

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Andrej ŠUVAK

**VPLIV DUŠIKA NA VSEBNOST ANTOCIANOV IN
KLOROFILA V PLODOVIH JABLANE (*Malus
domestica* Borkh.)**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2013

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Andrej ŠUVAK

**VPLIV DUŠIKA NA VSEBNOST ANTOCIANOV IN KLOOROFILA V
PLODOVIH JABLANE (*Malus domestica* Borkh.)**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**INFLUENCE OF NITROGEN ON ANTHOCYANINS AND
CHLOROPHYLL CONTENT IN APPLE FRUITS (*Malus domestica*
Borkh.)**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2013

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija agronomije. Opravljeno je bilo na Katedri za sadjarstvo, vinogradništvo in vrtnarstvo Oddelka za agronomijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani. Rastlinski material za analizo je bil nabran na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Študijska komisija Oddelka za agronomijo Biotehniške fakultete je za mentorja diplomskega dela imenovala izr. prof. dr. Roberta VEBERIČA.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. Franc Batič, univ. prof. biol.
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. Franci ŠTAMPAR
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Datum zagovora:

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela. Spodaj podpisani Andrej Šuvak se strinjam z objavo svojega diplomskega dela v polnem tekstu na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je delo, ki sem ga oddal v elektronski obliki, identično tiskani verziji.

Andrej ŠUVAK

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dn
DK	UDK 634.11:631.84:547.979.7 (043.2)
KG	sadjarstvo/jablana/ <i>Malus domestica</i> /dušik/klorofil/antociani/karotenoidi
KK	AGRI F01/F04
AV	ŠUVAK, Andrej
SA	VEBERIČ, Robert (mentor)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddeleke za agronomijo
LI	2013
IN	VPLIV DUŠIKA NA VSEBNOST ANTOCIANOV IN KLOROFILA V PLODOVIH JABLANE (<i>Malus domestica</i> Borkh.)
TD	Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP	X, 34, [6] str., 2. pregl., 16 sl., 10 pril., 52 vir.
IJ	sl
JJ	sl/en
AI	V poskusu leta 2005 smo opazovali učinek dušika na vsebnost antocianov, klorofila in karotenoidov v kožici plodov. Poskus je bil opravljen na laboratorijskem polju Biotehniške fakultete v Ljubljani na dveh sortah jablane (<i>Malus domestica</i> Borkh.) 'Elstar' in 'Zlati delišes' cepljenih na podlago M9. Drevesom smo v razmaku 14 dni dodali polovični količini dušika v obliki mineralnega gnojila KAN, enkrat pa smo dušik nanесли foliarno. Določili smo štiri obravnavanja KON – brez dodanega dušika, NA – 60kg dušika/ha, NB – 200kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje (2,16 kg/ha N). Za vsako od štirih obravnavanj smo izbrali po pet dreves, ter jemali vzorce v petih ('Elstar') oz. šestih ('Zlati delišes') terminih. Obrane plodove smo prenesli v hladilni torbi v laboratorij, vzeli vzorce kožice, vzorce na hitro zamrznili s tekočim dušikom ter jih do analize shranili v skrinji na – 20 °C. Vsebnost klorofila in karotenoidov v kožici plodov smo merili s pomočjo spektrofotometra. Meritve antocianov smo opravili s pomočjo HPLC metode na tekočinskem kromatografu. Z večjimi količinami dušika smo vplivali na obarvanost plodov. Rezultati so nam dali statistično značilne razlike v obdobju tehnološke zrelosti pri sorti 'Elstar', ki je razvila nekaj manj antocianov in malo več klorofila. Sorta 'Zlati delišes' pa sortno razvije manjše količine antocianov in večje količine klorofila in karotenoidov. Na podlagi rezultatov lahko sklepamo, da je vpliv dušika na obarvanost plodov le eden od dejavnikov, ki vplivajo na obarvanost plodov, ima pa velik vpliv. Iz rezultatov je tudi razvidno, da je gnojenje z 200 kg dušika/ha nepotrebno, saj v tem ni vidnih nobenih prednosti pred ostalimi obravnavanji.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN	Dn
DC	UDK 634.11:631.84:547.979.7 (043.2)
CX	fruit growing/apple tree/ <i>Malus domestica</i> Borkh./nitrogen/chlorophyll/anthocyanins/carotenoids
CC	AGRIS F01/F04
AU	ŠUVAK, Andrej
AA	VEBERIČ, Robert (supervisor)
PP	SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
PB	University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Agronomy
PY	2013
PI	INFLUENCE OF NITROGEN ON ANTHOCYANINS AND CHLOROPHYLL CONTENT IN APPLE FRUITS (<i>Malus domestica</i> Borkh.)
DT	Graduation Thesis (University studies)
NO	X, 34, [6] p., 2. tab., 16 fig., 10 ann., 52 ref.
LA	sl
AL	sl/en
AB	Our research in year 2005 was about influence of nitrogen on anthocyanin, chlorophyll and carotenoids content in apple skin. The experiment was carried out in the laboratory field of Biotechnical faculty in Ljubljana in two varieties of apple trees (<i>Malus domestica</i> Borkh.) 'Elstar' and 'Golden Delicious'. At an interval of 14 days, we applied half the quantity of nitrogen fertilizer KAN and once we applied nitrogen foliarly. We have defined four treatment KON - no added nitrogen, NA - 60 kg nitrogen / ha, NB – 200 kg nitrogen / ha NC - foliar application gnojenje (2,16 kg/ha N) . For each of the four treatments we selected five trees, and took samples in five ('Elstar') or. six ('Golden Delicious') terms. The harvested fruits were transported in to the laboratory in cooler bag. We took a skin sample, quickly froze them with liquid nitrogen and stored them at - 20 °C by the time of analize. The content of chlorophyll and carotenoids in the peel of the fruit was measured using a spectrophotometer. Measurement of anthocyanins were performed using HPLC methods on a liquid chromatograph. Higher amounts of nitrogen had a positive impact on the coloring. The results gave us a statistically significant difference in the period of technological maturity in 'Elstar', which developed less anthocyanins and chlorophyll a bit more. 'Golden Delicious' is kind of cultivar which develops low amounts of anthocyanins and higher amounts of chlorophylls and carotenoids. On the basis of the results it can be concluded that the nitrogen is not the only factor that affects the coloring, but it has a big impact. The results also show that the fertilization with 200 kg of nitrogen / ha is unnecessary because there are no advantages over other treatments.

KAZALO VSEBINE

	str.
Ključna dokumentacijska informacija	III
Key words documentation	IV
Kazalo vsebine	V
Kazalo preglednic	VII
Kazalo slik	VIII
Kazalo prilog	X
1 UVOD	1
1.1 POVOD ZA RAZISKAVO	1
1.2 NAMEN RAZISKAVE	1
1.3 DELOVNA HIPOTEZA	1
2 PREGLED OBJAV	2
2.1 JABLANA (<i>Malus domestica</i> Borkh.)	2
2.1.1 Jablana	2
2.1.2 Podlage za jablane	2
2.1.3 Gojitvena oblika	2
2.2 DUŠIK V RASTLINAH	3
2.2.1 Dušik	3
2.2.2 Kroženje dušika	3
2.2.3 Vpliv različnih količin dušika na rastlino	4
2.2.4 Foliarno gnojenje	5
2.2.5 Vpliv dušika na obarvanost plodov in sekundarnih metabolitov	5
2.3 ANTOCIANI	6
2.4 KLOROFIL	7
2.5 KAROTENOIDI	8
3 MATERIALI IN METODE	10
3.1 LOKACIJA IN ČAS POSKUSA	10
3.2 RASTLINSKI MATERIAL	10
3.2.1 Opis sorte 'Elstar'	10
3.2.2 Opis sorte 'Zlati delišes'	10
3.2.3 Opis podlage M9	11
3.3 VREME	11
3.4 ZASNOVA POSKUSA	12
3.5 METODE DELA	13
3.5.1 Priprava vzorcev	13
3.5.2 Merjenje in analiza vsebnosti klorofila v kožici plodov	14
3.5.3 Merjenje in analiza vsebnosti antocianov v kožici plodov	14
3.5.4 Statistična obdelava podatkov	15
4 REZULTATI	16
4.1 VSEBNOST ANTOCIANOV	16
4.1.1 Vsebnost antocianov v kožici plodov pri sorti 'Elstar'	16
4.1.2 Vsebnost antocianov v kožici plodov pri sorti 'Zlati delišes'	17

4.2	VSEBNOST KLOROFILA	18
4.2.1	Vsebnost klorofila a	18
4.2.1.1	Vsebnost klorofila a pri sorti 'Elstar'	18
4.2.1.2	Vsebnost klorofila a pri sorti 'Zlati delišes'	19
4.2.2	Vsebnost klorofila b	20
4.2.2.1	Vsebnost klorofila b pri sorti 'Elstar'	20
4.2.2.2	Vsebnost klorofila b pri sorti 'Zlati delišes'	21
4.2.3	Vsebnost skupnega klorofila	22
4.2.3.1	Vsebnost skupnega klorofila pri sorti 'Elstar'	22
4.2.3.2	Vsebnost skupnega klorofila pri sorti 'Zlati delišes'	23
4.2.4	Vsebnost karotenoidov	24
4.2.4.1	Vsebnost karotenoidov pri sorti 'Elstar'	24
4.2.4.2	Vsebnost karotenoidov pri sorti 'Zlati delišes'	25
5	RAZPRAVA	26
5.1	ANTOCIANI V KOŽICI PLODOV	26
5.2	KLOROFIL V KOŽICI PLODOV	27
5.3	KAROTENOIDI V KOŽICI PLODOV	27
5.4	VREMENSKI VPLIV	28
6	SKLEPI	29
7	POVZETEK	30
8	VIRI	31
	ZAHVALA	
	PRILOGE	

KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Preglednica 1: Obravnavanja in dodane količine dušika	13
Preglednica 2: Datum nanašanja gnojila KAN ter foliarno gnojenje in datumi vzorčenja	13

KAZALO SLIK

	str.
Slika 1: Struktura antocianidina	6
Slika 2: Cianaidin 3-galaktozid	7
Slika 3: Absorpcijski spekter klorofila a in b	8
Slika 4: Absorpcijski spekter β -karotena	9
Slika 5: Povprečne mesečne padavine v letu 2005 v primerjavi z dolgoletnim povprečjem padavin v obdobju 1981 – 2000 za Ljubljano	11
Slika 6: Povprečne mesečne temperature za leto 2005 v primerjavi z dolgoletnim povprečjem temperatur v obdobju 1981 – 2000 za Ljubljano	12
Slika 7: Vsebnost antocianov (povprečje $\pm$ SN v mg/kg sveže mase) v kožici plodov pri sorti 'Elstar' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje. Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) med povprečji	16
Slika 8: Vsebnost antocianov (povprečje $\pm$ SN v mg/kg sveže mase) v kožici plodov pri sorti 'Zlati delišes' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje. Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) med povprečji	17
Slika 9: Vsebnost klorofila a (povprečje $\pm$ SN v μ g/ml ekstrakta) v kožici plodov pri sorti 'Elstar' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje. Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) med povprečji	18
Slika 10: Vsebnost klorofila a (povprečje $\pm$ SN v μ g/ml ekstrakta) v kožici plodov pri sorti 'Zlati delišes' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje. Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) med povprečji	19
Slika 11: Vsebnost klorofila b (povprečje $\pm$ SN v μ g/ml ekstrakta) v kožici plodov pri sorti 'Elstar' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje. Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) med povprečji	20
Slika 12: Vsebnost klorofila b (povprečje $\pm$ SN v μ g/ml ekstrakta) v kožici plodov pri sorti 'Zlati delišes' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje. Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) med povprečji	21
Slika 13: Vsebnost skupnega klorofila (povprečje $\pm$ SN v μ g/ml ekstrakta) v kožici plodov pri sorti 'Elstar' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje. Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) med povprečji	22
Slika 14: Vsebnost skupnega klorofila (povprečje $\pm$ SN v μ g/ml ekstrakta) v kožici plodov pri sorti 'Zlati delišes' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje. Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) med povprečji	23

- Slika 15: Vsebnost karotenoidov (povprečje $\pm$ SN v $\mu\text{g/ml}$ ekstrakta) v kožici plodov pri sorti 'Elstar' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje. Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) med povprečji 24
- Slika 16: Vsebnost karotenoidov (povprečje $\pm$ SN v $\mu\text{g/ml}$ ekstrakta) v kožici plodov pri sorti 'Zlati delišes' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje. Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) med povprečji 25

KAZALO PRILOG

Priloga A1:	Vsebnost antocianov (povprečje $\pm$ SN v mg/kg sveže mase) v kožici plodov pri sorti 'Elstar' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje. Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) med povprečji.
Priloga A2:	Vsebnost antocianov (povprečje $\pm$ SN v mg/kg sveže mase) v kožici plodov pri sorti 'Zlati delišes' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje. Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) med povprečji.
Priloga B1:	Vsebnost klorofila a (povprečje $\pm$ SN v $\mu\text{g/ml}$ ekstrakta) v kožici plodov pri sorti 'Elstar' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje. Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) med povprečji.
Priloga B2:	Vsebnost klorofila a (povprečje $\pm$ SN v $\mu\text{g/ml}$ ekstrakta) v kožici plodov pri sorti 'Zlati delišes' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje.
Priloga C1:	Vsebnost klorofila b (povprečje $\pm$ SN v $\mu\text{g/ml}$ ekstrakta) v kožici plodov pri sorti 'Elstar' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje. Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) med povprečji.
Priloga C2:	Vsebnost klorofila b (povprečje $\pm$ SN v $\mu\text{g/ml}$ ekstrakta) v kožici plodov pri sorti 'Zlati delišes' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje. Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) med povprečji.
Priloga D1:	Vsebnost skupnega klorofila (povprečje $\pm$ SN v $\mu\text{g/ml}$ ekstrakta) v kožici plodov pri sorti 'Elstar' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje. Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) med povprečji.
Priloga D2:	Vsebnost skupnega klorofila (povprečje $\pm$ SN v $\mu\text{g/ml}$ ekstrakta) v kožici plodov pri sorti 'Zlati delišes' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje. Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) med povprečji.
Priloga E1:	Vsebnost karotenoidov (povprečje $\pm$ SN v $\mu\text{g/ml}$ ekstrakta) v kožici plodov pri sorti 'Elstar' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje.
Priloga E2:	Vsebnost karotenoidov (povprečje $\pm$ SN v $\mu\text{g/ml}$ ekstrakta) v kožici plodov pri sorti 'Zlati delišes' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje. Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) med povprečji.

1 UVOD

1.1 POVOD ZA RAZISKAVO

Kakovost jabolk je ključnega pomena za uspešno prodajo in je odvisna od večih dejavnikov. Kakovost ponavadi delimo na notranjo, kjer merimo vsebnost organskih kislin in sladkorjev, topno suho snov, trdoto ter zunanjo kakovost, kjer so zlasti pomembni velikost plodov, površinske poškodbe in obarvanost plodov. Nižja kakovost pridelka pomeni tudi nižjo ceno na trgu, saj so plodovi manj privlačni za potrošnike.

Rastlinska barvila antociani, klorofil in karotenoidi se nahajajo v različnih rastlinskih tkivih in organih. Najdemo jih v listih, brstih, cvetovih, plodovih in deblu. Na njihov razvoj in vsebnost vplivajo svetloba, temperatura, vlaga, lahko pa vplivamo na njih tudi z agrotehničnimi ukrepi med katerimi ima velik pomen gnojenje.

Gnojenje je pomemben vsakoletni proces, saj s tem skrbimo, da je rastlina redno primerno založena s hranili. Dušik je poleg kalija in fosforja ter ostalih makro in mikro elementov eden bolj pomembnih za primerno vegetativno rast rastline, vpliva pa tudi na cvetenje in rodnost rastlin. Gnojenje z dušikom vpliva na različne procese v rastlini, vendar pa niso še vsi raziskani v potankosti.

1.2 NAMEN RAZISKAVE

V tej nalogi želimo ugotoviti kako dušik vpliva na obarvanost plodov oz. kako vpliva na vsebnost klorofila in antocianov v kožici plodov jablane. Za ta poskus smo zbrali sorti 'Elstar' in 'Zlati delišes', ki se že na daleč razlikujeta v krovni barvi in vsebnosti barvil. Bolj intenzivna zelena barva ali pa manj rdeče krovne barve da včasih občutek nezrelih plodov, kar lahko kupce celo odvrne od nakupa pridelka.

Namen raziskave je ugotoviti za koliko se spremeni vsebnost barvil v kožici plodov glede na različne količine dodanega dušika.

1.3 DELOVNA HIPOTEZA

Pri našem poskusu domnevamo, da bo različna količina dušika vplivala na vsebnost klorofilov, karotenoidov in antocianov v plodovih.

Domnevamo tudi, da bodo sorte jabolk 'Elstar' in 'Zlati delišes' podobno odreagirale na dodane količine dušika.

2 PREGLED OBJAV

2.1 JABLANA (*Malus domestica* Borkh.)

2.1.1 Jablana

Žlahtna jablana je medvrstni križanec, saj je pri njenem nastanku sodelovalo več vrst. Najverjetneje je njena domovina širše območje osrednje Azije ali Kavkaz. Najbolj ji ustrezajo globoka, zračna, peščeno ilovnata tla, ki dobro prepuščajo višek vode. Ustreza ji zmerno nizek pH (5,5 – 6,5) tal, ter s hranili in humusom (2- 4%) bogata tla (Kodrič in sod., 2013).

Za lepo obarvanost plodov je potrebno lepo vreme jeseni, ter velike razlike med dnevnimi in nočnimi temperaturami v tem času. Najbolj ugodne nočne temperature za obarvanje plodov so med 3°C in 11°C (Iglesias in sod. 2008). Obarvanost plodov je v veliki meri odvisna od položaja plodov v drevesni krošnji (Awad in sod., 2001), od gostote sajenja dreves in medvrstne razdalje.

Velika rodnost in kakovost plodov je zelo odvisna od agrotehničnih ukrepov, ki jih je potrebno opraviti pri sajenju in ukrepov, ki jih izvajamo kasneje vsakoletno. Poleg ostalih opravil (protitočne mreže, zatiranje škodljivcev...) je pomembna priprava tal, izbira vegetativne podlage in na podlagi tega izbira gojitvene oblike. Kasneje pa je potrebno spremljati založenost zemlje s hranili ter opravljati vsakoletno rez pri kateri zagotovimo enakomerno osvetlitev krošnje in s tem zadovoljivo obarvanost plodov (Kodrič in sod., 2013).

2.1.2 Podlage za jablane

Za intenzivne sadovnjake so značilna nizkorastoča drevesa na šibkih vegetativnih podlagah. Glede na to kakšno bujnost dreves želimo, se odločamo za različne skupine podlag. Naloga podlage je, da s svojimi lastnostmi vpliva na rast cepljenega dela drevesa. Želimo si, da drevesa v intenzivnih sadovnjakih čimprej zaključijo rast, dosežejo veliko rodnost in dajejo kakovostne plodove, ter da imamo z njimi čim manj dela.

Glede na bujnost poznamo več skupin jablanovih podlag (Štampar in sod., 2009):

- šibke podlage; 'M 27', 'M 9', 'M 26'; pri katerih drevo zraste dva do tri metre višine in je potrebna stalna opora, ima zgodnjo rodnost, dobro kakovost plodov in slabo toleranco za pomanjkanje hranil
- srednje bujne podlage; 'M7', 'MM 106', 'MM 111'; drevo zraste od tri do slabih pet metrov višine in ne potrebuje opore
- bujne podlage; 'M 25', 'A 2', 'M 11', sejanec; drevesa dosežajo višino do šest metrov, ne potrebuje opore, ter zarodijo pozno.

2.1.3 Gojitvena oblika

Krošnja jablane se dobro prilagaja različnim gojitvenim oblikam, med katerimi se najbolj uveljavljata sončna os ali solaks ter ozko vreteno. Namen gojitvenih oblik je enostavnost

oblikovanja, optimalna osvetlitev krošnje ter čimkrajše obdobje do polne rodnosti. Razvoj sončne osi je temeljil na poznavanju fizioloških procesov v rastlini. Poganjki se upogibajo pod težo plodov. Kot pod katerim rastejo veje je večji od 120° , tako da se zaradi počasnega upogibanja iz stranskih brstov razvija rodni les. Veje so spiralno nameščene, zato je osvetljenost bistveno boljša, kot pri ozkem vretenu, saj se veje ne senčijo med seboj. Rodni volumen je lahko večji od 30 – 70 % (Štampar in sod., 2009).

2.2 DUŠIK V RASTLINAH

2.2.1 Dušik

Dušik je eden najbolj zastopanih elementov v naravi. Je sestavni del beljakovin, amino kislin, koencimov in barvil (Marschner in sod., 2002).

Nahaja se v atmosferi, litosferi in hidrosferi. Atmosfera predstavlja največji rezervoar dušika (okoli 78%), medtem ko ga je v litosferi zelo malo, pa še ta je dostopen rastlinam samo preko simbiotov, dostopen je v amonijski in nitratni obliki (Mengel in Kirkby, 2001).

2.2.2 Kroženje dušika

V atmosferi je velika količina dušika, vendar ga v taki obliki rastlina ne more uporabiti. Metuljnice imajo sposobnost vezati dušik iz zraka s pomočjo bakterij. Fiksacija dušika iz zraka je najbolj pomemben proces, kjer rastlina veže atmosferski dušik in ga s pomočjo prokariotskih organizmov pretvori v amonijsko (NH_4^+) obliko, ki je dostopna rastlinam (Mengel in Kirkby, 2001).

Zelo veliko je organsko vezanega dušika, vendar takega rastlina še ne more uporabiti. Za njegovo sprostitve je potreben proces mineralizacije. Pri razpadanju odmrlih delov rastlin ali bakterij pride do procesa mineralizacije. Temu procesu lahko rečemo tudi amonifikacija, saj se večinoma sprošča dušik v obliki amonijaka. V enem letu mineralizira 1-2 % humusa, kar pomeni, da lahko iz njega dobimo do 200 kg dušika/ha (Larcher in sod., 2003).

Nitrifikacija je biološka oksidacija amonijevega iona do nitrata. Amonijev ion se najprej oksidira do NO_2^- s pomočjo bakterij *Nitrosomonas*, ta pa naprej s skupino bakterij *Nitrobacter* do NO_3^- . Se pravi, da so za proces potrebne autotrofne bakterije, ki pridobijo energijo pri oksidaciji amonijaka do nitrata (Mengel in Kirkby, 2001).

Pri zadnjem procesu se pod anaerobnimi pogoji nitrat reducira v hlapne dušikove oblike kot so N_2 in N_2O . Ta proces imenujemo denitrifikacija. Le-ta je pomembna, da se dušik vrača nazaj v atmosfero. Poteka tako, da heterotrofne bakterije reducirajo NO_3^- ali NO_2^- do dušika (N_2), nato pa dušik oksidira v dušikov oksid (Mengel in Kirkby, 2001).

2.2.3 Vpliv različnih količin dušika na rastlino

Gnojenje je zelo pomemben proces pri katerem zagotavljamo rastlini zadostno količino hranil za njeno rast in razvoj. Pred tem je priporočljivo narediti gnojilni načrt in se ga seveda držati. V tleh, kjer rastejo jablane ali jih nameravamo saditi naj bi bilo 3 – 5 % organske snovi (Sancin in sod., 1988).

Pomembna je tudi oblika in čas aplikacije dušika. Tu moramo seveda upoštevati kakšne so vsebnosti hranil v gnojilu. Prevelik odmerek dušika se kaže na rastlini kot bujna vegetativna rast in slabša kakovost plodov. Bujnost povzroči senčenje znotraj dreves, in zavre razvoj cvetnih brstov (Dris in sod., 2002). Pri sajenju mladih dreves spomladi je bolj kot gnojenje z dušikom pomembna voda, ki pomaga pri razporeditvi zemlje okoli korenin, rastlina pa koristi lastne rezerve dušika. Zato lahko veliki odmerki suhih mineralnih gnojil pri sajenju mladih drevesih povzročajo poškodbe na koreninskem sistemu (Cheng in sod., 2004).

Povečane zaloge dušika pa se ne kažejo samo v kasnejšem odmiranju listov in pospešeni rasti ampak v celotni morfologiji rastline (Marschner 2002). Presežki gnojenja se kažejo tudi na kasnejši zrelosti plodov in obarvanosti rdečih plodov, ki je manj izrazita. Poveča se presnova, kar zmanjša kakovost plodu in skrajša skladiščno dobo, poveča pa se osip plodov. Pojavljajo se tudi fiziološke motnje, kot so ožigi, grenka pegavost in porjavitev mesa (Dris in sod., 2002).

V prvih letih je zelo pomembno uravnoteženo gnojenje, s katerim omogočamo jablani najboljši razvoj glede na njene biološke lastnosti, kot so vegetativni razvoj, začetek rodnosti in odpornost proti zmrzali. Za zgodnjo rast in začetek cvetenja jablane spomladi uporabljajo v lesu uskladiščena hranila. Celotni odmerek čistega dušika razdelimo na tri dele skozi celotno leto. Na začetku sezone celotna količina odmerka ne sme preseči 30 kg čistega dušika/ha (na lahkih tleh) oz. 40 kg čistega dušika/ha (na težkih tleh). Naslednje dognojevanje sledi po cvetenju, ko ni več nevarnosti pozebe, tretji odmerek pa ne sme biti večji od 20 kg čistega dušika/ha in služi kot jesensko dognojevanje za boljše skladiščenje hranil za naslednje leto (Kodrič in sod., 2013). V času rodnosti so potrebe jablane po dušiku velike, vendar pa moramo paziti, da ne porušimo sorazmerja z ostalimi elementi, saj bi s tem lahko ogrozili biološki razvoj rastline (Sancin in sod., 1988).

Sancin (1988) tudi navaja, da je odvzem dušika iz tal pri pridelku 40 t/ha s plodovi 20 kg/ha in z listjem 48 kg/ha. Odrasla drevesa jablane navadno porabijo manj kot 40kg N/ha. Pri mladih drevesih predstavlja pobrano sadje 50% dušika, ki ga drevo privzame čez celo leto (Dris in sod., 2002).

Ovisno od rastlinske vrste, razvojne stopnje, organa, so potrebe po dušiku za optimalno rast 2-5% suhe snovi rastline.

Kloroplasti so veliki skladiščniki dušika, saj vsebujejo 75% - 80% vsega dušika v obliki proteinov. Pri odmiranju listov se ta dušik sprosti in zopet uporabi za rast (Wada in sod., 2009).

Ko je oskrba z dušikom pod optimalno je rast prizadeta, dušik se premakne v starejše liste, od tam pa se ponovno premesti na mesta mladih poganjkov. Tipični simptom pomanjkanja dušika se kažejo v slabši rasti, rastline ostajajo majhne, steblo ima zveržen videz, listi so majhni in starejši prehitro odpadejo, zavrta je rast in razvoj cvetnega brstja. Prihaja do motenj pri razvoju kloroplastov, prizadeta pa je tudi rast korenin (Mengel in Kirkby, 2001)..

2.2.4 Foliarno gnojenje

Zaradi intenzivnih nasadov količina dušika v tleh ne zadostuje za normalno rast in razvoj dreves, zato se v takih primerih lahko poslužujemo foliarnega gnojenja (Mengel in Kirkby 2001). Letni odvzem hranil na hektar jabolk pri pridelku 30t/ha je skupaj 99 kg/ha. S foliarnim gnojenjem pa jeseni poskrbimo za boljšo kakovost cvetov v naslednjem letu, listi so fotosintezno bolj aktivni, kar pomeni, da nastaja več asimilatov (Štampar in sod., 2009). Foliarno gnojenje se uporablja le kot dopolnilni in ne osnovni način gnojenja v primerih, ko je optimalni pretok hranil iz tal onemogočen. Aplikacija gnojil mora temeljiti na letni dinamiki potreb dreves po posameznih hranilih. Uporaba foliarnega gnojenja je smiselna tudi v primeru, ko se pokaže pomanjkanje nekega elementa in bi asimilacija le tega preko zemlje trajala predolgo. Listno gnojenje se priporoča v fazi največjega mogočega primanjkljaja ob cvetenju (4-6 kg uree/ha) ter aplikacija dušika v jesenskem času po obiranju za boljše skladiščenje rezervnih snovi (20-30 kg uree/ha). Ta dušik je namenjen tudi kot hrana mikroorganizmom za večjo aktivnost pri predelavi odpadlega listja. Ukrep mora bit izveden, ko so listi še aktivni (Kodrič in sod., 2013).

Ibrahim in sod. (2011b) poročajo, da so pri meritvah vsebnosti dušika v listih s foliarnim gnojenjem dosegali za 38% večje rezultate od povprečja navadnega gnojenja.

2.2.5 Vpliv dušika na obarvanost plodov in sekundarnih metabolitov

Znano je, da dušik vpliva na barvo plodov. Plodovi dreves, ki so bila gnojena z večjimi odmerki dušika vsebujejo več klorofila, kar pomeni, da so bolj zeleni in v slabih letih vsebujejo manj krovne barve. Pri premajhni količini dušika pa so kratki poganjki drobni, listi so svetlo zeleni in plodovi drobni (Štampar in sod., 2009).

Oskrba z dušikom ima negativen vpliv na biosintezo sekundarnih metabolitov (flavonoidov, antocianov...). Ugotovili so tudi, da se je s pomanjkanjem dušika povečala vsebnost vseh flavonoidov v paradižniku za 14%. Pri poskusu z grenivko pa so pri povečani koncentraciji dušika zaznali padec v količini flavonoidov naringina in rutina (Ibrahim in sod., 2011a).

Večja količina dušika vpliva tudi na razmerje med ogljikom in dušikom (C/N). Z večjimi odmerki dušika je padalo C/N razmerje (Ibrahim in sod., 2011b). Anderson in sod. (2011) so ugotovili, da majhni odmerki dušika vplivajo na povečano razmerje C/N, posledično pa tudi na večjo vsebnost fenolov.

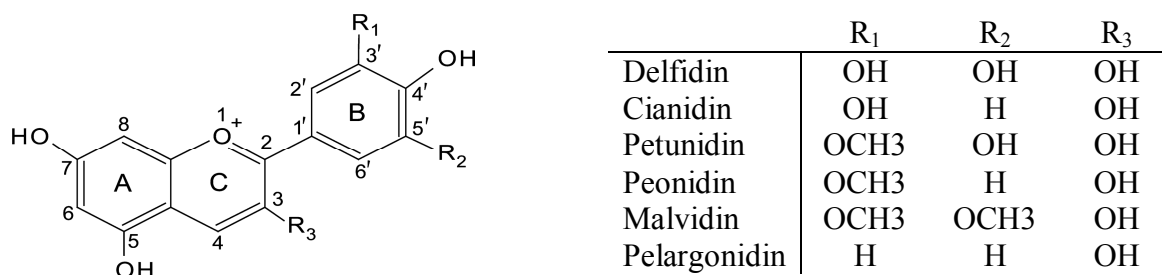
Posledica večjega razmerja C/N je tudi porast v kopičenju ogljikovih hidratov (Winger in sod., 2006).

2.3 ANTOCIANI

Barva plodu je ena izmed karakteristik, ki dajejo ne samo estetsko ampak tudi komercialno vrednost (Kim in sod. 2003).

Antociani so pomembna skupina vodotopnih pigmentov in imajo kot antioksidanti in protivnetna sredstva velik blagodejni učinek. So največja skupina fenolnih spojin zastopana v človeški prehrani in njihove antioksidativne aktivnosti nakazujejo pomen pri ohranjanju zdravja in zmanjševanju tveganja za kronične bolezni (Ibrahim in sod., 2011a).

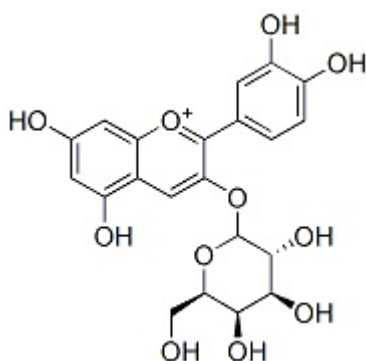
Antociani so naravno prisotne fenolne spojine, ki določajo barvo cvetov in plodov številnih sadnih vrst in jagodičevja. Strukturno gledano so antocianini glikozidi in acilglikozidi antocianidinov (He in sod., 2010). Dajejo oranžno, rdečo, vijolično, škrlatno in modro barvo. Velik vpliv na barvo pigmenta ima hidroksilna skupina na C obroču (slika 1). Za takšno raznolikost barv je pomembna stopnja oksigenacije antocianidinov ter značilnosti in število snovi, kot so sladkorji vezani na kromofore (Veberič, 2010).



Slika 1: Struktura antocianidina (Kay, 2006)

Nahajajo se v vakuolah epidermalnih celic (Kim in sod. 2003). Glavne funkcije antocianov v naravi so privabljanje oprasovalcev, odganjanje invazivnih vrst živali in zaščita fotosistemskega sistema in pred premočno svetlobo. Obarvanost plodov in cvetov, ki je posledica prisotnosti antocianov je odvisna od različnih dejavnikov, kot so struktura antocianov, vrsta in koncentracija dodatnih pigmentov, vrste in koncentracije kovinskih ionov, pH vakuole, pomembno je kje se celice z antociani nahajajo in oblika površinskih celic (Tanaka in sod., 2009).

Cianidin (slika 2) je eden najpogostejših antocianskih pigmentov in je odgovoren za rdeče obarvanje jabolčne kože. Nahaja pa se v obliki cianidin 3-O-galaktozida. Na biosintezo pigmentov vpliva tudi svetloba, še posebej UV žarki in različne stresne razmere (Espley, 2007). Drugi antocianidini so še pelargonidin, delfinidin, peonidin, petunidin in malvidin (Dong, 1995). Med seboj se razlikujejo v številu hidroksilnih skupin, ki so vezane na B obroč. Bolj modra barva antociana pomeni, da je na B obroč vezanih več hidroksilnih skupin (Schwinn in sod., 2004).



Slika 2: Cianidin 3-galaktozid (ChemicalBook, 2010)

Razlike med antociani povzročajo glikozilacija, aciliranje in metilacija. Glikolizacija je vezava molekule sladkorja na kisik. Največkrat je ta sladkor glukoza (Veberič, 2010).

Čeprav so plodovi izpostavljeni dovolj veliki količini svetlobe pa to še ni zagotovilo, da bodo razvili krovno barvo. Faragher (1983) navaja, da je pomembno tudi razmerje med listi in plodovi, ki naj bi bilo večje od 20 listov na en plod za razvoj primerne količine antocianov. Antociani so barvno najbolj stabilni v kislem pH okolju (manj kot pH 3) in so navadno v rdeči ali oranžni barvi. Pri pH 3-6 so navadno v brezbarvni obliki, medtem ko se pri višjem pH pojavljajo v raznih barvnih odtenkih, vendar pa so nestabilni (Veberič, 2010).

Na obarvanost plodov zelo vpliva položaj plodov v krošnji. Bolj izpostavljeni plodovi bodo zaradi vpliva UV žarkov imeli več krovne barve in obratno plodovi, ki so skriti v krošnji bodo razvili manj antocianov (Ubi, 2004). Med pomembnejše naravne dejavnike spadajo še temperaturni stres, patogeni organizmi in mehanske poškodbe (Lancaster 1992) ter koncentracija dušika (Kondo in sod. 2002).

Velik vpliv na obarvanost plodov ima tudi prekomerno gnojenje z dušikom, le-ta povzroča manjšo vsebnost antocianov (Ibrahim in sod., 2011).

2.4 KLOOROFIL

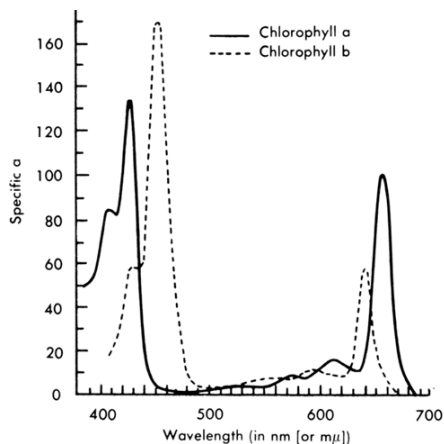
Med asimilacijske pigmente štejemo vse, ki sodelujejo pri prenosu, absorpciji in pretvorbi energije fotosintetsko aktivnega sevanja za potrebe asimilacije CO₂. (Vodnik, 2001).

Klorofili so porfirini, ki zgradbo štirih pirollovih obročev s centralnim magnezijevim ionom. Na osnovni skelet je zaestren fitol. Najpomembnejša klorofila sta klorofil a in klorofil b, poznamo pa še klorofila c in d (Vodnik, 2001).

Karotenoidi in klorofil so v tilakoidnih membranah kloroplasta. Pri pretvorbi energije svetlobe v kemijsko energijo imata ključno vlogo fotosistem I in II, katerih ima klorofil a pomembno funkcijo (Vodnik, 2012).

Sončeva svetloba je sestavljena iz fotonov z različnimi valovnimi dolžinami. Za fotosintezo lahko rastline uporabljajo le del vidnega spektra svetlobe, tistega, ki ga zaznava človeško oko. Klorofila a in b dobro absorbirata rdečo in modro svetlobo, pri

čemer se klorofil a in b med seboj razlikujeta po valovnih dolžinah svetlobe, pri katerih je absorbanca maksimalna (Vodnik, 2012) (Slika 2).



Slika 3: Absorpcijski spekter klorofila a in b (Winona.edu)

Ibrahim in sodelavci (2011b) so naredili poskus vpliva različnih količin dušika na vsebnost klorofila, ter ugotovili, da več kot je bilo dušika večja je bila koncentracija klorofila, fotosinteza je dosegla višji nivo, ter opazili ravno obratni učinek na produkcijo sekundarnih metabolitov. Na vsebnost sekundarnih metabolitov vpliva tekmovalnost med potjo biosinteze beljakovin in sekundarnih metabolitov, ter regulacijo metabolitov.

Na koncu rastne sezone oz. po obiranju plodov klorofil normalno razpade, kar je posledica razpada membran kloroplastov. Včasih plodovi dobijo zeleno rjavo barvo, kar je posledica zamenjave vodikovega iona na mestu kjer je vezan Mg^{2+} ion, pri tem pa se tvori feofitin (Veberič, 2010).

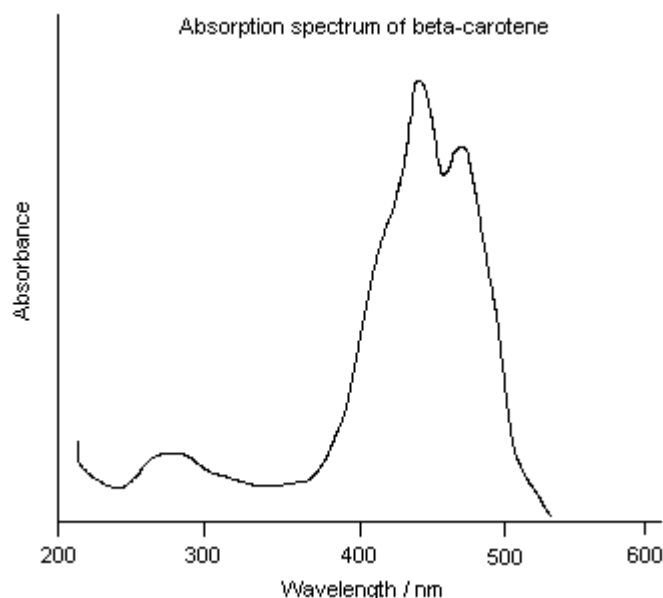
2.5 KAROTENOIDI

Karotenoidi so skupina najbolj razširjenih pigmentov v naravi in spadajo v skupino tetraterpenov (Vodnik 2001). Ime so dobili po korenju, kjer so pigment prvič izolirali (Armstrong in sod., 1996).

Fotosintetski organizmi kot so cianobakterije, alge, višje rastline, pa tudi številne nefotosintetske bakterije in glive producirajo karotenoide. V višjih rastlinah zasledimo karotenoide v plodovih, cvetovih in koreninah v rumeni, oranžni in rdeči barvi. V zelenih tkivih pa jih ne moremo videti pred jesenskim razpadom klorofila (Armstrong in sod., 1996). V celici se karotenoidi nahajajo v tilakoidnih membranah kloroplastov (Vodnik 2001). Lahko se nahajajo v obliki kristalov v kromoplastih, ali pa v maščobnih vakuolah (Veberič, 2010).

Znanih je več kot 600 vrst karotenoidov, delimo jih na ksantofile, ki vsebujejo kisik in na karotene, ki so izključno ogljikovodikovi in ne vsebujejo kisika. Zgradba večine karotenoidov je ogljikovodikova veriga, ki vsebuje od 3 do 15 konjugiranih dvojnih vezi. Število dvojnih vezi v veliki meri določa spektralne lastnosti karotenoida, ki običajno

absorbira svetlobo med 400 in 500 nm (Armstrong G.A. 1996) (Slika 3). Slika prikazuje absorpcijski spekter β -karotena, ki je najpomembnejši med oranžnordečimi karoteni. Karotenoidi so učinkoviti pri absorpciji modre svetlobe. V tem delu vidnega spektra so sposobni absorpcije v večjem intervalu dolžin kot klorofili, ne absorbirajo pa v rdečem (Vodnik, 2012).



Slika 4: Absorpcijski spekter β -karotena (Austincc, 2009)

Karotenoidi so nekoliko bolj obstojni kot klorofil. Po razpadu klorofila pridejo do izraza z značilno rumenkasto oranžno barvo (Veberič 2010). Poleg njihove vizualne privlačnosti opravljajo karotenoidi različne biološke funkcije. Zagotavljajo fotooksidativno zaščito pred oksidativnimi učinki in radikali, ki so nastali v prisotnosti svetlobe in endogenih fotosintetizerjev, kot so klorofil, hem in protoporfirin IX. Med fotosintezo prenašajo energijo žarkov na molekule klorofila, odvajajo odvečno energijo v ksantofilnem ciklu višjih rastlin in nekaterih alg, ter neposredno vplivajo na vzburjeno stanje klorofila. Imajo tudi pomembno vlogo kot prekurzorji vitamina A (Armstrong in sod., 1996).

3 MATERIALI IN METODE

3.1 LOKACIJA IN ČAS POSKUSA

Plodove jablan za analizo smo nabrali na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete v Ljubljani. Poskus smo izvajali skozi rastno sezono leta 2005.

3.2 RASTLINSKI MATERIAL

Izbrali smo jablane sorte 'Zlati delišes' in 'Elstar', ki sta del intenzivnega sadovnjaka. Obe sorti sta bili cepljeni na podlago M9 in sta imeli gojitveno obliko sončna os. Medsebojne razdalje dreves so bile $1,2 \times 3,2$ m. Obravnavana drevesa so bila v polni rodnosti in niso bila starejša od 7 let. Vsako obravnavanje je vsebovalo pet jablan. Drevesa smo izbrali naključno, vendar tako, da sta v vsakem obravnavanju vsaj dve drevesi rasli skupaj.

3.2.1 Opis sorte 'Elstar'

Sorta 'Elstar', ki so jo razvili leta 1950 na Nizozemskem je križanka sorte 'Zlati delišes' in sorte 'Ingrid Marie'. Zaradi okusnih in privlačnih plodov je pri nas in v tujini zelo priljubljena sorta (Viršček-Marn in Stopar, 1998).

Drevo raste bujno in razvije gosto krono. Zelo je občutljivo na škrlup (*Venturia inaequalis* (Cooke) Wint.), občutljivo pa je tudi na jablanovo pepelovko (*Podosphaera leucotricha* (Ellis & Everh.) E.S. Salmon) in nizke zimske temperature (Štampar 2009). Poganjki pozno dozorevajo, zato je sorto potrebno le zmerno in pravočasno gnojiti z dušikom, sicer grozi nevarnost zimskih pozeb v mrzlih zimah (Črnko in sod., 1990).

Plod je srednje velik, koža pa ima oranžnordečo do živordečo krovno barvo, z bolj ali manj izrazitimi temnejšimi prižami. Delež krovne barve je odvisen od osvetlitve, podnebja, vremena in oskrbe ter znaša od nekaj do 80% (Viršček-Marn in Stopar, 1998).

Za boljše obarvanje plodov je treba opraviti poletno rez malo pred obiranjem, konec avgusta (Štampar in sod., 2009).

3.2.2 Opis sorte 'Zlati delišes'

Sorta 'Zlati delišes' se v originalu imenuje 'Golden Delicious', ima pa kar nekaj sinonimov, kot so 'Stark Golden Delicious', 'Mullins Yellow seedling', 'Gelber köstlicher', itd. (Viršček-Marn in Stopar, 1998).

Izvira iz Amerike in je naključni sejanec, ki ga je leta 1890 odkril Anderson H. Mullins v ameriški zvezni državi West Virginia, razširjena pa je bila leta 1916 (Sancin in sod., 1988).

Drevo je srednje bujne rasti in razvije gosto in razprto krošnjo. Sorta je nagnjena k alternanci oziroma izmenični rodnosti. Sorta 'Zlati delišes' na vegetativni podlagi M9 je idealna kombinacija rasti in rodnosti za sodobne goste nasade (Črnko in sod., 1990).

Plodovi zorijo v zadnji tretjini septembra. So srednje debeli, njihova kožica pa je tanka, zlatorumene barve, nedozoreli plodovi pa ostanejo zeleni. Na sončni strani je kožica včasih prekrita z rdečkastimi odtenki ali z rjastimi madeži (Godec in sod., 2007).

Zaradi dolgih pecljev je sorta odporna proti vetru in plodovi ne odpadajo. Občutljivi so za otiske, zelo občutljiva pa je na škrlup in zahteva rodovitna in ne prevlažna tla. Z žlahtnjenjem so vzgojili nekaj klonov, ki so bolj odporni na viruse, plodov ne napada rja, imajo bolj šibko rast ter dobro in redno rodnost (Viršček-Marn in Stopar, 1998).

3.2.3 Opis podlage 'M9'

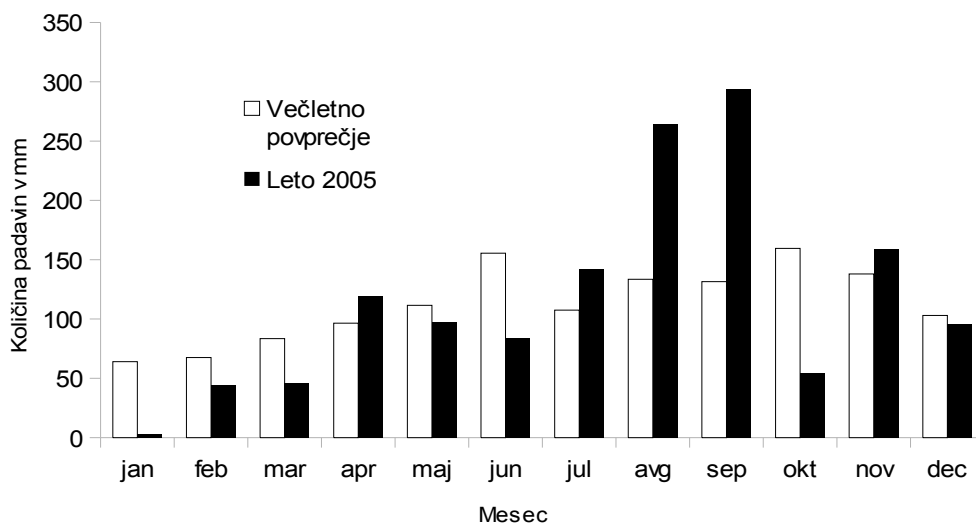
Drevesa na katerih smo izvedli poskus na Laboratorijskem polju so cepljena na podlago 'M9', ki je tudi ena najbolj razširjenih šibkorastočih podlag za jablane pri nas in po svetu. Je šibka podlaga, zato drevesa potrebujejo oporo. Najbolje uspeva v globokih, humoznih, zmerno vlažnih in prepustnih tleh. Vpliva na zgodnjo in obilno rodnost (Jazbec in sod., 1985).

Občutljiva je na zadrževanje vode v tleh, jablanovo pepelovko (*Podosphaera leucotricha* (Ellis & Everh.) E.S. Salmon), jablanov škrlup (*Venturia inaequalis* (Cooke) Wint.), kravavo uš (*Eriosoma lanigerum* (Hausmann)), hrušev ožig (*Erwinia amylovora* (Burrill)), zimski mraz in voluharja (Štampar in sod., 2009).

Odporna je proti gnilobi koreninskega vratu (*Phytophthora cactorum*) (Jazbec in sod., 1985). S tem, ko so podlago očistili virusov, so pridobili različne tipe te podlage. Tukaj je nekaj najpomembnejših: EMLA, T337, PAJAM 1 in PAJAM 2 (Štampar in sod., 2009).

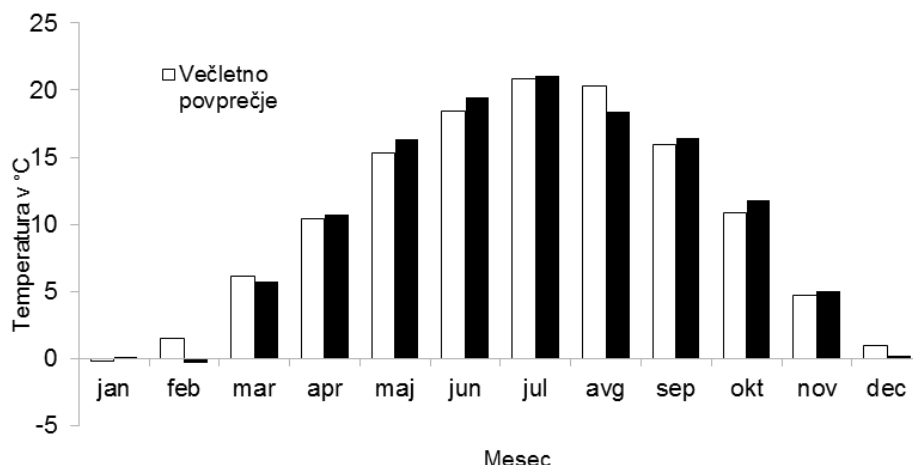
3.3 VREME

Naredili smo primerjavo količin padavin (Slika 4) in višino temperatur (Slika 5) za leto 2005 v primerjavi z dolgoletnim povprečjem med leti 1981 in 2000.



Slika 5: Povprečne mesečne padavine v letu 2005 v primerjavi z dolgoletnim povprečjem padavin v obdobju 1981 – 2000 za Ljubljano (Stat.si, 2012)

Iz slike 4 lahko razberemo, da so bile količine padavin v prvi polovici leta z izjemo aprila močno pod dolgoletnim povprečjem padavin. V drugi polovici leta pa sta bila avgust in september daleč nad letnim povprečjem padavin. Kljub neenakomerni razporeditvi padavin je v letu 2005 padlo za 50 mm več dežja (1402 mm) kot v dolgoletnem povprečju (1352 mm).



Slika 6: Povprečne mesečne temperature za leto 2005 v primerjavi z dolgoletnim povprečjem temperatur v obdobju 1981 – 2000 za Ljubljano (Stat.si, 2012)

Temperature v letu 2005 so bile večino časa rastne dobe nekoliko nad dolgoletnim povprečjem. Izstopajo predvsem maj, junij in oktober. Vendar je bila povprečna dolgoletna temperatura minimalno višja od povprečne leta 2005 za 0,03 °C na račun toplejših zimskih dni.

3.4 ZASNOVA POSKUSA

Poskus je bil izveden v letu 2005 s tremi obravnavanji, tako da je vsako obravnavanje vključevalo pet naključno izbranih dreves.

Dušik smo potrosili v obliki mineralnega gnojila KAN, ki ga proizvaja podjetje Kutina iz Hrvaške. Kemična formula KAN-a je $5(\text{Ca}(\text{NO}_3)_2) \text{NH}_4\text{NO}_3 \cdot 10(\text{H}_2\text{O})$. Vsebuje 27% dušika, od tega ga je 13,5 % v nitratni obliki in 13,5 % v amonijski obliki (Prša, 2012). Pri foliarnem obravnavanju smo dušik dodali preko listov s foliarnim gnojenjem. Pripravek se je imenoval Stopgril, njegova sestava pa je 144 g/l N, 120 g/l CaO, 252 g/l MgO. Priporočeni odmerek je 5 l/ha, tako da smo v treh odmerkih dodali skupno 2,16 kg/ha N.

V preglednici 1 so predstavljena obravnavanja.

Preglednica 1: Obravnavanja in dodane količine dušika

Sorta	Obravnavanje	Količina dodanega dušika v kg/ha
Zlati delišes'	KON	0
Zlati delišes'	NA	60
Zlati delišes'	NB	200
Zlati delišes'	NC	foliarno gnojenje (2,16 kg/ha N)
Elstar'	KON	0
Elstar'	NA	60
Elstar'	NB	200
Elstar'	NC	foliarno gnojenje (2,16 kg/ha N)

Gnojilo smo nanašali dvakrat v razmaku 14 dni v polovičnih dozah. Foliarno pa smo gnojili trikrat v roku enega meseca (preglednica 2).

Preglednica 2: Datum nanašanja gnojila KAN ter foliarno gnojenje in datumi vzorčenja

Datum gnojenja	Datum vzorčenja	
20.4.2005 1. polovica celotnega odmerka	I. vzorčenje	17.6.2005
4.5.2005 2. polovica celotnega odmerka	II. vzorčenje	1.7.2005
1.6.2005 foliarno gnojenje	III. vzorčenje	10.8.2005
16.6.2005 foliarno gnojenje	IV. vzorčenje	24.8.2005
4.7.2005 foliarno gnojenje	V. vzorčenje	14.9.2005
	VI. vzorčenje	27.9.2005

Sorta 'Zlati delišes' je bila v polnem cvetenju 27. aprila, sorta 'Elstar' pa 29. aprila. Sorta 'Zlati delišes' je tehnološko zrelost dosegla 29. septembra, sorta 'Elstar' pa 14. septembra. Zato pri sorti 'Elstar' nimamo šestega vzorčenja.

3.5 METODE DELA

3.5.1 Priprava vzorcev

Vzorčenje plodov smo opravili v času kot je navedeno v preglednici 2. V prvem in drugem vzorčenju smo nabrali po osem plodičev iz celotne krošnje, nato pa smo jih takoj shranili v hladilno torbo in prenesli v laboratorij. Prav tako smo naredili pri ostalih vzorčenjih, le da smo tam vzeli po dva ploda, ki sta bila najbolj izpostavljena sončnim žarkom. Vzorčenje smo opravljali v popoldanskem času.

V laboratoriju smo za vzorce klorofila jemali zeleni del kože, za antociane pa obarvan del kože. Vzorce smo takoj za tem hitro zamrznili s tekočim dušikom in jih shranili v zamrzovalni skrinji na -20°C do nadaljne analize.

3.5.2 Merjenje in analiza vsebnosti klorofila v kožici plodov

Vsebnost klorofila v kožici plodov smo merili s pomočjo spektrofotometra (Lambda Bio 20, Perkin Elmer). Vzorci so bili pri analizi še globoko zamrznjeni.

Preparat za analizo smo pripravili tako, da smo iz zmrznjenih koščkov kožice izrezali male diske premera 4 mm. Diske smo dali v 1,5 ml epruvetke (ependorf) in jih prelili z 0,5 ml dimetilsulfoksidom ($((\text{CH}_3)_2\text{SO})$), ki deluje kot organsko topilo. Nato smo dodali magnezijev hidroksikarbonat ($4\text{MgCO}_3 \times \text{Mg}(\text{OH})_2 \times 5\text{H}_2\text{O}$). Njegova naloga je, da ustvari veliko koncentracijo magnezija v okolju, da se na mesto magnezijevega iona ne veže vodikov ion (H^+) in s tem prepreči nastanek feofitina (molekula klorofila brez centralnega Mg^{2+} iona).

Diskaste vzorce smo zaradi boljše ekstrakcije zmečkali in dodali še 0,5 ml dimetilsulfoksida. Epruvete smo postavili v vodno kopel na 65°C za dve uri. Po tem času smo jih ohladili na sobno temperaturo. Tako so bili pripravljeni vzorci za analizo (metoda po Wellburn-u 1994).

Postopek priprave poteka v temi, saj pigmenti na svetlobi hitro razpadejo.

Izmerili smo absorbance pri valovni dolžini 480 nm, 649 nm in 665 nm. Na podlagi teh podatkov smo dobili po spodaj navedenih formulah vsebnosti:

- klorofila a (K_a) ($\mu\text{g/ml}$ ekstrakta) po formuli $12,19 \times A_{665} - 3,45 \times A_{649}$

- klorofila b (K_b) ($\mu\text{g/ml}$ ekstrakta) po formuli $21,99 \times A_{649} - 5,32 \times A_{665}$

- skupnih karotenov (K_t) ($\mu\text{g/ml}$ ekstrakta) po formuli $(1000 \times A_{480} - 2,14 \times K_a - 70,16 \times K_b)/220$

K_a – Klorofila a

K_b – Klorofil b

K_t – Skupni karoteni

A_{480} – Absorbanca pri 480 nm

A_{649} – Absorbanca pri 649 nm

A_{665} – Absorbanca pri 665 nm

3.5.3 Merjenje in analiza vsebnosti antocianov v kožici plodov

Vzorci za analizo antocianov smo pripravili tako, da smo kožo prelili s tekočim dušikom in jo nato v terilnici zmleli. Nato smo odtehtali 3 g vzorca v 50 ml epruvetke, ter dodali 20 ml metanola (MeOH), ki je vseboval še 3% mravljične kisline (HCOOH) in 1% 2,6-di-*tert*-butilfenola (BHT). Vzorce smo nato dali v ultrazvočno kopel za 1 uro, ter ves čas dodajali led zaradi preobčutljivosti pigmentov na višjo temperaturo ter skrbeli, da so ves čas v temi. Nato smo jih centrifugirali 7 minut na 10.000 obratih na minuto. Vzorce smo nato prefiltrirali skozi poliamidni filter s premerom por $0,45 \mu\text{m}$ v vialo. Tako so bili pripravljeni vzorci na tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti (HPLC). Metoda je povzeta po Escarpa in Gonzalez (2000).

Dobljeni rezultati so bili predstavljeni kot vsebnost idaein-a (cianidin 3-galaktozid) v mg/kg kože.

Analiza je bila opravljena na katedri za sadjarstvo, vinogradništvo in vrtnarstvo, Biotehniške fakultete v Ljubljani. Meritve smo opravili na tekočinskem kromatografu Surveyor Thermo Finnigan (San Jose, ZDA). Volumen vzorca je znašal 20 μ m, hitrost pretoka pa je bila 1 ml/min, čas trajanja analize je bil 45 min. Antociane smo merili pri valovni dolžini 530 nm.

3.5.4 Statistična obdelava podatkov

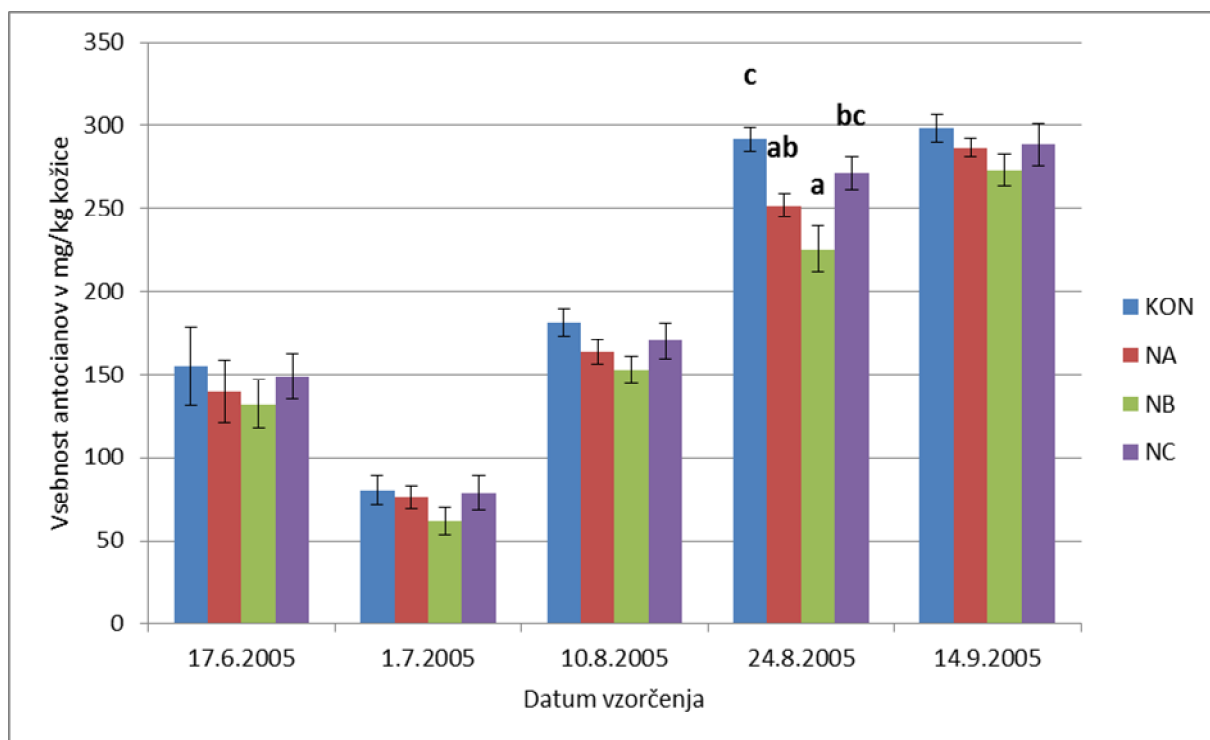
Zbrane podatke meritev in analiz smo grafično uredili v programu Microsoft Excel in jih statistično obdelali s programom Statgraphics plus 4.0. Statistično značilne razlike smo med obravnavanji ugotavljali po metodi analize variance (ANOVA). Razlike med obravnavanji smo testirali s testom mnogoterih primerjav, Duncanov test. Upoštevali smo 5% tveganje.

4 REZULTATI

4.1 VSEBNOST ANTOCIANOV

4.1.1 Vsebnost antocianov v kožici plodov pri sorti 'Elstar'

Pri vsebnosti antocianov v plodovih opazamo, da njihova vrednost pri drugem vzorčenju pade, nato pa konstantno narašča, ko pri četrtem obiranju že skoraj doseže končno vsebnost. Celostno gledano vidimo, da so največje vrednosti antocianov vedno pri kontrolnih obravnavanjih, se pravi brez dodanega dušika, nato pa vrednosti padajo po obravnavanjih NC>NA>NB, vendar razlike niso statistično značilne.

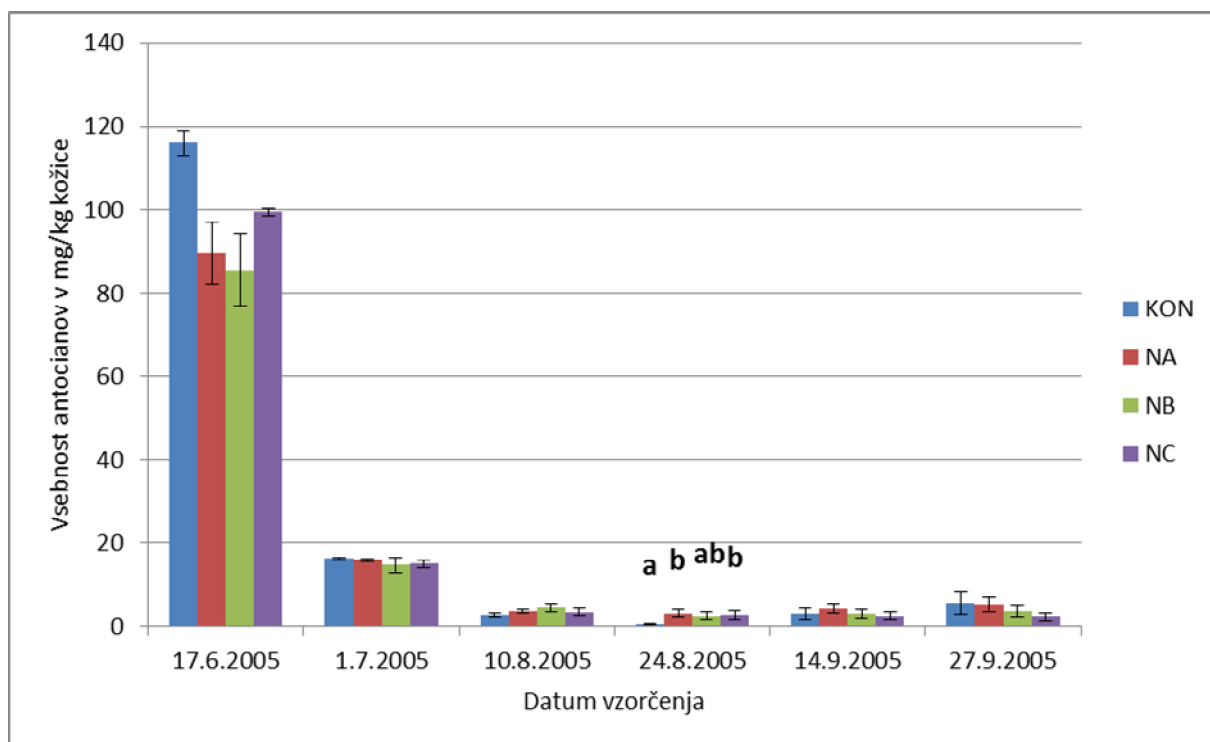


Slika 7: Vsebnost antocianov (povprečje $\pm$ SN v mg/kg sveže mase) v kožici plodov pri sorti 'Elstar' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje. Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p < 0,05$) med povprečji

Pri sorti 'Elstar' (priloga A1, slika 6) nismo pri različnih vzorčenjih med obravnavanji opazili statično značilnih razlik, razen pri četrtem vzorčenju, kjer lahko vidimo, da je največja vsebnost antocianov pri kontrolnem obravnavanju, najmanjša pa pri gnojenju z 200 kg dušika/ha. Kontrolno obravnavanje je imelo večje vsebnosti antocianov od NA obravnavanja za 13,7% in od obravnavanja NB za 22,7%. Tudi razlika med obravnavanjem s foliarnim gnojenjem in NB obravnavanjem je bila 16,8% v prid foliarnega gnojenja.

4.1.2 Vsebnost antocianov v kožici plodov pri sorti 'Zlati delišes'

Pri sorti 'Zlati delišes' (priloga A2, slika 7) lahko opazimo, da so plodiči v prvem vzorčenju še vsebovali antociane, vendar razlike med obravnavanji niso bile statistično značilne. Vsebnost antocianov je nato strmo padla že pri drugem vzorčenju, kasneje pa jih skoraj ni bilo več.



Slika 8: Vsebnost antocianov (povprečje $\pm$ SN v mg/kg sveže mase) v kožici plodov pri sorti 'Zlati delišes' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje. Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p < 0,05$) med povprečji

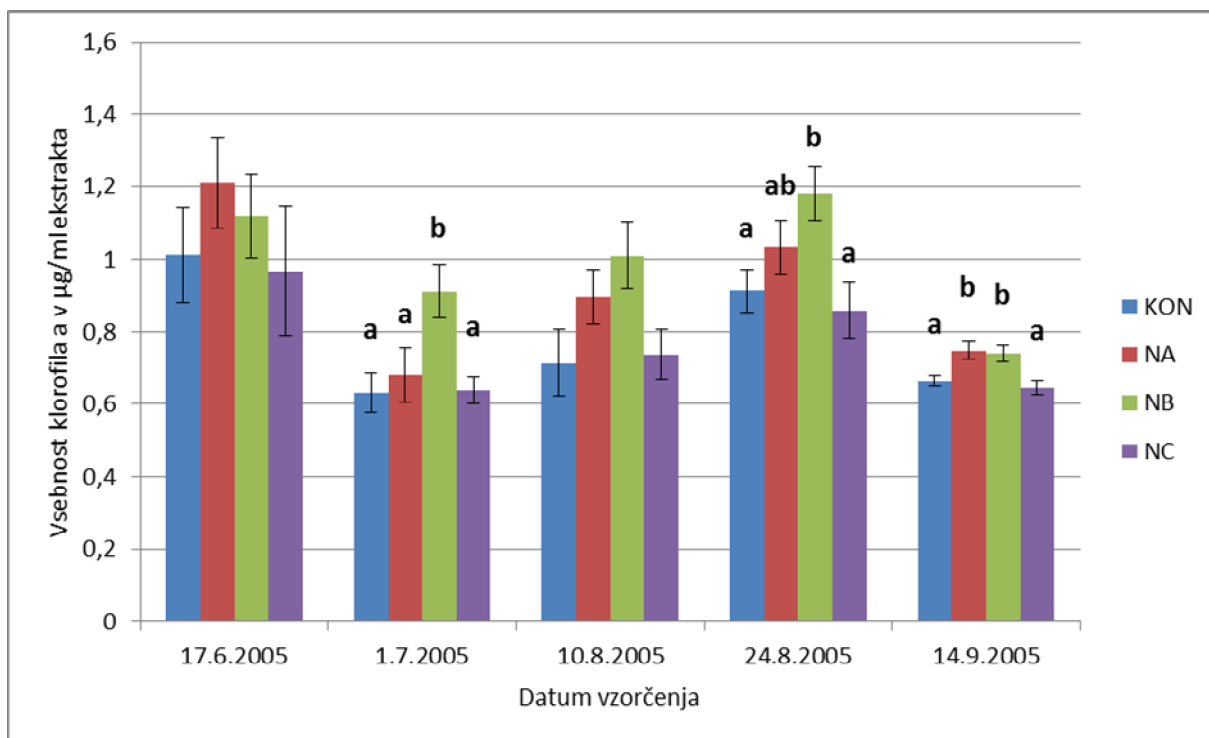
Statistično značilne razlike med obravnavanji smo dobili le pri četrtem vzorčenju, kjer je bila razlika med največjo vrednostjo pri NC obravnavanju in najmanjšo vrednostjo pri kontroli 2,2 mg/kg sveže mase. Vendar pa so to tako majhne vrednosti antocianov, da so razlike med obravnavanji zanemarljive. Le pri prvem vzorčenju lahko vidimo, da so vrednosti med obravnavanji podobne kot pri sorti 'Elstar', se pravi KON>NC>NA>NB. Pri ostalih vzorčenjih pa so vsebnosti antocianov zelo majhne. Opazimo lahko, da ima kontrola najmanjšo vsebnost antocianov pri četrtem vzorčenju.

4.2 VSEBNOST KLOOROFILA

4.2.1 Vsebnost klorofila a

4.2.1.1 Vsebnost klorofila a pri sorti 'Elstar'

Rezultati meritve vsebnosti klorofila a (priloga B1, slika 8) nam kažejo, da izstopa obravnavanje NB, kjer smo lahko v treh vzorčenjih tudi dokazali statistično značilne razlike. V drugem vzorčenju je bila vsebnost klorofila a pri NB obravnavanju večja za 30% od ostalih obravnavanj.



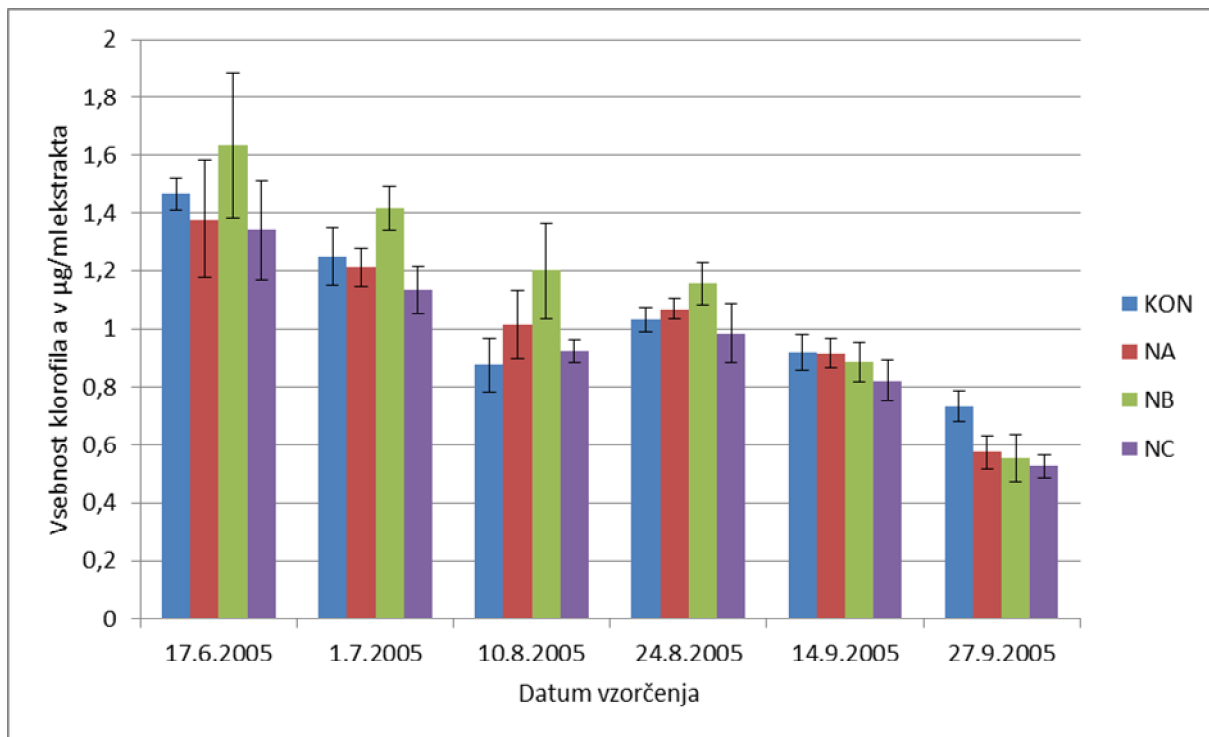
Slika 9: Vsebnost klorofila a (povprečje $\pm$ SN v $\mu\text{g/ml}$ ekstrakta) v kožici plodov pri sorti 'Elstar' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje. Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p < 0,05$) med povprečji

Statistično značilne razlike smo dobili še v četrtem in petem vzorčenju. Pri četrtem vzorčenju je obravnavanje NB izstopalo pred ostalimi obravnavanji za 17 %. V petem vzorčenju sta bili vsebnosti nivoja klorofila a podobni pri obravnavanjih NA in NB, ter pri KON in NC. Večje vsebnosti smo izmerili pri obravnavanjih NA in NB za 13,5 % pred kontrolnim in foliarnim obravnavanjem.

Generalno gledano vsebnost klorofila a zelo izstopa pri NB obravnavanju skozi celotno sezono, razen pri prvem vzorčenju. Kontrola in obravnavanje s foliarnim gnojenjem pa sta imela ves čas podobne rezultate.

4.2.1.2 Vsebnost klorofila a pri sorti 'Zlati delišes'

Tudi pri sorti 'Zlati delišes' (priloga B2, slika 9) vidimo, da izstopa obravnava NB, vendar so razlike med obravnavanji majhne in ni statistično značilnih razlik. Opazimo lahko tudi, da vsebnost klorofila a skozi celotno sezono počasi pada.

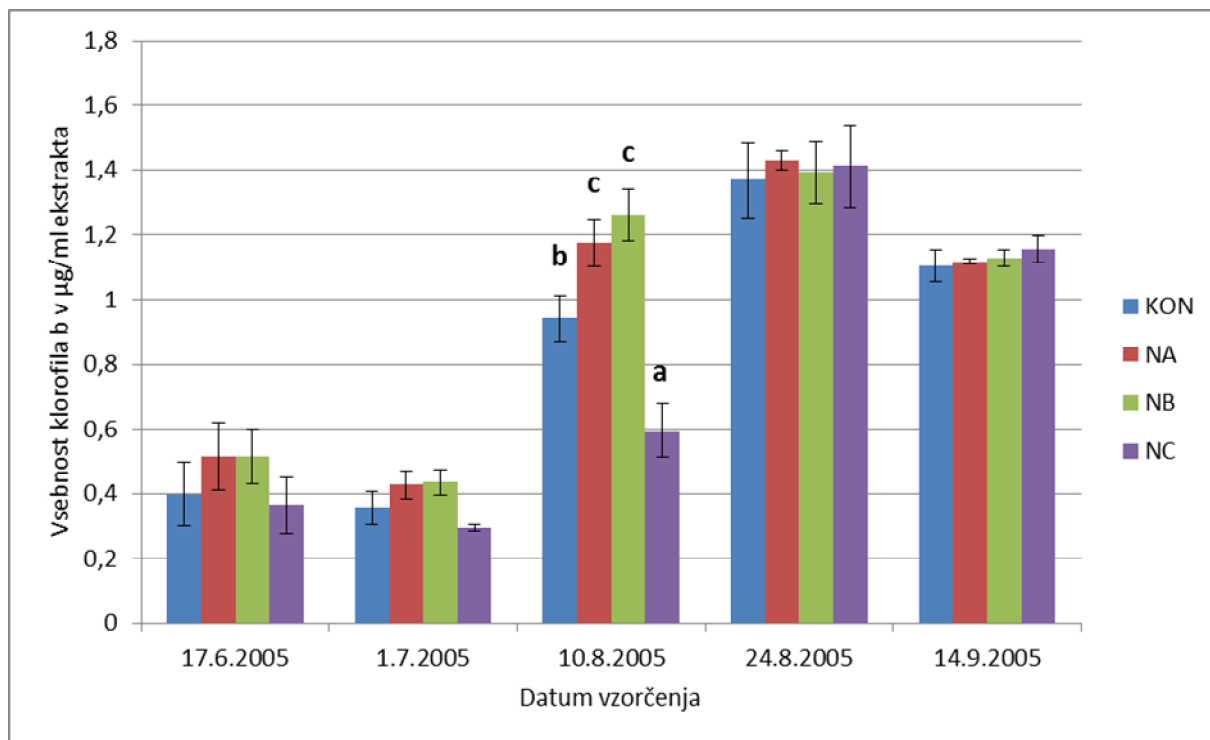


Slika 10: Vsebnost klorofila a (povprečje $\pm$ SN v $\mu\text{g/ml}$ ekstrakta) v kožici plodov pri sorti 'Zlati delišes' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje. Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) med povprečji

4.2.2 Vsebnost klorofila b

4.2.2.1 Vsebnost klorofila b pri sorti 'Elstar'

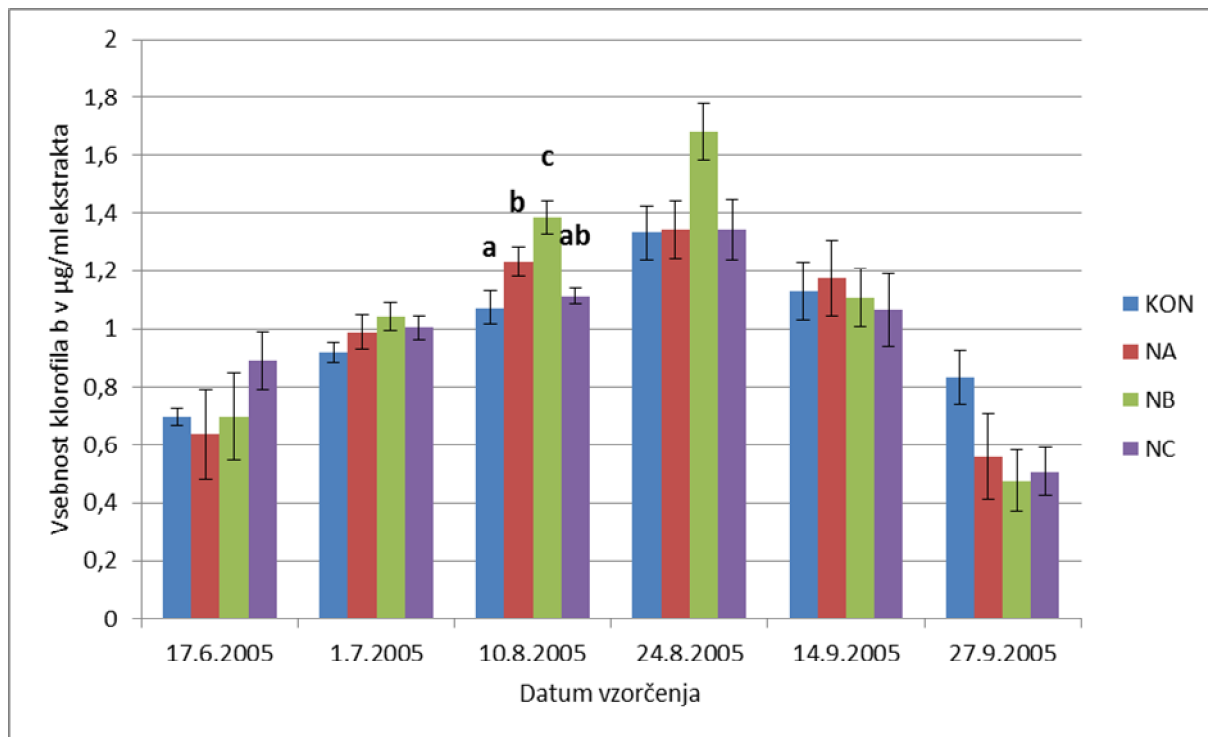
Pri klorofilu b smo dobili statistično značilne razlike le pri tretjem vzorčenju (priloga C1, slika 10). Vsebnost klorofila b pri obravnavi NB in NA je bila v povprečju vvečja od NC obravnavanja za 50% ter 21% večja od KON obravnavanja. Drugače pa so rezultati med vzorčenji dokaj neenakomerno porazdeljeni, razlike med obravnavanji pa so majhne.



Slika 11: Vsebnost klorofila b (povprečje $\pm$ SN v $\mu\text{g/ml}$ ekstrakta) v koži plodov pri sorti 'Elstar' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje. Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p < 0,05$) med povprečji

4.2.2.2 Vsebnost klorofila b pri sorti 'Zlati delišes'

Na tej sliki lahko vidimo kakšen je bil sezonski potek razvoja in padca klorofila b, ki je dosegel največje vrednosti 24.8.2005 pri četrtem vzorčenju, nato pa pri zadnjem, poznem vzorčenju (27.09.2005) že strmo padel.



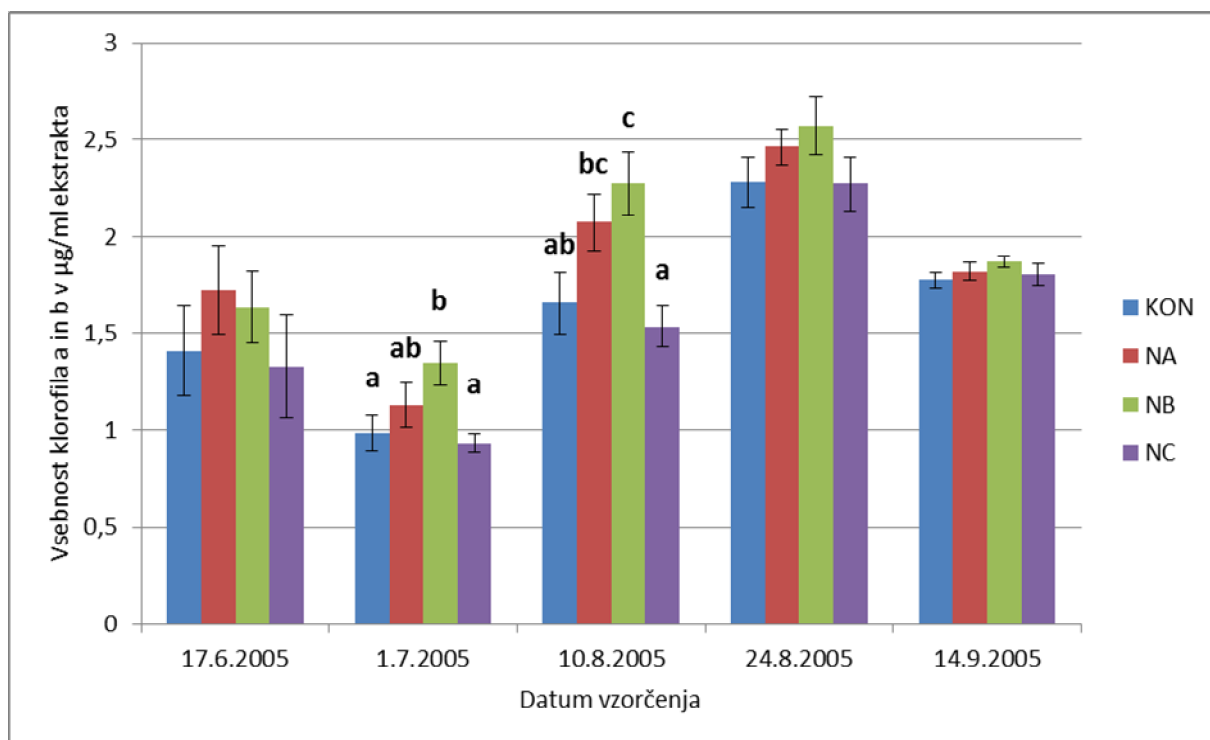
Slika 12: Vsebnost klorofila b (povprečje $\pm$ SN v $\mu\text{g/ml}$ ekstrakta) v kožici plodov pri sorti 'Zlati delišes' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje. Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p < 0,05$) med povprečji

Pri sorti 'Zlati delišes' (priloga C2, slika 11) imamo podobno kot pri sorti 'Elstar' statistično značilne razlike pri tretjem vzorčenju, kjer zopet prevladuje po vsebnosti klorofila b obravnavanje NB za 20% od obravnavanj NC in kontrolnega obravnavanja. Obravnavanje NB je imelo za 11% večje vrednosti od obravnavanja NA.

4.2.3 Vsebnost skupnega klorofila

4.2.3.1 Vsebnost skupnega klorofila pri sorti 'Elstar'

Pri seštevku vsebnosti klorofila a in b (priloga D1, slika 12) dobimo nekoliko bolj razgibano sliko, vendar vidimo, da največje vsebnosti klorofila še vedno dosegajo plodovi, katerih drevesa smo gnojili z največjimi odmerki dušika. Po pričakovanjih ima kontrola zopet najmanjše vrednosti oziroma je izenačena z NC obravnavanjem. Pred obiranjem je videti padec vsebnosti skupnega klorofila.



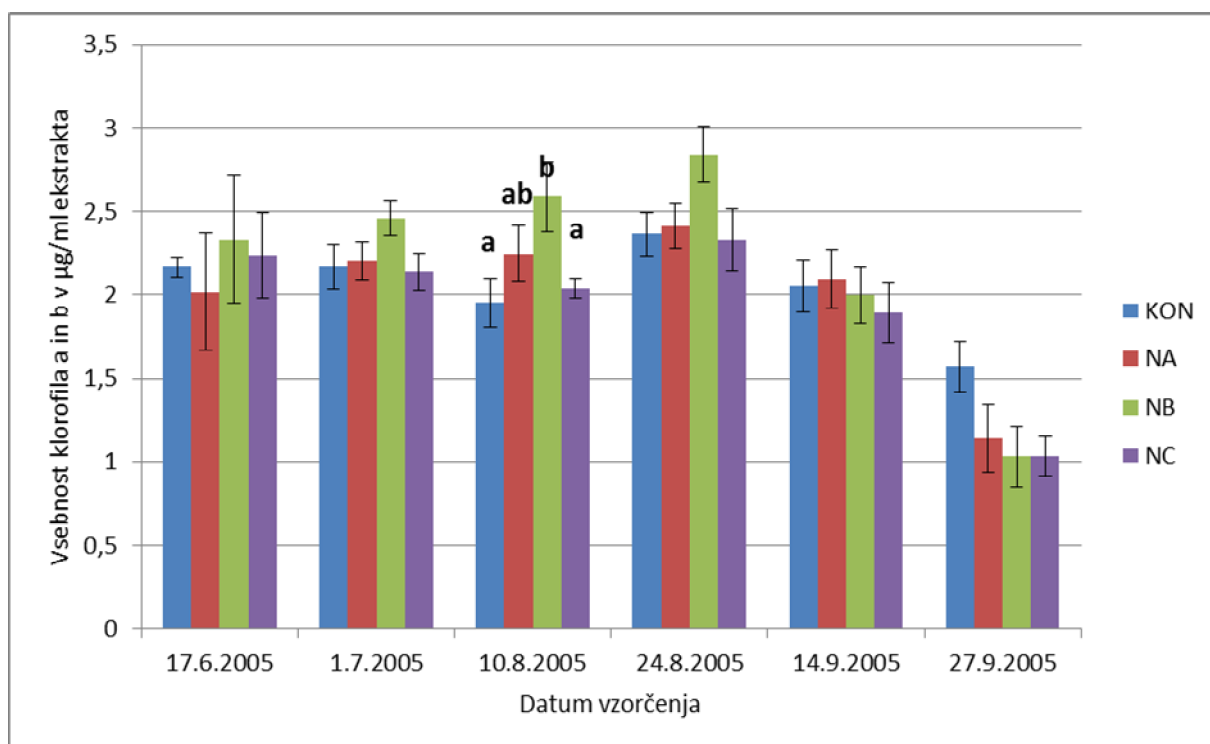
Slika 13: Vsebnost skupnega klorofila (povprečje $\pm$ SN v $\mu\text{g/ml}$ ekstrakta) v kožici plodov pri sorti 'Elstar' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje. Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p < 0,05$) med povprečji

Dobili smo tudi statistično značilne razlike pri drugem in tretjem vzorčenju. Pri drugem vzorčenju je razlika med obravnavanjem NB in ostalimi obravnavanji v povprečju za 24% v prid obravnavanju NB. Podobna slika je tudi pri tretjem vzorčenju, le da je tu razlika med NB obravnavanjem in kontrolo ter obravnavanjem s foliarnim gnojenjem skoraj 30%.

4.2.3.2 Vsebnost skupnega klorofila pri sorti 'Zlati delišes'

Vrednosti skupnega klorofila (priloga D2, slika 13) so skozi celotno rastno sezono enako velike, po pričakovanjih proti koncu začenjajo upadati. Ugotavljamo še vedno velike vsebnosti pri NB obravnavanju, zanimivo pa je, da smo pri zadnjem vzorčenju izmerili največje vsebnosti pri kontroli, kjer dušika nismo dodali.

Statistično značilne razlike smo dobili pri tretjem vzorčenju, kjer je po pričakovanjih NB obravnava imela največjo vrednost, najmanjša pa je bila pri kontroli in NC obravnavanju. Razlika v vsebnosti je znašala 22%.



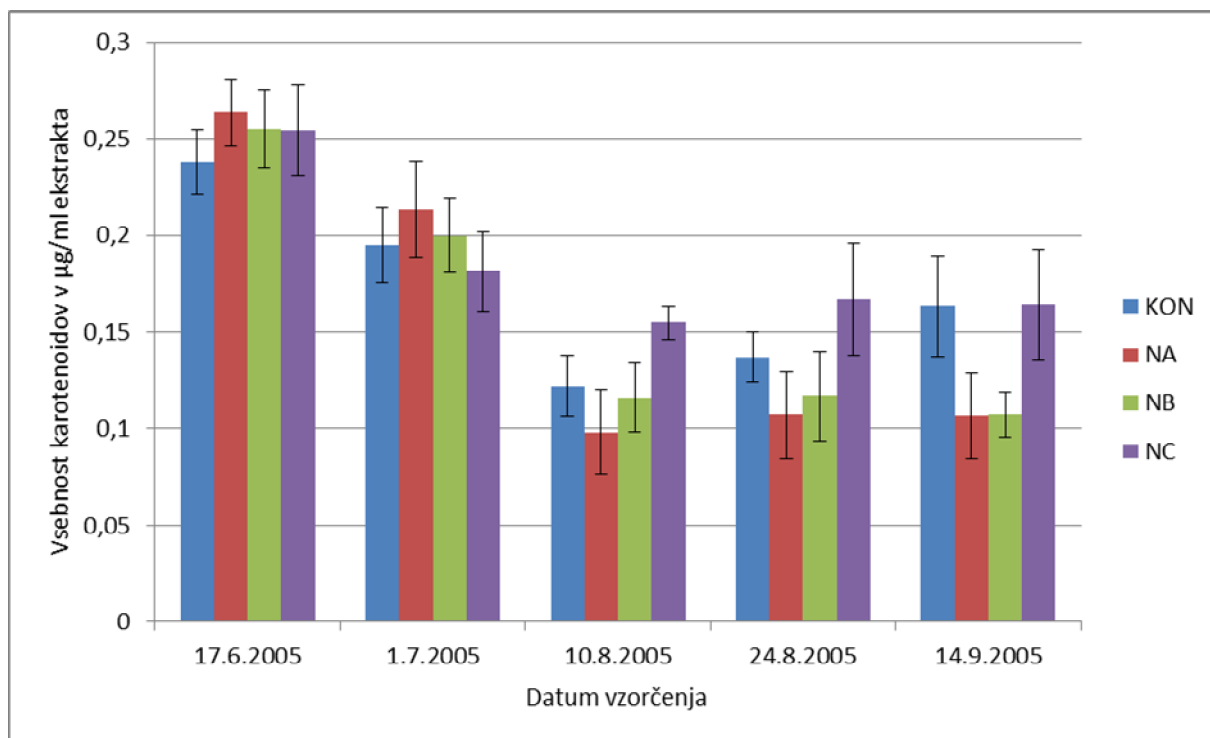
Slika 14: Vsebnost skupnega klorofila (povprečje $\pm$ SN v $\mu\text{g/ml}$ ekstrakta) v kožici plodov pri sorti 'Zlati delišes' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje. Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p < 0,05$) med povprečji

Padec skupnega klorofila ob koncu rastne sezone pripisujemo razpadu barvil ob zaključku rasti in razvoja plodu.

4.2.4 Vsebnost karotenoidov

4.2.4.1 Vsebnost karotenoidov pri sorti 'Elstar'

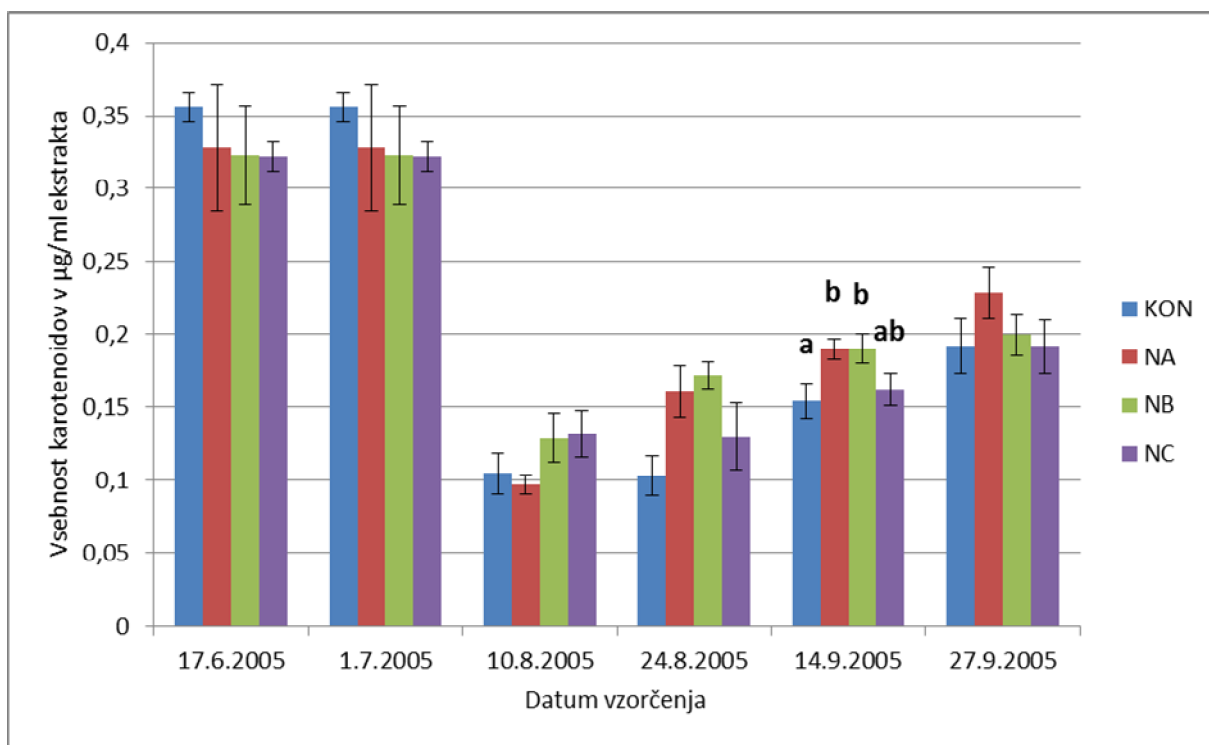
Rezultati karotenoidov pri sorti 'Elstar' (priloga E1, slika 14) nam ne dajo statistično značilnih razlik. Vidi se upadanje karotenoidov v prvi polovici sezone, nato pa se njihova vsebnost ohranja do obiranja.



Slika 15: Vsebnost karotenoidov (povprečje $\pm$ SN v $\mu\text{g/ml}$ ekstrakta) v kožici plodov pri sorti 'Elstar' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje. Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) med povprečji

4.2.4.2 Vsebnost karotenoidov pri sorti 'Zlati delišes'

Pri tej sorti (priloga E2, slika 15) opazimo podoben sezonski potek rezultatov v primerjavi s sorto 'Elstar'. V plodičih je vsebnost karotenoidov velika, nato pri vseh obravnavanjih močno pade in se z zorenjem počasi poveča. Po padcu vidimo porast karotenoidov pri NA in NB obravnavanjih.



Slika 16: Vsebnost karotenoidov (povprečje $\pm$ SN v $\mu\text{g/ml}$ ekstrakta) v kožici plodov pri sorti 'Zlati delišes' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje. Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) med povprečji

Meritve vsebnosti v plodovih petega vzorčenja nam dajo tudi statistično značilne razlike. Vsebnost karotenoidov pri NA in NB obravnavanjih sta praktično enaka in imata za 20 % večjo vsebnost karotenoidov od kontrolnega in NC obravnavanja.

5 RAZPRAVA

Naš poskus v letu 2005 je zajemal meritve vsebnosti antocianov, klorofilov in karotenoidov v kožici plodov dveh sort jablan 'Elstar' in 'Zlati delišes'. Spremljali smo vpliv različnih količin dušika na obarvanost plodov v štirih obravnavanjih KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje (144 g/l N).

5.1 ANTOCIANI V KOŽICI PLODOV

Vsebnost antocianov v kožici plodov jablane je odvisna predvsem od sorte, njenega genotipa, klimatskih razmer, tehnologije pridelave, dodajanja hranil in stopnje zrelosti. Z zorenjem je naraščala tudi vsebnost antocianov (Abbott in sod., 2004).

Merili smo glavni glikozid cianidina v obliki cianidin-3-galaktozid oz. idaein (Lancaster in sod., 1992), ki je tudi najbolj zastopan, saj predstavlja skoraj 98% antocianov (Jakopič in sod., 2010).

Kako pomemben je položaj plodu na drevesu za obarvanost so naredili raziskavo tudi Awad in sod. (2000). Ugotovili so, da so plodovi na vrhu krošnje razvili za skoraj 85% več antocianov, kot tista v notranjosti krošnje. Meritve vsebnosti antocianov glede na položaj plodu glede na smer neba so dale podobne rezultate, vendar so plodovi na vrhu krošnje še vedno vsebovali za 40 % več antocianov. V našem poskusu smo pobirali vzorce iz srednjega dela krošnje.

Na podlagi naših rezultatov lahko ugotovimo, da smo pri sorti 'Elstar', ki ima izrazito krovno barvo, morda malo prepozno opravili zadnje obiranje. Idealni termin je konec avgusta in morda še prvi teden septembra. Zato rezultati pri zadnjem obiranju niso kazali takšnih razlik med obiranjem, kot se vidijo v terminu prej, kjer bi lahko rekli, da je gnojenje z velikimi količinami dušika značilno vplivalo na manjši razvoj antocianov. Takšne rezultate so dobili tudi Ibrahim in sod. (2011a). Pri podobnem poskusu so Wargo in sod. (2000) na sorti 'Jonagold' s foliarnim gnojenjem in mineralnimi gnojili dosegli za 10-16% manj krovne barve.

Sorta 'Zlati delišes' lahko na začetku vsebuje nekaj krovne barve v kožici plodičev, vendar pa ta kmalu zgine. Nekaj krovne barve imajo lahko plodovi, ki so dalj časa izpostavljeni svetlobi. Ne glede na to, da smo dobili pri četrtem vzorčenju statistično značilne razlike, ne moremo govoriti o vplivu dušika na obarvanost in s tem na vsebnost idaeina, saj so vsebnosti v tem obdobju zelo majhne.

Podobne rezultate so pri tej sorti dobili tudi Wolfe in sod. (2003) le, da so za primerjavo merili antociane še v sortah 'Idared', 'Rome Beauty' in 'Cortland'.

Kljub tako majhnim vsebnostim antocianov pri sorti 'Zlati delišes' pa so Ju in sod. (1996) ugotovili, da ima plod katerega del kože je bil na soncu enkrat večje vsebnosti, kot del kože, ki je bil v senci. Pri našem poskusu, kjer smo vzeli za analizo antocianov le dobro osvetljeni del kožice, tega nismo opazili.

5.2 KLOOROFIL V KOŽICI PLODOV

Ugotavljali smo tudi kako vplivajo različne količine in metode nanosa dušika na vsebnost klorofila v kožici plodov. Pri sorti 'Elstar' smo v treh vzorčenjih dobili statistično značilne rezultate pri določanju vrednosti za klorofil a. Največje vsebnosti smo izmerili v vzorcih z največjimi odmerki dušika. V tem primeru bi lahko rekli, da smo z dušikom dosegli pričakovane rezultate. Pri sorti 'Zlati delišes' nismo dobili podobnih rezultatov. Kljub večjim vsebnostim pri vzorcih z večjimi odmerki dušika pri klorofilu a nismo dobili statistično značilnih razlik.

Pri določanju klorofila b se pri sorti 'Elstar' v tretjem vzorčenju kažejo značilne razlike, tako kot smo predvidevali. V istem terminu imamo pri sorti 'Zlati delišes' podobne vsebnosti. Tudi v tem terminu lahko rečemo, da smo z gnojenjem z večjimi odmerki dosegali večje vsebnosti klorofila b..

Celotno gledano pri vsebnosti skupnega klorofila opazamo, da smo dobili pri NB in NA obravnavanjih vedno nekoliko večje vsebnosti kot pri KON in NC, vendar so bile statistično značilne razlike pri sorti 'Elstar' le v začetnih fazah rasti. V tem primeru lahko rečemo, da smo z gnojenjem vplivali na vsebnost klorofila v kožici, medtem ko smo pri sorti 'Zlati delišes' imeli značilen vpliv samo pri tretjem vzorčenju (10.08.2005).

Prša (2012), v svojem poskusu meritev klorofila v listih v odvisnosti od količine dušika navaja, da je gnojenje z dušikom vplivalo na večjo vsebnost klorofila a in b ter karotenoidov v listih. Klorofila a je bilo več za 20 %, klorofila b za 16,6 % .

Iz tega lahko sklepamo, da z dušikom lahko vplivamo na koncentracijo klorofila le v obdobju rasti in razvoja plodu, pri zorenju pa tega učinka ni več.

Povsod opazimo padec vsebnosti klorofila in precej izenačene rezultate vsebnosti klorofila proti koncu rasti, kar lahko pripisujemo razpadu klorofila v plodovih. Lahko rečemo, da so večje količine dušika vplivale na podaljšano obdobje senescence, podobno kot so ugotovili De Angelis in sod. (2012).

5.3 KAROTENOIDI V KOŽICI PLODOV

Pri karotenoidih smo dobili samo pri sorti 'Zlati delišes' pri petem vzorčenju statistično značilne razlike, kjer smo vplivali na povečano vsebnost karotenoidov pri obravnavanju z večjimi odmerki dušika.

Kontrolna obravnavanja so med sortama pri vzorčenjih zelo podobna. Pri sorti 'Elstar' so vsebnosti analiziranih parametrov ves čas malenkost manjše, prav tako je pri obravnavi s foliarnim gnojenjem. Pri obeh sortah je imelo gnojenje z različnimi količinami dušika podoben učinek. Zaznali smo padec vsebnosti karotenoidov po drugem vzorčenju. Pri sorti 'Elstar' sta obravnavanji NA in NB zavrle nastanek karotenoidov, medtem ko sta pri sorti 'Zlati delišes' pripomogli k nastanku karotenoidov, vendar pa nismo dobili statistično značilnih razlik. Fleancu (2007) v svoji študiji pri sortah 'Jonatan' in 'Zlati delišes'

ugotavlja podoben potek razvoja karotenoidov kot pri nas, ki je z zrelostjo plodov nekoliko narasla.

V svojem poskusu Prša (2012) navaja, da so večje doze dodanega dušika v listih jablane vplivale na večjo vsebnost karotenoidov za 21,1 %. To se sklada tudi z našimi rezultati pri analizi plodov.

V svojem poskusu so Barden in sod. (1994) merili nastanek karotenoidov tudi v kasnejših obiranjih na sortah 'Cortland' in 'Zlati delišes'. Njihovi zadnji dve vzorčenji sta bili 3. in 11. oktober. Pri sorti 'Zlati delišes' je vsebnost karotenoidov počasi naraščala, medtem ko je pri sorti 'Cortland' vsebnost karotenoidov v zadnjem vzorčenju poskočila za 30 %.

Sorta 'Zlati delišes' dobi pri zorenju in razpadu klorofila značilno rumenkasto barvo, ki jo daje karotenoidi.

5.4 VREMENSKI VPLIV

Mineralna gnojila smo aplicirali v dveh terminih v prvi polovici leta 2005, ki je bila precej sušna saj so bile povprečne mesečne količine padavin z izjemo aprila nižje od večletnega povprečja. Z mineralnim gnojenjem zato nismo dosegli željenih rezultatov, saj nismo mogli zagotoviti drevesom sprejem celotne količine gnojil. Smiselno bi bilo razdeliti enake količine na več manjših odmerkov in jih nanesti v več terminih, tik pred padavinami. Tudi te so bile neenakomerno razporejene čez celo leto. Poskus bi lahko opravili v nasadu s kapljičnim namakalnim sistemom saj bi v tem primeru ob točno določenem trenutku zagotovili dostop gnojil rastlini in ne bi bili toliko odvisni od vremena. Ravno zaradi nepredvidljivih vremenskih razmer bi bilo smiselno izvesti dvoletni poskus za primerjalne rezultate.

Za optimalno delovanje foliarnega gnojenja je potrebno upoštevati veliko dejavnikov (Curley, 1994), kot so:

- čas nanosa; pozno popoldan po 18.00 uri ali zgodaj zjutraj pred 9.00 uro
- temperatura; med 18°C in 29°C, idealna temperatura je 21°C
- vlaga; □ 70% relativne zračne vlage
- veter; □ 8 km/h

V času 24-48 ur po foliarnem nanosu lahko dež zmanjša učinek gnojenja, saj se različne hranljive sestavine različno hitro absorbirajo v rastlinska tkiva. 50 % dušika (urea) se absorbira v 0,5-2 ure (Curley, 1994).

Razmere za mineralizacijo so bile v letu 2005 dobre. Ugodne temperature za mineralizacijo organskih snovi so od 3°- 35°C. Padavine pa so bile le v poletnih mesecih bolj obilne v obliki poletnih neviht, tako da do izpiranja dušika ni prihajalo. Kemične analize tal v nasadu na vsebnost dušika nismo opravili, vemo pa da je za začetek mineralizacije pomembno tudi razmerje med ogljikom in dušikom v tleh. Prične se pri razmerju ogljik : dušik = 12-20 : 1. Pri razmerju ogljik : dušik = 20-25 : 1 pa lahko bakterije dušik za svoje delovanje vzamejo iz zemlje in s tem konkurirajo rastlini (Novak, 2007).

6 SKLEPI

Namen diplomskega dela je bil ugotoviti vpliv različnih količin dušika z različnimi načini vnosa na razvoj antocianov, klorofila in karotenoidov v kožici plodov jablane (*Malus domestica* Borkh.).

Prišli smo do naslednjih zaključkov:

- Vsebnost antocianov je sortno specifična značilnost. Pri sorti 'Zlati delišes' nima na obarvanost dušik nobenega posebnega vpliva.
- Pri sorti 'Elstar' smo z večjimi koncentracijami dušika vplivali na manjšo vsebnost antocianov. Pri obravnavi NB-200 kg dušika/ha smo izmerili najmanjše vsebnosti antocianov.
- Z dušikom smo vplivali na vsebnost klorofila v kožici plodov. Večja količina dušika je vplivala na večjo vsebnost klorofila, vendar ni bilo zaznati večje razlike med obravnavanji.
- Ugotovili smo, da je pomemben čas obiranja plodov. V našem primeru je bilo to pozno pri obeh sortah, zato gnojenje z dušikom v zadnjih terminih ni imelo več učinka.
- Različne količine dušika imajo podoben vpliv na razvoj barvil pri sorti 'Zlati delišes' in sorti 'Elstar'.
- Pri obravnavanju z 200 kg dodanega dušika/ha nismo ugotovili nobenega pozitivnega vpliva na obarvanost plodov, zato sklepamo, da jablana nima potrebe po tako velikih odmerkih.
- Zaradi spreminjajočih se vremenskih razmer med leti in s tem tudi drugačnih razmer za rast in razvoj rastlin ter obarvanosti plodov, bi bilo potrebno za primerjavo rezultatov opraviti vsaj dvoletni poskus.

Tako lahko potrdimo delovno hipotezo, da dušik vpliva na vsebnost antocianov, karotenoidov in klorofila v plodovih jablane (*Malus domestica* Borkh.).

Kot je razvidno iz rezultatov smo potrdili tudi drugo hipotezo, da sta obe sorti jablan podobno odreagirali na dodane količine dušika. V prihodnje raziskave bi lahko vključili še gnojila s počasi se sproščujočim dušikom, saj rastlina ne uspe porabit celotne količine dušika na enkrat in se le-ta iz tal izpere ali izgubi. S počasi sproščujočim dušikom pa bi bile manjše količine dušika na voljo v daljšem časovnem obdobju.

7 POVZETEK

Gnojenje z dušikom je ena izmed najbolj osnovnih opravil, ki jih je potrebno opraviti za pravilno rast in razvoj rastline ter kakovost in obarvanost plodov. Konec koncev obarvanost pritegne večino uporabnikov.

Na laboratorijskem polju Biotehniške fakultete v Ljubljani smo v letu 2005 izvedli poskus vpliva različnih količin dušika na obarvanost plodov pri sortah 'Elstar' in 'Zlati delišes', cepljenih na podlagi M9. V poskus smo vključili štiri obravnavanja z različnimi odmerki gnojil. Kontrolno obravnavanje, ki je bilo brez gnojenja, NA obravnavanje z 60 kg dušika/ha, NB obravnavanje z 200 kg dušika/ha in NC obravnavanje kjer smo gnojili foliarno. Mineralna gnojila smo nanašali v dveh odmerkih. Vsako obravnavanje je zajemalo pet dreves.

Isto leto smo pri sorti 'Elstar' v petih različnih terminih in pri sorti 'Zlati delišes' v šestih terminih vzorčili plodove, jih odnesli v laboratorij, ter jim odstranili kožico, ki smo jo kasneje analizirali. Vsebnost klorofila in karotenoidov v kožici plodov smo merili s pomočjo spektrofotometra Lambda Bio 20.

Meritve antocianov smo opravili s pomočjo HPLC metode na tekočinskem kromatografu Surveyor Thermo Finnigan. Preračunane rezultate smo tabelarično in grafično obdelali. Pri rezultatih smo dobili tudi statistično značilne razlike.

Ugotovili smo, da z dušikom lahko vplivamo na krovno barvo plodov sorte 'Elstar'. Pri pravočasnem obiranju bi plodovi vsebovali manj krovne barve. Drevesa z manjšimi odmerki dušika dosežejo končno barvo pred obiranjem. Sorta 'Zlati delišes' pa že sortno vsebuje zelo male količine antocianov, tako da so rezultati nepomembni. Tam kjer smo dobili statistično značilne razlike so bili plodovi bolj izpostavljeni sončni žarkom in so tvorili nekaj več krovne barve.

Večje količine klorofila pred obiranjem pri obeh sortah nakazujejo, da z večjimi odmerki dušika dosežemo kasnejšo obarvanost plodov. Sorta 'Elstar' kasneje doseže končno krovno barvo. Pri sorti 'Zlati delišes' pa dobimo kasneje rumenkasto obarvane plodove saj se karotenoidi kasneje izrazijo, kar gre na račun kasnejšega razpada klorofila.

Jablane ne potrebujejo tako velikih odmerkov dušika, kot smo jih imeli pri NB obravnavanju (200 kg dušika/ha). Dušik pridobijo tudi iz drugih virov, kot so njihove lastne zaloge ter pri procesu mineralizacije organske snovi v tleh. Lahko pa se za izboljšanje kakovosti pridelka in brstov poslužujemo tudi foliarne aplikacije dušika.

Zaradi različnih okoljskih dejavnikov, kot so neenakomerno razporejene padavine, veter in višje temperature bi bilo primerno narediti vsaj dvoletni poskus za pridobitev natančnejših rezultatov.

8 VIRI

- Abbott J. A., Saftner R. A., Gross K. C., Vinyard B. T., Janick J. 2004. Consumer evaluation and quality measurement of fresh-cut slices of 'Fuji', 'Golden delicious', 'Gold rush' and 'Granny Smith' apples. *Postharvest and Technology*, 33: 127-140
- Anderson T.H., Heinemeyer O., Weigel H.J. 2011. Changes in the fungal-to-bacterial respiratory ratio and microbial biomass in agriculturally managed soils under free-air CO₂ enrichment (FACE) — A six-year survey of a field study. *Soil Biology and Biochemistry* 43: 895–904
- Armstrong G.A., Hearst J.E. 1996. Genetics and molecular biology of carotenoid pigment biosynthesis. *FASEB Journal*, 10, 228-237
- Austincc. "Absorpcijski spekter β -karoten". 2009.
http://www.austincc.edu/biocr/1406/labm/ex7/prelab_7_4.htm (20.05.2013)
- Awad M.A., Wagenmakers P.S., de Jager A. 2001. Effects of light on flavonoid and chlorogenic acid levels in the skin of 'Jonagold' apples. *Scientia Horticulturae*, 88: 289-298
- Barden C.L., Bramlage W.J. 1994. Accumulation of antioxidants in apple peel as related to preharvest factors and superficial scald susceptibility of the fruit. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 119, 2: 264-269
- ChemicalBook. 2010. Cianidin 3-O-galaktozid.
http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB1752296.htm
(01.06.2013)
- Cheng L., Schupp J. 2004. Nitrogen fertilization of apple orchards. *New York Fruit Quarterly*, 12, 1: 22-25
- Curley S., Curley R. D., DeGrood D., Goff R., Hart E., Hecht R., Johnson D., Krysl E., Menghini J., Pohlman K., Van Buren N. 1994. Foliar nutrition Omaha Midwest laboratories: 78 str.
- Črnko J., Lekšan M., Smole J., Oblak M., Peric V., Solar A., Modic D., Vesel V., Adamič F. 1990. Naš sadni izbor. Ljubljana, Kmečki glas: 244 str.
- De Angelis V., Sanchez E. E., Tognetti J. A. 2011. Fall nitrogen application delays leaf senescence in apple (*Malus domestica* Borkh.) trees. *RIA*, 38, 1: 7str.
- Dong Y.H., Mitra D., Kootstra A. 1995. Postharvest stimulation of skin color in Royal Gala apple. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 120, 1: 95-100
- Dris R., Abdelaziz F.H., Jain S.M. 2002. Influence of mineral nutrition on yield and quality of apples. *Plant nutrition, growth and diagnosis*. Enfield, NH, USA: 313 str.

- Escarpa A., Gonzalez M.C. 2000. Optimization strategy and validation of one chromatographic method as approach to determine the phenolic compounds from different sources. *Journal of Chromatography A*, 897:161-170
- Espley R.V., Hellens R.P., Putterill J., Stevenson D.E., Kutty-Amma S., Allan A.C. 2007. Red colouration in apple fruit is due to the activity of the MYB transcription factor, MdMYM10. *The Plant Journal*, 49, 3: 414–427
- Farager J.D. 1983. Temperature regulation of anthocyanin accumulation in apple skin. *Journal of Experimental Botany*, 34, 10: 1291-1298
- Fleancu M. 2007. Correlations among some physiological processes in apple fruit during growing and maturation processes. *International Journal of Agriculture & Biology*, 9, 4: 613-616
- He F., Mu L., Yan G., Liang N., Pau Q., Wang J., Reeves M., Duan C. 2010. Biosynthesis of anthocyanins and their regulation in colored grapes. *Molecules*, 15: 9057-9091
- Godec B., Hudina M., Usenik V., Fajt N., Koron D., Solar A., Vesel V., Ambrožič Turk B., Vrhovnik I. 2007. Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije: 245 str.
- Ibrahim, M.H., Jaafar H.Z.E., Rahmat A., Rahman Z.A. 2011a. Involvement of nitrogen on flavonoids, glutathione, anthocyanin, ascorbic acid and antioxidant activities of Malaysian medicinal plant *Labisia pumila* Blume (Kacip Fatimah). *International Journals of Molecular Sciences*, 13, 393-408
- Ibrahim, M.H., Jaafar H.Z.E., Rahmat A., Rahman Z.A. 2011b. Effects of Nitrogen Fertilization on Synthesis of Primary and Secondary metabolites in three varieties of Kacip Fatimah (*Labisia Pumila* Blume). *International Journals of Molecular Sciences*, 12, 5238-5254
- Iglesias I., Echeverria G., Soria Y. 2008. Differences in fruit colour development, anthocyanin content, fruit quality and consumer acceptability of eight 'Gala' apple strains. *Scientia Horticulturae*, 119, 1: 32-40
- Jakopič J., Štampar F., Veberič R. 2010. Influence of hail net and reflective foil on cyanidin glycosides and quercetin glycosides in 'Fuji' apple skin. *HortScience*, 45, 10: 1447-1452
- Jazbec M., Vrabl S., Juvanc j., Honzak D. 1985. V sadnem vrtu. Ljubljana, Kmečki glas: 389 str.
- Ju Z., Yuan Y., Liu C., Zhan S., Wang M. 1996. Relationships among simple phenol, flavonoid and anthocyanin in apple fruit peel at harvest and scald susceptibility. *Postharvest Biology and Technology*, 8: 83-93

- Kay C.D. 2006. Aspects of anthocyanin absorption, metabolism and pharmacokinetics in humans. *Nutrition Research Reviews*, 19, 1: 137-146
- Kim S.H., Lee J.R., Hong S.T., Yoo Y.K., An G., Kim S.R. 2003. Molecular cloning and analysis of anthocyanin biosynthesis genes preferentially expressed in apple skin. *Plant Science*, 165: 403-413
- Kodrič I., Torič M., Caf A., Brence A., Mavsar M., Gutman Kobal Z., Soršak A., Matko B., Mešl M., Miklavc J. 2013. Tehnološka navodila za pridelovanje jabolok. Ljubljana, Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije: 90 str.
- Kondo S., Hiraoka K., Kobayashi S., Honda C., Terahara N. 2002. Changes in the expression of anthocyanin biosynthetic genes during apple development. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 127, 6: 971-976
- Lancaster J. E., 1992. Regulation of skin color in apples. *Critical Reviews in Plant sciences*, 10: 487-502
- Larcher W. 2003. Physiological plant ecology: ecophysiology and stress physiology of functional groups. Berlin, Heidelberg, New York: Springer: 513 str.
- Marschner H. 2002. Mineral nutrition of higher plants. 2. izdaja. Amsterdam, Academic Press: 889 str.
- Mengel K., Kirkby E.A. 2001. Principles of plant nutrition. 5 izdaja. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers: 849 str.
- Nellsen D., Nellsen G. 2009. Nutritional Effects on fruit quality for apple trees. *New York Fruit Quarterly*, 17, 3: 21-24
- Novak E. 2004. Ekološko vinogradništvo
http://ekomostovi.si/dokumenti/vinogradnistvo_ekomostovi.pdf (05.06.2013)
- Prša I. 2012. Vpliv amonijevega nitrata na izbrane fiziološke procese v listih in plodovih različnih sort jablan (*Malus domestica* Borkh.). Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta: 85 str.
- Sancin V. 1988. Sadje z našega vrta. Trst, založništvo tržaškega tiska 376 str.
- Schwinn K.E., Davies K.M. 2004 Flavonoids. V: Plant pigments and their manipulation. Davies K.M. (ed.). Oxford, Blackwell Publishing Annual Plant Reviews, 14: 92-149
- Stat.si. Vremenski podatki, 2012.
http://pxweb.stat.si/pxweb/Database/Okolje/01_ozemlje_podnebje/10_01561_podnebni_kazalniki/10_01561_podnebni_kazalniki.asp (20.05.2013)

- Štampar F., Lešnik M., Veberič R., Solar A., Koron D., Usenik V., Hudina M., Osterc G. 2009. Sadjarstvo. Ljubljana, Kmečki glas: 416 str.
- Tanaka Y., Brugliera F., Chandler S. 2009. Recent progress of flower colour modification by biotechnology. *International Journal of Molecular Sciences*, 10, 5353-5369
- Ubi B.E. 2004. External stimulation of anthocyanin biosynthesis in apple fruit. *Food, Agriculture & Environment*, 2, 2: 65-70
- Veberič R. 2010. Bioactive compounds in fruit plants. Ljubljana, Biotehniška fakulteta: 65 str.
- Viršček-Marn M., Stopar M. 1998. Sorte jabolk. Ljubljana, Kmečki glas: 211 str.
- Vodnik D. 2001. Fiziologija rastlin – praktične vaje. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta: 56 str.
- Vodnik D. 2012. Osnove fiziologije rastlin. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 141 str.
- Wada S., Ishida H., Izumi M., Yoshimoto K., Ohsumi Y., Mae T., Makino A. 2009. Autophagy plays a role in chloroplast degradation during senescence in individually darkened leaves. *Plant Physiology*, 149: 885-893
- Wargo J.M., Merwin I.A., Watkins C.B. 2000. Effects of retain, nitrogen fertilization, and mid-summer trunk scoring on fruit color and quality of 'Jonagold' apples. *New York Fruit Quarterly*, 8, 4: 24-26
- Wellburn A. R. 1994. The spectral determination of chlorophyll-a and chlorophyll-b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometer of different resolution. *Journal of Plant Physiology*, 144: 307-313
- Wingler A., Purdy S., Maclean A., Pourtau N. 2005. The role of sugars in integrating environmental signals during the regulation of leaf senescence. *Journal of Experimental Botany*, 161: 781-789
- Winona.edu. "Absorpcijski spekter klorofil a in b".
<http://course1.winona.edu/sberg/ILLUST/chl-spectrum.gif>
(20.05.2013)
- Wolfe K.Wu X., Liu R.H. 2003. Antioxidant activity of apple peels. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51: 609-614

ZAHVALA

Kot zaključek tega diplomskega dela se zahvaljujem izr. prof. dr. Robertu Veberiču za mentorstvo in vsestransko pomoč.

Zahvalil bi se tudi kolegoma Igorju in Domnu za pomoč pri delu v nasadu ter koristne nasvete.

Zahvala članu komisije za oceno in zagovor prof. dr. Franciju Štamparju in predsedniku komisije prof. dr. Francu Batiču.

Zahvala gre tudi mojim staršem, bratu in sestri za pomoč v času študija.

Na koncu pa se zahvaljujem svoji dragi ženi Barbari za vso potrpežljivost, podporo in vzpodbudo pri pisanju diplomskega dela. Hvala tudi sinku Aljažu in hčerkici Jantini za navdih.

Hvala vsem, brez vas mi ne bi uspelo!

PRILOGA A

Vsebnost antocianov

Priloga A1: Vsebnost antocianov (povprečje $\pm$ SN v mg/kg sveže mase) v kožici plodov pri sorti 'Elstar' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje. Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) med povprečji.

Obr.	Datum					
	17.6.2005	1.7.2005	10.8.2005	24.8.2005	14.9.2005	
KON	154,94 $\pm$ 23,42	80,16 $\pm$ 8,74	180,96 $\pm$ 8,05	291,66 $\pm$ 7,44	c	298,20 $\pm$ 8,50
NA	139,57 $\pm$ 18,58	75,97 $\pm$ 6,89	163,20 $\pm$ 7,31	251,60 $\pm$ 6,97	ab	286,40 $\pm$ 5,24
NB	131,98 $\pm$ 14,52	61,53 $\pm$ 8,41	152,73 $\pm$ 8,34	225,51 $\pm$ 13,59	a	273,00 $\pm$ 9,98
NC	148,76 $\pm$ 13,67	78,56 $\pm$ 10,44	152,73 $\pm$ 10,66	271,14 $\pm$ 10,24	bc	288,50 $\pm$ 12,90

Priloga A2: Vsebnost antocianov (povprečje $\pm$ SN v mg/kg sveže mase) v kožici plodov pri sorti 'Zlati delišes' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje. Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) med povprečji.

	Datum					
Obr.	17.6.2005	1.7.2005	10.8.2005	24.8.2005	14.9.2005	27.9.2005
KON	115,98 ± 3,00	16,11 ± 0,25	2,65 ± 0,40	0,54 ± 0,09 a	3,09 ± 1,36	5,64 ± 2,72
NA	89,54 ± 7,46	15,87 ± 0,37	3,64 ± 0,49	3,18 ± 0,88 b	4,27 ± 1,16	5,35 ± 1,82
NB	85,43 ± 8,58	14,59 ± 1,92	4,45 ± 1,05	2,49 ± 0,88 ab	3,06 ± 1,00	3,62 ± 1,38
NC	99,41 ± 7,99	14,89 ± 0,59	3,49 ± 0,44	2,74 ± 0,56 b	2,53 ± 0,64	2,32 ± 0,81

PRILOGA B

Vsebnost klorofila a

Priloga B1: Vsebnost klorofila a (povprečje $\pm$ SN v $\mu\text{g/ml}$ ekstrakta) v kožici plodov pri sorti 'Elstar' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje. Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) med povprečji.

Obr.	Datum				
	17.6.2005	1.7.2005	10.8.2005	24.8.2005	14.9.2005
KON	1,012 $\pm$ 0,13	0,63 $\pm$ 0,05 a	0,71 $\pm$ 0,09	0,91 $\pm$ 0,06 a	0,66 $\pm$ 0,01 a
NA	1,21 $\pm$ 0,13	0,68 $\pm$ 0,08 a	0,8 $\pm$ 0,08	1,03 $\pm$ 0,07 ab	0,74 $\pm$ 0,03 b
NB	1,11 $\pm$ 0,11	0,91 $\pm$ 0,07 b	1,01 $\pm$ 0,09	1,17 $\pm$ 0,07 b	0,74 $\pm$ 0,02 b
NC	0,96 $\pm$ 0,18	0,63 $\pm$ 0,04 a	0,73 $\pm$ 0,07	0,85 $\pm$ 0,08 a	0,64 $\pm$ 0,02 a

Priloga B2: Vsebnost klorofila a (povprečje $\pm$ SN v $\mu\text{g/ml}$ ekstrakta) v kožici plodov pri sorti 'Zlati delišes' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje.

Obr.	Datum					
	17.6.2005	1.7.2005	10.8.2005	24.8.2005	14.9.2005	27.9.2005
KON	1,46 $\pm$ 0,05	1,24 $\pm$ 0,10	0,87 $\pm$ 0,09	1,03 $\pm$ 0,04	0,92 $\pm$ 0,06	0,73 $\pm$ 0,05
NA	1,37 $\pm$ 0,20	1,21 $\pm$ 0,07	1,01 $\pm$ 0,12	1,06 $\pm$ 0,04	0,91 $\pm$ 0,05	0,57 $\pm$ 0,06
NB	1,63 $\pm$ 0,25	1,41 $\pm$ 0,07	1,20 $\pm$ 0,17	1,15 $\pm$ 0,07	0,88 $\pm$ 0,07	0,55 $\pm$ 0,08
NC	1,34 $\pm$ 0,17	1,13 $\pm$ 0,08	0,92 $\pm$ 0,04	0,98 $\pm$ 0,10	0,82 $\pm$ 0,07	0,52 $\pm$ 0,04

PRILOGA C

Vsebnost klorofila b

Priloga C1: Vsebnost klorofila b (povprečje $\pm$ SN v $\mu\text{g/ml}$ ekstrakta) v kožici plodov pri sorti 'Elstar' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje. Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) med povprečji.

Obr.	Datum				
	17.6.2005	1.7.2005	10.8.2005	24.8.2005	14.9.2005
KON	0,39 $\pm$ 0,10	0,35 $\pm$ 0,05	0,94 $\pm$ 0,07 b	1,36 $\pm$ 0,11	1,10 $\pm$ 0,05
NA	0,51 $\pm$ 0,11	0,42 $\pm$ 0,04	1,17 $\pm$ 0,07 c	1,42 $\pm$ 0,03	1,11 $\pm$ 0,01
NB	0,51 $\pm$ 0,09	0,43 $\pm$ 0,04	1,26 $\pm$ 0,08 c	1,39 $\pm$ 0,09	1,12 $\pm$ 0,03
NC	0,36 $\pm$ 0,09	0,29 $\pm$ 0,01	0,59 $\pm$ 0,08 a	1,41 $\pm$ 0,13	1,15 $\pm$ 0,04

Priloga C2: Vsebnost klorofila b (povprečje $\pm$ SN v $\mu\text{g/ml}$ ekstrakta) v kožici plodov pri sorti 'Zlati delišes' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje. Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) med povprečji.

Obr.	Datum					
	17.6.2005	1.7.2005	10.8.2005	24.8.2005	14.9.2005	27.9.2005
KON	0,69 $\pm$ 0,03	0,92 $\pm$ 0,04	1,07 $\pm$ 0,06 a	1,33 $\pm$ 0,09	1,13 $\pm$ 0,10	0,83 $\pm$ 0,10
NA	0,63 $\pm$ 0,16	0,99 $\pm$ 0,06	1,23 $\pm$ 0,05 b	1,34 $\pm$ 0,10	1,17 $\pm$ 0,13	0,56 $\pm$ 0,15
NB	0,69 $\pm$ 0,15	1,04 $\pm$ 0,05	1,38 $\pm$ 0,06 c	1,68 $\pm$ 0,10	1,10 $\pm$ 0,10	0,47 $\pm$ 0,11
NC	0,89 $\pm$ 0,10	1,00 $\pm$ 0,04	1,11 $\pm$ 0,02 ab	1,34 $\pm$ 0,10	1,06 $\pm$ 0,12	0,50 $\pm$ 0,08

PRILOGA D

Vsebnost skupnega klorofila

Priloga D1: Vsebnost skupnega klorofila (povprečje $\pm$ SN v $\mu\text{g/ml}$ ekstrakta) v kožici plodov pri sorti 'Elstar' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje. Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) med povprečji.

Obr.	Datum				
	17.6.2005	1.7.2005	10.8.2005	24.8.2005	14.9.2005
KON	1,41 $\pm$ 0,23	0,98 $\pm$ 0,09 a	1,65 $\pm$ 0,16 ab	2,28 $\pm$ 0,13	1,77 $\pm$ 0,04
NA	1,72 $\pm$ 0,23	1,12 $\pm$ 0,12 ab	2,07 $\pm$ 0,15 bc	2,46 $\pm$ 0,09	1,82 $\pm$ 0,05
NB	1,63 $\pm$ 0,18	1,34 $\pm$ 0,11 b	2,27 $\pm$ 0,16 c	2,57 $\pm$ 0,15	1,87 $\pm$ 0,03
NC	1,33 $\pm$ 0,26	0,93 $\pm$ 0,05 a	1,53 $\pm$ 0,11 a	2,27 $\pm$ 0,14	1,80 $\pm$ 0,06

Priloga D2: Vsebnost skupnega klorofila (povprečje $\pm$ SN v $\mu\text{g/ml}$ ekstrakta) v kožici plodov pri sorti 'Zlati delišes' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje. Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) med povprečji.

Obr.	Datum					
	17.6.2005	1.7.2005	10.8.2005	24.8.2005	14.9.2005	27.9.2005
KON	2,16 $\pm$ 0,06	2,16 $\pm$ 0,13	1,95 $\pm$ 0,15 a	2,36 $\pm$ 0,13	2,05 $\pm$ 0,16	1,56 $\pm$ 0,15
NA	2,01 $\pm$ 0,35	2,20 $\pm$ 0,12	2,24 $\pm$ 0,17 ab	2,41 $\pm$ 0,13	2,09 $\pm$ 0,18	1,13 $\pm$ 0,20
NB	2,33 $\pm$ 0,38	2,46 $\pm$ 0,10	2,58 $\pm$ 0,21 b	2,83 $\pm$ 0,17	1,99 $\pm$ 0,17	1,02 $\pm$ 0,18
NC	2,23 $\pm$ 0,26	2,13 $\pm$ 0,11	2,03 $\pm$ 0,06 a	2,32 $\pm$ 0,19	1,88 $\pm$ 0,18	1,03 $\pm$ 0,12

PRILOGA E

Priloga E1: Vsebnost karotenoidov (povprečje $\pm$ SN v $\mu\text{g/ml}$ ekstrakta) v kožici plodov pri sorti 'Elstar' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje.

Obr.	Datum				
	17.6.2005	1.7.2005	10.8.2005	24.8.2005	14.9.2005
KON	0,23 $\pm$ 0,02	0,19 $\pm$ 0,02	0,12 $\pm$ 0,02	0,13 $\pm$ 0,01	0,16 $\pm$ 0,03
NA	0,26 $\pm$ 0,02	0,21 $\pm$ 0,02	0,09 $\pm$ 0,02	0,10 $\pm$ 0,02	0,10 $\pm$ 0,02
NB	0,25 $\pm$ 0,02	0,19 $\pm$ 0,02	0,11 $\pm$ 0,02	0,11 $\pm$ 0,02	0,10 $\pm$ 0,01
NC	0,25 $\pm$ 0,02	0,18 $\pm$ 0,02	0,15 $\pm$ 0,01	0,16 $\pm$ 0,03	0,16 $\pm$ 0,03

Priloga E2: Vsebnost karotenoidov (povprečje $\pm$ SN v $\mu\text{g/ml}$ ekstrakta) v kožici plodov pri sorti 'Zlati delišes' v rastni dobi 2005. KON – brez dodanega dušika, NA – 60 kg dušika/ha, NB – 200 kg dušika/ha in NC – foliarno gnojenje. Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) med povprečji.

Obr.	Datum					
	17.6.2005	1.7.2005	10.8.2005	24.8.2005	14.9.2005	27.9.2005
KON	0,35 $\pm$ 0,01	0,35 $\pm$ 0,01	0,10 $\pm$ 0,01	0,10 $\pm$ 0,01	0,15 $\pm$ 0,01 a	0,19 $\pm$ 0,02
NA	0,32 $\pm$ 0,04	0,32 $\pm$ 0,04	0,09 $\pm$ 0,01	0,16 $\pm$ 0,02	0,19 $\pm$ 0,01 b	0,22 $\pm$ 0,02
NB	0,32 $\pm$ 0,03	0,32 $\pm$ 0,03	0,12 $\pm$ 0,02	0,17 $\pm$ 0,01	0,19 $\pm$ 0,01 b	0,19 $\pm$ 0,01
NC	0,32 $\pm$ 0,01	0,32 $\pm$ 0,01	0,13 $\pm$ 0,02	0,13 $\pm$ 0,02	0,16 $\pm$ 0,01 ab	0,19 $\pm$ 0,02