UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
MEDNARODNI ŠTUDIJSKI PROGRAM SADJARSTVO

Nejc RUTAR

ODPADANJE PLODIČEV TER DNEVNA DINAMIKA SPREMINJANJA VSEBNOSTI SLADKORJEV IN FENOLNIH SNOVI V PLODIČIH JABLANE

MAGISTRSKO DELO

Mednarodni študijski program Sadjarstvo - 2. stopnja

Ljubljana, 2016

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
MEDNARODNI ŠTUDIJSKI PROGRAM SADJARSTVO

Nejc RUTAR

ODPADANJE PLODIČEV TER DNEVNA DINAMIKA SPREMINJANJA VSEBNOSTI SLADKORJEV IN FENOLNIH SNOVI V PLODIČIH JABLANE

MAGISTRSKO DELO
Mednarodni študijski program Sadjarstvo - 2. stopnja

CHANGE IN DAILY DYNAMICS OF SUGAR AND PHENOL CONTENT IN ABSCISSING APPLE FRUITLETS

M. SC. THESIS
International Master of Fruit Science

Ljubljana, 2016

INTERNATIONAL MASTER OF FRUIT SCIENCE

Master Degree Thesis

CHANGE IN DAILY DYNAMICS OF SUGAR AND PHENOL CONTENT IN ABSCISSING APPLE FRUITLETS

Nejc RUTAR

Academic Year: 2015/2016

Supervisors:

doc. dr. Jerneja JAKOPIČ, University of Ljubljana, Biotechnical faculty
prof. dr. Dominik VODNIK,, University of Ljubljana, Biotechnical faculty
dr. Ivo ONDRAŠEK, Mendel University in Brno, Faculty of Horticulture
prof. dr. Massiimo TAGLIAVINI, Free University of Bolzano, Faculty of Science and Technology

---

Podpisani izjavljam, da je magistrsko delo 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.

Nejc RUTAR

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD Du2-IMFS

DK UDK 634.11:581.14:543.6(043.2)

KG sadjarstvo/jablana/*Malus domestica*/sladkorji/fenoli/plodovi

AV RUTAR, Nejc

SA JAKOPIČ, Jerneja (mentor)

KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101

ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Mednarodni študijski program Sadjarstvo

LI 2016

IN ODPADANJE PLODIČEV TER DNEVNA DINAMIKA SPREMINJANJA VSEBNOSTI SLADKORJEV IN FENOLNIH SNOVI V PLODIČIH JABLANE

TD Magistrsko delo (Mednarodni študijski program Sadjarstvo - 2. stopnja)

OP IX, 40, [3] str., 5 pregl., 16 sl., 2 pril., 45 vir.

IJ sl

JI sl/en

AI Jablana je ena glavnih modelnih rastlin za opazovanje procesa abscizije plodičev. Razvit ima sistem naravnega redčenja plodičev, del katerega poznamo pod imenom junijsko trebljenje. Ta sam po sebi ni zadosten za nastavek tržno zanimivih plodov ter za preprečevanje izmenične rodnosti. Iz tega razloga naravno trebljenje še dopolnimo z redčenjem. V delu smo spremljali potek naravnega trebljenja plodičev pri jablani sorte 'Zlati delišes' in pomen pozicije posameznega cveta v šopu pri tem procesu. Poleg tega smo v centralnih (K) in lateralnih (L) plodičih spremljali dnevno dinamiko spreminjanja vsebnosti posameznih sladkorjev ter skupnih fenolov v obdobju junijskega trebljenja ter morebitne spremembe v različnih terminih vzorčenja. Opazovali smo tudi večanje premera ter mase centralnih in lateralnih plodičev. Ob prisotnosti K so večinoma odpadli vsi ostali L, kar dokazuje dominanco K nad L. Največjo stopnjo abscizije so imeli plodiči tik pod K in najnižji v šopih. Različne obremenitve vej niso pokazale razlik pri odpadanju plodičev. Premeri in mase K so značilno večji od L. Rezultati so pokazali vrh vsebnosti sladkorjev ob 14. uri. Količine fruktoze in glukoze v plodičih so se v obdobju trebljenja povečale, medtem ko se količine sorbitola in saharoze niso bistveno spreminjale. Vsebnost fenolnih snovi v plodičih je bila večja med junijskim trebljenjem kot po koncu obdobja.

KEY WORDS DOCUMENTATION

ND Du2-IMFS

DC UDC 634.11:581.14:543.6(043.2)

CX fruit growing/apple/*Malus domestica*/sugars/phenolics/fruit

AU RUTAR, Nejc

AA JAKOPIČ, Jerneja (supervisor)

PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101

PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, International Master of Fruit Science

PY 2016

TI CHANGE IN DAILY DYNAMICS OF SUGAR AND PHENOL CONTENT IN ABSCISSING APPLE FRUITLETS

DT M. Sc. Thesis (International Master of Fruit Science)

NO IX, 40, [3] p., 5 tab., 16 fig., 2 ann., 45 ref.

LA sl

AL sl/en

AB Apple tree is one of the model plants for fruitlet abscisson observation. It has developed a natural system of fruitlet abscission, a part of which is called June drop. It is not sufficient at thinning at such level that remaining fruits would have market value. Also, too much fruit on a tree induces less return bloom in the next season, therefore we supplement natural thinning with artificial methods. The study was designed on apple trees cv. 'Golden Delicious'. We were interested in daily dynamics of sugar and total phenol contents in fruitlets in the June drop period and possible differences at different times of sampling. Further we observed changes in K (king) and L (lateral) fruitlet diameter and their weight as they were growing in time and their abscission at different positions. When K was present, all other L were more likely to abscise, which confirms the K dominance over L. Fruitlets on positions nearest to K and lowest in cluster abscised the most. Different branch loads did not result in different abscission rates. Diameter and weight of K was significantly higher than that of L. Results show a peak in sugar content at 2 pm. Total phenol concentration was higher at june drop period than after this period. Contents of fructose and glucose in fruitlets were increasing throughout the June drop period and on the other hand sucrose and sorbitol did not vary much in this time.

KAZALO VSEBINE Str.

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA II
KEY WORDS DOCUMENTATION III
KAZALO VSEBINE IV
KAZALO PREGLEDNIC VI
KAZALO SLIK VII
KAZALO PRILOG VIII
SEZNAM OKRAJŠAV IX
1 UVOD 1
1.1 CILJ RAZISKAVE 1
1.2 DELOVNE HIPOTEZE 1
2 PREGLED OBJAV 2
2.1 OGLJIKO-HIDRATNA TEORIJA 4
2.2 HORMONALNA TEORIJA 4
2.3 SLADKORJI V PLODIČIH 5
2.4 FENOLI V PLODIČIH 6
3 MATERIAL IN METODE 8
3.1 VREMENSKE RAZMERE V LETU 2015 8
3.2 PRIPRAVA VZORCEV 8
3.3 ANALIZA POSAMEZNIH SLADKORJEV 9
3.4 ANALIZA SKUPNIH FENOLOV 9
3.5 STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV 10
4 REZULTATI 11
4.1 ODPADANJE PLODIČEV 11
4.1.1 Odpadanje plodičev glede na termin vzorčenja 11
4.1.2 Odpadanje plodičev glede na pozicijo v šopu 11
4.1.3 Odpadanje plodičev glede na obremenitev vej 12
4.2 MASA IN PREMER PLODIČEV 13
4.3 DNEVNE SPREMEMBE VSEBNOSTI SLADKORJEV IN FENOLOV 14
4.3.1 Dnevna dinamika vsebnosti posameznih sladkorjev 14
4.3.2 Dnevni potek vsebnosti skupnih sladkorjev 20
4.4 DNEVNI POTEK VSEBNOSTI SKUPNIH FENOLOV 21

5 RAZPRAVA 22
5.1 ODPADANJE PLODIČEV 22
5.2 MASA IN PREMER PLODIČEV 23
5.3 DNEVNA DINAMIKA VSEBNOSTI POSAMEZNIH SLADKORJEV 23
5.4 DNEVNI POTEK VSEBNOSTI SKUPNIH SLADKORJEV 24
5.5 DNEVNA DINAMIKA SKUPNIH FENOLOV 24
6 SKLEPI 26
7 POVZETEK (SUMMARY) 27
7.1 POVZETEK 27
7.2 SUMMARY 28
8 VIRI 37
ZAHVALA
PRILOGE

KAZALO PREGLEDNIC

Str.

Preglednica 1 Povprečna masa ± standardna napaka za K in L v treh terminih vzorčenja. *P* vrednost označuje stopnjo značilnosti statistične analize med K in F. 13
Preglednica 2 Povprečen premer ± standardna napaka K ter L v treh terminih vzorčenja. *P* vrednost označuje stopnjo značilnosti statistične analize med K in F. 14
Preglednica 3 Povprečne dnevne količine ± standardna napaka posameznih sladkorjev v štirih terminih za K in L plodiče (mg/g FW). *P* vrednost označuje stopnjo značilnosti statistične analize med K in F. 16
Preglednica 4 Primerjava vrednosti skupnih sladkorjev ± standardna napaka med K in L po terminih. *P* vrednost označuje stopnjo značilnosti statistične analize med K in F. 20
Preglednica 5 Povprečne vsebnosti ± standardna napaka TPC v dveh terminih vzorčenja za K ter L. *P* vrednost označuje stopnjo značilnosti statistične analize med 5. 6. in 2. 7. 2015. 21

KAZALO SLIK

Str.

Slika 1: Razporeditev plodičev v cvetnem šopu jablane (Bangerth, 2000: 47) 2

Slika 2: Intenzivnost trebljenja plodičev glede na termin vzorčenja 11

Slika 3: Stopnje odpadanja plodičev glede na pozicijo v šopu 11

Slika 4: Delež odpadlih plodičev glede na obremenitev vej. Prikazane so povprečne vrednosti ± standardna napaka 12

Slika 5: Primerjava večanja mase K in L plodičev v treh terminih vzorčenja 13

Slika 6: Primerjava sprememb povprečnega premera K in L plodičev v treh terminih vzorčenja 14

Slika 7: Dnevna dinamika vsebnosti posameznih sladkorjev dne 6. 5. 2015 15

Slika 8: Globalno obsevanje v W/m2 dne, 6. 5. 2015 15

Slika 9: Dnevna dinamika vsebnosti posameznih sladkorjev dne 20. 5. 2015 16

Slika 10: Globalno obsevanje W/m2 dne, 20. 5. 2015 17

Slika 11: Dnevna dinamika vsebnosti posameznih sladkorjev dne 5. 6. 2015 17

Slika 12: Globalno obsevanje W/m2 dne, 5. 6. 2015 18

Slika 13: Dnevna dinamika vsebnosti posameznih sladkorjev dne 2. 7. 2015 18

Slika 14: Globalno obsevanje W/m2 dne, 2. 7. 2015 19

Slika 15 Prikaz dnevne dinamike vsote sladkorjev po posameznih terminih od 6. 5. do 2. 7. 2015 20

Slika 16: Prikaz dnevne dinamike vsebnosti skupnih fenolov v dveh terminih 21

KAZALO PRILOG

Priloga A: Globalno sončno obsevanje in povprečna oblačnost v terminih vzorčenja na meteorološki postaji Ljubljana- Bežigrad

Priloga B: Povprečne mesečne temperature zraka in količine padavin v Sloveniji za leto 2015

SEZNAM OKRAJŠAV

K	centralni plodič
L	lateralni, stranski plodič
AZ	abscizijska cona
GAE	ekvivalent galne kisline
TPC	skupni fenoli
HPLC	tekočinska kromatografija visokih ločljivosti
IAA	indol-3-ocetna kislina
NAA	1-naftalen ocetna kislina
BA	6-benziladenin
FW	fresh weight (masa svežega plodiča)
OH	ogljikovi hidrati

1 UVOD

Jabolka so priljubljeno sadje, katerega svetovna pridelava v zadnjih desetih letih narašča, medtem ko je v Sloveniji ustaljena (FAOSTAT, 2016). Povečano povpraševanje ter zahteve porabnikov ženeta pridelovalce k ustvarjanju čim večjih pridelkov ob čim boljši kakovosti. Eden glavnih ukrepov za doseganje stalnega pridelka je redčenje plodičev. Poznamo ročno, mehansko in kemično redčenje. Poleg redčenja ima pri jablani pomembno vlogo proces naravnega trebljenja. V rastni dobi so tri obdobja trebljenja, 1-2 tedna po koncu cvetenja, »junijsko trebljenje« 4-6 tednov po cvetenju ter odpadanje skoraj zrelih plodov tik pred obiranjem (Kolarič, 2010). Cvetovi pri jablani so v šopu, v katerem se najprej odpre centralni cvet, okrog pa so razporejeni lateralni cvetovi, ki zacvetijo kasneje (Štampar in sod., 2009). Iz centralnega cveta nastane največji centralni plodič (K), ki se najhitreje razvija, iz ostalih stranskih cvetov pa stranski plodiči (L), ki so manjši in se počasneje razvijajo.

Trebljenje vpliva na to, da na drevesu ni več plodov, kolikor bi jih bilo drevo sposobno prehraniti v danih okoljskih razmerah. V delu se bomo osredotočili na junijsko trebljenje.

1.1 CILJI RAZISKAVE

Cilji so ugotoviti pomen pozicije plodičev v šopu, pomen obremenitve za intenzivnost odpadanja plodičev in v vnaprej določenih terminih ugotoviti dnevni potek spreminjanja vsebnosti sladkorjev ter skupnih fenolov v šopih plodičev med junijskim trebljenjem.

1.2 DELOVNE HIPOTEZE

Za namene doseganja ciljev smo postavili naslednje hipoteze:

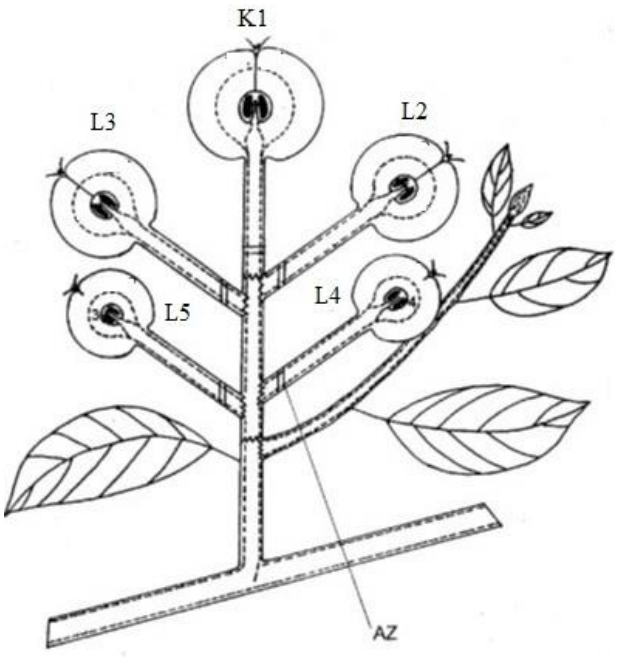
- na bolj obremenjenih vejah bo trebljenje plodičev intenzivnejše;
- centralni plodič bo v povprečju težji ter večji kot lateralni plodiči v šopu;
- stranski plodiči dobijo manj asimilatov, zato bodo bolj verjetno odpadli;
- centralni plodiči vsebujejo več sladkorjev kot lateralni plodiči;
- različni šopi plodičev imajo podobno razmerje v koncentracijah metabolitov med centralnim ter lateralnimi plodiči.

2 PREGLED OBJAV

Jablana, kot veliko sadnih vrst tvori ogromno cvetov, iz katerih se razvije več plodov, kot jih je zmožna prehraniti. Odvisno od razmer se oplodi do 30 % cvetov, za kakovosten pridelek jih je dovolj od 3 do 8 %. Kadar oploditev presega 10 %, je ukrep redčenja plodičev nujen, saj se v nasprotnem primeru rodnost drevesa v naslednji sezoni zmanjša (Sancin, 1988). Slabo reguliran ovesek povzroči mnoge negativne posledice, dve izmed njih sta majhna tržna vrednost pridelanega sadja ter zaviranje nastanka rodnih brstov, kar vodi v izmenično rodnost. Za preprečevanje negativnih posledic je redčenje cvetov ali plodičev v sodobni pridelavi jabolk nujno (Bangerth, 2000).

Cvetovi oziroma plodiči so v šopu urejeni v obliki socvetja (slika 1), v katerem je pet ali šest cvetov. Najprej se odpre najvišji, centralni oz. kraljevi cvet (K), štiri do pet dni za tem pa se odprejo še preostali stranski oz. lateralni (L) cvetovi nižje na cvetni osi. Iz K se razvije največji ter najkakovostnejši plod (Štampar in sod., 2009). V socvetju smo jih uredili z oznakami K1, L2, L3, L4, L5 ter L6, kjer je K1 centralni cvet ter pod njim z L označeni stranski cvetovi na cvetni osi navzdol od L2 do L6.

Pri sorti Zlati delišes se najbolj pogosto razvijejo šopi s 5 cvetovi oz. plodiči (Jakopič in sod., 2015).



Slika 1: Razporeditev plodičev v cvetnem šopu jablane. Številke zunaj plodičev označujejo hierarhično lestvico glede na dominanco med njimi. AZ označuje abscizijsko cono (Bangerth, 2000: 47)
Figure 1: Fruitlet arrangement in apple flower cluster. Numbers outside the fruitlets mark their spot in the dominance hierarcy. AZ marks the abscission zone (Bangerth, 2000: 47)

Odpadanje oz. abscizija je proces, ki ga v svetu rastlin razumemo kot ločevanje organov od matične rastline. Samo dejanje abscizije ima dve različni funkciji. Prva lajša razmnoževanje in pomeni aktivno odpadanje struktur kot so potaknjenci, živice ali rizomi, iz katerih nastane nov individualen osebek. Druga je odpadanje organov, ki so prišli do konca uporabnosti za rastlino. Ta tip odpadanja navadno povezujemo s staranjem organov, kot so listi in cvetovi.

Odpadanje plodov je podobno odpadanju listov. To se zgodi, ko dosežejo fiziološko zrelost s to razliko, da plodiči opravljajo tudi razmnoževalno funkcijo. Tako kot pri ostalih rastlinskih organih, je tudi odpadanje plodov metabolno določen program ločitve celic. Ločitev se zgodi na določenih mestih pri bazi organa s pomočjo specialnih celic, ki se diferencirajo zgodaj v razvoju in obstajajo kot potencialna mesta za abscizijo skoraj skozi celotno življenje organa.

Abscizijska cona (AZ) je sestavljena iz nekaj plasti majhnih celic z gosto citoplazmo, ki so razporejene okoli osi organa (Sun in sod., 2009). Celice abscizijske cone se za razliko od parenhimskih celic, ki se večajo ob dodatku avksina in manjšajo ob dodatku etilena, manjšajo ob dodatku avksina in večajo ob dodatku etilena, kažejo torej drugačne fiziološke lastnosti, ki se razlikujejo od ostalih celic v rastlini. Ob prisotnosti etilena so se v fižolu AZ celice povečale za 100 % 32 ur pred ločitvijo (Osborne in Morgan, 2008). Povečan celični pritisk je ena od opaženih lastnosti procesa zavračanja tkiv in organov v bližini AZ. Ločitev se zgodi potem, ko se sprostijo in delno razgradijo strukture osrednje lamele v celični steni ob vplivu celičnega pritiska povečane celice, kar mehansko poškoduje povezave med celicami. Celice abscizijske cone ob tem izločijo hidrolitične encime in organ odpade (Jackson, 2003).

Naravno je v rastlinah prisoten fiziološki samoregulatorni mehanizem, ki povzroči odpadanje nezrelih plodičev. Pri jablanah ta proces najbolj intenzivno poteka v obdobju junijskega trebljenja, ko odpade večina plodičev. Proces je posledica kompeticije za ogljikove hidrate med plodiči samimi in kompeticije med plodiči ter poganjki (Costa in sod., 2006). Rastoči plodiči so večinoma heterotrofni, saj 95 % njihovega ogljika prihaja iz bližnjih listov (Blanke in sod., 1987). Rastoči organ vzdržuje gradient avksina, kateri preprečuje, da bi abscizijska cona postala občutljiva na etilen. Ta gradient vzdržujejo dejavniki, ki zavirajo odpadanje kot so avksini, citokinini, svetloba ter dobra prehranjenost organa. Zmanjšanje gradienta avksina zaradi senčenja ali slabe prehranjenosti posledično povzroči občutljivost abscizijske cone na etilen. V novejših raziskavah Eccher in sod. (2014) ugotavljajo, da je preskrbljenost z ogljikovimi hidrati še posebej pomembna pri preprečevanju sproženja abscizije.

Obstajata dve glavni teoriji glede odpadanja plodičev, ogljikohidratna ter hormonalna teorija, ki jih bomo podrobneje opisal v naslednjih odstavkih.

2.1 OGLJIKO-HIDRATNA TEORIJA

Procesi odpadanja rastlinskih organov že dolgo zanimajo botanike. Z opazovanji so ugotovili, da se dejavniki, ki regulirajo abscizijo v glavnem nahajajo v organu samem. Poleg tega pa vplivajo na odpadanje tudi dejavniki izven organa. Pri listopadnih sadnih vrstah zaloge shranjenih ogljikovih hidratov v drevesu pomembno vplivajo na intenzivnost junijskega trebljenja plodičev (Addicott in Lynch, 1955).

Kasneje so Berüter (1985) ter Zhang in sod. (2004) ugotovili, da sta saharoza ter sorbitol glavna sladkorja, ki se transportirata po floemu do plodičev. Abruzzese in sod. (1995) ter Berüter in Droz (1991) so pokazali, da odpadanje plodičev med junijskim trebljenjem ni povezano s količino sladkorjev v samem plodiču. V poskusih s senčenjem je bilo dokazano, da razlike v nastavku plodov niso povezane z omejitvijo asimilatov (Avery in sod., 1979). V kasnejših raziskavah so abscizijo sprožili s senčenjem celega drevesa, rezjo lubja v bližini abscizijske cone, odstranjevanjem plodičev s pecljev ter z odstranjevanjem semen, kar se je izkazalo za uspešno, kadar je bilo tretiranje izvedeno pred junijskim trebljenjem (Berüter in Droz, 1991). Iz tega sledi, da je sprožitev abscizije hormonalne narave, katera pa ni povezana s preskrbo plodičev s sladkorji.

Kljub ugotovitvam Berüter-ja (1985) pa številne raziskave potrjujejo pomen ogljikovih hidratov pri trebljenju. Poleg tega, da predstavljajo energijo za rast so tudi gradniki rasti ter signalne molekule. Glede na poročanje Eccher in sod. (2014), so ogljikovi hidrati primarne signalne molekule, ki povzročijo pomanjkanje hranil v kožici plodičev, od katerih imata saharoza in trehaloza pomembno vlogo v tem procesu. Zaradi ogljikovih hidratov se poveča biosinteza etilena in abscizinske kisline, ki skupaj z nekaterimi drugimi ne-hormonalnimi signali pošljejo signal abscizije v seme, kjer ustavijo embriogenezo in s tem sintezo avksina. Posledično se zmanjša polarni transport avksina skozi abscizijsko cono in plodič odpade (Eccher in sod., 2013).

2.2 HORMONALNA TEORIJA

Druga teorija pravi, da sta pri razumevanju regulirane abscizije plodičev pomembna dva procesa, in sicer hormonalna aktivacija abscizijske cone na peclju ploda, ki je odločilen dogodek pri redčenju in absciziji, ter hormonalno nadzorovana dominanca med plodiči ter med plodiči in poganjki (Bangerth, 2000).

Avksin, specifično indol-3-ocetna kislina (IAA), ki ga proizvaja list ob plodiču, se transportira po peclju lista, kjer ustavi aktivacijo abscizijske cone. Fiziološki efekt avksina v tem procesu je zmanjšanje občutljivosti abscizijske cone na etilen. Če se zmanjša količina avksina pod določen nivo, etilen nato aktivira abscizijsko cono, kar se pokaže v absciziji. V hormonalnem modelu je etilen primarni signal procesa abscizije. Več kot je

plodičev v šopu, močnejši je autoinhibicijski učinek trasporta avksina najbolj podrejenega plodiča v šopu ter večja je verjetnost, da bo odpadel. Na drugi strani pa manj kot je plodičev v šopu, manjša bo inhibicija, manjša bo stopnja trebljenja. Na začetku trebljenja, 17-19 dni po cvetenju imajo centralni plodiči bazalno količino, medtem ko kažejo stranski plodiči povečano biosintezo etilena (Dal Cin in sod., 2007).

Bangerth (2000) je razvil teorijo soodvisne abscizije plodičev, ki bolje razlaga trebljenje plodičev. V šopu plodičev na jablani dominira tisti, ki se razvije prvi in ga imenujemo centralni plodič (K). Ta prevlada na ostalimi stranskimi (L) plodiči in povzroči, da jih večina odpade. Prav tako obstaja lestvica dominance med stranskimi plodiči, vendar ne tako močna kot med K ter L. Plodiči, ki so v podrejenem položaju, rastejo počasneje ter imajo manjši transport avksina. IAA spodbuja lastni bazipolarni transport (Warren Wilson in sod., 1988). Na prehodu, kjer se srečata močni polarni IAA transport dominantnega plodiča in šibkejši IAA transport lateralnega plodiča, prvi drugega zavre (Bangerth, 2000).

2.3 SLADKORJI V PLODIČIH

Fotosinteza listov je glavni vir ogljikovih hidratov za razvijajoče plodiče (Ouma, 2007). V plodičih prevladujejo sladkorji fruktoza, glukoza, saharoza in sorbitol, od katerih je fruktoza glavni sladkor v zrelih plodovih večine sort, vključno s sortama `Zlati delišes` in `Fuji` (Jackson, 2003).

Pri fotosintezi v listih nastajata saharoza in sorbitol, ki se po transportu v plod pretvorita v fruktozo in glukozo. Hitrost transporta in pretvorbe sladkorjev iz lista v plodič je odvisna od aktivnosti encimov, kateri so odvisni od razpoložljivosti sladkorjev (Minchin in sod., 1997). Sorbitol je glavni prekurzor za fruktozo. Njegova količina se v plodiču med rastjo ne povečuje, kar pomeni, da se ves sorbitol pretvori v fruktozo (Berüter, 1989).

Vsebnosti posameznih sladkorjev, izražene na svežo maso ploda (FW) se značilno spreminajajo v obdobju razvoja plodu. Količina saharoze se počasi povečuje z večanjem mase plodiča v fazi delitve celic (Berüter, 1985). Tik pred junijskim trebljenjem se začne faza rasti celic, za katero je značilno kopičenje sladkorjev. Glede na rezultate raziskave Li in sod. (2012) se količina sorbitola z razvojem plodu zmanjšuje, medtem ko se količina saharoze, glukoze ter fruktoze do zrelosti povečujejo. V zrelih plodovih sorte `Greensleeves` je bila količina fruktoze 2-krat večja od saharoze ter 4-krat večja od glukoze (Li in sod., 2012). Podobne ugotovitve so navedli Zhang in sod. (2010) pri sorti `Honeycrisp`. Količina škroba se v plodičih povečuje od 30 do 110 oz. 130 dni po cvetenju, nato pa se zmanjša, do odpadanja ploda (Jackson, 2003; Zhang in sod., 2010).

Vremenske razmere in kemično redčenje tudi vplivajo na vsebnost sladkorjev v plodičih. Stopar in sod. (2001) so pokazali, da štiridnevno 90 % senčenje dreves (simuliranje

oblačnega vremena) med trebljenjem značilno zmanjša vsebnost glukoze ter poveča vsebnost škroba v plodičih. Poleg tega je aplikacija NAA in BA v plodičih povečala vsebnost fruktoze v primerjavi s plodiči iz senčenih dreves.

Med procesom trebljenja se vsebnost ogljikovih hidratov povečuje v vseh plodičih, ne glede na položaj, vendar pa vsebuje cetralni plodič večjo količino skupnih sladkorjev (Jakopič in sod., 2015). Dominanca centralnega plodiča nad lateralnimi plodiči se kaže v povečani oskrbi slednjega s sladkorji, zaradi česar se hitreje razvija (Celton in sod., 2014).

Abscizijo lahko izzovemo v obdobju pred junijskim trebljenjem z ukrepi, ki prekinejo ali zmanjšajo preskrbo abscizijske cone s hranili. Po tem obdobju postane plodič akumulacijski organ za sladkor in s tem odporen na abscizijo. Plodiči, ki ostanejo na drevesu, so dosegli fazo razvoja, pri kateri se je nakopičila zadostna količina sladkorjev, ki preprečujejo odpadanje. Pri tem ima pomembno vlogo vsebnost glukoze v peclju plodiča (Berüter in Droz, 1991).

2.4 FENOLI V PLODIČIH

Fenoli so sekundarni produkti rastlin, ki jih najdemo tudi v kožici in mesu jabolk. Fenolne spojine določajo barvo ter okus sadja (Mayr in sod., 1995). Za pridobitev rdeče barve, morajo biti plodovi obsijani s soncem, kar je odvisno od gojitvene oblike (Treutter, 2001). V prvih 120 dneh razvoja plodičev po cvetenju, spremembe v vsebnosti posameznih fenolov v mesu ter kožici ne potekajo enakomerno, flavonoli ter klorogenska kislina se v obeh manjšata, medtem ko se flavanoli v kožici v tem obdobju ne zmanjšujejo (Treutter, 2001). Mayr in sod. (1995) so ugotovili tkivno določeno razporeditev fenolov v plodičih. V mesu je večja vsebnost katehina in procianidina B1, v peščišču pa je večja količina epikatehina in procianidinov (B2, B5, C1).

V tednih po cvetenju se vsebnost fenolov v plodičih zmanjšuje. Manjše vsebnosti imajo centralni plodiči, večje pa lateralni plodiči, med katerimi pa ni večjih razlik. Večje vsebnosti fenolov so bile izmerjene v obdobju junijskega trebljenja pri lateralnih plodičih 7 do 14 dni pred intenzivnim trebljenjem (Jakopič in sod., 2016). Vsebnost fenolov se na splošno zmanjšuje z rastjo plodičev (Mayr in sod., 1995; Zhang in sod., 2010).

Vsebnost fenolov ni samo posledica notranje kontrole, temveč je močno odvisna tudi od ostalih dejavnikov, kot so lokacija rastišča, način gnojenja, škropljenje s fitofarmacevtskimi sredstvi, poškodbe in napad patogenov (Treutter, 2001). Poškodbe plodov in listov sprožijo sintezo flavanolov in klorogenske kisline (Mayr in sod., 1995). Flavanoli prispevajo k učinkoviti obrambi rastline proti jablanovem škrlupu (Treutter, 2001).

Količina fenolov se razlikuje tudi med načini pridelave jabolk. Vsebnost fenolov v ekološki pridelavi je mnogo večja kot pri integrirani pridelavi jabolk, zato ker so rastline v ekološki pridelavi bolj izpostavljene napadom škodljivcev in patogenov (Veberič in sod., 2006; Mikulič Petkovšek in sod., 2010). Obremenitev drevesa je prav tako dejavnik vsebnosti fenolov, kot so to pokazali Stopar in sod. (2002) pri sorti `Jonaglod`, kjer je manjši ovesek na drevesu pomenil večjo vsebnost polifenolov. Vsebnost je v nezrelih plodovih večja kot v zrelih (Štampar in sod., 2009).

3 MATERIALI IN METODE

Poskus je potekal v letu 2015 v dveh vrstah na jablanah sorte ´Zlati delišes´, ki rastejo na podlagi M9, v gojitveni obliki sončna os na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete Oddelka za agronomijo. Vrste potekajo v smeri sever-jug. Spremljali smo naravno trebljenje plodičev pri različnih obremenitvah. Izbrali smo izenačene veje s kratkim rodnim lesom in cvetnimi šopi po 5 cvetov, za vsako obremenitev po dve veji na dveh različnih drevesih. Določili smo obremenitve 3, 6, 9 in 12 šopov na cm^2 premera veje in odstranili presežek cvetnih šopov. Potem smo v 10 dnevnih razmakih spremljali, s katerih pozicij so odpadli plodiči. Iz vsake veje so bili prešteti odpadli plodiči po koncu junijskega trebljenja in nato primerjani deleži od vseh odpadlih plodičev med sabo. Termini vzorčenja za spremljanje dnevne dinamike sladkorjev in fenolov so bili izbrani glede na cilj raziskave, v obdobju junijskega trebljenja. Prvo celodnevno vzorčenje je potekalo pred trebljenjem 6. 5. 2015, drugo na začetku trebljenja 20. 5. 2015, tretje na sredi 5. 6. 2015 ter po koncu trebljenja 2. 7. 2015.

Poleg tega smo v štirih vnaprej določenih terminih celodnevno vzorčili plodiče na 2 uri, od 8.00 do 20.00, vsakič po 7 šopov plodičev. Vzorčenje je potekalo v eni vrsti, izbrani so bili čim bolj enaki šopi iz naključno izbranih vej, vsak šop iz druge veje. Vzorčili smo šope iz celega drevesa. Najprej šope po 5 plodičev na začetku trebljenja, ter nato šope s 3 plodiči. Izbrali smo šope, kjer je bil še prisoten centralni plodič. Vzorce smo takoj prinesli v laboratorij, kjer smo jih analizirali.

3.1 VREMENSKE RAZMERE V LETU 2015

Leto 2015 je bilo v primerjavi z dolgoletnim povprečjem nadpovprečno toplo. Rastno dobo so zaznamovali štirje vročinski valovi, prva dva sta bila v prvi in drugi dekadi junija, tretji v zadnji dekadi julija in četrti v drugi dekadi avgusta. Po izrazito namočenem letu 2014 je leta 2015 večinoma opazno primanjkovalo padavin. Približno polovica Slovenije je zabeležila od 900 do 1300 mm padavin. Razmere za cvetenje jablane so bile dobre, v aprilu so prevladovali suhi dnevi, v maju je bilo toplo, šele v drugi polovici maja so bile padavine (Naše okolje, 2015). Prikaz povprečnih temperatur zraka ter padavin za leto 2015 je v prilogi B (Meteo.si, 2016). Podatke za globalno obsevanje smo pridobili iz spletne strani Meteo.si (2016).

3.2 PRIPRAVA VZORCEV

Po vzorčenju v nasadu smo plodiče razdelili na centralne in lateralne, nato je sledilo merjenje premera in tehtanje vsakega plodiča posebej. Zatehtali smo 1 g vzorca za analizo sladkorjev s tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti (HPLC). Vzorce smo sesekljali z nožem, prelili z 20 ml bidestilirane vode ter homogenizirali z Ultra-Turraxom (Ika

Labortechnik, Nemčija). Potem je sledilo mešanje na stresalniku za 30 minut in prelitje v centrifugirke. Centrifugiranje je potekalo s centrifugo (Eppendorf Centrifuge 5810, Nemčija) 10 minut pri 10 000 obratih/min. Supernatant smo s pomočjo injekcijske brizgalke filtrirali skozi 0,2 µm filter v 2 ml viale in vzorce shranili v zamrzovalniku pri -20 °C za kasnejšo analizo na HPLC. Ostanki centralnih plodičev in lateralnih plodičev so bili posebej zapakirani v papirnate vrečke in shranjeni v zamrzovalniku pri -20 °C za analizo skupnih fenolov.

Vzorce iz vrečk smo z nožem sesekljali in zatehtali 1 g vzorca plodičev ter ga prelili z 10 ml metanola s 3 % mravljinčno kislino. Vzorce smo dali v ohlajeno (0 °C) ultrazvočno kopel za 1 uro. Nato smo jih centrifugirali 10 minut pri 10000 obratih/min. Supernatant smo prefiltriral skozi 0,2 µm poliamidni filter v 2 ml viale.

3.3 ANALIZA POSAMEZNIH SLADKORJEV

Vzorce smo analizirali na HPLC sistemu (Thermo Scientific, Finnigan Spectra System, Waltham, MA, ZDA) kot opisujejo Jakopič in sod. (2016). Uporabili smo 20 µl vzorca in ga analizirali na koloni (Phenomenex Rezex RCM-Monosaccharide) ogreti na 65 °C pri pretoku mobilne faze 0,6 ml/min. Kot mobilna faza je bila uporabljena bidestirirana voda. Posamezne sladkorje smo določili z RI detektorjem s primerjavo retencijskih časov in zunanjih standardov. Rezultati so predstavljeni v mg/g sveže snovi (FW).

3.4 ANALIZA SKUPNIH FENOLOV

Skupne fenole smo določili s spektrofotometrom. To je optična metoda, s katero kvantitativno in kvalitativno ugotovimo sestavo vzorca. Deluje na principu merjenja intenzivnosti svetlobe, ki pride skozi vzorec in jo primerja z intenzivnostjo svetlobnega vira. Detektor glede na razlike v intenzivnosti izmeri absorbanco, katero nato uporabimo za določitev vzorca (Brodnjak Vončina, 2006). Vzorce smo analizirali po metodi kot jo opisujeta Singleton in Rossi (1965). Za vzorec je bil uporabljen material iz celega plodiča. V 6 ml bidestilirane vode smo dodali 100 µl vzorca, 500 µl Folin-Ciocalteu-ovega reagenta, 1,5 ml 20 % natrijevega karbonata ter dopolnili do 10 ml z bidestilirano vodo. Vzorce smo premešali in pustili 30 minut pri 40 °C. Za tem smo izmerili absorbanco posameznega vzorca s pomočjo spektrofotometra (Perkin-Elmer, UV/visible Lambda Bio 20) pri valovni dolžini 765 nm. Za slepi vzorec smo vzorec nadomestili s 100 µl bidestilirane vode. Vsebnost skupnih fenolov je izražena v mg ekvivalentov galne kisline (GAE)/kg FW.

3.5 STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV

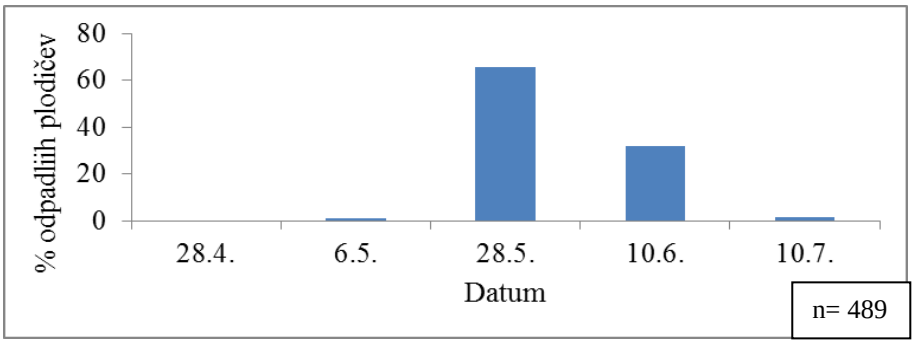
Podatke smo statistično obdelali v programu Excel z enosmerno analizo variance (ANOVA) in določili dinamiko odpadanja plodičev ter razlike v vsebnosti metabolitov v različnih terminih vzorčenja pri $p \leq 0,05$.

4 REZULTATI

4.1 ODPADANJE PLODIČEV

S spremljanjem odpadanja plodičev po terminih smo ugotavljali potek odpadanja plodičev, kdaj najbolj intenzivno poteka junijsko trebljenje ter s katerih pozicij najbolj pogosto odpadajo plodiči. Poleg tega smo na različno obremenjenih vejah spremljali intenzivnost trebljenja.

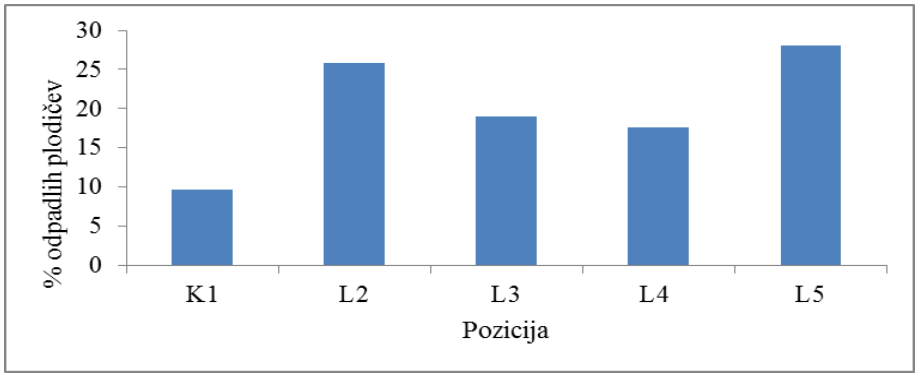
4.1.1 Odpadanje plodičev glede na termin vzorčenja



Slika 2: Intenzivnost trebljenja plodičev glede na termin vzorčenja
Figure 2: Fruitlet abscission rate at different sampling times

Iz slike 2 je razvidno, da se je približno 2/3 trebljenja (65,4 %) zgodilo do 28. 5. 2015 ter do naslednjega vzorčenja (10. 6.) še približno 1/3 (31,7 %). Na začetku vzorčenja po cvetenju 28. 4. 2015 ni odpadel noben plodič, pred vrhom trebljenja in po 10. 6. pa je odpadlo 1,3 % in 1,6 % vseh plodičev. Delež odpadlih plodičev je izračunan od števila vseh odpadlih plodičev po koncu junijskega trebljenja.

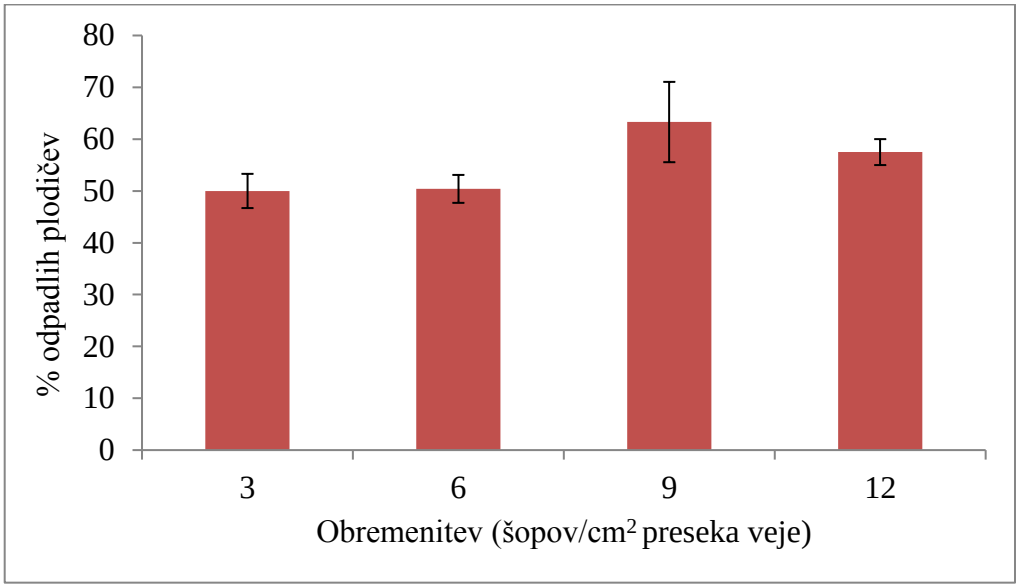
4.1.2 Odpadanje plodičev glede na pozicijo v šopu



Slika 3: Stopnje odpadanja plodičev glede na pozicijo v šopu
Figure 3: Fruitlet abscission rates according to cluster position

Pri zadnjem vzorčenju 2. 7. 2015 po končanem trebljenju je bilo ugotovljeno (slika 3), da so najpogosteje odpadli plodiči na pozicijah L2 ter L5, in sicer v 26 % ter 28 % primerih. Centralni plodič je najmanjkrat odpadel (9 %), plodiči na poziciji L3 19 % ter na poziciji L4 18 %. Delež odpadlih plodičev je bil izračunan za vsako pozicijo od celotnega števila odpadlih plodičev.

4.1.3 Odpadanje plodičev glede na obremenitev vej



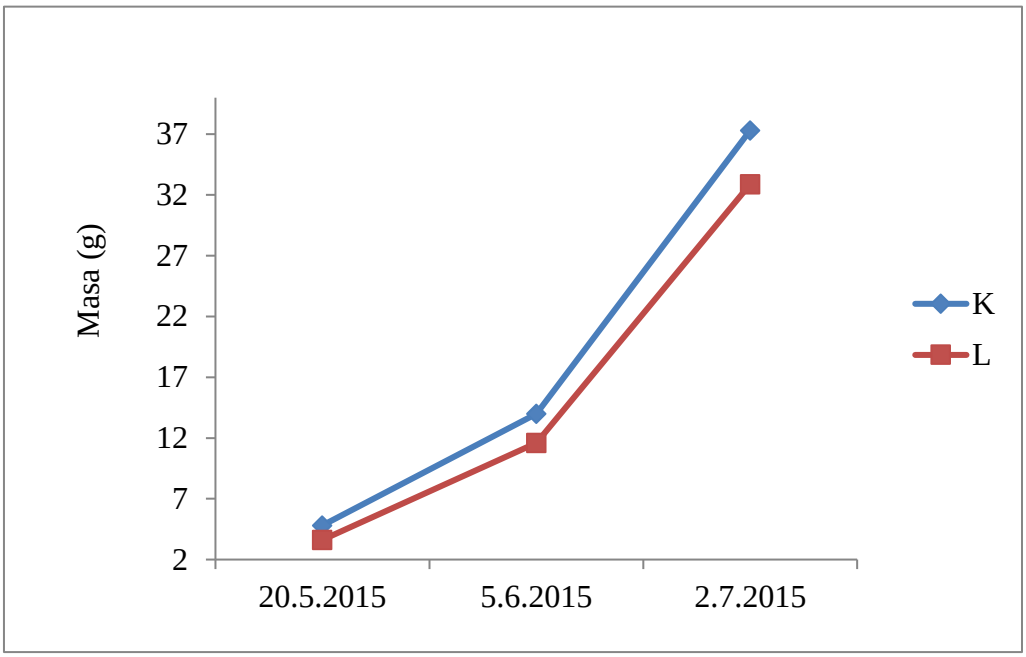
Slika 4: Delež odpadlih plodičev med junijskim trebljenjem glede na obremenitev veje. Prikazane so povprečne vrednosti ± standardna napaka

Figure 4: Fruitlet abscission rate during June drop in relation to branch load. Shown are average values ± standard error

Pri različnih obremenitvah vej (3, 6, 9 in 12 šopi/cm^2) smo spremljali odpadanje plodičev iz šopov s 5 cvetovi (slika 4). Pri obremenitvi vej s 3 šopi/cm^2 je med junijskim trebljenjem odpadlo 50 % plodičev, na veji s 6 šopi/cm^2 50 %, z 9 šopi 63 % ter z 12 šopi/cm^2 58 % plodičev. Med obremenitvami ni statistično značilnih razlik pri odpadanju plodičev. Povprečno je iz opazovanih šopov odpadlo 55,3 % plodičev.

4.2 MASA IN PREMER PLODIČEV

Med junijskim trebljenjem smo spremljali maso in premer centralnih in lateralnih plodičev (slika 5 in 6, preglednica 1 in 2).

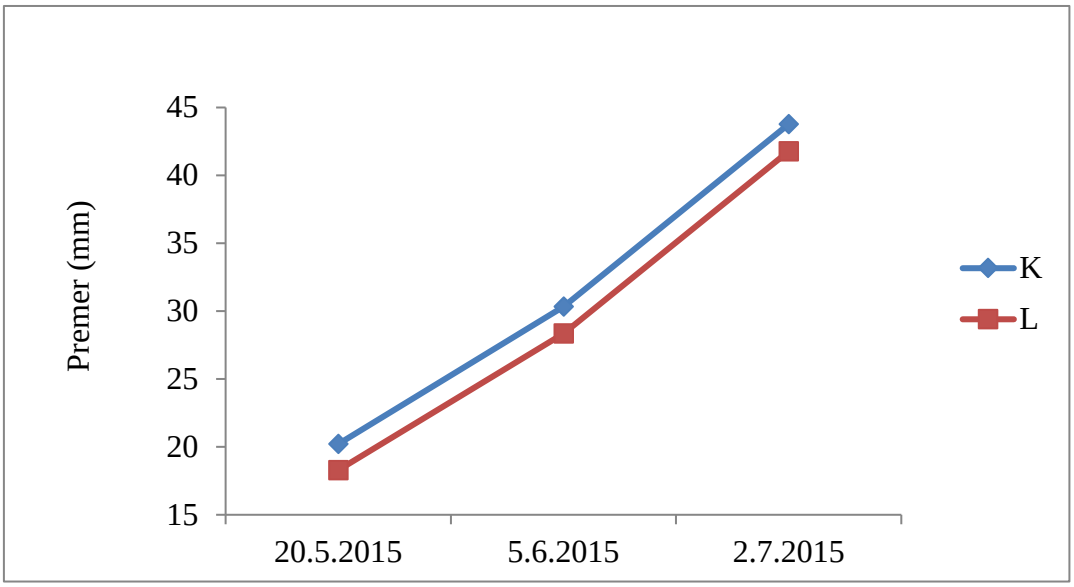


Slika 5: Primerjava večanja mase K in L plodičev v treh terminih vzorčenja
Figure 5: Comparison of K and L fruitlet mass growth at three sampling dates

Masa plodičev (slika 5) se je v obdobju trebljenja do 5. 6. 2015 povečevala počasneje, v obdobju po junijskem trebljenju pa hitreje. V posameznih terminih je bila razlika med povprečno maso K in L statistično značilna (preglednica 1).

Preglednica 1: Povprečna masa za ± standardna napaka K in L v treh terminih vzorčenja. *P* vrednost označuje stopnjo značilnosti statistične analize med K in F
Table 1: Average K and L masses ± standard error at three sampling dates. *P* value marks statistical significance degree of analysis between K and L

Datum	K (g)	L (g)	*p*-vrednost
20. 5. 2015	4,81 ± 0,1	3,62 ± 0,1	1,19E-10
5. 6. 2015	13,98 ± 0,3	11,61 ± 0,4	2,16E-05
2. 7. 2015	37,31 ± 0,8	32,89 ± 0,9	7,18E-04



Slika 6: Primerjava sprememb povprečnega premera K in L plodičev v treh terminih vzorčenja
Figure 6: Comparison of average K and L fruitlet diameters at three sampling dates

Primerjava povečevanja premerov K ter L plodičev kaže (slika 6), da so se premeri v času vzorčenj povečevali skoraj linearno. Premeri K ter L plodičev se statistično značilno razlikujejo (preglednica 2), pri čemer je povprečni premer K vedno večji od L.

Preglednica 2: Povprečen premer ± standardna napaka K ter L v treh terminih vzorčenja. *P* vrednost označuje stopnjo značilnosti statistične analize med K in F
Table 2: Average diameter values ± standard error for K and L at three sampling times. *P* value marks statistical significance degree of analysis between K and L

Datum	K (mm)	L (mm)	*p* vrednost
20. 5 .2015	20,21 ± 0,2	18,29 ± 0,2	7,08E-09
5. 6. 2015	30,33 ± 0,2	28,35 ± 0,4	1,41E-05
2. 7. 2015	43,77 ± 0,3	41,78 ± 0,4	1,71E-04

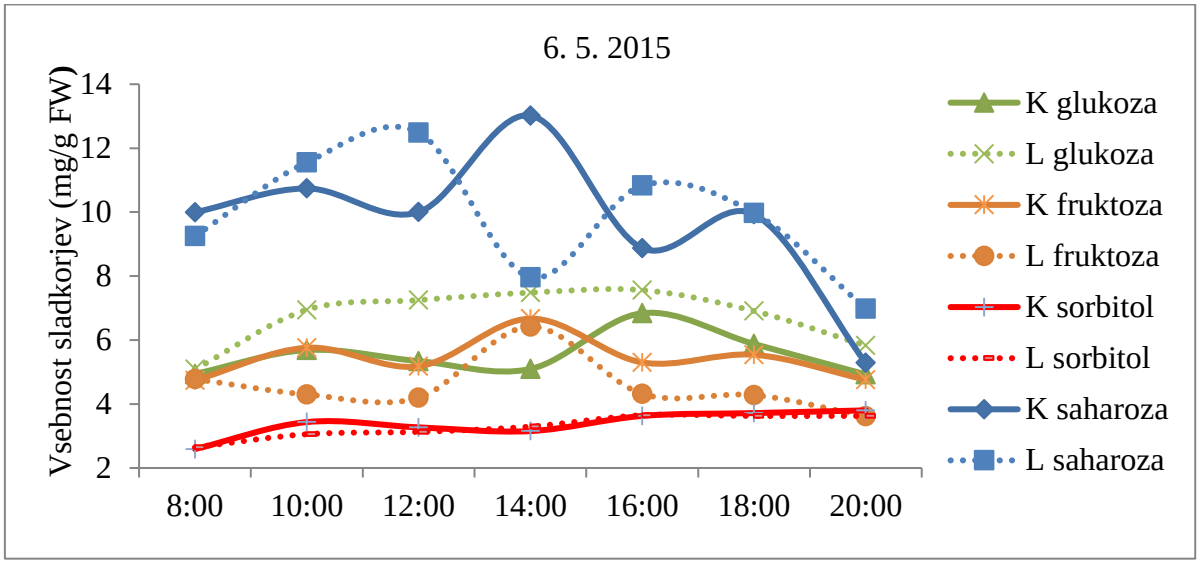
4.3 DNEVNE SPREMEMBE VSEBNOSTI SLADKORJEV IN FENOLOV

Z vzorčenjem plodičev od 8:00 do 20:00 na v 2-urnih razmakih ugotavljali dnevne spremembe vsebnosti sladkorjev ter fenolov.

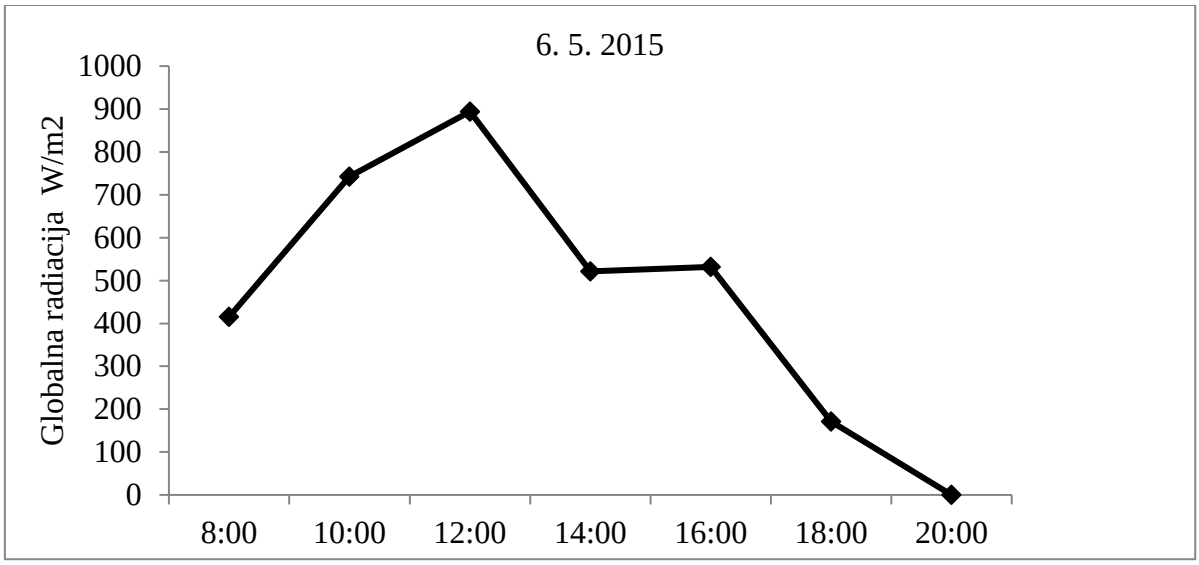
4.3.1 Dnevna dinamika vsebnosti posameznih sladkorjev

V plodičih smo določali vsebnost saharoze, glukoze, fruktoze in sorbitola. Za primerjavo dnevnih gibanj vsebnosti sladkorjev v K in L smo izbrali termin na začetku junijskega

trebljenja 6. 5., pred vrhom trebljenja 20. 5., na koncu trebljenja 5. 6. ter po trebljenju 2. 7. 2015.



Slika 7: Dnevna dinamika vsebnosti posameznih sladkorjev dne, 6. 5. 2015
Figure 7: Daily sugar content dynamics on 6 May 2015

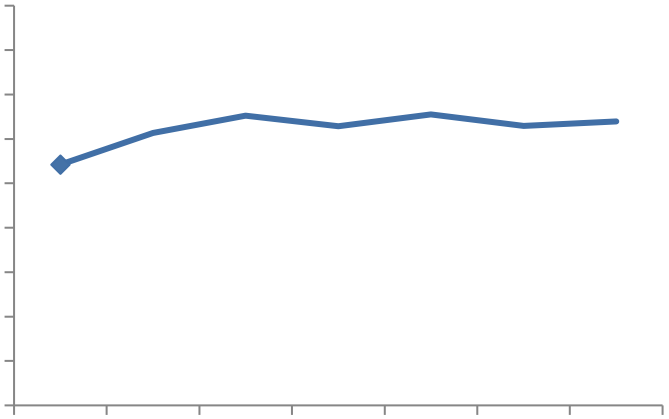


Slika 8: Globalno obsevanje v W/m^2 dne, 6. 5. 2015
Figure 8: Global radiation in W/m^2 on 6 May 2015

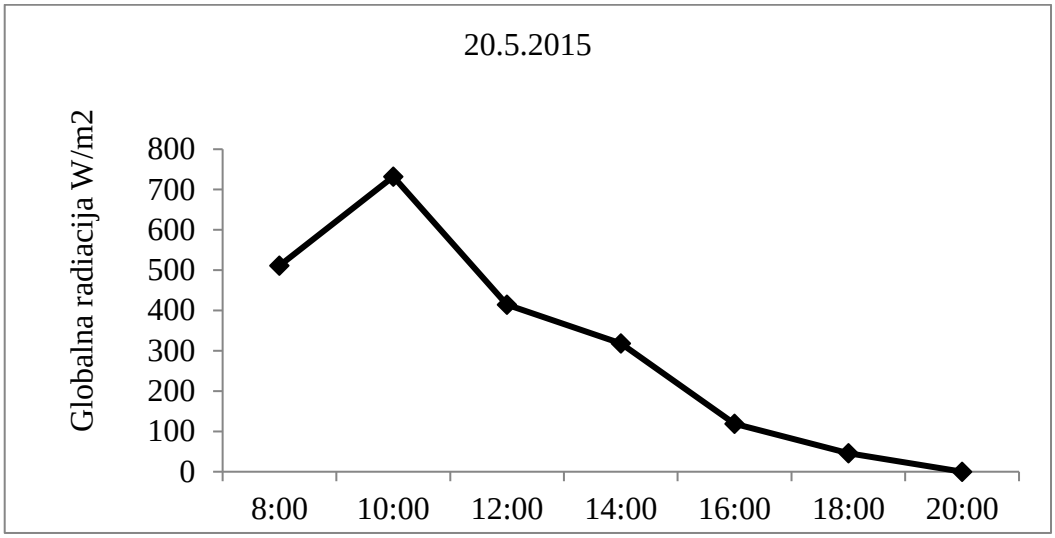
Pred začetkom junijskega trebljenja, 6. 5., je bila med sladkorji najbolj zastopana saharoza (ob 14 uri pri K 13,02 mg/g FW) (slika 7). Največja vrednost za povprečno vsebnost glukoze pri K in L je bila izmerjena ob 16ih, koncentracija pri K je bila 6,84 mg/g FW in pri L 7,56 mg/g FW. Največ fruktoze je bilo v plodičih ob 14 uri, podobno kot saharoza, le da so bile vrednosti manjše (K 6,67 mg/g FW in L 6,42 mg/g FW). Vsebnost sorbitola se je pri K in L čez dan počasi povečevala in dosegla vrh ob 20 uri, ko je bila pri K 3,80 mg/g FW ter L 3,63 mg/g FW. Med povprečnimi dnevnimi vsebnostmi sladkorjev med K in L ni statistično značilnih razlik, razen v primeru glukoze (preglednica 3).

Preglednica 3: Povprečne dnevne količine ± standardna napaka posameznih sladkorjev v štirih terminih za K in L plodiče (mg/g FW). *P*-vrednost označuje stopnjo značilnosti statistične analize med K in F
Table 3: Average daily values ± standard error of individual sugars at four sampling times for K and L fruitlets (mg/g FW). *P*-value marks statistical significance degree of analysis between K and L

Datum		K (mg/g FW)	L (mg/g FW)	*p*-vrednost
6. 5. 2015	saharoza	9,69 ± 0,9	9,86 ± 0,7	0,88
	glukoza	5,53 ± 0,3	6,72 ± 0,3	0,02
	fruktoza	5,42 ± 0,3	4,56 ± 0,3	0,06
	sorbitol	3,37 ± 0,2	3,29 ± 0,1	0,71
20. 5. 2015	saharoza	12,46 ± 0,3	11,87 ± 0,4	0,23
	glukoza	11,68 ± 0,5	10,28 ± 0,4	0,05
	fruktoza	14,83 ± 0,5	13,06 ± 0,4	0,03
	sorbitol	3,41 ± 0,1	3,34 ± 0,1	0,75
5. 6. 2015	saharoza	8,78 ± 1,0	9,62 ± 0,8	0,52
	glukoza	19,54 ± 0,9	18,11 ± 0,8	0,26
	fruktoza	24,14 ± 1,1	22,56 ± 0,9	0,28
	sorbitol	2,93 ± 0,1	2,94 ± 0,1	0,96
2.7.2015	saharoza	10,98 ± 0,9	10,23 ± 0,7	0,53
	glukoza	25,79 ± 1,4	24,51 ± 1,1	0,48
	fruktoza	46,22 ± 3,0	44,04 ± 2,8	0,60
	sorbitol	1,38 ± 0,1	1,34 ± 0,1	0,83

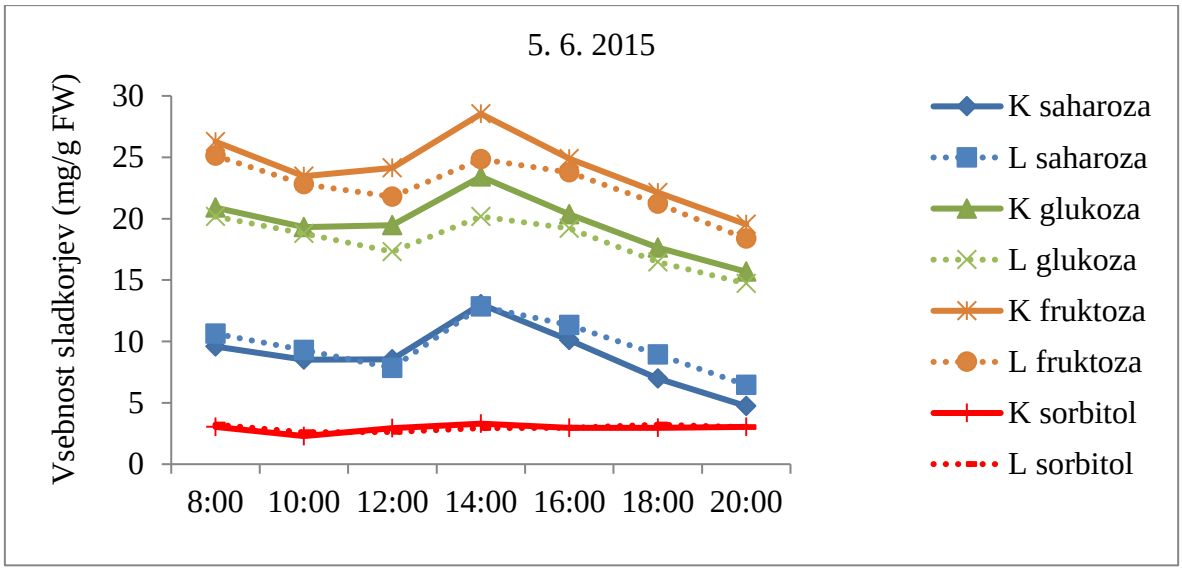


Slika 9: Dnevna dinamika vsebnosti posameznih sladkorjev dne, 20. 5. 2015
Figure 9: Daily sugar content dynamics on 20 May 2015

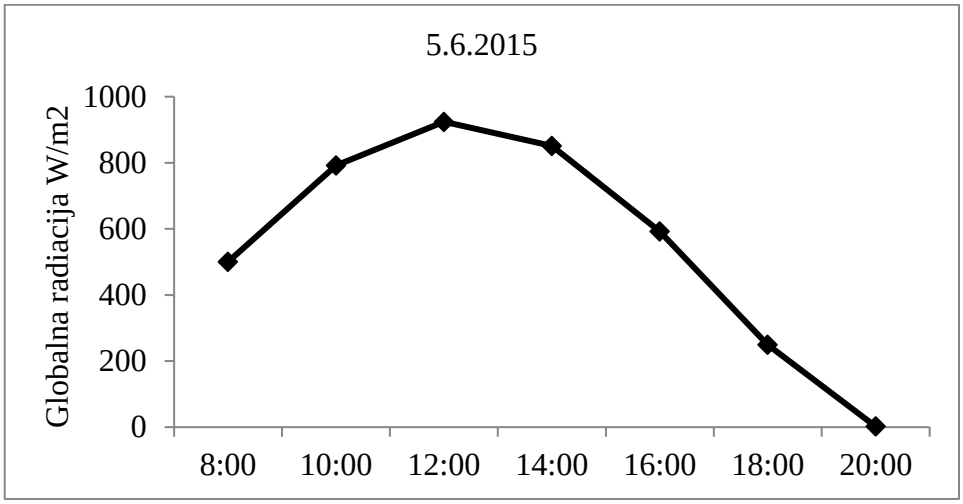


Slika 10: Globalno obsevanje W/m^2 dne, 20. 5. 2015
Figure 10: Global radiation in W/m^2 on 20 May 2015

V terminu ob začetku trebljenja 20. 5. (slika 9) je bila vsebnost saharoze največja ob 16. uri (pri K 13,10 mg/g FW ter L 12,67 mg/g FW). Dnevne vsebnosti glukoze ter fruktoze so bile največje ob 14. uri. V centralnih plodičih je bilo več glukoze 12,88 mg/g FW kot v lateralnih plodičih 11,64 mg/g FW. Nekoliko več je bilo tudi fruktoze v K (16,10 mg/g FW) kot v L (14,45 mg/g FW). Količina sorbitola je bila največja ob 20. uri, ko je bila povprečna vsebnost v K in L 3,91 mg/g FW. Med K in L je bila statistično značilna razlika pri fruktozi, vsebnost glukoze je bila mejno različna med K in L (preglednica 3).

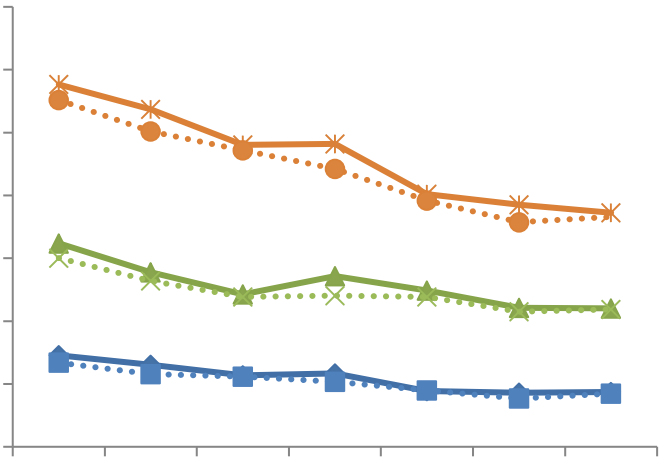


Slika 11: Dnevna dinamika vsebnosti posameznih sladkorjev dne, 5.6. 2015
Figure 11: Daily sugar content dynamics on 5 June 2015

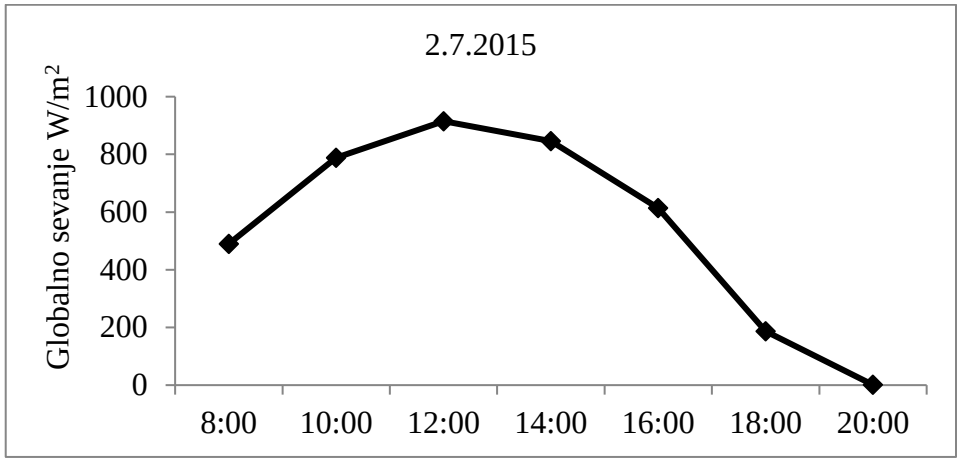


Slika 12: Globalno obsevanje W/m^2 dne, 5. 6. 2015
Figure 12: Global radiation in W/m^2 on 5 June 2015

V tretjem terminu vzorčenja (slika 11) so se vsebnosti glukoze ter fruktoze povečale, medtem ko sta se vrednosti saharoze in sorbitola nekoliko zmanjšale (preglednica 3). Vrh dnevnih vrednosti pri vseh merjenih sladkorjih je bil ob 14. uri, razen pri sorbitolu. Vrednost saharoze je bila pri K 13,02 mg/g FW in L 12,85 mg/g FW, glukoze pri K 23,42 mg/g FW in L 20,17 mg/g FW in fruktoze pri K 28,53 mg/g FW in L 24,85 mg/g FW. Največje vrednosti za sorbitol so bile izmerjene ob 20 uri pri K (3,03 mg/g/FW) in ob 18. uri za L (3,21 mg/g FW). Statistično značilnih razlik v povprečnih dnevnih vsebnostih posameznih sladkorjev med K in L ni bilo (preglednica 3).



Slika 13: Dnevna dinamika vsebnosti posameznih sladkorjev dne, 2. 7. 2015
Figure 13: Daily sugar content dynamics on 2 July 2015

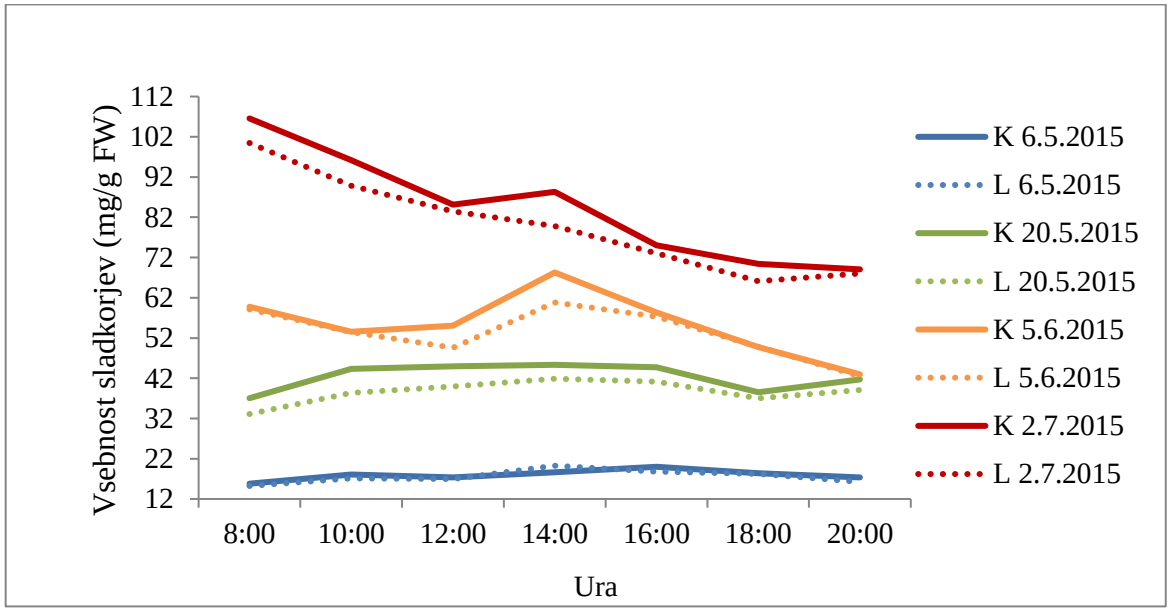


Slika 14: Globalno obsevanje W/m^2 dne, 2. 7. 2015
Figure 14: Global radiation in W/m^2 on 2 July 2015

Zadnji termin vzorčenja je bil po končanem junijskem trebljenju. Največje vrednosti vsebnosti pri vseh sladkorjih so bile izmerjene ob 8. uri (slika 13). Saharoza je bila v K 14,55 mg/g FW in L 13,38 mg/g FW, glukozo v K 32,37 mg/g FW in L 30,03 mg/g FW, fruktoza v K 57,64 mg/g FW in L 55,18 mg/g FW ter sorbitol v K 1,98 mg/g FW in L 1,87 mg/g FW. Statistično značilnih razlik v povprečnih dnevnih vsebnostih sladkorjev med K in L ni bilo (preglednica 3).

Vsebnosti saharoze ter sorbitola je največja 20. 5. 2015 (preglednica 3), medtem ko se vsebnosti glukoze in fruktoze povečujeta preko celega obdobja vzorčenja. Koncentracija sorbitola se je zmajšala od 20. 5. 2015 do 2. 7. 2015 (preglednica 3). Med K in L ni statistično značilnih razlik v koncentracijah posameznih sladkorjev, razen v terminu 6. 5. je bila vrednost glukoze L značilno večja od K ter v terminu 20. 5. je bila vrednost fruktoze K značilno večja od L, medtem ko je bila razlika v vrednosti glukoze med K in L mejna ($p \leq 0,05$) (preglednica 3).

4.3.2 Dnevni potek vsebnosti skupnih sladkorjev



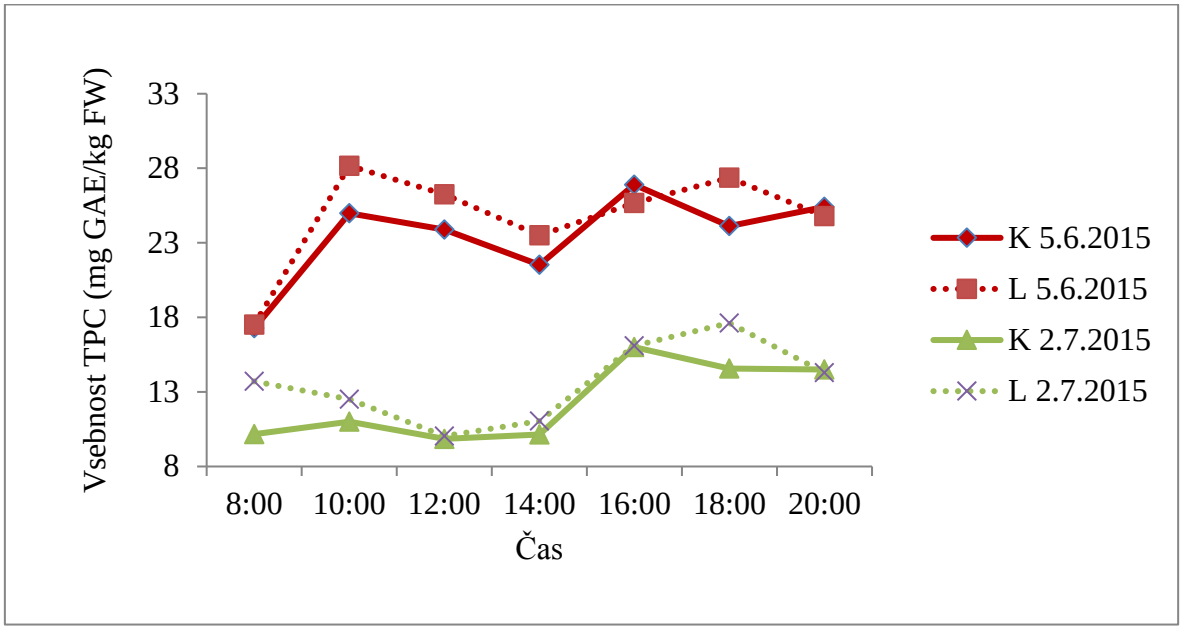
Slika 15: Prikaz dnevne dinamike vsote sladkorjev po posameznih terminih od 6. 5. do 2. 7. 2015
Figure 15: Daily dynamics of sum of total sugars in fruitlets at individual dates from 6 May till 2 July 2015

Iz rezultatov dnevne dinamike sprememb skupnih sladkorjev (slika 15) je razviden vrh vsebnosti okoli 14. ure, razen pri terminu 2. 7., ko so bile vrednosti največje ob 8. uri. Pri vzorčenju 20. 5. 2015 ni izrazitega vrha zaradi oblačnega vremena na ta dan. Centralni plodiči so imeli malo večjo vsebnost sladkorjev kot L, vendar pa ta razlika z izjemo drugega termina ni bila statistično značilna ($p \geq 0{,}05$). V zadnjem vzorčenju, 2. 7. 2015, je opazen trend zmanjšanja vsebnosti sladkorjev od jutra do večera z vmesnim vrhom ob 14. uri. Mejno statistično značilna je bila samo razlika v vsebnosti skupnih sladkorjev med K in L v terminu 20. 5. 2015 (preglednica 4).

Preglednica 4: Primerjava vrednosti skupnih sladkorjev ± standardna napaka med K in L po terminih. *P*-vrednost označuje stopnjo značilnosti statistične analize med K in F
Table 4: Comparison of total sugar content ± standard error between K and L. *P*-value marks statistical significance degree of analysis between K and L

Datum	K (mg/g FW)	L (mg/g FW)	*p*-vrednost
6. 5. 2015	17,94 ± 0,5	17,55 ± 0,6	0,64
20. 5. 2015	42,38 ± 1,3	38,64 ± 1,1	0,05
5. 6. 2015	55,39 ± 3,0	53,23 ± 2,4	0,59
2. 7. 2015	84,37 ± 5,3	80,11 ± 4,6	0,56

4.4 DNEVNI POTEK VSEBNOSTI SKUPNIH FENOLOV



Slika 16: Prikaz dnevne dinamike vsebnosti skupnih fenolov v dveh terminih
Figure 16: Daily total phenol content dynamics at two sampling dates

Termina 5. 6. 2015 ter 2. 7. 2015 sta bila izbrana zato, ker nas je zanimalo spreminajnje vsebnosti skupnih fenolov (TPC) v obdobju junijskega trebljenja ter po koncu tega obdobja. Iz slike 16 je razvidno, da so vsebnosti fenolov ob junijskem trebljenju večje kot po koncu tega obdobja.

Preglednica 5: Povprečne vsebnosti TPC ± standardna napaka v dveh terminih vzorčenja za K ter L. *P*-vrednost označuje stopnjo značilnosti statistične analize med 5. 6. in 2. 7. 2015
Table 5: Average TPC values ± standard error at two sampling times for K and L. *P*-value marks statistical significance degree of analysis between 5. 6. and 2. 7. 2015

K/L	5. 6. 2015	2. 7. 2015	*p*-vrednost
K	23,44 ± 1,2mg GAE/kg	12,32 ± 0,9mg GAE/kg	1,14E-05
L	24,75 ± 1,3mg GAE/kg	13,61 ± 1,0mg GAE/kg	2,47E-05

Med K ter L v posameznem terminu ni bilo statistično značilnih razlik v vsebnosti TPC ($p \leq 0,05$; preglednica 5). V primerjavi povprečij med terminoma je bila vsebnost TPC v plodičih večja v terminu med junijskim trebljenjem kot po trebljenju (preglednica 5).

5 RAZPRAVA

5.1 ODPADANJE PLODIČEV

Za spremljanje odpadanja plodičev smo izbrali samo šope s petimi plodiči, ki so imeli centralni plodič, saj se je v prejšnjih raziskavah pokazalo, da so bili pri sorti `Zlati delišes` najbolj pogosti (Jakopič in sod., 2015). Junijsko trebljenje plodičev spada v drugo naravno obdobje trebljenja, ki nastopi šest do osem tednov po cvetenju, v Sloveniji to pomeni, da navadno traja od konca maja pa do sredine junija (Štampar in sod., 2009). Proces junijskega trebljenja se je leta 2015 začel okoli 6. 5., ko smo opazili prva odpadanja plodičev. Večina jih je odpadla do 3 termina vzorčenja. 10. junija. Po tem datumu nismo opazili večjih sprememb pri trebljenju plodičev. Do konca vzorčenja je odpadlo samo še 1,6 % plodičev (slika 2). Večina junijskega trebljenja se je zgodila od konca maja pa do začetka junija.

Pri spremljanju odpadanja plodičev se je pokazalo, da je intenzivno junijsko trebljenje potekalo med 6. 5. ter 10. 6., z enim vrhom 28. 5. Do takrat je odpadlo največ plodičev (65,4 %), v naslednjih tednih pa 31,7 %. Do podobnih ugotovitev so prišli tudi Jakopič in sod. (2016), medtem ko so Abruzzese in sod. (1995) ter Jakopič in sod. (2015) zabeležili dva vrha trebljenja, 29 in 48 dni po cvetenju.

Glede na pozicijo v šopu (slika 1) je najmanj pogosto odpadal K1 plodič v 9 % (slika 3), največkrat pa plodiči s pozicij L2 (26 %) ter L5 (28 %). Meritve se ujemajo z ugotovitvami, da je K1 najmanj podvržen absciziji ter da ima sosednji L2 večjo možnost abscizije, najverjetneje zaradi dominantnega učinka K1 (Jakopič in sod., 2015). Intenzivnost odpadanja plodičev s pozicij L3 ter L4 je manjša kot pri L2 ter L5, s stopnjo 19 % za L3 ter 18 % za L4, kar potrjuje domnevo, da tudi med lateralnimi plodiči obstaja dominantni učinek (Bangerth, 2000). V nasprotju z ugotovitvami Jakopič in sod. (2015), kjer je odpadlo več kot 70 % plodičev na pozicijah L2, L3 ter L4 ter 85 % plodičev na poziciji L5, je v našem primeru odpadlo veliko manj plodičev. Razlika je lahko posledica različnih rastnih razmer, ker je trebljenje plodičev zelo reguliran razvojni proces, na katerega vplivajo notranje in okoljske razmere (Taylor in Whitelaw, 2001).

Primerjava abscizije plodičev na različno obremenjenih vejah s 3, 6, 9, ter 12 šopi/cm^2 preseka veje (slika 4) ni potrdila naše domneve, da bo na bolj obremenjenih vejah intenzivnost odpadanja plodičev večja. Stopnja abscizije je bila povprečno 55,3 % pri vseh obremenitvah. Pri obremenitvi z 9 šopi/cm^2 je bila izmerjena največja razlika med vzorčenima vejama, na prvi je odpadlo 71,1 % na drugi pa 55,6 % plodičev. Palmer in sod. (1997) so pokazali, da različne obremenitve dreves s plodiči vplivajo na povprečno maso ploda ob obiranju. V njihovem primeru so drevesa z manjšimi obremenitvami preusmerila asimilate v vegetativno rast, kar se je pokazalo kot odebelitev debla, daljših poganjkih ter

večji vsebnosti suhe snovi v listih. Prav tako so izmerili manjšo fotosintetsko aktivnost v listih manj obremenjenih dreves kot pri bolj obremenjenih, kar so ugotovili tudi Klages in sod. (2001). Glede na to, da je bila stopnja odpadanja plodičev enaka pri različnih obremenitvah v našem primeru, lahko sklepamo, da so se drevesa na manjši ponor asimilatov prilagodila na način kot so opisali Palmer in sod. (1997) v svoji raziskavi.

5.2 MASA IN PREMER PLODIČEV

Statistična analiza primerjave premerov K ter L po posameznih terminih (preglednica 2) je potrdila domnevo, da imajo K v povprečju večji premer kot L (Abruzesse in sod., 1995; Celton in sod., 2014), vendar pa se je razlika med povprečnimi premeri med vzorčenjem počasi zmanjševala (preglednica 2), po čemer lahko sklepamo, da začnejo L po obdobju junijskega trebljenja v rasti dohitevati K. Mase plodičev sledijo trendu povečevanja premerov in začnejo po koncu glavnega obdobja trebljenja hitreje naraščati (slika 5; slika 6). Mase K so statistično značilno večje kot mase L v vseh vzorčenih terminih (preglednica 1). Mase K ter L se med obdobjema 5. 6. 2015 ter 2. 7. 2015 večkratno povečata, kar potrjuje dejstvo, da plodiči, ki ne odpadejo v obdobju trebljenja, postanejo akumulacijski organ za ogljikove hidrate (Bangerth, 2000). Velikost ter položaj plodiča v šopu sta lahko zanesljiva parametra za napoved potenciala trebljenja v šopih s hierarhično razporejenimi plodiči (Jakopič in sod., 2015). Ker je trebljenje deloma odvisno od tekmovanja za asimilate med rastočimi poganjki ter plodiči, ter med plodiči samimi (Bangerth, 2000), je razmerje velikosti med K in L tudi lahko pokazatelj verjetnosti odpadanja. Večja kot je razlika, večja je možnost, da bodo L odpadli (Jakopič in sod., 2016). Če L ne dosegajo 60 % rasti K, bodo ti bolj verjetno odpadli (Lakso in sod., 2001). V našem primeru so L povprečno dosegali 82 % mase K, kar je morda eden od razlogov manjšega trebljenja.

5.3 DNEVNA DINAMIKA VSEBNOSTI POSAMEZNIH SLADKORJEV

Preko celega obdobja vzorčenja plodičev so se količine posameznih sladkorjev v plodičih večale. Odstopala sta saharoza ter sorbitol, katerih količine se ob posameznih terminih niso bistveno spreminjale, medtem ko se količina glukoze v plodičih v tem času skoraj 5-krat

metabolizira, kot je ugotovil že Berüter (1989). Med dnevnimi vsebnostmi K in L so bile statistično značilne razlike v drugem terminu, 20. 5., ko so imeli K večjo vsebnost fruktoze in glukoze kot L, kar so v splošnem sklepali tudi Jakopič in sod. (2016) ter v prvem terminu, 6. 5., ko so imeli L večjo vsebnost glukoze kot K (preglednica 3). Pri opazovanju spreminjanja vsebnosti je bil vrh okoli 14. ure pri vseh terminih vzorčenja, razen pri zadnjem 2. 7. 2015. Dnevna dinamika posameznih sladkorjev na termin 20. 5. 2015 ni imela izrazitega vrha, najverjetneje zaradi oblačnosti in padavin na ta dan. Vreme v ostalih terminih vzorčenja je bilo sončno (Meteo.si, 2016). Spreminjanje vsebnosti sladkorjev smo primerjali z globalnim sončnim obsevanjem (priloga A). Vrh obsevanja je ob 12. uri, medtem ko je vrh koncentracij sladkorjev ob 14. uri. Ta dvo- urni zamik vrha vsebnosti je posledica transporta metabolitov od vira (list) do ponora (plodič). Podobno opažanje zamika v transportu asimilatov sta opisala že Mason in Maskell (1927), ko sta spremljala transport sladkorjev iz lista bombaža v semenske mešičke. Opazila sta tudi, da čez dan, ko je sončno obsevanje močnejše, je tudi količina sladkorjev v mešičkih večja. V splošnem lahko trdimo, da se gibanje dnevne vsebnosti fruktoze, glukoze, saharoze ter sorbitola bistveno ne spreminja, kar so pokazali tudi Klages in sod. (2001).

5.4 DNEVNI POTEK VSEBNOSTI SKUPNIH SLADKORJEV

Opazno je povečanje vsebnosti skupnih sladkorjev od prvega vzorčenja - pred junijskem trebljenjem, 6. 5. do 2. 7. (slika 15), kar lahko pripišemo rasti plodičev ter njihovi večji potrebi po asimilatih (Jakopič in sod., 2016). Mejno značilna večja vsebnost skupnih sladkorjev v K je bila samo v terminu 20. 5. 2015. Med ostalimi vzorčenji statistično značilnih razlik med K in L ni bilo, kar se sklada z ugotovitvami Jakopič in sod. (2016). V zadnjem terminu vzorčenja, 2. 7. 2015, je bila največja vsebnost sladkorjev izmerjena ob 8. uri ter se je nato čez dan zmanjševala, verjetno zaradi visoke temperature, ki je bila ta dan, 32,4 °C (Meteo.si, 2016). Kadar se temperature dvignejo nad 30 °C, se fotosinteza zaradi temperaturnega stresa upočasni (Salvucci in Crafts-Bandner, 2004). Na podlagi tega sklepamo, da se je zato količina skupnih sladkorjev čez dan zmanjšala.

5.5 DNEVNA DINAMIKA SKUPNIH FENOLOV

Analiza dnevne dinamike skupnih fenolov ne pokaže statistično značilnih sprememb med K in L v dveh terminih vzorčenja (slika 16), so pa razvidne razlike med terminoma, kjer se kažejo večje količine fenolov v obdobju junijskega redčenja, 5. 6., ter manjše vsebnosti po koncu redčenja, 2. 7. 2015. Razlika med vsebnostjo TPC so bile med terminoma statistično značilne (preglednica 5). Zmanjšanje vsebnosti TPC soupada z večjimi vsebnostmi sladkorjev v plodičih v fazi rasti celic po junijskem trebljenju (Zhang in sod., 2010) Poleg tega so Jakopič in sod. (2016) ugotovili, da večje vsebnosti specifičnih fenolov odražajo stres, v katerem so rastline v obdobju junijskega trebljenja. Vsebnost skupnih fenolov se z rastjo zmanjšuje, povečuje se samo vsebnost antocianov z obarvanostjo plodov, v obdobju

do tehnološke zrelosti (Treutter, 2001). Mlajša rastlinska tkiva vsebujejo več fenolov, kadar jih primerjamo s starejšimi, zaradi razredčitvenega učinka, kadar so rezultati prikazani na svežo maso (FW).

6 SKLEPI

V naši raziskavi smo ugotavljali, kako se spreminja vsebnost sladkorjev in fenolov v plodičih v obdobju junijskega trebljenja. Poleg tega smo spremljali rast plodičev ter nagnjenost centralnih in lateralnih plodičev k odpadanju. Na podlagi rezultatov smo prišli do naslednjih ugotovitev:

- Analize skupne vsebnosti sladkorjev so pokazale, da centralni plodiči nimajo statistično značilne večje vsebnosti kot lateralni plodiči. Vsebnost skupnih sladkorjev med centralnimi in lateralnimi plodiči med različnimi šopi je bila v večini vzorčenj enaka.
- Centralni plodič je statistično značilno večji ter težji kot lateralni plodič.
- Meritve skupnih fenolov so pokazale, da je vsebnost TPC statistično značilno večja v obdobju junijskega trebljenja kot po tem obdobju, kar je verjetno posledica rasti plodov.
- Pozicija v šopu vpliva na stopnjo abscizije plodičev. Centralni so imeli najmanjšo, stranski plodiči na poziciji L2 ter L5 pa največjo stopnjo trebljenja, kar dokazuje dominantni efekt centralnega plodiča nad lateralnimi. Stranski plodiči so odpadli v večji meri kot centralni plodiči.
- Obremenitev vej ni statistično vplivala na trebljenje plodičev, povprečna stopnja trebljenja plodičev je bila 55,3 % pri vseh obremenitvah (3, 6, 9 in 12 šopov/cm^2 preseka veje).

Naša raziskava večinoma potrjuje dosedanje izsledke raziskav o odpadanju plodičev v obdobju junijskega trebljenja in dodaja podatke o dnevnem gibanju sladkorjev za boljše razumevanje tega procesa. Glede odpadanja plodičev glede na obremenitev vej bi bilo potrebno narediti raziskavo z več različnimi obremenitvami.

7 POVZETEK (SUMMARY)

7.1 POVZETEK

Jablana, tako kot mnoge druge sadne vrste, tvori prevelik nastavek plodov, ki bi jih bila kasneje sposobna prehraniti. Zaradi prevelike obremenitve so plodovi manjši in slabše kakovosti, pride tudi do pojava izmenične rodnosti. Naravno je pri jablani razvit proces junijskega trebljenja, ki pa za optimalni pridelek ni zadostno in se ga dopolnjuje z dodatnim redčenjem.

V delu smo se osredotočili na raziskovanje obdobja junijskega trebljenja. Zanimala nas je dnevna dinamika sladkorjev ter skupnih fenolov ob posameznih terminih vzorčenja pred, med in po obdobju redčenja ter koliko in kateri plodiči bodo odpadli.

Poskus je potekal na jablanah sorte `Zlati delišes` na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete v Ljubljani, od 28. 4. do 2. 7. 2015.

Ugotovili smo, da je junijsko trebljenje leta 2015 potekalo med 6. 5. ter 10.6. Med tema dvema terminoma je odpadla večina plodičev. Dnevna dinamika vsebnosti sladkorjev je bila določena s pomočjo HPLC in je pokazala, da je vsebnost sladkorjev največja ob 14 uri. Od začetka pa do konca vzorčenja so se med termini večale vsebnosti fruktoze ter glukoze, medtem ko so bile vsebnosti saharoze in sorbitola enake ali manjše.

Vsebnost skupnih fenolov so bile večje 5. 6. 2015 v obdobju junijskega trebljenja, kot pri drugem vzorčenju, 2. 7. 2015, po obdobju junijskega trebljenja, medtem ko razlike med K in L ni bilo.

Premeri in mase plodičev K so bili v skladu s pričakovanji večji kot pri L, meritve mas so pokazale hitrejše pridobivanje mase po koncu junijskega redčenja.

2/3 od vseh plodičev je odpadlo do 28. 5. 2015, nadaljnja 1/3 do 5. 6. 2015. Največ jih je odpadlo na pozicijah L2 ter L5, najmanj pa na poziciji K1, kar se sklada z dosedanjimi ugotovitvami o dominanci K1. Med različnimi obremenitvami vej ni bilo statistično značilnih razlik, povprečna stopnja trebljenja plodičev je bila 55,3 %.

Potrdili smo hipoteze o večji velikosti K ter da pozicija plodiča v šopu vpliva na stopnjo odpadanja vendar neodvisno od količine asimilatov. Nismo potrdili hipotez, da imajo K večjo vsebnost sladkorjev kot L in da je odpadanje plodičev na bolj obremenjenih vejah intenzivnejše in da imajo bolj obremenjene veje večjo stopnjo odpadanja plodičev.

7.2 SUMMARY

INTRODUCTION

Apples are popular fruit, which production is growing worldwide, whereas in Slovenia it remained constant in the last 10 years (FAOSTAT, 2016). The customer need for quality crop encourages growers to increase yields, while maintaining high quality. One of the main measures for ensuring good yearly yield is fruit thinning. Artificially it is done by hand, mechanically or chemically. Aside from artificial methods, natural shedding in apples exists, which contributes to reduction of fruit load. In growth period, there are three periods of abscission, 1-2 weeks after full bloom, the June drop 4-6 weeks after full bloom and just before harvest time (Kolarič, 2010). Focus of this paper is on June drop period.

Paper aims

The aims of our thesis were the following:
- To follow the daily change of sugars and total phenolic content (TPC) change at different sampling times in the June drop period.
- to figure out how the tendence of fruitlet to abscission depends on its position in the cluster.

Working hypotheses

- Central fruitlet (K) gets more asimilates
- Lateral fruitlets (L) get less asimilates and are more prone to abscission
- Fruit clusters have similar metabolite concentrations between central and lateral fruitlets
- Central fruitlet are larger than lateral fruitlets
- Higher branch loads induce higher fruitlet abscission

LITERTURE REVIEW

Apple tree like most fruit species produces a surplus of flowers, which account to more fruit that tree can bear. Dependant of circumstances, up to 30 % of flowers get pollinated. For normal yield, 3 to 8 % is enough. When more than 10 % are pollinated, thinning is essential because in other case the tree gets too exhausted (Sancin, 1988). If thinning is insufficient, fruit that remain are of lower quality, next year differentiation is affected and alternate bearing can occur (Bangerth, 2000). Naturally, there is a self regulatory thinning mechanism present that causes fruitlet abscission. In apples, this process intensively takes place at june drop period. It is dependent on competition for asimilates among fruitlets as well as fruitlets and shoots (Costa et al., 2006). Growing fruitlets are mainly heterotrophic with 95 % of their carbon coming from surrounding leaves (Blanke et al., 1987). Two main

theories on fruitlet abscisson exist, carbohydrate and hormonal theory. In the last Bangerth (2000) proposed a new model for fruitlet abscission, correlative fruitlet abscission. In his theory, there is a dominance hierarchy between fruitlets in cluster. Central fruitlet developes first and therefore has the strongest auxin transport that inhibits auxin transports of nearby lateral fruitlets, causing them to abscise.

According to carbon-hydrate theory, stored asimilates in tree importantly influence the size of June drop (Addicott, 1955). If the threshold for sugar concentration in fruitlet is reached, abscission zone (AZ) will not become sensitive to ethylene and it will not abscise (Berüter in Droz, 1991).

MATERIALS AND METHODS

Entire experiment was done using 'Golden delicious' apple trees on M9 rootstock, growing in solaxe training system in an orchard located on Biotechnical facoulty`s Laboratory field. We monitored natural fruitlet abscission at different branch loads (3, 6, 9 and 12 clusters/ cm^2). Each branch load test was carried out using two branches on two different trees, 8 trees in total were chosen for this part. Each branch load was adjusted according to chosen load, all other clusters were removed. Then we monitored number (figure 1) of abscised fruitlets and position from which they fell in 10 day intervals, from 28. 4. to 10. 7. 2015. Aside from that we sampled fruitlets in a neighbor row of trees from 8:00 a.m. to 8:00 p.m. every two hours at 4 sampling dates, each two hour sample containing 7 clusters with five fruitlets, later on with three fruitlets. Clusters from whole canopy were taken and all of them had to contain the central fruitlet. Samples were imediately taken to laboratory to be analyzed. All samplings were done in the period of June drop. First sampling took place at the beginning of June drop at 6 May 2015, second before peak 20 May 2015, third towards the end 5 June 2015 and fourth after the end 2 July 2015.

Sample preparation

After aquiring the fruitlets, we arranged them into groups containing central and lateral fruitlets after we measured their width and mass. From each fruitlet, we took 1g for sugar analisys with HPLC technique. We cut the samples using a knife, poured 20 ml of bidistilled water over and then homogenised altogether using an Ultra-Turrax (Ika Labortechnik, Germany). The samples were put on a shaker for 30 minutes, then centrifuged (Eppendorf Centrifuge 5810, Germany) for 10 minutes at 10,000 rpm and filtred through 0.2 μm celulose filter into 2 ml vials and saved in freezer at -20 °C for later analisys. K and L remains were each packed into numbered paper bags for TPC analisys. Samples from bags were cut and 1 g of sample was mixed with 10 ml of methanol with 3 % formic acid

Fruitlet abscission with respect to sampling dates

Figure 2 shows that about 2/3 shedding (65.4 %) occurred approximately till 28 May and approximately one third (31.7 %) till 10 June 2015. At the beginning of sampling on 28 April no fruitlets were shed, at second and last sampling the drop accounted for 1.3 % and 1.6 % of all abscised fruitlets.

Fruitlet abscission depending on the position in the cluster

At the final sampling 2 July 2015, it was found (figure 3) that fruitlets that abscised most were at positions L2 and L5, rates were 26 % and 28 %. Abscission rate for central fruitlets was lowest with 9 %, 19 % for L3 and 18 % for fruitlets at L4 position.

Fruitlet abscission in regard to branch load

Branch load trial consisted of branches that had 3, 6, 9 and 12 clusters, each containing five fruitlets (figure 4). In branches with the load of 3 clusters/cm^2 there was a 50 % abscission during June drop resulted in 50 % drop, branch with 6 clusters for 50 %, with 9 clusters for 63 % and with 12 clusters it shed 58 % of fruitlets. Between different branch loads there are no statistically significant differences in fruitlet abscission rate. On average, the observed branch loads accounted for 55.3 % fruitlet drop.

Fruitlet weight and diameter

Fruitlet weight increases (figure 5) at a slower pace till 5 June 2015 and after June drop, it starts to increase faster. At specific sampling dates, the difference between the average weight of K and L are statistically significant (table 1). Comparison of increasing diameters of K and L shows that diameter increases almost linearly during sampling time. The diameters of K and L are statistically significantly different (table 2).

DAILY SUGAR DYNAMICS

By sampling fruitlets from 8:00 to 20:00 in two hour windows we tried to determine the daily course of the content of sugars and phenols.

Daily dynamics of individual sugar content

For sucrose the concentration peak on 6 May (figure 7) was at 2 pm for K (13.02 mg/g FW). The maximum value for mean content of glucose in K and L was measured at 4 pm, the content of the first was 6.84 mg/g FW, and the second 7.56 mg/g FW. Top fructose contents were measured at 2 pm, the same as that of sucrose but lower, values were for K 6.67 mg/g FW and L 6.42 mg/g FW. Sorbitol content slowly increased during the day and

reached its peak at 8 pm, when it was at K 3.80 mg/g FW and L 3.63 mg/g FW. Between K and L, only the difference in glucose was statistically significant (table 3).

Peak concentration on 20 May (figure 8) of sucrose was at 4 pm, with the values for K at 13.10 mg/g FW and L at 12.67 mg/g FW. Daily contents of glucose and fructose had a peak at 2 pm. Values for glucose were 12.88 mg/g FW and 11.64 mg/g FW, for K and L fruitlets, respectively. Frructose concentrations were16.10 mg /g FW and 14.45 mg /g FW , for K and L fruitlets, respectively.. Values for sorbitol peaked at 8 pm, when the content of K and L was 3.91 mg/g FW. Statistically significant was the difference in fructose content while glucose content difference was barely significant (table 3).

In the third period of sampling at 6 May (figure 9) contents of glucose and fructose increased, while sucrose and sorbitol were a bit lowered. Peak of dailycontents at all measured sugars was at 2 pm, with the exception of sorbitol. Value of sucrose content was for K 13.02 mg/g FW and L 12.85 mg/g FW, for glucose K was 23.42 mg/g FW and L was 20.17 mg/g FW and fructose for K was 28.53 mg/g FW and L was 24.85 mg/g FW. The maximum value for sorbitol was measured at 8 pm. Values were K 3.03 mg/g FW and for L 3.21 mg/g FW at 6 pm. There were no statistically significant differences between K and L sugar contents.

Maximum content values of all sugars on 2 July (figure 10) were measured at 8 am. Sucrose values for K were 14.55 mg/g FW and for L 13.38 mg/g FW, glucose was for K 32.37 mg/g FW and for L 30.03 mg/g of FW, fructose was for K 57.64 mg/g FW and for L 55.18 mg/g FW and for sorbitol K was 1.98 mg/g FW and L was 1.87 mg/g FW. There were no statistically significant differences between K and L sugar contents (table 3).

Content of sucrose and sorbitol is highest on 20 May (table 3), while the contents of glucose and fructose were increasing throughout the sampling period. Content of sorbitol was reducing from 20 May till 2 July 2015. Statistically significant differences in the contents of individual sugars between K and L were recorded at 6 May for glucose, which was higher in L and on 20 May, fructose and glucose were higher in K, latter was on the border of significance ($p \leq 0{,}05$) (table 3).

Daily dynamics of total sugar content

Daily dynamics of total sugar contents have an evident peak at about 14 hours (figure 11). At the final sampling date, on 2 July 2015 we observe a significant deviation between the peak at 2 p.m. and the morning measurements and measurements of the afternoon. Contents of sugars are higher as fruitlets grow, K had a little higher content than L but the difference was not statistically significant ($p \leq 0{,}05$). Barely statistically significant was only the difference in content of total sugars between K and L at 20 May 2015 (table 4).

Daily dynamics of total phenolics

Sampling dates 5 June 2015 and 2 July 2015 were chosen because we were interested in the comparison of total phenolics content (TPC) in the period of June drop and at the end of this period. TPC values at June drop sampling were higher than at the sampling after June drop(figure 12).

Between K and L in a specific time period there was no statistically significant difference ($p \leq 0.05$). On the other hand, comparison of TPC averages between the sampling dates showed that there was a statistically significant difference between K and L (table 5).

DISCUSSION

Fruitlet abscission

June drop period is the second shedding period naturally occurring six to eight weeks after flowering. In Slovenia this usually means that it occurs from late May to mid-June (Štampar et al., 2009). June drop in 2015 started at around 6 May, when we noticed first fruitlet fall. Most of them abscised till the third sampling at 10 June. After this date, we did not see major changes in fruitlet abscission. Majority of the process was therefore held from late May until early June.

When monitoring fruitlet shedding (figure 2), sampling dates showed that the majority of June drop occured from 6 May and 10 June with a single peak at 28 May (Jakopič et al., 2016), as opposed to two abscission peaks (Abruzzese, 1995; Jakopič et al., 2015). At peak time it accounted for abscission of 65.4 %, followed by date 10 June with 31.7 % abscised fruitlets.

Depending on the position in the cluster (figure 3), K1 fruitlets thinned the least at 9 % of total June drop, with a maximum level of abscission of fruitlets at positions L2, L5 with 26 % and 28 %. The measurements are consistent with the findings that the K1 is least likely to abscise and that the nearest L2 has a greater chance of fall, most likely due to the dominant effect of K1 (Jakopič et al., 2015). Abscission levels at positions L3 and L4 were lower than in the L2 and L5, with the rate of 19 % for L3 and 18 % for L4, which confirms that even between lateral fruitlets there is a dominant effect (Bangerth, 2000). In contrast to the findings of Jakopič et al. (2015), who measured more than 70 % abscission rate at positions L2, L3 and L4, and 85 % of abscission rate at position L5, in our case much less fruitlets abscised. The difference may be due to different growing conditions because abscission was shown to be highly regulated development process, which is affected by internal and environmental conditions (Taylor et al., 2001).

Branch load test with 3, 6, 9 and 12 clusters of 5 fruitlets (figure 4) did not confirm our assumption that branches with higher fruit loads will have a higher level of fruitlet drop. Abscission rate was an average of 55.3 % of all loads. Branches with 9 clusters/cm^2 recorded the biggest difference between the same branch loads, the first accounted for 71.1 % and the second for 55.6 % fruit drop. Palmer et al. (1997) showed that different tree loads influence fruit mass at maturity. In their study, trees with lees fruit load redirected asimilate flow in vegetative growth, which resulted in trunk growth, spur growth and higher dry mass of leaves. They also measured lower photosynthetic activity at lees loaded trees than at trees with higher fruit load, which was also found by Klages et al. (2001). According to the fact that fruitlet abscission rate was equal at different branch loads, we can conclude that trees adapted to lower asimilate extinction in similar case as that described by Palmer et al. (1997).

Weight and diameter of fruitlets

Statistical analysis of comparing diameters of K and L in the individual periods (table 2) confirmed the assumption that the K average diameter is greater than L (Abruzesse et al., 1995; Celton et al., 2014), but the difference between the average diameters in times of sampling was slowly decreasing (table 2). From data we can observe that from the start of June drop period L growth catches up with K. Fruitlet weight follow the trend of increasing diameters, starting to increase more rapidly after abscission period (figure 5; figure 6). Weight of K was statistically significantly greater than the weight of L in all sampled periods (table 1). K and L weight during 5 June 2015 and 2 July 2015 rises, which confirms the fact that fruitlets that do not abscise become storage body for carbohydrates (Bangerth, 2000). Size and position of fruitlets in the cluster can be a reliable parameter for predicting abscission potential in hierarchical cluster (Jakopič et al., 2015). Since shedding partly depends on the competition for assimilates between emerging shoots and fruitlets, and between fruitlets themselves (Bangerth, 2000), the size ratio between the K and L may also be an indicator of the likelihood of abscission, the greater the difference, the greater the chance that L will drop (Jakopič et al., 2016). If L does not meet the 60 % of K growth, they will be more likely to abscise (Lakso et al., 2001). In our case, the L averaged 82 % by weight of K, which is perhaps one reason why we recorded a smaller fruit drop.

Daily dynamics of individual sugar content

Throughout the sampling period during June drop the quantities of individual sugars were increasing. On contrary, sucrose and sorbitol quantities did not change significantly at various times. The amount of glucose in the fruitlets during this period increased almost 5-fold and fructose almost 10-fold. Sugar that accumulates the most in fruitlet is fructose (Šturm and Štampar, 1999; Veberič et al., 2006). The results of daily individual sugar content dynamics are partly consistent with observations of Berüter (1985) and Jakopič et

al. (2016), who measured a slight decrease in content of sorbitol and increase in fructose content at the period before and during June drop. Sugars content dynamics in the fruitlets did not show big variations during single day, which Klages et al. 2001 also described, who on the other hand measured daily variation in content of sugars in leaves. Sorbitol is the main carbon transport source from leaves to fruitlets, from which the rest of the sugars are then metabolised in the fruitlet (Šturm and Štampar, 1999). We can assume that the amount of sorbitol in fruitlets does not increase because they keep metabolizing it into other sugars, as also suggested by Berüter (1989).

Between daily content of sugars in K and L there was a statistically significant difference at 20. 5., when K had a higher content of fructose than L, which was partly the case with Jakopič et al. (2016) and at 6. 5., when L had higher content of glucose than K (table 3). When observing the daily content movements we can see them peaking at about 14 hours at all times of sampling, except at the last sampling at 2. 7. 2015. Daily dynamics at sampling date 20. 5. did not have a sharp peak, probably due to clouds and rain on that day. Weather in other periods of sampling was sunny (Meteo.si, 2016). Sugar concentration movements were compared to the global solar radiation data, which are in supplement A. Peak irradiation is at noon, while the peak of sugar concentrations is at 2 pm. This two-hour delay of the peak concentrations is due to metabolites being transported from the source (leaf) to the sink (fruitlet). Similar observation was already described by Mason and Maskell (1927), when he monitored the transport of sugars from leaf to the cotton boll. He also noticed that during the day when solar radiation was stronger, the amount of sugars in the bolls was larger. In general we can say that according to the measurements, daily contents of fructose, glucose and sucrose in the period of June drop do not change drastically, what was also found out by Klages et al. (2001).

Daily dynamics of total sugar content

There was a notable increase in the concentration of total sugars from the start of sampling 6. 5. to 2. 7. (figure 11), which can be attributed to growth of fruitlets and their greater need for assimilates (Jakopič et al., 2016) . Borderly significant was only the difference in total sugar content between K and L at 20. 5. 2015. Between other sampling periods there were no statistically significant differences, which is consistant with the findings of Jakopič et al. (2016). In the last period of sampling 2. 7. 2015 , the maximum amount of sugars measured at 8 am and then during the day declined, probably due to the high temperatures, which on this day were at 32.4 °C (Meteo.si, 2016). If temperatures rise above 30 °C temperature stress causes the slow down of photosynthesis (Salvucci and Crafts-Brandner, 2004). On this basis, we conclude that the amount of total sugars during the day decreased.

Daily dynamics of total phenol content

Analysis of daily dynamics of total phenols did not show statistically significant differences between K and L at two sampling periods (figure 12), but showed the differences between sampling times, where there was a substantially higher quantity of phenols in the period of June drop sampling at 5. 6., then at the final sampling 2. 7. 2015 after June drop (Jakopič et al., 2015). The difference in the content of TPC was statistically significant between the samplings for K and L (table 5). TPC drop can be attributed to higher sugar content in the cell enlargement phase after June drop (Zhang et al. 2010). Higher phenol content in fruitlets could also be a consequence of a form of stress, which plants endure during June drop, as proposed by Jakopič et al. (2016). Content of total phenols decreased with fruit growth while only anthocyanins rise with fruit coloration until technological maturity (Treutter, 2001). Younger plant tissues have higher phenol content in comparison to older tissues because of dillution effect when giving the result in fresh weight (FW).

CONCLUSIONS

In our research we found out how sugar and phenol content change in fruitlets during June drop period. Beside that we monitored fruitlet growth and abscission tendence of K and L fruitlets. According to results we came to these conclusions:

- Analysis of the total content of sugars has shown that central fruitlets do not have statistically significantly higher content than lateral fruitlets. Sugar content between central and lateral fruitlets in different clusters was same in most samplings.
- Central fruitlet is significantly larger than lateral fruitlet.
- Measurements of total phenols showed that the TPC was statistically significantly higher before June drop than after this period. This was probably due to development of fruitlets.
- Fruitlet position in the cluster impacts the level of abscission. Central had the lowest, whereas lateral fruitlets at the position L2 and L5 had the highest rate of abscission, which is evidence for dominant effect of central over lateral fruitlets. Lateral fruitlets abscised to a greater extent than central fruitlets, but not as a result of lower levels of assimilates.
- Fruitlet abscission at different branch loads was not statistically significant, the average rate of abscission was 55.3 %.

Our research mostly confirms findings of other authors to date about fruitlet abscission at June drop period and provides data of daily sugar content dynamics for better understanding of the process. Fruitlet abscission according to branch load would need to be done with a higher number of different loads for better understanding.

7 VIRI

Abruzzese A., Mignani I., Cocucci M. S. 1995. Nutritional Status in Apples and June Drop. Journal of the American society for horticultural science, 120,1: 71-74

Addicott F. T., Lynch Stocking R. 1955. Physiology of abscission. Plant Physiology, 6: 211-238

Avery D. J., Priestley C. A., Treharne K. J. 1979. Integration of assimilation and carbohydrate utilization in apple. V: Photosynthesis and plant development. Marcelle R., Clijsters H., Van Poucke M. (eds.). Proceedings of a conference on photosynthesis and plant development. The Hague, W. Junk: 221-231.

Bangerth F. 2000. Abscisson and thining of young fruit and their regulation by plant hormones and bioregulators. Plant Growth Regulation, 31: 43-59

Berüter J. 1985. Sugar accumulation and changes in the activities of related enzymes during development of the apple fruit. Journal of Plant Physiology, 121: 331-341

Berüter J. 1989. Carbohydrate partitioning and changes in water relations of growing apple fruit. Journal of plant physiology, 135: 583-587

Berüter J., Droz P. 1991. Studies on locating the signal for fruit abscission in the apple tree. Scientia Horticulturae, 46: 201-214

Blanke M. M., Hucklesby D. P., Notton B. A. 1987. Distribution and Physiological Significance of photosynthetic phosphoenolpyruvate carboxylase in developing apple fruit. Journal of plant physiology, 129: 319-325

Brodnjak Vončina, Darinka. 2006. Analizna kemija II - zbrano gradivo. Univerza v Mariboru. 124 str.

Costa G., Dal Cin V., Ramina A. 2006. Physiological, molecular and practical aspects of fruit abscission. Proceedings of the Tenth International Symposium on Plant Bioregulators in Fruit Production, 727: 301-309

Celton J. M., Dheilly E., Guillou M. C., Simonneau F., Juchaux M., Costes E., Laurens F., Renou J. P. 2014. Additional amphivasal bundles in pedicel pith exacerbate central fruit dominance and induce self-thinning of lateral fruitlets in apple. Plant physiology, 164, 4: 1930-1951

Dal Cin V., Boschetti A. , Dorigoni A., Ramina A. 2007. Benzylaminopurine application on two different apple cultivars (*Malus domestica*) displays new and unexpected fruitlet abscission features. Annals of Botany, 99: 1195-1202

Eccher G., Botton A., Dimauro M., Boschetti A., Ruperti B., Ramina A. 2013. Early induction of apple fruitlet abscission is characterized by an increase of both isoprene emission and abscisic acid content. Plant Physiology, 161, 4: 1952-1969

Eccher G., Ferrero S., Populin F., Colombo L., Botton A. 2014. Apple (Malus domestica L. Borkh) as an emerging model for fruit development. Plant Biosystems, 148, 1: 157-168

FAOSTAT. 2016. Food and agriculture organization of the united nations statistics division.
http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E (29. 8. 2016)

Jackson E. J. 2003. Biology of apples and pears. 1.izd. Cambridge, Cambridge University Press: 488 str.

Jakopič J., Zupan A., Eler K., Schmitzer V., Stampar F, Veberič R. 2015. It's great to be the King: Apple fruit development affected by theposition in the cluster. Scientia Horticulturae, 194: 18-25

Jakopič J., Zupan A., Schmitzer V., Stampar F., Veberič R. 2016. Sugar and phenolics level dependent on the position of apple fruitletin the cluster. Scientia Horticulturae, 201: 362-369

Klages K., Donnison H., Wünsche J., Boldingh H. 2001. Diurnal changes in non-structural carbohydrates in leaves, phloem exudate and fruit in 'Braeburn' apple. Australian Journal of Plant Physiology, 28, 2: 131-139

Kolarič J. 2010. Abscission of young apple fruits (*Malus domestica* Borkh.): a review. Agricultura, 7: 31-36

Lakso A. N., White M. D., Tustin D. S., 2001. Simulation modeling of the effects ofshort and long-term climatic variations on carbon balance of apple trees. Acta Horticulturae, 557: 473–480

Li M., Feng F., Cheng L. 2012. Expression patterns of genes involved in sugar metabolism and accumulation during apple fruit development. PloS ONE, 7, 3: e33055, doi 10.1371: 13 str.
http://journals.plos.org/plosone/article/asset?id=10.1371/journal.pone.0033055.PDF (10. 9. 2016)

Mason T. G., Maskell E. J. 1927. Studies on the transport of carbohydrates in the cotton plant.
http://aob.oxfordjournals.org/ (10. 9. 2016)

Mayr U., Treutter D., Santos-Buelga C., Bauer H., Feucht W. 1995. Developmental changes in the phenol concentrations of 'Golden delicious' apple fruits and leaves. Phytochemistry, 38, 5: 1151-1155

Meteo.si. 2016. Uradna vremenska napoved za Slovenijo, Ljubljana, Agencija Republike Slovenije za okolje, Ministrstvo za okolje in prostor. http://www.meteo.si/ (10. 9. 2016)

Mikulič Petkovšek M., Slatnar A., Stampar F., Veberič R. 2010. The influence of organic/integrated production on the content of phenolic compounds in apple leaves and fruits in four different varieties over a 2-year period. Journal of the science of food and agriculture, 90: 2366-2378

Minchin P .E. H., Thorpe M. R., Wünsche J. N., Palmer J. W., Picton R. F. 1997. Carbon partitioning between apple fruits: short- and long-term response to availability of photosynthate. Journal of Experimental Botany, 48, 312: 1401-1406

Naše okolje. 2015. Bilten agencije RS za okolje, 12: 131 str.

Ouma G. 2007. Chemical and defoliation effects on fruitset of apple (*Malus domestica*). Asian Journal of plant Sciences, 6, 7: 1155-1157

Osborne D. J., Morgan P. W. 2008. Abscission. Critical Reviews in Plant Sciences, 8, 2: 103-129

Palmer W. J., Giuliani R., Adams M. H. 1997. Effect of crop load on fruiting and leaf photosynthesis of 'Braeburn'/M.26 apple trees. Tree Physiology, 17: 741-746

Salvucci M. E., Crafts-Brandner S. J. 2004. Inhibition of photosynthesis by heat stress: the activation state of Rubisco as a limiting factor in photosynthesis. Plant physiology: 120, 2: 179-186

Sancin V. 1988. Sadje z našega vrta. Trst, Založništvo tržaškega tiska d.d.: 376 str.

Singleton V. L., Rossi J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American journal of enology and viticulture, 16: 144-158

Stopar M., Resnik M., Žnidaršič Pongrac V. 2001. Non-structural carbohydrate status and CO2 exchange rate of apple fruitlets at the time of abscission infuenced by shade, NAA or BA. Scientia Horticulturae, 87: 65-76

Stopar M., Bolčina U., Vanzo A., Vrhovšek U. 2002. Lower Crop Load for Cv. Jonagold Apples (*Malus domestica* Borkh.) Increases Polyphenol Content and Fruit Quality. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50: 1643-1646

Sun L., Bukovac M. J., Forsline L. P., Nocker van S. 2009. Natural variation in fruit abscission-related traits in apple (*Malus*). Euphytica, 165: 55-67

Štampar F., Lešnik M., Veberič R., Solar A., Koron D., Usenik V., Hudina M., Osterc G. 2009. Sadjarstvo. 2. dop. izd. Ljubljana, Kmečki glas: 416 str.

Šturm K., Štampar F. 1999. Seasonal variation of sugars and organic acids in apple (*Malus domestica* Borkh.) in different growing yystems. Phyton (Austria), 39: 91-96

Taylor J. E., Whitelaw C. A. 2001. Signals in abscission. New Phytologist, 15, 1, 2: 323-340

Treutter D. 2001. Biosynthesis of phenolic compounds and its regulation in apple. Plant Growth Regulation 34: 71-89

Veberič R., Trobec M., Toplak H., Stampar F., Keppel H. 2006. Sugar-, acid- and phenol contents in apple cultivars from organic and integrated fruit cultivation. European Journal of Clinical Nutrition, 60: 1136-1140

Warren Wilson J., Walker E. S., Warren Wilson P. M. 1988. The role of basipetal auxin transport in the positional control of abscission sites induced in Impatiens sultani stem explants. Annals of Botany, 62: 487-495

Zhang Y., Peng Y.B., Travier S., Zhang D.P. 2004. Evidence for Apoplasmic Phloem Unloading in Developing Apple Fruit. Plant Physiology, 135, 1: 574-586

Zhang Y., Li P., Cheng L. 2010. Developmental changes of carbohydrates, organic acids, amino acids, and phenolic compounds in ‘Honeycrisp’ apple flesh. Food Chemistry, 123, 12: 1013-1018

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorici doc. dr. Jerneji JAKOPIČ za izdatno pomoč pri snovanju magistrskega dela.

Prav tako se zahvaljujem moji partnerici Niki za učenje kuharskih sposobnosti, ki sem jih osvojil pri rezanju plodičev v laboratoriju.

PRILOGA A – SUPPLEMENT A
Globalno sončno obsevanje in povprečna oblačnost v terminih vzorčenja na meteorološki postaji Ljubljana- Bežigrad

Priloga A1: Globalno sončno obsevanje v terminih vzorčenja (W/m^2) na meteorološki postaji Ljubljana- Bežigrad (Meteo.si, 2016)
Supplement A1: Global radiation measurements at sampling times (W/m^2) at meteorological station Ljubljana- Bežigrad (Meteo.si, 2016).

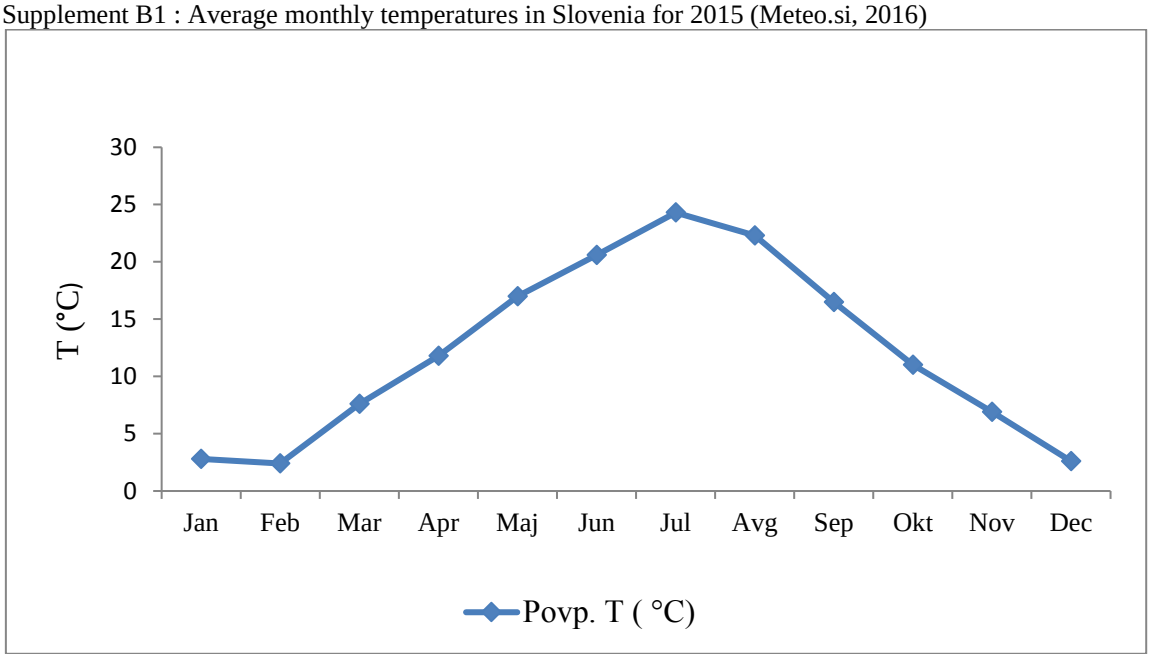
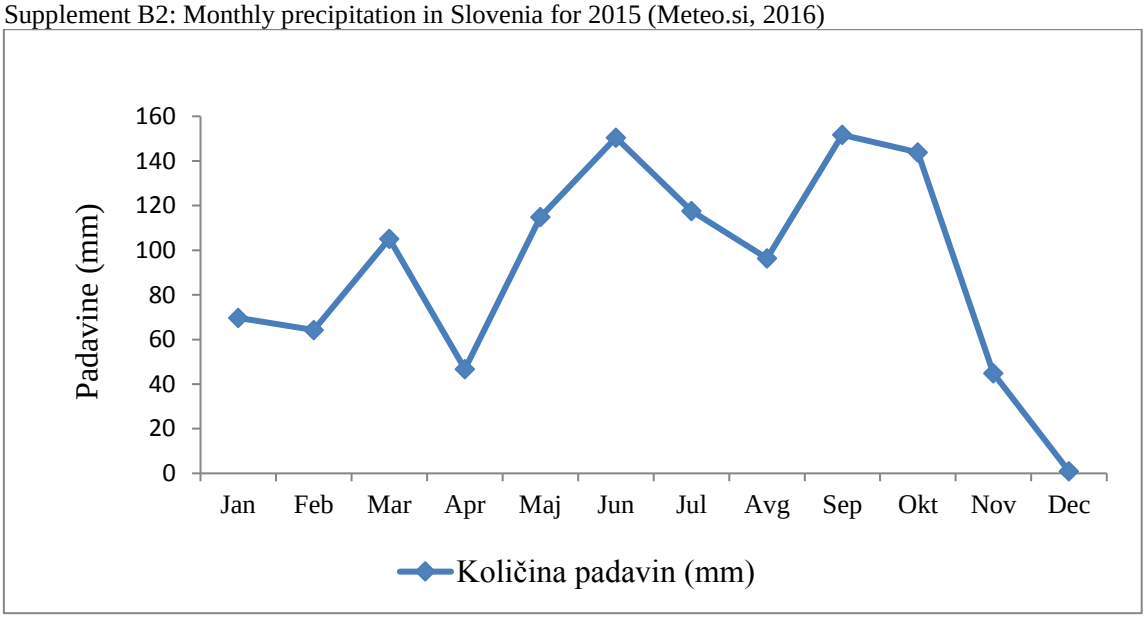
Ura	6. 5. 2015	20. 5. 2015	5. 6. 2015	2. 7. 2015
8:00	415	511	500	490
10:00	742	732	792	788
12:00	894	414	924	915
14:00	521	318	851	846
16:00	532	119	592	614
18:00	171	46	249	187
20:00	0	0	2	1

Priloga A2: Povprečna oblačnost glede na termin vzorčenja na meteorološki postaji Ljubljana- Bežigrad (Meteo.si, 2016)
Supplement A2: Average sky cover at sampling times at meteorological station Ljubljana- Bežigrad (Meteo.si, 2016)

	6. 5. 2016	20. 5. 2015	5. 6. 2015	2. 7. 2015
Povprečna oblačnost (%)	37	67	20	33
Trajanje sončnega obsevanja (h)	9,9	6,6	13,4	12,6
Padavine	ne	da	ne	ne

PRILOGA B - SUPPLEMENT B
Povprečne mesečne temperature zraka in količine padavin v Sloveniji za leto 2015

Priloga B1 : Povprečne mesečne temperature v Sloveniji za leto 2015 (Meteo.si, 2016)
Supplement B1 : Average monthly temperatures in Slovenia for 2015 (Meteo.si, 2016)



Priloga B2: Količine padavin v Sloveniji po mesecih za leto 2015 (Meteo.si, 2016)
Supplement B2: Monthly precipitation in Slovenia for 2015 (Meteo.si, 2016)