

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Božana STOJIC

**SEKUNDARNI METABOLITI V PLODOVIH SLIV
EKOLOŠKE IN INTEGRIRANE PRIDELAVE**

MAGISTRSKO DELO

Magistrski študij - 2. stopnja

Ljubljana, 2016

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Božana STOJIC

**SEKUNDARNI METABOLITI V PLODOVIH SLIV EKOLOŠKE IN
INTEGRIRANE PRIDELAVE**

MAGISTRSKO DELO
Magistrski študij - 2. stopnja

**SECONDARY METABOLITES IN PLUMS OF ORGANIC AND
INTEGRATED PRODUCTION**

M. SC. THESIS
Master Study Programmes

Ljubljana, 2016

Magistrsko delo je zaključek Magistrskega študijskega programa 2. stopnje Hortikultura. Delo je bilo opravljeno na Katedri za sadjarstvo, vinogradništvo in vrtnarstvo.

Študijska komisija Oddelka za agronomijo je za mentorja magistrskega dela imenovala doc. dr. Valentino USENIK.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. Zlata LUTHAR
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: doc. dr. Valentina USENIK
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: izr. prof. dr. Robert VEBERİČ
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Datum zagovora:

Podpisana izjavljam, da je naloga rezultat lastnega 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.

Božana STOJİĆ

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Du2
DK	UDK 634.22:631.526.32:631.147:631.524.6(043.2)
KG	sliva/sorte/ekološka pridelava/integrirana pridelava/sekundarni metaboliti
AV	STOJIC, Božana
SA	USENIK, Valentina (mentor)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
LI	2016
IN	SEKUNDARNI METABOLITI V PLODOVIH SLIV EKOLOŠKE IN INTEGRIRANE PRIDELAVE
TD	Magistrsko delo (Magistrski študij - 2. stopnja)
OP	X, 48, [6] str., 12 pregl., 13 sl., 3 pril., 64 vir.
IJ	sl
JJ	sl/en
AI	V letu 2013 smo proučevali vpliv načina ekološke in integrirane pridelave na vsebnost sekundarnih metabolitov v plodovih dveh sort ('Čačanska leptotica', 'President') slive (<i>Prunus domestica</i> L.). Plodove smo ob tehnološki zrelosti obrali, jim izmerili barvo kože, barvo mesa in trdoto. Na podlagi rezultatov meritev smo izbrali plodove enake zrelosti. Iz užitnega dela plodov smo ekstrahirali fenolne spojine (fenolne kisline, antociane in flavonole), nato pa vsebnost izmerili z metodo tekočinske kromatografije visoke ločljivosti (HPLC). V plodovih sliv smo izmerili največ fenolnih kislin (največ neoklorogenske kisline), sledijo antociani (največ cianidin-3-rutinozida), najmanj pa je flavonolov, med katerimi prevladuje rutin. Razlik v vsebnosti skupnih fenolov med sortama ni bilo, bile pa so, razlike v zastopanosti in deležu posameznih skupin fenolov. Plodovi sorte 'President' so imeli več fenolnih kislin, plodovi sorte 'Čačanska leptotica' pa so imeli več antocianov. Razlik v vsebnosti flavonolov med sortama ni bilo. Pri sorti 'Čačanska leptotica' so imeli plodovi iz ekološke pridelave značilno večjo vsebnost vseh izmerjenih fenolnih snovi, razen peonidin-3-glukozida, kjer med pridelavama ni bilo razlik. Pri sorti 'President' med pridelavama ni bilo razlik v skupnih fenolih. Značilne razlike so bile v vsebnosti skupnih fenolnih kislin in v vsebnosti neoklorogenske kisline, večja vsebnost je bila v plodovih iz ekološke pridelave.

KEY WORDS DOCUMENTATION

ND Du2

DC UDC 634.22:631.526.32:631.147:631.524.6(043.2)

CX plum/varieties/organic production/integrated production/secondary metabolites

AU STOJIC, Božana

AA USENIK, Valentina (supervisor)

PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101

PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Agronomy

PY 2016

TY SECONDARY METABOLITES IN PLUMS OF ORGANIC AND INTEGRATED PRODUCTION

DT M. Sc. Thesis (Master Study Programmes)

NO X, 48, [6] p., 12 tab., 13 fig., 3 ann., 64 ref.

LA sl

Al sl/en

AB In the year 2013 the effect of type of production (organic and integrated) on phenolic compounds in fruit of two different cultivars ('Čačanska leptotica', 'President') of plum (*Prunus domestica* L.) was investigated. At technological maturity the respective fruit were collected in orchards and measured in terms of fruit weight, firmness, skin and flesh colour. Based on results of the measured variables fruit with the same ripening stage were selected. From the edible part of fruit, phenolic compounds (phenolic acids, antocyanins and flavonols) were extracted in order to determine chemical profile by HPLC analysis. The analysis pointed out that phenolic acids (among them main neochlorogenic acid) present the greater part of phenolic compounds in the plum fruit, followed by antocyanins whereas the major antocyanin was cyanidin-3-rutinoside and flavonols (the main rutin). There were no significant differences between cultivars in sum of phenolics however significant differences were identified in the content of different phenolics groups. Fruit of 'President' contained more phenolic acids whereas fruit of 'Čačanska leptotica' contained more antocyanins. There were no significant differences between cultivars in the level of flavonols. Fruit of 'Čačanska leptotica' from organic production had significantly higher content of all measured phenolic compounds, except for peonidin-3-glucoside where no differences between types of production were noted. In cultivar 'President', no significant difference between organic and integrated production in total phenolics was proved. Fruit of 'President' from organic production had significantly higher content of phenolic acids and neochlorogenic acid.

KAZALO VSEBINE

	Str.
KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO PREGLEDNIC	VII
KAZALO SLIK	VIII
OKRAJŠAVE	IX
KAZALO PRILOG	X
1 UVOD	1
1.1 VZROK ZA RAZISKAVO	1
1.2 DELOVNA HIPOTEZA	1
1.3 NAMEN RAZISKAVE	1
2 PREGLED OBJAV	2
2.1 SLIVA	2
2.1.1 Morfološke in fiziološke značilnosti	3
2.1.2 Podnebne in talne razmere	3
2.2 SEKUNDARNI METABOLITI	4
2.3 FENOLI	4
2.3.1 Neflavonoidi	5
2.3.2 Flavonoidi	5
2.3.2.1 Antociani	6
2.3.2.2 Flavanoni	6
2.3.2.3 Izoflavoni	6
2.3.2.4 Flavoni in flavonoli	6
2.3.2.5 Flavanoli	7
2.3.3 Biosinteza fenolov	7
2.4 NAČINI PRIDELAVE SADJA	7
2.4.1 Integrirana pridelava	8
2.4.2 Ekološka pridelava	9
2.4.3 Vsebnost fenolov v slivah glede na različne načine pridelave	10
2.4.4 Vsebnost fenolov glede na različne načine pridelave pri drugih sadnih vrstah	11
2.4.5 Vsebnost fenolov glede na različne načine pridelave pri drugih rastlinskih vrstah	12
2.4.6 Vpliv zrelosti na vsebnost sekundarnih metabolitov	13
2.5 POMEN SLIV ZA ČLOVEKA	14
3 MATERIALI IN METODE	16
3.1 MATERIAL	16
3.1.1 Opis sort	16
3.2 KLIMATSKE RAZMERE	17
3.3 METODE DELA	18

3.3.1	Opis poskusnih lokacij	18
3.3.2	Vzorčenje	20
3.3.3	Določanje zrelostnih parametrov	20
3.3.3.1	Barva kože in barva mesa	20
3.3.3.2	Trdota	21
3.3.3.3	Izbira plodov za analize sekundarnih metabolitov	21
3.3.4	Ekstrakcija	21
3.3.5	HPLC analiza	22
3.3.6	Statistična analiza	23
4	REZULTATI	24
4.1	IZBIRA PLODOV ZA ANALIZE SEKUNDARNIH METABOLITOV	24
4.2	SKUPINE FENOLOV IN SKUPNI FENOLI	28
4.3	FENOLNE KISLINE	30
4.4	ANTOCIANI	31
4.5	FLAVONOLI	33
5	RAZPRAVA	36
5.1	'ČAČANSKA LEPTICA'	36
5.1.1	Skupna vsebnost fenolov	36
5.1.2	Fenolne kisline	37
5.1.3	Antociani	37
5.1.4	Flavonoli	38
5.2	'PRESIDENT'	38
5.2.1	Skupna vsebnost fenolov	38
5.2.2	Fenolne kisline	39
5.2.3	Antociani	39
5.2.4	Flavonoli	39
5.3	RAZLIKE MED SORTAMA	40
6	SKLEPI	41
7	POVZETEK	42
8	VIRI	43
	ZAHVALA	
	PRILOGE	

KAZALO PREGLEDNIC

	Str.
Preglednica 1: Način obdelave tal v poskusu (Lombardi-Boccia in sod., 2004)	11
Preglednica 2: Dolgoletna povprečna mesečna temperatura zraka (°C) in mesečna količina padavin (mm) v obdobju 1981-2010 (Klimatološka povprečja ..., 2015) ter za leto 2013 (Podnebni kazalniki, 2015) za meteorološko postajo Ljubljana-Bežigrad	17
Preglednica 3: Fenolne spojine, ki smo jih izrazili v ekvivalentih standardov podobnih snovi	22
Preglednica 4: Izbrani vzorci sorte 'Čačanska lepotica' iz integrirane pridelave glede na zrelostne parametre	24
Preglednica 5: Izbrani vzorci sorte 'Čačanska lepotica' iz ekološke pridelave glede na zrelostne parametre	25
Preglednica 6: Izbrani vzorci sorte 'President' iz integrirane pridelave glede na zrelostne parametre	26
Preglednica 7: Izbrani vzorci sorte 'President' ekološke pridelave glede na zrelostne parametre	27
Preglednica 8: Povprečna vsebnost skupnih fenolov (mg/kg sveže mase) in standardna napaka (st.napaka) glede na način pridelave (EP - ekološka pridelava in IP - integrirana pridelava) pri sortah 'Čačanska lepotica' in 'President'	28
Preglednica 9: Povprečna vsebnost posameznih skupin fenolov (mg/kg sveže mase) in standardna napaka (st.napaka) glede na način pridelave (EP – ekološka pridelava in IP - integrirana pridelava) pri sortah 'Čačanska lepotica' in 'President'	28
Preglednica 10: Povprečna vsebnost fenolnih kislin (mg/kg sveže mase) in standardna napaka (st. napaka) glede na način pridelave pri sortah 'Čačanska lepotica' in 'President'	30
Preglednica 11: Povprečna vsebnost posameznega antociana (mg/kg sveže mase) in standardna napaka (st. napaka) glede na način pridelave (ekološki in integriran) pri sortah 'Čačanska lepotica' in 'President'	32
Preglednica 12: Povprečna vsebnost flavonolov (mg/kg sveže mase) in standardna napaka (st. napaka) glede na način pridelave pri sortah 'Čačanska lepotica' in 'President'	34

KAZALO SLIK

	Str.
Slika 1: Uradni državni znak za integrirano pridelavo (MKGP, 2015)	9
Slika 2: Uradni državni znak in uradni znak EU za ekološko pridelavo (MKGP, 2015)	10
Slika 3: Plodovi sorte 'Čačanska lepotica'	16
Slika 4: Plodovi sorte 'President'	16
Slika 5: Povprečno mesečno trajanje sončnega obsevanja v primerjavi z dolgoletnim povprečjem za meteorološko postajo Ljubljana – Bežigrad (ARSO, 2015)	18
Slika 6: Ekološki nasad slive	19
Slika 7: Slive v nasadu integrirane pridelave	19
Slika 8: Merjenje barve mesa sliv s kolorimetrom	20
Slika 9: Merjenje trdote s penetrometrom	21
Slika 10: Povprečne vsebnosti fenolnih skupin in skupnih fenolov	29
Slika 11: Povprečna vsebnost posameznih fenolnih kislin v plodovih opazovanih sort različnih načinov pridelave	31
Slika 12: Povprečna vsebnost posameznih antocianov v plodovih slive opazovanih sort različnih načinov pridelave	33
Slika 13: Povprečna koncentracija posameznih flavonolov v plodovih opazovanih sort različnih načinov pridelave	35

OKRAJŠAVE

ARSO	Agencija Republike Slovenije za okolje
BHT	2,6-di-tert-butil-4-metilfenol
CIRG	Color index of red grape
CNBH	Ogljikova hranilna teorija
CRE	Ekvivalent cianidin-3-rutinozida
Cy-3-rut	Cianidin-3-rutinozid
Cy-3- glu	Cianidin-3-glukozid
DNK	Deoksiribonukleinska kislina
EP	Ekološka pridelava
GR	Rastni dejavnik
GDB	Hipoteza o ravnotežju rasti/diferenciacije
IP	Integrirana pridelava
Isorharm	Izoramnetin
LDL	Low-density lipoprotein ali lipoprotein z nizko gostoto
Malonil-CoA	Malonil koencim A
MKGP	Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano
N	Newton
IFOAM	Mednarodna zveza gibanj za ekološko kmetijstvo
PAL	Fenilalanin amonijak liaza
Peo-3-rut	Penidin-3-rutinozid
Peo-3-glu	Peonidin-3-glukozid
Q-3-glu	Kvercetin-3-glukozid
Q-3-gal	Kvercetin-3-galaktozid
ZDA	Združene države Amerike

KAZALO PRILOG

Priloga A: Zrelostni parametri sorte 'Čačanska lepotica' pri obeh načinih pridelave

Priloga B: Zrelostni parametri sorte 'President' pri obeh načinih pridelave

Priloga C: Rezultati statistične analize

1 UVOD

1.1 VZROK ZA RAZISKAVO

Sliva (*Prunus domestica* L.) izvira iz Zahodne Azije in Kavkaza in je sadna vrsta, ki uspeva v različnih okoljskih razmerah. Grki so bili prvi, ki so jo udomačili, danes pa jo pridelujemo po celem svetu (Sancin in Adamič, 1988). Sliva je tradicionalna sadna vrsta v Sloveniji, ki se je še sredi 20. stoletja pridelovala na bistveno večjih površinah kot danes. Pridelava sliv, predvsem sorte 'Domača češplja', se je v zadnjih desetletjih občutno zmanjšala, nadomestile pa so jo druge sorte.

Sliva je vsestransko sadje, ki ga pojemo takoj ali pa ga predelamo v marmelade, žganja, ga posušimo,... Je sadež, ki ima veliko pozitivnih učinkov na zdravje, med drugim z zelo ugodnim vplivom na prebavo. Plodovi vsebujejo veliko fenolnih snovi z antioksidativnimi učinki. Je manj zahtevna vrsta, saj je dobro prilagojena našim okoljskim razmeram.

Danes so potrošniki vedno bolj zahtevni, vedo kaj želijo, kmetijstvo pa se temu prilagaja. Zahteve današnjega potrošnika so predvsem zdrava, neoporečna in kakovostna hrana. Tako sta se razvila sistema integrirane in ekološke pridelave hrane. Pri integriranem načinu je pridelava hrane nadzorovana in okolju bolj prijazna kot konvencionalna. Nadzorovana je poraba gnojil in fitofarmacevtskih sredstev. Pri ekološki pridelavi pa so šli še korak dlje, saj je ta način pridelave še bolj sonaraven, tako da se uporabljajo le pripravki naravnega izvora, strema se k uporabi naravnih metod za zatiranje bolezni in škodljivcev in kroženju snovi v naravi.

V literaturi je le malo podatkov o vsebnosti fenolnih snovi v evropski slivi (*Prunus domestica* L.), nekaj več je bilo raziskanega pri japonski slivi (*Prunus salicina* Lindl.) Primerjalnih študij glede vsebnosti sekundarnih metabolitov v slivi, pri ekološki in integrirani pridelavi ni.

1.2 DELOVNA HIPOTEZA

Plodovi sliv, pridelani na ekološki način, imajo enako ali večjo vsebnost sekundarnih metabolitov kot plodovi, pridelani po smernicah integrirane pridelave. Med sortami obstajajo razlike v vsebnosti sekundarnih metabolitov.

1.3 NAMEN RAZISKAVE

Namen raziskave je ugotoviti ali imajo plodovi sliv, pridelani na ekološki način, večjo vsebnost sekundarnih metabolitov, kot plodovi iz integrirane pridelave. Meritve bodo izvedene na dveh različnih lokacijah (ekološka in integrirana pridelava), ki so si blizu in pa na dveh različnih sortah. S tem bomo ugotovili, ali način pridelave vpliva na enak način pri obeh sortah.

2 PREGLED OBJAV

2.1 SLIVA

Sliva izvira iz zahodne Azije in s Kavkaza. Najprej so jo udomačili v Grčiji, od koder se je razširila skoraj po vsem območju zmernega podnebnege pasu. Rimljani so na svojih bojnih pohodih prenesli žlahtne sorte sliv iz Sirije v Italijo. Rimski pisatelj Plinij je v delu *Natura Historia* opisal 11 sort sliv (Sancin in Adamič, 1988). Znova so jih začeli gojiti v času križarjev. Gojili so jih v vrtovih, samostanih in manjših kmečkih sadovnjakih. Pri Sadjarskem inštitutu v Brogdalu (Velika Britanija) raste sliva iz koščice, ki so jo našli med razbitinami slavne vojaške ladje *Hernika VIII.*, *Mary Rose*. Leta 1629 so koščice sliv po naročilu prenesli v Massachusetts (Združene države Amerike; ZDA), tako da se je gojenje razširilo tudi v zmernem pasu Severne Amerike. Kalifornija je postala svetovno znana izvoznica suhih sliv, poznih sort s temno kožico, ki se posušijo na drevesu (*Flowerdew*, 1998). Danes je sliva razširjena po vsem svetu, saj sadna vrsta ni zahtevna za gojenje. Plodove lahko uporabljamo za svežo porabo ali predelavo.

Sliva je sadna vrsta, ki jo uvrščamo v red *Rosales*, družino *Rosaceae*, poddružino *Prunoideae*, podrod *Prunophora*, rod *Prunus*. Na podlagi pomološke razdelitve sadnih vrst, uvrščamo slivo med koščičarje, za katere je najbolj značilno to, da notranji del plodnice otrdi in tvori koščico. Uspeva predvsem na območjih severne geografske širine. Žlahtne sorte sliv delimo na skupino evropskih in skupino kitajsko-japonskih sliv (*Ertekin in sod.*, 2005).

V skupino evropskih sliv uvrščamo sorte, ki izvirajo iz vrst domača sliva (*Prunus domestica* L. subsp. *domestica* C. K. Schneider) ali cibora (*Prunus domestica* L. subsp. *insititia* C. K. Schneider). Evropske sorte sliv so heksaploidi. Biološki izvor evropske slive ni točno jasen, predvideva se, da je verjetno nastala s križanjem mirabolane (*Prunus cerasifera* Ehrh.) in črnim trnom (*Prunus spinosa* L.). Sliva izvira iz Male Azije in je razširjena v srednji Aziji, Kavkazu in Evropi. Raste kot drevo, tudi do 10 m visoko. Plod je podolgovat z bolj ali manj rumenim mesom, ki se delno ali popolnoma loči od koščice. Cibora je grm ali do 6 m visoko drevo. Plodovi cibore zorijo pozno jeseni in so prekisli, da bi jih jedli presne. V to skupino uvrščamo mirabele, damascene in druge (*Flowerdew*, 1998; *Horvath in sod.*, 2011). Plodovi, katerim se meso dobro loči od koščice (cepke) izhajajo iz vrste evropska sliva, medtem ko plodovi, ki imajo meso zraščeno s koščico (kostenice), izhajajo iz vrste cibora (*Štampar in sod.*, 2009).

Skupina kitajsko-japonskih sliv zajema sorte, ki so nastale s križanjem diploidnih orientalskih (*Prunus salicina* Lindl., *Prunus simonii* Carr.) in ameriških vrst (*Prunus americana* Marsh., *Prunus hortulana* Bailey). Mesto nastanka orientalskih sliv je Kitajska, od koder so na Japonsko prišle v 15. stoletju. Iz Japonske so slive prenesli v ZDA, kjer so jih križali z ameriški vrstami. Sorte te skupine sliv največ pridelujejo v Avstraliji, Južni Ameriki in ZDA. Zaradi preobčutljivosti za zgodnje spomladanske pozebe (cvetovi, ki so po trije skupaj na istem peclju, se odprejo prej kot pri drugih vrstah sliv), za bakterioze in leptonekroze, se v Evropi, razen v Italiji, niso razširile (*Sancin in Adamič*, 1988; *Štampar in sod.*, 2009).

2.1.1 Morfološke in fiziološke značilnosti

Sliva razvije srednje globok sistem, v ugodnih razmerah tudi več kot 70 cm globine. Približno 70 % koreninske mase se razvije v globini do 50 cm. Posebna lastnost slive nekaterih sort in podlag je, da tvori koreninske izrastke, ki jih lahko uporabimo za razmnoževanje. Drevo slive razvije piramidasto oz. okroglasto naravno obliko krošnje, ki pa se med sortami močno razlikuje (Sancin in Adamič, 1988). Primerne gojitvene oblike za slivo so izboljšana piramida, vreteno in palmeta. Najbolj uporabljeni podlagi za slivo sta sejanec mirabolane in mirabolana 29 C. Sejanec mirabolane je generativna podlaga in daje bujno ter neizenačeno rast, medtem ko je mirabolana 29 C vegetativna podlaga, ki omogoča šibkejšo rast drevesa (Štampar in sod., 2009).

Sliva rodi na rodnih šibah, rozetah in majskih kiticah. Cvet je majhen, bele ali zelenkasto bele barve. Cveti v marcu in aprilu. Pri obilnem cvetenju se oplodi približno 10 – 20 % cvetov, odvisno od vremenskih razmer. Na čas cvetenja vplivajo starost rastline, sortne lastnosti ter vremenske razmere. Cvetenje traja od 6 do 12 dni (Sancin in Adamič, 1988). Sorte sliv so glede opraševalnih odnosov zelo raznolike, saj so nekatere sorte samooplodne (avtofertilne), druge pa samoneoplodne (avtosterilne). Prve se oplodijo z lastnim cvetnim prahom, samoneoplodne sorte pa za oploditev potrebujejo drugo sorto. V bližino je potrebno posaditi sorte, ki cvetijo sočasno in so skladne. Poleg omenjenih dveh skupin obstaja tudi skupina delno samooplodnih sort. Te se v ugodnih razmerah lahko oplodijo z lastnim cvetnim prahom, v neugodnih razmerah pa ne, zato se tudi pri teh svetuje sajenje opraševalne sorte. Najugodnejše temperature za opraševanje in oploditev so 21 – 27 °C. Ker je sliva žužkocvetna (entomofilna), potrebuje za prenos peloda čebele (Štampar in sod., 2009).

Plodovi sliv so različno obarvani in različne oblike. Kožica (eksokarp) ščiti plod pred zunanjimi vplivi, meso (mezokarp) je sočno in sladkokiselkastega okusa. V sredini se nahaja koščica (endokarp), ki se pri nekaterih sortah dobro loči od mesa, pri drugih pa je čvrsto zraščena z mesom (Sancin in Adamič, 1988).

Pri koščičarjih se plod razvija po dvojni sigmoidni krivulji. V prvi fazi se delijo celice plodu (perikarpa) v vseh tkivih. V drugi fazi se delijo celice embria, v kolikor je prišlo do oploditve. V tej fazi koščica (endosperm) otrdi, rast plodu pa se umiri. V tretji fazi celice rastejo, medcelični prostori pa se polnijo. Sadež v tej fazi intenzivno raste (Chalmers in Van de Ende, 1976).

2.1.2 Podnebne in talne razmere

Sorte evropske skupine sliv glede okoljskih razmer niso zahtevne. Uspešno jih gojimo na nadmorskih višinah do 900 m. Sadimo jih v dovolj globoka in bogata tla s pH 6-7, zaradi razmeroma plitkega koreninskega sistema pa uspevajo tudi v plitkejših tleh. Prilagodijo se lahko tudi na peščena ali glinasta tla, prav tako tudi na vlažno zemljo, vendar ne s previsoko podtalnico. Večina sort zelo dobro prenaša nizke temperature v obdobju mirovanja. Nevarne so nizke temperature v obdobju pred in med cvetenjem, ki lahko povzročijo spomladansko pozebo. Spomladanski pozebi se lahko izognemo z izbiro

primerne sadjarske lege. Najboljše so vzhodne in jugovzhodne lege (Štampar in sod., 2009). Slivi ustreza blaga klima s srednjo letno temperaturo med 9 in 11 °C. Najboljšo kakovost dosežejo plodovi slive v razmerah, kjer so povprečne mesečne temperature od junija do avgusta med 18 in 20 °C. Za gojenje sliv so primerna območja s srednjo letno vsoto padavin od 700 - 1400 mm, v času vegetacije pa 350 - 600 mm (Sancin in Adamič, 1988).

2.2 SEKUNDARNI METABOLITI

Rastline sintetizirajo različne organske spojine, ki jih delimo v dve skupini: primarni in sekundarni metaboliti. Primarni metabolizem se nanaša na procese, ki so potrebni za fotosintezo, dihanje ter rast in razvoj rastline. Primarni metaboliti (sladkorji, lipidi, nukleotidi, aminokisline, organske kisline,..) so nujno potrebni za normalno delovanje celic. Sekundarni metaboliti niso nujno potrebni za preživetje celice, vendar prispevajo h kondicijskem stanju rastline (Van der Fits in Memelink, 2000; Bolton, 2009). Sekundarni metaboliti rastlinam omogočajo preživetje v danem okolju (Wink, 2003). Primarni metaboliti so prisotni pri vseh rastlinskih vrstah, medtem ko so določeni sekundarni metaboliti prisotni le pri določeni rastlinski vrsti oz. pri določeni družini oz. v določenem organu rastline ali v celo določenem razvojnem stadiju rastline (Cheynier, 2012).

Zmožnost sintetiziranja sekundarnih metabolitov so rastline pridobile tekom evolucije, ko so bile za njihovo sintezo posebne potrebe (obramba, privabljanje opraševalcev,...). Sekundarni metaboliti se v rastlini po vrsti in količini le-teh zelo razlikujejo, razlike so tudi med organi v različnih razvojnih stadijih npr. organi, ki so potrebni za preživetje in razmnoževanje rastline imajo največjo vsebnost sekundarnih metabolitov, med posameznimi rastlinami in populacijami (Pichersky in sod., 2000; Wink, 2003).

Nekatere funkcije sekundarnih metabolitov so (Wink, 2003):

- zaščita rastlin pred herbivori¹ (odvrčala - v nezrelih semenih je veliko taninov, ki dajejo trpek okus), bakterijami in glivami (inhibirajo encime prodirajočih hif) in sosednjimi rastlinami (alelopatija)
- privabljanje opraševalcev in raznašalcev semen (vonj, barva cvetov, okus)
- UV zaščita.

Sekundarne metabolite delimo v tri skupine (Wink, 2003):

1. Terpenoidi
2. Fenoli
3. Dušik vsebujoče snovi

2.3 FENOLI

Rastlinski fenoli so zelo raznolika skupina približno 10.000 različnih spojin, od preprostih (fenolne kisline) do polifenolov kot so flavonoidi, z različnimi podskupinami. Fenoli so

¹ Herbivori - organizmi, ki se prehranjujejo z rastlinami

pomembni tudi v hrani in pijači, saj prispevajo k okusu in barvi. V visokih koncentracijah se nahajajo v epidermalnih tkivih, zlasti v listih in plodovih (Cheynier, 2012).

Čeprav se izraz polifenoli uporablja kot sinonim za fenole oz. fenolne spojine, nekateri avtorji omenjajo, da bi ta izraz moral biti omejen samo na molekule, ki imajo vsaj dva fenolna obroča. Zadnje raziskave pa celo, da se termin uporablja samo za fenole, ki nastanejo iz šikimske fenilpropanoidne in/ali poliketidne poti, vsebujoč vsaj en fenolni obroč in s tem brez dušik-vsebujočih funkcionalnih skupin. Fenole delimo na flavonoide in neflavonoide (Cheynier, 2012).

2.3.1 Neflavonoidi

V to skupino uvrščamo fenolne kisline in sorodne snovi. V skupino fenolnih kislin uvrščamo derivate benzojske in cimetne kisline. Hidroksibenzojske kisline so derivati benzojske kisline z osnovno formulo C_6-C_1 . Poznamo galno, protokatehulno, salicilno in vanilno kislino. Najbolj pogosti kislini v rastlinskem svetu sta galna in salicilna kislina. Ime galne kisline izhaja iz francoske besede 'gallic' in pomeni šiško v rastlinskem tkivu, ki je posledica napada insekta. Galna kislina je prekurzor elagitaninov in galotaninov. Galotanini in elagitanini se imenujejo hidrolizirani tanini, kjer se s hidrolizo sprošča galna in/ali elagna kislina. Tanini se vežejo s slino in proizvajajo okus, ki ga prepoznamo kot trpkega. Veliko taninov je trpkih, zaradi česar je rastlinsko tkivo neužitno in se ga živali, pa tudi ljudje, izogibajo. Nezrelo sadje vsebuje veliko taninov, ki se nahajajo večinoma v zunanjih celičnih slojih. Vsebnost taninov in/ali prisotna trpkost določata zrelost sadja in zorenje semena. Salicilna kislina je zelo pomembna obrambna spojina, saj je vpletena v sistemsko inducirano odpornost. Služi namreč kot signalna molekula (Murkovic, 2003; Crozier in sod., 2006).

Hidroksicimetne kisline so, za razliko od hidrobenzojskih kislin, bolj pogoste v hortikulturnih rastlinah. Poznamo kavno, felurno, sinapinsko in *p*-kumarno kislino (Murkovic, 2003).

2.3.2 Flavonoidi

Flavonoidi predstavljajo skupino z več kot 4000 različnimi fenolnimi spojinami. Flavonoidi so sestavljeni iz fenolnega in piranovega obroča. Osnovni ogljikov skelet je sestavljen iz 15 ogljikov, povezanih v dva aromatska obroča. Flavonoidi se nahajajo v vakuolah, celičnih stenah, trihomih, epidermalnih tkivih in celo v kloroplastih (Heim in sod., 2002; Agati in sod., 2012). Najpomembnejša pot sinteze flavonoidov je t.i. pot šikimske kisline, pri kateri nastane aminokislina fenilalanin. Iz fenilalanina nastane *trans*-cimetna kislina. To reakcijo katalizira fenilalanin amonijak liaza (PAL), ki je vezni člen med primarnim in sekundarnim metabolizmom (Tomás-Barberan in Espin, 2001). Sinteza flavonoidov se prične s kondenzacijo *p*-kumarol koencima A (CoA) s tremi molekulami malonil koencima A (malonil-CoA). Pri tem nastane naringenin halkan, ki je lahko osnova za sintezo ostalih flavonoidov. V kasnejših reakcijah biosintezne poti nastanejo flavoni, flavonoli, izoflavoni, flavanoli in antocianini (Ferreya in sod., 2012).

2.3.2.1 Antociani

Ime antocianin izhaja iz grške besede *anthos*, ki pomeni cvet in *kyanos*, ki pomeni moder. Antocianini so barvni pigmenti rdeče, roza, vijolične in modre barve, ki jih najdemo v cvetovih in plodovih rastlin. Osnovni molekuli pravimo antocianidin. Antocianini so glikozidi antocianidinov (antocianidin + sladkor = antocianin). Antocianidini v naravi niso tako pogosti kot antocianini. Antocianidine in antocianine s skupnim imenom imenujemo antociani. Tako so antociani pri pH 3,5 obarvani rdeče, pri višjem pH pa barva prehaja v modro - vijolično. Večje število hidroksi skupin pomeni absorbcijo pri daljši valovni dolžini, ki se pokaže kot modra barva. Zamenjava hidroksi skupine z metoksi skupino pomeni absorbcijo pri krajši valovni dolžini in spremembo barve v rdeče. Končna barva cvetov je torej odvisna od različnih dejavnikov, ki prispevajo k intenziteti in spektru barve tj. vrsta antociana, prisotnost kovinskih ionov (različni odtenki modre in vijolične barve), prisotnost kopigmentov flavonolov in flavonov, pH vakuole in modifikacija osnovnega antociana (hidroksilacija, metilacija, acilacija ali konjugacija) (Taiz in Zeiger, 2010; Košmerl, 2011; Vicente in sod., 2011; Ferreyra in sod., 2012).

Najpogostejši antocianidini, ki jih najdemo v rastlinah so pelargonidin, cianidin, peonidin, delfinidin, petunidin in malvadin. Najpogostejše vezani sladkorji v antocianih so glukoza, ramnoza, ksiloza, galaktoza, arabinoza (Vicente in sod., 2011).

2.3.2.2 Flavanoni

Flavanoni so prekurzorji različnih flavonoidov kot so flavoni, flavonoli, antocianidini in izoflavoni (Daniel in sod., 1999). V rodu *Prunus* najdemo v lubju flavanone sakuranetin, naringenin, eriodiktol, izosakuretin in pinocembrin (Harborne, 1967).

2.3.2.3 Izoflavoni

Encim, ki je odgovoren za pretvorbo flavona v izoflavone je izoflavon sintaza. Najdemo jih predvsem v stročnicah, ki naj bi preprečevale nastanek številnih bolezni, med njimi srčne bolezni, osteoporoze in rak. Nekateri izoflavoni imajo anti-estrogenski učinek. V zadnjih letih se je zanimanje za izoflavone povečalo, predvsem zaradi fitoaleksinov. Fitoaleksini so antimikrobne spojine, ki so sintetizirane kot odgovor na bakterijsko in glivično okužbo, tako da omejijo širjenje patogena. V rodu *Prunus* sta prisotna izoflavona prunetin in genistein (Harborne, 1967; Murkovic, 2003).

2.3.2.4 Flavoni in flavonoli

Flavoni in flavonoli so si zelo podobne spojine, ki jih najdemo predvsem v cvetovih. Ker absorbirajo svetlobo krajše valovne dolžine, človeškemu očesu niso vidni. Kljub temu pa nekatere žuželke, npr. čebele, vidijo tudi v tem območju svetlobnega spektra, kar pomeni, da imajo flavoni in flavonoli vlogo pri opraševanju, predvsem s privabljanjem opraševalcev. Flavonoli tvorijo v cvetu simetrične vzorce s črtami, pikami ali koncentrične kroge, ki so tako imenovani »vodič za nektar«. Ti vzorci pomagajo opraševalcem pri iskanju cvetnega prahu in nektarja. Poleg vloge pri opraševanju imajo flavoni in flavonoli

tudi funkcijo zaščite celic pred UV-B sevanjem (sevanje pri valovnih dolžinah 280 - 320 nm). Ker so te spojine shranjene v epidermalnih slojih listov in stebel ter absorbirajo svetlobo v UV-B območju, omogočajo, da vidna ali fotosintetsko aktivna svetloba nemoteno potuje skozi. Flavonoidi in flavoni imajo vlogo tudi pri simbiozi metuljnic in rizobakterij (Taiz in Zeiger, 2010; Ferreyra in sod., 2012).

Najbolj pogosti flavanoli so aglikoni miritecin, kvercetin, izoramnetin in kempferol. V rodu *Prunus* je najpogostejši flavanol kvercetin. Najdemo ga predvsem v kožici plodov. Cvetovi, ki so kremno, bele ali slonokoščene barve, vsebujejo kempferol in kvercetin. Koncentracija je odvisna od sezonskih sprememb, sortne specifičnosti, načina pridelave ter skladiščenja in predelave (Vicente in sod., 2011).

2.3.2.5 Flavanoli

V skupino flavan-3-olov ali flavanolov prištevamo katehin in epikatehin ter oligomere proantocianidine oz. kondenzirane tanine, ki so brezbarvni antocianidini. Plodovi sliv vsebujejo veliko proantocianidinov. Ob razpadu oligomerov izgine tudi trpkost sadja. Ostanjejo polimeri, ki pa zaradi netopnosti ne vplivajo na okus. Flavanoli delujejo predvsem kot odvrčala, saj imajo trpek oz. adstringenten okus (Harborne, 1967).

2.3.3 Biosinteza fenolov

Fenolne spojine se sintetizirajo po dveh različnih poteh: šikimski in malonski poti. Šikimska pot je bolj pogosta pri rastlinskih fenolih, medtem ko je malonska pot pomemben vir fenolnih snovi pri bakterijah in glivah (Taiz in Zeiger, 2010).

Šikimska pot spremeni prekursorje, ki izhajajo iz glikolizne in pentozno fosfatne poti, v tri aromatične aminokisline: fenilalanin, tirozin in triptofan. Prvi intermediat, ki nastane iz glukoze po pretvorbah, se imenuje šikimska kislina. Je ciklična molekula, ki pa še ni fenol. Sledi nastanek korizmične kisline, ki je prekursor za zgoraj omenjene aromatične aminokisline. Iz fenilalanina se odcepi molekula amonijaka, kjer nastane cimetna kislina. Reakcijo katalizira encim fenilalanin amonijak liaza (PAL). Aktivnost tega encima je odvisna od okoljskih dejavnikov (vsebnost mineralnih hranil, svetlobe), glivičnih okužb ter razvojnega stadija rastline. Metaboliti *trans*-cimetna, *p*-kumarna kislina in njihovi derivati so preproste fenolne spojine. Pravimo jim tudi fenilpropanoidi. Ta reakcija je prvi korak v biosintezi derivatov fenilpropanoidov, kjer nastajajo flavonoidi, kumarini, lignini, hidroksicimetne kisline in ostale fenolne snovi (Tomás-Barberan in Espin, 2001).

2.4 NAČINI PRIDELAVE SADJA

V Sloveniji in Evropski Uniji poznamo tri načina kmetovanja in sicer konvencionalno, ki ima manjše omejitve glede uporabe FFS, mineralnih gnojil in pa bolj sonaravni pridelavi, integrirano in ekološko.

2.4.1 Integrirana pridelava

Pridelava na integriran način pomeni uravnoteženo uporabo agrotehničnih ukrepov ob skladnem upoštevanju okoljskih, toksikoloških ter gospodarskih dejavnikov. Integrirano varstvo rastlin je kombinacija uporabe biotičnih, tehnoloških in kemijskih ukrepov pri pridelavi sadja. Omejitve so potrebne za zadrževanje škodljivih organizmov pod mejo, ki povzroča gospodarsko škodo (prag škodljivosti) (Štampar in sod., 2009).

Kmalu po drugi svetovni vojni, ko so insekticidi postali širše dostopni, so entomologi uvedli koncept nadzorovanja populacije insektov. Številni raziskovalci so proučevali medsebojni vpliv uporabe insekticidov in prisotnost naravnih sovražnikov. Med prvimi raziskovalci, ki so dokazali, da je uporaba insekticida v nižjih koncentraciji, ob pravem času in dobri agronomski praksi, bolj učinkovita, sta bila Michelbacher in Middlekauff. Takšna uporaba insekticida je vplivala tudi na večjo populacijo naravnih sovražnikov. To je pomenilo, da je za dobro kontrolo škodljivcev bolje, da se za aplikacijo insekticidov odloča na podlagi populacije škodljivcev in njihovih naravnih sovražnikov. Kasneje se je ta način razširil tudi na zatiranje bolezni in plevelov (Lyons, 2014).

Z uvedbo integrirane pridelave so, kot prvi v Evropi, začeli v Švici, Franciji in na južnem Tirolskem v 70. letih prejšnjega stoletja. V Sloveniji se je integrirana pridelava uvedla leta 1991 (Štampar in sod., 2009).

Integrirana pridelava med drugim vključuje naslednje ukrepe (Tehnološka ..., 2015):

- Uravnoteženo izvajanje agrotehničnih ukrepov, uravnotežen kolobar.
- Prednost naravnih ukrepov pred fitofarmacevtskimi sredstvi, pri čemer se doseže enak gospodarski učinek ter prednost organskih gnojil (podor, rastlinski ostanki,...) pred mineralnimi.
- V skladu z Zakonom o fitofarmacevtskih sredstvih smejo pridelovalci uporabljati le v Republiki Sloveniji registrirana fitofarmacevtska sredstva in uporaba gnojil in to samo na način in za namen, ki je predpisan v navodilu za uporabo (Ur. RS, št. 83/2012, cit. po Tehnološka ..., 2015).
- Pospeševanje in ohranjanje biotske raznovrstnosti z ustreznimi metodami varstva rastlin, npr. biotično varstvo.
- Pridelovalec mora gnojiti v skladu z založenostjo tal in odvzemom sadne vrste sodeč po analizi tal, ki jo mora napraviti na pet let. S tem preprečuje prehod nitratov v podtalnico in kopičenje nitratov v rastlinah. Največji enkratni odmerek dušika je 80 kg/ha, pri potrebah nad to mejo pa je obvezna delitev obrokov. Največja skupna količina uporabljenega dušika iz lahko topnih mineralnih gnojil je 170 kg/ha.
- V rastlinah ne smejo biti presežene določene vrednosti ostankov fitofarmacevtskih sredstev.
- Prepovedana sta celoletna nepokritost tal in kemično razkuževanje v zaščitelih prostorih.



Slika 1: Uradni državni znak za integrirano pridelavo (MKGP, 2015)

Pridelki iz integrirane pridelave so tudi označeno z enotno označbo »integrirani« (Slika 1). Pridelava sadja na integriran način zahteva veliko znanja in izkušenj, saj predstavlja večje tveganje in stroške pridelave, kot pri konvencionalnem načinu pridelave. Skladno z določili Pravilnikov za integrirano pridelavo mora pridelovalec upoštevati tudi Tehnološka navodila za posamezno vrsto pridelave, ki se osveži vsako leto.

2.4.2. Ekološka pridelava

Ekološka pridelava je način kmetovanja, ki upošteva ravnovesje v sistemu tla-rastline-živali-človek in s tem zagotavlja sklenjeno kroženje hranil (KGZS, 2015). Ekološko kmetijstvo v največji meri vpliva na trajnostno gospodarjenje z neobnovljivimi viri ter z dobrimi bivalnimi razmerami za živa bitja, predvsem koristnih živali v nasadu (Štampar in sod., 2009). Ta način pridelave zahteva zelo dobro poznavanje odnosov med organizmi in vplivov na okolje.

Začetki segajo v obdobje pred drugo svetovno vojno. Leta 1940 je Lord Northbourne (Walter James) prvi uporabil izraz »organic farming« tj. ekološko kmetovanje. Oče ekološkega kmetovanja je Sir Albert Howard, saj je prvi uvedel znanstvena znanja in metode v tradicionalno kmetovanje (Pogash, 2015). Ekološka pridelava je po drugi svetovni vojni zastala, saj so se v tistem času pojavila nova, cenejša dušikova gnojila, pesticidi, boljša mehanizacija, ki je omogočala kmetovalcu obdelovati zemljo na večjih površinah. Leta 1972 pa je bil ustanovljena Mednarodna zveza gibanj za ekološko kmetijstvo IFOAM v Versaju na mednarodnem kongresu ekološkega kmetovanja. Ronald Chevriot iz združenja Nature et Progrès je na kongres povabil pionirje ekološkega kmetovanja Lady Eve Balfour, Kjell Arman in Jerome Goldstein, ki so se mu pridružili. Ustanovitelji so upali, da bo zveza predstavljala skupni glas za ekološko pridelano hrano ter ostale informacije na mednarodnem nivoju (IFOAM, 2015).

Leta 1991 je Evropska komisija sprejela zakonodajo, ki pokriva področji ekološkega kmetovanja in označevanja končnih proizvodov. Sprva je zakonodaja pokrivala samo rastlinsko pridelavo, kasneje so jo razširili še za živalsko proizvodnjo (European Commission ..., 2015).

Ekološka pridelava vključuje naslednje ukrepe:

- Širok kolobar; večletni kolobar, ki vključuje metuljnice in ostale rastline za zeleno gnojenje, uporabo živalskega gnoja ali drugih naravnih gnojil, s čimer izboljšujemo založenost tal s hranili ter biološko aktivnost v tleh.

- Uporaba fitofarmacevstkih sredstev in gnojil naravnega izvora; ker so pridelovalci omejeni z uporabo gnojil, konkretnije, z uporabo dušikovih gnojil, je pomembno, da se zagotovi naravno založenost z organizmi v tleh (bakterije, glive,...). Le-ta se potem pretvorijo v rastlinam dostopna hranila. Pri zaščiti rastlin pred škodljivci, boleznimi in pleveli v veliki meri vpliva kolobar, uporaba naravnih sovražnikov ali uporaba fitofarmacevstkih sredstev naravnega izvora.
- Uporaba naravnih metod pri kroženju snovi v naravi.
- Uporaba odpornih sort na bolezni, ki so prilagojena na območje pridelave (European Commission ..., 2015).



Slika 2: Uradni državni znak in uradni znak EU za ekološko pridelavo (MKGP, 2015)

Pri ekološki pridelavi je zagotovljen nadzor nad pridelavo in predelavo – sledljivost »od njive do krožnika«. Kmetijske pridelke oz. živila, ki se tržijo v Sloveniji kot ekološka, se mora označevati s posebno označbo »ekološki« (Slika 2), obvezna pa je tudi uporaba evropskega logotipa (Slika 2).

V ekološko pridelavo je bilo leta 2014 vključenih 3.298 kmetijskih gospodarstev, kar predstavlja 4,6 % vseh kmetij v Sloveniji. Prevladuje travinje oz. živinoreja, vse večje pa je povpraševanje potrošnikov po vrtninah in sadju ter nemasnih izdelkih (MKGP, 2015).

2.4.3 Vsebnost fenolov v slivah glede na različne načine pridelave

Potrošniki dajejo vedno večji pomen zdravi in kakovostno pridelani hrani, saj se vedno bolj poudarja zdrav način življenja, ekološko kmetovanje, ekološko pridelana hrana, predvsem pa se veliko govori o antioksidantih. Na temo, ali je ekološko pridelana hrana bolj zdrava kot hrana iz konvencionalne pridelave, je bilo narejenih že veliko raziskav, v manjši meri v primerjavi z integrirano pridelavo. Raziskav o vplivu ekološke in integrirane pridelave na vsebnost sekundarnih metabolitov v plodovih sliv še ni.

Nekateri so mnenja, da ima ekološko pridelano sadje ali zelenjava večjo vsebnost sekundarnih metabolitov, drugi pa so mnenja, da dokazov, ki bi potrdili teorijo, da je ekološko pridelana hrana bolj zdrava, ni dovolj (Fernandes in sod., 2012).

Lombardi-Boccia in sod. (2004) so izvedli triletni poskus, kjer so primerjali vsebnost hranilnih snovi in antioksidantov v plodovih slive (*Prunus domestica* L.) pri ekološki in konvencionalni pridelavi. Poskus je potekal na isti kmetiji, vendar na različno obdelanih tleh, kot je razvidno iz preglednice 1. Tla pri konvencionalni pridelavi so bila obdelana z oranjem, tla v ekološki pridelavi pa so bila obdelana na tri različne načine.

Preglednica 1: Način obdelave tal v poskusu (Lombardi-Boccia in sod., 2004)

Način obdelave tal	Obdelovanje
Obdelana tla	Oranje na 30 - 40 dni
Tla prekrita z deteljo (<i>Trifolium subterraneum</i>)	Posejana oktobra, pokošena spomladi, biomasa je bila <i>in situ</i> ²
Tla prekrita s travo	Spomladi pokošena, biomasa <i>in situ</i>

Nasad s konvencionalnim načinom pridelave je bil gnojen s sintetičnimi gnojili, ekološki pa z gnojili organskega izvora, ki so dovoljeni v tem načinu pridelave. Primerjali so vsebnost plodov sliv med konvencionalno in ekološko pridelavo pri enakem načinu obdelave tal (oranje). Pri ekološki pridelavi so primerjali tudi sestavo plodov med tremi načini obdelave tal (oranje, detelja in trava). Povprečna masa sliv je bila pri konvencionalni pridelavi $52 \pm 0,7$ g, pri ekološki pridelavi $61,3 \pm 0,7$ g (oranje), $56 \pm 0,7$ g (detelja), $63,2 \pm 0,7$ g (trava) (Lombardi-Boccia in sod., 2004).

Skupna vsebnost fenolnih spojin je bila pri konvencionalni pridelavi večja v primerjavi z ekološko pridelavo. Med fenolnimi kislinami je bilo največ neoklorogenske kisline, ki je predstavljala kar 45% vseh fenolov pri konvencionalni pridelavi in več kot 37% pri ekološki pridelavi. Pri ekološko pridelanih slivah so izmerili več kavne, *p*-kumarne in klorogenske kisline, protokatehulne in neoklorogenske kisline pa je bilo več pri konvencionalno pridelanih slivah (Lombardi-Boccia in sod., 2004).

Prevladujoč flavonol je bil kvercetin in v večjih koncentracijah prisoten v konvencionalni pridelavi, medtem ko sta bila mirecetin in kempferol prisotna v večjih koncentracijah pri ekološki pridelavi (Lombardi-Boccia in sod., 2004).

Rezultati so pokazali tudi, da obstajajo razlike v vsebnosti fenolov glede na način obdelave tal. Ekološko pridelane slive so imele večjo vsebnost antioksidativnih spojin pri obdelavah tal detelja ali trava. Slive v obravnavanju detelja so imele največjo koncentracijo fenolnih kislin in flavonolov, podobno kot pri konvencionalni pridelavi. Največjo vsebnost skupnih fenolov so imele slive v obravnavanju trava (Lombardi-Boccia in sod., 2004).

2.4.4 Vsebnost fenolov glede na različne načine pridelave pri drugih sadnih vrstah

Carbonaro in sod. (2002) so primerjali ekološko in konvencionalno pridelavo breskev in hrušk v povezavi s koncentracijo fenolnih spojin in aktivnostjo polifenoloksidaze (PPO). Znano je, da so fenolne spojine povezane z odpornostjo rastline, tako da med drugim, predstavljajo kemično prepreko, ki omeji širjenje patogenov. PPO v povezavi z oksidacijo fenolov v kinone povzroči nastanek temno obarvanega tkiva. Zato so v raziskavi proučevali vpliv fitofarmacevtskih sredstev na vsebnost fenolov in PPO. Ugotovili so, da je bila pri ekološki pridelavi povečana encimska aktivnost (PPO), kavne (hruška) in klorogenske (breskev) kisline, v primerjavi s konvencionalno pridelavo. Obe kislini sta znani po tem, da imata močno antiglivično delovanje. Obstaja torej povezava med

² *In situ* - izraz izhaja iz latinščine in pomeni, da je nekaj na svojem izvornem, obstoječem ali naravnem mestu.

povečano količino fenolnih snovi in PPO aktivnostjo, kot odgovor na okužbe. Povečano aktivnost PPO in fenilalanin amonijak liaze (PAL), ki sodeluje v biosintezi fenolnih snovi, so našli tudi na mestu okužbe.

Veberič in sod. (2005) so primerjali vsebnost fenolnih spojin v jabolkah, pridelanih na ekološki in integriran način. V raziskavo so vključili tudi proti škrlupu odporne sorte, ki so bile pridelane na integriran način, niso pa bile škropljene proti škrlupu (*Venturia inaequalis*). Vključene odporne sorte proti škrlupu so bile: 'Pinova', 'Remura' in 'Topaz'. Sorte, ki so bile pridelane na ekološki način so bile: 'Bohnapfel', 'Kronprinz', 'Gravensteiner', 'Krummstiel', 'Kornapfel', 'Steirischer Maschanzker', 'Geflammtter Cardianl', 'Železničarka', 'Goldparmäne', 'Roter Pogatscher' in 'Champagner Renette'. Vključene sorte, pridelane na integriran način, pa so bile: 'Royal Gala', 'Fuji', 'Elstar', 'Jonagold Decosta', 'Jonatan', 'Majda', 'Pink Lady' in 'Braeburn'. Čeprav ni bilo značilnih razlik med ekološko in integrirano pridelavo, so imela ekološka jabolka večjo vsebnost skupnih fenolov v kožici. Selekcija in žlahtnjenje novih sort jablane teži k temu, da so plodovi manj trpki, kar pomeni tudi manjšo vsebnost nekaterih fenolov. Ker sintetična sredstva za varstvo in prehrano rastlin v ekološki pridelavi niso dovoljena, so jablane bolj izpostavljene različnim vrstam stresa, ki inducirajo sintezo fenolov.

Fernandes in sod. (2012) so proučevali vpliv ekološke in integrirane pridelave pri jagodah. Pri ekoloških jagodah so ugotovili večjo vsebnosti antocianov, zaradi česar je bila večja tudi vsebnost skupnih fenolov. Način pridelave ni vplival na vsebnost ostalih flavonoidov.

2.4.5 Vsebnost fenolov glede na različne načine pridelave pri drugih rastlinskih vrstah

O vplivu dostopnosti dušika oz. gnojenja na vsebnost antioksidantov poročajo tudi drugi avtorji. Toor in sod. (2006) so med drugim proučevali vpliv gnojenja na antioksidativne spojine in antioksidativno aktivnost. V poskus so vključili paradižnike, gnojene s hitro topnim dušičnim gnojilom (NH_4^+ in NO_3^-), s kokošjim gnojem in na tleh, kjer so zmulčili travo in deteljo. Vsaka rastlina, ki je bila gnojena s hitro topnim dušičnim gnojilom, je prejela 5,5 g N v obliki NO_3^- , 5,2 g N v obliki NH_4^+ s Cl^- in 6,0 g N v obliki NH_4^+ z dodanim SO_4^{2-} . Vsaka rastlina, ki je bila gnojena s kokošjim gnojem, je dobila 11,1 g N. Rastline, ki so bile gojene na tleh, pa so dobile 16,0 g N. Skupna vsebnost fenolov je bila največja pri paradižnikih, gojenih na zmulčenih tleh z deteljo in travo (457 g GAE / 100 g), sledili so paradižniki, gnojenih s kokošjim gnojem (442 mg GAE / 100 g), najmanjša pa je bila pri paradižnikih, gnojenimi s topnimi mineralnimi gnojili, predvsem pri $\text{NH}_4^+ + \text{SO}_4^{2-}$ (368 mg GAE / 100 g).

Ekološka pridelava temelji na pridobivanju dušika s pomočjo biodiverzitete v tleh, medtem ko konvencionalna, pa tudi integrirana pridelava, uporabljata anorganski dušik, ki je rastlini hitro dostopen. Ta lahka dostopnost dušika vpliva tudi na sintezo sekundarnih metabolitov (Chassy in sod., 2006). Kljub temu je genetika rastline glavni dejavnik, ki določa, v katerih organih se bodo sekundarni metaboliti kopičili. Tudi okoljski dejavniki in okužba imata velik vpliv na sintezo sekundarnih metabolitov. Lahko povzamemo, da imata način obdelave tal in tip gnojila vpliv na vsebnost sekundarnih metabolitov.

Študija, ki je bila narejena na mušici *Drosophila melanogaster* Meigen, je pokazala večjo plodnost in daljšo življenjsko dobo pri hranjenju z ekološko pridelano hrano (banane, krompir, rozine in soja), v primerjavi s konvencionalno. Rezultati nekaterih študij kažejo, da lahko živali (miši, zajci, podgane in kokoši) ločijo med ekološko in konvencionalno pridelano hrano. Rajši imajo ekološko hrano (Johansson in sod., 2014).

Zaključimo lahko, da na vsebnost sekundarnih metabolitov v sadju in zelenjavi vplivajo naslednji dejavniki: genotip (vrsta in sorta), ontogeneza³ in okolje. Na vsebnost vplivajo tudi analizirano tkivo, velikost ploda, razvojna stopnja in pa zrelost. Majhne borovnice (*Vaccinium* spp.) imajo večjo vsebnost fenolov kot večje. Večja vsebnost fenolov, kot v mesu, je v kožici plodov. Poškodba zaradi bolezni ali napada škodljivcev povzroči, da se sintetizirajo večje količine sekundarnih metabolitov, kot odgovor na stres. Večja količina dušika vpliva na manjšo vsebnost fenolov in na večjo vsebnost karotenoidov. Suša ima vpliv na kopičenje fenolov. Povečanje namakanja je povzročilo manjšo aktivnost *L*-fenilalanin amonijak liaze in manjšo vsebnost fenolov pri oljkah (Zhao in sod., 2006). Velik vpliv na vsebnost fenolov ima tudi sezona, lokacija in pa klimatske razmere.

2.4.6 Vpliv zrelosti na vsebnost sekundarnih metabolitov

Pri slivah je, zaradi pomanjkanja zrelostnega indeksa, težko določiti pravo tehnološko zrelost. Kriteriji, po katerih določamo zrelost sliv, so barva kožice in mesa, trdota, velikost in masa plodov ter delež suhe snovi (SS). Glavni delež suhe snovi v sadju predstavljajo sladkorji saharoza, glukoza, fruktoza in sorbitol. Barva kožice je eden izmed najpomembnejših pokazateljev zrelosti pri koščičarjih (Usenik in sod., 2008).

Usenik in sod. (2008) so ugotavljali, kako se spreminja kakovost sliv med zorenjem, pri različnih sortah ('Jojo', 'Valor', 'Čačanska rodna' in 'Čačanska najbolja'). Primerjali so predvsem razliko med prvim in petim oz. šestim obiranjem pri sorti 'Jojo'. Zadnje obiranje je sovpadalo z botanično zrelostjo plodov. Vsebnost suhe snovi se je z zorenjem povečala. Pri sorti 'Jojo' za 37 % ob petem terminu obiranja in za 56 % ob zadnjem terminu glede na prvo vzorčenje, pri sorti 'Čačanska najbolja' za 37 %, 'Valor' za 31 % in pri sorti 'Čačanska rodna' za 63 %.

Vsebnost sladkorjev, ki je sortno pogojena, se med zorenjem povečuje, trdota plodov ter vsebnost kislin pa se z zorenjem zmanjšujeta (Usenik in sod., 2008).

Usenik in sod. (2008) so opazili bolj razvito barvo ob polni zrelosti, kar sovпада z zrelostjo plodov ob koncu obiranja. Za določanje barve kožice so uporabili CIRG (Color index of red grape) indeks. Rezultati so tudi pokazali, da na vsebnost skupnih fenolov zrelost nima vpliva, ima pa vpliv na antociane, ki so prisotni tudi v barvi kožice. Diaz-Mula in sod. (2008) navajajo, da se pri slivah kitajsko-japonskega porekla, antociani sprva kopičijo v kožici, šele nato v mesu in da se vsebnost antocianov z zrelostjo povečuje. Povečana koncentracija antocianov se pojavi v zadnjih dveh tednih zorenja v kožici, medtem ko se

³ Ontogeneza - spreminjanje organizma od oplojene jajčne celice do smrti

količina le-teh konstantno povečuje v mesu. Ugotovili so, da se skupna vsebnost fenolov med zorenjem povečuje, predvsem na račun povečane količine antocianov.

2.5 POMEN SLIV ZA ČLOVEKA

Sliva je v človeški prehrani bogat energijski vir s precejšno dietetično in zdravilno močjo, poleg tega je pa močan vir antioksidantov. V današnjem času se besedi antioksidant in prosti radikali vedno bolj omenjata v povezavi z zdravim načinom življenja. Prosti radikali so molekule, ponavadi kisikove, ki so izgubile elektron, zato so nestabilne in reaktivne. Te potem povzročijo poškodbe deoksiribonukleinske kisline (DNK), lipidov ali beljakovin. Najbolj nevarni so majhni, mobilni in visoko reaktivni kisikovi radikali. Ti nastajajo kot posledica stresa, kot stranski produkt pri celični presnovi in zaradi zunanjih dejavnikov (UV sevanje, alkohol, cigaretni dim, onesnažen zrak,...). Antioksidativni učinek fenolnih spojin je posledica sposobnosti, da »lovijo« proste radikale, da donirajo vodikov atom ali elektron, vežejo kovinske ione ter da deaktivirajo prooksidativne encime. Nekateri prosti radikali so celo koristni, saj varujejo telo pred patogenimi organizmi (Patel, 2008; Abram in sod., 2010).

Ker antioksidanti nevtralizirajo proste radikale, so pomembni pri preprečevanju nastanka raka. Klorogenska kislina v hrani zavira nastanek tumorjev v črevesju, poleg tega pa lahko ščiti organizem pred Parkinsonovo boleznijo. Slive delujejo tudi antibakterijsko na nekatere bakterije, med drugim delujejo tudi na *Escherichia coli*. Ta antibakterijska učinkovitost je rezultat fenolnih spojin v sadju in čajih (Stacewicz-Sapuntzakis in sod., 2001).

Slive in njihovi proizvodi se uporabljajo za številne namene, med drugim proti zaprtju, oteklim jetrom, kurjim očesom, vnetemu grlu, parodontoz, saj krepijo dlesni, zobnemu abscesu, revmi in za blažitev črevesnih težav. Delujejo proti hemoroidom, ki pa je kar pogosta bolezen sedanjega časa, predvsem zaradi hitrega načina življenja in nezdravega prehranjevanja. Suhe slive vsebujejo veliko hranilnih snovi in so naravno odvajalo, znižujejo holesterol ter imajo nizek glikemični indeks (Mihajlović, 1997; Edgson in Marber, 2001).

Pozitivni učinki uživanja suhih sliv so že dolgo znani. Narejene so bile tudi številne raziskave biološkega vpliva svežih in suhih sliv pri ljudeh in živalih, *in vitro*⁴ s sadnimi izvlečki ali posameznimi, izoliranimi spojinami. Suhe slive, poskusi so bili narejeni na človeku in podganah, s svojo specifično kemično sestavo med drugim znižujejo glikemični indeks, upočasnijo napredovanje osteoporoze ter znižujejo visoko raven holesterola, lipoproteinov z nizko gostoto (LDL). Slive imajo veliko antioksidativno sposobnost, lovljenja prostih radikalov. Predvsem fenolne spojine so tiste, ki imajo velik vpliv na človekovo zdravje. Nekateri raziskave so pokazale, da neoklorogenska in klorogenska kislina znižujeta glikemični indeks pri človeku in zavirata LDL v *in vitro* testih, flavonoidi

⁴ *In vitro* - izraz izhaja iz latinščine in se nanaša na procese oz. poskuse, ki potekajo v nadzorovanem okolju, izven naravnega okolja

pa vplivajo na antitrombotično delovanje, tj. preprečevanje nastajanja krvnih strdkov pri zajcih (Piga in sod., 2003).

Suhe slive vsebujejo tudi flavonoide, med katerimi je največ kvercetin, ki vpliva na encimski sistem, ki je vključen v imunski odgovor na vnetja, z zmanjšanjem sinteze prostagladina (Statewicz-Sapuntaziks in sod., 2001).

Antivirusna učinkovitost plodov sliv, ki se uporabljajo v predelavi za sušenje, je bila testirana na polio virusu, ki povzroča otroško paralizo. V poskusu so virus predretirali s sadnim izvlečkom suhih sliv in nato so ga inokulirali⁵ v celično kulturo. Ta slivov izvleček so homogenizirali z enako količino vode in tako dvignili pH na 7. Po 24 urni inkubaciji, pri temperaturi 4 °C, je preživel manj kot 1 % virusa, 2 % virusa pa je preživel v raztopini 1:10. Pri naravnem pH-ju soka iz suhih sliv, ki je 3,6, je bilo delovanje neučinkovito. Avtorji so zaključili, da je antivirusna aktivnost posledica polifenolov, ki jih najdemo v sadju in čaju. Klorogenska kislina je bila učinkovita proti polio virusu, v koncentraciji med 1 in 0,1 mg/ml. Klorogenska kislina se je pokazala tudi kot potencialni inhibitor monoamin oksidazne aktivnosti (MAO), kar pomeni, da ima vlogo tudi pri preprečevanju Parkinsonove bolezni (Statewicz-Sapuntaziks in sod., 2001).

Visoka vsebnost vlaknin, sorbitola in fenolov v slivi pozitivno vpliva na prebavo in s tem zmanjšujejo možnosti za nastanek raka na debelem črevesju. Nizka masa blata in daljši čas, ki ga potrebuje telo za prebavo, povečuje možnost nastanka raka na debelem črevesju. Suhe slive imajo verjetno pozitiven vpliv pri preprečevanju raka, zaradi visoke vsebnosti sorbitola in vlaknin, ki zmanjšata čas, ki ga potrebuje hrana v debelem črevesju, da se prebavi, ter posledično pospešujejo prebavo. Fenolne spojine, ki se lahko obnašajo kot antioksidanti, pa preprečujejo napake na DNK v črevesnih epitelih. Sveže in suhe slive ter suhe slive v prahu se bolje vežejo z žolčno kislino, ki je pomembna za prebavo, kot pa ostalo sadje v prahu (razen borovnice) (Statewicz-Sapuntaziks in sod., 2013). Količina kalija, ki ga vsebujejo suhe slive, je pomembna za kardiovaskularno zdravje, količina bora pa vpliva na kosti, predvsem po menopavzi, ob pomanjkanju hormonov. Baker je pomemben pri ohranjanju kostnih struktur, čvrstosti celičnih sten in sintezi hemoglobina (Statewicz-Sapuntaziks in sod., 2001).

Epidemološke študije nakazujejo, da flavonoidi ščitijo proti kardiovaskularnim boleznimi, v manjši meri naj bi preprečevali nastanek raka in tudi bolezni, povezanih s starostjo (demenca). Flavonoidi so močan vir antoksidantov, nevtralizirajo proste radikale in zavirajo razvoj ateroskleroze. Vendar z zagotovostjo trditi ali je ekološko pridelana hrana bolj zdrava in ali kakšna vrsta hrane (sadje, zelenjava) preprečuje nastanek določene bolezni, je trenutno pre zgodaj reči, saj še nimamo zanesljivih biomarkerjev, ki bi nam lahko dali odgovore (Johansson in sod., 2014). Lahko bi rekli, da ni le ena snov tista, ki preprečuje nastanek določene bolezni, ampak gre za sinergističen učinek, kjer ima več snovi skupaj večji učinek kot posamezna snov.

⁵ Inokulacija – s cepivom vnesti v telo povzročitelja bolezni

3 MATERIALI IN METODE

3.1. MATERIAL

Poskus je bil izveden v letu 2013 pri dveh sortah slive in v dveh načinih pridelave. Vključeni sorti slive (*Prunus domestica* L.) 'Čačanska lepotica' in 'President' rasteta v dveh sadovnjakih v okolici Ljubljane. V enem sadovnjaku slive pridelujejo po načelih ekološke pridelave, v drugem pa po principih integrirane pridelave. Sadovnjaka sta na podobni nadmorski višini, zračna razdalja med njima je približno 7 km.

3.1.1 Opis sort

'Čačanska lepotica' je sorta, ki je nastala leta 1961 v Srbiji, natančneje na Inštitutu za sadjarstvu v Čačku, s križanjem sort 'Wangenheims Fruhwetsche' in 'Požegača'. Priznana je bila leta 1975, patentirana pa leta 1991. Drevo je srednje bujno s piramidasto krošnjo. Veje so dobro obraščene in se pod težo plodov ne lomijo. Zori konec julija oz. v začetku avgusta. Je cepka, kar pomeni, da se meso loči od koščice. Sorta je za šarko tolerantna, odporna pa proti rji in proti češljevi rdeči pegavosti. Je samooplodna sorta. Plodovi so temno modre barve, meso je zelenkasto, čvrsto in sladko-kislega okusa (Mišić, 1989; Štampar in sod., 2009).



Slika 3: Plodovi sorte 'Čačanska lepotica'



Slika 4: Plodovi sorte 'President'

Sorta 'President' izvira iz Anglije. Rast drevesa je srednje bujna do bujna. Na Primorskem zori konec avgusta oz. od sredine do konca septembra v osrednji Sloveniji. Je cepka in samoneoplodna sorta, oprašuje jo sorta 'Stanley'. Plod je debel do ekstremno debel, temno-rdeče do temno-vijolične barve s poprhom. Meso je rumeno, sladko in aromatično. Ker so plodovi izredno čvrsti in je pri nas ponavadi v obdobju zorenja sorte veliko padavin, lahko pride do pokanja plodov. Ti pa so potem še posebej dovzetni za sadno gniločo (Štampar in sod., 2009; Godec in sod., 2011).

3.2 KLIMATSKE RAZMERE V LETU 2013

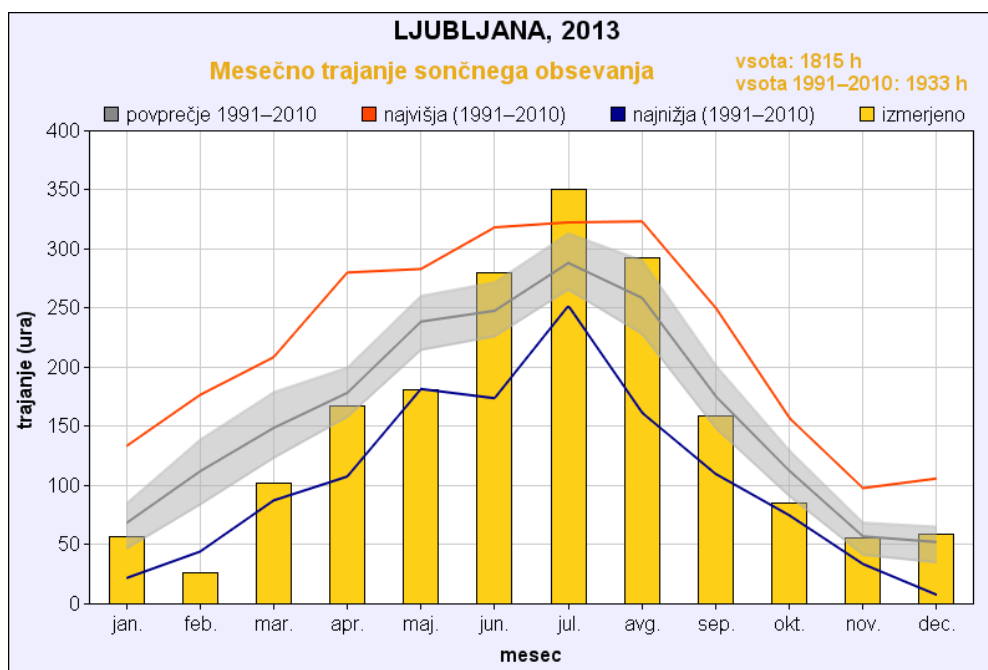
V marcu je snežna odeja vztrajala približno 13 dni. V aprilu je vodna bilanca (zimsko obdobje od 1. oktobra do 31. marca) na začetku kazala na prenamočenost tal v večjem delu Slovenije. Fenološki razvoj dreves je zamujal za dolgoletnim povprečjem. Po otoplitvi pa je ta pohitel v kratkih medfaznih obdobjih. Pri sadnih drevesih je bil hiter prehod od prvih cvetov do polnega cvetenja in potem tudi odcvetenja. Sredi junija smo imeli prvi vročinski val. Julija je bil drugi vročinski val, v katerem je po nižinah kar nekaj dni zapored temperatura presegla 35 °C. V Ljubljani je bila povprečna julijska temperatura 23,5 °C, kar je 3,6 °C nad dolgoletnim povprečjem (Preglednica 2). Zabeleženih je bilo 13 vročih dni ($T > 30\text{ °C}$), kar je osem dni več od dolgoletnega povprečja. Padavin je bilo povsod manj od dolgoletnega povprečja. V Ljubljani je julija padlo le 22 mm padavin, kar je le 18 % dolgoletnega povprečja in najmanj, odkar potekajo meritve na tej lokaciji. Povsod je tudi bilo več sončnega obsevanja kot običajno. Prva dekada avgusta je bila tudi posebna, saj smo imeli tretji vročinski val, kjer so temperature ponekod presegale 40 °C. Tudi izhlapevanje je ponekod preseglo 7 mm na dan. Šele v zadnji dekadi avgusta je Slovenijo prešla deževna fronta in prekinila vročinski val. V tem obdobju so bile na sadnih rastlinah vidne posledice ne le sušnega, temveč tudi vročinskega stresa. Septembra je prišlo do ohladike ozračja, zmanjšalo se je tudi izhlapevanje (Mesečni bilten, 2013).

Meteorološka postaja Ljubljana-Bežigrad je najbližje proučevanim lokacijam, zato je bila v tem poskusu tudi izbrana za opazovanje vremenskih razmer.

Preglednica 2: Dolgoletna povprečna mesečna temperatura zraka (T) (°C) in mesečna količina padavin (R) (mm) v obdobju 1981 – 2010 (Klimatološki podatki ..., 2015) ter za leto 2013 (Podnebni kazalniki, 2015) za meteorološko postajo Ljubljana - Bežigrad

MESEC	1981 - 2010		2013	
	T	R	T	R
Januar	0,3	69	2,0	91
Februar	1,9	70	0,9	195
Marec	6,5	88	3,9	189
April	10,8	99	12,4	91
Maj	15,8	109	14,8	210
Junij	19,1	144	19,8	105
Julij	21,3	115	23,5	22
Avgust	20,6	137	22,5	105
September	16,0	147	16,2	217
Oktober	11,2	147	13,2	37
November	5,6	129	7,3	208
December	1,2	107	2,7	61

Iz slike 5 je razvidno, da je bilo trajanje sončnega obsevanja v letu 2013 v povprečju manjše od dolgoletnega povprečja. V letu 2013 je bilo sončnega obsevanja 1815 ur, dolgoletno povprečje pa je 1933 ur. Sončnega obsevanja je bilo v juniju, juliju in avgustu podobno ali več (julij; 350 ur) kot v dolgoletnem povprečju.



Slika 5: Povprečno mesečno trajanje sončnega obsevanja v primerjavi z dolgoletnim povprečjem za meteorološko postajo Ljubljana - Bežigrad (ARSO, 2015)

3.3 METODE DELA

3.3.1 Opis poskusnih lokacij

Nasada sliv, vključena v poskusu, se nahajata v okolici Ljubljane. Ekološki sadovnjak je v vasi Mali vrh pri Prežganju, na nadmorski višini 650 m (južna lega) in je v lasti gospoda Vojka Adamiča. Velikost nasada je 0,6 ha. V sadovnjaku so zastopane slive sorte 'Čačanska lepotica', 'Domača češplja', 'Stanley', 'President' in 'Herman'. Drevesa so bila sajena leta 2004. Podlaga je mirabolana, medvrstna razdalja 4 x 3 m, gojitvena oblika pa je vretenast grm. V nasadu so različni tipi tal, od peščenih do težkih tal. Na delu sadovnjaka, kjer smo vzorčili plodove sliv, so peščena tla, zaradi česar je rast dreves slabša kot na težjih tleh. V nasadu zbirajo deževnico in namakajo. V letu 2013 so slive namakali od 15. julija do 15. septembra. V letu, v katerem je bil opravljen poskus, je bil pridelek sliv v primerjavi z drugimi leti kar trikrat manjši od povprečja. V celotnem nasadu so obrali 1 tono sliv, kar na ha znaša 1,7 t.



Slika 6: Ekološki nasad slive

Drugi sadovnjak se nahaja v vasi Vnajarje na nadmorski višini 694 m in je v lasti gospoda Srečota Hribarja. Velikost nasada je 0,9 ha. Pridelujejo sorte 'Čačanska lepotica', 'Jojo', 'President', 'Stanley', 'Čačanska rana' in 'Bluefree'. Drevesa sorte 'Čačanska lepotica' (severna lega) so bila sajena leta 2005, 'President' (zahodna lega) pa leta 1996. Pridelava je integrirana, urejen imajo tudi namakalni sistem. Podlaga je mirabolana, medvrstna razdalja je 4 x 3 m, gojitvena oblika je kotel. Tla so lapornata, medvrstni prostor je zmulčen, nikoli škropljen s herbicidom. V letu 2013 je bil skupen pridelek sliv dobrih 5,7 t v celotnem nasadu, kar je zelo malo, glede na to, da so imeli v rekordni letini celo 23 t. V povprečju pa 15 t v celotnem nasadu. Pridelek v letu 2013 preračunan na ha je znašal 6,3 t. Izpad v letu 2013 ni bil posledica suše, pač pa so rodne brste spomladi pojedle ptice. Tisto leto se je namreč sneg dlje časa obdržal in ni bilo hrane za ptice. Večleten povprečen pridelek na drevo je bil 30 kg, v letu 2013 pa le 10 kg na drevo.



Slika 7: Slive v nasadu integrirane pridelave

3.3.2 Vzorčenje

Iz vsakega sadovnjaka smo ob tehnološki zrelosti nabrali 60 plodov vsake sorte, ki so bili nepoškodovani, podobne velikosti in zrelosti. Plodovi so bili izbrani naključno po sadovnjaku. Plodovi so bili 2 uri po obiranju že v hladilnici v Ljubljani in hlajeni na 6 °C. Plodove sorte 'Čačanska lepotica' smo v ekološkem sadovnjaku obrali 6. avgusta 2013 ob 19. uri, v sadovnjaku integrirane pridelave pa 19. avgusta 2013 ob 18. uri. Plodove sorte 'President' smo v ekološkem sadovnjaku obrali 14. septembra 2013 ob 16. uri, meritve v laboratoriju smo izvedli 16. septembra. V sadovnjaku integrirane pridelave smo plodove 'President' obrali 18. septembra ob 17. uri in jim naslednji dan izmerili parametre zrelosti.

Plodove smo prenesli v Laboratorij Katedre za sadjarstvo, vinogradništvo in vrtnarstvo. Po tem, ko so se segreli na sobno temperaturo, smo jim izmerili trdoto, barvo mesa in barvo kože.

3.3.3 Določanje zrelostnih parametrov

Zrelost je eden ključnih dejavnikov, ki močno vplivajo na vsebnost sekundarnih metabolitov v plodovih. Za določanje tehnološke zrelosti sliv si pomagamo z merjenjem trdote, barve kože in barve mesa.

3.3.3.1 Barva kože in barva mesa

Barvo kože in barvo mesa smo določali s CIELAB sistemom, s kolorimetrom Konica Minolta CR-10 Color Reader. Barvo kože smo določali skozi nepoškodovan poprh. Če je bilo le možno, smo merili levo od šiva (pecelj zgoraj), približno na sredini leve polovice ploda. Določali smo barvni ton oz. barvitost (h°). Parameter h je glavna lastnost barve, definirana kot stopnja opisana kot rdeča, zelena, modra ali rumena barva (unikatni koti). Izraz unikatni koti je uporabljen pri določanju barve s prostim očesom. Barve si po stopinjah sledijo v naslednjem vrstnem redu: 0° rdeča, 90° rumena, 180° je zelena, 270° pa določa modro barvo (Briggs, 2012). Ko smo izmerili trdoto ploda, smo slivo razpolovili in vsakemu plodu izmerili še barvo mesa (Slika 8).



Slika 8: Merjenje barve mesa sliv s kolorimetrom

3.3.3.2 Trdota

Trdoto smo merili s penetrometrom Chatillon DFG 50. Uporabili smo nazobčan bat premera 6 mm. Trdoto smo merili levo in desno od šiva, v sredini polovičke plodu. Bat smo porinili v plod, kjer smo pazili, da se ni dotaknil koščice. Iz podatkov meritev trdote leve in desne strani plodu smo izračunali povprečje, ki smo ga uporabili kot podatek trdote za določen plod. Trdoto smo izrazili v newtonih (N).



Slika 9: Merjenje trdote s penetrometrom

3.3.3.3 Izbira plodov za analize sekundarnih metabolitov

Na podlagi povprečnih vrednosti posameznega zrelostnega parametra smo izbrali 27 podobno zrelih plodov vsake sorte iz obeh načinov pridelave (Preglednice 4 - 7). Po tri plodove vsake sorte smo združili v en vzorec. Te 3 plodove smo dali v plastično vrečko, jo označili in zamrznili do ekstrakcije. Za vsako sorto posebej in za vsak način pridelave je bilo pripravljenih devet vzorcev, skupno torej 36.

3.3.4 Ekstrakcija

S plutovrtom premera 1 cm smo zavrtali v vsak plod skozi kožico v meso. En vzorec za meritve vsebnosti sekundarnih metabolitov je bil torej sestavljen iz 3 izrezkov, delčkov 3 izbranih plodov. Rastlinski material smo strli v terilnici, zatehtali 3 g in prelili s 7 ml ekstrakcijskega pufra. Uporabili smo ekstrakcijski pufer metanol, ki je vseboval 3% (v/v) mravljične kisline in 1% (w/v) 2,6-di-tert-butil-4-metilfenol (BHT). BHT je stabilizator, ki preprečuje oksidacijo med ekstrakcijo, mravljična kislina pa je stabilizator antocianinov. Po enurni ekstrakciji v ultrazvočni kopeli pri 0 °C smo ekstrakt centrifugirali 5 minut pri 10.000 obratih/minuto. Supernatant smo filtrirali v vialo skozi poliamidni filter (Chromafil A0-20/25) s premerom por 0,45 µm. Postopek je bil prilagojen po metodi Wang in sod. (2002).

3.3.5 HPLC analiza

Po ekstrakciji smo opravili analizo vsebnosti sekundarnih metabolitov z metodo HPLC (High performance liquid chromatography), ki je tekočinska kromatografija visoke ločljivosti. Pri tej metodi poteka ločitev komponent pod visokim tlakom, s katerim se zagotovi enakomeren pretok. Značilna je hitra in dobra ločljivost snovi ter visoka občutljivost (Kupiec, 2004).

Uporabili smo sistem Surveyor HPLC sistem s PDA detektorjem z nizom fotodiod (Thermo Scientific, San Jose, CA, ZDA). Snovi smo ločili s pomočjo kromatografske kolone Gemini C₁₈ (150 x 4,6 mm; 3 µm; Phenomex, Torrance, CA, ZDA), ki je bila zaščitena s predkolono Phenomex, pri temperaturi 25 °C. Uporabili smo polarno topilo 0,1% mravljične kisline in dvakrat destilirano vodo ter 0,1% mravljične kisline in acetonitril. Količina vzorca, ki smo ga vbrizgali skozi injektor, je bila 20 µl, pri pretoku 0,6 ml/min. Hidroksicimetne kisline smo merili pri valovni dolžini 280 nm, derivate flavonolov pri 350 nm in antocianine pri 530 nm. Postopek je bil prilagojen postopku kot navajajo Wang in sod. (2002).

Fenolne spojine smo identificirali z masnim spektrometrom (Thermo Scientific, LCQ Deca XP MAX) z "electrospray" ionizatorjem z detekcijo pozitivnih (antociani) in negativnih ionov (ostali fenoli). MSⁿ detekcija je potekala v razponu *m/z* od 100 do 1000. Identifikacija fenolov je potekala s primerjavo retenzijskega ali zadrževalnega časa, z upoštevanjem spektralnih lastnosti in z dodajanjem zunanjih standardov, kjer so bili na voljo. Retenzijski čas nam pove, koliko časa se je neka snov zadržala v koloni in kakšne so razmere, pri katerih se snov spere iz kolone. Postopek je bil prilagojen postopku kot navajajo Wang in sod. (2002).

Koncentracijo fenolov smo izračunali iz posameznih vrhov vzorcev in pripadajočih standardov. Pri snoveh, kjer nismo imeli na voljo ustreznih standardov, smo koncentracijo določili z uporabo standardov podobnih snovi in jih izrazili kot ekvivalent le-teh (Preglednica 3). Koncentracijo smo izrazili v miligramih na kilogram sveže mase (mg/kg).

Preglednica 3: Fenolne spojine, ki smo jih izrazili v ekvivalentih standardov podobnih snovi

Snov	mg ekv/kg
Kriptoklorogenska kislina	Klorogenska kislina
Kumarolkininska kislina	<i>p</i> -kumarna
Kempferol-3-rutinozid	Kempferol-glukozid
Cianidin-3-rutinozid	Cianidin-3-galaktozid
Cianidin-3-glukozid	Cianidin-3-galaktozid
Peonidin-3-glukozid	Peonidin-3-galaktozid
Peonidin-3-rutinozid	Peonidin-3-galaktozid
Izoramnatin-3-rutinozid	Izoramnatin-glukozid

Iz preglednice 3 je razvidno, pri katerih fenolih smo vsebnost izrazili v ekvivalentih podobnih snovi. Vsebnost kriptoklorogenske kisline smo izrazili kot ekvivalent klorogenske kisline. Kumarolkininska kislina je derivat *p*-kumarne kisline, zato smo koncentracijo izrazili kot ekvivalent *p*-kumarne kisline. Kempferol-3-rutinozid (kaem-3-

rut) smo izrazili kot ekvivalent kaem-glu ter isorham-3-rut v ekvivalentih isorham-glu. Antociane cianidin-3-rutinozid (cy-3-rut) in cianidin-3-glukozid (cy-3-glu) smo izrazili v ekvivalentih cianidin-3-galaktozid (cy-3-gal), peonidin-3-glukozid (peo-3-glu) in peonidin-3-rutinozid (peo-3-rut) pa v ekvivalentih peonidin-3-galaktozid (peo-3-gal).

Povprečne koncentracije posameznih fenolov, uvrščenih v pripadajočo skupino, smo sešteli in dobili skupino določene fenolne skupine, skupne antociane, skupne fenolne kisline in skupne flavanole. Skupne fenole smo izračunali kot seštevek vsebnosti posameznih skupin fenolov.

3.3.6 Statistična analiza

Podatke smo analizirali s programom Microsoft Excel in R-Commander (R Development Core Team, 2013), kjer smo za ugotavljanje statističnih razlik uporabili analizo variance (ANOVA). Poskus je bil analiziran kot dvofaktorski poskus v slučajnih skupinah s štirimi obravnavanji ('Čačanska lepota', 'President', integrirana pridelava, ekološka pridelava).

Ničelne domneve, ki smo jih postavili:

$H_0: \mu_{\text{ekološka}} = \mu_{\text{integrirana}}$ Povprečna vsebnost fenolnih snovi je pri obeh načinih pridelave enaka.

$H_0: \mu_{\text{Čačanska lepota}} = \mu_{\text{President}}$ Povprečna vsebnost fenolnih snovi je pri obeh sortah enaka.

H_0 : Ni medsebojnega vpliva med načinom pridelave in sorto slive.

V primeru statistično značilne interakcije, smo uporabili Duncanov preizkus pri 95 % zaupanju. V kolikor so se pojavile neenake variance po obravnavanjih, smo podatke transformirali (log-transformacija). Statistično značilne razlike so na grafih in preglednicah označene z različnimi črkami.

4 REZULTATI

4.1 IZBIRA PLODOV ZA ANALIZE SEKUNDARNIH METABOLITOV

Zrelostne parametre smo izmerili na vzorcu 60 plodov (Prilogi A in B) in na osnovi rezultatov izbrali 27 plodov podobne zrelosti za vsako sorto iz integrirane in ekološke pridelave. Iz preglednic 4, 5, 6 in 7 je razvidno, da smo izbrane plodove po tri združili v en vzorec, ki smo mu v nadaljevanju izmerili vsebnost fenolnih spojin.

Preglednica 4: Izbrani vzorci sorte 'Čačanska lepota' iz integrirane pridelave glede na zrelostne parametre

Plod št.	Vzorec	Barva kožice (°)	Barva kožice povprečje	Trdota (N)	Trdota povprečje	Barva mesa (°)	Barva mesa povprečje
4	1	273,6	275,1	1,4	1,5	91,8	91,5
5		274,1		1,5		93,2	
6		277,7		1,6		89,4	
10	2	267,0	268,1	1,2	1,4	90,7	87,0
13		269,6		1,5		89,2	
16		267,7		1,5		81,1	
17	3	272,1	271,3	1,2	1,3	91,4	90,3
19		269,2		1,3		89,6	
21		272,6		1,3		90,0	
23	4	271,0	269,6	1,5	1,5	91,4	87,7
26		270,7		1,5		90,9	
28		267,2		1,5		80,7	
29	5	266,9	266,3	1,4	1,4	91,1	88,8
31		264,8		1,5		90,8	
32		267,1		1,3		84,6	
35	6	266,0	266,5	1,4	1,4	89,1	89,1
36		266,6		1,3		86,0	
37		266,8		1,4		92,2	
40	7	267,3	266,9	1,4	1,4	87,5	89,2
42		264,7		1,5		91,5	
45		268,6		1,3		88,5	
48	8	268,6	268,3	1,5	1,3	91,0	91,0
49		267,6		1,3		90,1	
50		268,6		1,4		91,9	
54	9	264,5	266,8	1,3	1,4	86,4	85,8
56		264,4		1,2		87,4	
57		271,5		1,5		83,5	
Povprečje			268,8		1,4		88,9

Iz preglednice 4 je razvidno, da je bila povprečna vrednost h za kožico izbranih plodov sorte 'Čačanska lepota' iz integrirane pridelave 268,8°, kar pomeni, da je bila barva kožice

temno modra. Povprečna vrednost h za meso je bila $88,9^\circ$, kar pomeni, da je bila v povprečju barva mesa izbranih plodov rumena. Povprečna trdota plodov je bila $1,4\text{ N}$.

Preglednica 5: Izbrani vzorci sorte 'Čačanska lepotica' iz ekološke pridelave glede na zrelostne parametre

Plod št.	Vzorec	Barva kožice ($^\circ$)	Barva kožice povprečje	Trdota (N)	Trdota povprečje	Barva mesa ($^\circ$)	Barva mesa povprečje
1	10	270,2	269,7	1,7	1,6	81,5	83,6
7		270,0		1,8		86,0	
9		268,8		1,4		83,3	
11	11	267,4	267,7	1,7	1,6	86,2	86,1
12		268,4		1,7		86,9	
13		267,4		1,3		85,3	
15	12	269,6	270,8	1,4	1,4	78,7	82,1
16		272,6		1,2		87,7	
18		270,3		1,5		79,9	
24	13	265,0	266,6	1,6	1,5	84,3	82,6
25		266,9		1,5		84,3	
26		267,8		1,3		79,3	
29	14	265,3	267,5	1,3	1,4	88,5	85,0
30		266,2		1,5		80,1	
31		270,9		1,3		86,5	
32	15	268,4	267,9	1,4	1,4	87,2	86,5
36		267,8		1,6		84,6	
38		267,5		1,3		87,8	
39	16	268,6	267,0	1,6	1,4	84,3	84,8
40		267,1		1,4		84,5	
41		265,4		1,3		85,5	
43	17	269,2	268,3	1,4	1,4	90,1	84,7
48		268,6		1,4		82,3	
50		267,0		1,5		81,8	
53	18	268,3	268,4	1,3	1,4	83,4	84,4
54		268,6		1,5		86,3	
58		268,4		1,5		83,4	
Povprečje			268,2		1,5		84,4

Iz preglednice 5 je razvidno, da je bila povprečna vrednost h kože izbranih plodov sorte 'Čačanska lepotica' iz ekološke pridelave $268,2^\circ$, h mesa pa $84,4^\circ$. Prva vrednost pomeni, da je bila barva kože temno modra, barva mesa pa je bila rumena. Povprečna trdota plodov je bila $1,5\text{ N}$.

Če primerjamo rezultate meritev parametrov zrelosti plodov sorte 'Čačanska lepotica' iz integrirane in ekološke pridelave, vidimo, da so povprečne vrednosti izbranih plodov podobne. Razlike so majhne, kar pomeni, da so bili izbrani plodovi iz integrirane pridelave

in ekološke pridelave podobne zrelosti. Dobljene vrednosti se ujemajo s splošnimi lastnostmi tehnološko zrelega ploda te sorte, manjša odstopanja so le pri barvi mesa, kjer smo izmerili rumeno barvo ($h = 84,4^\circ$, $h = 88,9^\circ$), medtem ko drugi avtorji navajajo, da je barva mesa tehnološko zrelega ploda zelenkasta (Mišić, 1989; Štampar in sod., 2009).

Iz preglednice 6 je razvidno, da je bila povprečna vrednost h za barvo kože izbranih plodov sorte 'President' iz integrirane pridelave 304,3 (Preglednica 6). To pomeni, da je bila kožica izbranih plodov modro-vijolične barve. Povprečna vrednost h izbranih plodov za meso je bila 84,5, kar pomeni rumeno-zelena barva. Povprečna trdota izbranih plodov je bila 1,6 N.

Preglednica 6: Izbrani vzorci sorte 'President' iz integrirane pridelave glede na zrelostne parametre

Plod št.	Vzorci	Barva kože ($^\circ$)	Barva kože povprečje	Trdota (N)	Trdota povprečje	Barva mesa ($^\circ$)	Barva mesa povprečje
2	19	298,7	310,3	1,7	1,6	85,2	84,1
3		318,2		1,7		83,3	
4		314,1		1,4		83,8	
5	20	314,5	310,1	1,7	1,6	83,6	84,2
6		318,2		1,5		84,9	
10		297,5		1,6		84,2	
12	21	296,5	297,1	1,5	1,6	85,9	84,4
16		299,8		1,7		81,6	
20		295,1		1,5		85,7	
21	22	306,3	314,3	1,6	1,6	85,9	84,7
22		321,2		1,7		83,9	
23		315,4		1,6		84,4	
24	23	290,0	300,0	1,7	1,6	82,3	86,2
26		298,5		1,6		89,5	
29		311,6		1,5		86,9	
30	24	291,2	295,7	1,6	1,5	82,6	84,0
31		297,2		1,4		85,6	
32		298,8		1,3		83,9	
34	25	309,0	305,6	1,7	1,6	85,7	85,7
37		312,3		1,6		85,0	
38		295,6		1,5		86,3	
39	26	298,7	299,2	1,6	1,6	83,4	84,1
47		304,2		1,4		87,4	
49		294,7		1,6		81,6	
51	27	302,3	305,9	1,6	1,6	83,0	83,1
55		300,9		1,6		83,0	
57		314,4		1,5		83,3	
Povprečje			304,3		1,6		84,5

Iz preglednice 7 je razvidno, da je bila povprečna vrednost h izbranih vzorcev sorte 'President' iz ekološke pridelave za kožico 302,1. To pomeni, da so imeli izbrani plodovi kožico modro-vijolične barve. Povprečna vrednost h izbranih vzorcev za meso je bila 83,4, kar ustreza barvnemu odtenku rumene. Povprečna trdota ploda je bila 1,6 N.

Preglednica 7: Izbrani vzorci sorte 'President' ekološke pridelave glede na zrelostne parametre

Plod št.	Vzorec	Barva kožice (°)	Barva kožice povprečje	Trdota (N)	Trdota povprečje	Barva mesa (°)	Barva mesa povprečje
4	28	310,7	315,0	1,4	1,4	87,0	85,4
7		307,7		1,5		85,2	
13		326,5		1,4		84,0	
17	29	297,3	300,8	1,8	1,7	83,2	83,2
20		301,6		1,8		81,4	
21		303,6		1,6		85,1	
22	30	296,2	292,7	1,3	1,4	81,5	81,4
23		281,2		1,5		76,7	
25		300,6		1,4		86,0	
26	31	299,3	313,0	1,7	1,5	81,6	86,0
31		309,3		1,6		86,8	
32		330,4		1,3		89,5	
34	32	287,7	305,2	1,5	1,4	83,5	84,9
36		317,9		1,4		85,9	
37		310,0		1,4		85,3	
39	33	318,2	301,0	1,7	1,6	84,0	83,4
41		299,1		1,6		85,1	
42		285,7		1,5		81,2	
46	34	281,7	283,3	1,7	1,7	82,5	82,2
47		281,1		1,5		78,3	
49		287,2		1,8		85,8	
50	35	305,1	297,8	1,7	1,7	84,2	78,9
52		286,6		1,8		76,8	
53		301,6		1,5		75,7	
55	36	318,8	310,5	1,5	1,6	88,6	85,4
57		300,5		1,5		84,7	
59		312,2		1,6		82,8	
Povprečje			302,1	1,4	1,6		83,4

Dobljene vrednosti meritev zrelostnih parametrov sorte 'President' iz integrirane pridelave (IP) in ekološke pridelave (EP) so bile podobne, razlike med njima so bile majhne. To kaže, da so bili izbrani plodovi iz IP in EP podobne zrelosti. Dobljene vrednosti se ujemajo s splošnimi lastnostmi tehnološko zrelega ploda te sorte.

4.2 SKUPINE FENOLOV IN SKUPNI FENOLI

V plodovih sort 'Čačanska lepotica' in 'President' smo določili spojine iz naslednjih skupin fenolov: fenolne kisline, antociane in flavonole. Seštevke vsebnosti vseh fenolov smo prikazali kot skupne fenole (Preglednica 8). Na podlagi seštevka povprečne vsebnosti posameznih fenolnih spojin iz skupine smo izračunali skupno vsebnost skupin fenolov (Preglednica 8).

Preglednica 8: Povprečna vsebnost skupnih fenolov (mg/kg sveže mase) in standardna napaka (st.napaka) glede na način pridelave (EP - ekološka pridelava in IP - integrirana pridelava) pri sortah 'Čačanska lepotica' in 'President'

Sorta	Pridelava	Sekundarni metaboliti	Povprečje in st.napaka	Homogenost skupin
'Čačanska lepotica'	EP	Skupni fenoli	577,74 ± 25,60	a
	IP		330,39 ± 25,95	c
'President'	EP		471,85 ± 16,03	b
	IP		420,81 ± 10,77	b

Opomba: Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) med sortama in med pridelavama.

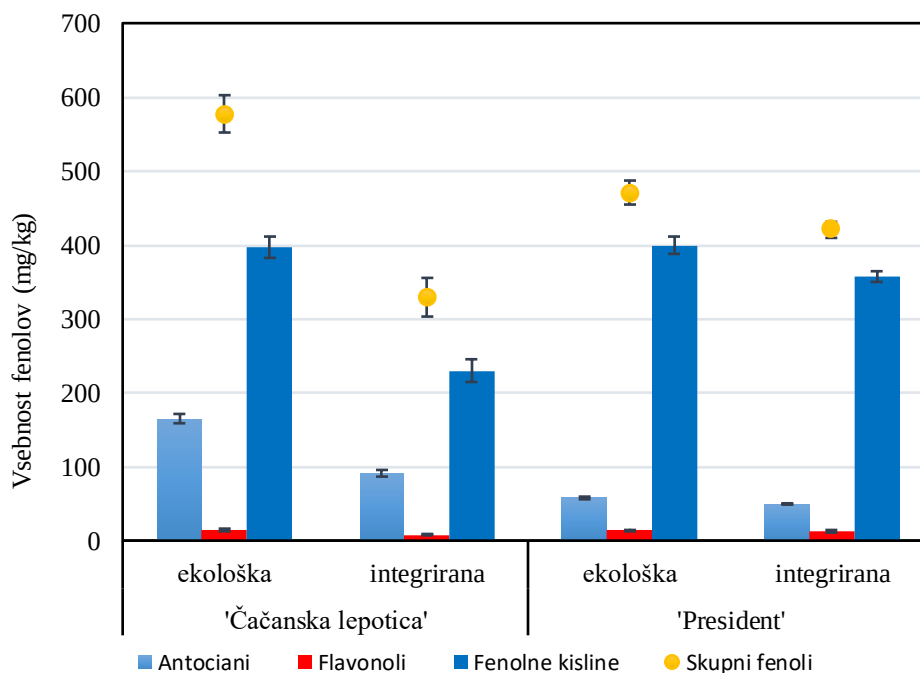
Na vsebnost skupnih fenolov je značilno vplivala interakcija med pridelavo in sorto (Priloga C1). Pri obeh sortah je bila vsebnost skupnih fenolov večja v ekološki pridelavi (EP), vendar so bile razlike med pridelavama statistično značilne le pri sorti 'Čačanska lepotica' (Preglednica 8). Plodovi sorte 'Čačanska lepotica' iz ekološke pridelave so imeli bistveno večjo vsebnost skupnih fenolov, kot plodovi iz integrirane pridelave (IP). Značilnih razlik med sortama ni bilo (Priloga C1).

Preglednica 9: Povprečna vsebnost posameznih skupin fenolov (mg/kg sveže mase) in standardna napaka (st.napaka) glede na način pridelave (EP - ekološka pridelava in IP - integrirana pridelava) pri sortah 'Čačanska lepotica' in 'President'

Sorta	Pridelava	Sekundarni metaboliti	Povprečje in st.napaka	Homogenost skupin
'Čačanska lepotica'	EP	Fenolne kisline	397,36 ± 14,54	a
	IP		230,40 ± 14,96	c
'President'	EP		399,40 ± 11,72	a
	IP		358,20 ± 6,86	b
'Čačanska lepotica'	EP	Antociani	165,43 ± 5,60	a
	IP		91,50 ± 3,89	b
'President'	EP		58,25 ± 2,47	c
	IP		49,45 ± 0,97	c
'Čačanska lepotica'	EP	Flavonoli	14,95 ± 1,18	a
	IP		8,49 ± 0,71	b
'President'	EP		14,20 ± 1,57	a
	IP		13,16 ± 1,56	a

Opomba: Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) med sortama in med pridelavama.

Iz slike 10 je razvidno, da imajo plodovi sliv v povprečju največ fenolnih kislin ('Čačanska lepota' 69%, 'President' 85%), sledijo jim antociani ('Čačanska lepota' 28%, 'President' 12%) in flavonoli ('Čačanska lepota' in 'President' 3%). Plodovi sliv obeh sort iz ekološke pridelave imajo več skupnih fenolov kot plodovi iz integrirane pridelave. Razlika med načinoma pridelave je pri sorti 'Čačanska lepota' velika, pri sorti 'President' pa majhna.



Slika 10: Povprečne vsebnosti fenolnih skupin in skupnih fenolov

Na vsebnost skupnih fenolnih kislin sta značilno vplivala sorta in način pridelave (Slika 10). Interakcija med njima je bila statistično značilna (Priloga C2). Pri obeh sortah je bila vsebnost skupnih fenolnih kislin večja pri EP, razlika med načinoma pridelave je bila večja pri sorti 'Čačanska lepota' (Preglednica 9). Najmanj skupnih fenolnih kislin smo izmerili v plodovih 'Čačanska lepota' iz integrirane pridelave. V povprečju so imeli plodovi sorte 'President' več skupnih fenolnih kislin kot plodovi 'Čačanska lepota'.

Na vsebnost skupnih antocianov sta vplivala sorta in pridelava, interakcija med njima je bila statistično značilna (Priloga C3). Iz preglednice 9 je razvidno, da so bile pri sorti 'Čačanska lepota' velike razlike med EP in IP. Statistično značilno večja vsebnost antocianov je bila izmerjena pri EP. Pri sorti 'President' statistično značilnih razlik med EP in IP v vsebnosti skupnih antocianov ni bilo. Plodovi sorte 'Čačanska lepota' so imeli večjo vsebnost antocianov kot plodovi 'President'.

Interakcija med sorto in pridelavo je glede vsebnosti skupnih flavonolov statistično značilna (Priloga C4). V povprečju so imeli plodovi EP več skupnih flavonolov kot plodovi IP (Preglednica 9). Razlika med EP in IP pri sorti 'President' ni bila značilna, medtem ko so bile značilne razlike v pridelavi pri sorti 'Čačanska lepota'. Največ skupnih flavonolov smo izmerili v plodovih sorte 'Čačanska lepota' iz EP. Značilnih razlik med sortama ni bilo (Priloga C4).

4.3 FENOLNE KISLINE

V plodovih sliv sort 'Čačanska lepotica' in 'President' smo določili naslednje fenolne kisline: neoklorogenska kislina, klorogenska kislina, kumarolkininska kislina in kriptoklorogenska kislina. V preglednici 10 so prikazane razlike v povprečni koncentraciji posameznih fenolnih kislin med sortama in med EP in IP.

Preglednica 10: Povprečna vsebnost fenolnih kislin (mg/kg sveže mase) in standardna napaka (st. napaka) glede na način pridelave pri sortah 'Čačanska lepotica' in 'President'

Sorta	Pridelava	Fenolne kisline	Povprečje in st. napaka	Homogenost skupin
'Čačanska lepotica'	EP	Neoklorogenska kislina	302,81 ± 8,95	b
	IP		178,51 ± 12,59	c
'President'	EP		338,46 ± 8,64	a
	IP		306,82 ± 5,67	b
'Čačanska lepotica'	EP	Klorogenska kislina	80,80 ± 5,94	a
	IP		44,42 ± 2,43	b
'President'	EP		39,40 ± 2,55	bc
	IP		33,19 ± 0,98	c
'Čačanska lepotica'	EP	Kumarolkininska kislina	8,13 ± 0,44	b
	IP		4,60 ± 0,32	c
'President'	EP		14,06 ± 1,68	a
	IP		13,34 ± 0,51	a
'Čačanska lepotica'	EP	Kriptoklorogenska kislina	5,61 ± 1,34	a
	IP		2,87 ± 0,96	b
'President'	EP		6,20 ± 0,60	a
	IP		4,85 ± 0,29	ab

Opomba: Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) v vsebnosti fenolnih kislin med sortama in pridelavo

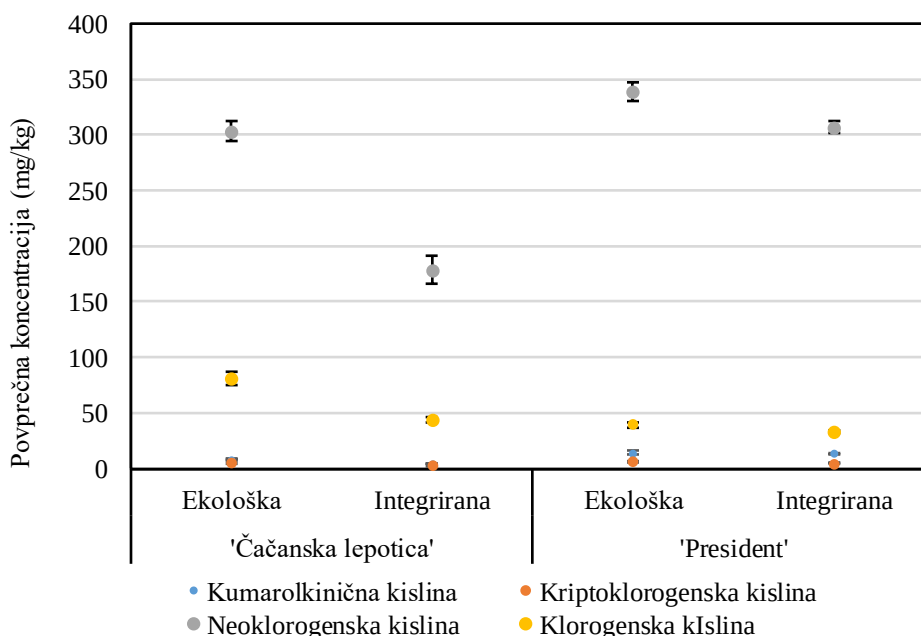
Na vsebnost neoklorogenske kisline značilno vplivata sorta in pridelava (priloga C5), njuna interakcija je statistično značilna. Iz preglednice 10 je razvidno, da imajo slive iz ekološke pridelave obeh sort značilno večjo vsebnost neoklorogenske kisline kot IP slive, ta razlika pa je največja pri sorti 'Čačanska lepotica'. Največjo vsebnost neoklorogenske kisline smo izmerili v plodovih 'President' iz EP, najmanjšo pa pri IP sorte 'Čačanska lepotica'.

Na vsebnost klorogenske kisline značilno vplivata sorta in pridelava, interakcija med njima je statistično značilna (Priloga C6). Iz preglednice 10 je razvidno, da ima sorta 'Čačanska lepotica' v povprečju večjo vsebnost klorogenske kisline kot sorta 'President'. Prav tako imamo značilne razlike v pridelavi (Priloga C6), kjer je razvidno, da EP da večjo vsebnost klorogenske kisline kot IP. Vendar so značilne razlike le pri sorti 'Čačanska lepotica', pri sorti 'President' značilnih razlik v pridelavi ni. Najmanjšo vsebnost klorogenske kisline smo izmerili v plodovih 'President' iz IP, največjo pa pri sorti 'Čačanska lepotica' iz EP.

Kumarolkininska kislina je odvisna od sorte in pridelave, interakcija med njima ni statistično značilna (Priloga C7). Iz preglednice 10 je razvidno, da ima sorta 'President' bistveno večjo vsebnost kumarolkininske kisline kot sorta 'Čačanska lepatica' (Priloga C7). Obstajajo tudi statistično značilne razlike v povprečni vsebnosti kumarolkininske kisline v pridelavi (Priloga C7), kjer da EP v povprečju več kumarolkininske kisline kot IP pri sorti 'Čačanska lepatica'. Največjo vsebnost kumarolkininske kisline smo izmerili pri sorti 'President' iz EP in najmanjšo pri sorti 'Čačanska lepatica' iz IP.

Interakcija med pridelavo in sorto v vsebnosti kriptoklorogenske kisline ni statistično značilna (Priloga C8), kar pomeni, da je način pridelave pri obeh sortah vplival na enak način. Iz preglednice 10 je razvidno, da je bila večja vsebnost kriptoklorogenske kisline izmerjena pri slivah EP, razlika pa je bila značilna le pri sorti 'Čačanska lepatica'. Med sortama pa značilnih razlik ni, čeprav je imela sorta 'President' v povprečju večjo vsebnost kriptoklorogenske kisline (Priloga C8).

Iz slike 11 je razvidno, da je neoklorogenska kislina zastopana v večjih količinah, medtem ko je klorogenske kisline, kumarolkininske kisline in kriptoklorogenske kisline manj. Največ je neoklorogenske kisline, ki pri sorti 'Čačanska lepatica' predstavlja kar 76% (EP) in 77% (IP) vseh fenolnih kislin. Relativni delež neoklorogenske kisline pri sorti 'President' je 85%, pri obeh načinih pridelave enako.



Slika 11: Povprečna vsebnost posameznih fenolnih kislin v plodovih opazovanih sort različnih načinov pridelave

4.4 ANTOCIANI

V plodovih sliv sorte 'Čačanska lepatica' in 'President' smo določali naslednje antociane: cianidin-3-glukozid (cy-3-glu), cianidin-3-rutinozid (cy-3-rut), peonidin-3-glukozid (peo-

3-glu) in peonidin-3-rutinozid (peo-3-rut). Povprečne vsebnosti posameznih antocianov in statistično značilne razlike med sorto in pridelavo so prikazane v preglednici 11.

Preglednica 11: Povprečna vsebnost posameznega antociana (mg/kg sveže mase) in standardna napaka (st. napaka) glede na način pridelave (ekološki in integriran) pri sortah 'Čačanska lepotica' in 'President'

Sorta	Pridelava	Antociani	Povprečje in st. napaka	Homogenost skupin
'Čačanska lepotica'	EP	Cy-3-glu	56,59 ± 5,60	a
	IP		21,00 ± 3,89	b
'President'	EP		11,31 ± 2,47	bc
	IP		7,18 ± 0,97	c
'Čačanska lepotica'	EP	Cy-3-rut	77,53 ± 4,56	a
	IP		47,32 ± 7,61	b
'President'	EP		42,88 ± 3,44	b
	IP		38,68 ± 3,86	b
'Čačanska lepotica'	EP	Peo-3-glu	9,35 ± 0,73	a
	IP		6,23 ± 0,58	a
'President'	EP		0,90 ± 0,14	b
	IP		0,71 ± 0,12	b
'Čačanska lepotica'	EP	Peo-3-rut	21,97 ± 1,30	a
	IP		16,95 ± 2,24	b
'President'	EP		3,15 ± 0,25	c
	IP		2,88 ± 0,16	c

Opomba: Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) v vsebnosti fenolnih kislin med sortama in pridelavo

Na vsebnost cy-3-glu imata vpliv sorta in pridelava, interakcija je bila statistično značilna (Priloga C9). EP slive imajo večjo vsebnost cy-3-glu kot IP slive, razlike so statistično značilne le pri sorti 'Čačanska lepotica'. Sorta 'Čačanska lepotica' ima v povprečju več cy-3-glu kot sorta 'President' (Preglednica 11).

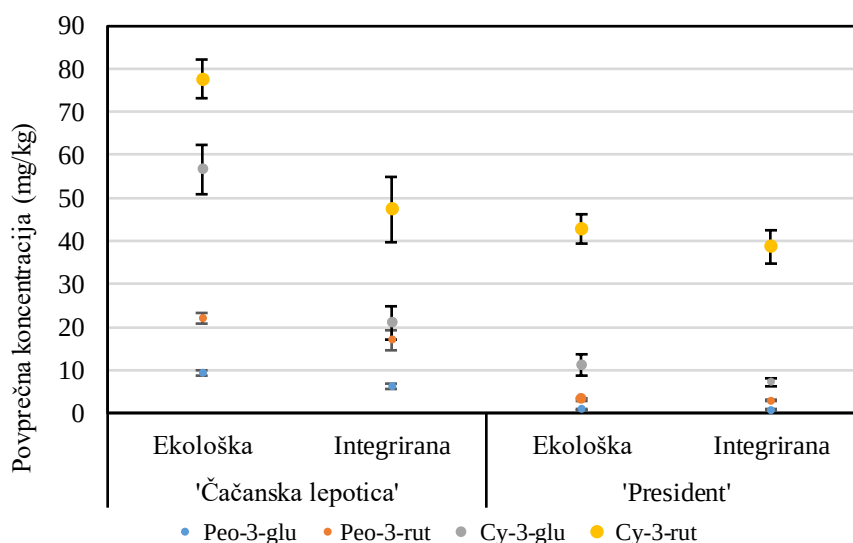
Vsebnost cy-3-rut je odvisna od interakcije med pridelavo in sorto (Priloga C10). Slive iz EP imajo v povprečju večjo vsebnosti cy-3-rut kot slive iz IP, vendar so statistično značilne razlike le pri sorti 'Čačanska lepotica'. Sorta 'Čačanska lepotica' ima večjo vsebnost cy-3-rut kot sorta 'President'. Iz preglednice 11 je razvidno, da sorta 'Čačanska lepotica' iz EP odstopa po vsebnosti cy-3-rut, saj vsebuje približno 40% več cy-3-rut kot ostale preučevane slive.

Na vsebnost peo-3-glu je vplivala sorta (Priloga C11). Med sortama so statistično značilne razlike v povprečni vsebnosti peo-3-glu (Priloga C11), več v plodovih sorte 'Čačanska lepotica'.

Na vsebnost peo-3-rut vplivata sorta in pridelava. Interakcija med pridelavo in sorto ni bila statistično značilna (Priloga C12). Iz preglednice 11 je razvidno, da sorta 'Čačanska

lepotica' v povprečju vsebuje bistveno več antociana peo-3-rut kot sorta 'President'. V povprečju imajo slive iz EP večjo vsebnost peo-3-rut kot slive iz IP, vendar so razlike značilne le pri sorti 'Čačanska leptotica'.

Iz slike 12 je razvidno, da vsebujejo plodovi sliv največ cy-3-rut, najmanj pa peo-3-glu. Vidne so velike razlike med sortama, kjer ima 'Čačanska leptotica' v povprečju več antocianov ne glede na način pridelave. Glavni antocian pri obeh sortah je cy-3-rut, ki pri 'Čačanski leptotici' predstavlja približno 50% vseh izmerjenih antocianov, pri sorti 'President' pa več kot 70%, sledi mu cy-3-glu.



Slika 12: Povprečna vsebnost posameznih antocianov v plodovih slive opazovanih sort različnih načinov pridelave

4.5 FLAVONOLI

V plodovih sliv sorte 'Čačanska leptotica' in 'President' smo določili naslednje flavonole: kvercetin-3-galaktozid (Q-3-gal), kvercetin-3-glukozid (Q-3-glu), kempferol-3-rutinozid (kaem-3-rut), izoramnetin-3-rutinozid (isorham-3-rut) in kvercetin-3-rutinozid (rutin). Povprečne vsebnosti flavonolov in statističen značilen vpliv sorte in pridelave so prikazane v preglednici 12.

Na vsebnost Q-3-gal imata vpliv pridelava in sorta, njuna interakcija je bila statistično značilna (Priloga C13). Obstajajo statistično značilne razlike v povprečni koncentraciji Q-3-gal v načinu pridelave (Priloga C13), vendar le pri sorti 'Čačanska leptotica', kjer smo izmerili večjo vsebnost pri EP. Pri sorti 'President' razlike niso bile statistično značilne, IP plodovi so imeli nekoliko večjo vsebnost Q-3-gal kot EP plodovi. Med sortama 'Čačanska leptotica' in 'President' ni bilo značilnih razlik v povprečni vsebnosti Q-3-gal.

Vsebnost Q-3-glu je odvisna od sorte in pridelave, njuna interakcija je bila statistično značilna (Priloga C14). Plodovi iz EP imajo v povprečju več Q-3-glu kot plodovi IP, razlike so značilne le pri sorti 'Čačanska leptotica'. Obstajajo tudi statistično značilne

razlike v povprečni vsebnosti Q-3-glu med sortama (Priloga C14), 'Čačanska lepotica' več kot 'President'.

Preglednica 12: Povprečna vsebnost flavonolov (mg/kg sveže mase) in standardna napaka (st. napaka) glede na način pridelave pri sortah 'Čačanska lepotica' in 'President'

Sorta	Pridelava	Flavonoli	Povprečje in st. napaka	Homogenost skupin
'Čačanska lepotica'	EP	Q-3-gal	3,02 ± 0,31	a
	IP		1,42 ± 0,13	b
'President'	EP		2,05 ± 0,33	b
	IP		2,14 ± 0,35	b
'Čačanska lepotica'	EP	Q-3-glu	2,58 ± 0,23	a
	IP		1,26 ± 0,11	b
'President'	EP		1,28 ± 0,20	b
	IP		0,98 ± 0,11	b
'Čačanska lepotica'	EP	Kaem-3-rut	0,82 ± 0,05	a
	IP		0,53 ± 0,03	b
'President'	EP		0,48 ± 0,06	b
	IP		0,42 ± 0,05	b
'Čačanska lepotica'	EP	Isorham-3-rut	0,42 ± 0,02	a
	IP		0,34 ± 0,02	b
'President'	EP		0,31 ± 0,03	b
	IP		0,33 ± 0,03	b
'Čačanska lepotica'	EP	Rutin	8,12 ± 0,67	a
	IP		4,94 ± 0,43	b
'President'	EP		10,08 ± 1,05	a
	IP		9,29 ± 1,07	a

Opomba: Različne črke označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) v vsebnosti flavonolov med sortama in pridelavo

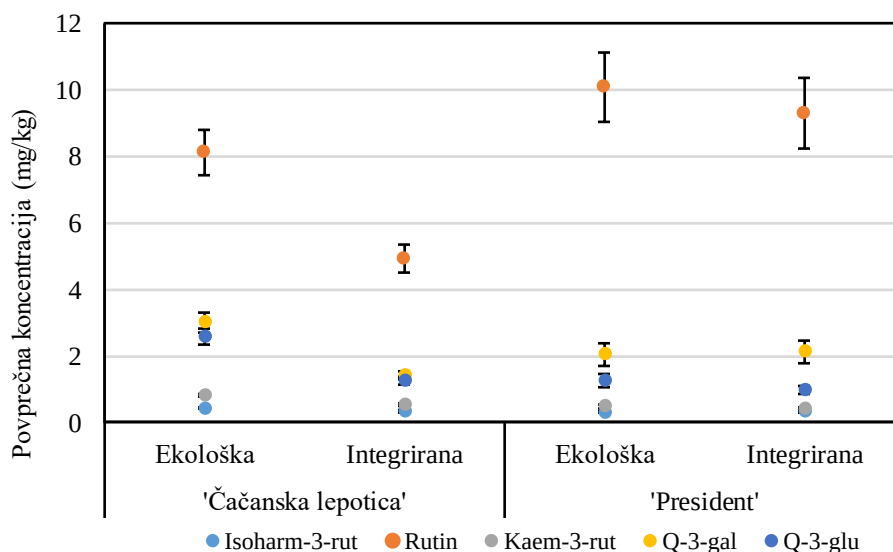
Na vsebnost kaem-3-rut je vplivala interakcija med sorto in pridelavo (Priloga C15). V povprečju imajo slive iz EP večjo vsebnost kaem-3-rut kot slive iz IP. Značilne razlike v pridelavi so le pri sorti 'Čačanska lepotica', pri sorti 'President' razlik ni. Plodovi sorte 'Čačanska lepotica' imajo v povprečju večjo vsebnost kam-3-rut kot plodovi sorte 'President'. Po vsebnosti Q-3-gal izstopa 'Čačanska lepotica' iz ekološke pridelave, saj med ostalimi proučevanimi slivami ni bilo značilnih razlik. Najmanjšo vsebnost kaem-3-rut pa smo izmerili pri sorti 'President' iz IP.

Na vsebnost isorham-3-rut je značilno vplivala sorta (Priloga C16), interakcija ni bila značilna. Plodovi sorte 'Čačanska lepotica' imajo v povprečju več isorham-3-rut kot 'President' (Preglednica 12). Več isorham-3-rut so imeli plodovi EP sorte 'Čačanska lepotica', pri sorti 'President' pa ni bilo razlik.

Vsebnost rutina je odvisna od sorte in pridelave, interakcija ni statistično značilna (Priloga C17). Slive, pridelane na ekološki način, imajo v povprečju več rutina kot slive, pridelane na integriran način. Statistično značilne razlike v pridelavi so le pri sorti 'Čačanska

lepotica'. Plodovi sorte 'President' imajo v povprečju večjo vsebnost rutina kot plodovi sorte 'Čačanska leptotica' (Preglednica 12). Največ rutina smo izmerili pri sorti 'President' iz EP, najmanj pa pri sorti 'Čačanska leptotica' iz IP.

Iz slike 13 je razvidno, da vsebujejo plodovi sort 'Čačanska leptotica' in 'President' največ rutina, ostali flavonoli pa so prisotni v manjših koncentracijah. Delež rutina predstavlja pri sorti 'Čačanska leptotica' več kot 50%, medtem ko pri sorti 'President' ta delež znaša 71%.



Slika 13: Povprečna koncentracija posameznih flavonolov v plodovih opazovanih sort različnih načinov pridelave

5 RAZPRAVA

V poskusu smo ugotavljali vpliv načina pridelave (ekološka ali integrirana pridelava) na vsebnost sekundarnih metabolitov v plodovih dveh sort slive: 'Čačanska lepatica' in 'President'. Ker ima zrelost plodov velik vpliv na vsebnost sekundarnih metabolitov, smo meritve opravili v plodovih enake zrelosti. Iz vzorca 60 plodov smo na podlagi vrednosti zrelostnih spremenljivk izbrali 27 plodov enake zrelosti. Namen raziskave je bil ugotoviti, ali imajo plodovi dveh sort slive, pridelani na ekološki način, večjo vsebnost sekundarnih metabolitov kot plodovi iz integrirane pridelave.

5.1 'ČAČANSKA LEPATICA'

5.1.1 Skupna vsebnost fenolov

V poskusu smo ugotovili, da imajo plodovi sorte 'Čačanska lepatica' iz EP bistveno večjo vsebnost skupnih fenolov kot plodovi iz IP. Plodovi iz EP so imeli tudi večjo vsebnost ostalih sekundarnih metabolitov (antociani, fenolne kisline in flavonoli). Razlike v pridelavi so bile za skoraj 50% v prid EP. Kot vemo, so pri EP omejitve pri uporabi gnojil, saj morajo uporabljati gnojila naravnega izvora, ta pa so rastlini težje dostopna kot lahkotopna gnojila. Ogljikovo/hranilna teorija, rastni dejavnik in hipoteza o ravnotežju rast/diferenciacija pravijo, da sta posledica lahke dostopnosti hranil povečana rast in biomasa ter hiter razvoj rastline in zmanjšano premeščanja virov k produkciji ogljikovih spojin kot so celuloza in škrob in sinteze sekundarnih metabolitov (Chassy in sod., 2006). Tudi Toor in sod. (2006) so ugotovili, da so rastline, gnojene z organskimi gnojili, imele večjo vsebnost sekundarnih metabolitov kot tiste, gnojene z lahkotopnimi hranili. V proučevanju letu se sliv iz EP ni niti gnojilo, kar pomeni, da so imele rastline še manj dostopnih hranil na voljo in so bile tudi zaradi tega v večjem stresu kot sicer.

Poleg načina pridelave so na razlike med EP in IP v vsebnosti sekundarnih metabolitov verjetno vplivale tudi vremenske razmere. 'Čačanska lepatica' iz EP je bila obrana 6. avgusta, v obdobju vročinskega vala (T_{povp} 27,5 °C, T_{max} 36,1 °C). Ob pomanjkanju padavin, sončnem vremenu in ekstremno visokih temperaturah, se je razvila suša. Slive iz IP so bile obrane 14 dni kasneje, ko so bile temperature nižje (T_{povp} 21,4 °C, T_{max} 28,8 °C). Kljub temu, da so bila drevesa pri obeh načinih pridelave namakana, so bila EP drevesa v večjem stresu kot tista iz IP, saj rastline v primeru visokih temperatur zaprejo listne reže in je zato sprejem vode v rastlino zmanjšan ali celo prekinjen. To pomeni, da so bile EP slive ob obiranju verjetno v večjem stresu kot IP navkljub namakanju.

Slive iz EP so imele tudi več fenolnih kislin kot slive iz IP. Vemo tudi, da se fenolne kisline sintetizirajo kot odgovor na okužbo, in če upoštevamo dejstvo, da so bile EP slive bolj izpostavljene okužbam in napadom škodljivcev, saj je v EP omejeno tudi varstvo pred boleznimi in škodljivci, oziroma morajo biti uporabljena fitofarmacevtska sredstva naravnega izvora. V proučevanju letu se ni izvajalo varstvo rastlin, verjetno zato, ker ni bilo potrebe. Možno pa je tudi, da je razlog v povečani vsebnosti tudi v okužbi s patogeni ali poškodbami s strani škodljivcev oz. obojega, čeprav so bili analizirani le izenačeni plodovi brez kakršnihkoli poškodb ali deformacij.

Chassy in sod. (2006) so v triletni raziskavi primerjali vsebnost antioksidativnih spojin pri ekoloških in konvencionalno pridelanih paradižnikih in feferonih. Ugotovili so, da ima proučevano leto velik vpliv na končne rezultate. Primer: v letu 2003 so imeli ekološki paradižniki večjo vsebnost kvercetina, v letih 2004 in 2005 pa statistično značilnih razlik ni bilo, kar je vplivalo tudi na končne vrednosti skupnih fenolov. Večja izpostavljenost sončni svetlobi ima vpliv na večjo vsebnost askorbinske kisline in kvercetina. Pri feferonih so opazili manjši vpliv okoljskih dejavnikov in pridelave na vsebnost antioksidativnih spojin.

5.1.2 Fenolne kisline

Največji delež fenolnih kislin je imela neoklorogenska kislina, kar se ujema tudi z ugotovitvami drugega avtorja (Usenik in sod., 2012). Poleg neoklorogenske kisline smo izmerili še klorogensko kislino in kumarolkininsko ter kriptoklorogensko kislino, ki sta bili zastopani v manjših koncentracijah.

Pri sorti 'Čačanska lepota' so bile značilne razlike med EP in IP. Ekološko pridelane slive so imele večjo vsebnost vseh proučevanih fenolnih kislin. Vzroke temu lahko, poleg stresnih razmer v času dozorevanja in obiranja, kot je bilo že prej omenjeno, pripišemo tudi omejeni uporabi fitofarmacevtskih sredstev v EP. V EP se lahko uporabljajo sredstva za varstvo rastlin, vendar le tista, ki so naravnega izvora. V našem primeru se v proučevanem letu tovrstnih sredstev v EP ni uporabilo. To dejstvo lahko pomeni tudi možnost, da je pri sorti 'Čačanska lepota' prišlo do okužb, proti katerim se je rastlina branila s povečano sintezo fenolnih kislin. Znano je namreč, da rastline fenolne kisline sintetizirajo kot odgovor na okužbo. Stacewicz-Sapuntzakis in sod. (2001) navajajo, da slive, okužene z glivo *Taphrina pruni* (rožičavost češpelj), vsebujejo 15-krat več fenolnih kislin (klorogenska, neoklorogenska in kriptoklorogenska kislina), verjetno kot odgovor na encime glive.

Raziskave so pokazale večjo vsebnost fenolov v sadju, predvsem klorogenske kisline, kot posledica poškodb s strani mikroorganizmov. Znano je namreč, da poškodba tkiva aktivira nekatere encime, kot je PPO. Takemu pojavu rečemo hipersenzibilna reakcija gostiteljskega tkiva, ki predstavlja prepreko za širjenje okužbe (Lombardi-Boccia in sod., 2004).

5.1.3 Antociani

V poskusu smo določili in merili naslednje antociane: cy-3-glu, cy-3-rut, peo-3-glu in peo-3-rut. Glavni antocian v plodovih sorte 'Čačanska lepota' je bil cy-3-rut, sledili so cy-3-glu, peo-3-rut in najmanj peo-3-glu. Naši rezultati se z rezultati drugih avtorjev (Usenik in sod., 2009) ujemajo delno, saj smo v povprečju izmerili manjše vsebnosti peo-3-rut (1,7-2,2 mg/100 g) in pa večje vsebnosti peo-3-glu (0,6-0,9 mg/100 g) kot pri omenjenem viru (peo-3-rut 2,2-6,1 mg/100 g, peo-3-glu 0,19 mg/100 g). Do razhajanj je prišlo zaradi različne metodologije. Usenik in sod. (2009) so proučevali vsebnost antocianov na sortah

'Jojo', 'Valor', 'Čačanska rodna' in 'Čačanska najbolja', tako da lahko vzrok za razlike pripišemo tudi genotipskim posebnostim.

Pri določanju zrelostnih parametrov smo merili tudi barvo kože. Plodovi sorte 'Čačanska lepatica' so imeli v povprečju večjo vsebnost antocianov kot plodovi sorte 'President', kar se je videlo tudi pri merjenju s kolorimetrom. Kožici plodov sorte 'Čačanska lepatica' smo v povprečju izmerili manjše vrednosti h , kar pomeni, da je bila kožica temnejše obarvana kot kožica sorte 'President'. Pri sorti 'Čačanska lepatica' sta bila cy-3-glu in cy-3-rut zastopana v večjih koncentracijah, oba v podobnih deležih. Peo-3-rut in peo-3-glu sta bila v plodovih sorte 'Čačanska lepatica' zastopana v manjših količinah, kljub vsemu pa v večjih deležih kot pri sorti 'President'.

Ugotovili smo, da so imeli EP plodovi sorte 'Čačanska lepatica' v povprečju večjo vsebnost antocianov kot IP plodovi. Antociani oz. sekundarni metaboliti v plodovih se sintetizirajo kot zaščita pred sončno svetlobo, in v stresnih razmerah (okužbe, vremenske razmere, ...), poleg tega pa je bilo pri sorti 'Čačanska lepatica' iz EP bistveno manj plodov na drevo in tudi ti so bili bolj izpostavljeni sočni svetlobi kot IP plodovi. Sončna svetloba vpliva na povečano sintezo antocianov, kar so ugotovili tudi Mikulič Petkovšek in sod. (2012) pri EP in IP jabolkah.

5.1.4 Flavonoli

Rutin je od izmerjenih flavonolov v plodovih sliv prisoten v največjem deležu, kar se ujema tudi z ugotovitvami drugih avtorjev (Chun in sod., 2003; Slimestad in sod., 2009). Usenik in sod. (2012) so merili vsebnost fenolov v mesu in kožici plodov slive. Ugotovili so, da je rutina več v kožici (15 – 29 %) kot v mesu (0,003 - 0,006 %) plodov. Način pridelave je značilno vplival na vsebnosti flavonolov (Preglednica 11). Ekološko pridelani plodovi so imeli v povprečju več posameznih flavonolov kot IP plodovi. Zanimivo je tudi to, da so imeli EP plodovi 'Čačanska lepatica' več kvercetinov. EP slive so bile namreč izpostavljene večjemu sončnemu obsevanju kot IP, vemo pa, da se tvorijo večje količine kvercetina ob večji izpostavljenosti sočni svetlobi (Chassy in sod., 2006).

5.2 'PRESIDENT'

5.2.1 Skupna vsebnost fenolov

V poskusu smo ugotovili, da imajo plodovi sorte 'President' iz EP v povprečju večjo vsebnost skupnih fenolov kot IP plodovi, vendar razlike med EP in IP niso bile statistično značilne. Veberič in sod. (2005) so v poskusu, kjer so primerjali vsebnost fenolov pri jabolkah v EP in IP, ugotovili, da imajo EP jabolka več skupnih fenolov. EP jabolka so imela več skupnih fenolov v kožici ploda, čeprav ni bilo značilnih razlik med ekološko in integrirano pridelavo. Slive 'President' iz EP so imele v povprečju večjo vsebnost skupnih fenolnih kislin, skupnih antocianov in skupnih flavonolov, vendar so bile razlike statistično značilne le za skupino fenolnih kislin. EP slive 'President' so imele več fenolnih kislin kot IP. Sorta 'President' je bila v poskus vključena kot pozna sorta slive. Za razliko od sorte

'Čačanska lepotică', ki je dozorevala v stresnih razmerah visokega poletja, so plodovi sorte 'President' zoreli v jeseni, ko so bile temperature nižje (T_{povp} 14,7 °C, T_{max} 20,2 °C), kar pomeni, da je bila ta sorta v manjšem stresu kot 'Čačanska lepotică', še posebej tista iz EP. Tudi plodovi niso bili izpostavljeni tolikšnemu sončnemu obsevanju, kot so bili plodovi sorte 'Čačanska lepotică'. Vse to je, poleg genetske raznovrstnosti, verjetno vzrok, da smo izmerili manjšo vsebnost fenolnih spojin kot pri sorti 'Čačanska lepotică'. Tukaj gre razlika predvsem na račun antocianov, ki so bili pri sorti 'Čačanska lepotică' prisotni v bistveno večjih količinah kot pri sorti 'President'.

5.2.2 Fenolne kisline

Največji delež izmerjenih fenolnih kislin predstavlja neoklorogenska kislina, sledijo klorogenska, kumarolkininska in kriptoklorogenska kislina. Neoklorogenska kislina je pri sorti 'President' predstavljala kar 85% vseh fenolnih kislin ne glede na način pridelave, pri sorti 'Čačanska lepotică' pa je neoklorogenska kislina predstavljala približno 77% vseh fenolnih kislin. V povprečju so imele EP slive sorte 'President' več fenolnih kislin kot IP slive, vendar so bile razlike statistično značilne le za neoklorogensko kislino. Vzrok lahko pripišemo morebitnim okužbam, saj se fenolne kisline sintetizirajo v večjih količinah kot odgovor na okužbo, poleg tega pa, kot smo že prej omenili, so se plodovi sorte 'President' razvijali v manj stresnih razmerah kot plodovi sorte 'Čačanska lepotică'.

5.2.3 Antociani

Pri sorti 'President' smo izmerili naslednje antociane: cy-3-rut, cy-3-glu, peo-3-glu in peo-3-rut, kar se ujema z ugotovitvami avtorja Treuter in sod. (2012). V povprečju so imele EP slive večjo vsebnost posameznih antocianov kot slive iz IP, vendar med njimi ni bilo statistično značilnih razlik. Kožica plodov 'President' je v svetlejših odtenkih kot kožica sorte 'Čačanska lepotică', čemur lahko pripišemo vzrok za različna razmerja med posameznimi antociani. 'President' je imel večje razmerje med cy-3-rut in cy-3-glu (IP: 1:5,4 in EP: 1:3,8), medtem ko je pri sorti 'Čačanska lepotică' bilo to razmerje manjše (EP: 1:1,4 in IP: 1:2,3). Obstajala naj bi močna povezava med odtenkom rdeče barve in cy-3-rut pri češnji (Usenik in sod., 2009)

5.2.4 Flavonoli

V plodovih smo izmerili naslednje flavonole, ki si sledijo od večje k manjši vsebnosti: rutin, Q-3-gal, Q-3-glu, kaem-3-rut in isoharm-3-rut. Pri sorti 'President' ni bilo značilnih razlik glede na način pridelave. Rutin je najbolj zastopan flavonol v slivi (71% pri obeh načinih pridelave), kar se ujema z navedbami drugih avtorjev (Slimestad in sod., 2009, Chun in sod., 2003). Kljub temu slive 'President' iz ekološke pridelave nimajo značilno večje vsebnosti flavonolov kot IP slive, saj ti predstavljajo 3% skupnih fenolov (EP in IP).

5.3 RAZLIKE MED SORTAMA

Pomološke lastnosti proučevanih sort 'Čačanska lepotica' in 'President' se razlikujejo. Sorta 'President' ima rdečevijolično barvo kože, plodovi sorte 'Čačanska lepotica' pa so temno modre barve. Razlike v vsebnosti skupnih fenolov med sortama niso bile statistično značilne, so pa bile posamezne skupine fenolov zastopane v drugačnih razmerjih. Ni bilo razlik v vsebnosti flavonolov, so pa bile značilne razlike v količini fenolnih kislin, kjer jih je imela sorta 'President' v povprečju več kot sorta 'Čačanska lepotica' in v količini antocianov, ki jih je imela sorta 'Čačanska lepotica' več. Če pogledamo deleže posameznih skupin fenolov vidimo, da so glavni delež pri sorti 'President' predstavljale fenolne kisline (cca. 85%), antociani (cca. 12%) in flavonoli (3%). Pri sorti 'Čačanska lepotica' je bil delež fenolnih kislin manjši (cca. 70%), delež antocianov večji (cca. 28%) in manjši delež flavonolov (cca. 2%). Vzrok za razlike med sortama lahko pripišemo različnim genotipom, kar poročajo tudi Veberič in sod. (2005). Že večkrat je bilo omenjeno, da so plodovi sorte 'President' dozorevali v manj stresnih razmerah kot plodovi sorte 'Čačanska lepotica'. Sorta 'President' je pozna sorta, ki dozori v septembru, ko je bistveno manj sončnega obsevanja kot v času zorenja sorte 'Čačanska lepotica'. Razlike med sortama so v količini antocianov in v drugačnih razmerjih med fenolnimi skupinami. 'Čačanska lepotica' ima temnejše obarvane plodove kot sorta 'President', kar zopet vodi k drugačni zastopanosti in koncentraciji antocianov. Glavni antocian pri sorti 'President' je bil cy-3-rut, saj je predstavljal kar 74% (EP) in 78% (IP) vseh izmerjenih antocianov. Pri sorti 'Čačanska lepotica' je bil glavni antocian prav tako cy-3-rut, vendar je ta predstavljal le 40% (EP) in 52% (IP) vseh izmerjenih antocianov.

Na razlike med sortama v vsebnosti sekundarnih metabolitov bi lahko vplivale tudi razlike v pomoloških lastnostih sort. Plodovi sorte 'President' so po velikosti večji in bolj mesnati od sorte 'Čačanska lepotica', kar je tudi določalo odvzete vzorce. Ob odvzemu vzorca za analizo fenolov s plutovrtom skozi kožico in meso do koščice se je odvzela enaka površina kože ob vsakem vzorčenju, debelejši plodovi 'President' pa pomenijo več odvzetega mesa kot pri sorti 'Čačanska lepotica', ki ima manjše plodove. Večji delež mesa v analiziranih vzorcih sorte 'President' je imelo potencialen vpliv na razlike med sortama, na razlike vpliva načina pridelave pri isti sorti pa ne. Največ fenolov namreč najdemo v kožici, manj jih je prisotnih v mesu, kar poročajo tudi Usenik in sod. (2012). Sorta 'President' je imela tudi bistveno manjšo vsebnost peo-3-glu (cca. 10 krat manj) in peo-3-rut (cca. 7 krat manj) v primerjavi s sorto 'Čačanska lepotica'.

Če vzamemo, da je povprečna masa ploda sorte 'President' približno 70 g in upoštevamo maso koščice 5 g, bi z enim EP plodom slive zaužili 31 mg skupnih fenolov in z enim IP plodom slive 27 mg fenolov. Pri sorti 'Čačanska lepotica' bi z enim EP plodom, ki v povprečju tehta 40 g in bi upoštevali maso koščice 3 g, zaužili 21 mg skupnih fenolov EP in 12 mg pri IP slivi.

6 SKLEPI

V raziskavi smo ugotovili, da imajo slive iz ekološke pridelave (EP) v povprečju več skupnih fenolov kot slive iz integrirane pridelave (IP), razlike so bile statistično značilne pri sorti 'Čačanska lepoticica'.

V povprečju vsebujejo plodovi slive največ fenolnih kislin (od tega največ neoklorogenske kisline), antocianov (od tega največ cy-3-rut) in najmanj flavonolov (od tega največ rutina).

Hipotezo o razlikah med sortama smo sprejeli.

Med sortama ni bilo značilnih razlik v vsebnosti skupnih fenolov, so pa bile razlike v vsebnosti fenolnih skupin. Plodovi sorte 'Čačanska lepoticica' so imeli več antocianov kot plodovi sorte 'President', slednja pa je imela več fenolnih kislin kot sorta 'Čačanska lepoticica'. Med sortama ni bilo značilnih razlik v vsebnosti skupnih flavonolov.

Sorta 'Čačanska lepoticica' je imela več klorogenske kisline kot sorta 'President', slednja pa je imela več neoklorogenske in kumarolkininske kisline. V vsebnosti kriptoklorogenske kisline med sortama ni bilo značilnih razlik.

'Čačanska lepoticica' je imela več vseh izmerjenih antocianov kot sorta 'President'.

Sorta 'President' je med flavonoli imela značilno več rutina, medtem ko je imela sorta 'Čačanska lepoticica' več Q-3-glu, kaem-3-rut in isorham-3-rut. V vsebnosti Q-3-gal razlik med sortama ni bilo.

Hipotezo o razlikah med pridelavama smo sprejeli.

Plodovi sorte 'Čačanska lepoticica' iz EP so imeli več antocianov, več fenolnih kislin in več flavonolov, predvsem kvercetina, kot plodovi iz IP. Le pri peo-3-glu ni bilo značilnih razlik.

Značilne razlike med načinoma pridelave so bile pri sorti 'President' le pri skupnih fenolnih kislinah, kjer je imela EP večjo vsebnost kot IP. Med ostalimi skupinami fenolov razlik ni bilo. EP slive te sorte so imele značilno več neoklorogenske kisline, pri ostalih posameznih fenolih razlik med pridelavama ni bilo.

Pri sorti 'President' so imeli plodovi iz EP značilno več skupnih fenolnih kislin in neoklorogenske kisline, metabolitov, ki v plodovih te sorte predstavljata 85% in 77% vseh sekundarnih metabolitov.

7 POVZETEK

Leta 2013 smo izvedli poskus na slivah, kjer smo ugotavljali vpliv načina pridelave (ekološka pridelava - EP in integrirana pridelava - IP) na vsebnost sekundarnih metabolitov v plodovih dveh sort slive ('Čačanska lepota' in 'President'). Ob tehnološki zrelosti smo naključno vzorčili 60 plodov sliv vsake sorte in obeh načinov pridelave. Plodove smo do analize primerno shranili. Na podlagi zrelostnih parametrov (barva kože, barva mesa in trdota) smo izbrali enako zrele plodove vsake sorte iz obeh načinov pridelave. V plodovih smo analizirali vsebnost fenolnih snovi (antociani, fenolne kisline in flavonoli) z metodo tekočinske kromatografije visoke ločljivosti – HPLC.

V povprečju so imele slive iz EP večjo vsebnost skupnih fenolov kot slive iz IP, vendar so bile razlike statistično značilne le pri sorti 'Čačanska lepota'. Na splošno je izstopala sorta 'Čačanska lepota' iz ekološke pridelave, ker je imela v povprečju več fenolnih snovi kot plodovi v ostalih obravnavanjih. Razlik v koncentraciji skupnih fenolov med sortama ni bilo, bile pa so razlike v različni vsebnosti skupin fenolnih snovi. 'Čačanska lepota' je imela več antocianov kot sorta 'President', sorta 'President' pa je imela več fenolnih kislin kot 'Čačanska lepota'. V vsebnosti flavonolov razlik med sortama ni bilo.

Med fenolnimi spojinami so največji delež v plodovih sliv predstavljale fenolne kisline, zatem antociani in najmanjši delež so zavzemali flavonoli. Od fenolnih kislin so si po deležu sledile: neoklorogenska kislina, klorogenska kislina, kumarolkininska kislina in kriptoklorogenska kislina. Sorta 'President' je imela več neoklorogenske in kumarolkininske kisline kot 'Čačanska lepota'. Slednja pa je imela več klorogenske kisline kot sorta 'President', v vsebnosti kriptoklorogenske kisline ni bilo razlik med sortama. Od antocianov je bilo največ cy-3-rut, cy-3-glu, peo-3-rut in najmanj peo-3-glu. Razlike med sortama so bile v deležih med posameznimi antociani. Sorta 'Čačanska lepota' je imela več peo-3-rut in peo-3-glu, ki sta bila pri sorti 'President' prisotna le v sledovih. Med flavonoli je rutin predstavljal največji delež, sledili so Q-3-gal, Q-3-glu, kaem-3-rut in isorham-3-rut. Sorta 'President' je imela več rutina, sorta 'Čačanska lepota' pa je imela večjo vsebnost Q-3-glu, kaem-3-rut in isorham-3-rut. V vsebnosti Q-3-gal razlik med sortama ni bilo.

Vpliv načina pridelave je bil najbolj viden pri sorti 'Čačanska lepota'. Plodovi EP slive so imeli značilno večjo vsebnost vseh fenolnih snovi kot IP, razen peo-3-glu.

Pri sorti 'President' so imeli plodovi iz EP več skupnih fenolnih kislin kot IP plodovi. Plodovi sorte 'President' iz EP so imeli tudi značilno večjo vsebnost neoklorogenske kisline. Pri ostalih merjenih sekundarnih metabolitih ni bilo značilnih razlik med načinoma pridelave.

8 VIRI

- Abram V., Abramović H., Skrt M., Kač M., Poklar Ulrih N. 2010. Antioksidacijska učinkovitost fenolnih spojin. *Kemija v šoli in družbi*, 22, 2: 14-19
- Agati G., Azzarello E., Pollastri S., Tattini M. 2012. Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance. *Plant Science*, 196: 67-76
- ARSO. Agencija republike Slovenije za okolje. 2013. Slovenija.
<http://meteo.arso.gov.si/met/sl/climate/current/last-12-months/archive/> (avgust, 2015)
- Bolton M. D. 2009. Primary metabolism and plant defense-fuel for the fire. *Molecular Plant - Microbe Interactions*, 22: 487-497
- Briggs D. 2012. The dimensions of colour. Australia. Chaiperson, NSW Division, Colour Society of Australia.
<http://www.huevaluechroma.com/012.php> (september, 2015)
- Carbonaro M., Mattera M., Nicoli S., Bergamo P., Cappeloni M. 2002. Modulation of antioxidant compounds in organic vs conventional fruit (peach, *Prunus persica* L., and pear, *Pyrus Communis* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 5458-5462
- Cevallos-Casals B.A., Byrne D., Okie W.R., Cisneros-Zevallos L. 2005. Selecting new peach and plum genotypes rich in phenolic compounds and enhanced functional properties. *Food Chemistry*, 96: 273-280
- Chalmers D. J. in Van den Ende B. 1976. The relation between seed and fruit development in peach (*Prunus persica* L.). *Annals of Botany*, 41: 707-714
- Chassy A.W., Bui L., Renaud E.N.C, Van Horn M., Mitchell E. A. 2006. Three-year comparison of the content of antioxidant microconstituents and several quality characteristics in organic and conventionally managed tomatoes and bell peppers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 8244-8252
- Cheyrier V. 2012. Phenolic compounds: from plants to foods. *The Phytochemistry Reviews*, 11: 153-177
- Chun K.O., Kim D., Moon H.Y., Kang H.G., Lee C.Y. 2003. Contribution of individual polyphenolics to total antioxidant capacity of plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 7240-7245
- Crozier A., Clifford N. M, Ashihara H. 2006. Plant secondary metabolites: Occurrence, structure and role in the human diet. Oxford, Blackwell Publishing: 372 str.

- Daniel O., Meier M. S., Schlatter J., Frischknecht P. 1999. Selected phenolic compounds in cultivated plants: Ecological Functions, health implications, and modulations by pesticides. *Environmental Health Perspectives*, 107: 109-114
- Diaz-Mula H. M., Zapata P. J., Guillen F., Castillo S., Martinez-Romero D., Valero D., Serrano M. 2008. Changes in physicochemical and nutritive parameters and bioactive compounds during development and on-tree ripening of eight plum cultivars: a comparative study. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88: 2499-2507
- Edgson V., Marber I. 2001. Hrana, zdravilo za dušo in telo. Ljubljana, Tehniška založba Slovenije: 160 str.
- Ertekin C., Gozlekci S., Kabas O., Sonmez S., Akinci I. 2005. Some physical, pomological and nutritional properties of two plum (*Prunus domestica* L.) cultivars. *Journal of Food Engineering*, 75: 508-514
- European Commission DG Agriculture and Rural Development. 2015. Producing organic. Belgium.
http://ec.europa.eu/agriculture/organic/organic-farming/what-is-organic-farming/producing-organic/index_en.htm (avgust, 2015)
- Fernandes C.V, Domingues V.F., Victor de Freitas, Delerue-Matos C., Mateus N. 2012. Strawberries from integrated pest management and organic farming: Phenolic composition and antioxidant properties. *Food Chemistry*, 134: 1926-1931
- Ferreira F. M. L., Rius S. P., Casati P. 2012. Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biological applications. *Frontiers in Plants Science*, 3: 1-15
- Flowerdew B. 1998. Sadje in drugi sadeži: gojenje, obiranje, recepti. Ljubljana, DZS: 256 str.
- Godec B., Hudina M., Usenik V., Fajt N., Koron D., Solar A., Vesel V., Ambrožič Turk B., Vrhovnik I., Kodrič I. 2011. Sadni izbor za Slovenijo 2010. Ljubljana, Orbis: 215 str.
- Harborne J. B. 1967. Comparative biochemistry of the flavonoids. London, Academic press: 383 str.
- Heim K. E., Tagliaferro A., R., Bobilya D. J. 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13: 572-584
- Horvath A., Balsemin E., Barbot J., Christman H., Manzano G., Reynet P., Laigret F.,

Mariette S. 2011. Phenotypic variability and genetic structure in plum (*Prunus domestica* L.), cherry plum (*P. cerasifera* Ehrh.) and sloe (*P. spinosa* L.). *Scientia Horticulturae*, 129: 283-293

IFOAM. History.

<http://www.ifoam.bio/en/about-us/history> (september, 2015)

Johansson E., Hussain A., Kuktaite R., Andersson S.C., Olsson M.E. 2014. Contribution of organically grown crops to human health. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11: 3870-3893

Lyons J.M. 2014. A history of the University of California IPM Program. University of California.
<http://ipm.ucdavis.edu/IPMPROJECT/HISTORY/index.html> (september, 2015)

KGZS. 2010-2012. Ekološko kmetovanje. Ljubljana, Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije.
<http://www.kgzs.si/gv/kmetijstvo/ekolosko-kmetovanje.aspx> (september, 2015)

Klimatološka povprečja 1981-2010. Ljubljana, Ministrstvo za okolje in prostor, Agencija republike Slovenije za okolje.
http://meteo.arso.gov.si/uploads/probase/www/climate/table/sl/by_location/ljubljana/clclima-normals_81-10_Ljubljana.pdf (julij, 2015)

Košmerl T. 2011. Delitev fenolnih snovi. *SAD*, 12, 3: 23-24

Kupiec T. 2004. Quality - control analytical methods: High – performance liquid chromatography. *International Journal of Pharmaceutical Compounding*, 8, 3: 223-227

Leon A.T. 2011. Health-promoting properties of fruit & vegetables. Cranfield University, UK: 417 str.

Lombardi-Boccia G., Lucarini M., Lanzi S., Aguzzi A., Cappelloni M. 2004. Nutrients and antioxidant molecules in yellow plums (*Prunus domestica* L.) from conventional and organic production: A comparative study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 1: 90-94

Mesečni bilten ARSO-letnik 2013. 2013. Ljubljana, Agencija RS za okolje.
<http://www.arso.gov.si/o%20agenciji/knji%C5%BEica/mese%C4%8Dni%20bilten/bilten2013.htm> (julij, 2015)

Mihajlović B. 1997. Zdravljenje s sadjem in zelenjavo. Ljubljana, Kmečki glas: 364 str.

Mikulič Petkovšek M., Slatnar A., Štampar F., Veberič R. 2012. Vpliv ekološke in integrirane pridelave na vsebnost fenolov v listih in plodovih jabolane. V: Zbornik

- referatov 3. slovenskega sadjarskega kongresa z mednarodno udeležbo, 21.-23. november, 2012, Krško. Hudina M. (ur.), Strokovno sadjarsko društvo slovenije (in) Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Katedra za sadjarstvo, vinogradništvo in vrtnarstvo: 187-192
- MKGP. 2015. Kmetijstvo. Ljubljana, Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano. http://www.mkgp.gov.si/si/delovna_podrocja/kmetijstvo/ (oktober, 2015)
- Mišić P.D. 1989. Nove sorte Vočaka. Beograd, Nolit 1989: 430 str.
- Murkovic M. 2003. Phenolic compounds. V: Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition. Benjamin C. (eds.). 2nd ed. Oxford, Academic Press: 4507-4514 str.
- Patel J. M. 2008. A review of potential health benefits of flavonoids. Lethbridge Undergraduate research journal, 3:1-5
<http://www.lurj.org/article.php/vol3n2/flavonoids>. (september, 2011)
- Pichersky E., Gang D. R. 2000. Genetics and biochemistry of secondary metabolites in plants: an evolutionary perspective. Trends in Plant Science, 5: 439-445
- Piga A., Del Caro A., Corda G. 2003. From plums to prunes: influence of drying parameters on polyphenols and antioxidant activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51: 3675-3681
- Podnebni kazalniki. 2015. Ljubljana, Statistični urad RS.
http://pxweb.stat.si/pxweb/Database/Okolje/01_ozemlje_podnebje/10_01561_podnebn_kazalniki/10_01561_podnebn_kazalniki.asp (september, 2015)
- Pogash K. 2008-2009. History of Organic Agriculture.
http://kennuncorked.com/organic_history.html (september, 2015)
- Sancin V. in Adamič F. 1988. Sadje z našega vrta. Trst, Založništvo tržaškega tiska: 376 str.
- Slimestad R., Vangdal E., Brede C. 2009. Analysis of Phenolic Compounds in Six Norwegian plum cultivars (*Prunus domestica* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57: 11370-11375
- Stacewicz-Sapuntzakis M. 2013. Composition and health effects-an updated review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 53, 12: 1277-1302
- Stacewicz-Sapuntzakis M., Bowen P. E., Hussain E. A., Damayanti-Wood B. I., Farnsworth N. R. 2001. Chemical composition and potential health effects of prune: A

- functional food? Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 41, 4: 251-286
- Štampar F., Lešnik M., Veberič R., Solar A., Koron S., Usenik V., Hudina M., Osterc G. 2009. Sadjarstvo. Ljubljana, Kmečki glas: 416 str.
- Taiz L., Zeiger E. 2010. Plant physiology. 5th ed. Sunderland, Massachusetts: 782 str.
- Tehnološka navodila za integrirano pridelavo sadja. 2015. Ljubljana, MKGP: 63 str.
http://www.mkgp.gov.si/si/delovna_podrocja/kmetijstvo/integrirana_pridelava/tehnoloska_navodila/ (september, 2015)
- Tomás-Barberan F.A. in Espín J.C. 2001. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. Journal of the Science of Food and Agriculture, 81: 853-876
- Toor R.K, Savage G.P., Heeb A. 2006. Influence of different types of fertilisers on the major antioxidant components of tomatoes. Journal of Food Composition and Analysis, 19: 20-27
- Treuter D., Wang D., Farad M.A., Baires G.D.A., Rühmann S., Neumüller M. 2012. Diversity of phenolic profiles in the fruit skin of *Prunus domestica* plums and related species. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 60: 12011-12019
- Usenik V., Kastelec D., Veberič R., Štampar F. 2008. Quality changes during ripening of plums (*Prunus domestica* L.). Food Chemistry, 111: 830-836
- Usenik V., Štampar F., Veberič R. 2009. Anthocyanins and fruit colour in plums (*Prunus domestica* L.) during ripening. Food Chemistry, 114: 529-534
- Usenik V., Štampar F., Kastelec D. 2012. Phytochemicals in fruits of two *Prunus domestica* L. plum cultivars during ripening. Journal of the Science of Food and Agriculture, 93: 681-692
- Van der Fits L. in Memelink J. 2000. ORCA3, a jasmonate-responsive transcriptional Regulator of plant primary and secondary metabolism. Science, 289: 295-297
- Veberič R., Trobec M., Herbinger K., Hofer M., Grill D., Štampar F. 2005. Phenolic compounds in some apple (*Malus domestica* Borkh) cultivars of organic and integrated production. Journal of the Science of Food and Agriculture, 85: 1687-1694
- Vicente A. R., Manganaris G.A., Cisneros-Zevallos L., Crisosto C.H. 2011. *Prunus*. V: Health-promoting properties of fruit & vegetables. Terry L.A. (ed.). Wallingford, CAB International, UK: 238- 259
- Zadruga Zdravo polje z.o.o. 2013. O integrirani pridelavi. Ljubljana, Ministrstvo za

kmetijstvo in okolje.

<http://www.integrirana-pridelava.si/o-integrirani-pridelavi.php> (september, 2015)

Zhao X., Carey E.E., Wang W., Rajashekar C.B. 2006. Does organic production enhance phytochemical content of fruit and vegetables? current knowledge and prospects for research. *Horticultural Technology*, 16: 449-456

Wang SY, Zheng W, Galletta GJ. 2002. Cultural system affects fruit quality and antioxidant capacity in strawberries. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 50: 6534-6542

Wink M. 2003. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry*, 64: 3-1

ZAHVALA

Najprej se iskreno zahvaljujem mentorici prof. dr. Valentini USENIK za vse nasvete, podporo in pomoč pri pisanju magistrskega dela.

Recenzentu izr. prof. dr. Robertu VEBERIČU, predsednici komisije prof. dr. Zlati LUTHAR in dr. Karmen STOPAR se zahvaljujem za natančnost pri pregledovanju magistrskega dela.

Zahvaljujem se g. Adamič Vojkotu in g. Hribar Srečotu, ki sta mi dovolila izvedbo poskusa v njunem nasadu ter za vse podarjene vzorce.

Zahvala gre tudi moji mami, bratu in Mateju, ki so me v času študija vseskozi spodbujali in mi stali ob strani.

PRILOGA A

Zrelostni parametri sorte 'Čačanska lepotica' pri obeh načinih pridelave

Priloga A1: Zrelostni parametri za sorto 'Čačanska lepotica' iz integrirane pridelave

Plod	Barva kože	Trdota levo	Trdota desno	Trdota povprečje	Barva mesa
1	273,2	1,1	0,9	1,0	92,8
2	271,2	1,0	0,9	1,0	93,8
3	267,1	0,9	1,2	1,0	91,9
4	273,6	1,5	1,4	1,4	91,8
5	274,1	1,7	1,4	1,5	93,2
6	277,7	1,5	1,7	1,6	89,4
7	279,1	1,0	1,6	1,3	89,7
8	270,6	1,1	1,3	1,2	86,1
9	266,6	1,4	1,0	1,2	95,2
10	267,0	1,4	1,0	1,2	90,7
11	266,9	1,0	0,8	0,9	92,1
12	279,1	1,8	1,5	1,7	95,3
13	269,6	1,6	1,3	1,5	89,2
14	268,4	1,3	1,2	1,2	92,7
15	269,1	0,8	1,0	0,9	87,2
16	267,7	1,3	1,6	1,4	81,1
17	272,1	1,6	0,9	1,2	91,4
18	266,2	1,0	0,9	1,0	90,3
19	269,2	1,2	1,4	1,3	89,6
20	266,3	0,8	1,0	0,9	94,5
21	272,6	1,1	1,5	1,3	90,0
22	268,0	1,6	1,8	1,7	93,6
23	271,0	1,3	1,7	1,5	91,4
24	280,2	0,7	1,5	1,1	90,4
25	269,6	1,1	1,3	1,2	84,7
26	270,7	1,5	1,6	1,5	90,9
27	267,2	1,1	1,3	1,2	91,7
28	267,2	1,6	1,4	1,5	80,7
29	266,9	1,3	1,4	1,3	91,1
30	266,5	1,2	1,1	1,1	92,4
31	264,8	1,5	1,4	1,4	90,8
32	267,1	1,3	1,3	1,3	84,6
33	265,9	0,9	1,0	1,0	77,9
34	265,4	1,1	1,3	1,2	91,1
35	266,0	1,4	1,4	1,4	89,1

36	266,6	1,5	1,1	1,3	86,0
37	266,8	1,3	1,4	1,4	92,2
38	265,3	1,2	1,0	1,1	85,9
39	264,7	0,8	1,1	0,9	90,2
40	267,3	1,2	1,7	1,4	87,5
41	267,5	0,9	1,1	1,0	89,4
42	264,7	1,6	1,4	1,5	91,5
43	270,2	0,9	1,1	1,0	85,0
44	270,2	1,9	1,8	1,9	90,4
45	268,6	1,6	1,1	1,3	88,5
46	264,4	1,0	1,3	1,2	88,5
47	278,9	1,2	0,9	1,0	92,3
48	268,6	1,4	1,5	1,4	91,0
49	267,6	1,1	1,5	1,3	90,1
50	268,6	1,2	1,7	1,4	91,9
51	264,1	0,7	1,4	1,1	86,7
52	265,2	0,7	1,3	1,0	91,6
53	269,8	1,0	1,2	1,1	94,2
54	264,5	1,4	1,2	1,3	86,4
55	265,8	1,4	1,7	1,6	91,7
56	264,4	1,5	1,0	1,2	87,4
57	271,5	1,4	1,7	1,5	83,5
58	263,8	0,9	1,1	1,0	91,3
59	265,0	0,9	0,8	0,9	88,4
60	268,1	0,7	0,7	0,7	87,0
Povprečje	268,8			1,2	89,6

Priloga A2: Zrelostni parametri za sorto 'Čačanska lepota' iz ekološke pridelave

Plod	Barva kože	Trdota levo	Trdota desno	Trdota povprečje	Barva mesa
1	270,2	1,7	1,7	1,7	81,5
2	266,2	1,0	0,8	0,9	73,6
3	271,2	1,0	1,1	1,0	81,9
4	266,7	1,1	0,9	1,0	81,7
5	268,0	1,1	1,2	1,2	78,3
6	267,9	2,0	1,7	1,9	83,7
7	270,0	1,7	1,8	1,8	86,0
8	274,8	2,0	1,8	1,9	87,5
9	268,8	1,3	1,4	1,4	83,3
10	271,0	2,0	1,9	1,9	89,1
11	267,4	1,7	1,8	1,7	86,2
12	268,4	1,4	2,0	1,7	86,9
13	267,4	1,5	1,2	1,3	85,3
14	267,5	1,8	1,7	1,7	83,4
15	269,6	1,5	1,4	1,4	78,7
16	272,6	1,0	1,5	1,2	87,7
17	268,3	1,9	1,7	1,8	83,5
18	270,3	1,2	1,9	1,5	79,9
19	267,7	2,1	1,8	1,9	91,2
20	278,8	2,1	2,5	2,3	86,7
21	266,8	2,1	2,4	2,3	82,5
22	268,0	2,6	2,4	2,5	87,8
23	275,6	1,7	1,7	1,7	92,2
24	265,0	1,6	1,6	1,6	84,3
25	266,9	1,3	1,8	1,5	84,3
26	267,8	1,0	1,6	1,3	79,3
27	267,7	1,4	1,2	1,3	81,9
28	267,2	1,5	1,8	1,7	90,3
29	265,3	1,2	1,4	1,3	88,5
30	266,2	1,3	1,7	1,5	80,1
31	270,9	1,3	1,4	1,3	86,5
32	268,4	1,3	1,5	1,4	87,2
33	269,1	1,8	2,0	1,9	89,8
34	269,7	2,5	2,4	2,4	90,6
35	267,8	2,0	2,4	2,2	82,2
36	267,8	1,6	1,6	1,6	84,6
37	267,5	1,8	1,7	1,7	82,1
38	267,5	1,2	1,3	1,3	87,8
39	268,6	1,8	1,3	1,6	84,3

40	267,1	1,5	1,3	1,4	84,5
41	265,4	1,3	1,3	1,3	85,5
42	267,5	2,3	1,9	2,1	84,0
43	269,2	1,1	1,7	1,4	90,1
44	265,8	2,0	1,9	2,0	86,9
45	273,2	2,2	2,2	2,2	92,7
46	269,8	2,0	2,0	2,0	88,0
47	269,0	1,7	1,4	1,5	86,8
48	268,6	1,4	1,5	1,4	82,3
49	269,8	1,7	1,7	1,7	82,1
50	267,0	1,4	1,6	1,5	81,8
51	269,6	1,5	1,9	1,7	86,9
52	268,5	1,0	1,3	1,2	72,4
53	268,3	1,5	1,2	1,3	83,4
54	268,6	1,7	1,3	1,5	86,3
55	268,5	1,7	2,1	1,9	80,3
56	269,3	1,5	1,3	1,4	82,2
57	269,3	1,3	1,3	1,3	75,4
58	268,4	1,1	1,8	1,5	83,4
60	269,7	2,6	1,7	2,1	81,6
Povprečje	268,8			1,6	84,4

PRILOGA B

Zrelostni parametri sorte 'President' pri obeh načinih pridelave

Priloga B1: Zrelostni parametri za sorto 'President' iz integrirane pridelave

Plod	Barva kože	Trdota levo	Trdota desno	Trdota povprečje	Barva mesa
1	302,2	2,0	2,0	2,0	87,2
2	298,7	1,9	1,4	1,7	85,2
3	318,2	1,9	1,5	1,7	83,3
4	314,1	1,6	1,3	1,4	83,8
5	314,5	2,0	1,5	1,7	83,6
6	318,2	1,5	1,5	1,5	84,9
7	307,8	1,8	1,9	1,8	83,8
8	295,7	2,1	2,0	2,0	80,8
9	299,5	1,8	1,9	1,8	84,1
10	297,5	2,0	1,3	1,6	84,2
11	301,7	1,9	2,2	2,1	84,1
12	296,5	1,6	1,3	1,5	85,9
13	298,3	1,9	1,9	1,9	86,3
14	329,3	1,6	1,8	1,7	84,3
15	302,2	1,8	1,6	1,7	86,1
16	299,8	1,4	1,9	1,7	81,6
17	290,7	2,2	2,2	2,2	83,4
18	307,8	1,9	1,9	1,9	79,9
19	297,7	1,8	1,8	1,8	84,0
20	295,1	1,6	1,5	1,5	85,7
21	306,3	1,5	1,7	1,6	85,9
22	321,2	1,7	1,7	1,7	83,9
23	315,4	1,8	1,4	1,6	84,4
24	290,0	1,8	1,6	1,7	82,3
25	298,2	2,3	1,9	2,1	88,9
26	298,5	1,5	1,8	1,6	89,5
27	294,8	2,0	2,0	2,0	84,6
28	305,6	2,2	1,9	2,0	82,5
29	311,6	1,4	1,7	1,5	86,9
30	291,2	1,9	1,3	1,6	82,6
31	297,2	1,3	1,6	1,4	85,6
32	298,8	1,4	1,3	1,3	83,9
33	319,5	2,0	1,7	1,9	87,3
34	309,0	1,7	1,7	1,7	85,7
35	300,5	1,8	2,2	2,0	89,3

36	294,9	1,5	2,1	1,8	79,2
37	312,3	1,7	1,5	1,6	85,0
38	295,6	1,5	1,6	1,5	86,3
39	298,7	1,9	1,4	1,6	83,4
40	312,1	1,8	1,9	1,9	87,2
41	306,6	2,0	1,7	1,9	82,4
42	310,9	2,0	1,9	1,9	86,1
43	310,7	1,8	1,7	1,7	85,2
44	294,7	1,9	1,9	1,9	87,7
45	323,2	1,8	1,8	1,8	88,2
46	295,6	1,8	1,7	1,8	85,6
47	304,2	1,4	1,5	1,4	87,4
48	306,7	1,8	1,9	1,8	86,1
49	294,7	1,8	1,4	1,6	81,6
50	310,7	1,7	1,5	1,6	84,9
51	302,3	1,8	1,4	1,6	83,0
52	298,1	2,2	1,9	2,0	85,9
53	299,4	2,1	1,7	1,9	88,6
54	301,2	1,4	1,4	1,4	85,9
55	300,9	1,8	1,3	1,6	83,0
56	293,3	2,2	2,0	2,1	84,9
57	314,4	1,6	1,4	1,5	83,3
58	303,0	1,2	1,2	1,2	85,2
59	300,7	2,1	1,6	1,8	87,6
60	307,1	1,7	2,4	2,0	84,0
Povprečje	303,9			1,7	84,9

Priloga B2: Zrelostni parametri za sorto 'President' iz ekološke pridelave

Plod	Barva kožice	Trdota levo	Trdota desno	Trdota povprečje	Barva mesa
1	311,7	1,0	0,9	1,0	86,8
2	301,1	1,6	1,2	1,4	89,3
3	308,8	0,6	1,2	0,9	87,3
4	310,7	1,5	1,3	1,4	87,0
5	289,3	1,7	2,0	1,9	80,9
6	328,2	1,4	1,2	1,3	87,3
7	307,7	1,8	1,3	1,5	85,2
8	302,7	0,7	0,7	0,7	77,2
9	316,8	0,4	0,9	0,6	89,4
10	296,5	0,9	0,6	0,7	81,9
11	294,4	0,5	0,4	0,5	75,0
12	291,1	0,7	0,6	0,7	80,9
13	326,5	1,3	1,5	1,4	84,0
14	284,8	0,7	0,6	0,7	80,4
15	323,0	1,2	1,1	1,2	86,6
16	304,2	0,4	0,3	0,4	68,7
17	297,3	1,9	1,7	1,8	83,2
18	275,3	1,6	2,2	1,9	75,2
19	285,7	1,6	1,2	1,4	78,4
20	301,6	1,6	1,9	1,8	81,4
21	303,6	1,7	1,6	1,6	85,1
22	296,2	1,3	1,3	1,3	81,5
23	281,2	1,3	1,7	1,5	76,7
24	326,5	1,3	1,2	1,2	85,3
25	300,6	1,5	1,3	1,4	86,0
26	299,3	1,7	1,7	1,7	81,6
27	326,7	2,2	2,0	2,1	84,7
28	325,0	2,1	1,5	1,8	85,5
29	307,9	1,4	1,0	1,2	84,2
30	319,8	1,0	1,4	1,2	85,0
31	309,3	1,6	1,6	1,6	86,8
32	330,4	1,1	1,6	1,3	89,5
33	299,9	0,5	0,6	0,6	82,2
34	287,7	1,4	1,5	1,5	83,5
35	302,6	1,9	1,9	1,9	84,9
36	317,9	1,1	1,6	1,4	85,9
37	310,0	1,4	1,3	1,4	85,3
38	309,9	1,8	1,7	1,8	81,8
39	318,2	1,4	1,9	1,7	84,0

40	315,5	2,1	2,3	2,2	87,7
41	299,1	1,3	2,0	1,6	85,1
42	285,7	1,5	1,6	1,5	81,2
43	278,8	2,3	2,4	2,4	79,1
44	278,0	2,2	2,2	2,2	76,1
45	294,8	2,1	1,9	2,0	81,4
46	281,7	1,8	1,6	1,7	82,5
47	281,1	1,5	1,6	1,5	78,3
48	288,1	1,1	1,0	1,1	78,2
49	287,2	1,8	1,7	1,8	85,8
50	305,1	1,8	1,7	1,7	84,2
51	299,3	2,2	2,4	2,3	83,6
52	286,6	1,8	1,8	1,8	76,8
53	301,6	1,5	1,6	1,5	75,7
54	283,4	1,0	1,0	1,0	82,5
55	318,8	1,3	1,6	1,5	88,6
56	280,5	1,3	1,1	1,2	79,0
57	300,5	1,4	1,7	1,5	84,7
58	282,2	1,7	2,2	1,9	82,7
59	312,2	1,8	1,5	1,6	82,8
60	305,0	2,0	1,5	1,7	81,6
Povprečje	301,6			1,4	82,7

PRILOGA C

Rezultati statistične analize

Priloga C1: ANOVA za povprečno vsebnost skupnih fenolov

Viri variabilnosti	SP	VKO	SKO	F	p-vrednost
Glavni vplivi					
A: Pridelava	1	200327	200327	52,33	3,23e-08 ***
B: Sorta	1	539	539	0,14	0,71
Interakcija AB	1	86711	86711	22,65	4,00e-05 ***
Ostane	32	122508	3828		

Opomba: '***' statistično značilno pri stopnji 0,001, '**' statistično značilno pri stopnji 0,01 in '*' statistično značilno pri stopnji 0,05

p vrednost izraža, v kolikšni meri so vzorčni podatki v skladu z ničelno domnevo. Če je ta vrednost $p < 0,05$ (α) ničelno domnevo zavrnilo v korist alternativni domnevi, če je pa ta vrednost $p > 0,05$, pa ničelno domnevo ohranimo.

Priloga C2: ANOVA za povprečno vsebnost skupnih fenolnih kislin

Viri variabilnosti	SP	VKO	SKO	F	p-vrednost
Glavni vplivi					
A: Pridelava	1	97492	97492	69,89	1,49e-09 ***
B: Sorta	1	37932	37932	27,19	1,06e-05 ***
Interakcija AB	1	35585	35585	25,51	1,71e-05 ***
Ostane	32	44636	1395		

Priloga C3: ANOVA za povprečno vsebnost skupnih antocianov

Viri variabilnosti	SP	VKO	SKO	F	p-vrednost
Glavni vplivi					
A: Pridelava	1	15398	15398	17,68	0,000196 ***
B: Sorta	1	50111	50111	57,55	1,22e-08 ***
Interakcija AB	1	9547	9547	10,96	0,002310 **
Ostane	32	27866	871		

Priloga C4: ANOVA za povprečno vsebnost skupnih flavonolov

Viri variabilnosti	SP	VKO	SKO	F	p-vrednost
Glavni vplivi					
A: Pridelava	1	126,6	126,6	8,29	0,00705 **
B: Sorta	1	34,5	34,5	2,26	0,14279
Interakcija AB	1	65,9	65,9	4,32	0,04585 *
Ostane	32	488,6	15,3		

Priloga C5: ANOVA za povprečno vsebnost neoklorogenske kisline

Viri variabilnosti	SP	VKO	SKO	F	p-vrednost
Glavni vplivi					
A: Pridelava	1	54716	54716	70,41	1,38e-09 ***
B: Sorta	1	60484	60484	77,83	4,43e-10 ***
Interakcija AB	1	19320	19320	24,86	2,07e-05 ***
Ostanek	32	24868	777		

Priloga C6: ANOVA za povprečno vsebnost klorogenske kisline

Viri variabilnosti	SP	VKO	SKO	F	p-vrednost
Glavni vplivi					
A: Pridelava	1	1,26	1,26	44,84	1.47e-07 ***
B: Sorta	1	2,24	2,24	79,93	3.26e-10 ***
Interakcija AB	1	0,42	0,42	14,85	0,0005 ***
Ostanek	32	0,90	0,03		

Priloga C7: ANOVA za povprečno vsebnost kriptoklorogenske kisline

Viri variabilnosti	SP	VKO	SKO	F	p-vrednost
Glavni vplivi					
A: Pridelava	1	37,57	37,57	5,269	0,0284 *
B: Sorta	1	14,85	14,85	2,084	0,1586
Interakcija AB	1	4,41	4,41	0,619	0,4373
Ostanek	32	228,13	7,13		

Priloga C8: ANOVA za povprečno vsebnost kumarolkiniinske kisline

Viri variabilnosti	SP	VKO	SKO	F	p-vrednost
Glavni vplivi					
A: Pridelava	1	40,90	40,90	5,36	0,0271 *
B: Sorta	1	484,00	484,00	63,51	0,0000 ***
Interakcija AB	1	17,80	17,80	2,33	0,1364
Ostanek	32	243,90	7,60		

Priloga C9: ANOVA za povprečno vsebnost cy-3-glu

Viri variabilnosti	SP	VKO	SKO	F	p-vrednost
Glavni vplivi					
A: Pridelava	1	3550	3550	29,46	5,72e-06 ***
B: Sorta	1	7855	7855	65,19	3,21e-09 ***
Interakcija AB	1	2227	2227	18,48	0,0002 ***
Ostanek	32	3856	120		

Priloga C10: ANOVA za povprečno vsebnost cy-3-rut

Viri variabilnosti	SP	VKO	SKO	F	p-vrednost
Glavni vplivi					
A: Pridelava	1	2663	2663	11,24	0,0020 **
B: Sorta	1	4218	4218	17,80	0,0002 ***
Interakcija AB	1	1523	1523	6,43	0,0163 *
Ostane	32	7583	237		

Priloga C11: ANOVA za povprečno vsebnost peo-3-glu

Viri variabilnosti	SP	VKO	SKO	F	p-vrednost
Glavni vplivi					
A: Pridelava	1	1,41	1,41	5,73	0,0227*
B: Sorta	1	50,61	50,61	206,17	0,0000 ***
Interakcija AB	1	0,00	0,00	0,01	0,9134
Ostane	32	7,86	0,25		

Priloga C12: ANOVA za povprečno vsebnost peo-3-rut

Viri variabilnosti	SP	VKO	SKO	F	p-vrednost
Glavni vplivi					
A: Pridelava	1	0,33	0,33	5,18	0,0296 *
B: Sorta	1	30,36	30,36	472,15	<2e-16 ***
Interakcija AB	1	0,12	0,12	1,92	0,1760
Ostane	32	2,06	0,06		

Priloga C13: ANOVA za povprečno vsebnost Q-3-gal

Viri variabilnosti	SP	VKO	SKO	F	p-vrednost
Glavni vplivi					
A: Pridelava	1	5,11	5,11	6,67	0,0146 *
B: Sorta	1	0,15	0,15	0,20	0,6620
Interakcija AB	1	6,36	6,36	8,31	0,0070 **
Ostane	32	24,50	0,77		

Priloga C14: ANOVA za povprečno vsebnost Q-3-glu

Viri variabilnosti	SP	VKO	SKO	F	p-vrednost
Glavni vplivi					
A: Pridelava	1	5,89	5,89	22,31	4.44e-05 ***
B: Sorta	1	5,63	5,63	21,34	5.98e-05 ***
Interakcija AB	1	2,35	2,35	8,90	0,00543 **
Ostane	32	8,44	0,26		

Priloga C15: ANOVA za povprečno vsebnost kaem-3-rut

Viri variabilnosti	SP	VKO	SKO	F	p-vrednost
Glavni vplivi					
A: Pridelava	1	0,28	0,28	12,84	0,0011 **
B: Sorta	1	0,44	0,44	20,46	0,0000 ***
Interakcija AB	1	0,11	0,11	5,13	0,0304 *
Ostanek	32	0,69	0,02		

Priloga C16: ANOVA za povprečno vsebnost isoharm-3-rut

Viri variabilnosti	SP	VKO	SKO	F	p-vrednost
Glavni vplivi					
A: Pridelava	1	0,01	0,01	1,37	0,2500
B: Sorta	1	0,03	0,03	5,66	0,0235 *
Interakcija AB	1	0,02	0,02	3,44	0,073
Ostanek	32	0,20	0,01		

Priloga C17: ANOVA za povprečno vsebnost rutina

Viri variabilnosti	SP	VKO	SKO	F	p-vrednost
Glavni vplivi					
A: Pridelava	1	35,39	35,39	5,47	0,0257 *
B: Sorta	1	89,86	89,86	13,89	0,0008 ***
Interakcija AB	1	12,87	12,87	1,99	0,1682
Ostanek	32	207,07	6,47		