 13-15 cm, stroki so primerni tudi za predelovalno industrijo. Kultivar je odporen na glivo *C. lindemuthianum* (Semenarna Ljubljana, 2010).

'Berggold'

Tradicionalni evropski kultivar, seme kali 8-10 dni, rastlina doseže višino 50-60 cm, stroki so primerni za pobiranje po približno 55 dneh. Je zgođen kultivar nizkega fižola z rumenimi, okroglimi, breznitnimi stroki, dolžine 12-13 cm, odporen na glivo *C. lindemuthianum* (Semenarna Ljubljana, 2014).

'Top crop'

Tradicionalen evropski kultivar, seme kali 8-10 dni, rastlina doseže višino 50 cm. Je zgodnji kultivar nizkega fižola z zelenimi okroglimi, debelimi, mesnatimi, okusnimi stroki dolžine 14-15 cm (Franchi Sementi, 2014).

'Re dei burri'

Je srednje zgodnji, rumeno stročni kultivar, rastlina rodi po približno 56 dneh, stroki so okrogli, dolgi 13 cm in imajo premer 10 mm (Franchi Sementi, 2010).

3.1.2 Drugi uporabljeni material

Za izvedbo obeh poskusov smo potrebovali še:

- gojitvene plošče s 40 vdolbinami;
- šotni substrat za setev (Klasmann podgrund H);
- tablice za označitev obravnavanj;
- T-tape cevi za namakanje rastlin;
- črna PE zastirka na gredicah;
- kovinski loki za tunnel na katerega smo namestili črno protitočno mrežo oz. PVC folijo;
- motika kot pomoč pri odstranjevanju plevelov;
- koprena za zaščito rastlin ob nizkih temperaturah v začetku rastne sezone (začetek maja);
- papirnate (2011) in plastične (2012) vrečke za vzorčenje strokov;
- hladilna torba kot zaščita vzorcev pred vročino v času vzorčenja;
- tehtnica za tehtanje strokov nizkega fižola;
- pršilka za nanos glive na rastline;
- PVC prekrivka za zagotovitev 100 % vlage (boljši pogoji za okužbo);
- fotoaparata.

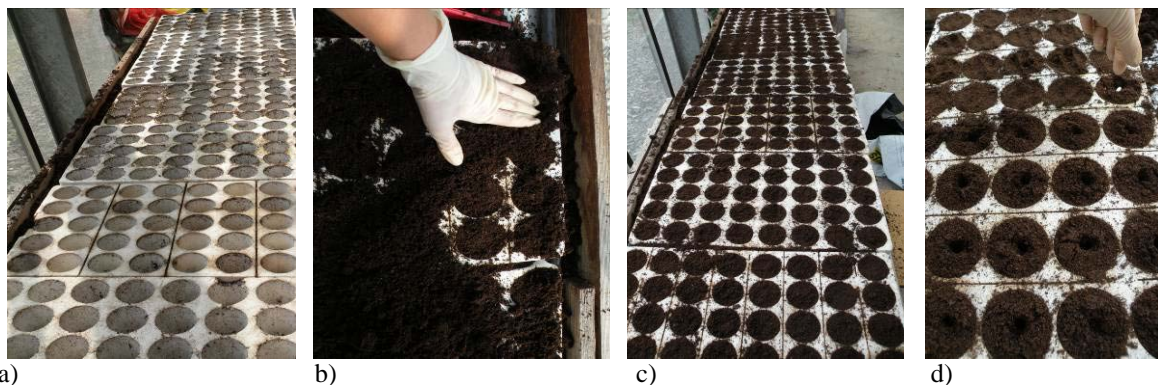
3.2 METODE DELA

3.2.1 Poskusna zasnova in vzorčenje

3.2.1.1 Zasnova poskusa o vplivu rastnih razmer, zrelosti stroka in kultivarja na vsebnost nekaterih primarnih in sekundarnih metabolitov v stroku nizkega fižola

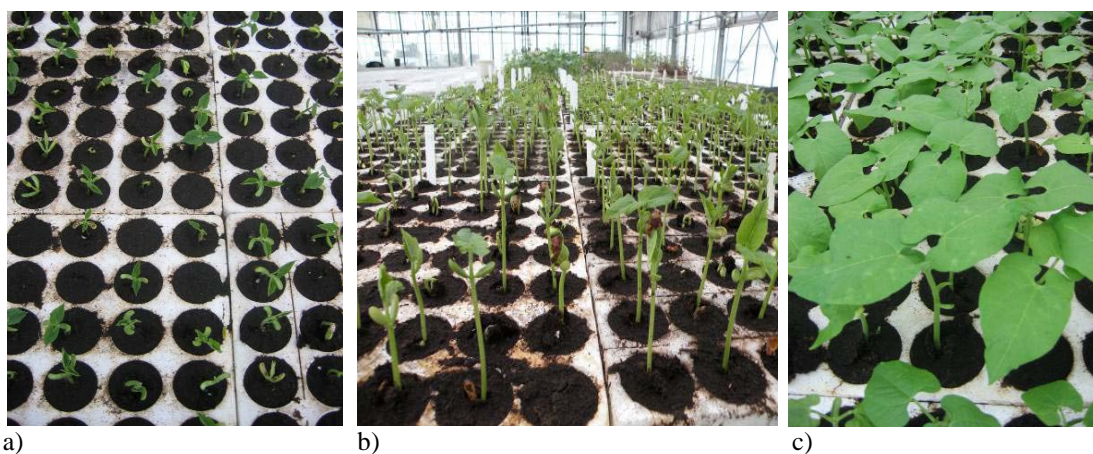
Poskus smo izvedli na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani (46°03' S in 14°31' V, 298 m nad morjem) in je potekal med aprilom in julijem 2011. Tla na polju so klasificirana kot gleični fluvisol in endogenični fluvisol in v zgornji plasti (0-0,3 m) vsebujejo 28 g kg⁻¹ organske snovi. Pred začetkom rastne sezone je bila v zgornji plasti povprečna začetna vsebnost dušika (N) 5,2 mg kg⁻¹, fosforja (P) 22 mg kg⁻¹ in 28 mg kg⁻¹ kalija (K). Na gredice smo dodali 105 kg N ha⁻¹, 40 kg P ha⁻¹, 150 kg K ha⁻¹ in 147 kg kalcija (Ca) ha⁻¹ kot kalcijev nitrat, superfosfat in kalijev sulfat (MKGP, 2011). Sledilo

je klasično utečeno oskrbovanje rastlin z vodo (kapljično namakanje). V času poskusa nismo uporabljali fitofarmaceutskih sredstev za zatiranje bolezni in škodljivcev.



Slika 18: a) Gojitvene plošče s 40 vdolbinami, b) polnjenje plošč s šotnim substratom Klasmann, c) plošče napolnjene s šotnim substratom Klasmann, d) ročna setev semena nizkega fižola v gojitvene plošče.
Figure 18: a) Culture plates with 40 wells, b) filling the plates with peat substrate Klasmann, c) plates filled with peat substrate Klasmann, d) manual sowing into culture plates.

Da smo skrajšali čas do pobiranja pridelka in zagotovili polno zastopanost vseh rastlin na poskusnih parcelah, smo vzgajali sadike nizkega stročjega fižola. Vzgojene so bile v steklenjaku v gojitvenih ploščah s 40 vdolbinami (dimenzije: 51,5 cm x 30 cm x 5 cm, vsaka celica ima volumen 90 ml, za celo ploščo potrebujemo 3,6 l substrata) napolnjenimi s šotnim substratom Klasmann.



Slika 19: a) Vznikanje nizkega fižola, b) enakomeren vznik nizkega fižola, c) sadike nizkega fižola pripravljene na presajanje.
Figure 19: a) Bean germination, b) uniform bean germination, c) bean seedlings ready for transplanting.

Sadike smo nato ročno presadili na sadilne razdalje 0,4 x 0,03 m (gostota sajenja 50 000 rastlin ha⁻¹) na dve dvignjeni gredici. Prvo gredico smo prekrili z 1 m širokim in 15 m dolgim nizkim tunelom narejenim iz črne protitočne mreže (dvojna črna vzdolžna in dvojna črna prečna vlakna z očesi, 6 × 8 mm, 55g m⁻², v celoti narejena iz UV stabilizirane

polietilenske monofilamentne preje), medtem ko druga gredica ni bila pokrita in je predstavljala kontrolo. Na vsako parcelo smo posadili 45 rastlin, v treh vzporednih vrsticah.

Pokrito s protitočno mrežo

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|
| B | R | T | P | B | P | R | T | B | T | P | R | T | R | B | P |

Na parceli: 3x15 rastlin=45 rastlin

Brez mreže-prosto

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|
| B | T | R | P | T | P | B | R | B | T | R | P | R | T | B | P |

Na parceli: 3x15 rastlin=45 rastlin

Legenda:

B='Berggold'

R='Re dei burri'

T='Top crop'

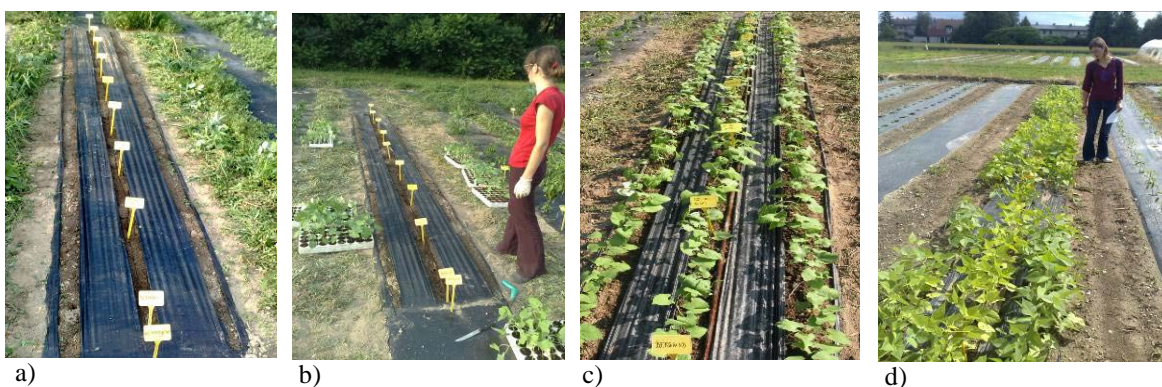
P='Paulista'

Dolžina gredice:12 m

Velikost parcele: 90 cm x 75 cm

Slika 20: Zasnova poskusa o vplivu rasti razmer, zrelosti stroka in kultivarja na vsebnost nekaterih primarnih in sekundarnih metabolitov v strokih nizkega fižola.

Figure 20: Design of the impact of growing conditions, cultivar and pod maturity on content of some primary and secondary metabolites in the dwarf Frenchbean pods experiment.



Slika 21: a) Pripravljena gredica za presajanje sadik nizkega fižola, b) presajenje sadik nizkega fižola na gredico, c) posajene sadike nizkega fižola, d) pregled in spremljanje rasti sadik nizkega fižola.

Figure 21: a) Bed for transplanting of bean seedlings, b) transplanting of dwarf French bean seedlings on the strand, c) planted bean seedlings, d) review and bean plants growth monitoring.



Slika 22: a) Nasad nizkega fižola, b) namestitev lokov, ki služijo kot držalo protitočne mreže, c) namestitev protitočne mreže nad rastline nizkega fižola (ustvarimo tunel), d) pogled na rastline, ki so pokrite s protitočno mrežo, e) rastline že začenjajo s cvetenjem.

Figure 22: a) Dwarf French beans plantation, b) placement of arches which serve as a handle of hailnet cover, c) placement of hailnet cover over dwarf French bean plants (to create the tunnel), d) the view on the plants covered with a hailnet, e) dwarf French bean plants are starting to flower.

3.2.1.2 Vzorčenje strokov nizkega fižola za ugotavljanje vpliva rastnih razmer, zrelosti stroka in kultivarja na vsebnost nekaterih primarnih in sekundarnih metabolitov v stroku nizkega fižola

Stroke petnajstih rastlin sredinske vrstice smo povzorčili 13. julija 2011 (44 dni po presajanju na polje). Vzorčni stroki so bili dveh različnih zrelosti, in sicer mladi stroki, ki so ravno začeli z razvojem, dolgi 5-7 cm in široki 5-6 mm ter tehnološko zreli stroki dolgi 11-13 cm in široki 10-11 mm. Vsak vzorec namenjen za analizo je bil sestavljen iz 5 do 10 strokov. Stroke smo po končanem vzorčenju hitro zmrznili v tekočem dušiku in skladiščili na $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ do opravljanja nadaljnjih analiz. Analize vitamina C smo opravili takoj po pobiranju.

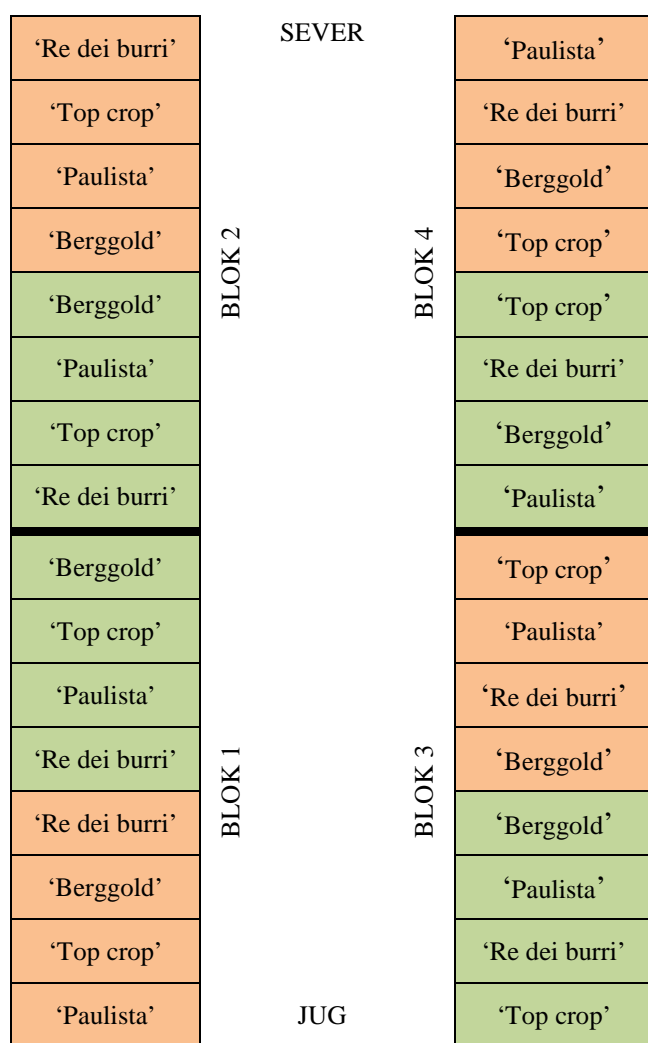


Slika 23: a) Nabiranje vzorčnih strokov nizkega fižola, b) in c) mladi stroki fižola in tehnološko zreli stroki, d) stroki skrbno shranjeni v dobro označenih vrečkah za vzorčenje.

Figure 23: a) The collection of dwarf French bean sample pods, b) and c) young bean pods and technologically mature pods, d) sampling pods carefully stored in marked bags.

3.2.1.3 Zasnova poskusa o vplivu okužbe z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* in kultivarja na vsebnost nekaterih primarnih in sekundarnih metabolitov v stroku nizkega fižola

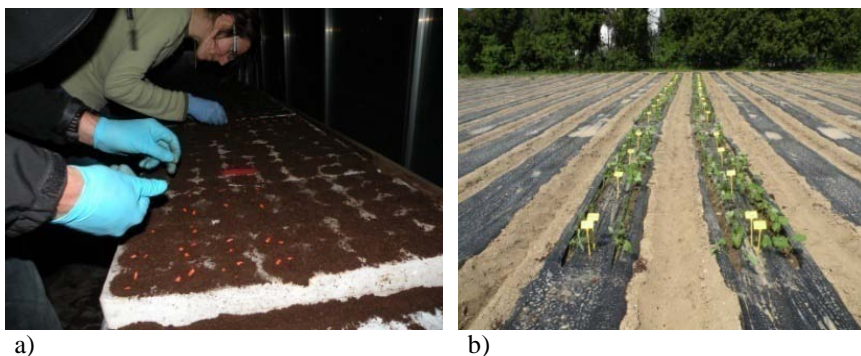
Poskus je potekal na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete, Univerze v Ljubljani v letu 2012. V poskus sta bila vključena kultivarja 'Paulista' (Royal Sluis, Nizozemska) in 'Berggold' (Semenarna Ljubljana, Slovenija) kot odporna na *Colletotrichum lindemuthianum* ter 'Top crop' (Franchi Sementi, Italija) in 'Rei dei burri' (Franchi Sementi, Italija) kot občutljiva kultivarja.



Slika 24: Zasnova poskusa o vplivu okužbe z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* in kultivarja na vsebnost nekaterih primarnih in sekundarnih metabolitov v stroku nizkega fižola (oranžne podparcele so bile okužene z glivo, zelene kontrola).

Figure 24: Design of experiment of the impact of *Colletotrichum lindemuthianum* fungus infection and cultivar on composition of some primary and secondary metabolites in dwarf French bean pods (orange sub-plots were inoculated with fungus, green were control).

Seme nizkega stročjega fižola smo posejali v gojitvene plošče in vzgojili sadike. Sadike smo na prosto presadili 9. maja 2012. Fižol smo sadili v dve vzporedni vrstici, v razdalji 40 cm ena od druge. Razdalja med rastlinami je bila 10 cm. Med okuženimi in neokuženimi gredicami smo pustili 1 m varovalnega prostora. Poskus smo zasnovali v štirih blokkih. V vsakem bloku smo eno gredico okužili, druga pa je predstavljala kontrolo. Na vsaki gredici se je vsak kultivar ponovil le enkrat. Parcela je bila dolga 1m. Za vsak kultivar smo na parcelo posadili 20 rastlin. Skupno smo posadili 160 rastlin vsakega kultivarja. V vsakem bloku smo eno gredico ciljno okužili s 4 sevi glive *Colletotrichum lindemuthianum*, druga gredica pa je predstavljala kontrolo.



Slika 25: a) Setev nizkega fižola, b) sajenje sadik nizkega fižola na polje.
Figure 25: a) Sowing of dwarf French beans, b) planting bean seedlings on field.

Uporabili smo štiri različne sevi glive *C. lindemuthianum*, vsak je predstavljal drugačno raso patogena. Seve smo predhodno identificirali v rase s presajanjem resnosti boleznin na različnih kultivarjih, glede na sistem predlagan v članku (Pastor-Corrales, 1991) in dodelili rasam 23, 55, 103 in 131 (Munda in sod., 2002). 20 dni pred okužbo smo za vsako raso na krompirjevem dekstroznem agarju (PDA) vzgojili kolonijo iz ene same spore. Spore smo nato izločili iz plošč v sterilno destilirano vodo in filtrirali skozi štiri sloje gaze. Koncentracijo spor smo preverili s hemacitometrom in pred okužbo prilagodili na 5×10^5 trosov/ml. V času od 9. do 20. maja smo rastline nizkega fižola pokrili z zaščitno kopreno proti zmrzali. Rastlin nismo tretirali s kemičnimi pripravki. Umetno okužbo nizkega stročjega fižola smo izvedli 12. junija. Rastline smo v popoldanskem času v oblačnem vremenu poškopili s 4 sevi glive *C. lindemuthianum*, s koncentracijo trosov 5×10^5 trosov/ml. Rastline smo takoj pokrili s tanko PVC prekrivko, da smo zagotovili 100 % zračno vlago in s tem ugodnejše razmere za okužbo.



Slika 26: a) in b) Umetna okužba rastlin nizkega fižola z glivo *Colletotrichum lindemuthianum*, c) s PVC folijo smo zagotovili 100 % zračno vlago.

Figure 26: a) and b) Artificial infection of dwarf French bean plants with fungus *Colletotrichum lindemuthianum*, c) with PVC film we ensured 100 % humidity.



Slika 27: a) in b) Simptomi fižolove vdrte pegavosti, c) simptomi bolezni na fižolovem stebelu.

Figure 27: a) and b) Anthracnose on bean pods, c) anthracnose on the bean stem.

Naslednji dan dopoldan smo PVC folijo odstranili. V naslednjih dneh smo spremljali uspešnost okužbe. Prva vidna bolezenska znamenja so se pojavila 22. junija, to je 10 dni po okužbi.

3.2.1.4 Vzorčenje strokov nizkega fižola za ugotavljanje vpliva okužbe z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* in kultivarja na vsebnost nekaterih primarnih in sekundarnih metabolitov v stroku nizkega fižola

Vse zrele stroke smo pobrali v posameznih vzorčenjih (od 27. junija do 11. septembra) in sicer 15, 22, 37, 50, 70 in 91 dni po okužbi. Stroke smo vizualno sortirali na zdrave in na okužene. Zabeležili smo skupno število strokov, število zdravih in okuženih strokov, maso okuženih in neokuženih strokov. Nato smo za vsak kultivar naključno izbrali 40 zdravih strokov in 40 okuženih strokov. Okuženi stroki so na površini imeli veliko peg. Vzorčili smo dva različna dela okuženih strokov, in sicer zdravo tkivo in okuženo tkivo. Vzorčili smo tudi tkivo neokuženih strokov. Vzorke smo takoj zamrznili na $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ do nadaljnega opravljanja analiz.



Slika 28: a) Pobiranje strokov nizkega fižola, b) stroki nizkega fižola pripravljene na sortiranje, štetje, tehtanje in nadaljnje delo, c) sortiranje in štetje strokov.

Figure 28: a) Bean pods harvesting, b) bean pods ready for sorting, counting, weighing and further work, c) pod sorting and counting.

3.2.2 Analize vzorcev, meritve in statistične analize

V poskusu o vplivu ravnih razmer, zrelosti stroka in kultivarja na vsebnost nekaterih primarnih in sekundarnih metabolitov v stroku nizkega fižola, smo opravili naslednje analize oziroma meritve: meritve svetlobe in temperature pod tunelom in na prostem, ekstrakcijo in analizo sladkorjev in organskih kislin, vitamina C ter skupnih fenolov.

Na vzorcih iz poskusa o vplivu okužbe z glivo *C. lindemuthianum* in kultivarja na vsebnost nekaterih primarnih in sekundarnih metabolitov v stroku nizkega fižola smo opravili naslednje meritve: ekstrakcijo in analizo sladkorjev in organskih kislin ter posamičnih fenolnih spojin.

3.2.2.1 Meritve svetlobe in temperature

Merili smo količino fotosintetsko aktivne osvetlitve (PAR, 400-700 nm) in sicer z LICOR model 190 SA Quantum senzorjem (Lincoln, NE, USA). Senzorji so bili nameščeni nad rastline, na vsaki gredici (pokrito in nepokrito), 0,6 m nad tlemi. Skozi celotno obdobje poskusa (maj-julij) so bile vsako uro za vsako obravnavanje narejene štiri meritve.

Za opis vremenskih podatkov in prekritost neba z oblaki, smo uporabili podatke z Ljubljanske meteorološke postaje (ARSO, 2012), ki je od poskusnega polja oddaljena 3,7 km zračne razdalje. Za ocenitev zmanjšanja fotosintetsko aktivne osvetlitve pod protitočno mrežo, smo opravili dnevni seštevek PAR pod mrežo ($PAR_{mreža}$) in PAR na prostem (PAR_{prosto}) in tudi razliko med njima ($PAR_{prosto} - PAR_{mreža}$) za obdobje od maja do julija.

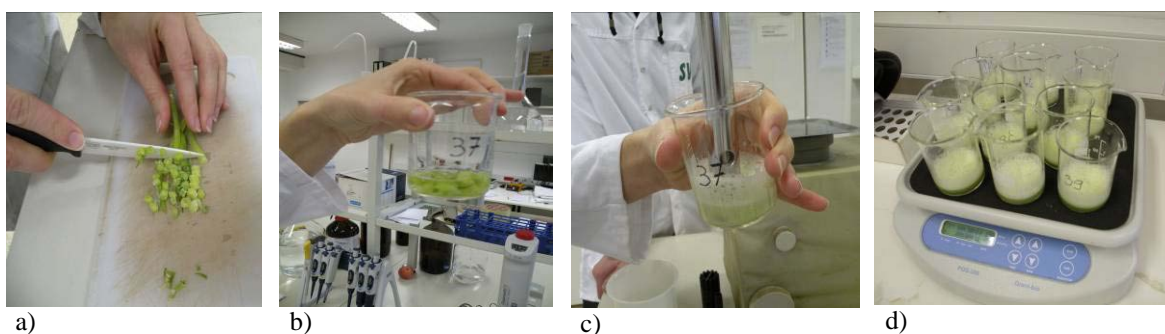
Temperature zraka na prostem in pod protitočno mrežo smo merili skozi celo vegetacijsko dobo s pomočjo termometra s spominom (Votcraft DL-120TH) nameščenim na sredini gredice 0,6 m nad tlemi in tik nad rastlinami. Kot prikaz mikroklimatskih razmer med potekom poskusa, smo izmerili povprečne dnevne temperature ter temperaturni minimumi

in maksimumi. Iz relativnih razlik v temperaturah na prostem in pod črno protitočno mrežo, smo izračunali znižanje temperature pod protitočno mrežo.

Analiza primarnih in sekundarnih metabolitov je obsegala identifikacijo spojine in meritev njene koncentracije.

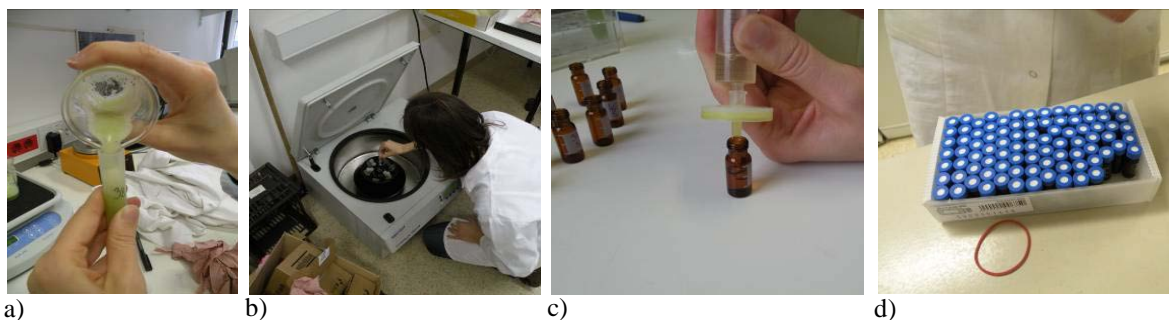
3.2.2.2 Ekstrakcija in analiza sladkorjev in organskih kislin

Stroke nizkega fižola smo sesekljali na manjše koščke, zatehtali 10 g, prelili z 25 ml bidestilirane vode in homogenizirali z T-25 Ultra-Turrax (Ika-Labortechnik, Stauden, Germany). Vzorce smo med stalnim mešanjem pustili pol ure na sobni temperaturi (ekstrakcija), nato smo vzorce centrifugirali na 12 000 obratov na minuto (obr/min) za 7 minut na 4 °C (Eppendorf Centrifuge 5810R, Hamburg, Germany). Supernatant smo prefiltrirali skozi 0,45 µm filter (Macherey-Nagel, Düren, Germany) v vijale in jih zmrznili na -20 °C. Kasneje je sledila analiza po metodi opisani v članku (Sturm in Stampar, 1999), s tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti (HPLC; Thermo Scientific, Finnigan Spectra System, Waltham, MA, USA). Za vsako analizo smo uporabili 20 µl vzorca. Analize sladkorjev smo izvedli z uporabo Rezex RCM-monosaharid kolono (300 × 7.8 mm; Phenomenex, Torrance, CA) z pretokom 0,6 ml min⁻¹ in kolono ogrevano na 65 °C. Za mobilno fazo smo uporabili bidestilirano vodo in RI detector za identifikacijo. Organske kisline smo analizirali z Rezex ROA-organic acid kolono (300 × 7.8 mm; Phenomenex, Torrance, CA) in UV detektorjem nastavljenim na 210 nm z pretokom 0,6 ml min⁻¹, kolona je bila ogreta na 65 °C. Za mobilno fazo smo uporabili 4 mM žveplovo kislino (H₂SO₄). Koncentracije sladkorjev in organskih kislin smo določili s pomočjo pripadajočih standardov. Koncentracije smo podali v g kg⁻¹ sveže mase.



Slika 29: a) Sekljanje strokov nizkega fižola, b) prelitje sesekljanih strokov s 25 ml bidestilirane vode, c) homogeniziranje z ultraturraxom, d) stresanje na stresalniku za 30 minut.

Figure 29: a) Chopping dwarf French bean pods, b) chopped pods coated with 25 ml of bi-distilled water, c) homogenising of sample with ultraturrax, d) shaking on a shaker for 30 minutes.



Slika 30: a) Prelivanje vsebine v centrifugirko, b) centrifugiranje (7 min, 12 000 obr/min, 4 °C), c) filtriranje supernatanta skozi rumen celulozen 0,45 µm filter, d) shranjevanje vzorcev v vialah na -20 °C do opravljanja analiz.

Figure 30: a) Moving the content in a centrifuge tube, b) centrifugation (7 min, 12 000 rpm/min, 4 °C), c) filtering the supernatant through a yellow cellulosic 0,45 µm filter, d) storing the samples in vials at -20 °C up to carry out the analyzes.

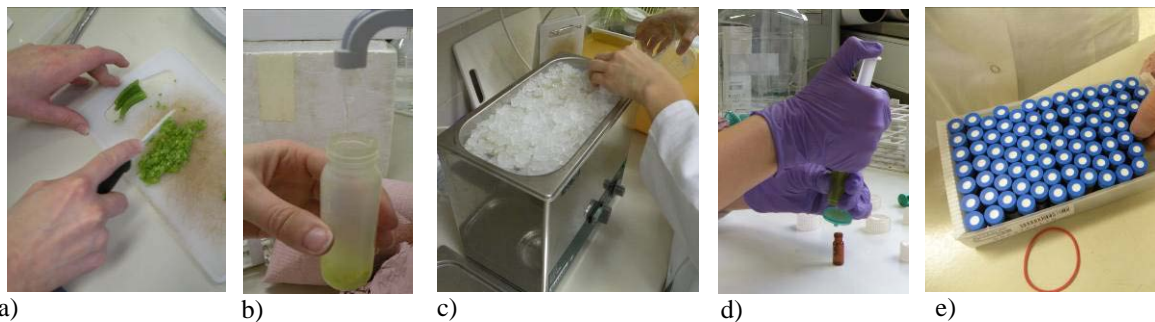
3.2.2.3 Ekstrakcija in analiza vitamina C

Stroke smo sesekljali na majhne koščke, zatehtali 2,5 g vzorca in ga prelili z 5 ml 2 % metafosforne kisline in ga strli v terilnici. Vzorce smo pustili pol ure na sobni temperaturi (ekstrakcija) in jih nato centrifugirali na 10 000 obr/min za 5 minut na 4 °C (Eppendorf Centrifuge 5810R, Hamburg, Germany). Supernatant smo prefiltrirali skozi 0,45 µm celulozni mikrosivni filter (Macherey-Nagel, Düren, Germany) v vijale in analizirali z tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti (HPLC; Thermo Scientific, Finnigan Spectra System, Waltham, MA, USA), kot je bilo zapisano v članku (Mikulic-Petkovsek in sod., 2013). Ločitev askorbinske kisline je potekala z Rezex ROA-organic acid H+ (8 %) kolono (300 mm×7.8 mm) proizvajalca Phenomenex. Temperaturo kolone smo vzdrževali na 20 °C. Za indentifikacijo smo uporabili UV detector nastavljen na 245 nm. Mobilna faza je bila 4 mM žveplova kislina in bidestilirana voda z pretokom 0,6 ml min⁻¹. Analiza je bila dolga 30 minut. Koncentracije askorbinske kisline smo preračunali s pomočjo pripadajočega standarda in izrazili v mg kg⁻¹ sveže mase.

3.2.2.4 Ekstrakcija in analiza skupnih fenolov

Stroke smo sesekljali na majhne koščke, zatehtali 5 g vzorca, prelili z 10 ml 100 % metanola in ekstrahirali 1 uro v ultrazvočni ledeni kopeli (0 °C). Vzorce smo centrifugirali 7 minut na 12 000 obr/min na 4 °C. Supernatant smo prefiltrirali skozi Chromafil AO-45/25 poliamidni filter (Macherey-Nagel) v vijale. Skupne fenole smo določili s pomočjo metode s Folin-Ciocalteu reagentom (Singleton in Rossi, 1965). 100 µl vzorca smo dodali 6 ml bidestilirane vode in 500 µl Folin-Ciocalteu reagenta, nato smo vzorec pustili stati od 8 sekund do 8 minut na sobni temperature in dodali 1,5 ml natrijevega bikarbonata (20 % w/v Na₂CO₃) ter 1,9 ml bidestilirane vode. Vzorce smo nekoliko pretresli in jih pustili stati 30 minut na 40 °C. Nato smo pomerili absorbanco na 765 nm na Lambda Bio 20 UV/VIS

spektrafotometru (Perkin Elmer, Waltham, MA). Mešanico vode in reagentov smo uporabili kot slepi vzorec. Enako proceduro smo opravili na raztopinah z različno koncentracijo galne kisline in naredili standardno krivuljo. Vsebnost skupnih fenolov smo izrazili v ekvivalentih galne kisline (GAE) v mg kg^{-1} sveže mase.



Slika 31: a) Drobnno sekljanje strokov nizkega fižola, b) prelitje vzorca z 10 ml 100 % metanola, c) vzorci potopljeni v ultrazvočno kopel (pri 0 °C) za eno uro, d) filtriranje supernatanta skozi 0,45 μm poliamidni filter v vijale, e) shranjevanje vzorce v vialah v zamrzovalniku na -20 °C do opravljanja nadaljnjih analiz.
Figure 31: a) Finely chopping of dwarf French bean pods, b) covering the sample with 10 ml of 100 % methanol, c) the samples are immersed in an ultrasonic bath (at 0 °C) for one hour, d) filtering the supernatant through a 0,45 μm polyamide filter in to vial, e) storing samples in vials in a freezer at -20 °C up to further analyzes.

3.2.2.5 Ekstrakcija in analiza posamičnih fenolov

Ekstrakcija je potekala kot je opisano v literaturi (Mikulic-Petkovsek in sod., 2007) z nekaj modifikacijami. Zmrznjene vzorce smo sesekljali na majhne koščke in jih strli v terilnici z dodatkom tekočega dušika. Zatehtali smo 5 g vzorca in ga prelili z 10 ml metanola, ki je vseboval 1 % (w/v) 2,6-di-tertbutil-4-metilfenol (BHT) in eno uro ekstrahirali v ledeni ultrazvočni kopeli. BHT smo dodali, da smo preprečili oksidacijo. Po končani ekstrakciji smo ekstrakte centrifugirali 10 minut na 12 000 obr/min. Supernatant smo prefiltrirali skozi Chromafil AO-20/25 poliamidni filter (Macherey-Nagel) v vijale. Fenolne spojine smo analizirali na Thermo Finnigan Surveyor HPLC sistemu (Thermo Scientific, San Jose, USA) z detektorjem na 280 nm in 350 nm. Spekter spojin smo snemali med 200 in 600 nm. Uporabili smo Gemini C18 (150 \times 4.6 mm, 3 μm ; Phenomenex, Torrance, USA) kolono ogreto na 25 °C. Mobilna faza sta bila 0,1 % mravljična kislina (A) in 100 % acetonitril (B). Vzorci so potovali z linearnim gradientom: 0-5 min, 3-9 % B; 5-15 min, 9-16 % B; 15-45 min, 16-50 % B; 45-50 min, 50 % izokratično (Marks in sod., 2007) in končno bili izprani z kolone. Injicirali smo 20 μl vzorca, pretok pa je bil 0,6 ml min^{-1} . Vse fenolne spojine smo identificirali s pomočjo masnega spektrometra (Thermo Scientific, LCQ Deca XP MAX). Volumen injiciranja je bil 10 μl , pretok je bil 0,6 ml min^{-1} . Temperatura kapilare je bila 250 °C, napetost je bila 4 kV. Spektralne podatke smo obdelali s pomočjo Excalibur programske opreme (Thermo Scientific). Identifikacijo spojin smo izvedli s primerjavo retencijskih časov in absorpcijskega maksimuma v UV

spektru in tudi z dodajanjem standardne raztopine k vzorcu in s fragmentacijo. Koncentracije fenolnih snovi smo izračunali iz površin vzorca in pripadajočega standarda in izrazili v $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže snovi strokov. Za spojine, ki nimajo standarda smo kvantifikacijo izvedli tako, da smo kot standard uporabili podobne spojine (Preglednica 3).

Preglednica 3: Identificirane fenolne spojine v okuženih in neokuženih strokih nizkega fižola z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* štirih različnih kultivarjev ('Paulista', 'Berggold', 'Rei dei burri', 'Top crop'), z navedeno valovno dolžino identificiranja, uvrstitvijo spojin v skupine in navedeno snovjo v ekvivalentih katere je bila izražena posamezna fenolna spojina.

Table 3: Identified phenolic compounds in infected and uninfected dwarf French bean pods with fungus *Colletotrichum lindemuthianum* of four different cultivars ('Paulista', 'Berggold', 'Rei dei burri', 'Top crop'), with stated identification wave length, classification of compounds in to the groups and stated substance equivalents in which individual phenolic compounds were expressed in.

| Skupina | Valovna dolžina (nm) | Identificirana fenolna spojina | Vsebnost izražena kot |
|----------------------------------|-----------------------|--|---------------------------------|
| Derivati hidroksicimetnih kislin | 280 | Vanilna kislina-heksoza | Klorogenska kislina |
| | 280 | Vanilna kislina-pentozil heksoza | Klorogenska kislina |
| | 280 | <i>p</i> -kumaroil aldarična kislina 1 | <i>p</i> -kumarna kislina |
| | 280 | <i>p</i> -kumaroil aldarična kislina 2 | <i>p</i> -kumarna kislina |
| | 280 | <i>p</i> -kumaroil aldarična kislina 3 | <i>p</i> -kumarna kislina |
| | 280 | <i>p</i> -kumaroil aldarična kislina 4 | <i>p</i> -kumarna kislina |
| | 280 | <i>p</i> -kumaroil aldarična kislina 5 | <i>p</i> -kumarna kislina |
| | 280 | <i>p</i> -kumaroil aldarična kislina 6 | <i>p</i> -kumarna kislina |
| | 280 | Sinapoil ramnozid 1 | Klorogenska kislina |
| | 280 | Sinapoil ramnozid 2 | Klorogenska kislina |
| | 280 | Sinapična kislina-ramnozid 1 | Klorogenska kislina |
| | 280 | Sinapična kislina-ramnozid 2 | Klorogenska kislina |
| | 280 | Kavna kislina-heksoza | Kavna kislina |
| | 280 | Feruloil aldarična kislina | Klorogenska kislina |
| | 280 | Feruloil aldarična kislina 1 | Klorogenska kislina |
| | 280 | Feruloil aldarična kislina 2 | Klorogenska kislina |
| | 280 | Feruloil aldarična kislina 3 | Klorogenska kislina |
| | 280 | Feruloil aldarična kislina 4 | Klorogenska kislina |
| | 280 | Klorogenska kislina | Klorogenska kislina |
| | Dihidroalkoni | 280 | Floretin heksoza |
| 280 | | Floretin diheksoza | Floridzin |
| 280 | | Floretin pentozil heksoza | Floridzin |
| 280 | | Floretin-C-diglikozid | Floridzin |
| 280 | | Floridzin-C-diglikozid 1 | Floridzin |
| 350 | | Floridzin-C-diglikozid 2 | Kvercetin-3- <i>O</i> -glukozid |
| 350 | | Floridzin acetil diheksoza | Kvercetin-3- <i>O</i> -glukozid |
| 350 | | Floretin malonil-C-diglikozid | Kvercetin-3- <i>O</i> -glukozid |
| 350 | | Floretin pentozil heksozid | Kvercetin-3- <i>O</i> -glukozid |
| 350 | | Floretin acetil heksoza | Kvercetin-3- <i>O</i> -glukozid |
| 350 | Floretin-C-diglikozid | Kvercetin-3- <i>O</i> -glukozid | |
| Flavanoli | 280 | Procianidin dimer 1 | Procianidin B1 |
| | 280 | Procianidin trimer | Procianidin B1 |
| | 280 | Katehin | Katehin |
| | 350 | Procianidin dimer 2 | Kvercetin-3- <i>O</i> -glukozid |

se nadaljuje

nadaljevanje preglednice 3. Identificirane fenolne spojine v zdravih in okuženih strokih nizkega fižola z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* štirih različnih kultivarjev ('Paulista', 'Berggold', 'Rei dei burri', 'Top crop'), z navedeno valovno dolžino identificiranja, uvrstitvijo spojine v skupino in navedeno snovjo v ekvivalentih katere je bila izražena posamezna fenolna spojina.

| Skupina | Valovna dolžina (nm) | Identificirana fenolna spojina | Vsebnost izražena kot |
|------------|------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------|
| Flavonoli | 280 | Kempferol diheksosa | Klorogenska kislina |
| | 280 | Kempferol heksozil rutinozid | Klorogenska kislina |
| | 280 | Dihidro Kempferol heksoza | Klorogenska kislina |
| | 280 | Dihidro Kempferol diheksosa | Klorogenska kislina |
| | 280 | Kvercetin heksozil rutinozid | Klorogenska kislina |
| | 350 | Kvercetin-3- <i>O</i> -glukozid | Kvercetin-3- <i>O</i> -glukozid |
| | 350 | Kvercetin-3- <i>O</i> -rutinozid | Kvercetin-3- <i>O</i> -rutinozid |
| | 350 | Kvercetin ksilozil rutinozid | Kvercetin-3- <i>O</i> -glukozid |
| | 350 | Kvercetin-3- <i>O</i> -vicianozid | Kvercetin-3- <i>O</i> -glukozid |
| | 350 | Laricitrin | Kvercetin-3- <i>O</i> -glukozid |
| | 350 | Makiajin acetil heksoza | Kvercetin-3- <i>O</i> -glukozid |
| | 350 | Makiajin heksoza | Kvercetin-3- <i>O</i> -glukozid |
| | 350 | Dihidro Kempferol heksoza | Kvercetin-3- <i>O</i> -glukozid |
| | 350 | Kempferol heksozil rutinozid | Kempferol-3- <i>O</i> -glukozid |
| | 350 | Kempferol ksilozil rutinozid | Kempferol-3- <i>O</i> -glukozid |
| | 350 | Kempferol-3- <i>O</i> -rutinozid | Kempferol-3- <i>O</i> -glukozid |
| | 350 | Kempferol-3- <i>O</i> -glukozid | Kempferol-3- <i>O</i> -glukozid |
| | 350 | Kempferol ramnozil heksoza heksoza | Kempferol-3- <i>O</i> -glukozid |
| | 350 | Kempferol pentozid heksozid ramnozid | Kempferol-3- <i>O</i> -glukozid |
| | 350 | Kempferol-3- <i>O</i> -acetil heksoza | Kempferol-3- <i>O</i> -glukozid |
| 350 | Kempferol acetil heksozid heksozid | Kempferol-3- <i>O</i> -glukozid | |
| 350 | Kempferol-3- <i>O</i> -heksozid | Kempferol-3- <i>O</i> -glukozid | |
| 350 | Izoramnatin ksilozil rutinozid | Izoramnatin-3- <i>O</i> -glukozid | |
| 350 | Izoramnatin-3- <i>O</i> -rutinozid | Izoramnatin-3- <i>O</i> -glukozid | |
| Flavanoni | 280 | Naringenin diheksosa | Naringenin |
| | 280 | Naringenin heksoza | Naringenin |
| | 280 | Naringenin heksoza 1 | Naringenin |
| | 280 | Naringenin heksoza 2 | Naringenin |
| | 280 | Naringenin heksoza 3 | Naringenin |
| | 280 | Naringenin heksoza 4 | Naringenin |
| Izoflavoni | 280 | Formononetin heksoza 1 | Klorogenska kislina |
| | 280 | Formononetin heksoza | Klorogenska kislina |
| | 280 | Daidzein heksoza 1 | Klorogenska kislina |
| | 350 | Formononetin heksoza 3 | Kvercetin-3- <i>O</i> -glukozid |
| | 350 | Formononetin heksoza 2 | Kvercetin-3- <i>O</i> -glukozid |
| | 350 | Daidzein heksoza 2 | Kvercetin-3- <i>O</i> -glukozid |
| 350 | Afrormozin heksoza | Kvercetin-3- <i>O</i> -glukozid | |
| Flavoni | 280 | Apigenin heksoza 1 | Klorogenska kislina |
| | 280 | Genistein diheksosa | Klorogenska kislina |
| | 350 | Apigenin diheksosa | Kvercetin-3- <i>O</i> -glukozid |
| | 350 | Apigenin heksoza 2 | Kvercetin-3- <i>O</i> -glukozid |

3.2.2.6 Statistične analize

Poskus o vplivu rastnih razmer, zrelosti strokov in kultivarja na vsebnost nekaterih primarnih in sekundarnih metabolitov v strokih nizkega fižola smo obravnavali kot split-split plot poskus s temi dejavniki v štirih naključnih ponovitvah. Prvi dejavnik 'pokritost' je imel dva nivoja in sicer gredice pokrite z mrežo ter nepokrite (kontrola), drugi dejavnik 'kultivar' je imel štiri nivoje ('Berggold', 'Re dei burri', 'Paulista', 'Top crop') in tretji dejavnik 'zrelost stroka' je imel dva nivoja, in sicer mladi in zreli stroki. Zaradi nepričakovano nizkega vznika semen kultivarja 'Paulista' smo pri tem kultivarju v statistično analizo vključili le tri in ne štiri ponovitve. Za ocenitev fiksnih in naključnih dejavnikov v poskusu, za vsako merjeno spremenljivko (sladkorji, organske kisline, vitamin C in skupni fenoli) smo uporabili linearne mešane modele (LMM) (Pinheiro in Bates, 2002). Dva naključna dejavnika predstavljata naključni vpliv glavne gredice in naključni vpliv pod-gredice. Z LMM smo ocenili sedem fiksnih vplivov: trije glavni dejavniki, tri dvojne interakcije in trojna interakcija. Kontraste smo uporabili za ugotavljanje statistično značilne razlike med povprečji, kjer je to bilo potrebno. Statistično analizo podatkov smo opravili s pomočjo programa R (R Core Team, 2013).

Poskus o vplivu okužbe z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* in kultivarja na vsebnost nekaterih primarnih in sekundarnih metabolitov smo obravnavali kot poskus z dvema dejavnikoma. Prvi glavni dejavnik 'okuženost' je imel dva nivoja in sicer okužene gredice in neokužene (kontrolne) gredice, drugi glavni dejavnik 'kultivar' pa je imel štiri nivoje in sicer 'Berggold', 'Re dei burri', 'Paulista' in 'Top crop'. Zbrane podatke smo z računalniškim programom Microsoft Excel 2007 uredili v preglednice in oblikovali ustrezne grafikone. Statistično obdelavo podatkov smo naredili s program Statgraphics Centurion XVI.II (StatPointTechnologies, 2013). Najprej smo preverili enakost varianc. Statistično analizo podatkov smo naredili z analizo variance (ANOVA) pri 95 % stopnji zaupanja. Statistično značilne razlike med obravnavanji smo ugotavljali s pomočjo testa mnogoterih primerjav (Duncanov preizkus) z upoštevanim 5 % tveganjem. Rezultati meritev so prikazani v preglednicah ali slikah kot povprečne vsebnosti s \pm standardno napako. Statistično značilne razlike smo označili s črkami. Obravnavanja označena z različnimi črkami se statistično značilno razlikujejo (a,b,c...), obravnavanja pri katerih nismo ugotovili statistično značilne razlike so označena z isto črko.

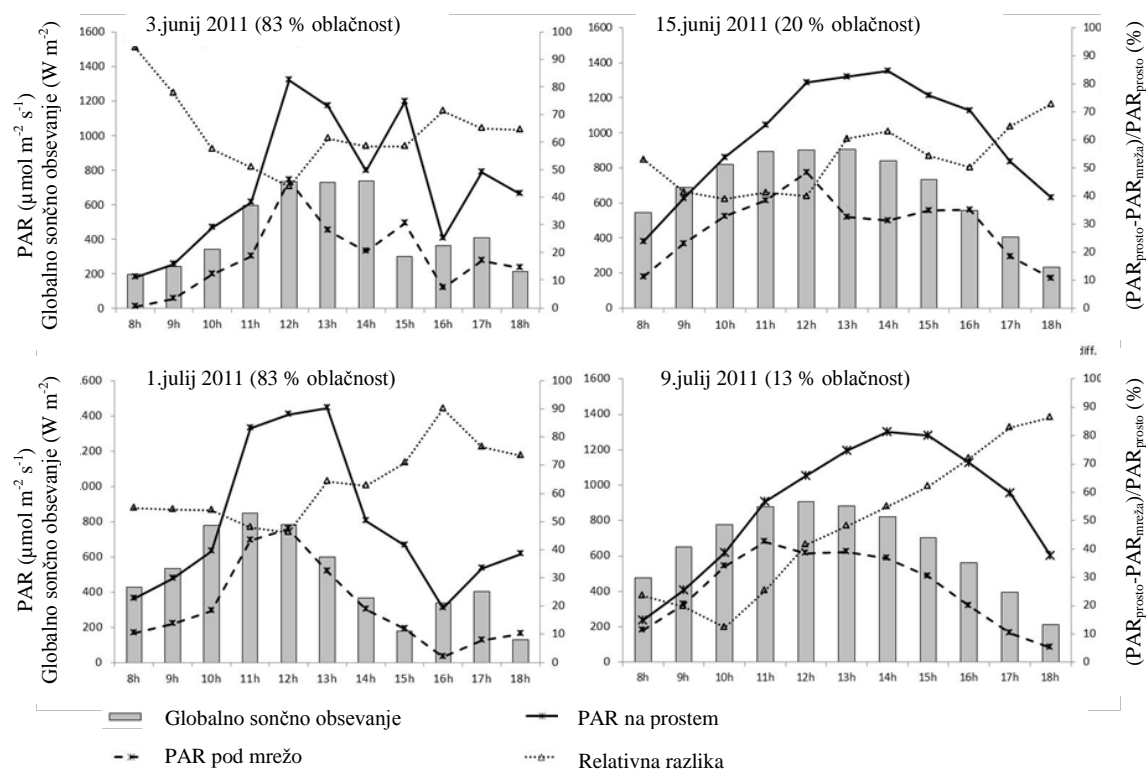
4 REZULTATI

4.1 REZULTATI POSKUSA O VPLIVU RASTNIH RAZMER, ZRELOSTI STROKA IN KULTIVARJA NA VSEBNOST NEKATERIH PRIMARNIH IN SEKUNDARNIH METABOLITOV V STROKU NIZKEGA FIŽOLA, LJUBLJANA, 2011

4.1.1 Fotosintetsko aktivna osvetlitev in temperaturne razmere tekom poskusa

4.1.1.1 Fotosintetsko aktivna osvetlitev

Med 25. majem in 30. julijem je bila povprečna dnevna fotosintetsko aktivna osvetlitev (PAR) pod mrežo $325,8 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (približno $41,2 \text{ mol m}^{-2}\text{d}^{-1}$) in $734,3 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (približno $85 \text{ mol m}^{-2}\text{d}^{-1}$) na prostem. Ugotovili smo zmanjšanje PAR pod mrežo za povprečno 49,8 do 61 % (pri 95 % intervalu zaupanja), v primerjavi s PAR na prostem. Zmanjšanje PAR je bilo nekoliko večje v oblačnih dneh (41-86 %) v primerjavi s sončnimi dnevi, ko je zmanjšanje PAR pod mrežo znašalo v povprečju od 34-75 %. Podrobnejša dnevna gibanja PAR, globalnega sončnega obsevanja in relativne razlike v zmanjšanju PAR so prikazana na sliki 24. Zmanjšanje PAR pod mrežo je bilo večje zjutraj in v poznem popoldnevu, ko je bila globalna osončenost nizka v primerjavi z osončenostjo med 12. in 15. uro. V sončnih dneh se je zmanjšanje PAR gibalo med 34-75 % in sicer zmanjšanje je bilo manjše zjutraj, večje pa popoldne, ko se je globalno sončno obsevanje zmanjšalo.

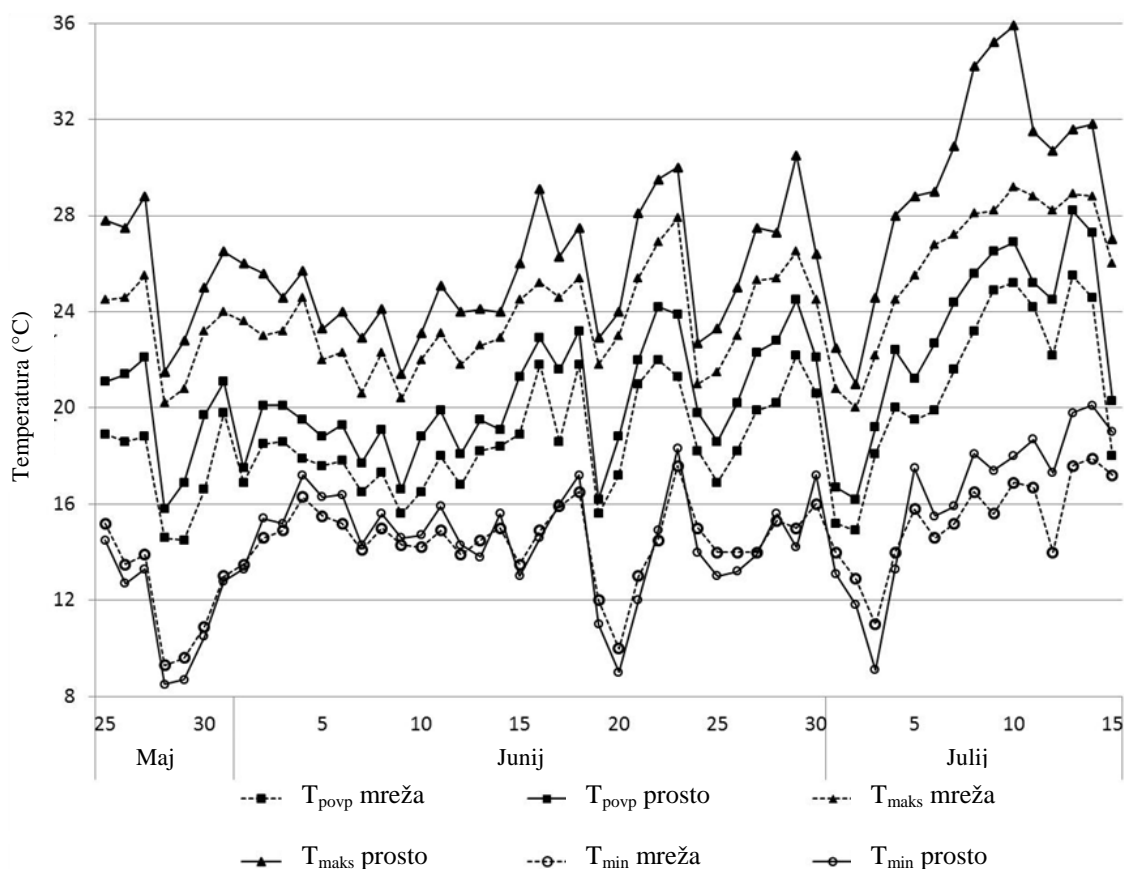


Slika 32: Dnevne krivulje fotosintetsko aktivne osvetlitve PAR ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) pod vplivom pokritosti s protitočno mrežo ali nepokritosti, globalno sončno obsevanje (W m^{-2}) (prikazano s stolpci) in relativne razlike v zmanjšanju PAR (rel. razl. = $(\text{PAR}_{\text{prosto}} - \text{PAR}_{\text{mreža}}) / \text{PAR}_{\text{prosto}}$) (pikasta črta) na sončne in oblačne dni v juniju in juliju 2011.

Figure 32: Diurnal curve of photosynthetic active radiation (PAR) ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) affected with hailnet cover or uncoverd, total global irradiation (W m^{-2}) (column) and relative differences of PAR reduction (rel. diff. = $(\text{PAR}_{\text{out}} - \text{PAR}_{\text{hail net}}) / \text{PAR}_{\text{out}}$) (dotted line) on a sunny and cloudy days in June and July 2011.

4.1.1.2 Temperaturne razmere

V našem poskusu so se minimalne in maksimalne temperature na nepokritih gredicah gibale med 9 in 20 °C ter 22 in 36 °C (Slika 33). Povprečna dnevna temperatura se je od konca maja do prve polovice junija stalno spreminjala in sicer med 14 in 21 °C. Po 15. juniju se je začela dvigovati in je ob koncu poskusa dosegla 28 °C. Uporaba črne protitočne mreže je povprečno dnevno temperaturo znižala za $1,85 \pm 0,19$ °C in maksimalno dnevno temperaturo za $2,39 \pm 0,37$ °C, kar v obeh primerih pomeni 8-10 % zmanjšanje. Vpliv uporabe črne protitočne mreže na minimalno temperaturo je bil drugačen, in sicer je povzročil tako zmanjšanje kot tudi povečanje minimalne temperature. Na dneve z minimalno temperaturo (okrog 9 °C, to je bilo 28. in 29. maja, 20. junija in 3. julija, je pokritost z mrežo vplivala na dvig temperature. Kadar je minimalna temperatura dosegla 14 °C je imela uporaba mreže obraten vpliv in tako so bile minimalne temperature pod mrežo nižje v primerjavi s tistimi na odprtem polju.



Slika 33: Maksimalne, minimalne in povprečne dnevne temperature pod mrežo in na odprtem polju tekom poskusa.

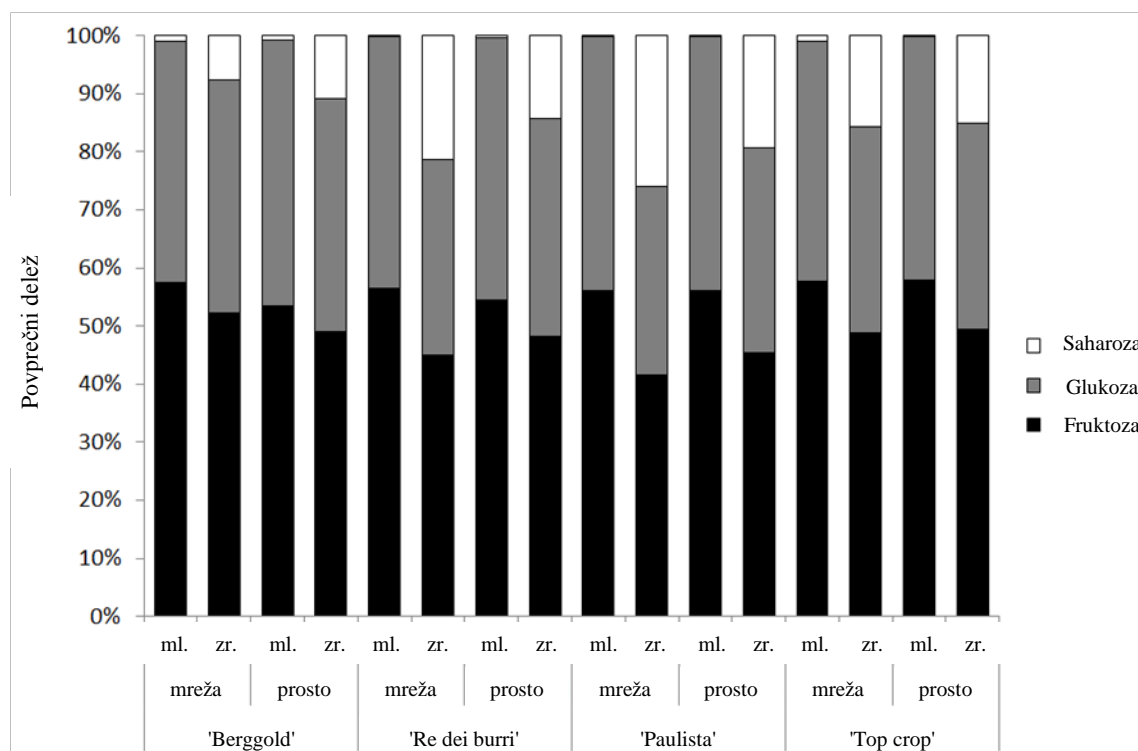
Figure 33: Maximum, minimum and mean daily temperatures under the black hail net and on open field during the experiment.

4.1.2 Vsebnost nekaterih primarnih in sekundarnih metabolitov v strokih nizkega fižola glede na rastne razmere, zrelost stroka in kultivar

4.1.2.1 Vsebnost sladkorjev v strokih nizkega fižola glede na rastne razmere, zrelost stroka in kultivar

Vodilni sladkor v strokih nizkega fižola je fruktoza, sledi ji glukoza in saharoza z najmanjšim deležem (Slika 34).

Podatki za posamezne sladkorje, organske kisline, vitamin C in skupne fenole za mlade in zrele stroke nizkega fižola štirih različnih kultivarjev, gojenih pod protitočno mrežo in na prostem so predstavljeni v preglednici 4 in 5 in slikah 34, 35 in 36.



Slika 34: Povprečna sestava sladkorjev v strokih nizkega fižola glede na rastne razmere, zrelost stroka in kultivar.

Figure 34: Average composition of sugars in dwarf French bean pods depending on the cultivar, growing conditions and pod maturity.

Vsebnost fruktoze

Na vsebnost fruktoze v strokih nizkega fižola so imeli mreža, kultivar in zrelost stroka značilen vpliv, to pa velja tudi za interakcijo mreže in kultivarja ter kultivarja in zrelosti. Mladi pokriti in nepokriti stroki vseh kultivarjev, razen 'Top crop' so imeli v povprečju večjo vsebnost fruktoze kot zreli stroki. Uporaba mreže je značilno zmanjšala povprečno vsebnost fruktoze v strokih kultivarja 'Berggold' obeh zrelosti ter mladih strokih kultivarja 'Paulista'. Na ostala obravnavanja uporaba mreže ni imela vpliva (Preglednica 4).

Vsebnost glukoze

Mreža, kultivar in zrelost so imeli značilen vpliv na vsebnost glukoze v strokih fižola, enako velja tudi za interakcijo mreže in kultivarja ter kultivarja in zrelosti. Mladi pokriti in nepokriti stroki vseh kultivarjev, razen 'Top crop' so imeli v povprečju večjo vsebnost glukoze kot zreli stroki. Uporaba mreže je značilno zmanjšala povprečno vsebnost glukoze v strokih kultivarja 'Berggold' obeh zrelosti ter mladih strokih kultivarja 'Paulista'. Na ostala obravnavanja uporaba mreže ni imela vpliva (Preglednica 4).

Vsebnost saharoze

Na vsebnost saharoze v strokih nizkega fižola so imeli značilen vpliv kultivar in zrelost ter njuna interakcija. Uporaba mreže ni imela značilnega vpliva na vsebnost saharoze. V vseh primerih razen pri strokih pokritih rastlin kultivarja 'Bergold' je bila povprečna vsebnost saharoze v zrelih strokih večja kot v mladih strokih (Preglednica 4).

Preglednica 4: Povprečna vsebnost (\bar{x}) in standardna napaka (Se) za fruktozo, glukozo in saharozo (g kg^{-1} sveže mase) v strokih nizkega fižola glede na rastne ramere, zrelost stroka in kultivar in analize variance za linearno mešane modele.

Table 4: Average content (\bar{x}) and standard error (Se) of fructose, glucose and sucrose (g kg^{-1} fresh weight) in dwarf French bean pods depending on the cultivar, growing conditions and pod maturity and the analysis of variance (ANOVA) for linear mixed models.

| Kultivar | Mreža | Zrelost | Fruktoza (g kg^{-1}) | | | Glukoza (g kg^{-1}) | | | Saharaza (g kg^{-1}) | | | |
|----------------------------|-------|---------|---------------------------------|-----------|----------------------|--------------------------------|-----------|----------------------|---------------------------------|-----------|----------------------|----|
| | | | <i>n</i> | \bar{x} | <i>S_e</i> | | \bar{x} | <i>S_e</i> | | \bar{x} | <i>S_e</i> | |
| 'Berggold' | da | mladi | 4 | 6,42 | 0,37 | c | 4,65 | 0,27 | c | 0,24 | 0,13 | d |
| | | zreli | 4 | 3,45 | 0,17 | d | 2,65 | 0,15 | d | 0,77 | 0,33 | d |
| | ne | mladi | 4 | 11,10 | 2,05 | b | 9,63 | 1,95 | b | 0,17 | 0,05 | d |
| | | zreli | 4 | 5,93 | 0,69 | c | 4,86 | 0,58 | c | 1,63 | 0,52 | c |
| 'Re dei burri' | da | mladi | 4 | 12,52 | 1,20 | b | 9,57 | 0,93 | b | 0,05 | 0,01 | d |
| | | zreli | 4 | 5,20 | 0,43 | cd | 3,91 | 0,36 | cd | 2,50 | 0,30 | ab |
| | ne | mladi | 4 | 12,24 | 1,03 | b | 10,14 | 0,85 | b | 0,07 | 0,02 | d |
| | | zreli | 4 | 6,94 | 0,36 | c | 5,38 | 0,27 | c | 2,14 | 0,40 | bc |
| 'Paulista' | da | mladi | 3 | 11,80 | 1,57 | b | 9,10 | 0,89 | b | 0,05 | 0,01 | d |
| | | zreli | 3 | 4,69 | 0,51 | cd | 3,68 | 0,40 | cd | 3,06 | 0,75 | a |
| | ne | mladi | 3 | 17,86 | 0,95 | a | 13,88 | 0,62 | a | 0,05 | 0,00 | d |
| | | zreli | 3 | 6,85 | 0,65 | c | 5,33 | 0,53 | c | 2,90 | 0,30 | a |
| 'Top crop' | da | mladi | 4 | 5,23 | 0,18 | cd | 3,75 | 0,12 | cd | 0,17 | 0,09 | d |
| | | zreli | 4 | 4,99 | 0,31 | cd | 3,63 | 0,24 | cd | 1,60 | 0,07 | bc |
| | ne | mladi | 4 | 7,45 | 0,75 | c | 5,39 | 0,53 | c | 0,01 | 0,00 | d |
| | | zreli | 4 | 6,58 | 0,28 | cd | 4,71 | 0,18 | cd | 2,15 | 0,47 | bc |
| ANOVA | | | | Fruktoza | | | Glukoza | | | Saharaza | | |
| Mreža | | | | ** | | ** | | <i>ns</i> | | | | |
| Kultivar | | | | *** | | *** | | ** | | | | |
| Zrelost | | | | *** | | *** | | *** | | | | |
| Mreža × Kultivar | | | | * | | * | | <i>ns</i> | | | | |
| Mreža × Zrelost | | | | <i>ns</i> | | <i>ns</i> | | <i>ns</i> | | | | |
| Kultivar × Zrelost | | | | *** | | *** | | *** | | | | |
| Mreža × Kultivar × Zrelost | | | | <i>ns</i> | | <i>ns</i> | | <i>ns</i> | | | | |

Med enakimi črkami ni statistično značilnih razlik med obravnavanji $p < 0,05$.

V ANOVA tabeli so dejavniki in njihove interakcije značilni pri: *** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$, * $p < 0,05$ ali $p < 0,1$, *ns*-ni značilnih razlik

4.1.2.2 Vsebnost organskih kislin v strokih nizkega fižola glede na rastne razmere, zrelost stroka in kultivar

V strokih nizkega fižola smo našli 4 organske kisline: največ je bilo jabolčne kisline, sledila je citronska kislina, šikimske in fumarne kisline je bilo najmanj (Preglednica 5).

Vsebnost jabolčne kisline

ANOVA je pokazala statistično značilen vpliv zrelosti strokov in interakcije med vplivom mreže in zrelosti stroka na vsebnost jabolčne kisline. Povprečna vsebnost jabolčne kisline je skozi proces dozorevanja stroka padala v vseh obravnavanjih, razen pri nepokritih kultivarjih 'Re dei burri' in 'Paulista'. Interakcija med vplivom mreže in zrelosti (Preglednica 5) se kaže kot značilno večja vsebnost jabolčne kisline v mladih strokih pokritih rastlin v primerjavi z nepokritimi rastlinami pri vseh kultivarjih razen 'Top crop', kjer nismo našli značilnih razlik.

Vsebnost citronske kisline

Pri analizi citronske kisline je ANOVA pokazala značilen vpliv kultivarja in zrelosti stroka ter njune interakcije. Pri mladih strokih smo opazili statistično značilne razlike v vsebnosti citronske kisline med kultivarji. Pri zrelih strokih to ne velja. Vsebnost citronske kisline v strokih nepokritih rastlin se je značilno zmanjšala z dozorevanjem strokov pri kultivarjih 'Berggold' in 'Top crop' (Preglednica 5).

Vsebnost šikimske kisline

Za šikimsko kislino smo ugotovili značilen vpliv kultivarja in zrelosti stroka. V mladih strokih skoraj vseh obravnavanj je bila vsebnost šikimske kisline večja kot v zrelih strokih (Preglednica 5).

Vsebnost fumarne kisline

Za fumarno kislino smo ugotovili trojno interakcijo. Dozorevanje stroka povzroča značilno zmanjšanje vsebnosti fumarne kisline v strokih rastlin pokritih z protitočno mrežo. Medtem, ko se vsebnost v nepokritih strokih povečuje z dozorevanjem stroka (Preglednica 5).

Preglednica 5: Povprečna vsebnost (\bar{x}) in standardna napaka (S_e) jabolčne, citronske, šikimske in fumarne kisline (g kg^{-1} sveže mase) v strokih nizkega fižola glede na rastne razmere, zrelost stroka in kultivar ter analiza variance (ANOVA) za podatke.

Table 5: Average content (\bar{x}) and standard error (S_e) of malic, citric, shikimic and fumaric acid (g kg^{-1} fresh weight) in dwarf French bean pods depending on the cultivar, growing conditions and pod maturity and the analysis of variance (ANOVA) for the data.

| Kultivar | Mreža | Zrelost | Jabolčna k. (g kg^{-1}) | | Citronska k. (g kg^{-1}) | | Šikimska k. (g kg^{-1}) | | Fumarna k. (g kg^{-1}) | | | | | |
|----------------------------|-------|---------|---------------------------------------|-------|--|-------|---------------------------------------|-------|--------------------------------------|-------|---|------|------|----|
| | | | \bar{x} | S_e | \bar{x} | S_e | \bar{x} | S_e | \bar{x} | S_e | | | | |
| 'Berggold' | da | mladi | 3,38 | 0,33 | a | 1,04 | 0,15 | a | 0,42 | 0,08 | b | 0,23 | 0,01 | a |
| | | zreli | 1,80 | 0,06 | c | 0,65 | 0,06 | b | 0,17 | 0,02 | c | 0,16 | 0,01 | c |
| | ne | mladi | 2,73 | 0,06 | b | 1,00 | 0,03 | a | 0,40 | 0,02 | b | 0,18 | 0,02 | c |
| | | zreli | 1,90 | 0,19 | c | 0,63 | 0,10 | b | 0,19 | 0,02 | c | 0,35 | 0,03 | a |
| 'Re dei burri' | da | mladi | 3,31 | 0,36 | a | 0,67 | 0,08 | b | 0,49 | 0,04 | b | 0,19 | 0,02 | bc |
| | | zreli | 2,14 | 0,05 | c | 0,65 | 0,03 | b | 0,24 | 0,01 | c | 0,16 | 0,02 | c |
| | ne | mladi | 2,28 | 0,21 | c | 0,59 | 0,06 | b | 0,28 | 0,05 | c | 0,26 | 0,01 | b |
| | | zreli | 1,93 | 0,07 | c | 0,58 | 0,03 | b | 0,22 | 0,02 | c | 0,33 | 0,01 | a |
| 'Paulista' | da | mladi | 3,63 | 0,60 | a | 0,42 | 0,09 | b | 0,38 | 0,06 | b | 0,20 | 0,01 | bc |
| | | zreli | 2,11 | 0,03 | c | 0,43 | 0,03 | b | 0,17 | 0,01 | c | 0,12 | 0,01 | d |
| | ne | mladi | 2,65 | 0,31 | b | 0,62 | 0,08 | b | 0,49 | 0,04 | b | 0,22 | 0,01 | b |
| | | zreli | 2,99 | 0,11 | b | 0,72 | 0,05 | b | 0,23 | 0,03 | c | 0,24 | 0,02 | b |
| 'Top crop' | da | mladi | 3,36 | 0,08 | a | 0,73 | 0,04 | b | 0,54 | 0,01 | a | 0,12 | 0,01 | d |
| | | zreli | 2,06 | 0,09 | c | 0,61 | 0,07 | b | 0,27 | 0,01 | c | 0,09 | 0,00 | d |
| | ne | mladi | 3,74 | 0,92 | a | 0,95 | 0,15 | a | 0,65 | 0,15 | a | 0,17 | 0,02 | c |
| | | zreli | 1,76 | 0,08 | c | 0,54 | 0,05 | b | 0,25 | 0,02 | c | 0,18 | 0,01 | c |
| ANOVA | | | | | | | | | | | | | | |
| Mreža | | | ns | | ns | | ns | | *** | | | | | |
| Kultivar | | | ns | | ** | | ** | | *** | | | | | |
| Zrelost | | | *** | | *** | | *** | | ns | | | | | |
| Mreža × Kultivar | | | ns | | ns | | ns | | * | | | | | |
| Mreža × Zrelost | | | * | | ns | | ns | | *** | | | | | |
| Kultivar × Zrelost | | | ns | | ** | | ns | | ** | | | | | |
| Mreža × Kultivar × Zrelost | | | ns | | ns | | ns | | *** | | | | | |

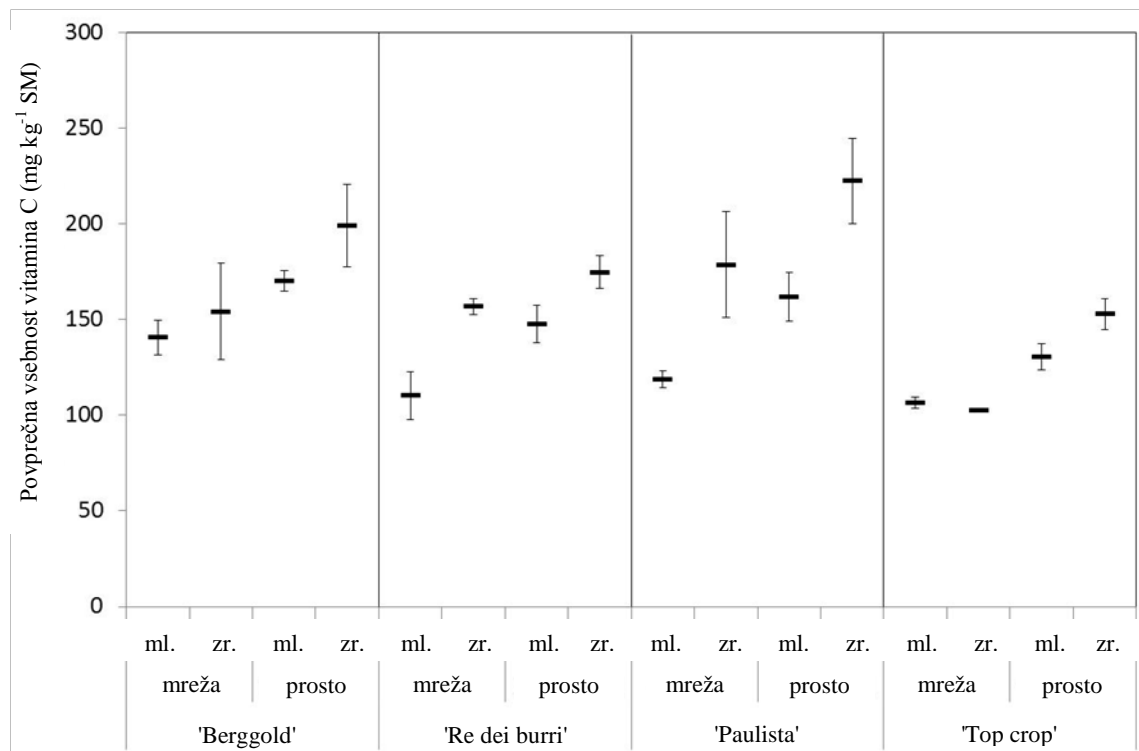
Med enakimi črkami ni statistično značilnih razlik med obravnavanji $p < 0,05$.

V ANOVA tabeli so dejavniki in njihove interakcije značilni pri: *** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$, * $p < 0,05$ ali $p < 0,1$, ns-ni značilnih razlik

4.1.2.3 Vsebnost vitamina C v strokih nizkega fižola glede na rastne razmere, zrelost stroka in kultivar

Na vsebnost vitamina C so imeli statistično značilen vpliv vsi trije glavni vplivi (kultivar $p=0,0003$, mreža $p=0,0036$ zrelost stroka $p=0,0000$). Pokritost s protitočno mrežo je povzročila manjšo vsebnost vitamina C v strokih obeh zrelosti. Povprečna vsebnost vitamina C v strokih vseh štirih kulivarjev, je bila večja v zrelih strokih kot v mladih strokih. Med kulivarjema 'Berggold' in 'Paulista' ni bilo značilnih razlik v vsebnosti

vitamina C, medtem ko je bila vsebnost vitamina C v strokih kultivarja 'Top crop' značilno manjša glede na kultivar 'Re dei burri' (Slika 35).

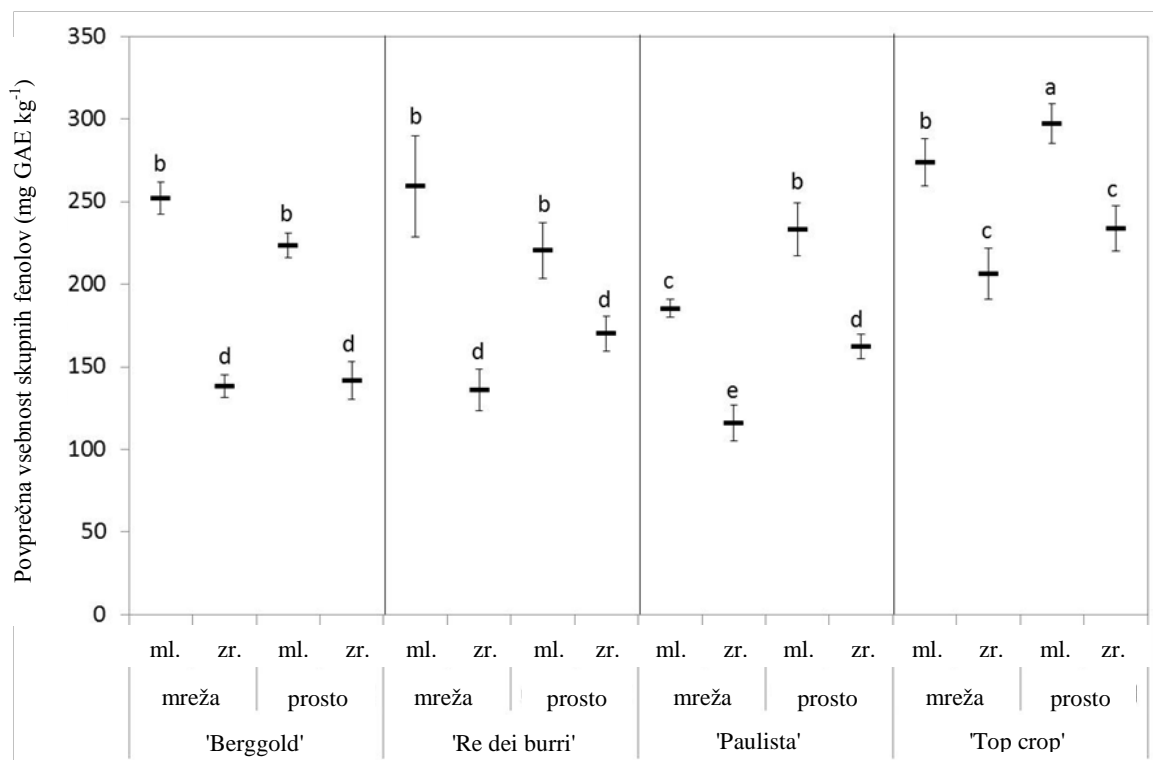


Slika 35: Povprečna vsebnost vitamina C in standardne napake v strokih nizkega fižola (mg kg⁻¹ FW), glede na kultivar, rastne razmere in zrelost strokov.

Figure 35: Average vitamin C content and standard errors in dwarf French bean pods (mg kg⁻¹ FW) depending on the cultivar, growing conditions and pod size.

4.1.2.4 Vsebnost skupnih fenolov v strokih nizkega fižola glede na rastne razmere, zrelost stroka in kultivar

Vsi trije glavni dejavniki so imeli vpliv na vsebnosti skupnih fenolov določene v našem poskusu. Ugotovili smo značilen vpliv kultivarja ($p=0,0000$) in zrelosti stroka ($p=0,0000$), dvofaktorska interakcija med mrežo in zrelostjo ($p=0,040$) ter med kultivarjem in mrežo ($p=0,053$) sta bili mejno značilni. Stroki kultivarja 'Top crop' so imeli značilno večjo vsebnost skupnih fenolov od ostalih treh kultivarjev, med njimi ni bilo razlik. Zrelost je tudi značilno vplivala na vsebnost skupnih fenolov. Mladi stoki so imeli večjo vsebnost fenolnih spojin kot zreli stroki, kar velja za vse štiri kultivarje. Pokritost z mrežo je imela negativen vpliv na vsebnost skupnih fenolov v zeleno stročnih kultivarjih ('Paulista' in 'Top crop'), pri čemer imajo stroki nepokritih rastlin kultivarja 'Paulista' obeh zrelosti manjšo vsebnost skupnih fenolov, kot jo imajo mladi stroki kultivarja 'Top crop' (Slika 36).



Slika 36: Povprečna vsebnost skupnih fenolov (mg GAE kg⁻¹ FW) in pripadajoče standardne napake v strokih nizkega fižola. Različne črke označujejo statistično značilne razlike v vsebnosti skupnih fenolov glede na kultivar rastne razmere in zrelost stroka pri $p < 0,05$.

Figure 36: Total phenolics content (mg GAE kg⁻¹ FW) and standard errors in dwarf French bean pods. Different letters indicate statistically significant differences in the total phenolics content, depending on the cultivar, growing conditions and pod maturity at $p < 0,05$.

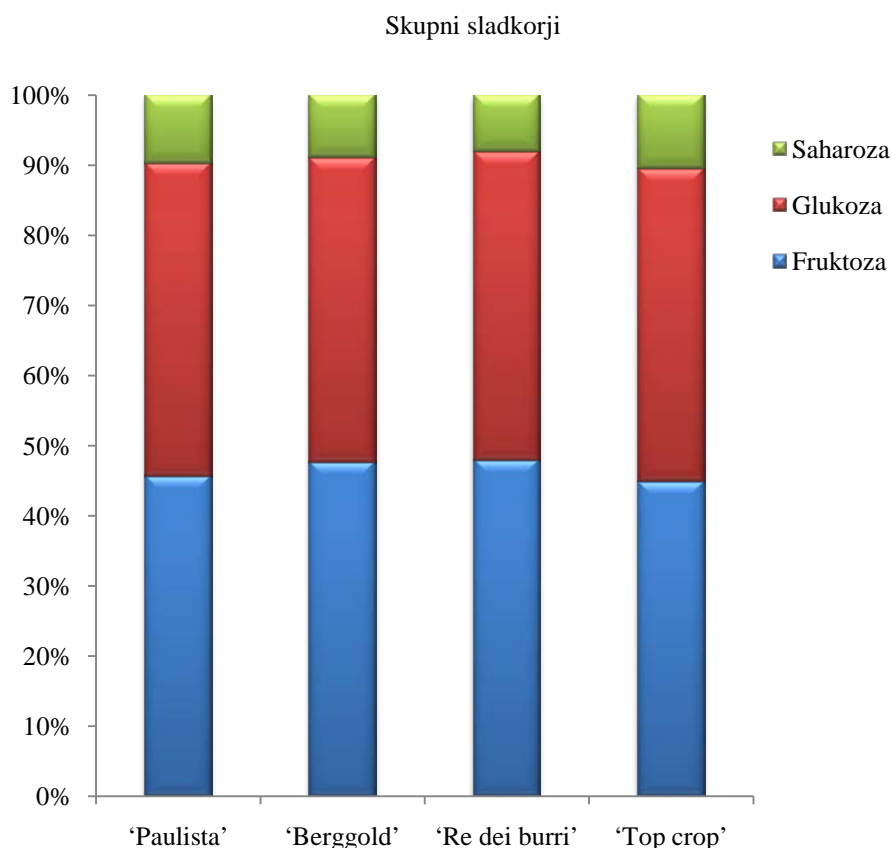
4.2 REZULTATI POSKUSA O VPLIVU OKUŽENOSTI Z GLIVO *Colletotrichum lindemuthianum* IN KULTIVARJA NA VSEBNOST NEKATERIH PRIMARNIH IN SEKUNDARNIH METABOLITOV V STROKU NIZKEGA FIŽOLA, LJUBLJANA, 2012

Prikaz rezultatov poskusa iz leta 2012 je razdeljen na dva dela: v prvem delu so prikazani rezultati meritev obsega okužbe ter količine in kakovosti pridelka glede na okužbo z glivo *C. lindemuthianum*, v drugem delu so prikazani rezultati kemijske analize primarnih in sekundarnih metabolitov v neokuženih strokih vseh štirih kultivarjev ter v okuženih strokih dveh kultivarjev ('Re dei burri' in 'Top crop').

4.2.1 Vsebnost nekaterih primarnih in sekundarnih metabolitov v neokuženih strokih nizkega fižola glede na kultivar

4.2.1.1 Vsebnost sladkorjev v neokuženih strokih nizkega fižola glede na kultivar

Iz slike 37 vidimo, da je bila fruktoza vodilni sladkor v strokih nizkega fižola vseh štirih kultivarjev, sledi glukoza, najmanjši delež pa je pripadal saharozi.



Slika 37: Povprečni deleži fruktoze, glukoze in saharoze v neokuženih strokih nizkega fižola glede na kultivar.

Figure 37: Average shares of fructose, glucose and sucrose in healthy dwarf French bean pods depending on the cultivar.

V preglednici 6 so prikazane povprečne vsebnosti sladkorjev v neokuženih strokih nizkega fižola štirih različnih kultivarjev ('Paulista', 'Berggold', 'Re dei burri' in 'Top crop') s pripadajočimi standardnimi napakami.

Preglednica 6: Stopnje statistične značilnosti, povprečne vsebnosti sladkorjev (g kg^{-1} svežih strokov nizkega fižola) v neokuženih strokih fižola in pripadajoče standardne napake glede na kultivar nizkega fižola ('Paulista', 'Berggold', 'Re dei burri' in 'Top crop').

Table 6: Levels of statistical significance, average sugar contents (g kg^{-1} of fresh dwarf French bean pods) in uninfected dwarf French beans and associated standard error depending on the dwarf French bean cultivar ('Paulista', 'Berggold', 'Re dei burri' in 'Top crop') and their standard errors.

| Sladkor | Stopnja statistične značilnosti | Kultivar | | | |
|-------------------------|---------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | | 'Paulista' | 'Berggold' | 'Re dei burri' | 'Top crop' |
| Fruktoza | ** | 26,1 (3,6) a | 32,4 (3,1) a | 43,2 (2,8) b | 28,3 (3,0) a |
| Glukoza | * | 25,5 (3,1) a | 29,5 (3,0) a | 39,6 (3,5) b | 28,1 (3,8) a |
| Saharozna | NS | 5,5 (0,3) | 6,0 (0,8) | 7,2 (0,2) | 6,6 (0,6) |
| Skupni sladkorji | * | 57,1 (6,7) a | 67,9 (5,4) a | 90,1 (6,4) b | 62,9 (6,9) a |

NS-ni statistično značilnih razlik; * Statistično značilne razlike pri P -vrednosti pod 0,05; ** Statistično značilne razlike pri P -vrednosti pod 0,01; *** Statistično značilne razlike pri P -vrednosti pod 0,001.

Različne črke v vrstici pomenijo statistično značilne razlike (Duncanov test $p < 0,05$), med enakimi črkami ni značilnih razlik.

Vsebnost skupnih sladkorjev

Kultivar je značilno vplival na vsebnost skupnih sladkorjev v neokuženih strokih nizkega fižola. Stroki kultivarja 'Re dei burri' so imeli značilno večjo vsebnost skupnih sladkorjev ($90,1 \pm 6,4 \text{ g kg}^{-1}$ sveže mase) kot stroki ostalih treh kultivarjev, vsebovali so do 57,8 % večjo vsebnost skupnih sladkorjev v primerjavi z vsebnostmi v strokih ostalih kultivarjev. Med vsebnostmi skupnih sladkorjev v strokih ostalih treh kultivarjev nismo zaznali značilnih razlik. (Preglednica 6).

Vsebnost fruktoze

Na vsebnost fruktoze je kultivar imel značilen vpliv. Vsebnost fruktoze v neokuženih strokih kultivarja 'Re dei burri' ($43,2 \pm 2,8 \text{ g kg}^{-1}$ sveže mase) je bila značilno večja od vsebnosti v strokih ostalih treh kultivarjev. Med vsebnostmi fruktoze v strokih ostalih treh kultivarjev nismo zaznali razlik (Preglednica 6). Vsebnost fruktoze v strokih kultivarja 'Re dei burri' se je od vsebnosti v strokih ostalih kultivarjev razlikovala tudi do 65,5 %.

Vsebnost glukoze

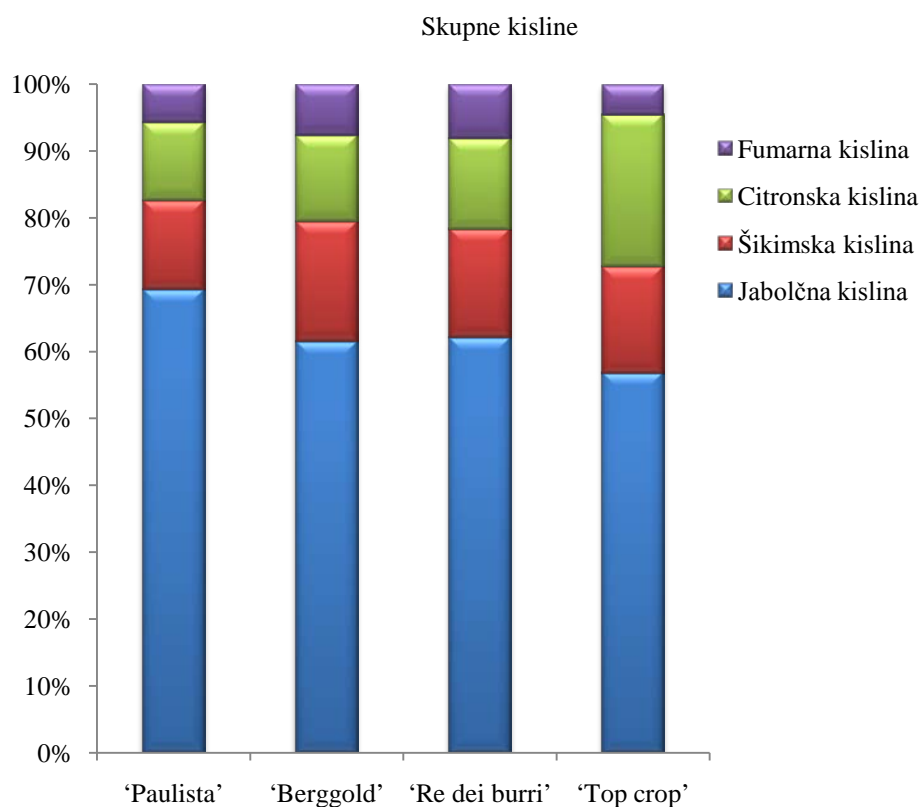
Tudi na vsebnost glukoze v neokuženih strokih nizkega fižola je kultivar imel značilen vpliv. Vsebnost glukoze je bila največja v strokih nizkega fižola kultivarja 'Re dei burri' ($39,6 \pm 3,5 \text{ g kg}^{-1}$ sveže mase) in se je značilno razlikovala od vsebnosti v strokih ostalih treh kultivarjev. Med vsebnostmi v strokih ostalih treh kultivarjev nismo zaznali razlik (Preglednica 6). Stroki kultivarja 'Re dei burri' so vsebovali do 55,3 % večjo vsebnost glukoze od vsebnosti v strokih ostalih kultivarjev.

Vsebnost saharoze

Kultivar ni imel značilnega vpliva na vsebnost saharoze v neokuženih strokih nizkega fižola (Preglednica 6).

4.2.1.2 Vsebnost organskih kislin v neokuženih strokih nizkega fižola glede na kultivar

Na sliki 38 vidimo, da je jabolčna kislina vodilna kislina v neokuženih strokih nizkega fižola, sledijo šikimska, citronska in fumarna kislina. To velja za stroke kultivarjev 'Paulista', 'Berggold' in 'Re dei burri'. V strokih kultivarja 'Top crop' pa smo našli večjo vsebnost citronske kisline kot šikimske kisline.



Slika 38: Povprečni deleži organskih kislin (jabolčna, šikimska, citronska in fumarna) v neokuženih strokih nizkega fižola glede na kultivar.

Figure 38: Average shares of organic acids (malic, shikimic, citric and fumaric acid) in uninfected dwarf French bean pods depending on the cultivar.

V preglednici 7 so prikazane povprečne vsebnosti organskih kislin izmerjenih v neokuženih strokih nizkega fižola štirih različnih kultivarjev ('Paulista', 'Berggold', 'Re dei burri' in 'Top crop').

Preglednica 7: Stopnje statistične značilnosti, povprečne vsebnosti organskih kislin v neokuženih strokih (g kg⁻¹ svežih strokov nizkega fižola) in pripadajoče standardne napake glede na kultivar nizkega fižola ('Paulista', 'Berggold', 'Re dei burri' in 'Top crop').

Table 7: Levels of statistical significance, average organic acids content in uninfected dwarf French beans (g kg⁻¹ of fresh dwarf French bean pods) and associated standard errors according to the dwarf French bean cultivar ('Paulista', 'Berggold', 'Re dei burri' in 'Top crop').

| Organska kislina | Stopnja statistične značilnosti | Kultivar | | | |
|-----------------------|---------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|
| | | 'Paulista' | 'Berggold' | 'Re dei burri' | 'Top crop' |
| Jabolčna kislina | *** | 3,6 (0,2) b | 2,4 (0,2) a | 2,3 (0,2) a | 2,5 (0,2) a |
| Citronska kislina | ** | 0,6 (0,10) a | 0,5 (0,09) a | 0,5 (0,09) a | 1,0 (0,1) b |
| Šikimska kislina | NS | 0,7 (0,05) | 0,7 (0,06) | 0,6 (0,06) | 0,7 (0,06) |
| Fumarna kislina | ** | 0,3 (0,02) b | 0,3 (0,01) b | 0,3 (0,01) b | 0,2 (0,01) a |
| Skupne kisline | * | 5,2 (0,4) b | 3,7 (0,4) a | 3,7 (0,3) a | 4,4 (0,4) ab |

NS-ni statistično značilnih razlik; * Statistično značilne razlike pri *P*-vrednosti pod 0,05; ** Statistično značilne razlike pri *P*-vrednosti pod 0,01; *** Statistično značilne razlike pri *P*-vrednosti pod 0,001. Različne črke v vrstici pomenijo statistično značilne razlike (Duncanov test $p < 0,05$), med enakimi črkami ni značilnih razlik.

Vsebnost skupnih kislin

Kultivar značilno vpliva na vsebnost skupnih kislin v neokuženih strokih nizkega fižola. Stroki kultivarja 'Paulista' vsebujejo značilno večjo vsebnost (do 40,5 % več) skupnih kislin ($5,2 \pm 0,4$ g kg⁻¹ sveže mase) kot stroki kultivarjev 'Berggold' ($3,7 \pm 0,4$ g kg⁻¹ sveže mase) in 'Re dei burri' ($3,7 \pm 0,3$ g kg⁻¹ sveže mase). Med vsebnostmi skupnih kislin v strokih kultivarjev 'Paulista' in 'Top crop' ni značilnih razlik (Preglednica 7).

Vsebnost jabolčne kisline

Kultivar značilno vpliva na vsebnost jabolčne kisline v neokuženih strokih nizkega fižola. Stroki kultivarja 'Paulista' vsebujejo značilno večjo vsebnost jabolčne kisline ($3,6 \pm 0,2$ g kg⁻¹ sveže mase) kot stroki ostalih treh kultivarjev. Med stroki ostalih treh kultivarjev ni značilnih razlik v vsebnosti jabolčne kisline. Stroki kultivarja 'Paulista' vsebujejo do 56,5 % večjo vsebnost jabolčne kisline kot stroki ostalih kultivarjev (Preglednica 7).

Vsebnost citronske kisline

Kultivar ima značilen vpliv tudi na vsebnost citronske kisline v neokuženih strokih nizkega fižola. Stroki kultivarja 'Top crop' vsebujejo značilno večjo vsebnost citronske kisline ($1,0 \pm 0,1$ g kg⁻¹ sveže mase) kot stroki fižola ostalih treh kultivarjev. Stroki kultivarja 'Top crop' vsebujejo do 100 % večjo vsebnost citronske kisline kot stroki ostalih treh kultivarjev. Med stroki ostalih treh kultivarjev ni značilnih razlik v vsebnosti citronske kisline (Preglednica 7).

Vsebnost šikimske kisline

Kultivar nima značilnega vpliva na vsebnost šikimske kisline v neokuženih strokih nizkega fižola (Preglednica 7).

Vsebnost fumarne kisline

Kultivar značilno vpliva na vsebnost fumarne kisline v neokuženih strokih nizkega fižola. Stroki kultivarja 'Top crop' vsebujejo značilno manjšo vsebnost fumarne kisline ($0,2 \pm 0,01 \text{ g kg}^{-1}$ sveže mase) kot stroki ostalih treh kultivarjev in sicer do 33,3 %. Med vsebnostmi fumarne kisline v strokih ostalih treh kultivarjev ni značilnih razlik (Preglednica 7).

4.2.1.3 Vsebnost in struktura fenolnih spojin v neokuženih strokih nizkega fižola glede na kultivar

V preglednici 8 so prikazane povprečne vsebnosti fenolnih spojin izmerjenih v neokuženih strokih nizkega fižola štirih kultivarjev ('Paulista', 'Berggold', 'Re dei burri' in 'Top crop').

Preglednica 8: Stopnje statistične značilnosti, povprečne vsebnosti posamičnih fenolnih spojin v neokuženih strokih nizkega fižola ($\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ svežih strokov nizkega fižola) in pripadajoče standardne napake glede na kultivar nizkega fižola ('Paulista', 'Berggold', 'Re dei burri' in 'Top crop').

Table 8: Levels of statistical significance, average individual phenolic compounds contents in uninfected dwarf French beans ($\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ of fresh dwarf French beans) and associated standard errors according to the dwarf French bean cultivar ('Paulista', 'Berggold', 'Re dei burri' in 'Top crop').

| Fenolna spojina | Stopnja statistične značilnosti | Kultivar | | | |
|--|---------------------------------|---------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | | 'Paulista' | 'Berggold' | 'Re dei burri' | 'Top crop' |
| Vanilna kislina - heksoza | *** | 0 (0,0) a | 182,6 (19,9) d | 127,4 (6,9) c | 56,5 (5,8) b |
| Vanilna kislina - pentozil heksoza | *** | 128,1 (8,9) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 103,6 (25,4) b |
| <i>p</i> -kumaroil aldarična kislina 1 | *** | 19,9 (1,5) a | 15,7 (2,1) a | 44,5 (2,2) b | 71,8 (7,3) c |
| <i>p</i> -kumaroil aldarična kislina 2 | *** | 0 (0,0) a | 38,7 (3,0) b | 75,6 (6,2) d | 60,6 (5,7) c |
| <i>p</i> -kumaroil aldarična kislina 3 | *** | 0 (0,0) a | 31,8 (1,7) a | 188,1 (11,9) b | 190,7 (17,7) b |
| <i>p</i> -kumaroil aldarična kislina 4 | *** | 0 (0,0) a | 19,6 (2,4) a | 128,6 (12,2) b | 252,2 (23,0) c |
| <i>p</i> -kumaroil aldarična kislina 5 | *** | 0 (0,0) a | 37,5 (2,2) b | 41,4 (3,2) b | 35,5 (0,9) b |
| <i>p</i> -kumaroil aldarična kislina 6 | *** | 0 (0,0) a | 16,5 (1,7) b | 76,3 (8,4) c | 93,2 (4,8) d |
| Kavna kislina - heksoza | *** | 0 (0,0) a | 50,3 (4,5) c | 31,1 (1,7) b | 3,3 (0,2) a |

se nadaljuje

nadaljevanje preglednice 8. Stopnje statistične značilnosti, povprečne vsebnosti posamičnih fenolnih spojin v neokuženih strokih nizkega fižola ($\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ svežih strokov nizkega fižola) in pripadajoče standardne napake glede na kultivar nizkega fižola ('Paulista', 'Berggold', 'Re dei burri' in 'Top crop').

| Fenolna spojina | Stopnja statistične značilnosti | Kultivar | | | |
|---|---------------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|
| | | 'Paulista' | 'Berggold' | 'Re dei burri' | 'Top crop' |
| Feruloil aldarična kislina | ** | 11,7 (4,1) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a |
| Feruloil aldarična kislina 1 | *** | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 177,4 (9,6) c | 77,5 (11,9) b |
| Feruloil aldarična kislina 2 | *** | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 101,8 (9,7) b | 119,1 (7,7) b |
| Feruloil aldarična kislina 3 | *** | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 164,5 (11,3) c | 90,3 (14,8) b |
| Feruloil aldarična kislina 4 | *** | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 198,6 (13,5) c | 157,1 (10,5) b |
| Sinapoil ramnozid 1 | *** | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 2,2 (0,3) a | 109,6 (17,5) b |
| Sinapoil ramnozid 2 | *** | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 38,2 (2,2) b | 36,3 (5,3) b |
| Klorogenska kislina | *** | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 26,3 (1,8) b | 0 (0,0) a |
| Derivati hidrosicimetnih kislin (skupaj) | *** | 159,7 (10,4) a | 392,8 (1,1) b | 1422,0 (82,3) c | 1457,2 (74,9) c |
| Floridzin-C-diglikozid 1 | *** | 1,1 (0,4) a | 47,9 (4,9) c | 68,8 (7,4) d | 18,9 (2,2) b |
| Floridzin-C-diglikozid 2 | *** | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 14,6 (2,0) b | 0 (0,0) a |
| Floretin malonil-C-diglikozid | *** | 0 (0,0) a | 43,7 (9,8) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a |
| Floretin-C-diglikozid | *** | 9,1 (1,5) a | 154,8 (32,7) b | 11,2 (10,4) b | 133,5 (24,4) b |
| Dihidroalkoni (skupaj) | *** | 10,2 (1,8) a | 246,4 (46,8) c | 194,6 (17,7) bc | 152,5 (24,3) b |
| Kempferol diheksoza | *** | 0 (0,0) a | 93,9 (5,0) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a |
| Kempferol heksozil rutinozid | *** | 111,8 (10,3) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a |
| Kvercetin heksozil rutinozid | *** | 94,7 (27,2) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a |
| Kempferol heksozil rutinozid | *** | 0 (0,0) a | 14,6 (0,9) b | 0 (0,0) a | 13,8 (1,4) b |
| Kempferol ksilozil rutinozid | *** | 374,9 (87,5) b | 15,2 (0,7) a | 0 (0,0) a | 9,2 (0,8) a |
| Kempferol-3-O-rutinozid | NS | 197,8 (50,5) | 97,6 (10,7) | 118,5 (13,0) | 141,3 (10,5) |
| Kempferol-3-O-glukozid | *** | 468,1 (39,5) b | 79,1 (14,2) a | 48,6 (9,3) a | 109,6 (26,7) a |
| Kempferol ramnozil heksoza heksoza | *** | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 20,3 (1,1) b | 0 (0,0) a |
| Kempferol pentozid heksozil ramnozid | *** | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 22,9 (1,3) b | 0 (0,0) a |

se nadaljuje

nadaljevanje preglednice 8. Stopnje statistične značilnosti, povprečne vsebnosti posamičnih fenolnih spojin v neokuženih strokih nizkega fižola ($\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ svežih strokov nizkega fižola) in pripadajoče standardne napake glede na kultivar nizkega fižola ('Paulista', 'Berggold', 'Re dei burri' in 'Top crop').

| Fenolna spojina | Stopnja statistične značilnosti | Kultivar | | | |
|------------------------------------|---------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | | 'Paulista' | 'Berggold' | 'Re dei burri' | 'Top crop' |
| Kvercetin-3- <i>O</i> -glukozid | *** | 2850,2 (288,1) c | 1333,2 (343,5) b | 303,2 (48,8) a | 489,3 (126,1) a |
| Kvercetin-3- <i>O</i> -rutinozid | ** | 1408,9 (229,4) b | 1341,3 (283,0) b | 541,9 (50,8) a | 631,0 (115,5) a |
| Kvercetin ksilozil rutinozid | *** | 882,6 (242,0) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a |
| Kvercetin-3- <i>O</i> -vicianozid | *** | 51,0 (13,7) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a |
| Izoramnetin ksilozil rutinozid | *** | 56,4 (17,6) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a |
| Izoramnetin-3- <i>O</i> -rutinozid | *** | 14,0 (1,4) c | 0 (0,0) a | 4,5 (0,7) b | 2,4 (0,6) ab |
| Flavonoli (skupaj) | *** | 6510,4 (549,3) c | 2974,9 (655,9) b | 1060,0 (120,2) a | 1396,5 (275,1) a |
| Katehin | *** | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 880,1 (144,0) b |
| Procianidin dimer 1 | *** | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 775,6 (42,2) b |
| Procianidin trimer | *** | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 708,7 (33,6) b |
| Procianidin dimer 2 | *** | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 5,6 (0,4) b |
| Flavanoli (skupaj) | *** | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 2370,0 (176,5) b |
| Naringenin heksoza 2 | *** | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 210,3 (12,7) b |
| Naringenin heksoza | *** | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 189,2 (13,5) b |
| Flavanoni (skupaj) | *** | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 399,5 (11,2) b |
| SKUPNI FENOLI | *** | 6680,3 (558,9) b | 3614,1 (707,3) a | 2676,5 (196,3) a | 5775,7 (408,9) b |

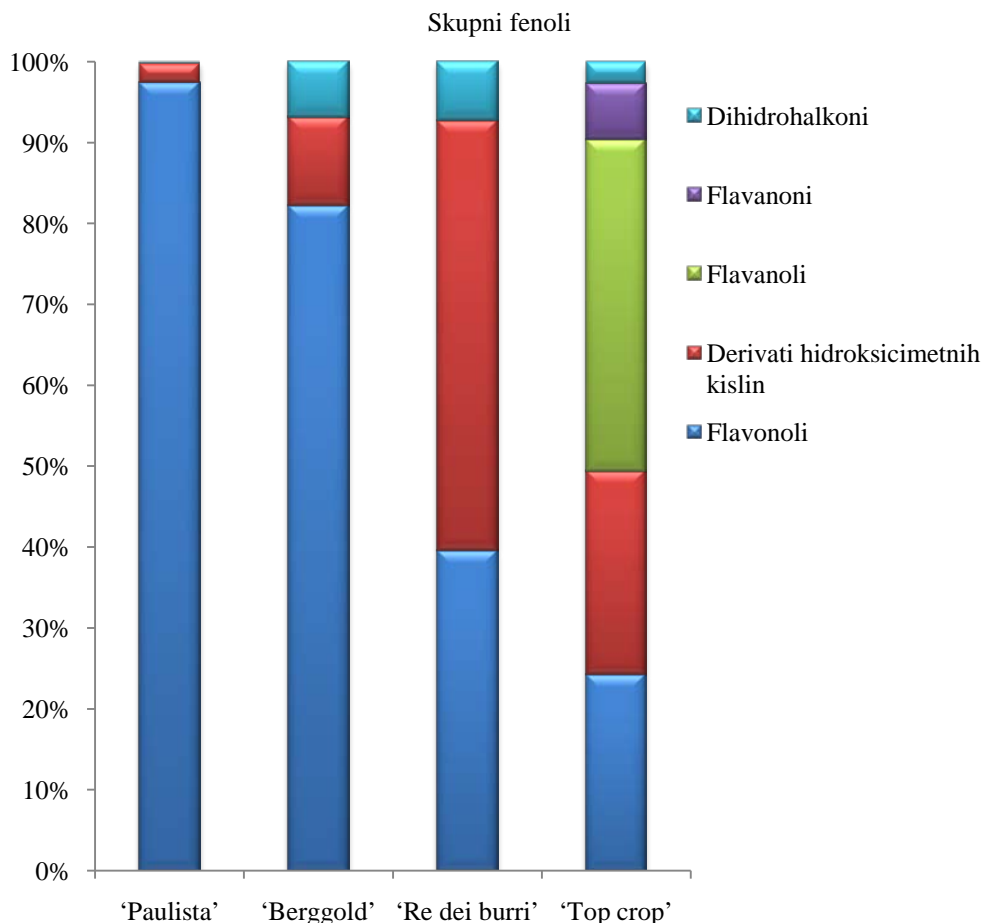
NS-ni statistično značilnih razlik; * Statistično značilne razlike pri P -vrednosti pod 0,05; ** Statistično značilne razlike pri P -vrednosti pod 0,01; *** Statistično značilne razlike pri P -vrednosti pod 0,001.

Različne črke v vrstici pomenijo statistično značilne razlike (Duncanov test $p < 0,05$), med enakimi črkami ni značilnih razlik.

Vsebnost skupnih fenolov

Kultivar ima značilen vpliv na vsebnost skupnih fenolov v neokuženih strokih nizkega fižola. Stroki kultivarjev 'Paulista' ($6680,3 \pm 558,9 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) in 'Top crop' ($5775,7 \pm 409,2 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) vsebujejo značilno večjo vsebnost skupnih fenolov (med njima ni značilnih razlik) kot stroki kultivarjev 'Berggold' ($3614,1 \pm 707,3 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) in 'Re dei burri' ($2676,5 \pm 196,3 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase), med katerima ni značilnih razlik.

V strokih kultivarja 'Paulista' in 'Berggold' največji delež skupnih fenolov predstavljajo flavonoli, v strokih kultivarja 'Re dei burri' flavonoli in derivati hidroksicimetnih kislin. V strokih kultivarja 'Top crop' pa najdemo največje deleže flavanolov, flavanolov in derivatov hidroksicimetnih kislin (Slika 39).



Slika 39: Deleži posameznih podskupin flavonoidov določenih v neokuženih strokih glede na kultivar.
Figure 39: Shares of each sub-group of flavonoids detected in uninfected pods, depending on the cultivar.

V strokih kultivarja 'Paulista' smo opazili značilno največjo vsebnost skupnih flavanolov in naslednjih 11 individualnih fenolnih spojin: kempferol heksozil rutinozid, kvercetin heksozil rutinozid, kempferol ksilozil rutinozid, kempferol-3-*O*-glukozid, kvercetin-3-*O*-glukozid, kvercetin ksilozil rutinozid, kvercetin-3-*O*-vicianozid, izoramnetin ksilozil rutinozid, izoramnetin-3-*O*-rutinozid, Vanilna kislina - pentozil heksoza, feruloil aldarična kislina.

V strokih kultivarja 'Berggold' smo zaznali značilno največjo vsebnost skupnih dihidrohalkonov in naslednjih 5 individualnih fenolnih spojin: kempferol diheksoza,

kempferol heksozil rutinozid, vanilna kislina-heksoza, kavna kislina-heksoza, floretin malonil-C-diglikozid.

V strokih kultivarja 'Re dei burri' smo opazili največjo vsebnost naslednjih 9 individualnih fenolnih spojin: kempferol ramnozid heksoza heksoza, kempferol pentozid heksozid ramnozid, *p*-kumaroil aldarična kislina 2, feruloil aldarična kislina 1, feruloil aldarična kislina 3, feruloil aldarična kislina 4, klorogenska kislina, floridzin-C-diglikozid 1, floridzin-C-diglikozid 2.

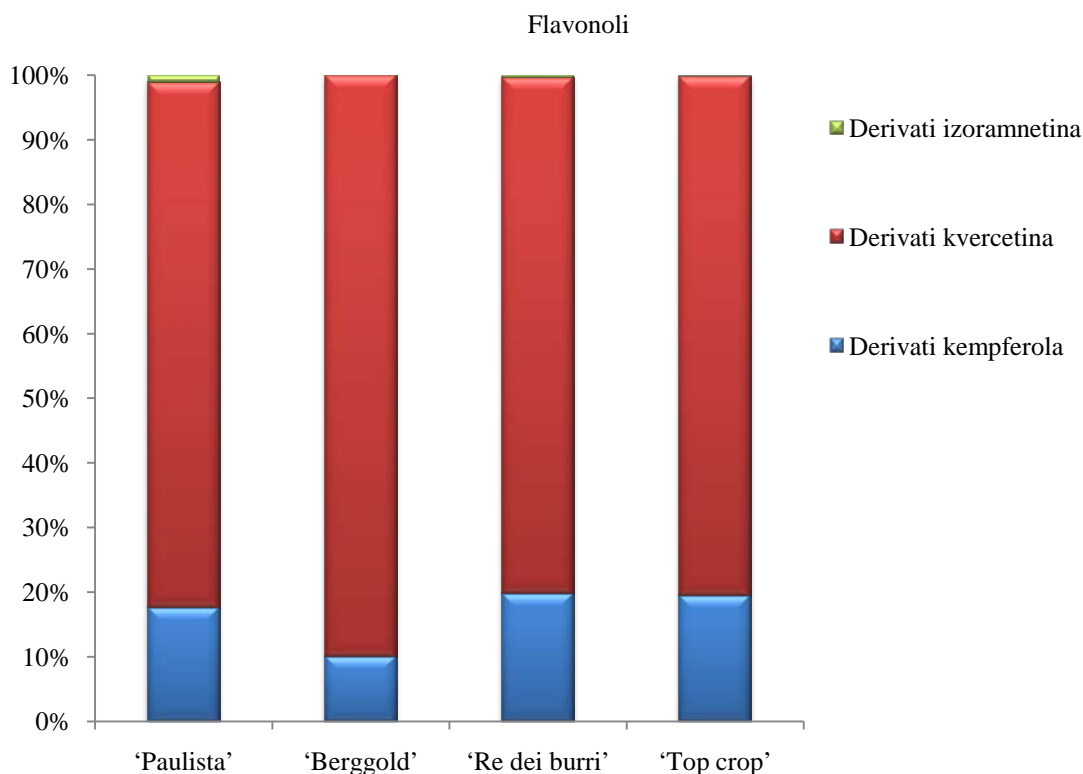
V strokih kultivarja 'Top crop' smo ugotovili največjo vsebnost skupnih flavanolor, skupnih flavanonov in naslednjih 11 individualnih fenolnih spojin: *p*-kumaroil aldarična kislina 1, *p*-kumaroil aldarična kislina 4, *p*-kumaroil aldarična kislina 6, sinapoil ramnozid 1, katehin, procianidin dimer 1, procianidin trimer, procianidin dimer 2, naringenin heksoza 2, naringenin heksoza 4.

Vsebnost flavonolov

Ugotovili smo, da vsebujejo stroki kultivarja 'Paulista' značilno večjo vsebnost flavonolov ($6510,4 \pm 549,3 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) kot stroki kultivarja 'Berggold' ($2974,9 \pm 655,9 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase), ti pa značilno večjo vsebnost flavonolov kot stroki kultivarjev 'Re dei burri' ($1060,0 \pm 120,2 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) in 'Top crop' ($1396,5 \pm 275,1 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase). Med vsebnostmi flavonolov izmerjenih v strokih nizkega fižola kultivarjev 'Re dei burri' in 'Top crop' ni značilnih razlik (Preglednica 8).

Iz slike 40 vidimo, da so v vseh štirih kultivarjih nizkega fižola prevladujoči flavonoli, derivati kvercetina (79,7-89,9 %), sledijo derivati kempferola (10,1-19,8 %). Zanimljivo majhne vsebnosti derivatov izoramnetina smo določili v vseh kultivarjih razen v strokih kultivarja 'Berggold', kjer jih nismo določili.

Kultivarji se med seboj razlikujejo tudi po sestavi flavonolov. V strokih kultivarja 'Paulista' so prevladujoči flavonoli kvercetin-3-*O*-glukozid, kvercetin-3-*O*-rutinozid in kvercetin ksilozil rutinozid, v strokih kultivarja 'Berggold' sta vodilna kvercetin-3-*O*-glukozid in kvercetin-3-*O*-rutinozid. V strokih kultivarjev 'Re dei burri' in 'Top crop' so vodilni flavonoli kempferol-3-*O*-rutinozid, kvercetin-3-*O*-glukozid in kvercetin-3-*O*-rutinozid (Preglednica 8).



Slika 40: Deleži flavonolov v neokuženih strokih glede na kultivar.

Figure 40: Shares of flavonols detected in uninfected pods depending on the cultivar.

Ugotovili smo, da je bila sestava flavonolov v strokih nizkega fižola različna glede na kultivar. Vsebnost kempferol diheksoze smo zaznali le v strokih kultivarja 'Berggold' in sicer $93,9 \pm 5,0 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase. Vsebnost kempferol heksozil rutinozida in kvercetin heksozil rutinozida pa v strokih kultivarja 'Paulista' in sicer $111,8 \pm 10,3 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ in $94,7 \pm 27,2 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase (Preglednica 8).

Vsebnost kempferol heksozil rutinozida smo določili le v strokih kultivarjev 'Berggold' ($14,6 \pm 0,9 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) in 'Top crop' ($13,8 \pm 1,4 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) (Preglednica 8).

Večji delež med flavonoli predstavlja kempferol ksilozil rutinozid, ki smo ga določili v strokih kultivarja 'Paulista' ($374,9 \pm 87,5 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase), manj ga je bilo v strokih kultivarjev 'Berggold' ($15,2 \pm 0,7 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) in 'Top crop' ($9,2 \pm 0,8 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) (Preglednica 8).

Na vsebnost kempferol-3-*O*-rutinozida v neokuženih strokih fižola kultivar nima značilnega vpliva (Preglednica 8).

Po vsebnosti kempferol-3-*O*-glukozida je izstopal kultivar 'Paulista' kjer smo ugotovili do 9,63 krat večjo vsebnost ($468,1 \pm 39,5 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) kot v ostalih kultivarjih (Preglednica 8).

Kultivar 'Re dei burri' izstopa po vsebnosti kempferol ramnozid heksoze heksoze ($20,3 \pm 1,1 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) in kempferol pentozid heksozid ramnozida ($22,9 \pm 1,3 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) (Preglednica 8).

Tudi v vsebnosti najbolj zastopanega flavonola kvercetin-3-*O*-glukozida so se kultivarji značilno razlikovali. V strokih kultivarja 'Paulista' smo našli največjo ($2850,2 \pm 288,1 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase), značilno manjšo vsebnost so imeli stroki kultivarja 'Berggold' ($1333,2 \pm 343,5 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) in najmanjšo stroki kultivarjev 'Re dei burri' ($303,2 \pm 48,8 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) in 'Top crop' ($489,3 \pm 126,1 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase), med njima pa ni značilnih razlik (Preglednica 8).

Vpliv kultivarja je bil prisoten tudi pri vsebnosti drugega najbolj zastopanega flavonola, kvercetin-3-*O*-rutinozida. Največ smo ga določili v strokih kultivarjev 'Paulista' ($1408,9 \pm 229,4 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) in 'Berggold' ($1341,3 \pm 283,0 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase), značilno manj v strokih kultivarjev 'Re dei burri' ($541,9 \pm 50,8 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) in 'Top crop' ($631,0 \pm 115,5 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) (Preglednica 8).

Flavonola kvercetin ksilozil rutinozid in kvercetin-3-*O*-vicianozid sta bila določena le v strokih kultivarja 'Paulista' ($882,6 \pm 242,0 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase in $51,0 \pm 13,7 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) (Preglednica 8).

Vsebnost izoramnetin ksilozil rutinozida smo določili v strokih kultivarja 'Paulista' in sicer $56,4 \pm 17,6 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase. Flavonol izoramnetin-3-*O*-rutinozid smo določili v treh kultivarjih, največ v strokih kultivarja 'Paulista' ($14,0 \pm 1,4 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase), značilno manjšo vsebnost v strokih kultivarjev 'Re dei burri' ($4,5 \pm 0,7 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) in 'Top crop' ($2,4 \pm 0,6 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) (Preglednica 8).

Vsebnost derivatov hidroksicimetnih kislin

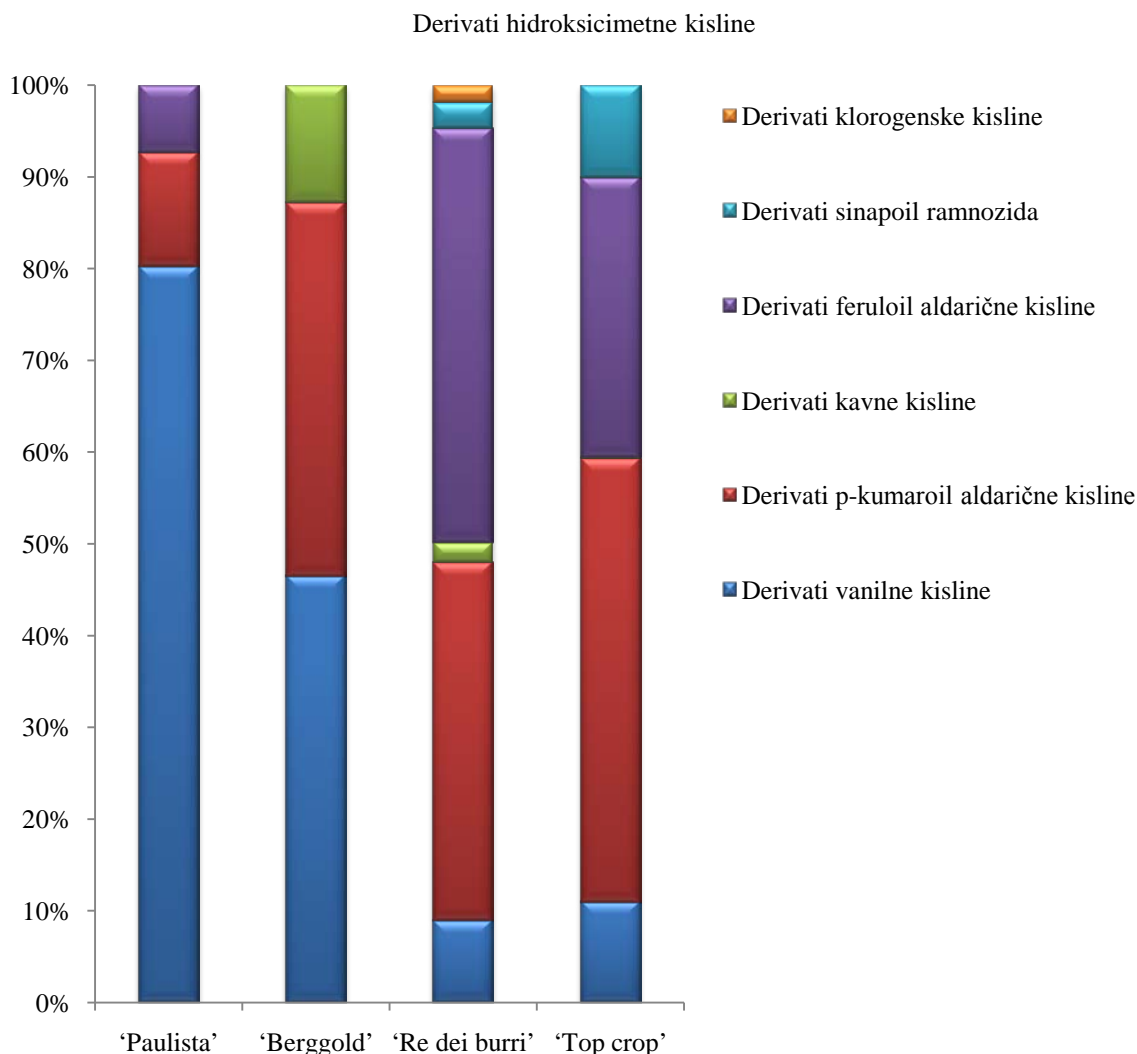
Kultivar ima značilen vpliv na vsebnost derivatov hidroksicimetnih kislin v neokuženih strokih nizkega fižola. Stroki kultivarja 'Top crop' imajo največjo vsebnost derivatov hidroksicimetnih kislin, $1457,2 \pm 74,9 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase, kar je 9,12 krat več od strokov kultivarja 'Paulista', stroki kultivarja 'Re dei burri' $1422,0 \pm 82,3 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase, kar je 8,9 krat več in stroki kultivarja 'Berggold' $392,8 \pm 1,1 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase, kar je 2,45 krat več kot stroki kultivarja 'Paulista', ki vsebujejo $159,7 \pm 10,4 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase (Preglednica 8).

Iz slike 41 vidimo, da največji delež derivatov hidroksicimetnih kislin v strokih kultivarja 'Paulista' predstavljajo derivati vanilne kisline (80,2 %), v strokih omenjenega kultivarja smo določili še derivate *p*-kumaroil aldarične kisline (12,5 %) in derivata feruloil aldarične kisline (7,3 %). V strokih kultivarja 'Berggold' so prevladujoči derivati vanilne kisline (46,5 %) in derivatov *p*-kumaroil aldarične kisline (40,7 %), določili smo tudi derivate kavne kisline (12,8 %). V strokih kultivarja 'Re dei burri' je največ derivatov feruloil aldarične kisline (45,2 %) in derivatov *p*-kumaroil aldarične kisline (39,0 %), določili smo še derivate vanilne kisline (9,0 %), derivate sinapoil ramnozida (2,8 %), derivate kavne kisline (2,2 %) in derivate klorogense kisline (1,9 %). V strokih kultivarja 'Top crop' je največ derivatov *p*-kumaroil aldarične kisline (48,3 %), sledijo derivati feruloil aldarične kisline (30,5 %), v manjših deležih smo zaznali še derivate vanilne kisline (11,0 %) ter derivate sinapoil ramnozida (10,0 %), določili smo zanemarljivo malo derivatov kavne kisline, derivatov klorogenske kisline pa nismo določili.

Kultivarji se razlikujejo tudi po strukturi derivatov hidroksicimetnih kislin. V strokih kultivarja 'Paulista' je vodilen derivat hidroksicimetnih kislin vanilna kislina-pentozil heksoza, v strokih kultivarja 'Berggold' pa vanilna kislina-heksoza in kavna kislina-heksoza. V strokih kultivarja 'Re dei burri' zaznamo največjo vsebnost feruloil aldarične kisline 4, *p*-kumaroil aldarične kisline 3 ter feruloil aldarične kisline 1, v strokih kultivarja 'Top crop' pa so vodilne *p*-kumaroil aldarična kislina 4, *p*-kumaroil aldarična kislina 3 in feruloil aldarična kislina 4 (Preglednica 8).

Analiza variance je potrdila značilen vpliv kultivarja na vsebnost vanilne kisline-heksoze. Stroki kultivarja 'Berggold' so vsebovali $182,6 \pm 19,9 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase, kar je bilo 3,23 krat več od strokov kultivarja 'Top crop' ($56,5 \pm 5,8 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase), stroki kultivarja 'Re dei burri' ($127,4 \pm 6,9 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase), pa 2,25 krat več kot stroki kultivarja 'Top crop'. Stroki kultivarja 'Paulista' ne vsebujejo omenjene kisline (Preglednica 8).

Kultivar ima značilen vpliv na vsebnost vanilne kisline-pentozil heksoze, ki smo jo določili le v strokih kultivarja 'Paulista' ($128,1 \pm 8,9 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) in 'Top crop' ($103,6 \pm 25,4 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase). Med vsebnostmi v strokih kultivarjev 'Paulista' in 'Top crop' ni značilnih razlik (Preglednica 8).



Slika 41: Deleži derivatov hidroksicimetnih kislin v neokuženih strokih glede na kultivar.
Figure 41: Shares of hydroxycinnamics acids derivatives detected in uninfected pods, depending on the cultivar.

Tudi na vsebnost *p*-kumaroil aldarične kisline 1 kultivar značilno vpliva. Značilno večjo vsebnost smo ugotovili v strokih kultivarjev 'Top crop' ($71,8 \pm 7,3 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) in 'Re dei burri' ($44,5 \pm 2,2 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase), kar je bilo 4,57 oziroma 2,83 krat več od vsebnosti v strokih kultivarjev 'Berggold' ($15,7 \pm 2,1 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) in 'Paulista' ($19,9 \pm 1,5 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) (Preglednica 8).

Tudi pri oblikah *p*-kumaroil aldarične kisline 2, 3, 4 in 6 smo ugotovili značilen vpliv kultivarja na njihovo vsebnost. Vse štiri oblike imajo značilno večjo vsebnost v strokih kultivarjev 'Re dei burri' in 'Top crop' glede na kultivar 'Berggold', medtem ko stroki kultivarja 'Paulista' ne vsebujejo omenjenih oblik *p*-kumaroil aldarične kisline. Vsebnost

p-kumaroil aldarične kisline 5 je bila pri vseh treh kultivarjih ('Re dei burri', 'Top crop' in 'Berggold'), ki jo vsebujejo, podobna (Preglednica 8).

Vsebnost kavne kisline-heksoza smo ugotovili v strokih kultivarjev 'Berggold' ($50,3 \pm 4,5 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase), 'Re dei burri' ($31,1 \pm 1,7 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) in 'Top crop' ($3,3 \pm 0,2 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) (Preglednica 8).

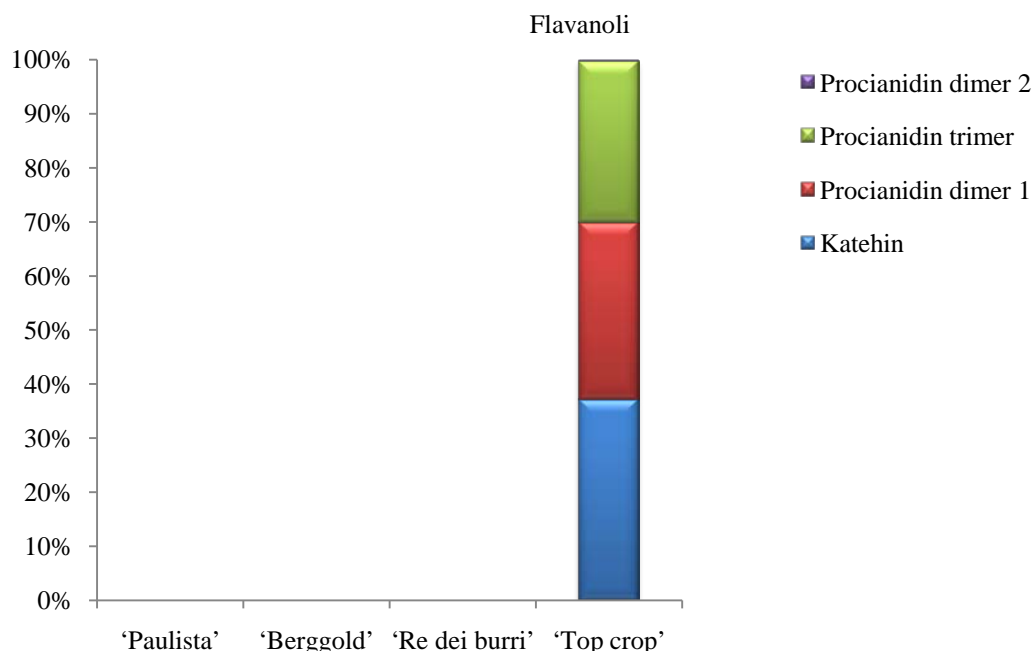
Prisotnost feruloil aldarične kisline smo ugotovili le v strokih kultivarja 'Paulista' ($11,7 \pm 4,1 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase), njene derivate (feruloil aldarične kisline 1-4), pa v strokih kultivarjev 'Re dei burri' in 'Top crop' (Preglednica 8).

Tudi na vsebnost sinapoil ramnozida 1 in 2 je imel kultivar značilen vpliv, njuno vsebnost smo ugotovili le v strokih kultivarjev 'Top crop' in 'Re dei burri' (Preglednica 8).

Vsebnost klorogenske kisline smo zaznali le v strokih kultivarja 'Re dei burri' in sicer $26,3 \pm 1,8 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase (Preglednica 8).

Vsebnost flavanолоv

Vsebnost flavanолоv v strokih nizkega fižola je različna glede na kultivar. Med analiziranimi kultivarji smo flavanole določili le v strokih kultivarja 'Top crop' in sicer $2370,0 \pm 176,5 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase (Preglednica 8).



Slika 42: Deleži flavanолоv določenih v neokuženih strokih glede na kultivar.

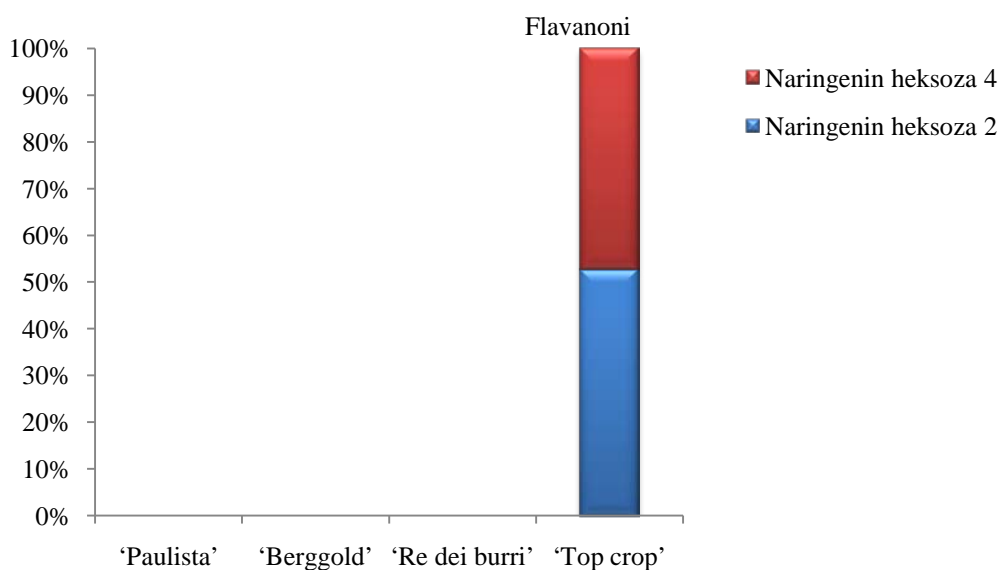
Figure 42: Shares of flavanols detected in uninfected pods, depending on the cultivar.

V strokih kultivarja 'Top crop' so vodilni flavanoli katehin ($880,1 \pm 144,0 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase), procianidin dimer 1 ($775,6 \pm 42,2 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) in procianidin trimer ($708,7 \pm 33,6 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) (Slika 42). Vsebnost procianidin dimera 2 je bila zanemarljivo majhna v primerjavi z ostalimi flavanoli in sicer $5,6 \pm 0,4 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase (Preglednica 8).

Vsebnost flavanonov

Vpliv kultivarja na vsebnost flavanonov v neokuženih strokih nizkega fižola je značilen. Flavanoni so prisotni le v strokih kultivarja 'Top crop', skupaj $399,5 \pm 11,2 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase. Stroki ostalih treh kultivarjev ne vsebujejo flavanonov (Preglednica 8).

V strokih kultivarja 'Top crop' sta vodilna flavanona naringenin heksoza 2 ($210,3 \pm 12,7 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) in naringenin heksoza 4 ($189,2 \pm 13,5 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) (Slika 43).



Slika 43: Deleži flavanonov določenih v neokuženih strokih glede na kultivar.

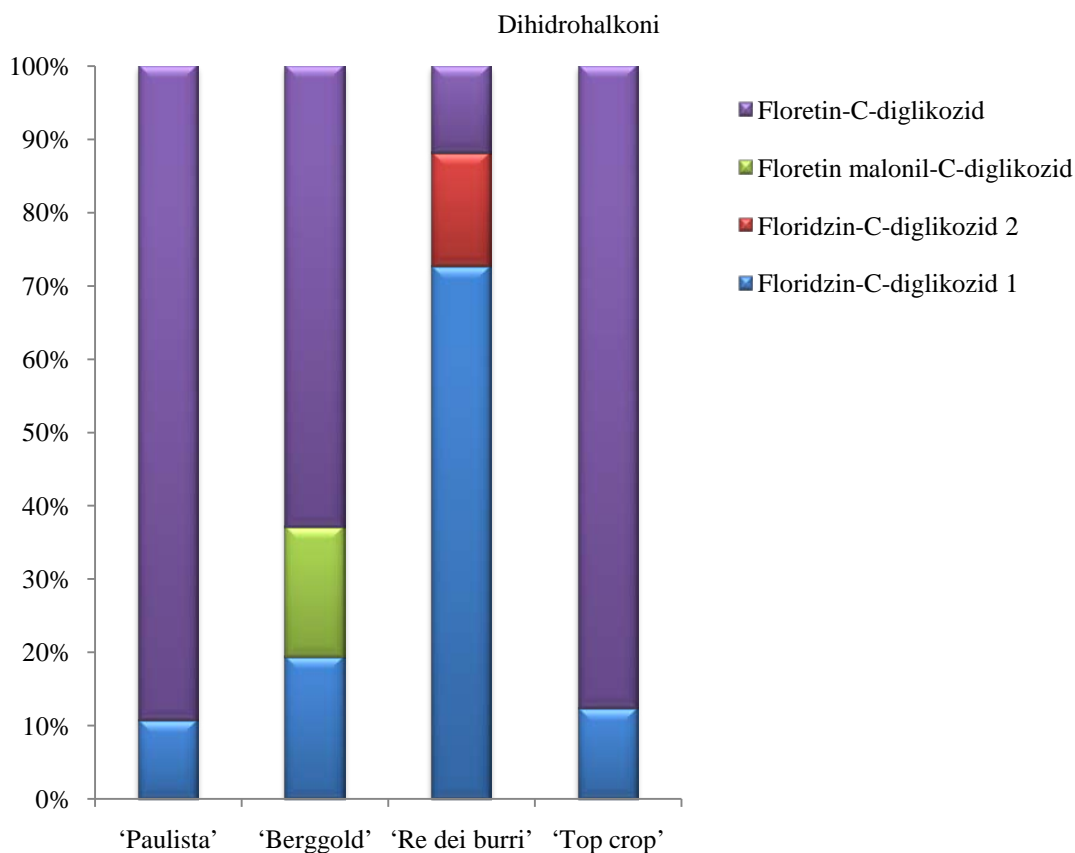
Figure 43: Shares of flavanons detected in uninfected pods, depending on the cultivar.

Vsebnost dihidrohalkonov

Vsebnost dihidrohalkonov v strokih nizkega fižola je različna glede na kultivar. Največjo vsebnost dihidrohalkonov smo ugotovili v strokih kultivarjev 'Berggold' ($246,4 \pm 46,8 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) in 'Re dei burri' ($194,6 \pm 17,7 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase), med njima ni značilnih razlik. Značilno manjšo vsebnost dihidrohalkonov vsebujejo stroki kultivarja 'Top crop' ($152,5 \pm 24,3 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) in najmanj stroki kultivarja 'Paulista' ($10,2 \pm 1,8 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) (Preglednica 8).

V strokih kultivarjev 'Paulista', 'Berggold' in 'Top crop' je vodilni dihidrohalkon floretin-C-diglikozid, v strokih kultivarja 'Re dei burri' je vodilni dihidrohalkon floridzin-C-diglikozid 1 (Slika 44).

Vsebnost floretin-C-diglikozida je bila večja v strokih kultivarjev 'Berggold' ($154,8 \pm 32,7 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase), 'Top crop' ($133,5 \pm 24,4 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) in 'Re dei burri' ($11,2 \pm 10,4 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) glede na vsebnost v strokih kultivarja 'Paulista' ($9,1 \pm 1,5 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) (Preglednica 8).



Slika 44: Deleži dihidrohalkonov določenih v neokuženih strokih glede na kultivar.

Figure 44: Shares of dihydrohalcones detected in uninfected pods, depending on the cultivar.

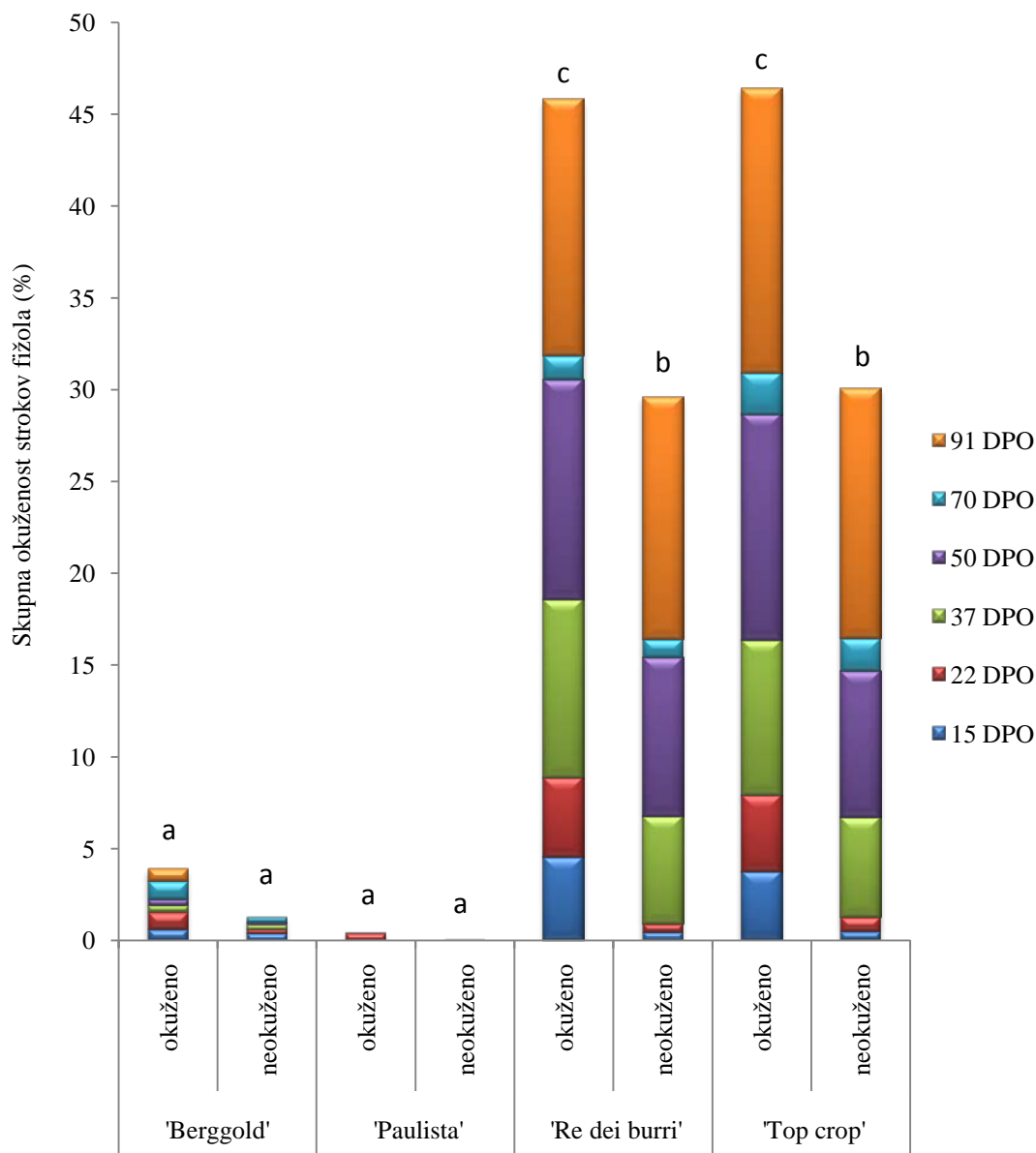
Kulivarji so se razlikovali tudi v vsebnosti floridzin-C-diglikozida 1 in sicer ga je največ v strokih kultivarja 'Re dei burri' ($68,8 \pm 7,4 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase), manj v strokih kultivarja 'Berggold' ($47,9 \pm 4,9 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase), 'Top crop' ($18,9 \pm 2,2 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) in najmanj v strokih kultivarja 'Paulista' ($1,1 \pm 0,4 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) (Preglednica 8).

Vsebnost floretin malonil-C-diglikozida smo določili le v strokih kultivarja 'Berggold' in sicer $43,7 \pm 9,8 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase (Preglednica 8).

4.2.2 Vpliv okužbe z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* in kultivarja nizkega fižola na obseg okužbe, količino in kakovost pridelka

4.2.2.1 Skupna okuženost strokov nizkega fižola

Na stopnjo okuženosti strokov nizkega fižola so imeli značilen vpliv kultivar, okuženost in njuna interakcija.



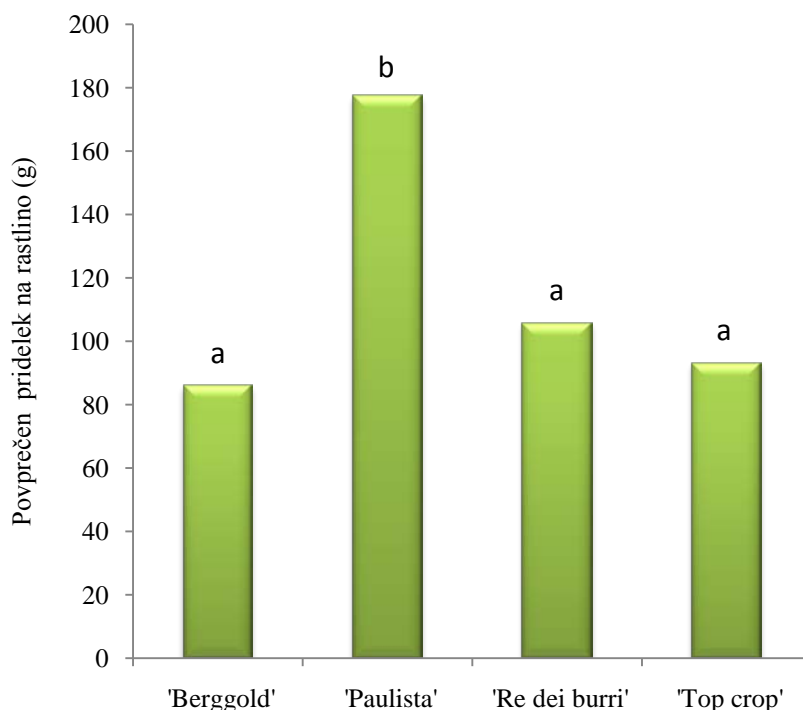
Slika 45: Skupna okuženost strokov nizkega fižola glede na kultivar ('Berggold', 'Paulista', 'Rei dei burri' in 'Top crop') in okuženost z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* v % in deleži okužbe po posameznih pobiranjih nizkega fižola (15, 22, 37, 50, 70 in 91 dni po okužbi).

Figure 45: Total dwarf Frenh bean pods infection depending on the cultivar ('Berggold', 'Paulista', 'Rei dei burri' and 'Top crop') and infection with fungus *Colletotrichum lindemuthianum* in % and shares of infection for each bean picking (15, 22, 37, 50, 70 and 91 days after infection).

Značilno največjo stopnjo okuženosti strokov nizkega fižola smo ugotovili pri umetno okuženih strokih kultivarjev 'Top crop' ($46,3 \pm 3,5$ %) in 'Re dei burri' ($45,4 \pm 3,6$ %), značilno manjšo pri neokuženih strokih kultivarjev 'Top crop' ($18,1 \pm 2,7$ %) in 'Re dei burri' ($18,4 \pm 2,8$ %), značilno najmanjšo pa pri neokuženih ($0,03 \pm 0,004$ %) in okuženih ($0,09 \pm 0,008$ %) strokih kultivarja 'Paulista' ter pri neokuženih ($1,7 \pm 0,14$ %) in okuženih ($3,0 \pm 0,32$ %) strokih kultivarja 'Berggold'. Največje deleže okužbe pri okuženih in neokuženih strokih kultivarjev 'Re dei burri' in 'Top crop' smo ugotovili 37. dan ($5,4-9,7$ %), 50. dan ($8,0-12,3$ %) in 91. dan ($13,2-15,5$ %) po okužbi z glivo *C. lindemuthianum* (Slika 45).

4.2.2.2 Povprečen pridelek na rastlino

Na povprečni pridelek nizkega stročjega fižola na rastlino značilno vpliva le kultivar. Okuženost in interakcija faktorjev nista imela značilnega vpliva (Priloga B). Največji povprečni pridelek na rastlino smo ugotovili pri kultivarju 'Paulista' ($178,1 \pm 11,7$ g/rastlino, kar zneso $8,9$ t ha⁻¹ pridelka), značilno manjši pridelek na rastlino pa smo zaznali pri kultivarjih 'Re dei burri' ($106,5 \pm 9,3$ g/rastlino oz. $5,3$ t ha⁻¹ pridelka), 'Top crop' ($93,1 \pm 8,4$ g/rastlino oz. $4,7$ t ha⁻¹ pridelka) 'Berggold' ($86,0 \pm 0,72$ g/rastlino oz. $4,3$ t ha⁻¹ pridelka) (Slika 46 in Priloga B).

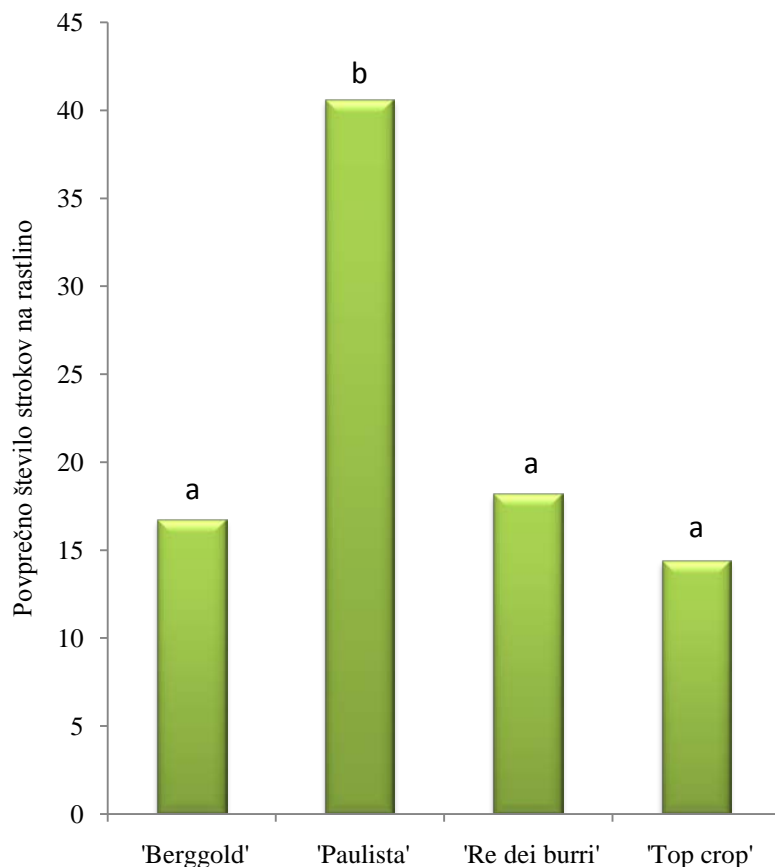


Slika 46: Povprečen pridelek na rastlino nizkega fižola (g) glede na kultivar.

Figure 46: The average yield per dwarf French bean plant (g) depending on the cultivar.

4.2.2.3 Število strokov na rastlino

Na povprečno število strokov na rastlino značilno vpliva le kultivar. Okuženost in interakcija nista imela značilnega vpliva. Največje povprečno število strokov na rastlino smo ugotovili pri kultivarju 'Paulista' ($40,6 \pm 2,8$), značilno manjše število strokov na rastlino pa smo zaznali pri kultivarjih 'Berggold' ($16,7 \pm 1,5$), 'Re dei burri' ($18,2 \pm 1,7$), 'Top crop' ($14,4 \pm 1,2$) (Slika 47).

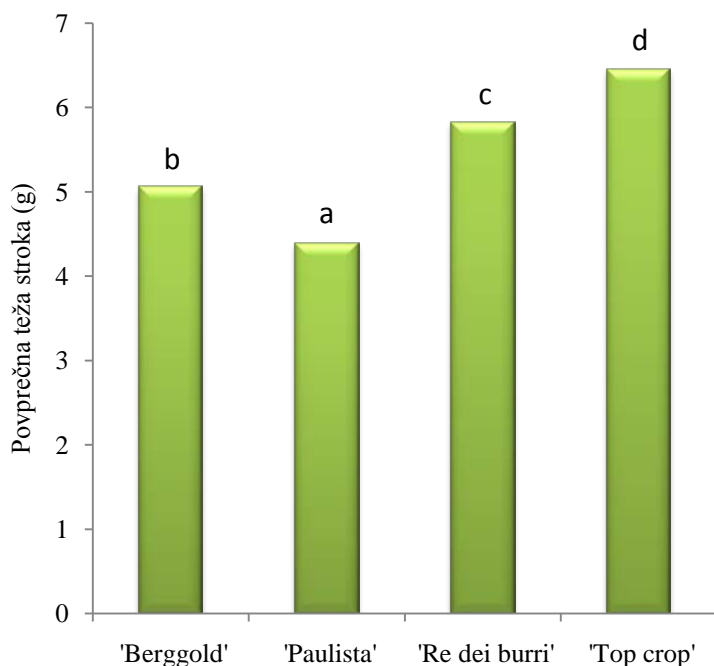


Slika 47: Povprečno število strokov na rastlino glede na kultivar.

Figure 47: The average number of pods per plant, depending on the cultivar.

4.2.2.4 Teža stroka nizkega fižola

Na povprečno težo stroka značilno vpliva le kultivar. Okuženost in interakcija nista imela značilnega vpliva. Največjo povprečno maso stroka smo ugotovili pri kultivarju 'Top crop' ($6,5 \pm 0,15$ g/strok), značilno manjšo pri kultivarju 'Re dei burri' ($5,8 \pm 0,12$ g/strok), še manjšo pri kultivarju 'Berggold' ($5,1 \pm 0,11$ g/strok) in najmanjšo pri kultivarju 'Paulista' ($4,4 \pm 0,1$ g/strok) (Slika 48).



Slika 48: Povprečna teža stroka (g) glede na kultivar.
Figure 48: The average pod weight (g) depending on the cultivar.

4.2.3 Vpliv okužbe z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* in kultivarja nizkega fižola na vsebnost nekaterih primarnih in sekundarnih metabolitov v strokih

Vsebnost primarnih in sekundarnih metabolitov v odvisnosti od okužbe smo določili le v strokih kultivarjev 'Top crop' in 'Re dei burri', kjer je bila okužba z glivo *C. lindemuthianum* uspešna.

4.2.3.1 Vsebnost sladkorjev v strokih nizkega fižola glede na okužbo z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* in kultivar

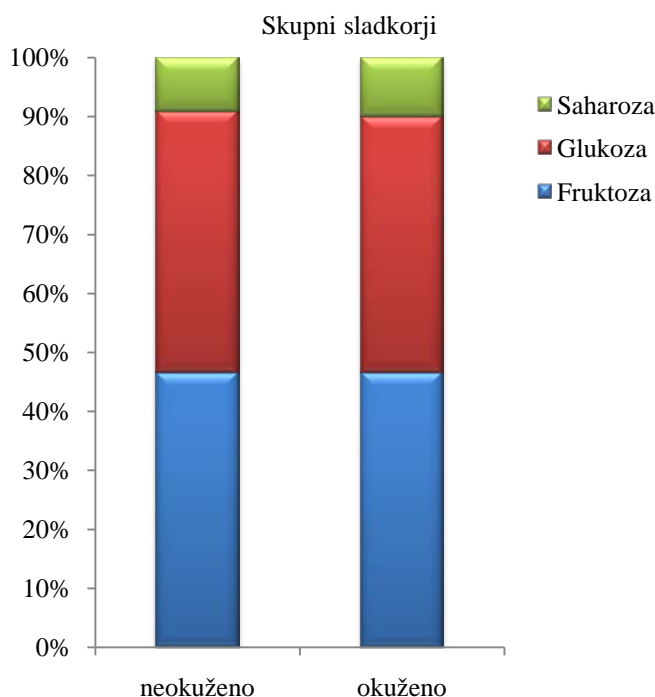
Iz slike 49 vidimo, da sta fruktoza in glukoza glavna sladkorja tako v okuženih kot tudi v neokuženih strokih z glivo *C. lindemuthianum*, manjši je delež saharoze.

Vsebnost skupnih sladkorjev

Kultivar je značilno vplival na vsebnost skupnih sladkorjev v strokih nizkega fižola. Stroki kultivarja 'Re dei burri' so imeli značilno večjo vsebnost skupnih sladkorjev ($84,7 \pm 5,7$ g kg^{-1} sveže mase) kot stroki kultivarja 'Top crop' ($65,8 \pm 3,9$ g kg^{-1} sveže mase) in sicer za 28,7 % (Preglednica 9).

Vsebnost fruktoze

Na vsebnost fruktoze je imel značilen vpliv le kultivar. Vsebnost fruktoze v strokih kultivarja 'Re dei burri' ($40,2 \pm 2,7 \text{ g kg}^{-1}$ sveže mase) je bila 33,6 % večja od vsebnosti fruktoze v strokih kultivarja 'Top crop' ($30,1 \pm 1,8 \text{ g kg}^{-1}$ sveže mase (Preglednica 9).



Slika 49: Povprečni deleži fruktoze, glukoze in saharoze glede na okužbo z glivo *Colletotrichum lindemuthianum*.

Figure 49: Average shares of fructose, glucose and sucrose in dwarf French bean pods depending on the *Colletotrichum lindemuthianum* infection.

Vsebnost glukoze

Tudi na vsebnost glukoze je imel značilen vpliv le kultivar. Vsebnost glukoze je bila v strokih nizkega fižola kultivarja 'Re dei burri' ($37,8 \pm 2,7 \text{ g kg}^{-1}$ sveže mase) za 34 % večja kot v strokih kultivarja 'Top crop' ($28,2 \pm 2,0 \text{ g kg}^{-1}$ sveže mase) (Preglednica 9).

Vsebnost saharoze

Na vsebnost saharoze je imela značilen vpliv le interakcija med kultivarjem in okuženostjo. Okuženi stroki kultivarja 'Top crop' so imeli večjo (37 %) vsebnost saharoze ($8,5 \pm 0,5 \text{ g kg}^{-1}$ sveže mase) glede na okužene stroke kultivarja 'Re dei burri' ($6,2 \pm 0,9 \text{ g kg}^{-1}$ sveže mase) in zdrave stroke kultivarja 'Top crop' ($6,6 \pm 0,6 \text{ g kg}^{-1}$ sveže mase). Med okuženimi stroki kultivarja 'Top crop' in zdravimi stroki 'Re dei burri' ($7,2 \pm 0,2 \text{ g kg}^{-1}$ sveže mase) ni značilnih razlik (Preglednica 9).

Logar M. Vsebnost ... metabolitov v strokih ... fižola ... okuženih z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* ... Cavara.
Dokt. disertacija. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, 2015

Preglednica 9: Stopnje statistične značilnosti, povprečne vsebnosti sladkorjev (g kg^{-1} svežih strokov nizkega fižola) in pripadajoče standardne napake glede na okuženost (O) strokov nizkega fižola z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* (neokuženo, okuženo) in kultivar nizkega fižola (K) ('Re dei burri' ('R') in 'Top crop' ('T')).

Table 9: Levels of statistical significance, average sugar content (g kg^{-1} of fresh dwarf French beans) and associated standard errors according to *Colletotrichum lindemuthianum* dwarf French bean pods contamination (O) (neokuženo, okuženo) and dwarf French bean cultivar (K) ('Re dei Burri' ('R') and 'Top crop' ('T')).

| Sladkor | Stopnja statistične značilnosti | | | K | | O | | K×O | | | |
|-------------------------|---------------------------------|----|-----|---------------------|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | K | O | K×O | 'R' | 'T' | neokuženo | okuženo | 'R'neokuženo | 'R'okuženo | 'T'neokuženo | 'T'okuženo |
| Fruktoza | ** | NS | NS | 40,2 (2,7) b | 30,1 (1,8) a | 35,8 (3,2) | 34,5 (2,5) | 43,2 (2,8) | 37,2 (4,5) | 28,3 (3,0) | 31,9 (2,0) |
| Glukoza | * | NS | NS | 37,8 (2,7) b | 28,2 (2,0) a | 33,9 (3,1) | 32,1 (2,6) | 39,6 (3,5) | 36,0 (4,2) | 28,1 (3,8) | 28,3 (2,0) |
| Saharoza | NS | NS | * | 6,7 (0,4) | 7,5 (0,5) | 6,9 (0,3) | 7,4 (0,6) | 7,2 (0,2) ab | 6,2 (0,9) a | 6,6 (0,6) a | 8,5 (0,5) b |
| Skupni sladkorji | * | NS | NS | 84,7 (5,7) b | 65,8 (3,9) a | 76,5 (6,4) | 74,0 (5,1) | 90,1 (6,4) | 79,4 (9,4) | 62,9 (6,9) | 68,7 (4,1) |

NS-ni statistično značilnih razlik; * Statistično značilne razlike pri P -vrednosti pod 0,05; ** Statistično značilne razlike pri P -vrednosti pod 0,01; *** Statistično značilne razlike pri P -vrednosti pod 0,001. Različne črke v vrstici pomenijo statistično značilne razlike (Duncanov test $p < 0,05$), med enakimi črkami ni značilnih razlik.

Logar M. Vsebnost ... metabolitov v strokih ... fižola ... okuženih z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* ... Cavara.
Dokt. disertacija. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, 2015

Preglednica 10: Stopnje statistične značilnosti, povprečne vsebnosti organskih kislin (g kg^{-1} svežih strokov nizkega fižola) in pripadajoče standardne napake glede na okuženost (O) strokov nizkega fižola z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* (neokuženo, okuženo) in kultivar nizkega fižola (K) ('Re dei burri' ('R') in 'Top crop' ('T')).

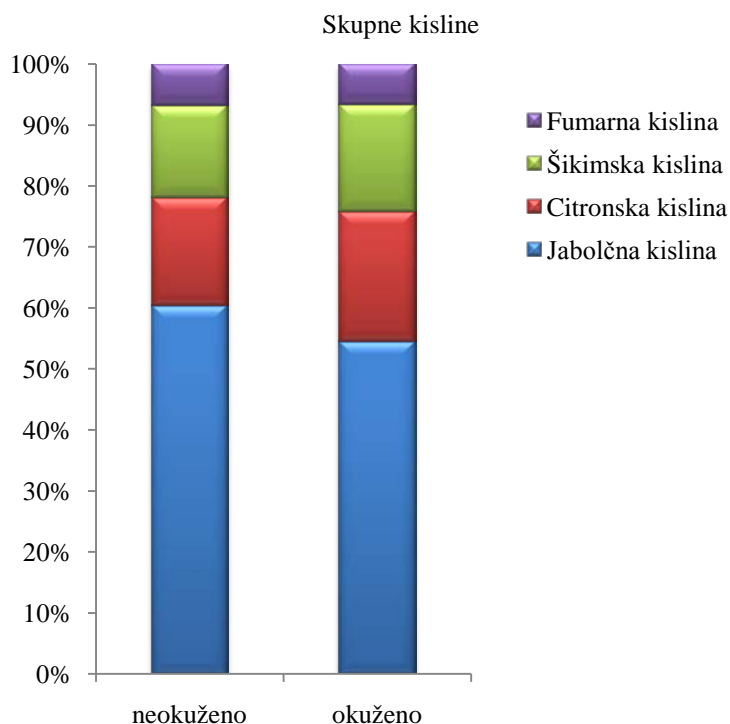
Table 10: Levels of statistical significance, average organic acids content (g kg^{-1} of fresh dwarf French beans) and associated standard errors according to *Colletotrichum lindemuthianum* dwarf French bean pods contamination (O) (neokuženo, okuženo) and dwarf French bean cultivar (K) ('Re dei burri' ('R') in 'Top crop' ('T')).

| Organska kislina | Stopnja statistične značilnosti | | | K | | O | | K×O | | | |
|------------------|---------------------------------|----------|-----------|------------------|------------------|--------------------|--------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | K | O | K×O | 'R' | 'T' | neokuženo | okuženo | 'R'neokuženo | 'R'okuženo | 'T'neokuženo | 'T'okuženo |
| Jabolčna k. | NS | NS | NS | 2,5 (0,2) | 2,6 (0,1) | 2,4 (0,2) | 2,8 (0,2) | 2,3 (0,2) | 2,9 (0,5) | 2,5 (0,2) | 2,7 (0,2) |
| Citronska k. | ** | NS | NS | 0,6 (0,09) a | 1,1 (0,1) b | 0,7 (0,11) | 1,1 (0,1) | 0,5 (0,09) | 0,8 (0,14) | 1,0 (0,1) | 1,2 (0,2) |
| Šikimska k. | NS | ** | * | 0,8 (0,11) | 0,7 (0,04) | 0,6 (0,04) a | 0,9 (0,09) b | 0,6 (0,06) a | 1,1 (0,2) b | 0,7 (0,06) a | 0,8 (0,03) a |
| Fumarna k. | ** | ** | NS | 0,33 (0,02) b | 0,28 (0,02) a | 0,27 (0,01) a | 0,34 (0,02) b | 0,31 (0,01) | 0,38 (0,04) | 0,24 (0,01) | 0,32 (0,01) |
| Skupne k. | NS | * | NS | 4,2 (0,4) | 4,7 (0,3) | 4,0 (0,3) a | 5,0 (0,4) b | 3,7 (0,3) | 5,1 (0,9) | 4,4 (0,4) | 5,0 (0,4) |

NS-ni statistično značilnih razlik; * Statistično značilne razlike pri P -vrednosti pod 0,05; ** Statistično značilne razlike pri P -vrednosti pod 0,01; *** Statistično značilne razlike pri P -vrednosti pod 0,001. Različne črke v vrstici pomenijo statistično značilne razlike (Duncanov test $p < 0,05$), med enakimi črkami ni značilnih razlik.

4.2.3.2 Vsebnost organskih kislin v strokih nizkega fižola glede na okužbo z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* in kultivar

Iz slike 50 vidimo, da je jabolčna kislina vodilna kislina v okuženih strokih z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* in neokuženih strokih, sledijo citronska, šikimska in fumarna kislina.



Slika 50: Povprečni deleži organskih kislin (jabolčne, citronske, šikimske in fumarne) glede na okužbo z glivo *Colletotrichum lindemuthianum*.

Figure 50: Average shares of organic acids (malic, shikimic, citric and fumaric) in dwarf French bean pods depending on the *Colletotrichum lindemuthianum* infection.

Vsebnost skupnih kislin

Okuženost ima značilen vpliv na vsebnost skupnih kislin v strokih nizkega fižola. Okuženi stroki vsebujejo značilno večjo vsebnost skupnih kislin ($5,0 \pm 0,4 \text{ g kg}^{-1}$ sveže mase) kot zdravi stroki nizkega stročjega fižola ($4,0 \pm 0,3 \text{ g kg}^{-1}$ sveže mase) (Preglednica 10).

V preglednici 10 so prikazane povprečne vsebnosti organskih kislin glede na okuženost (O) strokov nizkega fižola z glivo *C. lindemuthianum* (neokuženo, okuženo) in kultivar (K) nizkega fižola ('Re dei burri' ('R') in 'Top crop' ('T')).

Vsebnost jabolčne kisline

Na vsebnost jabolčne kisline v strokih nizkega fižola kultivar, okužba in njuna interakcija niso imeli značilnega vpliva (Preglednica 10).

Vsebnost citronske kisline

Kultivar ima značilen vpliv na vsebnost citronske kisline v strokih nizkega fižola. Stroki kultivarja 'Top crop' so vsebovali značilno večjo vsebnost (83,3 %) citronske kisline ($1,1 \pm 0,1 \text{ g kg}^{-1}$ sveže mase) kot stroki kultivarja 'Re dei burri' ($0,6 \pm 0,09 \text{ g kg}^{-1}$ sveže mase) (Preglednica 10).

Vsebnost šikimske kisline

Okuženost ter interakcija kultivarja in okuženosti sta imela značilen vpliv na vsebnost šikimske kisline v strokih nizkega fižola. V okuženih strokih kultivarja 'Re dei burri' smo ugotovili značilno večjo vsebnost šikimske kisline ($1,1 \pm 0,2 \text{ g kg}^{-1}$ sveže mase) kot v strokih ostalih obravnavanj in sicer do 83,3 %. Med vsebnostmi šikimske kisline v strokih ostalih obravnavanj ni značilnih razlik (Preglednica 10).

Vsebnost fumarne kisline

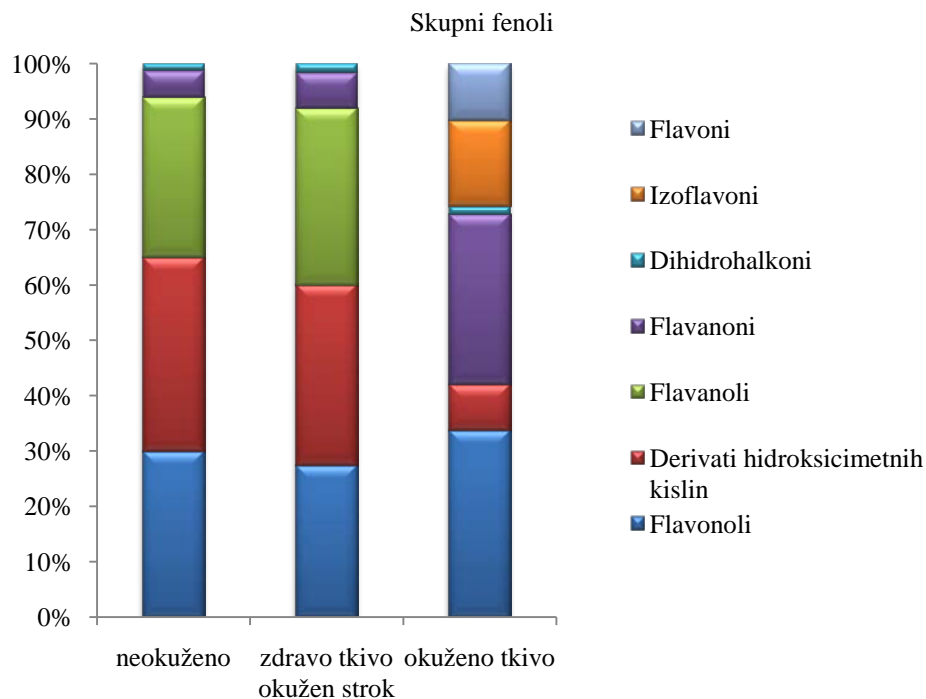
Kultivar in okuženost imata značilen vpliv na vsebnost fumarne kisline v strokih nizkega fižola. Stroki kultivarja 'Re dei burri' ($0,33 \pm 0,02 \text{ g kg}^{-1}$ sveže mase) vsebujejo značilno večjo vsebnost fumarne kisline (15,2 %) kot stroki kultivarja 'Top crop' ($0,28 \pm 0,02 \text{ g kg}^{-1}$ sveže mase). Okuženi stroki vsebujejo značilno večjo vsebnost (25,9 %) fumarne kisline ($0,34 \pm 0,02 \text{ g kg}^{-1}$ sveže mase), kot zdravi stroki stročjega fižola ($0,27 \pm 0,01 \text{ g kg}^{-1}$ sveže mase) (Preglednica 10).

4.2.3.3 Vsebnost in struktura fenolnih spojin v strokih nizkega fižola glede na okužbo z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* in kultivar

Skupni fenoli

V preglednici 11 lahko vidimo, da je vsebnost skupnih fenolov v okuženem tkivu značilno višja kot v zdravem tkivu okuženega stroka in neokuženem stroku. Iz slike 51 je razvidno, da imata zdravo tkivo okuženega stroka in neokužen strok podobno strukturo fenolnih spojin. Prevladujejo tri skupine fenolov: flavonoli (30,0 % in 27,4 %) derivati hidroksicimetnih kislin (35,1 % in 32,7 %) in flavanoli (28,9 % in 31,9 %). Majhen delež pripada flavanonom (4,9 % in 6,4 %) in dihidrohalkonom (1,2 % in 1,6 %). V okuženem tkivu je delež derivatov hidroksicimetne kisline manjši (8,3 %), naraste pa delež

flavanonov (30,7 %) na novo pa se sintetizirajo izoflavoni (15,5 %) in flavoni (10,2 %), ki jih v zdravem tkivu nismo zaznali.



Slika 51: Deleži posameznih podskupin flavonoidov določenih v strokih nizkega fižola glede na okuženost z glivo *Colletotrichum lindemuthianum*.

Figure 51: Shares of each sub-group of flavonoids detected in dwarf French bean pods, depending on the *Colletotrichum lindemuthianum* infection.

V prilogi A so predstavljene povprečne vsebnosti posamičnih fenolnih spojin s pripadajočimi standardnimi napakami in stopnjo statistične značilnosti, ki smo jih ugotovili v strokih nizkega fižola glede na okužbo z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* in kultivar. V okuženih strokih nizkega fižola smo ugotovili 33 novo nastalih fenolnih spojin. Najvišje vsebnosti so imele naslednje novo nastale fenolne spojine: dihidrokempferol heksoza (3052,8 ± 609,6 µg 100 g⁻¹ sveže mase), naringenin heksoza 3 (2779,6 ± 1232,0 µg 100 g⁻¹ sveže mase), dihidrokempferol diheksoza (1950,3 ± 361,6 µg 100 g⁻¹ sveže mase), daidzein heksoza 1 (1797,4 ± 779,9 µg 100 g⁻¹ sveže mase), naringenin heksoza 1 (1796,1 ± 791,9 µg 100 g⁻¹ sveže mase), genistein diheksoza (1220,9 ± 238,0 µg 100 g⁻¹ sveže mase), apigenin heksoza 1 (1008,9 ± 261,5 µg 100 g⁻¹ sveže mase), formononetin heksoza (623,3 ± 278,7 µg 100 g⁻¹ sveže mase), formononetin heksoza 2 (537,9 ± 227,4 µg 100 g⁻¹ sveže mase), floretin diheksoza (144,0 ± 49,3 µg 100 g⁻¹ sveže mase), floretin heksoza (58,1 ± 16,9 µg 100 g⁻¹ sveže mase), floridzin acetil diheksoza (47,2 ± 16,5 µg 100 g⁻¹ sveže mase), ostale novo nastale fenolne spojine so imele manjše vsebnosti.

V preglednici 11 je predstavljen vpliv okužbe z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* in kultivarja na posamezne fenolne podskupine.

Logar M. Vsebnost ... metabolitov v strokih ... fižola ... okuženih z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* ... Cavara.

Dokt. disertacija. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, 2015

Preglednica 11: Stopnje statistične značilnosti, vsota povprečnih vsebnosti posamezne fenolne skupine ($\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ svežih strokov nizkega fižola) in pripadajoče standardne napake glede na okuženost (O) strokov nizkega fižola z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* (neokuženo (NEOK), zdravo tkivo okuženega stroka (ZTOS) in okuženo tkivo (OK)) in kultivar nizkega fižola (K) ('Re dei burri' ('R') in 'Top crop' ('T')).

Table 11: Levels of statistical significance, sum of average content for each phenolic group ($\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ of fresh dwarf French beans) and associated standard errors according to *Colletotrichum lindemuthianum* dwarf French bean pods contamination (O) (neokuženo, zdravo tkivo okuženega stroka in okuženo tkivo) and dwarf French bean cultivar (K) ('Re dei burri' ('R') in 'Top crop' ('T')).

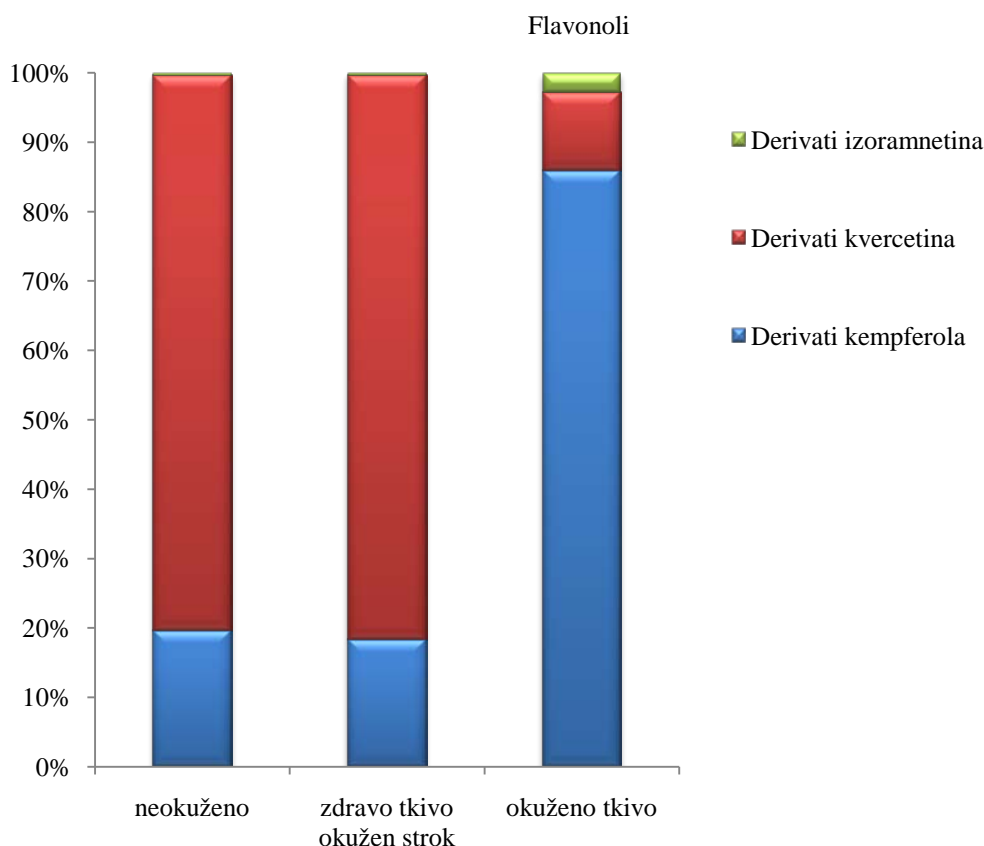
| Skupina | Stopnja statistične značilnosti | | | K | | O | | | K×O | | | | | |
|---|---------------------------------|------------|----------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------------|------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| | K | O | K×O | 'R' | 'T' | NEOK | ZTOS | OK | 'R'NEOK | 'R'ZTOS | 'R'OK | 'T'NEOK | 'T'ZTOS | 'T'OK |
| Derivati hidroksicimetnih kislin (skupaj) | NS | NS | NS | 1702,7 (181,7) | 1865,8 (119,5) | 1439,6 (52,8) | 1936,1 (120,3) | 1977,1 (274,6) | 1422,0 (82,3) | 1870,6 (180,4) | 1815,4 (526,5) | 1457,2 (74,9) | 2001,6 (174,5) | 2138,7 (221,3) |
| Dihidrochalkoni (skupaj) | NS | *** | ** | 298,5 (39,3) | 321,7 (59,9) | 173,5 (15,8) a | 257,9 (38,5) a | 498,9 (63,0) b | 194,6 (17,7) ab | 329,8 (59,0) bc | 371,2 (90,5) c | 152,5 (24,3) a | 185,9 (24,3) ab | 626,6 (38,6) d |
| Flavonoli (skupaj) | NS | *** | NS | 4255,0 (1322,8) | 2856,3 (623,8) | 1228,3 (140,0) a | 1617,9 (284,5) a | 7820,9 (1416,4) b | 1060,0 (120,2) | 2109,4 (481,7) | 9595,8 (2717,1) | 1396,5 (275,1) | 1126,3 (135,2) | 6046,0 (411,7) |
| Flavanoli | *** | *** | *** | 0 (0,0) a | 2050,7 (440,0) b | 1185,0 (403,7) b | 1891,0 (660,5) c | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 2370,0 (176,5) b | 3782,0 (418,7) c | 0 (0,0) a |
| Flavanoni (skupaj) | NS | *** | NS | 3042,5 (1479,6) | 2208,0 (636,9) | 199,8 (66,8) a | 378,6 (129,8) a | 7297,4 (1565,7) b | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 9127,6 (3016,7) | 399,5 (11,2) | 757,3 (64,7) | 5467,2 (506,0) |
| Izoflavoni (skupaj) | ** | *** | *** | 2214,0 (1011,8) b | 238,6 (94,1) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 3678,9 (1316,0) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 6641,9 (1842,7) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 715,8 (87,3) a |
| Flavoni (skupaj) | NS | *** | NS | 1052,5 (495,4) | 564,6 (221,0) | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 2425,7 (520,2) b | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 3157,6 (956,7) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 1693,8 (186,6) |
| SKUPNI FENOLI | NS | *** | * | 12566,1 (4432,4) | 10105,7 (1346,7) | 4226,2 (559,0) a | 6081,4 (728,9) a | 23698,9 (4905,5) b | 2676,5 (196,3) a | 4309,8 (699,1) a | 30709,6 (9068,2) c | 5775,7 (408,9) ab | 7853,1 (578,0) ab | 16688,1 (1326,8) b |

NS-ni statistično značilnih razlik; * Statistično značilne razlike pri P -vrednosti pod 0,05; ** Statistično značilne razlike pri P -vrednosti pod 0,01; *** Statistično značilne razlike pri P -vrednosti pod 0,001. Različne črke v vrstici pomenijo statistično značilne razlike (Duncanov test $p < 0,05$), med enakimi črkami ni značilnih razlik.

Vsebnost flavonolov

Iz preglednice 11 je razvidno, da je okužba značilno povečala vsebnost flavonolov saj smo v tkivu pege ugotovili v povprečju $7820,9 \pm 1416,4 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase glede na neokuženo tkivo ($1228,3 \pm 140,0 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase na zdravem stroku oz. $1617,9 \pm 284,5 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase na okuženem stroku). Povečanje vsebnosti flavonolov smo ugotovili pri obeh kultivarjih.

V neokuženih strokih in zdravem tkivu okuženega stroka največji delež flavonolov predstavljajo derivati kvercetina (80,0 in 81,3 %), sledijo derivati kempferola (19,7 in 18,3 %), zanemaljšivo malo pa smo ugotovili derivatov izoramnetina (0,3 in 0,4 %). V okuženem tkivu opazimo precejšnje povečanje deleža derivatov kempferola (86,3 %) in precejšnje zmanjšanje deleža derivatov kvercetina (11,0 %), opazili smo tudi povečanje deleža derivatov izoramnetina (2,7 %) (Slika 52).



Slika 52: Deleži flavonolov določenih v strokih nizkega fižola glede na okuženost z glivo *Colletotrichum lindemuthianum*.

Figure 52: Shares of flavonols detected in dwarf French bean pods, depending on the *Colletotrichum lindemuthianum* infection.

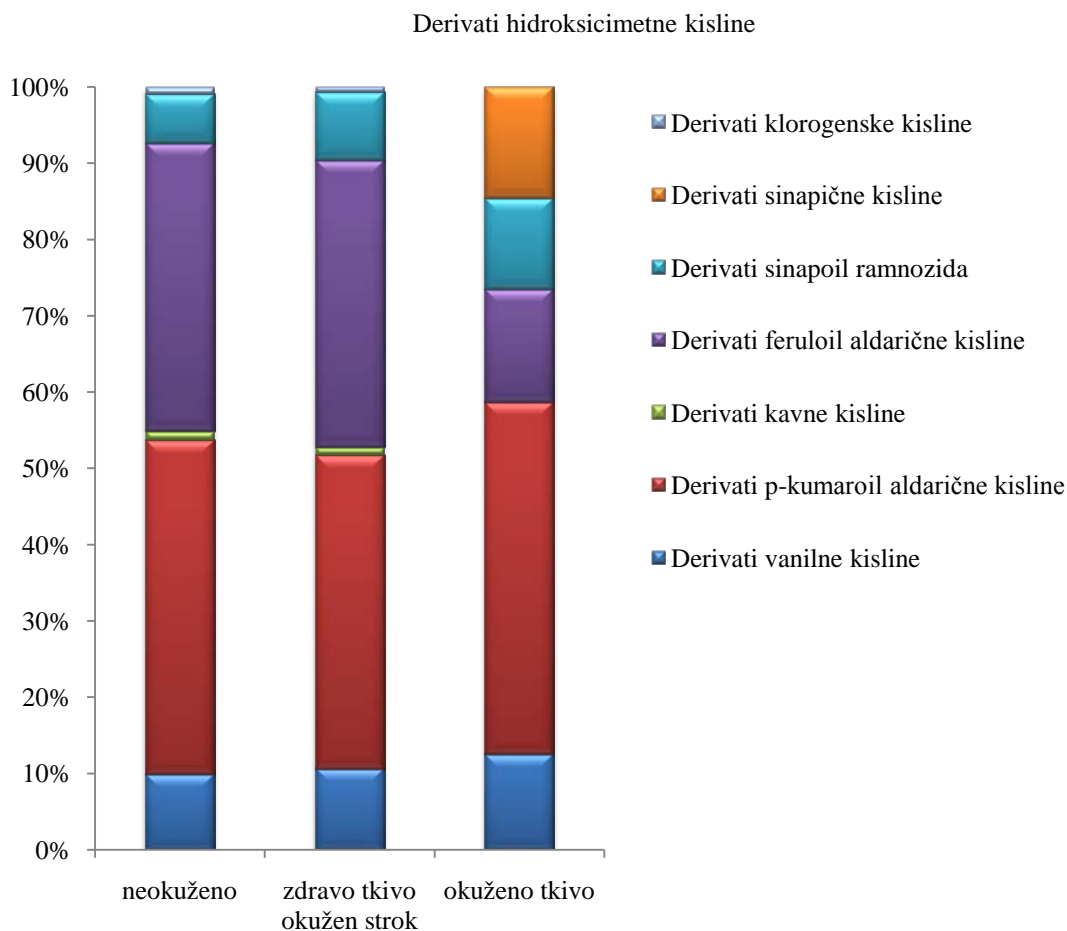
Iz priloge A je razvidno, da je porast flavonolov posledica različnih mehanizmov v rastlini, ki se sprožijo ob nastali okužbi in sicer gre za sintezo na novo nastalih flavonolov, kot so kempferol diheksoza, dihidrokempferol heksoza, dihidrokempferol diheksoza in kempferol heksozil rutinozid, ki prispevajo 78 % ('Re dei burri') oz. 73 % ('Top crop') k skupni vsebnosti flavonolov v okuženem tkivu, približno 8 % prispevajo na novo sintetizirani dihidrokempferol heksoza in dihidroheksoza, laricitrin, makiain acetil heksoza in heksoza pri obeh kultivarjih in kempferol-3-*O*-acetil heksoza in heksozid ter kempferol-3-*O*-heksozid, ali povečanja nekaterih flavonolov, ki smo jih analizirali že tudi v neokuženem tkivu (kempferol-3-*O*-rutinozid).

Vsebnost derivatov hidroksicimetnih kislin

Ugotovili smo, da na vsebnost derivatov hidroksicimetnih kislin okužba ni delovala značilno, čeprav smo pri kultivarju 'Top crop' zaznali povečano vsebnost glede na zdravo tkivo, vendar razlike niso bile značilne (Preglednica 11).

V neokuženem stroku in zravnem tkivu okuženega stroka nizkega fižola največja deleža derivatov hidroksicimetnih kislin predstavljajo derivati *p*-kumaroil aldarične kisline (43,7 in 41,1 %) in derivati feruloil aldarične kisline (37,7 in 37,5 %), sledijo derivati vanilne kisline (10,0 in 10,6 %) in derivati sinapiol ramnozida (6,5 in 9,0 %), derivatov kavne kisline in derivatov klorogenske kisline je bilo zanemarljivo malo. V okuženem tkivu so največji delež predstavljali derivati *p*-kumaril aldarične kisline (46,1 %), sledijo derivati feruloil aldarične kisline (14,9 %), derivati sinapične kisline (14,6 %), derivati vanilne kisline (12,5 %) in derivati sinapoil ramnozida (11,9 %) (Slika 53).

Pri kultivarju 'Re dei burri' je bila med derivati najbolj zastopana vanilna kislina-heksoza in feruloil aldarična kislina (20 %) ostali derivati (*p*-kumaroil aldarična kislina, feruloil aldarična kislina) so predstavljali 5 in 10 % od skupne količine derivatov hidroksicimetnih kislin. V okuženem tkivu smo zaznali povežano sintezo predvsem derivata vanilna kislina-heksoza in sinapoil ramnozid 1 in 2. Pri kultivarju 'Top crop' je v okuženem tkivu najbolj narasla vsebnost *p*-kumaroil aldarične kisline, ki je predstavljala 40 % od celotne vsebnosti derivatov hidroksicimetnih kislin v okuženem tkivu. V tem tkivu smo ugotovili tudi na novo sintetizirana derivata hidroksicimetnih kislin in sicer sinapično kislino ramnozid 1 in 2, ki sta skupaj predstavljala 27 % skupne vsebnosti derivatov hidroksicimetnih kislin v okuženem tkivu (Priloga A).

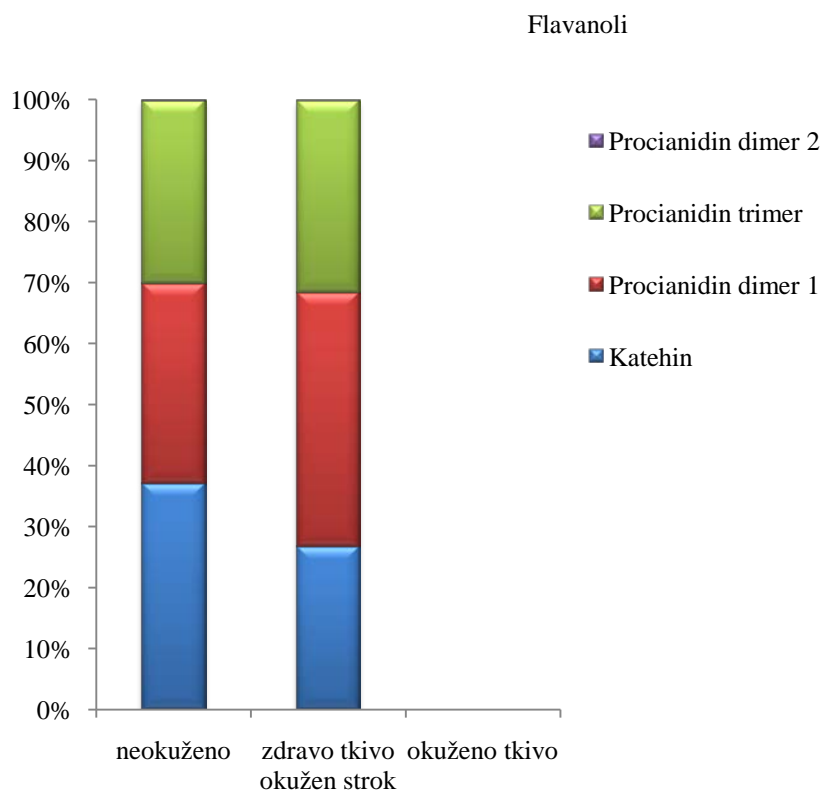


Slika 53: Deleži derivatov hidroksicimetnih kislin določenih v strokih nizkega fižola glede na okuženost z glivo *Colletotrichum lindemuthianum*.

Figure 53: Shares of hydroxycinnamic acids derivatives detected in dwarf French bean pods, depending on the *Colletotrichum lindemuthianum* infection.

Vsebnost flavanолоv

Fenolne spojine iz skupine flavanолоv smo določili le v zdravem tkivu pri kultivarju 'Top crop' in sicer je bila v zdravem tkivu okuženega stroka značilno večja vsebnost skupnih flavanолоv glede na zdrav strok, v okuženem tkivu istega kultivarja nismo določili nobenega od flavanолоv. Prav tako zdravo in okuženo tkivo kultivarja 'Re dei burri' ni vsebovalo flavanолоv. Med najbolj zastopanimi flavanoli v tkivu kultivarja 'Top crop' so bili katehin, procianidin dimer 1 in procianidin trimer. Vsebnost procianidinov je bila v tkivu iz okuženega stroka značilno večja od vsebnosti v zdravem tkivu (Slika 54 in Priloga A).

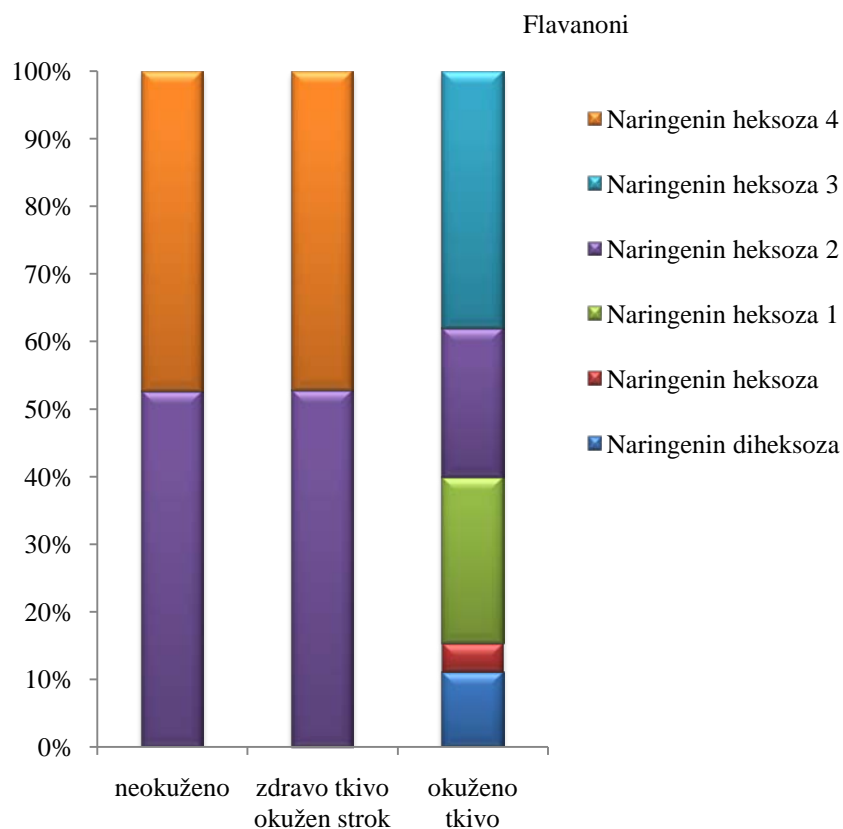


Slika 54: Deleži flavanolov določenih v strokih nizkega fižola glede na okuženost z glivo *Colletotrichum lindemuthianum*.

Figure 54: Shares of flavanols detected in dwarf French bean pods, depending on the *Colletotrichum lindemuthianum* infection.

Vsebnost flavanonov

Najmočnejši vpliv je imela okužba prav na povečano vsebnost flavanonov, pri obeh kultivarjih (Preglednica 11). Pri kultivarju 'Re dei burri' je okužba sprožila sintezo flavanonov, predvsem naringenina heksoze treh oblik, ki jih v zdravem tkivu nismo določili. Pri kultivarju 'Top crop' pa je prišlo do nove sinteze naringenina diheksoze, naringenina heksoze in heksoze 1 oz. do povečanja vsebnosti naringenina heksoze 2. Pri obeh kultivarjih smo značilno večjo vsebnost flavanonov ugotovili v okuženem tkivu (Slika 55 in Priloga A).

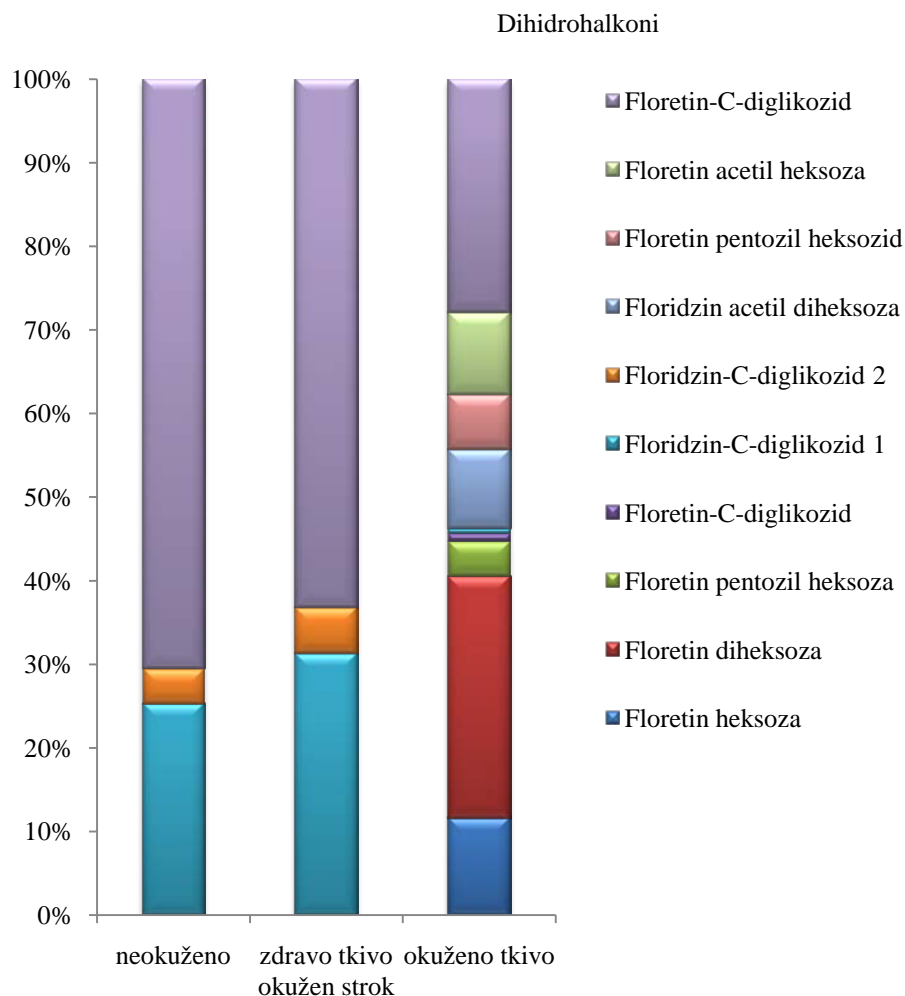


Slika 55: Deleži flavanonov določenih v strokih nizkega fižola glede na okuženost z glivo *Colletotrichum lindemuthianum*.

Figure 55: Shares of flavanons detected in dwarf French bean pods, depending on the *Colletotrichum lindemuthianum* infection.

Vsebnost dihidrohalkonov

Podobno kot na flavanone je imela okužba značilen vpliv tudi na povečanje vsebnosti dihidrohalkonov, pri obeh kultivarjih. Pri kultivarju 'Top crop' je bilo povečanje značilno, pri kultivarju 'Re dei burri' pa je bilo značilno le glede na neokužen strok (Preglednica 11). Pri kultivarju 'Re dei burri' je največji delež (50 %) pripadel floretin-C-diglikozidu, ki smo ga zaznali v vseh treh vrstah tkiva, na novo pa sta bila v okuženem tkivu sintetizirana floretin heksoza in floridzin acetil diheksoza. V okuženem tkivu pri kultivarju 'Top crop' smo ugotovili vsebnost petih na novo sintetiziranih dihidrohalkonov in sicer floretin heksoze in floretin diheksoze (ki predstavlja 45 % od skupnih dihidrohalkonov), floretin pentozil heksoze, floretin pentozil hesozida in floretin acetil heksoze (Slika 56 in Priloga A).

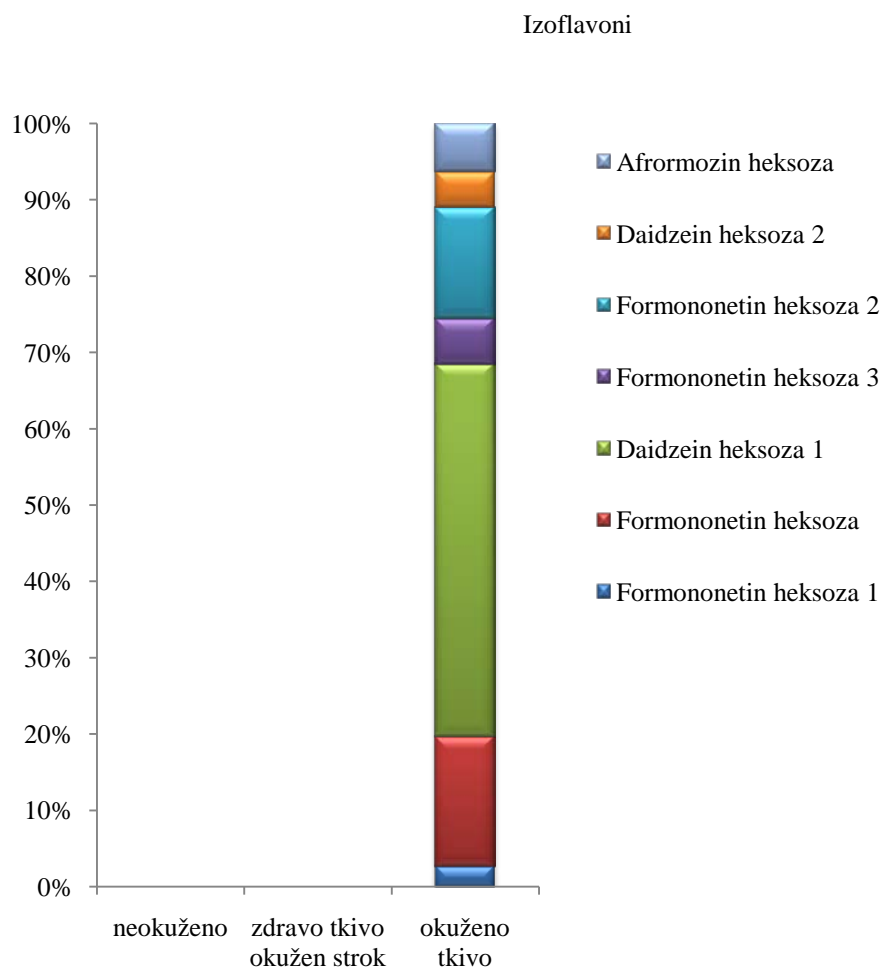


Slika 56: Deleži dihidrohalkonov določenih v strokih nizkega fižola glede na okuženost z glivo *Colletotrichum lindemuthianum*.

Figure 56: Shares of dihydrohalcones detected in dwarf French bean pods, depending on the *Colletotrichum lindemuthianum* infection.

Vsebnost izoflavonov

Okužba je vplivala na sintezo izoflavonov, ki smo jih določili le v okuženem tkivu, pri obeh kultivarjih, ki sta se v njihovi sintezi tudi značilno razlikovala. V okuženem tkivu strokov kultivarja 'Re dei burri' smo določili značilno večjo vsebnost glede na okuženo tkivo kultivarja 'Top crop' (Preglednica 11). Pri kultivarju 'Re dei burri' je prišlo do najmočnejše sinteze daidzein heksoze, ki predstavlja 50 % od celotne vsebnosti izoflavonov, večji je še delež formononetin heksoze (19 %), na novo so sintetizirani še formononetin heksoza 1, 2 in 3, daidzein heksoza 2 ter aformozin heksoza. Vsi izoflavoni so sintetizirani tudi v okuženem tkivu kultivarja 'Top crop' razen formononetin heksoze (Slika 57 in Priloga A).

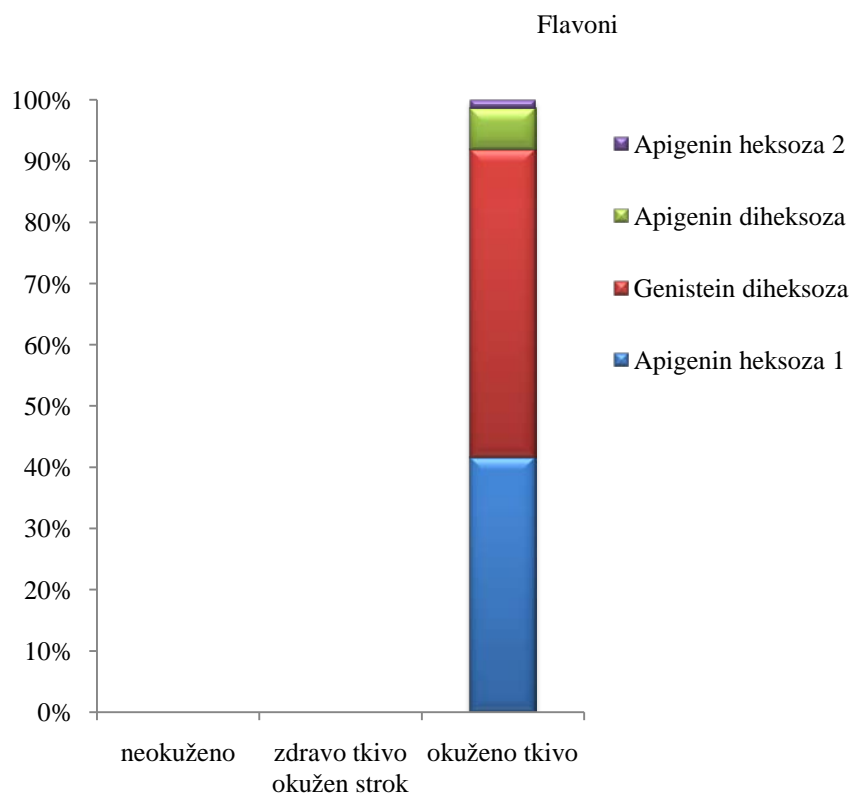


Slika 57: Deleži izoflavonov določenih v strokih nizkega fižola glede na okuženost z glivo *Colletotrichum lindemuthianum*.

Figure 57: Shares of isoflavones detected in dwarf French bean pods, depending on the *Colletotrichum lindemuthianum* infection.

Vsebnost flavonov

Okužba je vplivala tudi na sintezo novo nastalih flavonov (Preglednica 11) in sicer pri obeh kultivarjih na sintezo apigenin heksoze 1 in genistein diheksoze in pri kultivarju 'Re dei burri' še na sintezo apigenin diheksoze. Vsebnost flavonov je bila v strokih kultivarja 'Re dei burri' značilno večja od vsebnosti v strokih kultivarja 'Top crop' (Slika 58 in Priloga A).



Slika 58: Deleži flavonov določenih v strokih nizkega fižola glede na okuženost z glivo *Colletotrichum lindemuthianum*.

Figure 58: Shares of flavones detected in dwarf French bean pods, depending on the *Colletotrichum lindemuthianum* infection.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

5.1.1 Poskus o vplivu rastnih razmer, zrelosti stroka in kultivarja na vsebnost nekaterih primarnih in sekundarnih metabolitov v strokih nizkega fižola

Rastne razmere pod protitočno mrežo

Rastline gojene pod črno protitočno mrežo so v povprečju prejele 49,8 do 61 % manj fotosintetsko aktivne osvetlitve v primerjavi z rastlinami na prostem. Naši rezultati kažejo večje zmanjšanje osvetlitve, kot v ostali literaturi, kjer poročajo o 28-45 % zmanjšanju PAR pod različnimi tipi in gostotami mrež (Crete in sod., 2001; Dussi in sod., 2005; Jakopic in sod., 2009; Stampar in sod., 2002). Na pokritih gredicah so bile tako razmere za optimalen fotosintetski proces manj primerne kot na nepokritih gredicah, kajti maksimalna fotosintetska CO₂ asimilacija v rastlinah fižola je dosežena pri osvetlitvi 600 μmol fotonov m⁻²s⁻¹ (Guidi in sod., 2002). Fotosinteza je glavni proces odgovoren za kopičenje asimilatov in posledično vpliva na razvoj rastline in njeno rast (McCree, 1986). Zaradi vplivov mreže na osvetlitev rastlin, smo pričakovali spremembe v kemični sestavi strokov nizkega fižola. Tudi temperatura ima vpliv na fotokemični aparat v rastlini nizkega fižola (Ribeiro in sod., 2004). Uporaba protitočne mreže je povprečno dnevno in maksimalno temperaturo znižala za 8 do 10 %. Podoben vpliv uporabe protitočne mreže na temperaturno zmanjšanje ali zvečanje so opazili tudi v drugih študijah (Iglesias in Alegre, 2006; Shahak, 2008; Stamps, 2009), kjer so mrežo uporabili za zmanjšanje vročinskega stresa na rastline ali za povzročitev vpliva tople grede.

Vsebnost nekaterih primarnih metabolitov in skupnih fenolov v strokih nizkega fižola glede na kultivar

V našem poskusu smo potrdili vpliv genotipa na vsebnost sladkorjev, citronske kisline, vitamina C in skupnih fenolov. Odziv kultivarjev na spremenjene rastne razmere pod protitočno mrežo se je pokazal v različni sintezi fruktoze in glukoze. Pokritost je zmanjšala vsebnost fruktoze in glukoze v mladih strokih kultivarja 'Paulista' ter mladih in zrelih strokih kultivarja 'Berggold'. Med organskimi kislinami smo opazili vpliv genotipa na vsebnost citronske, šikimske kisline in fumarne kisline. Vsebnost citronske kisline v strokih nepokritih rastlin se je značilno zmanjšala z dozorevanjem strokov pri kultivarjih 'Berggold' in 'Top crop'. Najbolj očiten vpliv genotipa je bil opažen pri vsebnosti vitamina C v dveh kultivarjih. Značilno večjo vsebnost vitamina C smo zaznali v strokih kultivarja 'Berggold' (166,1 mg kg⁻¹) in 'Paulista' (170,5 mg kg⁻¹), ki sta odporna na fižolovo vdrtlo pegavost, v primerjavi z 'Re dei burri' (147,5 mg kg⁻¹) in 'Top crop' (123,2

mg kg⁻¹), ki sta občutljiva na fižolovo vdrtost pegavost. V raziskavi z jagodami so dokazali, da tkivo iz odpornega kultivarja jagod vsebuje več askorbinske kisline kot tkivo iz občutljivih kultivarjev (Wang in Galletta, 1996). Naši rezultati kažejo tudi značilne genotipske razlike za vsebnosti skupnih fenolov, ne glede na zrelost strokov in pokritost s protitočno mrežo. Vsebnost skupnih fenolov je v zelenostročnih kultivarjih 'Paulista' (23,9 %) in 'Top crop' (9,5 %) značilno upadla pri gojenju pod mrežo, medtem ko je pri rumenostročnih kultivarjih 'Berggold' in 'Re dei burri' gojenje pod mrežo povečalo njihovo vsebnost v mladih strokih, toda razlike niso bile značilne.

Vpliv rastnih razmer pod protitočno mrežo na kemijsko sestavo strokov nizkega fižola

Gojenje pod protitočno mrežo je v našem poskusu značilno vplivalo na spremembo mikroklimatskih razmer v ravnem prostoru nizkega fižola, kot tudi na kemijsko sestavo strokov nizkega fižola. Uporaba mreže je značilno zmanjšala povprečno vsebnost fruktoze in glukoze v strokih kultivarja 'Berggold'. Ti rezultati so bili delno pričakovani, saj iz literature lahko razberemo, da je fotosinteza proces, ki je odvisen od osvetlitve in odgovoren za akumulacijo suhe snovi (McCree, 1986). Pri pridelavi pod mrežo je bila fotosinteza ovirana zaradi zmanjšanja fotosintetsko aktivne osvetlitve. Maksimalna fotosintetska CO₂ asimilacija v rastlinah fižola je dosežena pri osvetlitvi 600 μmol fotonov m⁻²s⁻¹ (Barradas in Hamlyn, 1996; Guidi in sod., 2002), rastline fižola pokrite z protitočno mrežo pa so v povprečju prejele le 325,8 μmol fotonov m⁻²s⁻¹. Vpliv uporabe protitočne mreže na vsebnost organskih kislin je bil manjši kot vpliv na vsebnost posamičnih sladkorjev. Uporaba mreže je značilno vplivala na vsebnost fumarne kisline, ki smo jo med vsemi kislinami zaznali v najmanjših koncentracijah. Interakcija mreže in zrelosti je značilno vplivala na vsebnost jabolčne kisline. Največji vpliv mreže smo opazili na vsebnost vitamina C, saj so imeli stroki pokritih rastlin značilno manjšo vsebnost vitamina C v primerjavi s stroki nepokritih rastlin. Ti rezultati so pričakovani, saj se vitamin C tvori iz sladkorjev proizvedenih v fotosintezi (Lee in Kader, 2000). Podobno kot za vsebnost vitamina C, smo potrdili značilen vpliv pokritosti z mrežo tudi na vsebnost skupnih fenolov. Ugotovili smo manjše vsebnosti skupnih fenolov v strokih pokritih rastlin v primerjavi s stroki nepokritih rastlin, toda razlike so bile značilne le za zelenostročne kultivarje. Podobne rezultate smo našli tudi v literaturi in sicer za različne vrste zelenjave. Luthria in sod. (2006) so ugotovili značilno zmanjšanje skupnih fenolov v plodovih paradižnika, pri rastlinah gojenih v posebnih UV razmerah v primerjavi s tistimi gojenimi pod UV propustnim prekrivnim materialom. Ugotovili so, da je predvsem UV-B sevanje pomemben dejavnik v akumulaciji fitokemikalij v rastlinah, saj lahko aktivira določene encime, kot sta fenilalanin amonijak liaza in halkon sintaza. Oba sta vpletena v fenilpropanoidno pot in vodita v akumulacijo fenolnih spojin v rastlinah. Zhou in sod. (2009) so ugotovili razlike v vsebnostih sekundarnih metabolitov v času rastne dobe na pokritih in nepokritih rastlinah solate. Nepokrite rastline so imele na začetku rastne sezone

značilo večjo vsebnost skupnih fenolov (300 mg GAE kg⁻¹ sveže mase) v primerjavi s pokritimi rastlinami (100 mg GAE kg⁻¹ sveže mase). Ugotovili so, da je dovolj visoka osvetljenost ključna za kopičenje flavonoidov in vitaminov, ki služijo zaščiti pred oksidativnim stresom, ki ga povzroča močna osvetlitev.

Kemijska sestava strokov nizkega fižola glede na stopnjo zrelosti stroka

V naši raziskavi smo ugotovili značilen vpliv zrelosti stroka na vsebnost vseh posamičnih sladkorjev, ki smo jih analizirali v naši študiji. Mladi stroki so pri vseh kultivarjih razen pri 'Top crop' imeli večjo povprečno vsebnost fruktoze in glukoze kot zreli stroki. Pri vsebnosti saharoze smo ugotovili ravno obratno in sicer zreli stroki vseh obravnavanj razen stroki kultivarja 'Berggold' pod mrežo, so imeli značilno večjo vsebnost saharoze v primerjavi z mladimi stroki. Naši rezultati sovpadajo z rezultati VandenLangenberga in sod. (2012) ki trdijo, da vsebnost glukoze in fruktoze tekom dozorevanja ter rasti stroka pada, vsebnost saharoze pa narašča. Saharozna je primarni vir ogljika ter metabolne energije med razvojem stroka. V začetku rasti stroka pride do hitrega kopičenja suhe snovi, hkrati pa je v tem obdobju zelo aktivna kislinska invertaza, ki razbije molekulo saharoze v fruktozo ter glukozo. Takoj po cvetenju sta ta dva monomera porabljena za celično rast ter dihanje hitreje kot pa nastajata. Njuna koncentracija je manjša v začetku razvoja rasti stroka in se začne povečevati skupaj s povečano aktivnostjo kislinske invertaze (Sung in sod., 1994). Monomeri dosežejo maksimalno koncentracijo v vmesni stopnji razvoja stroka, ko strok doseže polovično ali končno velikost (10 do 14 dni po cvetenju). Po tej fazi začne njuna vsebnost padati zaradi zmanjšanja aktivnosti kislinske invertaze. Hkrati pa začne naraščati koncentracija saharoze in doseže največjo vsebnost pri polni velikosti stroka (tako imenovani tehnološki zrelosti) (VandenLangenberg in sod., 2012).

Značilen vpliv zrelosti stroka je bil v naši študiji potrjen tudi za vse organske kisline, ki smo jih analizirali. Povprečna vsebnost jabolčne kisline je padala z dozorevanjem strokov pri vseh obravnavanjih, razen pri nepokritih rastlinah kultivarja 'Re dei burri' in 'Paulista'. Podobno zmanjševanje vsebnosti organskih kislin v času dozorevanja ploda so potrdili tudi za plod jabolka in podolgovate paprike (Luning in sod., 1994; Sturm in Stampar, 1999). Za zelenostročne kultivarje z okroglimi ali ploščatimi stroki so raziskovalci ugotovili obraten vpliv zrelosti stroka na jabolčno kislino in sicer poročajo o povečani vsebnosti jabolčne kisline med dozorevanjem stroka (Kuti, 1992; Martinez in sod., 1995). Padeč vsebnosti jabolčne kisline s povečevanjem zrelosti stroka v naši raziskavi lahko pripišemo razredčitvenemu učinku zaradi povečanja mase stroka in povečanega dihanja, saj je jabolčna kislina glavni metabolni substrat disimilacije skupaj s sladkorji (Auerswald in sod., 1999; Vazquez-Oderiz in sod., 1994). V naši raziskavi smo pri strokih nepokritih rastlin kultivarja 'Berggold' in 'Top crop' ugotovili značilno 37 % in 43 % zmanjšanje vsebnosti citronske kisline s povečevanjem zrelosti stroka (iz 1,00 na 0,63 g kg⁻¹ in 0,95 na

0,54 g kg⁻¹). V literaturi so predstavljeni nasprotni rezultati v povezavi z zrelostjo stroka ter vsebnostjo citronske kisline. V plodovih podolgovate paprike je na primer koncentracija citronske kisline značilno narasla z dozorevanjem ploda, kar domnevno pripisujemo predvsem zmanjšanju deleža vode v botanično zrelem plodu paprike. V listih zelja koncentracija citronske kisline značilno pada s staranjem listov, iz 1,59 g kg⁻¹ do 0,54 g kg⁻¹ (Sousa in sod., 2009). Vpliv zrelosti stroka na vsebnost fumarne kisline je bil povezan tako s kultivarjem kot tudi z rastnimi razmerami. Dozorevanje stroka povzroča značilno zmanjšanje vsebnosti fumarne kisline v strokih rastlin pokritih s protitočno mrežo, medtem, ko se vsebnost v nepokritih strokih povečuje z dozorevanjem stroka. Razlike v vsebnosti fumarne kisline glede na zrelostno fazo rastline so v literaturi zabeležene pri različni zelenjavi. Študija na paprikah je pokazala zmanjšanje fumarne kisline v plodu z dozorevanjem od 7 do 1 mg kg⁻¹ sveže mase (Marin in sod., 2004). Na zelju poročajo, da je vsebnost fumarne kisline padla iz 0,1 g kg⁻¹ v notranjih mladih listih na 0,05 g kg⁻¹ v zunanjih starejših listih (Sousa in sod., 2009). V naši raziskavi se je najbolj očiten vpliv zrelosti stroka pokazal na vsebnosti vitamina C, kjer je povprečna vsebnost vitamina C bila za 5,7 % večja v zrelih strokih v primerjavi z vsebnostjo v mladih strokih v vseh 4 kultivarjih. Naši rezultati potrjujejo ugotovitve iz literature, da je dozorevanje eden ključnih dejavnikov, ki povečuje vsebnost vitamina C v plodovih različne zelenjave, npr. v podolgovati papriki ter paradižniku povečanje znaša 30 %, zmanjšanje vsebnosti vitamina C z dozorevanjem pa beležimo v sadju kot sta jabolko ter mango (Lee in Kader, 2000). Zrelost je imela značilen vpliv na vsebnost skupnih fenolov v naših vzorcih. Mladi stroki so imeli za 33 % večje vsebnosti skupnih fenolov kot zreli stroki, kar so potrdile že predhodne tovrstne študije (Tomas-Barberan in sod., 1991). Vsebnosti skupnih fenolov v mladih strokih so bile od 185,3 do 297,3 mg GAE kg⁻¹, v zrelih strokih pa od 116,1 do 233,7 mg GAE kg⁻¹. Študija na fižolu kaže, da so flavonoidi prevladujoča skupina med sekundarnimi metaboliti določenimi v strokih fižola, vpliv dozorevanja na flavonoide pa variira med različnimi vrstami zelenjave. V špinači so imeli srednje dozoreli listi večjo vsebnost skupnih flavonoidov (12 do 23 mg g⁻¹ suhe mase) kot zreli listi, v katerih se je vsebnost skupnih flavonoidov gibala med 15 in 18 mg g⁻¹ suhe mase (Pandjaitan in sod., 2005). Podobno zmanjšanje flavonoidov iz 202,4 na 25,4 mg kg⁻¹ sveže mase poročajo med dozorevanjem plodov paprike (Marin in sod., 2004).

5.1.2 Poskus o vplivu okuženosti z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* in kultivarja na vsebnost nekaterih primarnih in sekundarnih metabolitov v stroku nizkega fižola

Kemijska sestava strokov glede na kultivar in odpornost kultivarjev nizkega fižola na okužbo z glivo *Colletotrichum lindemuthianum*

Kultivarja nizkega fižola 'Paulista' in 'Berggold' sta v naši raziskavi potrdila svojo odpornost na okužbo z glivo *C. lindemuthianum*. Pri občutljivih kultivarjih 'Top crop' in 'Re dei burri' smo zabeležili skoraj polovico tržno neprimerne pridelka, zato ugotavljamo, da fižolova vrta pegavost lahko povzroči veliko ekonomsko škodo. Rodriguez-Guerra in sod. (2003) poročajo o podobni izgubi pridelka (47 %), Mikulic-Petkovsek in sod. (2014) pa poročajo o največji stopnji okužbe pri kultivarju 'Top crop'. Pri nadzoru bolezni ne gre le za omejevanje izgub pridelka, ampak tudi za zmanjševanje stroškov za kemično in mehanično varstvo, kot tudi za zmanjšanje obremenitve okolja s sredstvi za varstvo rastlin (Jakopic in sod., 2013). V naši raziskavi se je okužba nezaželjeno razširila tudi na neokužene gredice kljub uporabi 1 m varnostnega pasu med gredicami. Obolele so le rastline občutljivih kultivarjev 'Top crop' in 'Re dei burri'. Menimo, da je do prenosa okužbe prišlo zaradi neviht, nalivov in vetra, o čemer poročajo tudi drugi raziskovalci. Tekom nevihte se spore širijo tudi do 4,6 m od žarišča in ugotovljeno je, da ena rastlina lahko v sezoni razširi bolezen v radiju 30 m (Bailey in Jeger, 1992). Gojenje odpornih kultivarjev je najučinkovitejša kontrola proti glivi *C. lindemuthianum* (Bailey in Jeger, 1992; Kelly in Vallejo, 2004).

Pričakovali smo negativen vpliv okuženosti z glivo na pridelek, saj je rastlina ob napadu in boju z glivo v stresu, toda ugotovili smo, da je količina pridelka odvisna predvsem od izbranega kultivarja. Ugotovili smo tudi, da je povprečna masa stroka odvisna le od izbranega kultivarja. Masa strokov je padala z naraščajočo količino strokov na rastlino.

V strokih nizkega fižola vseh štirih kultivarjev je fruktoza vodilni sladkor, sledi glukoza, najmanjši delež pa pripada saharozi. V zdravih strokih nizkega fižola je bila jabolčna kislina vodilna kislina, sledijo šikimska, citronska in fumarna kislina. To velja za stroke kultivarjev 'Paulista', 'Berggold' in 'Re dei burri'. V strokih kultivarja 'Top crop' pa smo našli večjo vsebnost citronske kisline kot šikimske kisline. Potrdili smo razlike v vsebnostih primarnih metabolitov v zdravih strokih nizkega fižola glede na kultivar. Kultivar 'Paulista' vsebuje do 56,5 % več jabolčne kisline, kultivarja 'Paulista' (do 40,5 %) in 'Top crop' (do 18,9 %) pa vsebujeta tudi večjo vsebnost skupnih kislin kot ostala dva kultivarja. O podobnih vsebnostih fruktoze, glukoze, saharoze in skupnih sladkorjev v strokih fižola poročajo tudi drugi raziskovalci (Lopez-Hernandez in sod., 1994; Mikulic-Petkovsek in sod., 2014; Sanchez-Mata in sod., 2002; VandenLangenberg in sod., 2012).

Ko primerjamo vsebnosti primarnih in sekundarnih metabolitov v obeh letih raziskave ugotovimo, da so bile vsebnosti sladkorjev v letu 2012 občutno višje in so v mejah, kot jih navaja literatura (VandenLangenberg in sod., 2012). Vsebnosti jabolčne kisline analizirane v naši raziskavi so primerljive (Gonzalez-Castro in sod., 1997; Mikulic-Petkovsek in sod., 2014) ali nekoliko večje (Martinez in sod., 1995; Vazquez-Oderiz in sod., 1994) od rezultatov objavljenih raziskav. Vsebnosti citronske kisline so nekoliko večje (Gonzalez-Castro in sod., 1997; Vazquez-Oderiz in sod., 1994) ali primerljive (Mikulic-Petkovsek in sod., 2014) z ostalo literaturo. Tudi vsebnosti fumarne kisline so nekoliko večje kot navaja literatura (Gonzalez-Castro in sod., 1997; Vazquez-Oderiz in sod., 1994). Literatura navaja, da so razlike v vsebnostih organskih kislin posledica različne odpornosti rastlin ob napadu patogenov (Gundidza in Gaza, 1993). V naši raziskavi smo večjo vsebnost jabolčne kisline določili v strokih kultivarja 'Paulista' kar je domnevno povzročilo odpornost tega kultivarja na okužbo glive *C. lindemuthianum*. V primerjavi vsebnosti organskih kislin (jabolčne, citronske, šikimske in fumarne) v strokih nizkega fižola določenih v letih 2011 in 2012 ugotovimo, da so vsebnosti primerljive.

Pri analizi vsebnosti sekundarnih metabolitov smo potrdili domnevo, da je število sekundarnih metabolitov in njihova vsebnost v strokih nizkega fižola odvisna od izbire kultivarja. V naši raziskavi smo analizirali fenolne spojine, ki jih razdelimo na fenolne kisline in flavonoide (flavonoli, flavanoli, flavanoni, dihidrohalkoni). Zelenostročna kultivarja imata ('Paulista' 2,5 krat, 'Top crop' 2,2 krat) večjo vsebnost skupnih fenolov kot rumenostročna kultivarja, kar sovпада s teorijo, da v temnejše obarvanem sadju in zelenjavi najdemo večje vsebnosti fenolnih spojin kot v svetlejšo obarvanem (Mulabagal in sod., 2010; Vinson in sod., 1998). Ugotovljeno je bilo, da je odpornost rastlin na nekatere ekonomsko pomembne bolezni in škodljivce lahko povezana z vsebnostjo in raznovrstnostjo fenolnih spojin v rastlinskem tkivu (Mikulic-Petkovsek in sod., 2009; Rusjan in sod., 2012). V primerjavi listov občutljivih in odpornih kultivarjev hrušk na hrušev ožig, so raziskovalci ugotovili, da imajo kultivarji, odporni na hrušev ožig, večjo raven fenolnih spojin v listih (Gunen in sod., 2005). Visoka odpornost kultivarja 'Paulista' na glivo *C. lindemuthianum* v naši raziskavi je lahko povezana z večjo vsebnostjo skupnih fenolov v strokih. Campos in sod. (2004) so pri štirih kultivarjih fižola ugotovili pozitivno povezavo med vsebnostjo fenolov in odpornostjo na antraknozo. Mikulic-Petkovsek in sod. (2014) navajajo, da je med proučevanimi kultivarji 'Paulista' vsebovala največ dihidrohalkonov, kar bi lahko bilo povezano z njeno odpornostjo na okužbo z glivo *C. lindemuthianum*, v naši raziskavi pa ugotavljamo, da stroki kultivarja 'Berggold' vsebujejo značilno več dihidrohalkonov kot kultivarja 'Paulista' in 'Top crop'. Visoka vsebnost dihidrohalkonov bi lahko bila vzrok za odpornost kultivarja 'Berggold'. Tudi Mikulic-Petkovsek in sod. (2014) so enako kot mi ugotovili nižjo stopnjo derivatov hidroksicimetnih kislin v odpornih kultivarjih nizkega fižola 'Paulista' in 'Berggold'. Ostale raziskave na različnih rastlinskih vrstah in različnih organih poročajo o višji

vsebnosti derivatov hidroksicimetnih kislin v odpornih kultivarjih (Cole, 1984; Rekika in sod., 2005). Mikulic-Petkovsek in sod. (2014) poročajo, da je vsebnost flavonolov najvišja v odpornih kultivarjih nizkega fižola 'Paulista' in 'Berggold', kar smo ugotovili tudi v naši raziskavi. Mikulic-Petkovsek in sod. (2007) so ugotovili višje vsebnosti flavonolov v na jabolčni škrlup odpornih kultivarjev v primerjavi z neodpornimi kultivarji. Tudi deleži skupnih fenolov, ki pripadajo posamezni fenolni podskupin so različni glede na kultivar.

Pri kultivarjih 'Paulista' in 'Berggold' največji delež predstavljajo flavonoli (97,5 in 82,3 %), pri 'Re dei burri' flavonoli (39,6 %) in derivati hidroksicimetnih kislin (53,1 %), pri 'Top crop' pa flavanoli (41,0 %), flavonoli (24,3 %) in derivati hidroksicimetnih kislin (25,2 %). Vsebnosti skupnih fenolov v naši raziskavi so nekoliko večje od vsebnosti fenolov, ki jih navajajo v podobni raziskavi (Jakopic in sod., 2013). Stroke nizkega fižola lahko pri pripravi v kuhinji toplotno obdelamo na več načinov. Po skoraj vseh načinih toplotne obdelave pa obdržijo antioksidativni potencial, kar je med rastlinami redka lastnost (Jimenez-Monreal in sod., 2009). Zato je tudi s tega vidika pomembno, da za pridelavo izberemo kultivar fižola, ki ima v strokih največje vsebnosti za naše zdravje koristnih fenolnih spojin.

Kemijska sestava strokov nizkega fižola glede na okužbo z glivo *Colletotrichum lindemuthianum*

Kako je okužba z glivo delovala na kemično sestavo strokov smo ugotavljali na osnovi analize nekaterih primarnih in sekundarnih metabolitov. Analize smo opravili le na kultivarjih 'Re dei burri' in 'Top crop', pri katerih je prišlo do okužbe.

Vpliv okužbe na vsebnost in sestavo sladkorjev in organskih kislin: Okužba z glivo *C. lindemuthianum* je značilno povečala vsebnost saharoze v stroku kultivarja 'Top crop' (28,8 %). Ob okužbi z glivo smo pričakovali padec vsebnosti sladkorjev, saj se le ti porabljajo za tvorbo sekundarnih metabolitov, a se je to zgodilo le v strokih kultivarja 'Re dei burri', kjer so bile vsebnosti posamičnih sladkorjev nekoliko nižje v okuženih strokih glede na neokužene stroke, vendar razlike niso bile statistično značilne. Pri rastlinah, ki so sposobne uničiti patogena ali vsaj preprečevati njegovo rast, so raziskovalci opazili pozitivno povezavo med količino sladkorjev in količino proizvedenih antimikrobnih spojin (Naqvi in sod., 2011).

Organske kisline v rastlinskem tkivu delujejo kot naravne antimikrobne spojine, ki so prisotne v različnih koncentracijah in imajo vpliv na aromo, okus, bravo plodov ter tudi posreden vpliv na metabolizem fenolov, saj regulirajo pH v celici (Belitz in sod., 2009; Flores in sod., 2012; Gonzalez-Castro in sod., 1997). Ugotovili smo, da je v največjem deležu zastopana jabolčna kislina, sledijo citronska, šikimska in fumarna kislina, kar so v podobni raziskavi na stročjem fižolu potrdili tudi Mikulic-Petkovsek in sod. (2014). Glede

na dejstvo, da lahko organske kisline in njihove soli same ali v kombinaciji z drugimi kislinami zmanjšujejo rast nekaterih patogenov (Kang in sod., 2003), nas je zanimalo ali okužba z glivo *C. lindemuthianum* spremeni vsebnost in sestavo organskih kislin v strokih nizkega fižola. Ugotovili smo značilno povečano vsebnost šikimske in fumarne kisline ter skupnih kislin, in sicer za 50, 26 in 25 %.

Vpliv okužbe na vsebnost in sestavo fenolnih spojin: Fenolne spojine nastajajo v stresnih pogojih in imajo širokospektralni protimikrobni učinek, saj zanje predstavljajo strupene snovi, te pa na njih težko postanejo odporne. Koncentracija fenolnih snovi je bistvena za določanje načina delovanja. V nižjih koncentracijah vplivajo na delovanje encimov, v višjih koncentracijah pa povzročajo obarjanje proteinov (Agrios, 1997). V okuženem tkivu smo ugotovili povečanje vsebnosti skupnih fenolov in prišlo je tudi do spremembe njihove sestave, prišlo je namreč do povečanja deleža flavonolov, flavanonov, dihidrohalkonov, do tvorbe izoflavonov in flavonov, do zmanjšanja deleža hidroksicimetnih kislin in do izginotja flavanolov. Kot odgovor na okužbo s *Colletotrichum capsici* se je v plodovih čilija povečala količina skupnih fenolov. Povečanje je bilo mnogo večje pri nezrelah kot pri zrelih plodovih (Anand in sod., 2009).

V zdravem tkivu strokov vseh štirih kultivarjev smo skupno ugotovili 43 različnih fenolnih spojin. V okuženem tkivu smo v strokih kultivarjev 'Re dei burri' in 'Top crop' skupno ugotovili 70 različnih fenolnih spojin. V strokih (zdravih ali okuženih) kultivarjev 'Re dei burri' in 'Top crop' nismo našli šestih spojin, ki pa smo jih našli v strokih na glivo odpornih kultivarjev 'Paulista' (kempferol heksozil rutinozid, kvercetin heksozil rutinozid, kvercetin ksilozil rutinozid, kvercetin-3-*O*-vicianozid, izoramnetin ksilozil rutinozid) in 'Berggold' (floretil malonil-C-diglikozid). Te spojine bi lahko bile povezane s povečano odpornostjo teh dveh kultivarjev na glivo *C. lindemuthianum*. Fenolnim spojinam prisotnim pred okužbo se je ob okužbi z glivo *C. lindemuthianum* pridružilo 33 novo nastalih spojin. Novo nastale spojine pripadajo fenolnim kislinam in flavonoidom (flavonolom, flavanonom, dihidrohalkonom, izoflavonom ter flavonom). Mikulic-Petkovsek in sod. (2009) poročajo, da se za glive toksični fenoli nalagajo lokalno okrog okuženega mesta in da se je vsebnost fenolnih kislin, flavanolov, flavonolov, dihidrohalkonov in posledično tudi skupnih fenolov v jabolkih z oddaljevanjem od mesta okužbe zmanjševala, kar nakazuje da je tvorba fenolov tesno povezana z okužbo, zato smo domnevali, da bomo v zdravem tkivu, ki smo ga odvzeli iz okuženega stroka dobili povečane vsebnosti skupnih fenolov, a se to ni zgodilo. Mikulic-Petkovsek in sod. (2014), poročajo, da so rastline nizkega fižola na stresne razmere ob prisotnosti *C. lindemuthianum* odreagirale s povečano sintezo specifičnih sekundarnih metabolitov, med kultivarjema pa niso opazili značilnih razlik v vsebnosti skupnih fenolov. Abu-Reidah in sod. (2013) so v strokih fižola treh kultivarjev našli 72 različnih spojin, ki so jih podobno kot mi,

razporedili v različne razrede: fenolne kisline in flavonoide (flavonoli, flavanoli, flavoni, dihidrohalkoni, flavanoni, izoflavoni in izoflavanoni), lignine in ostale.

Vpliv okužbe na vsebnost in sestavo derivatov hidroksicimetnih kislin: Na vsebnost derivatov hidroksicimetnih kislin okužba ni delovala značilno, prišlo pa je do sprememb v njihovi sestavi. Derivati hidroksicimetnih kislin so prekurzorji za številne fenolne spojine, pri tem pa sodeluje encim PAL (Forkmann in Heller, 1999).

Vpliv okužbe na vsebnost in sestavo flavonolov: Okužba je povzročila 6,5 kratno povečanje vsebnosti flavonolov in tudi spremembo njihove sestave. Flavonoli se sintetizirajo kot odgovor rastline na napad patogena (Dixon in Paiva, 1995), kar smo potrdili tudi v naši raziskavi. V strokih fižola so najpomembnejši fenoli flavanol glikozidi in flavanoli, njihova sestava je različna glede na kultivar (Escarpa in Gonzalez, 2000). Mikulic-Petkovsek in sod. (2014) so v fižolu potrdili glikozide kvercetina (70 do 80 % skupnih flavonolov), kempferola (15 do 25 %) in izoramnetina (manj kot 5 %). Tudi Abu-Reidah in sod. (2013) poročajo, da je največji delež skupnih fenolov v strokih fižola pripadal flavanolom in njihovim derivatom. Lin in sod. (2008) so našli razlike v vsebnostih flavonoidov v zrnju fižola. V različnih kultivarjih so našli različne flavonoide in so kultivarje glede na vsebnost in sestavo razvrstili v 6 skupin. Ahuja in sod. (2009) poročajo, da je visoka vsebnost flavonolov odgovorna za zmanjšano stopnjo napada škodljivcev. V nekaterih kultivarjih niso zaznali flavonoidov. Mnogi flavonoli lahko predstavljajo obrambo pred glivami (Del Rio in sod., 2003; Mikulic-Petkovsek in sod., 2009; Treutter in Feucht, 1990). Poročajo tudi o višjih vsebnostih nekaterih flavanol glikozidov v tkivih sadnih vrst, okuženih z različnimi glivami v primerjavi z zdravim tkivom (Rusjan in sod., 2012; Slatnar in sod., 2010).

Vpliv okužbe na vsebnost in sestavo flavanolov: Flavanolov v okuženem tkivu nismo zaznali, kar je v nasprotju z navedbami preostale literature. Mikulic-Petkovsek in sod. (2014) navajajo, da so flavanoli bili najbolj zastopana skupina in so obsegali več kot 75 % skupnih analiziranih fenolov. Našli so tudi razlike v količini flavanolov med kultivarji. Raziskave na rastlinah iz družine Rosaceae so pokazale večjo vsebnost flavanolov v listih po okužbi (Chaves in Gianfagna, 2007; Del Rio in sod., 2003; Schlosser, 1994). Raziskovalci poročajo o višjih vsebnostih posamičnih flavanolov v plodovih odpornih kultivarjev pri avokadu in jablani (Ardi in sod., 1998; Mikulic-Petkovsek in sod., 2007). Del Rio in sod. (2003) poročajo o antimikrobnem učinku katehina v rastlinah oljke, kar je pripomoglo k večji odpornosti rastlin na *Phytophthora sp.* Vloga flavanolov v obrambi rastlin proti patogenom je lahko v njihovi interakciji s proteini in inhibiciji encimov, ki jih tvori gliva (Treutter in Feucht, 1990).

Vpliv okužbe na vsebnost in sestavo flavanonov: Najmočnejši vpliv je imela okužba prav na povečanje vsebnosti flavanonov in sicer povzročila je 36,5 kratno povečanje, prišlo pa je tudi do spremenjene sestave flavanonov. Flavانونi so zelo učinkovita antimikrobna sredstva, ki so sposobna interakcije s proteini in inhibicije encimov glive (Mierziak in sod., 2014).

Vpliv okužbe na vsebnost in sestavo dihidrohalkonov: Okužba je imela značilen vpliv na povečanje vsebnosti dihidrohalkonov, kakor tudi na njihovo sestavo. Povečanje je bilo 2,9 kratno. Literatura navaja kar nekaj študij o povezavi med vsebnostjo dihidrohalkonov in odpornostjo rastlin na različne patogene. Dihidrohalkoni so povezani z nižjo stopnjo uspešnosti glivične okužbe (Mikulic-Petkovsek in sod., 2014). Picinelli in sod. (1995) trdijo, da je razmerje floridzin/flavanol odločilno za odpornost proti škrlupu, ki je bila do neke mere potrjena z rezultati raziskave Mikulic-Petkovsek in sod. (2007), kjer na škrlup odporen kultivar 'Goldrush' vsebuje najvišjo raven floridzina. Gosch in sod. (2010) poročajo, da so razlike v odpornosti na patogene pogojene z hitrostjo preobčutljivostne reakcije rastline po napadu patogena in ne od dejanske vsebnosti floridzina. Alt in sod. (1980) ter Lattanzio in sod. (2001) so odkrili močan protimikrobni učinek floridzina in fletina na rast micelija *Phytophthora cactorum* in *Phlyctaena vagabunda*.

Vpliv okužbe na sintezo izoflavonov in flavonov: Ob okužbi je prišlo tudi do sinteze izoflavonov in flavanov, ki so med flavonoidi poleg flavanonov najmočnejša antimikrobna sredstva (Mierziak in sod., 2014). V literaturi smo našli podatke o tvorbi fitoaleksinov medicarpin in sativan pri sadikah lucerne okuženih z glivo *C. trifolii*. Ko so sadike lucerne okužili z nevirulentno glivo, so povečano encimsko aktivnost in povečanje vsebnosti medikarpina (Saunders in O'Neill, 2004). Pri sirku je bila tvorba luteolina po okužbi z glivo *C. sublineolum* povišana in hitrejša v odpornih kultivarjih v primerjavi z občutljivimi. Med flavoni je bil v občutljivih sadikah sirka najbolj zastopan apigenin, vendar je luteolin močnejše zaviral kalitev spor *C. sublineolum* kot apigenin (Du in sod., 2010). V zadnjih letih se je zanimanje za flavone in izoflavone povečalo, saj se predvideva, da imajo pozitivne vplive na številne bolezni kot so: arterioskleroza, osteoporoza, diabetes in določene vrste raka (Abu-Reidah in sod., 2013).

5.2 SKLEPI

Sklepi so prikazani kot odgovori na zastavljene hipoteze (glej stran 2).

- H1: Protitočna mreža je vplivala na temperaturo, ki je bila v povprečju do 10 % manjša in na osvetlitev, ki je bila do 60 % manjša glede na razmere na prostem.
- H2: Pod protitočno mrežo je bila vsebnost fruktoze, glukoze, vitamina C, fumarne kisline in skupnih fenolov manjša ter vsebnost jabolčne kisline večja kot na prostem.
- H3: Dinamika metabolitov v odvisnosti od razvoja strokov je potrdila naše domneve: vsebnost organskih kislin in skupnih fenolov se je zmanjšala z rastjo strokov, vsebnost saharoze in vitamina C pa narasla.
- H4: Potrdili smo domnevo, da je vsebnost primarnih in sekundarnih metabolitov različna glede na kultivar.
- H5: Pri kultivarjih smo zaznali razlike v številu fenolnih spojin. Zelenostročna kultivarja 'Paulista' in 'Top crop' vsebujeta značilno 2,5 krat in 2,2 krat večjo vsebnost skupnih fenolov kot rumenostročna kultivarja. Tudi deleži skupnih fenolov, ki pripadajo posamezni fenolni podskupini so različni glede na kultivar.
- H6: V strokih kultivarjev 'Paulista' ali 'Berggold' smo ugotovili šest fenolnih spojin, ki jih nismo zaznali v zdravih strokih ostalih dveh kultivarjev.
- H7: Umetna okužba z glivo *C. lindemuthianum* je bila zelo uspešna na neodpornih kultivarjih in neuspešna pri kultivarjih odpornih na omenjeno glivo.
- H8 Okužba z glivo *C. lindemuthianum* ni imela vpliva na povprečen pridelek nizkega stročjega fižola na rastlino. Razlike v pridelku so bile le med kultivarji in sicer pri kultivarju 'Paulista' smo ugotovili do 2 krat večji povprečni pridelek na rastlino (8,9 t ha⁻¹) kot pri ostalih treh kultivarjih.
- H9: Okužba je povzročila povečanje vsebnosti skupnih organskih kislin (25 %), skupnih fenolov (5,7 krat), flavonolov (6,5 krat), flavanonov (36,5 krat), dihidrohalkonov (2,9 krat) in sintezo izoflavonov in flavonov ter izginotje flavanolov.
- H10: V okuženem tkivu pege smo kot pričakovano zaznali 33 na novo nastalih fenolnih spojin, ki pripadajo fenolnim podskupinam: flavonoli, derivati hidroksicimetnih kislin, flavanoni, dihidrohalkoni, izoflavoni ter flavoni. Največje vsebnosti so imeli fenoli dihidrokempferol heksoza, naringenin heksoza 3, dihidrokempferol diheksoza.

V prvem delu naše raziskave smo na osnovi gojenja različnih kultivarjev nizkega stročjega fižola pod protitočno črno mrežo in analizo količine in kakovosti pridelka prikazali, da je izbira kultivarja pomembna tako z vidika rodnosti in količine pridelka, kakor tudi z vidika prehranske vrednosti, ki je opredeljena na osnovi kakovostnih parametrov. Poleg prehranske vrednosti imajo ti parametri pomembno vlogo pri delovanju obrambnega mehanizma rastlin, ki se sproži pod vplivom različnih biotskih in abiotskih dejavnikov. Delovanje abiotskih dejavnikov smo proučevali v prvem letu raziskav, kjer smo z analizo

vsebnosti primarnih in sekundarnih metabolitov v strokih fižola, ki smo ga gojili pod protitočno mrežo in na prostem, potrdili predhodno hipotezo o razlikah kemijske sestave strokov glede na kultivar. Z analiziranjem vsebnosti produktov v različno tehnološko razvitih strokih pa smo prikazali dinamiko vsebnosti spojin glede na razvojno fazo stroka.

Za boljše razumevanje dinamike spreminjanja kemijske sestave v odvisnosti od razvojne faze stroka in glede na čedalje večji pomen mladih, tehnološko nezrelih strokov v sodobni prehrani ljudi, pomenijo rezultati izmerjenih kakovostnih parametrov v različni tehnološki zrelosti strokov pomemben doprinos k spoznavanju njihove prehranske vrednosti in s tem novost na raziskovalnem področju.

Z določitvijo kakovostnih parametrov v strokih pod protitočno mrežo smo prikazali odziv rastlin na spremenjene okoljske razmere, predvsem na zmanjšano osvetlitev, ki se ustvari pod protitočno mrežno zaščito. Le te pomembno vplivajo na rast in razvoj rastlin, ter domnevno na zmanjšano fotosintetsko aktivnost rastlin, kar ima za posledico spremenjeno kemijsko sestavo strokov in s tem prehransko vrednost fižola. Za natančnejšo razlago fizioloških dogajanj v rastlinah in posledično spremenjene kakovosti pridelka rastlin, ki rastejo pod protitočno mrežo, bi bilo v bodoče študijo smiselno nadgraditi s spremljanjem fotosintetske aktivnosti in drugih fizioloških parametrov, ki bi s fiziološkega stališča razjasnili odziv rastlin na abiotični stres in z njim povezano spremenjeno kakovost pridelka, ki ga povzroči protitočna zaščita vrtnin.

Rezultati raziskave iz prvega leta so bili osnova za nadgradnjo študije v drugem letu, v smislu iskanja mehanizmov naravne odpornosti rastlin na biotski stres. Predhodna analiza sekundarnih metabolitov v strokih kultivarjev nizkega fižola, ki so različno tolerantni na okužbo z glivo *C. lindemuthianum*, je pokazala specifičnost sestave in vsebnosti sekundarnih metabolitov iz skupine fenolnih spojin glede na kultivar. Ugotovitve nakazujejo, da obstaja pri tolerantnih kultivarjih naravni obrambni mehanizem proti okužbi z omenjeno glivo, v našem primeru je bilo to najbolj evidentno pri kultivarju 'Paulista', ki je izstopal tako po količini pridelka kot tudi po kakovostih parametrov strokov ter po največji vsebnosti skupnih fenolnih spojin.

Ugotovitve o na novo sintetiziranih fenolnih spojinah v okuženem tkivu strokov nakazujejo večjo aktivnost obrambnega mehanizma, ki se sproži kot odgovor rastline na biotski stres. Da bi dobili bolj celovito sliko o delovanju sekundarnega metabolizma, bi bilo v nadaljne analize smiselno vključiti tudi spremljanje aktivnosti encimov, ki so odgovorni za sitezo posameznih fenolnih skupin. Nadgradnja naše študije bi morala slediti smeri iskanja poti za predhodno povečanje nivoja obrambnih spojin in s tem zagotovitev večje tolerantnosti oziroma odpornosti rastlin na glivo *Colletotrichum*.

6 POVZETEK (SUMMARY)

6.1 POVZETEK

Namen naše raziskave je bil ugotoviti vpliv spremenjenih rastnih razmer na vsebnost nekaterih primarnih in sekundarnih metabolitov (sladkorjev, organskih kislin, vitamina C in skupnih fenolov) v različno zrelih strokih štirih kultivarjev nizkega stročjega fižola. Želeli smo preučiti tudi odziv rastline na okuženost z glivo *Colletotrichum lindemuthianum*, zato smo v strokih rumeno in zelenostročnega nizkega fižola analizirali vsebnost nekaterih primarnih in sekundarnih metabolitov glede na kultivar in mesto okužbe ter na pridelek in morfološke lastnosti stroka. V ta namen smo v prvem delu raziskave uporabili črno protitočno mrežo, s katero smo prekrili rastline, vključili štiri kultivarje nizkega stročjega fižola: 'Berggold', 'Paulista', 'Top crop' in 'Re dei burri' in metabolite določili in kvantificirali tako v mladih strokih fižola kot v tehnološko zrelih strokih. Hkrati smo natančno spremljali okoljske parametre, predvsem temperaturo in osvetlitev. V drugem delu raziskave smo rastline štirih istih kultivarjev nizkega stročjega fižola umetno okužili z glivo *C. lindemuthianum* in metabolite določili in kvantificirali v okuženem tkivu, v zdravem tkivu okuženega stroka in v neokuženem stroku. Želeli smo tudi oceniti stopnjo uspešnosti umetne okužbe in delež tržno neuporabnega pridelka pri okuženih kultivarjih. Želeli smo, da bi pridobili rezultate, ki bodo v pomoč pri razumevanju vplivov rastnih razmer na kakovost pridelka, odzivov rastline nizkega fižola na okuženost z glivo *C. lindemuthianum*, razumevanju kompleksnega odnosa med fižolom in patogenom *C. lindemuthianum* in bodo uporabni za nadaljnje tovrstne raziskave. V raziskavi smo potrdili vpliv rastnih razmer, zrelosti stroka in kultivarja na vsebnost nekaterih primarnih in sekundarnih metabolitov v stroku nizkega fižola. Uporaba črne protitočne mreže je povzročila zmanjšanje fotosintetsko aktivne osvetlitve, znižanje povprečne in maksimalne temperature, minimalne temperature (razen v primeru, ko so nižje od 9 °C in povzroči njen dvig), zmanjšanje vsebnosti fruktoze (42,0 %) in glukoze (49,6 %), vitamina C (15,2 %), fumarne kisline (44,4 %), skupnih fenolov (15,7 %), in povečanje vsebnosti jabolčne kisline (34,7 %). Dozorevanje strokov nizkega fižola je povzročilo padec vsebnosti organskih kislin, skupnih fenolov, fruktoze, glukoze in povečanje vsebnosti vitamina C in saharoze. Opazili smo tudi razlike v vsebnostih primarnih in sekundarnih metabolitov med štirimi kultivarji, zato lahko trdimo, da je izbira kultivarja ključni korak, pri doseganju željene kakovosti pridelka. Potrdili smo tudi vpliv okuženosti z glivo *C. lindemuthianum* in kultivarja na vsebnost nekaterih primarnih in sekundarnih metabolitov v strokih nizkega fižola. Vsi štirje kultivarji so se razlikovali po vsebnostih fruktoze, glukoze, skupnih sladkorjev, jabolčne, citronske, fumarne kisline in skupnih kislin, številu fenolnih spojin, vsebnosti skupnih fenolov, velikostih deležev posameznih fenolnih podskupin od skupnih fenolov, fenolnih spojinah, ki so predstavljale največje deleže posameznih fenolnih podskupin. Na glivo odporna kultivarja sta

vsebovala skupno šest fenolnih spojin, ki jih občutljiva kultivarja nista vsebovala. Okuženost z glivo je bila uspešna le pri kultivajih 'Top crop' in 'Re dei burri', pri obeh kultivarjih je povzročila tržno neuporabnost skoraj polovice pridelka, ni pa imela vpliva na pridelek nizkega stročjega fižola na rastlino in vsebnost sladkorjev. Okužba z glivo je povzročila povečanje vsebnosti šikimske (50,0 %), fumarne (25,9 %), skupnih kislin (25,0 %), skupnih fenolov (5,7 krat), flavonolov (6,5 krat), flavanonov (36,5 krat), dihidrohalkonov (2,9 krat), povzročila sintezo izoflavonov ($3678,9 \pm 1316,0 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) in flavonov ($2425,7 \pm 520,2 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase) ter izginotje flavanolov. Določili smo 70 fenolov iz naslednjih skupin: derivati hidroksicimetnih kislin, flavonoli, flavanoli, flavanoni, dihidrohalkoni, izoflavoni in flavoni, od tega je 33 ob okužbi novo nastalih fenolov, ki pripadajo vsem naštetim skupinam razen flavanolom. Največje vsebnosti so imeli fenoli dihidrokempferol heksoza ($3052,8 \pm 609,6 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase), naringenin heksoza 3 ($2779,6 \pm 1232,0 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase), dihidrokempferol diheksoza ($1950,3 \pm 361,6 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ sveže mase). Z raziskavo smo nadgradili dosedanje ugotovitve na področju vpliva rastnih razmer na kakovost pridelka nizkega fižola in odziva nizkega fižola na okužbo z glivo *C. lindemuthianum*, pridobljeno znanje bo služilo kot pomoč pri nadaljnjih študijah in pomoč pridelovalcem nizkega stročjega fižola za doseganje kakovostnih pridelkov.

6.2 SUMMARY

The aim of our study was to determine the impact of changes in growing conditions on the content of some primary and secondary metabolites (sugars, organic acids, vitamin C and total phenolics) in different pod maturities of four cultivars of dwarf French beans. The aim was to examine the response of plants to infection with fungus *Colletotrichum lindemuthianum*, so the presence of some primary and secondary metabolites in yellow and green dwarf French bean pods were analyzed, depending on the cultivar and site of infection and on yield and morphological properties. In the first part of the study was used a black hailnet, which was covered over the bean plants. In experiment were included four cultivars of dwarf French beans: 'Berggold', 'Paulista', 'Top crop' and 'Re dei Burri' and metabolites in young pods and in technologically mature dwarf French bean pods were determined and quantified. At the same time environmental parameters were carefully monitored, in particular temperature and illumination. In the second part of the study the same four cultivars of dwarf French beans were planted and artificially inoculated with the fungus *Colletotrichum lindemuthianum*. Metabolites in infected tissue, in healthy tissue of infected pod and uninfected pod were determined and quantified. The success rates of artificial infection and market unusable parts of yield of infected cultivars were also determined. We wanted to obtain results which will be helpful in understanding the effects of growing conditions on yield quality, understanding of dwarf French bean plant responses to infection with the fungus *Colletotrichum lindemuthianum*, understanding of

the complex relationship between the dwarf French bean and pathogen *Colletotrichum lindemuthianum* and will be useful for further studies. In this study, the influence of growing conditions, cultivar and pod maturity to the content of some primary and secondary metabolites in the dwarf French bean pods were confirmed. Using the black hailnet caused reduction of photosynthetically active illumination, reduction of the average and maximum temperature, the minimum temperature (except in the case when lower than 9 °C, causing its lift), the reduction of the content of fructose (42,0 %) and glucose (49,6 %), vitamin C (15,2 %), fumaric acid (44,4 %) total phenolics (15,7 %), and increasing the content of malic acid (34,7 %). Ripening of dwarf French bean pods resulted in a decreased levels of organic acids, total phenolics, fructose, glucose and increased levels of vitamin C and sucrose. Differences in the content of primary and secondary metabolites among the four cultivars were also observed, so the selection of cultivar is the key step in achieving of desired quality of the crop yield. The effect of *Colletotrichum lindemuthianum* infection and cultivar on the content of some primary and secondary metabolites in the dwarf French bean pods were confirmed. All four cultivars differed according to contents of fructose, glucose, total sugars, malic, citric, fumaric acid and total acid content, number of phenolic compounds, content of total phenolics, in sizes of shares of phenolic subgroups from total phenolics, in phenolic compounds, which have the largest part of individual phenolic subgroups. The fungus resistant cultivars contained six phenolic compounds, which were not found in unresistant cultivars. Fungus infection was successful only on cultivars 'Top crop' and 'Re dei Burri', in both cultivars resulting in market uselessness of almost half of the crop, but the infection did not have any impact on the yield per plant and sugar contents. Fungus infection cause increased content of shikimic (50,0 %), fumaric (25,9 %), total acids (25,0 %), total phenols (5,7 fold), flavonols (6,5 fold), flavanols (36,5 fold), dihydrochalcones (2,9 fold), synthesis of isoflavones (3678,9 ± 1316,0 µg 100 g⁻¹ fresh weight) and flavones (2425,7 ± 520,2 µg 100 g⁻¹ fresh weight) and the disappearance of flavanols. 70 phenols belonging to the following groups: derivatives of hydroxycinnamic acids, flavonols, flavanols, flavanones, dihydrochalcones, isoflavones and flavones were determined, of which 33 phenols are newly formed in infected pods and they belong to all of the mentioned groups except flavanols. The highest concentrations had phenols dihydrokaempferol hexose (3052,8 ± 609,6 µg 100 g⁻¹ fresh weight), naringenin hexose 3 (2779,6 ± 1232,0 µg 100 g⁻¹ fresh weight) and dihydrokaempferol dihexose (1950,3 ± 361,6 µg 100 g⁻¹ fresh weight). With this research the previous findings of the impact of changes in growing conditions to dwarf French bean yield quality and bean response to *Colletotrichum lindemuthianum* infection were upgraded. The new knowledge will help in further studies and help dwarf French bean growers to achieve higher quality of the yield.

7 VIRI

- Abram V., Simčič M. 1997. Fenolne spojine kot antioksidanti. *Farmaceutski vestnik*, 48: 573-589
- Abram V., Žlender B., Gašperlin L. 2000. Antioksidativno delovanje flavonoidov. V: *Antioksidanti v živilstvu*. 20. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 26. in 27. oktober 2000. Biotehniška fakulteta: 23-32
- Abu-Reidah I.M., Arraez-Roman D., Lozano-Sanchez J., Segura-Carretero A., Fernandez-Gutierrez A. 2013. Phytochemical characterisation of green beans (*Phaseolus vulgaris* L.) by using high-performance liquid chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry. *Phytochemical Analysis*, 24: 105-116
- Abu-Reidah I.M., Contreras M.D., Arraez-Roman D., Fernandez-Gutierrez A., Segura-Carretero A. 2014. UHPLC-ESI-QTOF-MS-based metabolic profiling of *Vicia faba* L. (Fabaceae) seeds as a key strategy for characterization in foodomics. *Electrophoresis*, 35: 1571-1581
- Agrios N.G. 1997. *Plant pathology*. 4th ed. San Diego, Academic Press: 635 str.
- Ahuja I., Kissen R., Bones A.M. 2012. Phytoalexins in defense against pathogens. *Trends in Plant Science*, 17: 73-90
- Ahuja S.L., Banerjee S.K., Singh J., Singh P., Singh V.V., Monga D., Tuteja O.P. 2009. Development of *Gossypium hirsutum* lines with cytoplasmic bollworm tolerance from *Gossypium arboreum* and *Gossypium tomentosum*. *Plant Breeding*, 128: 712-715
- Alt D., Schmidle A., Aaby K. 1980. Untersuchungen über mögliche Resistenzfaktoren des Apfels gegen *Phytophthora cactorum* (Leb. et Cohn) Schroet. *Angewandte Botanik*, 54: 139-156
- Anand T., Bhaskaran R., Raguchander T., Samiyappan R., Prakasam V., Gopalakrishnan C. 2009. Defence responses of chilli fruits to *Colletotrichum capsici* and *Alternaria alternaria*. *Biologia Plantarum*, 53: 553-559
- Andrews H., Johnson P. 1996. Physiology of sunburn development in apples. *Good Fruit Grower*, 47: 33-36
- Ardi R., Kobiler I., Jacoby B., Keen N.T., Prusky D. 1998. Involvement of epi-catechin biosynthesis in the activation of the mechanism of resistance of avocado fruits to *Colletotrichum gloeosporioides*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 53: 269-285
- ARSO. 2012. Mesečni bilten Agencije Republike Slovenije za okolje, maj 2012. Ljubljana, Agencija RS za okolje.
http://www.arso.gov.si/o%20agenciji/knji%C5%BEnica/mese%C4%8Dni%20bilten/NASE%20OKOLJE_2012_05.pdf (10. feb. 2013)

- Auerswald H., Schwarz D., Kornelson C., Krumbein A., Bruckner B. 1999. Sensory analysis, sugar and acid content of tomato at different EC values of the nutrient solution. *Scientia Horticulturae*, 82: 227-242
- Baardseth P., Bjerke F., Martinsen B.K., Skrede G. 2010. Vitamin C, total phenolics and antioxidative activity in tip-cut green beans (*Phaseolus vulgaris*) and swede rods (*Brassica napus* var. *napobrassica*) processed by methods used in catering. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90: 1245-1255
- Bailey J.A., Jeger M.J. 1992. *Colletotrichum*: biology, pathology and control. Wallingford, CAB International: 388 str.
- Barradas V.L., Hamlyn G.J. 1996. Responses of CO₂ assimilation to changes in irradiance: Laboratory and field data and a model for beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Experimental Botany*, 47: 639-645
- Belitz H.D., Grosch W., Schieberle P. 2009. *Food Chemistry*. 4th revised and extended ed. Berlin, CBS Publishers: 1070 str.
- Boue S.M., Cleveland T.E., Carter-Wientjes C., Shih B.Y., Bhatnagar D., McLachlan J.M., Burow M.E. 2009. Phytoalexin-enriched functional foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57: 2614-2622
- Campa A., Rodriguez-Suarez C., Giraldez R., Ferreira J.J. 2014. Genetic analysis of the response to eleven *Colletotrichum lindemuthianum* races in a RIL population of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *BMC Plant Biology*, 14: 1-23
- Campos A.D., Ferreira A.G., Hampe M.M.V., Antunes I.F., Branco N., Silveira E.P., Osorio V.A., Augustin E. 2004. Peroxidases and polyphenol oxidase activity in bean anthracnose resistance. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 39: 637-643
- Carbone F., Perrotta G., Figueroa C., Moya M., Herrera R., Retamales J., Schmeda-Hirschmann G., Caligari P. 2009. Transcript profiling suggests transcriptional repression of the flavonoid pathway in the white-fruited Chilean strawberry, *Fragaria chiloensis* (L.) Mill. *Genetic Resources & Crop Evolution*, 56: 895-903
- Chaves F.C., Gianfagna T.J. 2007. Cacao leaf procyanidins increase locally and systemically in response to infection by *Moniliophthora perniciosa* basidiospores. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 70: 174-179
- Cole R.A. 1984. Phenolics acids associated with the resistance of lettuce cultivars to the lettuce root aphid. *Annals of Applied Biology*, 105: 129-145
- Crete X., Regnard J., Ferre G., Tronel C. 2001. Effects secondaries et consequencessur la conduite du verger. *Arboriculture Fruitiere*, 553: 51-55
- Crozier A., Clifford M.N., Ashihara H. 2006. *Plant secondary metabolites: Occurrence, structure and role in the human diet*. Oxford Ames, Iowa, Blackwell Publishing: 384 str.

- Del Rio J.A., Baidez A.G., Botia J.M., Ortuno A. 2003. Enhancement of phenolic compounds in olive plants (*Olea europaea* L.) and their influence on resistance against *Phytophthora* sp. *Food Chemistry*, 83: 75–78
- Dixon R.A., Paiva N.L. 1995. Stress induced phenylpropanoid metabolism. *The Plant Cell*, 7: 1085-1097
- Du Y., Chu H., Wang M., Chu I.K., Lo C. 2010. Identification of flavone phytoalexins and a pathogeninducible flavone synthase II gene (SbFNSII) in sorghum. *Journal of Experimental Botany*, 61: 983-994
- Dumas Y., Dadomo M., Di Lucca G., Grolier P. 2003. Effects of environmental factors and agricultural techniques on antioxidant content of tomatoes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83: 369-382
- Dussi M., Giardina G., Sosa D., Gonzalez Junyent R., Zecca A., Reeb P. 2005. Shade nets effect on canopy light distribution and quality of fruit and spur leaf on apples cv. 'Fuji'. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 3: 253–260
- Escarpa A., Gonzalez M.C. 2000. Identification and quantitation of phenolics from green beans by high-performance liquid chromatography. *Chromatographia*, 52: 33-38
- FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAO. 2013. Rome, <http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor> (12. nov. 2014)
- FITO-INFO. 2014. Slovenski informacijski sistem za varstvo rastlin. Ljubljana, Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano, Fitosanitarna uprava RS. <http://www.fito-info.si/APL/Sist/SifrantOrg.htm> (15. nov. 2014)
- Flores P., Hellin P., Fenoll J. 2012. Determination of organic acids in fruits and vegetables by liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 132: 1049–1054
- Forkmann G., Heller W. 1999. Biosynthesis of flavonoids. V: *Comprehensive natural products chemistry*. Barton D., Nakanishi K., Meth-Coh O. (eds.). Oxford, Elsevier: 713-748
- Fox A.J., Del Pozo-Insfran D., Lee J.H., Sargent S.A., Talcott S.T. 2005. Ripening induced chemical and antioxidant changes in bell peppers as affected by harvest maturity and postharvest ethylene exposure. *Hortscience*, 40: 732-736
- Franchi Sementi. 2010. *Catalogo Linea Mercurio*. Grassobio, Youblisher. <http://www.youblisher.com/p/205682-Catalogo-Linea-Mercurio/> (16. nov. 2014)
- Franchi Sementi. 2014. Fagiolo nano 'Top crop'. <http://www.eurosementi.it/fagiolo-nano-top-crop-detail.pdf?tmpl=component> (16. nov. 2014)

- Friesen A.P., Gillard C.L., Conner R.L., Robinson D.E., Barton W.R. 2014. Effect of microwave radiation on dry bean seed infected with without the use of chemical seed treatment. *Canadian Journal of Plant Science*, 94: 1373-1384
- George B., Kaur C., Khurdiya D.S., Kapoor H.C. 2004. Antioxidants in tomato (*Lycopersium esculentum*) as a function of genotype. *Food Chemistry*, 84: 45-51
- Ghasemnezhad M., Sherafati M., Payvast G. 2011. Variation in phenolic compounds, ascorbic acid and antioxidant activity of five coloured bell pepper (*Capsicum annum*) fruits at two different harvest times. *Journal of Functional Foods*, 3: 44-49
- Gindaba J., Wand S.J.E. 2007. Do fruit sunburn control measures affect leaf photosynthetic rate and stomatal conductance in 'Royal Gala' apple? *Environmental and Experimental Botany*, 59: 160-165
- Glanz K., Basil M., Maibach E., Goldberg J., Snyder D. 1998. Why Americans eat what they do: taste, nutrition, cost, convenience and weight control concerns as influences on food consumption. *Journal of American Dietetic Association*, 98: 1118-1126
- Gonzalez-Castro M.J., Oruna-Concha M.J., Lopez-Hernandez J., Simal-Lozano J. 1997. Effects of freezing on the organic acid content of frozen green beans and Padron peppers. *Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung*, 204: 365-368
- Gosch C., Halbwirth H., Stich K. 2010. Phloridzin: biosynthesis, distribution and physiological relevance in plants. *Phytochemistry*, 71: 838-843
- Grayer R.J., Kokubun T. 2001. Plant fungal interactions: the search for phytoalexins and other antifungal compounds from higher plants. *Phytochemistry*, 56: 253-263
- Guidi L., Degl'Innocenti E., Soldatini G.F. 2002. Assimilation of CO₂, enzyme activation and photosynthetic electron transport in bean leaves, as affected by highlight and ozone. *New Phytologist*, 156: 377-388
- Gundidza M., Gaza N. 1993. Antimicrobial activity of *Dalbergia melanoxylon* extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 40: 127-130
- Gunen Y., Misirli A., Gulcan R. 2005. Leaf phenolic content of pear cultivars resistant or susceptible to fire blight. *Scientia Horticulturae*, 105: 213-221
- Häkkinen S.H., Karenlampi S.O., Heinonen I.M., Mykkanen H.M., Torronen A.R. 1999. Content of the flavonols quercetin, myricetin, and kaempferol in 25 edible berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 2274-2279
- Hammerschmidt R. 1999. Phytoalexins: what have we learned after 60 years? *Annual Review of Phytopathology* 37: 285-306
- Harris J.R. 1996. Ascorbic acid: biochemistry and biomedical cell biology. V: Subcellular Biochemistry. Harris J. R. (eds.). New York, Plenum Press: 17-39

- Hempel J., Bohm H. 1996. Quality and quantity of prevailing flavonoid glycosides of yellow and green French beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44: 2114-2116
- Huffaker A., Kaplan F., Vaughan M.M., Dafoe N.J., Ni X., Rocca J.R., Alborn H.T., Teal P.E., Schmelz E.A. 2011. Novel acidic sesquiterpenoids constitute a dominant class of pathogen-induced phytoalexins in maize. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 156: 2082-2097
- Iglesias I., Alegre S. 2006. The effect of anti-hail nets on the fruit protection, radiation, temperature, quality and profitability of 'Mondial Gala' apples. *Journal of Applied Horticulture*, 8: 91-100
- Ivanović M., Ivanović D. 2001. Mikoze i pseudomikoze biljaka. Beograd, GND Produkt d.o.o: 555 str.
- Jackson D., Looney N., Morley-Bunker M., Thiele G. 2011. Temperate and subtropical fruit production. 3th ed. Cambridge, Cambridge university Press: 181 str.
- Jakopic J., Slatnar A., Mikulic-Petkovsek M., Veberic R., Stampar F., Bavec F., Bavec M. 2013. Effect of different production systems on chemical profiles of dwarf french bean (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Top Crop) pods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61: 2392-2399
- Jakopic J., Stampar F., Veberic R. 2009. The influence of exposure to light on the phenolic content of 'Fuji' apple. *Scientia Horticulturae*, 123: 234-239
- Jimenez-Monreal A.M., Garcia-Diz L., Martinez-Tome M., Mariscal M., Murcia M.A. 2009. Influence of cooking methods on antioxidant activity of vegetables. *Journal of Food Science*, 74: H97-H103
- Joesten M., Castellion M., Hogg J. 2007. The world of chemistry: essentials. Belmont, CA, Thomson Brooks Cole
- Kader A. 1996. Maturity, ripening and quality relationships of fruit-vegetables. *Acta Horticulturae*, 434: 249-255
- Kang H.C., Park Y.H., Go S.J. 2003. Growth inhibition of a phytopathogenic fungus *Colletotrichum* species by acetic acid. *Microbiological Research*, 158: 321-326
- Kelly J.D., Vallejo V.A. 2004. A comprehensive review of the major genes conditioning resistance to anthracnose in common bean. *Hortscience*, 39: 1196-1207
- Kogoj-Osvald M. 2008. Navadni fižol: agrotehnika, prehranska vrednost, raziskave. *Sad*, 11: 517-519
- Koutsika-Sotiriou M., Traka-Mavrona E. 2008. Snap bean. V: *Vegetables II: Fabaceae, Liliaceae, Solanaceae, and Umbelliferae*. Prohens-Tomás J., Nuez F. (eds.). 1st ed. New York, Springer Science & Business Media: 27-83

- Krupinsky J.M., Bailey K.L., McMullen M.P., Gossen B.D., Turkington T.K. 2002. Managing plant disease risk in diversified cropping systems. *Agronomy Journal*, 94: 198–209
- Kuč J. 1997. What's old and what's new in concepts of induced systemic resistance in plants, and its application. V: *Multigenic and induced systemic resistance in plants*. Tuzun S., Bent E. (eds.). New York, Springer: 9-20
- Kunz M., Sander J., Kottmeier C. 2009. Recent trends of thunderstorm and hail-storm frequency and their relation to atmospheric characteristics in southwest Germany. *International Journal of Climatology*, 29: 2283–2297
- Kuti J.O. 1992. Growth and compositional changes during the development of prickly pear fruit. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 67: 861-868
- Lapornik B. 2005. Stabilnost polifenolov med staranjem v polizdelkih iz črnega ribeza. Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 135 str.
- Lattanzio V., Cardinali A., Linsalata V. 2001. Plant phenolics: a biochemical and physiological perspective. V: *Recent Advances in Poliphenol Research*. Cheynier V., Sarni-Manchado P., Quideau S. (eds.). New Jersey, John Wiley & Sons: 1-26
- Lee S.K., Kader A.A. 2000. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biology and Technology*, 20: 207–220
- Lim T.K. 2012. *Phaseolus vulgaris*. V: *Edible Medicinal And Non-Medicinal Plants*. Lim T. K. (eds.). 1st ed. New York, Springer Netherlands: 815-848
- Lin L.Z., Harnly M.J., Pastor-Corrales M.S., Luthria D.L. 2008. The polyphenolic profiles of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry*, 107: 399-410
- Lopez-Hernandez J., Gonzales-Castro M.J., Vazquez-Blanco M.E., Vazquez-Oderiz M.L., Simal-Lozano J. 1994. HPLC determination of sugars and starch in green beans. *Journal of Food Science*, 59: 1048-1049
- Lundegardh B., Martensson A. 2003. Organically produced plant foods - evidence of health benefits. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science*, 53: 3-15
- Luning P.A., Devries R.V., Yuksel D., Ebbenhorstseller T., Wichers H.J., Roozen J.P. 1994. Combined instrumental and sensory evaluation of flavor of fresh bell peppers (*Capsicum annuum*) harvested at 3 maturation stages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42: 2855–2861
- Luthria D., Mukhopadhyay S., Krizek D. 2006. Content of total phenolics and phenolic acids in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruits as influenced by cultivar and solar UV radiation. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19: 771–777

- Maček J. 1986. Posebna fitopatologija, patologija vrtnin. Ljubljana, Univerza Edvarda Kardelja v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Vtozd za agronomijo: 233 str.
- Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémésy C., Jiménez L. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79: 727–747
- Marin A., Ferreres F., Tomas-Barberan F.A., Gil M.I. 2004. Characterization and quantitation of antioxidant constituents of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 3861–3869
- Marks S.C., Mullen W., Crozier A. 2007. Flavonoid and chlorogenic acid profiles of English cider apples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 87: 719–728
- Martinez C., Ros G., Periago M.J., Lopez G., Ortuno J., Rincon F. 1995. Physicochemical and sensory quality criteria of green beans (*Phaseolus vulgaris*, L). *LWT - Food Science and Technology*, 28: 515–520
- McCree K.J. 1986. Measuring the whole plant daily carbon balance. *Photosynthetica*, 20: 82–93
- Medić-Šarić M., Tansy I., Bradamante V. 2002. Vitamini in minerali: resnice in predsodki. Kranj, Gorenjski tisk d.d.: 342 str.
- Mierziak J., Kostyn K., Kulma A. 2014. Flavonoids as important molecules of plant interactions with the environment. *Molecules*, 19: 16240–16265
- Mikulic-Petkovsek M., Schmitzer V., Jakopic J., Cunja V., Veberic R., Munda A., Stampar F. 2014. *Colletotrichum lindemuthianum* infection causes changes in phenolic content of French green bean pods. *Scientia Horticulturae*, 170: 211–218
- Mikulic-Petkovsek M., Slatnar A., Schmitzer V., Stampar F., Veberic R., Koron D. 2013. Chemical profile of black currant fruit modified by different degree of infection with black currant leaf spot. *Scientia Horticulturae*, 150: 399–409
- Mikulic-Petkovsek M., Stampar F., Veberic R. 2007. Parameters of inner quality of the apple scab resistant and susceptible apple cultivars (*Malus domestica* Borkh). *Scientia Horticulturae*, 114: 37–44
- Mikulic-Petkovsek M., Stampar F., Veberic R. 2009. Accumulation of phenolic compounds in apple in response to infection by the scab pathogen, *Venturia inaequalis*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 74: 60–67
- MKGP. 2011. Tehnološka navodila za integrirano pridelavo zelenjave za leto 2011. Ljubljana, Ministrstvo za Kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano: 116 str.
- Mulabagal V., Ngouajio M., Nair A., Zhang Y., Gottumukkala A.L., Muraleedharan G.N. 2010. In vitro evaluation of red and green lettuce (*Lactuca sativa*) for functional food properties. *Food Chemistry*, 118: 300–306

- Munda A., Zerjav M., Sustar-Vozlic J. 2002. Identification of physiological races of *Colletotrichum lindemuthianum* occurring in Slovenia. *Acta Biologica Slovenica*, 45: 3–7
- Naqvi S.H., Dahot M.U., Rafiq M., Khan M.Y., Ibrahim I., Lashari K.H., Ali A., Korai A.L. 2011. Anti-microbial efficacy and biochemical analysis from different parts of *Acacia nilotica* L. and *Ricinus communis* L. extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5: 6299–6308
- Osvald J., Kogoj-Osvald M. 2005. Splošno vrtnarstvo in zelenjadarstvo. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 591 str.
- Oven P., Vek V., Poljamšek I. 2011. Flavonoidi lesa in drevesne skorje. *Revija za Lesno Gospodarstvo*, 63: 11-12
- Pandjaitan N., Howard L.R., Morelock T., Gil M.I. 2005. Antioxidant capacity and phenolic content of spinach as affected by genetics and maturation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 8618–8623
- Pastor-Corrales M.A. 1991. Estandarización de variedades diferenciales y de designación de razas de *Colletotrichum lindemuthianum*. *Phytopathology*, 81: 694-694
- Pawłowsky-Glahn V., Buccianti A. 2011. Compositional data analysis: theory and applications. Chichester, West Sussex, United Kingdom, John Wiley and Sons
- Pedras M.S.C., Ahiahonu P.W.K. 2005. Metabolism and detoxification of phytoalexins and analogs by phytopathogenic fungi. *Phytochemistry*, 66: 391–411
- Pedras M.S.C., Yaya E.E., Glawischniq E. 2011. The phytoalexins from cultivated and wild crucifers: chemistry and biology. *Natural Product Reports*, 28: 1381-1405
- Picinelli A., Dapena E., Mangas J.J. 1995. Polyphenolic pattern in apple tree leaves in relation to scab resistance - a preliminary study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43: 2273-2278
- Pinheiro J., Bates D. 2002. Mixed-effects models in S and S-PLUS. New York, Springer: 528 str.
- Polanco L.R., Rodrigues F.A., Nascimento K.J.T., Cruz M.F.A., Curvelo C.R.S., DaMatta F.M., Vale F.X.R. 2014. Photosynthetic gas exchange and antioxidative system in common bean plants infected by and supplied with silicon. *Tropical Plant Pathology*, 39: 35-42
- Požar J. 2003. Hranoslovje – zdrava prehrana. Maribor, Obzorja: 190 str.
- Quintana-Rodriguez E., Morales-Vargas A.T., Adame Alvares R.M., Heil M., Molina-Torres J., Acosta-Gallegos J.A. 2015. Plant volatiles cause direct, induced and associational resistance in common bean to the fungal pathogen. *Journal of Ecology*, 103: 250-260

- R Core Team. 2013. A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria.
<http://www.r-project.org/> (03. dec. 2012)
- Rajapakse N.C., Kelly J. W. 1995. Spectral filters and growing season influence growth and carbohydrate status of *Chrysanthemum*. *Journal of the American Society of Horticultural Science*, 120: 78–83
- Reis Giada M.L. 2013. Food phenolic compounds: Main classes, sources and their antioxidant power. V: *Oxidative stress and chronic degenerative diseases - A role for antioxidants*. Morales-González J. A. (eds.). Rijeka, Croatia, Intech: 87-112
- Rekika D., Khanizadeh S., Deschenes M., Levasseur A., Charles M.T., Tsao R., Yang R. 2005. Antioxidant capacity and phenolic content of selected strawberry genotypes. *Hortscience*, 40: 1777-1781
- Ribeiro R., Santos M., Souza G., Machado E., Oliveira R., Angelocci L., Pimentel C. 2004. Environmental effects on photosynthesis capacity of bean genotypes. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 39: 615–623
- Robards K., Prenzler P.D., Tucker G., Swatsitang P., Glover W. 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, 66: 401–436
- Rodrigues F.A., Polanco L.R., Resende R.S., do Vale F.X.R., Duarte H.S.S. 2015. Photosynthetic gas exchange in common bean submitted to foliar sprays of potassium silicate, sodium molybdate and fungicide and infected with *Colletotrichum lindemuthianum*. *Journal of Phytopathology*, in press
- Rodriguez-Guerra R., Ramirez-Rueda M.T., Martinez De La Vega O., Simpson J. 2003. Variation in genotype, pathotype and anastomosis groups of *Colletotrichum lindemuthianum* isolates from Mexico. *Plant Pathology*, 52: 228-235
- Roemmelt S., Zimmermann N., Rademacher W., Treutter D. 2003. Formation of novel flavonoids in apple (*Malus x domestica*) treated with the 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase inhibitor prohexadione-Ca. *Phytochemistry*, 64: 709-716
- Rusjan D., Halbwirth H., Stich K., Mikulic-Petkovsek M., Veberic R. 2012. Biochemical response of grapevine variety 'Chardonnay' (*Vitis vinifera* L.) to infection with grapevine yellows (Bois noir). *European Journal of Plant Pathology*, 134: 231–237
- Russell W.R., Labat A., Scobbie L., Duncan G.J., Duthie G.G. 2009. Phenolic acid content of fruits commonly consumed and locally produced in Scotland. *Food Chemistry*, 115: 100-104
- Sanchez-Mata M.C., Camara-Hurtado M., Dies-Marques C. 2002. Identification and quantification of soluble sugars in green beans by HPLC. *European Food Research and Technology*, 214: 254-258

- Sanchez-Mata M.C., Camara-Hurtado M., Diez-Marques C., Torija-Isasa M.E. 2000. Comparison of high-performance liquid chromatography and spectrofluorimetry for vitamin C analysis of green beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *European Food Research and Technology*, 210: 220-225
- Saunders J., O'Neill N. 2004. The characterization of defense responses to fungal infection in alfalfa. *Journal of the International Organization for Biological Control*, 49: 715-728
- Schlosser E. 1994. Preformed phenols as resistance factors. *Acta Horticulturae*, 381: 615-630
- Schmelz E.A., Kaplan F., Huffaker A., Dafoe N.J., Vaughan M.M., Ni X., Rocca J.R., Alborn H.T., Teal P.E. 2011. Identity, regulation, and activity of inducible diterpenoid phytoalexins in maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108: 5455-5460
- Scott P. 2008. *Physiology and behaviour of plants*. West Sussex, John Wiley & Sons Ltd: 305 str.
- Semenarna Ljubljana. 2010. *Katalog za profesionalne pridelovalce vrtnin in cvetlic*. Ljubljana, Semenarna Ljubljana, d.d.: 52 str.
- Semenarna Ljubljana. 2013. Ljubljana, Semenarna Ljubljana.
<http://www.semenarna.si/podrobnosti-artikla-strocnice/category/nizek-fizol/article/fizol-top-crop-phaseolus-vulgaris> (01. okt. 2013)
- Semenarna Ljubljana. 2014. Ljubljana, Semenarna Ljubljana.
<http://www.semenarna.si/podrobnosti-artikla-strocnice/category/nizek-fizol/article/fizol-berggold-phaseolus-vulgaris-l> (16. nov. 2014)
- Shahak Y. 2008. Photo-selective netting for improved performance of horticultural crops. A review of ornamental and vegetable studies carried out in Israel. *Acta Horticulturae*, 770: 161-168
- Shinbo Y., Nakamura Y., Altaf-UI-Amin M., Asahi H., Kurokawa K., Arita M., Saito K., Ohta D., Shibata D., Kanaya S. 2006. KNApSAcK: A comprehensive species-metabolite relationship database. V: *Plant Metabolomics*. Saito K., Dixon R.A., Willmitzer L. (eds.). Berlin, Springer: 165-181
- Singleton V., Rossi J. 1965. Colorimetry of total phenolics with hosphomolybdic-posphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 13: 144-158
- Slatnar A., Mikulic-Petkovsek M., Halbwirth H., Stampar F., Stich K., Veberic R. 2010. Enzyme activity of the phenylpropanoid pathway as a response to apple scab infection. *Annals of Applied Biology*, 156: 449-456
- Smith I.M., Dunez J., Phillips D.H., Lelliott R.A., Archer S.A. 1988. *European handbook of plant diseases*. Oxford, Blackwell scientific publications: 583 str.

- Sousa C., Pereira D., Taveira M., Dopico-Garcia S., Valentao P., Pereira J., Bento A., Andrade P. 2009. *Brassica oleracea* var. *costata*: comparative study on organic acids and biomass production with other cabbage varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89: 1083–1089
- Stampar F., Veberic R., Zadavec P., Hudina M., Usenik V., Solar A., Osterc G. 2002. Yield and fruit quality of apples cv. 'Jonagold' under hail protection nets. *Gartenbauwissenschaft*, 67: 205–210
- Stamps R.H. 2009. Use of colored shade netting in horticulture. *Hortscience*, 44: 239–241
- StatPointTechnologies. 2013. Program za statistično obdelavo podatkov Statgraphics Centurion XVI.
<http://www.statgraphics.com/downloads.htm> (10. okt. 2013)
- Stefek M. 2011. Natural flavonoids as potential multifunctional agents in prevention of diabetic cataract. *Interdisciplinary Toxicology*, 4: 69-77
- Sturm K., Stampar F. 1999. Seasonal variation of sugars and organic acids in apple (*Malus domestica* Borkh.) in different growing systems. *Phyton-Annales Rei Botanicae*, 39: 91–96
- Sung S.S., Sheih W.J., Geiger D.R., Black C.C. 1994. Growth, sucrose synthase and invertase activities of developing *Phaseolus vulgaris* L. fruits. *Plant Cell and Environment*, 17: 419–426
- SURS. 2014. Statistični Urad Republike Slovenije. Ljubljana, SURS.
<http://pxweb.stat.si/pxweb/Dialog/Saveshow.asp> (16. avg. 2014)
- Štampar F., Lešnik M., Veberič R., Solar A., Koron D., Usenik V., Hudina M., Osterc G. 2009. Sadjarstvo. 2. izd. Ljubljana, Kmečki glas: 416 str.
- Taiz L., Zeiger E. 2010. *Plant physiology*. 5th ed. Sunderland, Sinauer Associates: 782 str.
- Tomas-Barberan F.A., Garcíagrau M.M., Tomaslorente F. 1991. Flavonoid concentration changes in maturing broad bean pods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39: 255–258
- Treutter D., Feucht W. 1990. Accumulation of flavan-3-ols in fungus infected leaves of *Rosaceae*. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 97: 634–641
- Tu J.C. 1992. *Colletotrichum lindemuthianum* on bean: population dynamics of the pathogen and breeding for resistance. V: *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*. Bailey J. A., Jeger M. J. (eds.). Wallingford, CAB International: 203–224
- VandenLangenberg K.M., Bethke P.C., Nienhuis J. 2012. Patterns of fructose, glucose and sucrose accumulation in snap and dry bean (*Phaseolus vulgaris*) pods. *Hortscience*, 47: 874-878

- Vazquez-Oderiz M., Vazquez-Blanco M., Lopez-Hernandez J., Simal-Lozano J., Romero-Rodriguez M. 1994. Simultaneous determination of organic acids and vitamin C in green beans by liquid chromatography. *Journal of AOAC International*, 77: 1056–1059
- Veitch N.C. 2013. Isoflavonoids of the Leguminosae. *Natural Product Reports*, 30: 988–1027
- Vermerris W., Nicholson R. 2007. *Phenolic compound biochemistry*. Dordrecht, Springer: 276 str.
- Villanueva M.J., Tenorio M.D., Esteban M.A., Mendoza M.C. 2004. Compositional changes during ripening of two cultivars of muskmelon fruits. *Food Chemistry*, 87: 179–185
- Vinson J.A., Hao Y., Su. X., Zubik L. 1998. Phenol Antioxidant Quantity and Quality in Foods: Vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 3630–3634
- Wang S.Y., Galletta S.J. 1996. Compositional change in *Colletotrichum* (anthracnose) infected strawberry fruit. *Acta Horticulturae*, 439: 135–139
- Zhou Y.H., Zhang Y.Y., Zhao X., Yu H.J., Shi K., Yu J.Q. 2009. Impact of light variation on development of photoprotection, antioxidants, and nutritional value in *Lactuca sativa* L. J. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57: 5494–5500

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorici izr. prof. dr. Nini Kacjan Maršič za spodbudo, strokovno vodstvo in vso pomoč med podiplomskim študijem ter pri nastajanju doktorske disertacije.

Zahvala predsedniku komisije za oceno in zagovor prof. dr. Franciju Štamparju in članoma komisije prof. dr. Mariu Lešniku ter prof. dr. Robertu Veberiču za pregled in komentarje doktorske disertacije.

Hvala tudi doc. dr. Maji Mikulič Petkovšek za vso pomoč pri analizi in določitvi primarnih in sekundarnih metabolitov v vzorcih fižola.

Zahvaljujem se tudi dr. Alenki Munda za pripravo suspenzije glive *Colletotrichum lindemuthianum* za umetno okuževanje.

Hvala Jernej za ljubečo podporo, razumevanje, vztrajno spodbujanje in pomoč pri izvedbi praktičnega dela poskusa in pri računalniškem oblikovanju naloge. Pia tudi tebi se lahko zahvalim, saj sem zaradi tebe dobila dodatno motivacijo, da dokončam študij.

Hvala staršem, ki so mi privzgojili delovne navade, s katerimi sem dosegla ta cilj in bratu Klemenu, ki mi je pomagal pri izvedbi praktičnega dela poskusa.

Hvala vsem, ki ste pazili na malo Pio, jaz pa sem se medtem lahko posvetila študiju.

Zahvala tudi Evropskemu socialnemu skladu in Ministrstvu za visoko šolstvo, znanost in tehnologijo Republike Slovenije, ki sta s projektom Inovativna shema za sofinanciranje doktorskega študija za spodbujanje sodelovanja z gospodarstvom in reševanja aktualnih družbenih izzivov-generacija 2010, št. 458-531, financirala moj študij.

Zahvaljujem se tudi za vključenost v program Hortikultura številka P4-0013-0481, številka projekta J4-4187, ki je financiran s strani Javne agencije za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije.

Hvala tudi vsem, ki jih nisem poimensko omenila, ste mi pa kakorkoli pomagali med podiplomskim študijem ali pri nastajanju doktorske disertacije.

PRILOGA A

Statistične analize odvisnih spremenljivk vsebnost posamičnih fenolov v strokih nizkega fižola glede na okužbo z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* in kultivar nizkega fižola

Priloga A: Stopnje statistične značilnosti, povprečne vsebnosti fenolnih spojin ($\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ svežih strokov nizkega fižola) in pripadajoče standardne napake glede na okuženost (O) strokov nizkega fižola z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* (neokuženo (NEOK), zdravo tkivo okuženega stroka (ZTOK) ter okuženo tkivo (OK)) in kultivar nizkega fižola (K) ('Re dei burri' ('R') in 'Top crop' ('T')).

Annex A: Levels of statistical significance, average fenolic content ($\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ of fresh dwarf French beans) and associated standard errors according to *Colletotrichum lindemuthianum* dwarf French bean pods contamination (O) (healthy (NEOK), healthy tissue on infected bean pod (ZTOK) and infected tissue (OK)) and dwarf French bean cultivar (K) ('Re dei burri' ('R') in 'Top crop' ('T')).

| Fenolna spojina | Stopnja statistične značilnosti | | | K | | O | | | K×O | | | | | |
|--|---------------------------------|-----|-----|-------------------|-------------------|------------------|----------------------|-------------------|---------------|------------------|-------------------|----------------|-------------------|------------------|
| | K | O | K×O | 'R' | 'T' | NEOK | ZTOS | OK | 'R'NEOK | 'R'ZTOS | 'R'OK | 'T'NEOK | 'T'ZTOS | 'T'OK |
| Vanilna kislina - heksoza | *** | ** | * | 211,5 (42,3) b | 58,2 (3,6) a | 91,9 (12,6) a | 98,9 (14,1) a | 213,6 (69,0) b | 127,4 (6,9) a | 140,7 (3,8) a | 366,4 (98,4) b | 56,5 (5,8) a | 57,2 (3,5) a | 60,9 (9,5) a |
| Vanilna kislina - pentozil heksoza | *** | ** | ** | 0 (0,0) a | 127,9 (22,5) b | 51,8 (21,0) a | 106,4 (40,5) b | 33,6 (12,2) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 103,6 (25,4) b | 212,9 (41,2) c | 67,2 (10,5) b |
| <i>p</i> -kumaroil aldarična kislina 1 | NS | ** | NS | 88,0 (19,3) | 82,3 (7,5) | 58,2 (5,8) a | 67,5 (4,8) a | 129,7 (24,6) b | 44,5 (2,2) | 60,5 (6,6) | 158,9 (43,9) | 71,8 (7,3) | 74,5 (6,0) | 100,6 (19,4) |
| <i>p</i> -kumaroil aldarična kislina 2 | ** | *** | NS | 62,9 (9,6) b | 44,6 (8,4) a | 68,1 (4,7) b | 81,3 (7,8) b | 11,9 (4,7) a | 75,6 (6,2) | 92,3 (13,0) | 20,8 (7,7) | 60,6 (5,7) | 70,3 (6,8) | 3,0 (0,3) |

se nadaljuje

nadaljevanje priloge A. Stopnje statistične značilnosti, povprečne vsebnosti fenolnih spojin ($\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ svežih strokov nizkega fižola) in pripadajoče standardne napake glede na okuženost (O) strokov nizkega fižola z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* (neokuženo (NEOK), zdravo tkivo okuženega stroka (ZTOK) ter okuženo tkivo (OK)) in kultivar nizkega fižola (K) ('Re dei burri' ('R') in 'Top crop' ('T')).

| Fenolna spojina | Stopnja statistične značilnosti | | | K | | O | | | K×O | | | | | |
|--|---------------------------------|-----|-----|-------------------|-------------------|-------------------|----------------------|-----------------------|----------------|--------------------|-----------------------|----------------|-------------------|-----------------------|
| | K | O | K×O | 'R' | 'T' | NEOK | ZTOS | OK | 'R'NEOK | 'R'ZTOS | 'R'OK | 'T'NEOK | 'T'ZTOS | 'T'OK |
| <i>p</i> -kumaroil aldarična kislina 3 | *** | *** | *** | 167,3 (20,9) a | 411,7 (87,6) b | 189,4 (10,0) a | 218,8 (15,6) a | 460,2 (136,6) b | 188,1 (11,9) a | 231,4 (27,0) a | 82,3 (27,4) a | 190,7 (17,7) a | 206,1 (16,8) a | 838,2 (108,5) b |
| <i>p</i> -kumaroil aldarična kislina 4 | *** | NS | NS | 128,7 (13,8) a | 305,6 (20,1) b | 190,4 (24,0) | 229,0 (33,1) | 232,1 (46,9) | 128,6 (12,2) | 146,6 (16,6) | 110,9 (37,8) | 252,2 (23,0) | 311,4 (35,7) | 353,3 (33,7) |
| <i>p</i> -kumaroil aldarična kislina 5 | * | *** | NS | 41,4 (6,6) b | 32,0 (6,9) a | 38,4 (1,9) b | 64,3 (5,0) c | 7,4 (3,3) a | 41,4 (3,2) | 68,1 (8,2) | 14,8 (4,7) | 35,5 (0,9) | 60,4 (6,3) | 0 (0,0) |
| <i>p</i> -kumaroil aldarična kislina 6 | NS | * | ** | 108,6 (17,5) | 85,1 (17,2) | 84,7 (5,4) a | 135,7 (12,2) b | 70,1 (31,8) a | 76,3 (8,4) b | 116,2 (13,4) bc | 133,4 (50,4) bc | 93,2 (4,8) bc | 155,2 (17,3) c | 6,8 (0,5) a |
| Kavna kislina - heksoza | *** | *** | *** | 22,4 (4,5) b | 2,3 (0,5) a | 17,2 (4,7) b | 19,8 (5,7) b | 0 (0,0) a | 31,1 (1,7) b | 36,1 (3,8) b | 0 (0,0) a | 3,3 (0,2) a | 3,4 (0,5) a | 0 (0,0) a |
| Feruloil aldarična kislina | *** | *** | *** | 0 (0,0) a | 43,3 (16,8) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 65,0 (22,5) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 130,0 (12,5) b |
| Feruloil aldarična kislina 1 | *** | *** | *** | 137,5 (22,1) b | 47,8 (10,2) a | 127,5 (18,1) b | 135,7 (25,9) b | 14,7 (6,8) a | 177,4 (9,6) c | 205,6 (21,9) c | 29,5 (10,0) a | 77,5 (11,9) b | 65,8 (9,2) b | 0 (0,0) a |

se nadaljuje

nadaljevanje priloge A. Stopnje statistične značilnosti, povprečne vsebnosti fenolnih spojin ($\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ svežih strokov nizkega fižola) in pripadajoče standardne napake glede na okuženost (O) strokov nizkega fižola z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* (neokuženo (NEOK), zdravo tkivo okuženega stroka (ZTOK) ter okuženo tkivo (OK)) in kultivar nizkega fižola (K) ('Re dei burri' ('R') in 'Top crop' ('T')).

| Fenolna spojina | Stopnja statistične značilnosti | | | K | | O | | | K×O | | | | | |
|--------------------------------|---------------------------------|-----|-----|-------------------|-------------------|-------------------|----------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-----------------------|----------------|--------------------|-------------------|
| | K | O | K×O | 'R' | 'T' | NEOK | ZTOS | OK | 'R'NEOK | 'R'ZTOS | 'R'OK | 'T'NEOK | 'T'ZTOS | 'T'OK |
| Feruloil aldarična kislina 2 | * | NS | *** | 126,5 (17,6) b | 80,5 (16,3) a | 110,4 (6,5) | 119,3 (10,3) | 80,9 (35,7) | 101,8 (9,7) b | 116,0 (13,2) b | 161,8 (49,8) b | 119,1 (7,7) b | 122,6 (17,3) b | 0 (0,0) a |
| Feruloil aldarična kislina 3 | *** | NS | * | 202,6 (29,9) b | 64,7 (16,7) a | 127,4 (15,2) | 140,0 (21,2) | 133,5 (60,3) | 164,5 (11,3) bc | 176,2 (16,1) bc | 267,0 (86,3) c | 90,3 (14,8) ab | 103,8 (33,3) ab | 0 (0,0) a |
| Feruloil aldarična kislina 4 | * | *** | NS | 187,0 (40,9) b | 152,8 (34,3) a | 177,9 (10,6) b | 331,8 (22,5) c | 0 (0,0) a | 198,6 (13,5) | 362,4 (30,1) | 0 (0,0) | 157,1 (10,5) | 301,2 (30,1) | 0 (0,0) |
| Sinapoil ramnozid 1 | * | NS | *** | 42,4 (18,9) a | 93,6 (23,1) b | 55,9 (19,7) | 87,3 (33,5) | 60,7 (26,9) | 2,2 (0,3) a | 3,4 (0,4) a | 121,4 (37,6) b | 109,6 (17,5) b | 171,3 (38,9) b | 0 (0,0) a |
| Sinapoil ramnozid 2 | ** | * | *** | 157,9 (49,2) b | 40,6 (11,0) a | 37,3 (2,7) a | 86,2 (10,8) ab | 174,2 (76,6) b | 38,2 (2,2) a | 86,9 (14,2) a | 348,5 (106,1) b | 36,3 (5,3) a | 85,5 (18,1) a | 0 (0,0) a |
| Sinapična kislina - ramnozid 1 | *** | *** | *** | 0 (0,0) a | 58,3 (23,4) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 87,5 (31,5) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 175,0 (25,3) b |
| Sinapična kislina - ramnozid 2 | *** | *** | *** | 0 (0,0)a | 134,6 (54,0) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 201,8 (72,7) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 403,7 (58,4) b |

se nadaljuje

Logar M. Vsebnost ... metabolitov v strokih ... fižola ... okuženih z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* ... Cavara.

Dokt. disertacija. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, 2015

nadaljevanje priloge A. Stopnje statistične značilnosti, povprečne vsebnosti fenolnih spojin ($\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ svežih strokov nizkega fižola) in pripadajoče standardne napake glede na okuženost (O) strokov nizkega fižola z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* (neokuženo (NEOK), zdravo tkivo okuženega stroka (ZTOK) ter okuženo tkivo (OK)) in kultivar nizkega fižola (K) ('Re dei burri' ('R') in 'Top crop' ('T')).

| Fenolna spojina | Stopnja statistične značilnosti | | | K | | O | | | K×O | | | | | |
|--|---------------------------------|-----------|-----------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------|---------------------------|---------------------------|
| | K | O | K×O | 'R' | 'T' | NEOK | ZTOS | OK | 'R'NEOK | 'R'ZTOS | 'R'OK | 'T'NEOK | 'T'ZTOS | 'T'OK |
| Klorogenska kislina | *** | *** | *** | 18,2 (3,6) b | 0 (0,0) a | 13,2 (4,5) b | 14,1 (4,9) b | 0 (0,0) a | 26,3 (1,8) b | 28,2 (2,6) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a |
| Derivati hidroskimetnih kislin (skupaj) | NS | NS | NS | 1702,7 (181,7) | 1865,8 (119,5) | 1439,6 (52,8) | 1936,1 (120,3) | 1977,1 (274,6) | 1422,0 (82,3) | 1870,6 (180,4) | 1815,4 (526,5) | 1457,2 (74,9) | 2001,6 (174,5) | 2138,7 (221,3) |
| Floretin heksoza | NS | *** | * | 29,1 (14,2) | 9,7 (3,8) | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 58,1 (16,9) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 87,3 (29,1) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 29,0 (3,7) a |
| Floretin diheksoza | *** | *** | *** | 0 (0,0) a | 96,0 (37,0) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 144,0 (49,3) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 287,9 (24,0) b |
| Floretin pentozil heksoza | *** | *** | *** | 0 (0,0) a | 14,0 (5,8) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 21,0 (7,8) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 41,9 (7,4) b |
| Floretin-C-diglikozid | ** | ** | ** | 3,1 (1,5) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 4,6 (2,1) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 9,2 (3,0) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a |
| Floridzin-C-diglikozid 1 | *** | *** | *** | 62,1 (13,8) b | 23,0 (4,4) a | 43,9 (9,1) b | 80,7 (14,2) c | 3,1 (1,1) a | 68,8 (7,4) c | 117,4 (14,6) d | 0 (0,0) a | 18,9 (2,2) a | 43,9 (4,1) b | 6,2 (0,5) a |

se nadaljuje

nadaljevanje priloge A. Stopnje statistične značilnosti, povprečne vsebnosti fenolnih spojin ($\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ svežih strokov nizkega fižola) in pripadajoče standardne napake glede na okuženost (O) strokov nizkega fižola z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* (neokuženo (NEOK), zdravo tkivo okuženega stroka (ZTOK) ter okuženo tkivo (OK)) in kultivar nizkega fižola (K) ('Re dei burri' ('R') in 'Top crop' ('T')).

| Fenolna spojina | Stopnja statistične značilnosti | | | K | | O | | | K×O | | | | | |
|-------------------------------|---------------------------------|-----|-----|-------------------------|-------------------------|---------------------------|-------------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|-----------------------|----------------------------|---------------------------|
| | K | O | K×O | 'R' | 'T' | NEOK | ZTOS | OK | 'R'NEOK | 'R'ZTOS | 'R'OK | 'T'NEOK | 'T'ZTOS | 'T'OK |
| Floridzin-C-diglikozid 2 | *** | *** | *** | 14,4 (3,5) b | 0 (0,0) a | 7,3 (2,6) b | 14,3 (5,3) c | 0 (0,0) a | 14,6 (2,0) b | 28,6 (4,6) c | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a |
| Floridzin acetil diheksosa | *** | *** | *** | 31,5 (12,3) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 47,2 (16,5) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 94,4 (10,8) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a |
| Floretin pentozil heksozid | *** | *** | *** | 0 (0,0) a | 21,8 (8,5) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 32,7 (11,3) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 65,3 (6,6) b |
| Floretin acetil heksosa | *** | *** | *** | 0 (0,0) a | 33,0 (12,7) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 49,5 (16,9) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 99,0 (7,8) b |
| Floretin-C-diglikozid | NS | NS | NS | 158,4 (24,5) | 124,2 (11,8) | 122,4 (13,1) | 162,8 (22,9) | 138,8 (32,1) | 111,2 (10,4) | 183,7 (40,7) | 180,4 (60,7) | 133,5 (24,4) | 141,9 (22,1) | 97,2 (9,6) |
| Dihidroalkoni (skupaj) | NS | *** | ** | 298,5 (39,3) | 321,7 (59,9) | 173,5 (15,8) a | 257,9 (38,5) a | 498,9 (63,0) b | 194,6 (17,7) ab | 329,8 (59,0) bc | 371,2 (90,5) c | 152,5 (24,3) a | 185,9 (24,3) ab | 626,6 (38,6) d |
| Kempferol diheksosa | * | *** | * | 578,9 (282,8) b | 144,6 (58,7) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 1085,4 (350,1) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 1736,8 (580,5) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 433,9 (69,5) a |

se nadaljuje

Logar M. Vsebnost ... metabolitov v strokih ... fižola ... okuženih z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* ... Cavara.

Dokt. disertacija. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, 2015

nadaljevanje priloge A. Stopnje statistične značilnosti, povprečne vsebnosti fenolnih spojin ($\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ svežih strokov nizkega fižola) in pripadajoče standardne napake glede na okuženost (O) strokov nizkega fižola z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* (neokuženo (NEOK), zdravo tkivo okuženega stroka (ZTOK) ter okuženo tkivo (OK)) in kultivar nizkega fižola (K) ('Re dei burri' ('R') in 'Top crop' ('T')).

| Fenolna spojina | Stopnja statistične značilnosti | | | K | | O | | | K×O | | | | | |
|------------------------------|---------------------------------|-----|-----|-------------------|------------------|-------------------|----------------------|------------------------|---------------|-------------------|--------------------|----------------|-------------------|----------------------|
| | K | O | K×O | 'R' | 'T' | NEOK | ZTOS | OK | 'R'NEOK | 'R'ZTOS | 'R'OK | 'T'NEOK | 'T'ZTOS | 'T'OK |
| Dihidro Kempferol heksoza | NS | *** | NS | 1216,6 (591,5) | 818,5 (315,6) | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 3052,8 (609,6) b | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 3649,9 (1205,5) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 2455,6 (202,4) |
| Dihidro Kempferol diheksoza | NS | *** | NS | 770,3 (364,6) | 529,9 (204,4) | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 1950,3 (361,6) b | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 2311,0 (711,2) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 1589,6 (132,2) |
| Kempferol heksozil rutinozid | NS | * | *** | 14,3 (6,5) | 10,4 (2,2) | 6,9 (2,4) | 8,7 (3,1) a | 21,4 (9,0) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 42,8 (11,7) c | 13,8 (1,4) ab | 17,5 (2,1) b | 0 (0,0) a |
| Kempferol ksilozil rutinozid | *** | *** | *** | 0 (0,0) a | 8,2 (1,8) b | 4,6 (1,6) b | 7,7 (2,7) c | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 9,2 (0,8) b | 15,4 (1,4) c | 0 (0,0) a |
| Kempferol-3-O-rutinozid | NS | ** | NS | 170,9 (13,7) | 156,3 (9,1) | 129,9 (8,7) a | 164,1 (11,7) b | 196,9 (13,6) c | 118,5 (13,0) | 185,7 (15,2) | 208,5 (21,8) | 141,3 (10,5) | 142,4 (12,4) | 185,3 (17,0) |
| Kempferol-3-O-glukozid | NS | * | *** | 57,4 (15,1) | 82,3 (3,4) | 79,1 (16,7) ab | 88,1 (19,1) b | 42,5 (15,1)a | 48,6 (9,3) ab | 123,7 (19,4) c | 0 (0,0) a | 109,6 (26,7) c | 52,4 (25,0) ab | 85,0 (11,4) bc |
| Kempferol ramnozil heksoza | *** | *** | *** | 16,3 (3,5) b | 0 (0,0) a | 10,2 (3,4) b | 14,3 (5,1) c | 0 (0,0) a | 20,3 (1,1) b | 28,6 (3,9) c | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a |

se nadaljuje

Logar M. Vsebnost ... metabolitov v strokih ... fižola ... okuženih z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* ... Cavara.

Dokt. disertacija. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, 2015

nadaljevanje priloge A. Stopnje statistične značilnosti, povprečne vsebnosti fenolnih spojin ($\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ svežih strokov nizkega fižola) in pripadajoče standardne napake glede na okuženost (O) strokov nizkega fižola z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* (neokuženo (NEOK), zdravo tkivo okuženega stroka (ZTOK) ter okuženo tkivo (OK)) in kultivar nizkega fižola (K) ('Re dei burri' ('R') in 'Top crop' ('T')).

| Fenolna spojina | Stopnja statistične značilnosti | | | K | | O | | | K×O | | | | | |
|--------------------------------------|---------------------------------|-----|-----|------------------|------------------|-----------------|------------------|-------------------|----------------|--------------------|-------------------|---------------------|-------------------|-------------------|
| | K | O | K×O | 'R' | 'T' | NEOK | ZTOS | OK | 'R'NEOK | 'R'ZTOS | 'R'OK | 'T'NEOK | 'T'ZTOS | 'T'OK |
| Kempferol pentozid heksozid ramnozid | *** | *** | *** | 17,5 (3,8) b | 0 (0,0) a | 11,5 (3,9) b | 14,8 (5,6) b | 0 (0,0) a | 22,9 (1,3) b | 29,6 (5,7) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a |
| Kempferol-3-O-acetil heksoza | ** | *** | *** | 65,4 (26,7) b | 29,6 (11,5) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 142,5 (24,0) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 196,3 (32,8) c | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 88,7 (8,2) b |
| Kempferol acetil heksozid heksozid | *** | *** | *** | 0 (0,0) a | 11,9 (4,6) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 17,8 (6,2) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 35,6 (3,6) b |
| Kempferol-3-O-heksozid | *** | *** | *** | 0 (0,0) a | 4,6 (1,8) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 6,9 (2,4) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 13,9 (1,3) b |
| Kvercetin-3-O-glukozid | NS | NS | ** | 470,5 (103,0) | 358,3 (56,3) | 396,2 (70,9) | 530,4 (156,0) | 316,6 (35,1) | 303,2 (48,8) a | 834,2 (238,8) b | 274,2 (47,5) a | 489,3 (126,1) ab | 226,6 (79,5) a | 359,0 (49,0) a |
| Kvercetin-3-O-rutinozid | NS | NS | NS | 707,8 (102,9) | 582,6 (56,4) | 586,5 (61,3) | 783,1 (112,2) | 566,0 (117,8) | 541,9 (50,8) | 895,3 (198,5) | 686,1 (230,9) | 631,0 (115,5) | 670,8 (104,5) | 446,0 (44,0) |
| Dihidro Kempferol 1 heksoza | NS | *** | NS | 66,4 (28,3) | 69,0 (26,4) | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 203,0 (21,1) b | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 199,1 (42,2) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 206,9 (14,5) |

se nadaljuje

nadaljevanje priloge A. Stopnje statistične značilnosti, povprečne vsebnosti fenolnih spojin ($\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ svežih strokov nizkega fižola) in pripadajoče standardne napake glede na okuženost (O) strokov nizkega fižola z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* (neokuženo (NEOK), zdravo tkivo okuženega stroka (ZTOK) ter okuženo tkivo (OK)) in kultivar nizkega fižola (K) ('Re dei burri' ('R') in 'Top crop' ('T')).

| Fenolna spojina | Stopnja statistične značilnosti | | | K | | O | | | K×O | | | | | |
|---------------------------|---------------------------------|------------|-----------|----------------------------|---------------------------|-----------------------------|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | K | O | K×O | 'R' | 'T' | NEOK | ZTOS | OK | 'R'NEOK | 'R'ZTOS | 'R'OK | 'T'NEOK | 'T'ZTOS | 'T'OK |
| Laricitrin | *** | *** | *** | 58,8 (24,1) b | 17,0 (6,9) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 113,8 (25,5) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 176,5 (30,0) c | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 51,1 (7,6) b |
| Makiaian acetil heksoza | * | *** | * | 26,3 (10,4) b | 18,0 (7,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 66,5 (6,8) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 79,0 (10,1) c | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 53,9 (5,1) b |
| Makiaian heksoza | NS | *** | NS | 11,9 (4,9) | 13,9 (5,6) | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 38,7 (4,3) b | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 35,7 (6,2) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 41,6 (6,4) |
| Izoramnetin-3-O-rutinozid | ** | *** | ** | 5,6 (1,8) b | 1,2 (0,3) a | 3,4 (0,6) b | 6,7 (2,5) c | 0 (0,0) a | 4,5 (0,7) a | 12,3 (3,5) b | 0 (0,0) a | 2,4 (0,6) a | 1,1 (0,4) a | 0 (0,0) a |
| Flavonoli (skupaj) | NS | *** | NS | 4255,0 (1322,8) | 2856,3 (623,8) | 1228,3 (140,0) a | 1617,9 (284,5) a | 7820,9 (1416,4) b | 1060,0 (120,2) | 2109,4 (481,7) | 9595,8 (2717,1) | 1396,5 (275,1) | 1126,3 (135,2) | 6046,0 (411,7) |
| Katehin | *** | ** | ** | 0 (0,0) a | 630,5 (162,6) b | 440,1 (161,6) b | 505,7 (227,7) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 880,1 (144,0) b | 1011,5 (324,8) b | 0 (0,0) a |
| Procianidin dimer I | *** | *** | *** | 0 (0,0) a | 783,4 (176,0) b | 387,8 (130,8) b | 787,4 (268,1) c | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 775,6 (42,2) b | 1574,7 (116,6) c | 0 (0,0) a |

se nadaljuje

nadaljevanje priloge A. Stopnje statistične značilnosti, povprečne vsebnosti fenolnih spojin ($\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ svežih strokov nizkega fižola) in pripadajoče standardne napake glede na okuženost (O) strokov nizkega fižola z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* (neokuženo (NEOK), zdravo tkivo okuženega stroka (ZTOK) ter okuženo tkivo (OK)) in kultivar nizkega fižola (K) ('Re dei burri' ('R') in 'Top crop' ('T')).

| Fenolna spojina | Stopnja statistične značilnosti | | | K | | O | | | K×O | | | | | |
|---------------------------|---------------------------------|------------|------------|------------------------|-----------------------------|-----------------------------|---------------------------------|------------------------|------------------|------------------|-------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------|
| | K | O | K×O | 'R' | 'T' | NEOK | ZTOS | OK | 'R'NEOK | 'R'ZTOS | 'R'OK | 'T'NEOK | 'T'ZTOS | 'T'OK |
| Procianidin trimer | *** | *** | *** | 0 (0,0) a | 632,8 (146,5) b | 354,3 (119,2) b | 594,8 (222,1) c | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 708,7 (33,6) b | 1189,7 (212,3) c | 0 (0,0) a |
| Procianidin dimer 2 | *** | *** | *** | 0 (0,0) a | 3,9 (0,9) b | 2,8 (1,0) b | 3,1 (1,2) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 5,6 (0,4) b | 6,1 (1,5) b | 0 (0,0) a |
| Flavanoli (skupaj) | *** | *** | *** | 0 (0,0) a | 2050,7 (440,0) b | 1185,0 (403,7) b | 1891,0 (660,5) c | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 2370,0 (176,5) b | 3782,0 (418,7) c | 0 (0,0) a |
| Naringenin diheksosa | *** | *** | *** | 0 (0,0) a | 536,5 (207,8) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 804,8 (277,0) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 1609,6 (146,4) b |
| Naringenin heksoza | ** | *** | *** | 63,5 (30,1) a | 146,1 (56,2) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 314,4 (52,1) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 190,5 (58,6) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 438,3 (33,5) c |
| Naringenin heksoza 1 | * | ** | ** | 1126,0 (575,0) b | 71,4 (27,7) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 1796,1 (791,9) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 3377,9 (1253,1) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 214,2 (20,6) a |
| Naringenin heksoza 2 | *** | *** | *** | 0 (0,0) a | 1271,8 (393,2) b | 105,2 (35,6) a | 200,1 (70,3) a | 1602,5 (577,2) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 210,3 (12,7) a | 400,1 (47,0) a | 3205,0 (464,0) b |

se nadaljuje

nadaljevanje priloge A. Stopnje statistične značilnosti, povprečne vsebnosti fenolnih spojin ($\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ svežih strokov nizkega fižola) in pripadajoče standardne napake glede na okuženost (O) strokov nizkega fižola z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* (neokuženo (NEOK), zdravo tkivo okuženega stroka (ZTOK) ter okuženo tkivo (OK)) in kultivar nizkega fižola (K) ('Re dei burri' ('R') in 'Top crop' ('T')).

| Fenolna spojina | Stopnja statistične značilnosti | | | K | | O | | | K×O | | | | | |
|---------------------------|---------------------------------|------------|-----------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------------|----------------------------------|----------------|----------------|----------------------------|---------------------|-------------------------|---------------------------|
| | K | O | K×O | 'R' | 'T' | NEOK | ZTOS | OK | 'R'NEOK | 'R'ZTOS | 'R'OK | 'T'NEOK | 'T'ZTOS | 'T'OK |
| Naringenin heksoza 3 | ** | *** | *** | 1853,1 (879,3) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 2779,6 (1232,0) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 5559,2 (1722,5) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a |
| Naringenin heksoza 4 | *** | *** | *** | 0 (0,0) a | 182,1 (40,3) b | 94,6 (32,2) b | 178,6 (61,1) c | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 189,2 (13,5) b | 357,2 (29,4) c | 0 (0,0) a |
| Flavanoni (skupaj) | NS | *** | NS | 3042,5 (1479,6) | 2208,0 (636,9) | 199,8 (66,8) a | 378,6 (129,8) a | 7297,4 (1565,7) b | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 9127,6 (3016,7) | 399,5 (11,2) | 757,3 (64,7) | 5467,2 (506,0) |
| Formononetin heksoza 1 | *** | *** | *** | 0 (0,0) a | 66,9 (25,7) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 100,3 (34,2) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 200,6 (15,2) b |
| Formononetin heksoza | ** | *** | *** | 415,5 (198,6) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 623,3 (278,7) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 1246,5 (394,0) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a |
| Daidzein heksoza 1 | ** | *** | ** | 1156,6 (564,4) b | 41,7 (16,5) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 1797,4 (779,9) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 3469,6 (1157,0) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 125,1 (16,1) a |
| Formononetin heksoza 3 | *** | *** | *** | 145,2 (59,4) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 217,9 (80,5) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 435,7 (73,8) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a |
| Formononetin heksoza 2 | * | ** | * | 320,2 (168,0) b | 38,4 (16,7) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 537,9 (227,4) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 960,7 (377,6) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 115,1 (26,8) a |

se nadaljuje

nadaljevanje priloge A. Stopnje statistične značilnosti, povprečne vsebnosti fenolnih spojin ($\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ svežih strokov nizkega fižola) in pripadajoče standardne napake glede na okuženost (O) strokov nizkega fižola z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* (neokuženo (NEOK), zdravo tkivo okuženega stroka (ZTOK) ter okuženo tkivo (OK)) in kultivar nizkega fižola (K) ('Re dei burri' ('R') in 'Top crop' ('T')).

| Fenolna spojina | Stopnja statistične značilnosti | | | K | | O | | | K×O | | | | | |
|----------------------------|---------------------------------|------------|------------|------------------------------|---------------------------|------------------|----------------------|------------------------------|------------------|------------------|------------------------------|------------------|------------------|---------------------------|
| | K | O | K×O | 'R' | 'T' | NEOK | ZTOS | OK | 'R'NEOK | 'R'ZTOS | 'R'OK | 'T'NEOK | 'T'ZTOS | 'T'OK |
| Daidzein heksoza 2 | NS | *** | NS | 70,4 (32,0) | 44,4 (18,0) | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 172,3 (31,5) b | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 211,3 (57,2) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 133,3 (20,6) |
| Afrozmozin heksoza | ** | *** | *** | 106,0 (43,0) b | 47,2 (18,5) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 229,9 (38,7) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 318,1 (50,8) c | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 141,7 (16,2) b |
| Izoflavoni (skupaj) | ** | *** | *** | 2214,0 (1011,8) b | 238,6 (94,1) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 3678,9 (1316,0) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 6641,9 (1842,7) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 715,8 (87,3) a |
| Apigenin heksoza 1 | NS | *** | NS | 451,1 (228,1) | 221,5 (87,7) | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 1008,9 (261,5) b | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 1353,3 (491,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 664,4 (85,1) |
| Genistein diheksoza | NS | *** | NS | 493,7 (234,3) | 320,2 (125,0) | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 1220,9 (238,0) b | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 1481,0 (459,1) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 960,7 (101,8) |
| Apigenin diheksoza | *** | *** | *** | 107,7 (43,0) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 161,6 (57,8) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 323,2 (44,5) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a |
| Apigenin heksoza 2 | *** | *** | *** | 0 (0,0) a | 22,9 (8,9) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 34,3 (11,8) b | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 68,6 (6,2) b |

se nadaljuje

nadaljevanje priloge A. Stopnje statistične značilnosti, povprečne vsebnosti fenolnih spojin ($\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ svežih strokov nizkega fižola) in pripadajoče standardne napake glede na okuženost (O) strokov nizkega fižola z glivo *Colletotrichum lindemuthianum* (neokuženo (NEOK), zdravo tkivo okuženega stroka (ZTOK) ter okuženo tkivo (OK)) in kultivar nizkega fižola (K) ('Re dei burri' ('R') in 'Top crop' ('T')).

| Fenolna spojina | Stopnja statistične značilnosti | | | K | | O | | | K×O | | | | | |
|-------------------------|---------------------------------|-----|-----|----------------------------|----------------------------|----------------------------|-------------------------------|---------------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------------|-----------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| | K | O | K×O | 'R' | 'T' | NEOK | ZTOS | OK | 'R'NEOK | 'R'ZTOS | 'R'OK | 'T'NEOK | 'T'ZTOS | 'T'OK |
| Flavoni (skupaj) | NS | *** | NS | 1052,5 (495,4) | 564,6 (221,0) | 0 (0,0) a | 0 (0,0) a | 2425,7 (520,2) b | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 3157,6 (956,7) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 1693,8 (186,6) |
| SKUPNI FENOLI | NS | *** | * | 12566,1 (4432,4) | 10105,7 (1346,7) | 4226,2 (559,0) a | 6081,4 (728,9) a | 23698,9 (4905,5) b | 2676,5 (196,3) a | 4309,8 (699,1) a | 30709,6 (9068,2) c | 5775,7 (408,9) ab | 7853,1 (578,0) ab | 16688,1 (1326,8) b |

NS-ni statistično značilnih razlik; * Statistično značilne razlike pri P -vrednosti pod 0,05; ** Statistično značilne razlike pri P -vrednosti pod 0,01; *** Statistično značilne razlike pri P -vrednosti pod 0,001. Različne črke v vrstici pomenijo statistično značilne razlike (Duncanov test $p < 0.05$), med enakimi črkami ni značilnih razlik.

PRILOGA B

Statistične analize odvisne spremenljivke povprečni pridelek na rastlino

Priloga B1: Analiza variance odvisne spremenljivke povprečni pridelek na rastlino (g)

Annex B1: Analysis of variance of the dependent variable average yield per plant (g)

| Vir variabilnosti | VKO | SP | SKO | F | P-vrednost |
|-------------------|---------|----|---------|-------|------------|
| OBRAVNAVANJA | | | | | |
| A:Kultivar | 42949,8 | 3 | 14316,6 | 17,55 | 0,0000 |
| B:Okuženost | 1273,36 | 1 | 1273,36 | 1,56 | 0,2235 |
| INTERAKCIJE | | | | | |
| AB | 2476,88 | 3 | 825,626 | 1,01 | 0,4045 |
| OSTANEK | 19574,0 | 24 | 815,583 | | |
| SKUPAJ | 66274,0 | 31 | | | |

Priloga B2: Preiskus mnogoterih primerjav odvisne spremenljivke povprečni pridelek na rastlino (g) glede na kultivar nizkega fižola

Annex B2: Multiple comparison test of dependent variable average yield per plant (g) depending on the cultivar of dwarf French bean

| Kultivar | Število vrednosti | Srednja vrednost | Homogenost skupin * |
|----------------|-------------------|------------------|---------------------|
| 'Berggold' | 8 | 86,0 | a |
| 'Top crop' | 8 | 93,1 | a |
| 'Re dei burri' | 8 | 106,5 | a |
| 'Paulista' | 8 | 178,1 | b |

*pri vrednostih označenih z enakimi črkami ni statistično značilnih razlik