

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Domen FINK

**ODZIV FENOLNEGA METABOLIZMA V  
PLODOVIH JABLANE (*Malus domestica* Borkh.)  
SORTE 'ZLATI DELIŠES' NA ŠKROPLJENJE Z  
NATRIJEVIM BIKARBONATOM**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2011

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Domen FINK

**ODZIV FENOLNEGA METABOLIZMA V PLODOVIH JABLANE  
(*Malus domestica* Borkh.) SORTE 'ZLATI DELIŠES' NA  
ŠKROPLJENJE Z NATRIJEVIM BIKARBONATOM**

DIPLOMSKO DELO  
Univerzitetni študij

**RESPONSE OF PHENOLIC METABOLISM IN FRUITS OF  
'GOLDEN DELICIOUS' APPLE TREE (*Malus domestica* Borkh.)  
CULTIVAR TO THE APPLICATION OF SODIUM BICARBONATE  
SPRAY**

GRADUATION THESIS  
University studies

Ljubljana, 2011

Diplomsko delo je zaključek Univerzitetnega študija agronomije. Rastlinski material za analizo smo nabrali na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani. Analiza vzorcev in statistična obdelava rezultatov sta bili opravljeni na Katedri za sadjarstvo, vinogradništvo in vrtnarstvo Oddelka za agronomijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

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

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. Franc BATIČ  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: doc. dr. Robert VEBERIČ  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: prof. dr. Franci Aco CELAR  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Datum zagovora:

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

Domen FINK

## KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Dn
- DK UDK 634.11:632.952:546.33'264-384.1:547.56(043.2)
- KG sadjarstvo/jablana/kemična sestava/natrijev bikarbonat/soda bikarbona/varstvo rastlin/jablanov škrlup/fenolne spojine/fenoli/glivične bolezni/okužba
- KK AGRIS H01/H20/F62
- AV FINK, Domen
- SA VEBERIČ, Robert (mentor)
- KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
- LI 2011
- IN ODZIV FENOLNEGA METABOLIZMA V PLODOVIH JABLANE (*Malus domestica* Borkh.) SORTE 'ZLATI DELIŠES' NA ŠKROPLJENJE Z NATRIJEVIM BIKARBONATOM
- TD Diplomsko delo (Univerzitetni študij)
- OP X, 39, [3] str., 7 pregl., 14 sl., 3 pril., 45 vir.
- IJ sl
- JJ sl/en
- AI Namen diplomskega dela je bil ugotoviti, ali natrijev bikarbonat (NBK) vpliva na tvorbo fenolov v plodovih jablane (*Malus domestica* Borkh.) sorte 'Zlati delišes' ter ali vpliva na zmanjšanje okužb listov in plodov z jablanovim škrlupom (*Venturia inaequalis* (Cooke.) G. Wind. Aderh.). Drevesom smo z naključnim izborom priredili tri obravnavanja (integrirana pridelava – IP, obravnavanje natrijev bikarbonat – NBK in kontrola). Rezultati ocenjevanja okužbe z jablanovim škrlupom kažejo, da škropljenje z natrijevim bikarbonatom uspešno zmanjšuje okužbe listov in plodov z jablanovim škrlupom v primerjavi s kontrolo (več kot 75 % listov in plodov okuženih z jablanovim škrlupom), saj je bilo z jablanovim škrlupom okuženih od 20 do 50 % listov in do 20 % plodov. Razvoj plodov iz obravnavanja NBK (teža, trdota, razmerje sladkorji/kisline) je bil primerljiv s tistimi iz integrirane pridelave. Vsebnost skupnih fenolov v kožici je bila 10 do 13-krat večja kot v mesu ploda. Največjo vsebnost skupnih fenolov v kožici in v mesu ploda ima obravnavanje kontrola, sledi obravnavanje IP ter NBK. Plodovi vsebujejo v kožici največ hidroksicimetnih kislin, dihidrohalkonov ter flavan-3-olov v obravnavanju kontrola, medtem ko največ flavonolov vsebujejo v obravnavanju IP. Plodovi vsebujejo v mesu največ hidroksicimetnih kislin ter flavan-3-olov v obravnavanju kontrola, največjo vsebnost dihidrohalkonov ter flavonolov pa vsebujejo v IP. Škropljenje z natrijevim bikarbonatom ne vpliva na metabolizem fenolov v plodovih, vendar uspešno zmanjšuje okužbe listov in plodov z jablanovim škrlupom v primerjavi s kontrolo.

## KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dn

DC UDC 634.11:632.952:546.33'264-384.1:547.56(043.2)

CX fruit growing/apple tree/chemical composition/phenols/apple scab/*Venturia inaequalis*/fungal diseases/sodium bicarbonate/plant protection/infection

CC AGRIS H01/H20/F62

AU FINK, Domen

AA VEBERIČ, Robert (supervisor)

PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101

PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Agronomy

PY 2011

TI RESPONSE OF PHENOLIC METABOLISM IN FRUITS OF CULTIVAR 'GOLDEN DELICIOUS' APPLE TREES (*Malus domestica* Borkh.) TO THE APPLICATION OF SODIUM BICARBONATE SPRAY

DT Graduation Thesis (University studies)

NO X, 39, [3] p., 7 tab., 14 fig., 3 ann., 45 ref.

LA sl

AL sl/en

AB The purpose of this graduation thesis was to determinate, whether sodium bicarbonate (SBC) affects the metabolism in the fruits of 'Golden Delicious' apple tree cultivar, and if it affects the level of symptoms of apple scab (*Venturia inaequalis* (Cooke.) G. Wind. Aderh.) in the leaves and fruits. Three different treatments were applied (integrated production-IP, sodium bicarbonate treatment-SBC, and control) on randomly selected trees. The results show, that spraying with SBC reduced the symptoms of apple scab on the leaves and fruits when comparing with the control trees (more than 75% leaves and fruits infected with apple scab), where the leaves and fruits on SBC treated trees show, only 20-50% leaves, and up to 20% of fruits were infected. According to size, fruits didn't differ between SBC and integrated treatment. Total analyzed phenolics in the fruits skin, were 10-13 times higher than in the pulp. The highest concentration of total analysed phenolics was found in the control, followed by integrated and SBC treatments. The peel of the fruits contained the highest level of hydroxycinnamic acids, dihydrochalcones and flavan-3-ols while the highest level of flavonols was in the IP. The pulp of the fruits contained the highest level of hydroxycinnamic acids and flavan-3-ols in the control, while the highest level of dihydrochalcones in flavonols were in the IP. Spraying with SBC does not affect metabolism of phenols in the fruits, but it successfully decreases the level of apple scab infection in the leaves and fruits when comparing with the control trees.

## KAZALO VSEBINE

	str.
Ključna dokumentacijska informacija (KDI)	III
Key Words Documentation (KWD)	IV
Kazalo vsebine	V
Kazalo preglednic	VII
Kazalo slik	IX
Kazalo prilog	X
Okrajšave in simboli	XI
<b>1 UVOD</b>	<b>1</b>
1.1 POVOD ZA RAZISKAVO	1
1.2 DELOVNA HIPOTEZA	1
1.3 NAMEN RAZISKAVE	1
<b>2 PREGLED RAZISKAV</b>	<b>2</b>
2.1 JABLANOV ŠKRLUP ( <i>Venturia inaequalis</i> (Cooke) G. Wind./Aderh.)	2
2.2 NATRIJEV BIKARBONAT	3
2.3 FENOLNE SPOJINE	4
<b>3 MATERIALI IN METODE</b>	<b>8</b>
3.1 LOKACIJA SADOVNJAKA	8
<b>3.1.1 Splošne značilnosti sadovnjaka</b>	<b>8</b>
<b>3.1.2 Klimatske razmere</b>	<b>8</b>
3.1.2.1 Temperatura	9
3.1.2.2 Padavine	9
3.2 RASTLINSKI MATERIAL	10
<b>3.2.1 Sorta 'Zlati delišes' (<i>Malus domestica</i> 'Golden Delicious')</b>	<b>10</b>
<b>3.2.2 Podlaga M9</b>	<b>11</b>
3.3 METODE DELA	12
<b>3.3.1 Ocena stopnje okuženosti dreves</b>	<b>12</b>
<b>3.3.2 Trdota ploda</b>	<b>12</b>
<b>3.3.3 Masa ploda</b>	<b>12</b>
<b>3.3.4 Merjenje barve</b>	<b>12</b>
<b>3.3.5 Meritve vsebnosti sladkorjev, organskih kislin in fenolnih snovi</b>	<b>13</b>
3.3.5.1 Ekstrakcija sladkorjev in organskih kislin	13
3.3.5.2 Ekstrakcija fenolov iz kože	13
3.3.5.3 Ekstrakcija fenolov iz mesa	13
3.3.5.4 HPLC analiza	13

3.3.5.5	HPLC analiza sladkorjev in organskih kislin	14
3.3.5.6	HPLC analiza fenolnih snovi	14
3.3.5.7	Analiza skupnih fenolov	15
<b>3.3.6</b>	<b>Statistična obdelava podatkov</b>	<b>15</b>
<b>4</b>	<b>REZULTATI</b>	<b>16</b>
4.1	KARAKTERISTIKE LISTOV IN PLODOV	16
<b>4.1.1</b>	<b>Ocenjevanje okužbe listov in plodov z jablanovim škrlupom</b>	<b>16</b>
<b>4.1.2</b>	<b>Masa plodov</b>	<b>17</b>
<b>4.1.3</b>	<b>Trdota ploda</b>	<b>17</b>
<b>4.1.4</b>	<b>Parameter <math>h^\circ</math></b>	<b>18</b>
<b>4.1.5</b>	<b>Parameter <math>L^*</math></b>	<b>18</b>
<b>4.1.6</b>	<b>Vsebnost primarnih metabolitov</b>	<b>19</b>
4.2	FENOLNE SNOVI V MESU	20
<b>4.2.1</b>	<b>Hidroksicimetne kisline</b>	<b>20</b>
<b>4.2.2</b>	<b>Dihidrohalkoni</b>	<b>21</b>
<b>4.2.3</b>	<b>Flavan-3-oli</b>	<b>22</b>
<b>4.2.4</b>	<b>Flavonoli</b>	<b>23</b>
<b>4.2.5</b>	<b>Skupni fenoli</b>	<b>24</b>
4.3	FENOLNE SNOVI V KOŽICI	25
<b>4.3.1</b>	<b>Hidroksicimetne kisline</b>	<b>25</b>
<b>4.3.2</b>	<b>Dihidrohalkoni</b>	<b>26</b>
<b>4.3.3</b>	<b>Flavan-3-oli</b>	<b>27</b>
<b>4.3.4</b>	<b>Flavonoli</b>	<b>28</b>
<b>4.3.5</b>	<b>Skupni fenoli</b>	<b>29</b>
<b>5</b>	<b>RAZPRAVA</b>	<b>30</b>
5.1	ZNAČILNOSTI LISTOV IN PLODOV	30
5.2	PRIMARNI METABOLITI	31
5.3	FENOLNE SNOVI V KOŽICI IN MESU PLODA	32
<b>6</b>	<b>SKLEPI</b>	<b>34</b>
<b>7</b>	<b>POVZETEK</b>	<b>35</b>
<b>8</b>	<b>VIRI</b>	<b>36</b>

**ZAHVALA**

**PRILOGE**

## KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Preglednica 1: Razvrstitev fenolnih spojin (Abram in Simčič, 1997)	5
Preglednica 2: Okuženost listov in plodov z jablanovim škrlupom pri sorti 'Zlati delišes' pri posameznih obravnavanjih	16
Preglednica 3: Povprečna masa ploda (g) jablane sorte 'Zlati delišes' pri posameznih obravnavanjih	17
Preglednica 4: Povprečna trdota ploda (kg/cm <sup>2</sup> ) jablane sorte 'Zlati delišes' pri posameznih obravnavanjih	17
Preglednica 5: Povprečna vrednost parametra h ° za barvo kože ploda jablane sorte 'Zlati delišes' pri posameznih obravnavanjih	18
Preglednica 6: Povprečna vrednost parametra L* za barvo kože ploda jablane sorte 'Zlati delišes' pri posameznih obravnavanjih	18
Preglednica 7: Povprečna vsebnost skupnih sladkorjev (g/kg) in skupnih organskih kislin (g/kg) ter razmerje med sladkorji in kislinami v pridelanem sadju jablane sorte 'Zlati delišes' pri posameznih obravnavanjih	19



## KAZALO SLIK

	str.
Slika 1: Strukturna formula natrijevega bikarbonata ( $\text{NaHCO}_3$ )	4
Slika 2: Povprečne temperature ( $^{\circ}\text{C}$ ) po dekadah v Ljubljani v letu 2009 (Mesečni bilten ..., 2009)	9
Slika 3: Povprečne količine padavin (mm) po dekadah v Ljubljani v letu 2009 (Mesečni bilten ..., 2009)	10
Slika 4: Plodovi jablane sorte 'Zlati delišes' pri posameznih obravnavanjih	16
Slika 5: Povprečne vsebnosti hidroksicimetnih kislin (mg/100 g) v mesu ploda jablane sorte 'Zlati delišes' pri posameznih obravnavanjih	20
Slika 6: Povprečne vsebnosti dihidrohalkonov (mg/100 g) v mesu ploda jablane sorte 'Zlati delišes' pri posameznih obravnavanjih	21
Slika 7: Povprečne vsebnosti flavan-3-olov (mg/100 g) v mesu ploda jablane sorte 'Zlati delišes' pri posameznih obravnavanjih	22
Slika 8: Povprečne vsebnosti flavonolov (mg/100 g) v mesu ploda jablane sorte 'Zlati delišes' pri posameznih obravnavanjih	23
Slika 9: Povprečne vsebnosti skupnih fenolov (mg/100 g) v mesu ploda jablane sorte 'Zlati delišes' pri posameznih obravnavanjih	24
Slika 10: Povprečne vsebnosti hidroksicimetnih kislin (mg/100 g) v kožici ploda jablane sorte 'Zlati delišes' pri posameznih obravnavanjih	25
Slika 11: Povprečne vsebnosti dihidrohalkonov (mg/100 g) v kožici ploda jablane sorte 'Zlati delišes' pri posameznih obravnavanjih	26
Slika 12: Povprečne vsebnosti flavan-3-olov (mg/100 g) v kožici ploda jablane sorte 'Zlati delišes' pri posameznih obravnavanjih	27
Slika 13: Povprečne vsebnosti flavonolov (mg/100 g) v kožici ploda jablane sorte 'Zlati delišes' pri posameznih obravnavanjih	28
Slika 14: Povprečne vsebnosti skupnih fenolov (mg/100 g) v kožici ploda jablane sorte 'Zlati delišes' pri posameznih obravnavanjih	29

## KAZALO PRILOG

Priloga A1: Povprečna mesečna temperatura zraka (°C), višina padavin (mm) in odstopanja povprečnih mesečnih temperatur in padavin od povprečja 1961–1990 v rastni dobi 2009 za Ljubljano (Mesečni bilten ..., 2009)

Priloga A2: Povprečna mesečna temperature zraka (°C) ter višina padavin (mm) po dekadah v rastni dobi 2009 za Ljubljano (Mesečni bilten ..., 2009)

Priloga B: Termini škropljenja v nasadu v rastni sezoni 2009 ter koncentracija uporabljenih fitofarmaceutskih sredstev

## OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

<b>Okrajšava/simbol</b>	<b>Pomen</b>
in sod.	in sodelavci
NBK, (SBC)	natrijev bikarbonat, sodium bicarbonate
HPLC	tekočinska kromatografija visoke ločljivosti
PAL	fenilalanin amoniak liaza
SN	standardna napaka
BHT	2,6-di-tert-butil-4-metil-fenol
FFS	fitofarmacevtska sredstva
IP	integrirana pridelava

## 1 UVOD

### 1.1 POVOD ZA RAZISKAVO

V Sloveniji je jablana vodilna sadna vrsta, saj je njen delež med pomembnejšimi sadnimi vrstami okrog 71 %. Najbolj razširjena sorta v Sloveniji je 'Zlati delišes' (Štampar in sod., 2005).

Plodovi sorte 'Zlati delišes' so odlične kakovosti, vendar rastlina ni odporna na jablanov škrlup, ki ga povzroča gliva *Venturia inaequalis* (Cooke) G. Winter. To je najpomembnejša bolezen, na katero moramo biti pozorni skozi celotno rastno dobo, zato je potrebno drevesa, da bi pridelali plodove brez vidnih okužb z jablanovim škrlupom, večkrat letno škropiti s fungicidi. Gliva zmanjša kakovost plodov in zmanjša asimilacijsko površino zaradi okužb listov.

Na svetovni ravni narašča zaskrbljenost ljudi zaradi uporabe fitofarmaceutskih sredstev v živilih zaradi možnih negativnih vplivov na zdravje ljudi in okolje. Bikarbonatne soli, med njimi natrijev bikarbonat, so zato ene od številnih alternativnih možnosti nadzora bolezni. Te biokompatibilne kemikalije imajo fungicidne lastnosti, hkrati pa zelo majhno strupenost za sesalce in okolje.

Fenolne snovi so sekundarni metaboliti, ki nastajajo v rastlinah. Rastlina jih začne tvoriti zaradi različnih stresnih dejavnikov, med katere uvrščamo okužbe rastlin (virusi, glive, bakterije), vremenske razmere, mehanske poškodbe in drugo. Vsebnost fenolnih snovi ali njihova stimulirana sinteza je lahko doprinos k povečani odpornosti rastlin na razne patogene, med njimi tudi glive.

### 1.2 DELOVNA HIPOTEZA

Predvidevamo, da škropljenje z natrijevim bikarbonatom vpliva na sintezo fenolnih snovi v plodovih ter zmanjšuje okužbe listov in plodov z jablanovim škrlupom.

### 1.3 NAMEN RAZISKAVE

Ugotoviti želimo, ali škropljenje z natrijevim bikarbonatom vpliva na okuženost listov in plodov z jablanovim škrlupom ter vpliv tega postopka na metabolizem fenolov v plodovih jablane sorte 'Zlati delišes'.

## 2 PREGLED RAZISKAV

### 2.1 JABLANOV ŠKRLUP (*Venturia inaequalis* (Cooke) G. Wind./Aderh.)

Jablanov škrlup, ki ga povzroča gliva *Venturia inaequalis*, je v Sloveniji najpomembnejša in najnevarnejša bolezen jablane, ki lahko povzroči veliko gospodarsko škodo (Viršček Marn in Štampar, 1999). Okužba z jablanovim škrlupom zmanjša pridelek in kakovost plodov, okuženi plodovi s črnimi škrlupastimi pegami pa zato niso tržno zanimivi (Mikulič Petkovšek in sod., 2009). Gliva spada v deblo zaprtotrosnic (Ascomycota). Njena spolna oblika (*Venturia inaequalis*) povzroča primarne okužbe spomladi. Razvije se v okuženem, jeseni odpadlem listju čez zimo v vrečastih trosiščih (peritecij), kjer so askusi, v njih pa askospore. Nespolna oblika (*Fusicladium dendriticum*) pa povzroča sekundarne okužbe med rastno dobo in skladiščenjem. Nespolni trosi (konidiji) pa se razvijajo na pegah iz micelija tik pod povrhnjico (Maček, 1990).

Z njegovim zatiranjem imamo v sodobnih nasadih največ dela. Škrlup okužuje listje, plodove in zelene poganjke. Spomladi, konec aprila ali v začetku maja, se pojavijo na zgornji in spodnji strani listov zeleno-črne žametne nazobčane okrogle pege, ki so na spodnji strani posebno izrazite. V začetku so ločene, pozneje pa se združijo. Povrhnjica (epidermis) pod pegami je uničena in se odloči od listnega tkiva. Močno okuženo listje hira in prezgodaj odpade. V primeru hudih okužb lahko jablane, zlasti občutljivih sort, kot je 'Zlati delišes', julija povsem ogolijo. Pri tem se mladi poganjki ne morejo normalno razvijati, les ne dozori, pa tudi cvetni nastavek za drugo leto je zmanjšan (Maček, 1990).

Plodove lahko škrlup okuži v vsakem stadiju. Zgodnji škrlup se pojavi na mladih plodičih, kjer so pege v začetku velike nekaj milimetrov, motno črne s srebrnkastim robom. Pozneje oplutenijo in postanejo sivo rjave barve. Zaradi okužbe je prizadeta povrhnjica in se zato zlasti mladi plodiči ne morejo enakomerno debeliti. Plodovi so tudi razpokani. Taki po navadi prezgodaj odpadejo ali pa zgrijejo zaradi okužbe z gnilobnimi glivami. Pozna oblika škrlupa se pojavlja v obliki sivo črnih peg v okolici peclja ali muhe. Pege ostanejo po navadi majhne, povrhnjica pod njimi ne poka. Poškodbe so torej zgolj površinske, vendar kvarijo videz plodov in trajnost v shrambi. Pozni škrlup ne zmanjšuje bistveno pridelka, pač pa njegovo kakovost. Pri skladiščenju se v obilni vlagi pojavijo značilne črne žametne pege (Maček, 1990).

Gliva, ki povzroča bolezen, prezimuje v odpadlem listju. Spomladi, ko nastanejo zanjo ugodne razmere, osnuje spolna trosišča – askome v obliki peritecijev, v njih pa nastanejo spolni trosi (askospore). Z dozoritvijo se askospore sprostijo iz trosišč. Kalitev in prodiranje spore v list se konča z okužbo. Trosi se širijo iz trosišč do konca maja ali polovice junija (Gvozdenović in sod., 1988). Inkubacijska doba, ki je potrebna, da se na listu pokažejo vidna znamenja bolezni – pege, je odvisna od temperature, običajno pa traja od 10 do 17 dni (Maček, 1990). Okužba se prenaša tudi s poletnimi nespolnimi trosi (konidiji) z obolelega listja na mlade liste in plodove (Gvozdenović in sod., 1988).

Varstvo sadovnjakov pred bolezenskimi okužbami je pomemben del tehnoloških ukrepov. Že ob pripravi nasadov je treba ustvariti takšne razmere za rast in razvoj sadnih dreves, v katerih bo mogoče uporabljati čim manj sredstev za varstvo rastlin in čim več drugih varstvenih ukrepov. Za varstvo je zelo pomembna obdelava tal. Če listje podorjemo ali odstranimo, zmanjšamo infekcijski potencial bolezni, kakršna je jablanov škrlup (Gvozdenović in sod., 1988). Pregosta zasaditev pospešuje pojav jablanovega škrlupa. Zračne krošnje omogočajo hitro osušitev mokrega listja in zato ovirajo to bolezen (Maček, 1990).

Pri občutljivih sortah jablan je varstvo pred jablanovim škrlupom postalo še bolj zapleteno. V integrirani pridelavi je v rastni sezoni na občutljivih komercialnih jablanah škrlup kontroliran s 15–20 tretiranj, pri čemer uporabljamo preventivne in kurativne fungicide (Jamar in sod., 2007; Mikulič Petkovšek in sod., 2009). Tako intenzivno tretiranje ima lahko negativen vpliv na koristne organizme in pozitiven na razvoj škodljivih organizmov (Cuthbertson in Murchie, 2003).

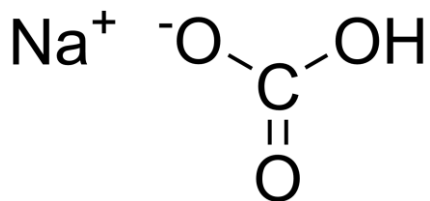
## 2.2 NATRIJEV BIKARBONAT

Množična uporaba sintetičnih fungicidov povzroča številne okoljske probleme (Ilhan in sod., 2006). Zaskrbljenost ljudi na svetovni ravni narašča z uporabo sintetičnih kemikalij na prehrabnih živilih zaradi možnih učinkov na zdravje ljudi in na okolje. Pojav odpornosti patogenov je prav tako problematičen dejavnik pri uporabi sintetičnih fungicidov (Jamar in sod., 2007). Bikarbonatne soli so ene od številnih alternativnih možnosti nadzora bolezni. Te biokompatibilne kemikalije so zlasti zanimive, ker imajo fungicidne lastnosti in so hkrati zelo malo strupene za ljudi in okolje.

Bikarbonati so bili dokazano učinkoviti za zatiranje različnih vrst gliv, vključno z organizmi, ki povzročajo kvarjenje hrane, ter rastlinskimi patogeni (Jamar in sod., 2007). Te spojine so povsod v naravi, prisotne v prehrani ljudi ter na voljo za običajne funkcije v človeškem, živalskem, rastlinskem in okoljskem sistemu (Jamar in sod., 2007). Bikarbonati povečujejo pH in osmotski tlak celic na površju listov in s tem povzročajo manj ugodne razmere za spore gliv (Palmer in sod., 1997). Visok pH na površju listov in plodov se je pokazal kot učinkovita kontrolna strategija za zatiranje jablanovega škrlupa (Washington in sod., 1998). Natrijev bikarbonat zmanjšuje celični turgor v hifah gliv, kar vodi do kolapsa in zmanjšanja micelija in spor. S tem povzroči zaviranje rasti in razmnoževanja glive (Ilhan in sod., 2006). Učinkovitost nadzora bolezni z bikarbonati je mogoče izboljšati v nekaterih primerih tako, da bikarbonate uporabljamo v kombinaciji z rastlinskimi olji, saj izboljšajo pokritost listov in ohranjajo bikarbonatne ione na površju listov (Jamar in sod., 2007).

Natrijev bikarbonat (natrijev hidrogen karbonat, soda bikarbona) je kemijska spojina s formulo  $\text{NaHCO}_3$ . Je bel, kristaliničen prašek s slanim in rahlo bazičnim okusom. Je topen

v vodi in netopen v alkoholu. Sveže pripravljene vodne raztopine dajejo z lakmusovim papirjem bazično reakcijo; bazičnost raste, če raztopina dlje časa stoji, se segreva ali meša.



Slika 1: Strukturna formula natrijevega bikarbonata ( $\text{NaHCO}_3$ )

Natrijev bikarbonat je naravna, dobro raziskana snov, prisotna v številnih živilih (Ilhan in sod., 2006). V suhem okolju je stabilen, vendar se počasi pretvarja v natrijev karbonat, ogljikov dioksid in vodo pod vplivom vlage. Pri segrevanju izgubi vodo ter ogljikov dioksid ter se pretvori v natrijev karbonat.

Škropljenje dreves jablan z 0,25 %, 0,5 % in 1,0 % vodno raztopino  $\text{NaHCO}_3$  24 ur pred in 24 ur po inokulaciji z glivo *Venturia inaequalis* znatno zmanjša resnost in pojavnost jablanovega škrlupa na listih do stopnje 6,9 % v primerjavi s stopnjo okužbe v kontroli, ki dosega 48 % (Ilhan in sod., 2006; Jamar in sod., 2007).

Rezultati, ki jih podajajo Ilhan in sod. (2006), kažejo, da uporaba NBK v 10 dnevni presledkih pri 90 % vzorčnih listov pomembno zmanjša pojav jablanovega škrlupa. Pri poskusu na sorti 'Mutsu' so ugotovili, da škropljenje z 1 % vodno raztopino natrijevega bikarbonata znatno zmanjšuje pojav bolezni na listih in plodovih, tudi ko so bile vremenske razmere zelo ugodne za razvoj bolezni.

Zaviranje razvoja jablanovega škrlupa z 1 % natrijevim bikarbonatom je lahko glavni razlog za povečanje velikosti in teže plodov v primerjavi z vodo škropljeno kontrolo in tretiranjem z 2 % natrijevim bikarbonatom, ki povzroči fitotoksičnost (Ilhan in sod., 2006).

### 2.3 FENOLNE SPOJINE

Spojine v rastlinah lahko razdelimo na dve glavni skupini: primarne in sekundarne metabolite. Sekundarne metabolite razdelimo na tri večje skupine: terpene, fenolne spojine in spojine, ki vsebujejo dušik (alkaloide) (Abram in Simčič, 1997).

Fenolne spojine so kemijsko zelo raznolika skupina, ki vsebuje preko 10.000 različnih spojin, ki izvirajo iz različnih presnovnih poti (Taiz in Zeiger, 2006). Rastlinski fenoli vsebujejo aromatski obroč, na katerega je pripeta hidroksilna funkcionalna skupina

oziroma spojine, ki izvirajo iz šikimske poti fenilpropanoidnega metabolizma (Robards in sod., 1999).

Fenolne spojine so sekundarni metaboliti, ki nastanejo iz primarnih metabolitov in so prisotni v vseh rastlinah. So strukturno raznolika in pomembna skupina sekundarnih metabolitov rastlin (Abram in Simčič, 1997). V naravi so običajno to spojine z več –OH skupinami in jih zato imenujemo tudi polifenoli (Abram, 2000). Pomen sekundarnih metabolitov dolgo ni bil znan, nato pa so ugotovili, da imajo pomembno ekološko funkcijo. So vrstno specifični, kar pomeni, da določeno spojino pogosto najdemo le v eni rastlinski vrsti oziroma v njenem ožjem sorodstvu (Taiz in Zeiger, 2006).

Več tisoč vrst polifenolov lahko razvrstimo na več načinov, uveljavila pa se je klasifikacija po številu C-atomov (Abram, 2000: 25, 30).

Preglednica 1: Razvrstitev fenolnih spojin (Abram in Simčič, 1997)

Število C-atomov	Osnovni skelet	Skupina
6	C <sub>6</sub>	enostavni fenoli
7	C <sub>6</sub> C <sub>1</sub>	hidroksibenzojske kisline
8	C <sub>6</sub> C <sub>2</sub>	fenilacetne kisline
9	C <sub>6</sub> C <sub>3</sub>	hidroksicimetne kisline, fenilpropeni, kumarini, izokumarini, kromoni
10	C <sub>6</sub> C <sub>4</sub>	naftokinoni
13	C <sub>6</sub> C <sub>1</sub> C <sub>6</sub>	ksantoni
14	C <sub>6</sub> C <sub>2</sub> C <sub>6</sub>	stilbeni, antrakinoni
15	C <sub>6</sub> C <sub>3</sub> C <sub>6</sub>	flavonoidi
18	(C <sub>6</sub> C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	lignani, neolignani
30	(C <sub>6</sub> C <sub>3</sub> C <sub>6</sub> ) <sub>2</sub>	biflavonoidi
n	(C <sub>6</sub> C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub> (C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub> (C <sub>6</sub> C <sub>3</sub> C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>	lignini, melanini, kondenzirani tanini (flavolani)

Fenolne spojine se razdelijo na enostavne fenole, fenolne kisline, naftokinone, stilbene, flavonoide, lignane, polimerne fenolne spojine pa na lignin in tanine (Abram in Simčič, 1997).

Enostavni fenoli (C<sub>6</sub>) v rastlinskem svetu niso razširjeni, medtem ko fenolne kisline najdemo skoraj povsod v rastlinah (Abram in Simčič, 1997). Fenolne kisline sestavljata dve podskupini: hidroksibenzojske in hidroksicimetne kisline. V skupino hidroksibenzojskih kislin (C<sub>6</sub>C<sub>1</sub>) spadajo galna, *p*-hidroksibenzojska, protokatehulna, vanilna in siringinska kislina. Hidroksicimetne kisline pa so aromatske spojine, ki imajo stransko verigo s tremi ogljiki (C<sub>6</sub>C<sub>3</sub>). V tej skupini so v največji meri prisotne kavna, ferulna, *p*-kumarna in sinapinska kislina (Bravo, 1998). Fenolne kisline vplivajo na lignifikacijo območja okoli mesta okužbe, kar prepreči širjenje patogena (Hamauzu, 2006).



Najbolj razširjena skupina fenolnih spojin so flavonoidi (Robards in sod., 1999). Flavonoidi so nizkomolekularne spojine, ki jih je veliko v sadju in zelenjavi. Razdelimo jih na flavone (apigenin, lutelin), flavonole (miricetin, kvercetin), flavan-3-ole (katehin, epikatehin), flavanone (naringenin), dihidroflavonole (taksifolin), antocianidine (cianidin), izoflavone (genistein), halkone (butein). Mnogi od njih so obarvani, običajno so v vakuolah, nekatere najdemo tudi v kromoplastih ali kloroplastih. Rastlinski fenoli so pomembni, saj prispevajo k okusu, vonju in barvi plodov (Abram in Simčič, 1997).

Antociani so podrazred flavonoidov, ki so pomembni za obarvanost cvetov in plodov. Cianidin je najbolj pogost antocian, cianidin 3-glukozid pa je najbolj aktiven antioksidant med antociani (Einbond in sod., 2004). Njihova barva je odvisna od pH celičnega soka in je po navadi rdeča. Antociani so v kožici plodov, pri nekaterih vrstah sadja pa tudi v parenhimu (Gvozdenović, 1989). Antociani so pri jabolkih odgovorni za rdečo barvo plodov. Taka jabolka so med kupci bolj priljubljena. Na vsebnost antocianov vplivajo tudi okoljski dejavniki, kot so temperatura in svetloba oz. senčenje. Sadjar lahko vpliva na rdečo barvo plodov tudi z rezjo, redčenjem, gnojenjem in rastlinskimi rastnimi regulatorji (Andris in Crisoto, 1996). Manjša obremenitev pomeni tudi bolj rdeče plodove (Stopar in sod., 2002).

Večinoma vse fenolne spojine nastajajo iz fenilalanina ali njegovega prekurzorja šikimske kisline (Abram in Simčič, 1997). Sintetizirajo se preko šikimske kisline, kjer sodeluje encim fenilalanin amoniak liaza (PAL), ki povzroči odcepitev molekule amoniaka od fenilalanina. Nastane trans-cimetna kislina, iz nje pa naprej cimetna in kumarna kislina ter njuni derivati (fenilpropanoidi), ki gradijo bolj kompleksne fenolne spojine (Taiz in Zeiger, 2006). Pri sintezi flavonoidov, pa se del molekule sintetizira iz acetyl CoA po malonski poti (Abram in Simčič, 1997). Ključni encim pri regulaciji biosinteze fenolnih spojin je PAL, ki iz fenilalanina katalizira nastanek cimetne kisline, prekurzorja za lignin, nekatere alkaloidne in druge rastlinske fenolne spojine.

Aktivnost encima PAL se močno poveča, kadar obsevamo rastline z rdečo ali UV svetlobo, pod vplivom mikroorganizmov ter pri poškodbah. Na sintezo fenolnih snovi vplivajo tudi okoljski dejavniki. Če je rastlina izpostavljena stresu, je vsebnost fenolnih snovi v rastlini večja (Treutter, 2001). Na vsebnost fenolnih spojin vplivajo tudi rastlinska vrsta, sorta (pri sadju), deloma pa tudi rastišče (vsebnost hranljivih snovi v tleh), podnebne razmere (temperatura, svetloba, količina padavin), agrotehnični dejavniki ter načini pridelave (Häkkinen in sod., 1999).

Mikulič Petkovšek in sod. (2010) so ugotovili, da je vsebnost skupnih fenolov v listih in plodovih jablan iz ekološke pridelave večja kot v listih in plodovih jablan iz integrirane pridelave, kar pripisujejo različnim stresnim faktorjem v nasadu. Ekološka pridelava vpliva tudi na porast antioksidativne aktivnosti v lupini jabolka, zato je uporaba neolupljenih jabolk iz ekološke pridelave priporočljiva. Jabolka iz ekološke pridelave vsebujejo več fenolov zaradi različnih stresnih dejavnikov, kot so bolezni, škodljivci, pomanjkanje hranil – vsi namreč povzročajo kopičenje fenolnih snovi (Veberič in sod., 2005).

Za fenolne spojine menijo, da prispevajo k odpornosti rastlin proti mehanskim stresom, ki so posledica poškodb zaradi insektov, okužb z glivami, bakterijami in virusi ali mehanskih poškodb. V naravi so fenolne spojine pomembne pri obrambi rastlin pred herbivori, delujejo kot kemijske signalne spojine pri cvetenju, oplojevanju in rastlinski simbiozi. Kot odgovor na stres naj bi rastline izkoristile v celici že prisotne fenolne spojine ali pa zaradi stresa nastale fenolne spojine – fitoaleksine, ki so stresni presnovki in za glive strupene snovi. Običajen odgovor rastline na stres je povečanje vsebnosti fenolnih spojin, še posebno klorogenske kisline (Abram in Simčič, 1997).

Predhodna študija (Mikulič Petkovšek in sod., 2008) je pokazala, da obstaja možna povezava med vsebnostjo fenolnih snovi v listih jablane v rastni sezoni in njihovo občutljivostjo na škrlup. Odporne sorte vsebujejo več fenolnih snovi v primerjavi z občutljivimi sortami. V odpornih sortah je večjo odpornost na jablanov škrlup mogoče pojasniti s povečanjem fenolnih snovi skozi celotno rastno dobo, medtem ko pri občutljivih sortah vsebnost teh fenolnih snovi ostaja konstantna. Kljub temu pa so navedeni avtorji mišljenja, da so fenolne spojine le eden od mehanizmov za večjo odpornost na jablanov škrlup.

Fenolne spojine prispevajo tudi k antioksidativnemu potencialu jabolka, ki pomaga nevtralizirati prekomerne koncentracije prostih radikalov v človeškem telesu. Antioksidanti so spojine, ki varujejo biološke sisteme pred poškodbami, ki jih povzročajo prosti radikali. Prosti radikali zelo hitro reagirajo z drugimi spojinami tako, da jim vzamejo elektron, ki ga potrebujejo za svojo stabilnost. Ko določeni spojini, ki ni prosti radikal, odvzamejo elektron, ta sama postane prosti radikal, kar sproži verižno reakcijo. Fenoli prekinejo to reakcijo, ko postanejo donorji vodika prostim radikalom. Antioksidativen potencial jabolka ima velik pomen, saj so po količini zaužitega sadja na prvem mestu v Sloveniji in so pomemben naraven vir flavonoidov. Kožica jabolka je bogatejša s fenolnimi snovmi kot pulpa, saj vsebuje dva do šestkrat več fenolnih spojin kot pulpa in dva do trikrat več flavonoidov. Pri jabolkih k skupni antioksidativni aktivnosti največ prispevajo flavonoidi, t.j. kvercetin in njegovi glikozidi, (-)-epikatehin, (+)-katehin (Chinnici in sod., 2004).

Mikulič Petkovšek in sod. (2008) so v svoji raziskavi potrdili že nekatere prejšnje raziskave, da je vsebnost skupnih fenolov v listih, ki so zdravi, občutno manjša kot v listih, ki so okuženi z glivo *Venturia inaequalis*. Kadar primerjamo vsebnost fenolnih snovi v zdravih in okuženih listih se izkaže, da infekcija z glivo *Venturia inaequalis* pospeši sintezo fenolnih snovi.

### **3 MATERIALI IN METODE**

#### **3.1 LOKACIJA SADOVNJAKA**

Poskus smo izvedli v rastni sezoni 2009 na drevesih jablane sorte 'Zlati delišes' na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete v Ljubljani.

##### **3.1.1 Splošne značilnosti sadovnjaka**

Drevesa jablan na podlagi M9 so bila na Laboratorijskem polju posajena leta 2001 in so brez namakalnega sistema. V nasadu izvajajo integrirano pridelavo sadja, kar pomeni uravnoteženo uporabo agrotehničnih ukrepov ob skladnem upoštevanju gospodarskih, okoljskih in toksikoloških dejavnikov (Štampar in sod., 2005).

Drevesom smo z naključnim izborom priredili tri obravnavanja:

- 1.) Obravnavanje integrirana pridelava (IP), ki je zajemalo 8 dreves, kjer smo izvajali program škropljenja po standardih za integrirano pridelavo (priloga B).
- 2.) Obravnavanje NBK, ki je zajemalo 8 dreves, kjer smo izvajali program škropljenja po standardih za integrirano pridelavo s to razliko, da smo namesto škropljenja s sintetičnimi fungicidi škropili z 1 % vodno raztopino natrijevega bikarbonata.
- 3.) Obravnavanje kontrola, ki je zajemalo 8 dreves, kjer smo izvajali program škropljenja po standardih za integrirano pridelavo s to razliko, da nismo škropili s fungicidi (isto kot IP, le brez uporabe fungicidov).

##### **3.1.2 Klimatske razmere**

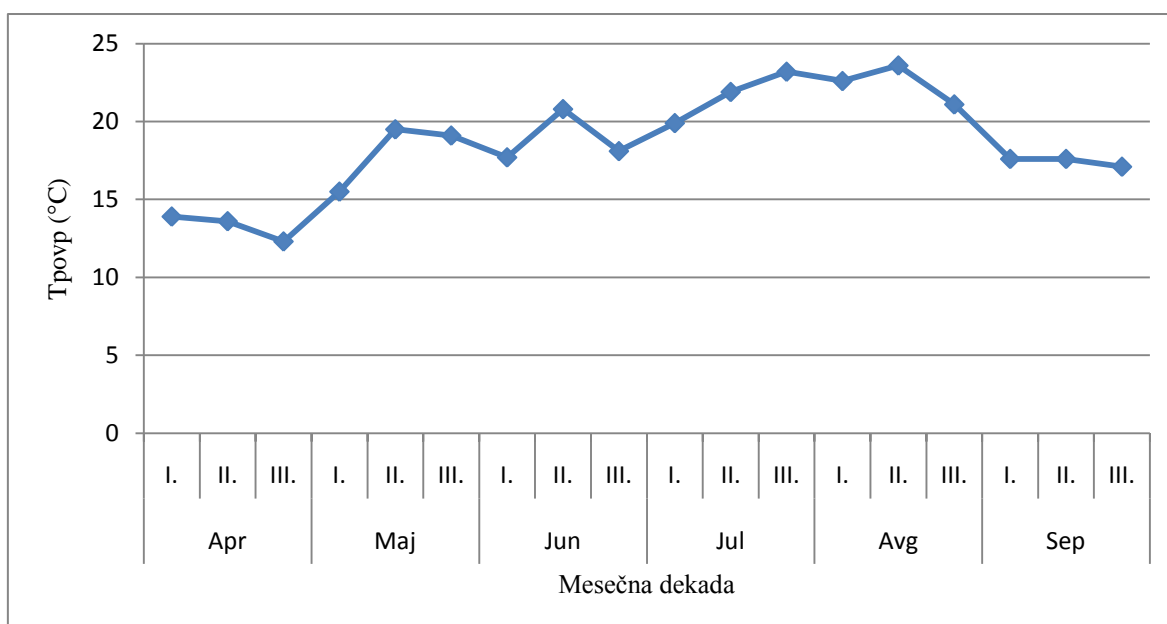
Pri pridelavi sadja so podnebne razmere pomemben dejavnik, saj vplivajo na rast in razvoj sadnega drevesa in imajo pomemben vpliv na razvoj bolezni. Najpomembnejše vrednosti meteoroloških elementov, ki opredeljujejo vreme, so temperatura, padavine, sončno obsevanje, zračna vlaga, oblačnost, smer vetra, hitrost vetra in drugi. Najpomembnejši element za razvoj jablanovega škrlupa pa je omočenost listov.

Klima predstavlja povprečno vreme v daljšem časovnem obdobju, ki naj bi bilo dolgo vsaj 30 let (Hočevar in Petkovšek, 1988).

### 3.1.2.1 Temperatura

Temperatura je skalarna količina stanja toplote in jo običajno izražamo v intervalni merski skali. Merimo jo na meteoroloških postajah v meteorološki hišici (Kajfež - Bogataj, 1996). Temperatura vpliva na količino toplote in s tem na spomladanske in zimske pozebe.

V rastni dobi 2009 je bilo v Ljubljani nadpovprečno toplo (priloga A1). Povprečne mesečne temperature v rastni dobi so bile višje od dolgoletnega povprečja (od 1,1 do 3,5 °C). Na sliki 2 so prikazane natančnejše povprečne temperature (°C) po dekadah v Ljubljani v rastni sezoni 2009.

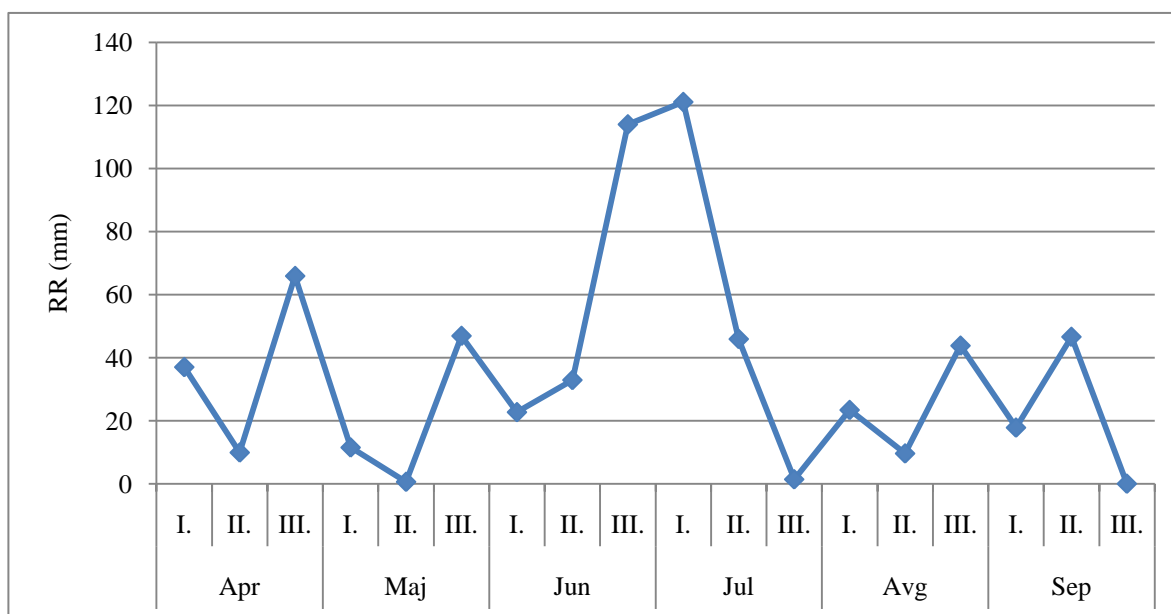


Slika 2: Povprečne temperature (°C) po dekadah v Ljubljani v letu 2009 (Mesečni bilten ..., 2009)

### 3.1.2.2 Padavine

Količino padavin izražamo v milimetrih. Podajo nam debelino plasti vode, ki bi se nabrala na ravni horizontalni površini, če voda ne bi niti pronicala niti izhlapevala niti odtekala (Hočevar in Petkovšek, 1988).

Količina padavin v aprilu je bila približno enaka, kot je dolgoletno povprečje (priloga A2). V maju je bila količina padavin precej manjša, kot je dolgoletno povprečje za tisti čas. Junija in julija so bile padavine nad dolgoletnim povprečjem, medtem ko so bile padavine avgusta in septembra zopet manjše od dolgoletnega povprečja. Na sliki 3 so prikazane povprečne količine padavin (mm) po dekadah v Ljubljani v rastni sezoni 2009.



Slika 3: Povprečne količine padavin (mm) po dekadah v Ljubljani v letu 2009 (Mesečni bilten ..., 2009)

## 3.2 RASTLINSKI MATERIAL

V raziskavo smo vključili drevesa jabolane sorte 'Zlati delišes', cepljena na podlago M9.

### 3.2.1 Sorta 'Zlati delišes' (*Malus domestica* 'Golden Delicious')

Sinonimi: 'Golden Delicious', 'začetnoe prevozhodnoe' (Črnko, 1990).

Sorta 'Zlati delišes' ('Golden Delicious') je naključni sejanec, ki ga je okrog leta 1890 v West Virginiji odkril Anderson H. Mullins, leta 1916 pa je bila uvedena v pridelavo. Njena materna sorta je 'Grimes Golden' (Godec in Jankovič, 2003). Spada med glavne sorte slovenskega sadnega izbora in je ena najbolj razširjenih sort jablan na svetu.

Drevo raste srednje bujno in razvije gosto in razprto krošnjo. 'Zlati delišes' na M9 je idealna kombinacija glede rasti in rodnosti za sodobne goste nasade z ozkim vretenom kot gojitveno obliko. Na M9 zarodi v drugem letu, nato pa redno in obilno rodi pod pogojem, da intenzivno oskrbo obvezno dopolnjuje tudi redčenje. Sodi med najbolj rodovitne sorte. Brez redčenja rodi izmenično (Črnko, 1990). Približno 70 % rodnih vej sestavljata enoletni in dvoletni rodni les, zato je treba les redno pomlajevati (Lespinasse, 1977, cit. po Gvozdenović in sod., 1988). Zelo občutljiva je na jablanov škrlup, pa tudi na viroze in bakrove pripravke ter v manjši meri na zimski mraz. Proti jablanovi pepelovki je odporna.

Je zelo prilagodljiva, za visoko kakovost plodov pa potrebuje bogata, srednje vlažna, prepustna tla ter ne pretoplo in ne prehladno podnebje (Črnko, 1990).

Je samoneoplodna sorta, zato potrebuje oprasovalne sorte, pa tudi sama je dobra oprasovalna sorta za številne sorte (Sancin, 1988).

Plodovi so srednje debeli, pa tudi debeli in koničasti. Meso je ob obiranju čvrsto, svetlo rumeno, nekoliko kiselkasto, sladko pa tedaj, ko je povsem zrelo. Kožica je suha in gladka. Plodovi so lepi in okusni, zato jih ljudje radi kupujejo. Pomanjkljivost sorte je, da so plodovi občutljivi na pritisk ter da se na plodovih velikokrat pojavi rjasta prevleka, ki je odvisna od vremenskih razmer in oskrbe (Gvozdenović in sod., 1988). Plodovi istega drevesa so po obliki precej izenačeni. Lenticеле so srednje številne, sivozelene in svetlo obrobljene ali rjaste in različno velike. Plodovi dozoriijo v drugi polovici septembra in imajo dobre skladiščne sposobnosti. Plodovi sorte imajo dolg, tanek in prožen pecelj, zaradi česar so odporni proti vetru in z dreves ne odpadajo (Viršček Marn in Stopar, 1998).

### 3.2.2 Podlaga M9

M9 je šibko rastoča podlaga, ki so jo našli leta 1879 v Franciji kot naključni sejanec, sistemizirali pa leta 1914 v Angliji (Gvozdenović in sod., 1988). Je najbolj razširjena šibko rastoča vegetativna podlaga za jabolane pri nas in v svetu in raste tako v težkih kot v lažjih tleh. Drevesa potrebujejo oporo. Najbolj uspeva v globokih, humoznih, zmerno vlažnih in prepustnih tleh. Občutljiva je na prekomerno vlago v tleh. Vpliva na zgodnjo in obilno rodnost. Plodovi so debeli in lepo obarvani. Trpežnost plodov je v prvih letih slabša, še posebej, če so predebeli in prezreli (Štampar in sod., 2005). Drevesa, cepljena na podlago M9 so nizka in so primerna za sajenje v nasadu. Drevesa na podlagi M9 dosežejo 30 % velikosti dreves sejanca (Carlson, 1969, cit. po Gvozdenović in sod., 1988).

Precej odporna je proti gnilobi koreninskega vratu (*Phytophthora cactorum*), občutljiva za jablanov škrlup (*Venturia inaequalis*) in jablanovo pepelovko (*Podosphaera leucotricha*), zelo občutljiva pa na krvavo uš (*Eriosoma lanigerum*) in hrušev ožig (*Erwinia amylovora*). Oster zimski mraz, zlasti če so na njej cepljene bujne triploidne sorte, jo močno prizadene. To in druge šibke podlage zelo rad napada voluhar. Podlaga M9 rada odganja koreninske izrastke, ki zahtevajo dodatno rez, povzročajo konkurenčnost sortam in pospešujejo okužbe z naravnim hruševim ožigom (Črnko, 1990).

### 3.3 METODE DELA

#### 3.3.1 Ocena stopnje okuženosti dreves

Okužbo listov in plodov z jablanovim škrlupom smo ocenjevali po lestvici, kjer smo vrednotili stanje okuženosti z ocenami od 1 do 9 (cit. po Veberič, 1998):

- Brez vidnih znamenj okužbe: 9.
- Nekaj malih peg – minimalna okužba: 8.
- Do 5 % listov/plodov z vsaj eno pego – slaba okužba: 6–7.
- Okoli 20 % okuženih listov/plodov – srednja okužba: 4–5.
- Okoli 50 % okuženih listov/plodov – močna okužba: 2–3.
- Nad 75 % okuženih listov/plodov – zelo močna okužba: 1.

#### 3.3.2 Trdota ploda

Trdoto smo merili s penetrometrom. Na štirih straneh ploda smo odstranili kožico ter merilno konico penetrometra potisnili v plod do globine, ki je označena na batu. Na ekranu penetrometra smo odčitali vrednost, ki smo jo dobili (izražena v kg/cm<sup>2</sup>).

#### 3.3.3 Masa ploda

Vsak plod smo očistili in z elektronsko tehtnico natančno izmerili njegovo maso.

#### 3.3.4 Merjenje barve

Za določanje barve smo uporabili kolorimeter. Na vsakem plodu smo naredili po dve meritvi.

Parameter L\* predstavlja razmerje med črno in belo bravo. Vrednosti so med 0 in 100. Vrednost 0 predstavlja črno bravo, vrednost 100 pa belo barvo.

Pri parametru h° so vrednosti med 0° in 360°. Vrednost 0° predstavlja rdečo barvo, 90° rumeno barvo, 180° zeleno barvo in 270° modro barvo (Veberič in sod., 2007).

### 3.3.5 Meritve vsebnosti sladkorjev, organskih kislin in fenolnih snovi

Analize vsebnosti sladkorjev, organskih kislin in fenolnih snovi so bile narejene na Katedri za sadjarstvo, vinogradništvo in vrtnarstvo Biotehniške fakultete v Ljubljani.

#### 3.3.5.1 Ekstrakcija sladkorjev in organskih kislin

Meso in kožico vzorčnih jabolčk smo zrezali na drobne kose in zatehtali 10 g vzorce. Vsak vzorec smo prelili s 50 ml bidestilirane vode in ga še dodatno homogenizirali z Ultra-Turraxom (Ika-Labor Technik). Vzorce smo ekstrahirali 30 minut pri sobni temperaturi in jih centrifugirali 7 min na 4 °C pri 10000 obratih/min (Eppendorf Centrifuge 5810, Hamburg, Nemčija). Supernatant smo prefiltrirali skozi 0,45 µm celulozni filter. Vzorce smo analizirali s pomočjo HPLC sistema Thermo Finnigan Surveyor s kvartetno črpalko (San Jose, USA).

#### 3.3.5.2 Ekstrakcija fenolov iz kože

Kožico smo v terilnicah strli s pomočjo tekočega dušika. Zatehtali smo dvakrat po 5 g posameznega vzorca. Vzorec smo za analizo posameznih fenolov prelili s 7 ml metanola, ki je vseboval 1 % 2,6-di-tert-butil-4-metil-fenol (BHT). Drugega smo prelili s 7 ml čistega metanola za analizo skupnih fenolov v vzorcu. Vzorce smo nato centrifugirali 7 minut na 4 °C pri 10000 obratih/minuto (Eppendorf Centrifuge 5810 R, Hamburg, Nemčija). Supernatant smo prefiltrirali skozi 0,45 µm poliamidni filter in ga nato analizirali s pomočjo HPLC sistema Thermo Finnigan Surveyor s kvartetno črpalko (San Jose, USA).

#### 3.3.5.3 Ekstrakcija fenolov iz mesa

Meso smo narezali na drobne koščke. Zatehtali smo dvakrat po 10 g posameznega vzorca. Postopek ekstrakcije je bil enak postopku ekstrakcije fenolov iz kože.

#### 3.3.5.4 HPLC analiza

Kromatografske tehnike, ki jih uporabljamo za separacijo in določanje fenolnih snovi, temeljijo na porazdelitvi vzorca med mobilno in trdno fazo (Pečavar, 1998). Molekule vzorca se premikajo le z mobilno fazo, v stacionarni fazi pa mirujejo. Cilj kromatografske analize je, da ločimo posamezne komponente vzorca in jih nato zaznamo z ustreznim detektorjem (Žorž, 1991). Kakovost ločitve je odvisna od izbire stacionarne faze, sestave mobilne faze, dimenzije sistema, temperature kolone itd. Za vse kromatografske metode velja, da je ločevanje spojin posledica različnega zadrževanja le teh na/v stacionarni fazi (HPLC nekaj osnov, 2009).



Osnova HPLC sistema je kolona, kjer potekajo pomembni procesi separacije. Retenzijski čas je definiran kot čas, ki ga komponenta prebije v koloni. Ta je značilen za določeno komponento in ga pri konstantnem pretoku lahko uporabimo za njeno identifikacijo. Detektor kromatografskega sistema zaznava posamezne komponente po prehodu skozi kolono. Rekorder zapisuje električni signal analogno v obliki kromatografskega zapisa, dobljene rezultate pa v obliki vrhov.

### 3.3.5.5 HPLC analiza sladkorjev in organskih kislin

Vzorci smo analizirali na sistemu visokoločljivostne tekočinske kromatografije (HPLC – High Performance Liquid Chromatography) proizvajalca TSP (Thermo Separation Products).

Vzorci smo analizirali po metodi Dolenc in Štampar (1997). Pri sladkorjih smo za mobilno fazo uporabili bidestilirano vodo, pri organskih kislinah pa smo uporabili 4 mM H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Pretok obeh mobilnih faz je bil enak, in sicer 0,6 ml/min, volumen injiciranja vzorca pa je znašal 20 µl. Vzorci sladkorjev smo analizirali 60 min, vzorce kislin pa 30 minut. Koncentracijo sladkorjev (fruktoza, glukoza, saharoza in sorbitol) in organskih kislin (jabolčna in citronska) smo izračunali po metodi eksterne standarda.

### 3.3.5.6 HPLC analiza fenolnih snovi

Vzorci smo analizirali s HPLC sistemom Thermo Finnigan Surveyor s kvartetno črpalko (San Jose, USA). Detekcija fenolnih spojin je potekala pri valovni dolžini 280 do 350 nm. Uporabljena je bila kolona Phenomenex Gemini C18 (150 x 4,60 mm 3 µm) pri temperaturi 25 °C. Volumen injiciranega vzorca je bil 10 µl in hitrost pretoka 1 ml/min.

Ločevanje fenolnih snovi je potekalo z mešanjem dveh mobilnih faz. Fenolne spojine smo določili s primerjavo retenzijskih časov, UV-spektrov in dodatkov standardne raztopine vzorcu, njihovo koncentracijo pa smo izračunali iz višine vrhov na kromatogramu za vzorce in ustrezne standarde. Metoda je povzeta po Mikulič Petkovšek in sod. (2007).

Fenole v mesu in kožici smo izrazili v mg/100 g sveže mase.

### 3.3.5.7 Analiza skupnih fenolov

Metoda je bila povzeta po Mikulič Petkovšek in sod. (2010). Vsebnost skupnih fenolov smo izmerili s pomočjo spektrofotometra pri valovni dolžini 765 nm. Vsebnost skupnih fenolov je izražena v mg galne kisline/100 g sveže mase kožice ali mesa ploda.

### 3.3.6 Statistična obdelava podatkov

Pridobljene podatke meritev in kemičnih analiz smo statistično obdelali s pomočjo računalniških programov MS Excell 2003 in Startgraphics plus verzija 4.0. Statistično značilne razlike smo med obravnavanji ugotavljali po metodi analize variance (ANOVA). Razlike med obravnavanji smo testirali s pomočjo testa mnogoterih primerjav (LSD test) pri tveganju  $p \leq 0,05$ . Statistično značilne razlike smo označili s črkami. Obravnavanja, pri katerih nismo ugotovili statistično značilne razlike, so označena z isto črko. V preglednicah so podane povprečne vrednosti  $\pm$  standardna napaka za opazovalni parameter.

## 4 REZULTATI

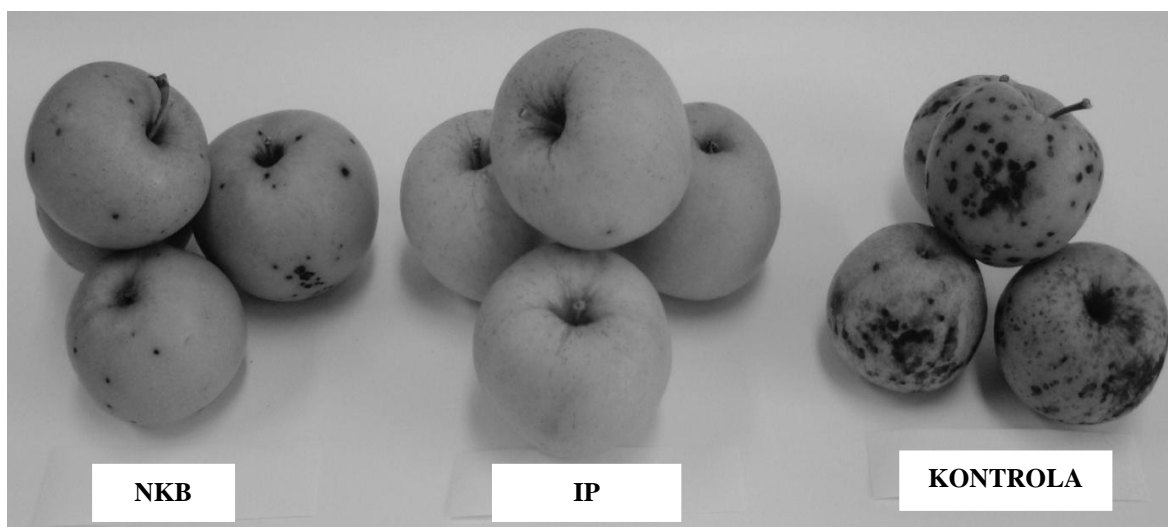
### 4.1 KARAKTERISTIKE LISTOV IN PLODOV

#### 4.1.1 Ocenjevanje okužbe listov in plodov z jablanovim škrlupom

Preglednica 2: Okuženost listov in plodov z jablanovim škrlupom pri sorti 'Zlati delišes' pri posameznih obravnavanjih

	Kontrola		IP		NBK	
	Listi	Plodovi	Listi	Plodovi	Listi	Plodovi
Ocena	1	1	8	8	3-4	4-5

Iz preglednice 2 je razvidno, da je bilo pri obravnavanju kontrola več kot 75 % listov in plodov okuženih z jablanovim škrlupom (zelo močna okužba). Pri obravnavanju IP so bili listi in plodovi ocenjeni z oceno 8, kar pomeni, da je bila okužba z jablanovim škrlupom minimalna. Pri obravnavanju NBK je bilo z jablanovim škrlupom okuženih od 20 do 50 % listov (močna do srednje močna okužba) in do 20 % plodov (srednje močna okužba) (slika 4).



Slika 4: Plodovi jablane sorte 'Zlati delišes' pri posameznih obravnavanjih

#### 4.1.2 Masa plodov

Preglednica 3: Povprečna masa ploda (g) jabolane sorte 'Zlati delišes' pri posameznih obravnavanjih

Obravnavanje	Masa (g)
Kontrola	106,29 ± 5,20 <b>a</b>
IP	154,67 ± 3,99 <b>b</b>
NBK	142,41 ± 6,09 <b>b</b>

Opomba: različne črke (a, b) pri vrednostih pomenijo statistično značilne razlike med obravnavanji (LSD test;  $p \leq 0,05$ ). Prikazane so povprečne vrednosti ± standardna napaka.

Iz preglednice 3 je razvidno, da je bila med obravnavanji največja povprečna masa ploda pri obravnavanju IP, in sicer 154,67 g, sledi obravnavanje NBK (142,41 g). Med obravnavanjema ne obstajajo statistično značilne razlike. Najmanjša povprečna masa ploda med obravnavanji je bila izmerjena pri obravnavanju kontrola (106,29 g), ki se statistično značilno razlikuje od ostalih dveh obravnavanj.

#### 4.1.3 Trdota ploda

Preglednica 4: Povprečna trdota ploda (kg/cm<sup>2</sup>) jabolane sorte 'Zlati delišes' pri posameznih obravnavanjih

Obravnavanje	Trdota (kg/cm <sup>2</sup> )
Kontrola	8,14 ± 0,16 <b>b</b>
IP	7,29 ± 0,12 <b>a</b>
NBK	7,27 ± 0,11 <b>a</b>

Opomba: različne črke (a, b) pri vrednostih pomenijo statistično značilne razlike med obravnavanji (LSD test;  $p \leq 0,05$ ). Prikazane so povprečne vrednosti ± standardna napaka.

Primerjava povprečne trdote ploda med obravnavanji je pokazala, da med obravnavanjem IP in obravnavanjem NBK ni statistično značilnih razlik, medtem ko se oba statistično značilno razlikujeta od obravnavanja kontrola (preglednica 4). Največjo povprečno trdoto smo izmerili pri obravnavanju kontrola (8,14 kg/cm<sup>2</sup>), sledi IP (7,29 kg/cm<sup>2</sup>). Najmanjšo povprečno vrednost trdote ploda med obravnavanji pa smo izmerili pri obravnavanju NBK (7,27 kg/cm<sup>2</sup>).

#### 4.1.4 Parameter $h^\circ$

Preglednica 5: Povprečna vrednost parametra  $h^\circ$  za barvo kože ploda jablane sorte 'Zlati delišes' pri posameznih obravnavanjih

Obravnavanje	$h^\circ$
Kontrola	114,10 ± 0,29 <b>a</b>
IP	114,98 ± 1,01 <b>a</b>
NBK	116,41 ± 0,42 <b>a</b>

Opomba: prikazane so povprečne vrednosti ± standardna napaka.

Pri parameteru  $h^\circ$  so vrednosti med  $0^\circ$  in  $360^\circ$ . Pri vseh obravnavanjih smo zabeležili vrednosti med  $90^\circ$  in  $180^\circ$ , kar pomeni, da so bili plodovi rumeno zelene barve.

Največjo povprečno vrednost parametra  $h^\circ$  med vsemi obravnavanji smo izmerili pri obravnavanju NBK ( $116,41^\circ$ ), sledi obravnavanje IP ( $114,98^\circ$ ) in kontrola ( $114,10^\circ$ ) (preglednica 5). Statistično značilnih razlik med obravnavanji pri 5 % tveganju za parameter  $h^\circ$  nismo dokazali.

#### 4.1.5 Parameter $L^*$

Preglednica 6: Povprečna vrednost parametra  $L^*$  za barvo kože ploda jablane sorte 'Zlati delišes' pri posameznih obravnavanjih

Obravnavanje	Parameter $L^*$
Kontrola	61,91 ± 0,42 <b>a</b>
IP	66,73 ± 0,41 <b>b</b>
NBK	61,25 ± 0,90 <b>a</b>

Opomba: različne črke (a, b) pri vrednostih pomenijo statistično značilne razlike med obravnavanji (LSD test;  $p \leq 0,05$ ). Prikazane so povprečne vrednosti ± standardna napaka.

Parameter  $L^*$  predstavlja svetlost plodov. Vrednosti so med 0 (črna barva) in 100 (bela barva). Povprečna vrednost parametra  $L^*$  vseh obravnavanj je bila 63,29, kar pomeni, da so plodovi svetlejšje barve.

Največjo povprečno vrednost parametra  $L^*$  med obravnavanji je imelo obravnavanje IP (66,73), ki se statistično značilno razlikuje od obravnavanja kontrola (61,9) in obravnavanja NBK (61,25), med katerima ni statistično značilnih razlik (preglednica 6).

#### 4.1.6 Vsebnost primarnih metabolitov

Preglednica 7: Povprečna vsebnost skupnih sladkorjev (g/kg) in skupnih organskih kislin (g/kg) ter razmerje med sladkorji in kislinami v pridelanem sadju jablane sorte 'Zlati delišes' pri posameznih obravnavanjih

Obravnavanje	Skupni sladkorji	Skupne organske kisline	Razmerje sladkorji/kisline
Kontrola	92,31 ± 3,20 <b>a</b>	6,61 ± 0,32 <b>a</b>	14,97 ± 1,14 <b>a</b>
IP	118,90 ± 3,21 <b>c</b>	6,13 ± 0,39 <b>a</b>	20,97 ± 1,57 <b>b</b>
NBK	101,24 ± 2,16 <b>b</b>	5,56 ± 0,27 <b>a</b>	18,39 ± 1,14 <b>ab</b>

Opomba: različne črke (a, b, c) pri vrednostih pomenijo statistično značilne razlike med obravnavanji (LSD test;  $p \leq 0,05$ ). Prikazane so povprečne vrednosti ± standardna napaka.

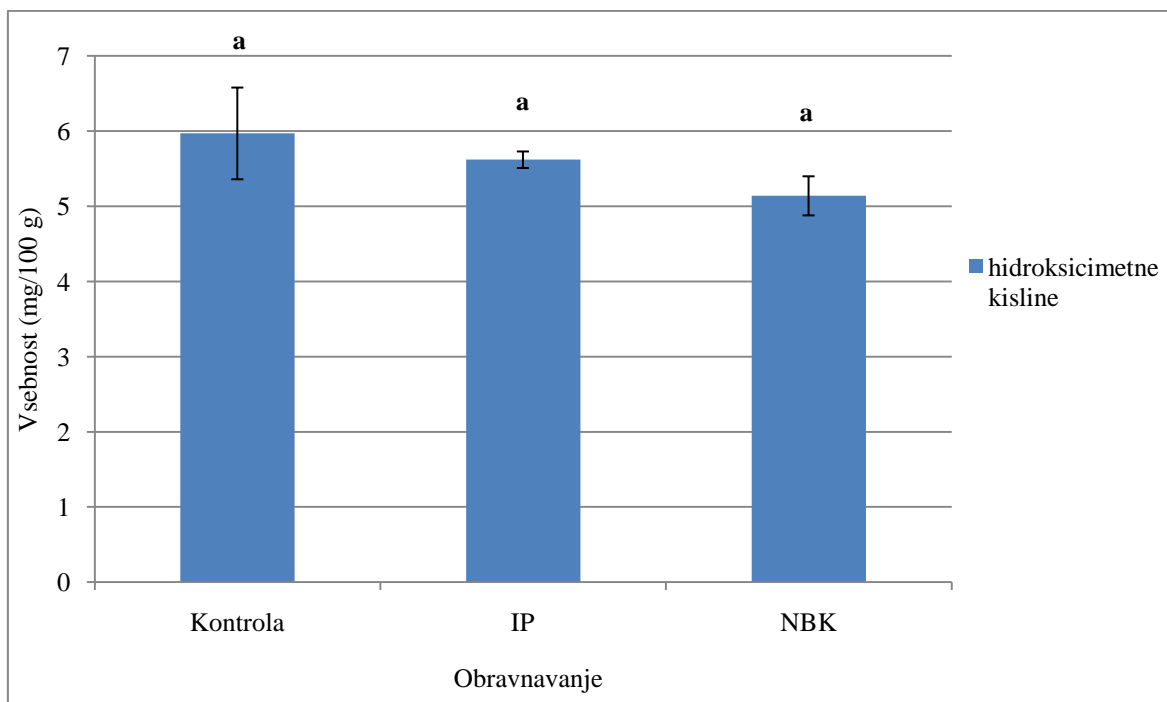
Fruktoza, glukoza, saharoza in sorbitol so sladkorji v plodu jablane, ki smo jih zajeli v analizo. Iz preglednice 7 lahko vidimo, da je vsebnost skupnih sladkorjev v plodovih sorte 'Zlati delišes' v povprečju največja pri obravnavanju IP (118,90 g/kg), sledi obravnavanje NBK (101,24 g/kg). Najmanjša povprečna vsebnost med obravnavanji pa je bila izmerjena pri obravnavanju kontrola (92,31 g/kg). Med vsemi obravnavanji obstajajo statistično značilne razlike v povprečni vsebnosti skupnih sladkorjev.

Citronska in jabolčna kislina, ki smo ju zajeli v analizo, sta organski kislini v plodu jablane. Največjo povprečno vsebnost skupnih organskih kislin (preglednica 7) je imelo obravnavanje kontrola (6,61 g/kg), sledi obravnavanje IP s 6,13 g/kg. Najmanjšo povprečno vsebnost med obravnavanji pa smo izmerili pri obravnavanju NBK (5,56 g/kg). Statistično značilnih razlik v povprečni vsebnosti skupnih organskih kislin med obravnavanji pri 5 % tveganju nismo dokazali. Povprečna vsebnost skupnih kislin se med različnimi obravnavanji bistveno ne spreminja.

Plodovi sorte 'Zlati delišes' so imeli pri vseh obravnavanjih razmerje med sladkorji in kislinami med 14,97 in 20,98 (preglednica 7). Največje razmerje je imelo obravnavanje IP (20,97), ki se statistično značilno razlikuje od obravnavanja kontrola, ki je imelo razmerje 14,97. Obravnavanje NBK je imelo razmerje 18,39 in se statistično značilno ne razlikuje od ostalih dveh obravnavanj.

## 4.2 FENOLNE SNOVI V MESU

### 4.2.1 Hidroksicimetne kisline



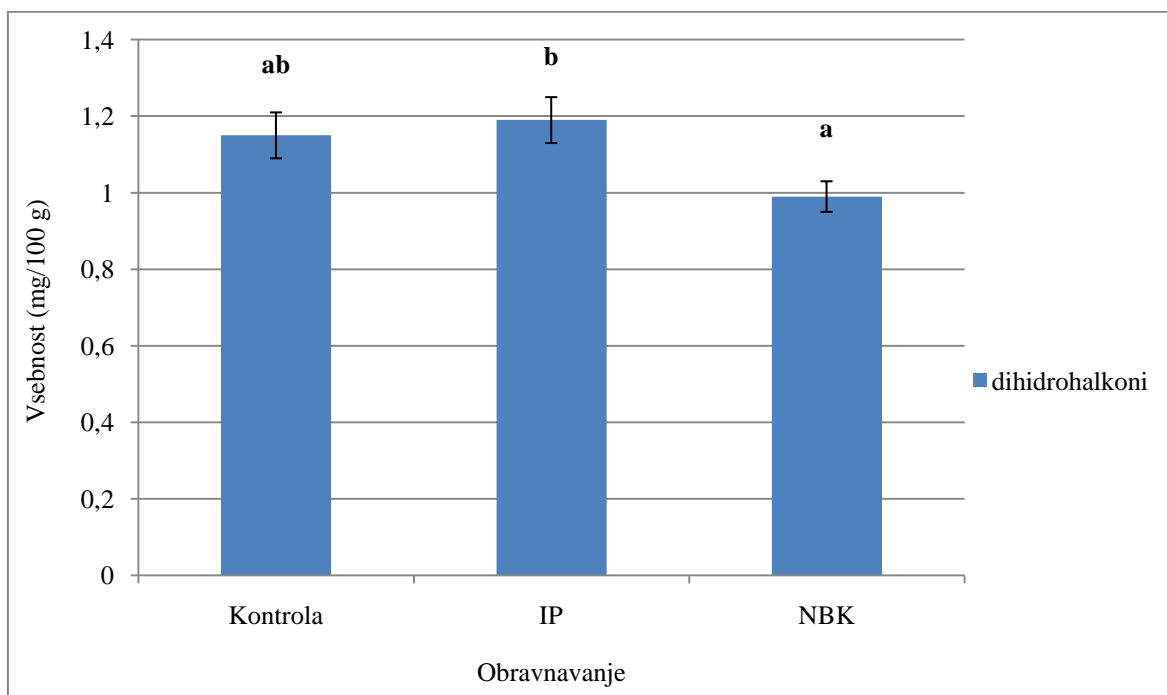
Slika 5: Povprečne vsebnosti hidroksicimetnih kislin (mg/100 g) v mesu ploda jablane sorte 'Zlati delišes' pri posameznih obravnavanjih

V mesu ploda smo analizirali naslednje hidroksicimetne kisline: klorogensko, kavno in 4-*O-p*-kumarilkininsko kislino.

Največjo povprečno vsebnost hidroksicimetnih kislin (slika 5) ima obravnavanje kontrola (5,97 mg/100 g), sledi obravnavanje IP (5,62 mg/100 g). Najmanjšo povprečno vsebnost hidroksicimetnih kislin med obravnavanji pa ima obravnavanje NBK (5,14 mg/100 g).

V našem poskusu se povprečne vsebnosti hidroksicimetnih kislin v mesu ploda med posameznimi obravnavanji razlikujejo zelo malo, zato statistično značilnih razlik pri 5 % tveganju ni.

#### 4.2.2 Dihidrohalkoni



Slika 6: Povprečne vsebnosti dihidrohalkonov (mg/100 g) v mesu ploda jablane sorte 'Zlati delišes' pri posameznih obravnavanjih

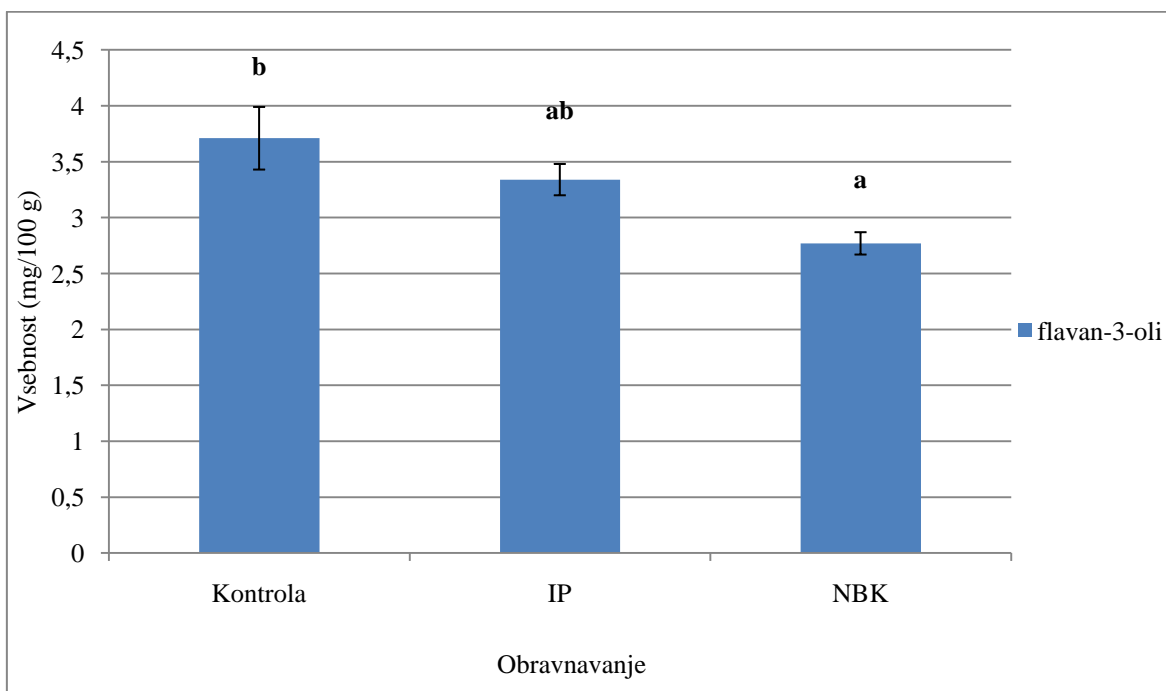
Opomba: različne črke (a, b) pri vrednostih pomenijo statistično značilne razlike med obravnavanji (LSD test;  $p \leq 0,05$ ).

Floridzin in floretin-2-*O*-ksilozid sta dihidrohalkona v mesu ploda, ki smo ju zajeli v analizo.

Največja povprečna vsebnost dihidrohalkonov (slika 6) v mesu ploda je pri obravnavanju IP (1,19 mg/100 g), najmanjša pa pri NBK (0,99 mg/100 g). Med obravnavanema obstajajo statistično značilne razlike. Pri obravnavanju kontrola je povprečna vsebnost dihidrohalkonov 1,15 mg/100 g in se statistično značilno ne razlikuje od ostalih dveh obravnavanj.



### 4.2.3 Flavan-3-oli



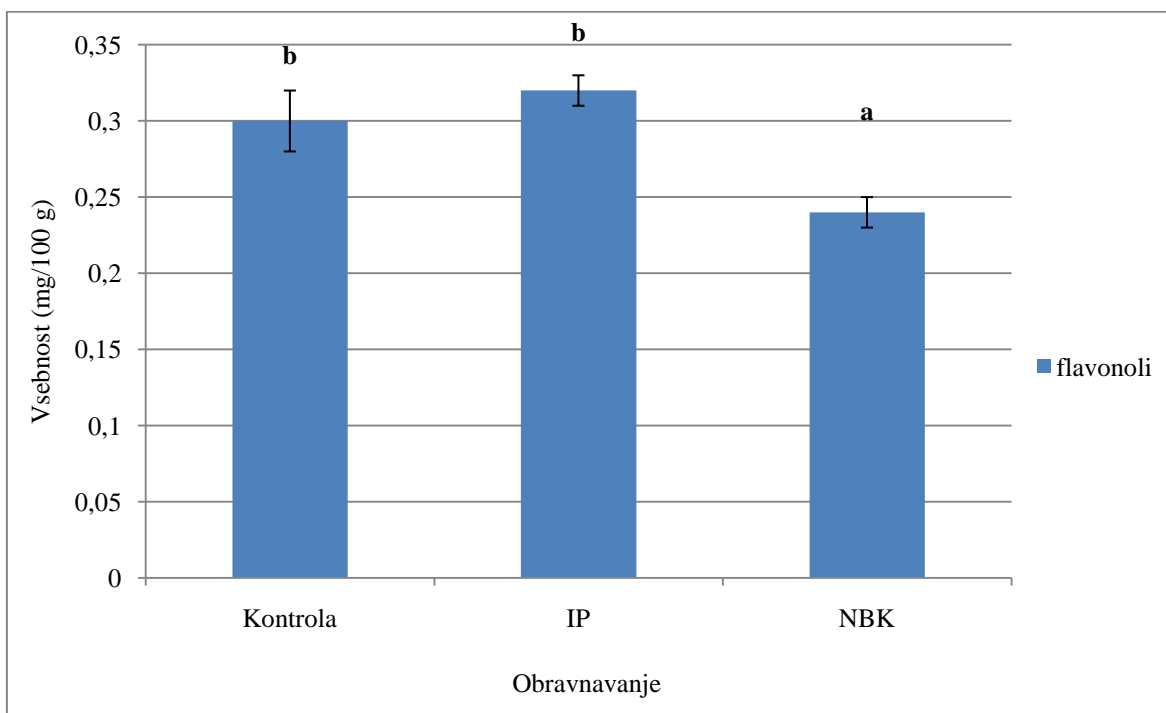
Slika 7: Povprečne vsebnosti flavan-3-olov (mg/100 g) v mesu ploda jablane sorte 'Zlati delišes' pri posameznih obravnavanjih

Opomba: različne črke (a, b) pri vrednostih pomenijo statistično značilne razlike med obravnavanji (LSD test;  $p \leq 0,05$ ).

V mesu ploda smo analizirali naslednje flavan-3-ole: katehin, epikatehin, procianidin B2, procianidin trimer ter dva procianidin dimera.

S slike 7 je razvidno, da ima med obravnavanji največjo povprečno vsebnost flavan-3-olov obravnavanje kontrola (3,71 mg/100 g), najmanjšo pa NBK (2,77 mg/100 g), med katerima tudi obstajajo statistično značilne razlike. Obravnavanje IP ima povprečno vsebnost flavan-3-olov 3,34 mg/100 g in se statistično značilno ne razlikuje od ostalih dveh obravnavanj.

#### 4.2.4 Flavonoli



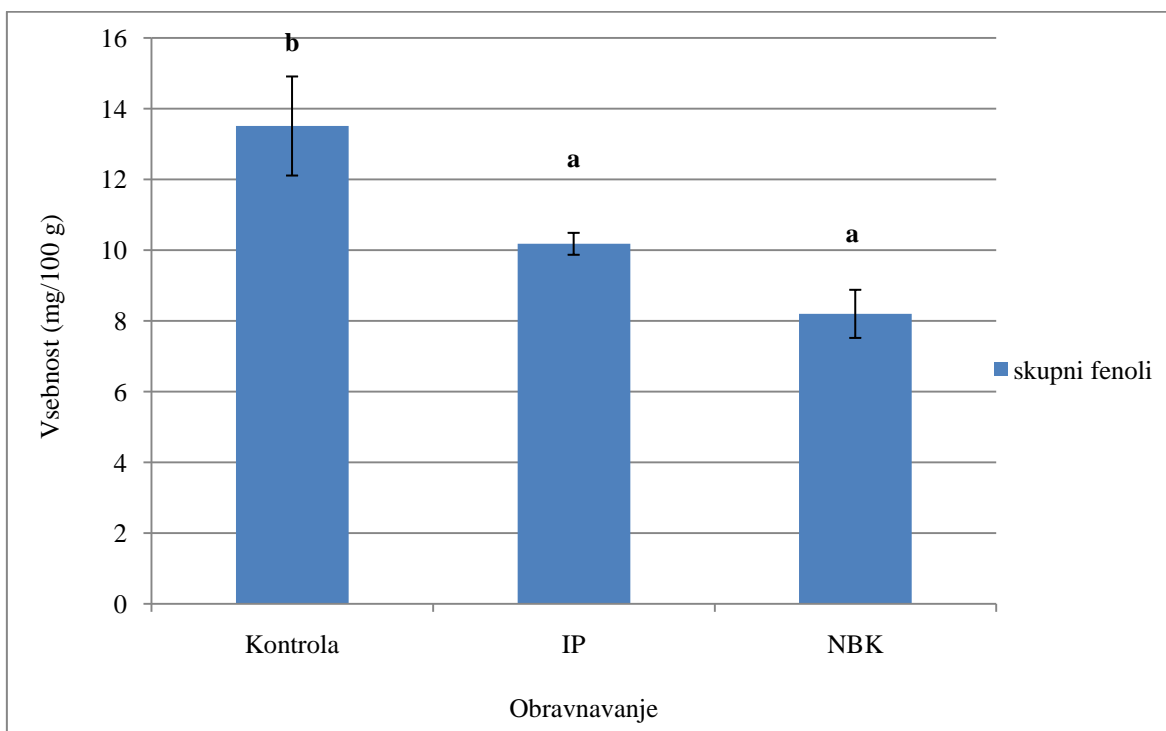
Slika 8: Povprečne vsebnosti flavonolov (mg/100 g) v mesu ploda jablane sorte 'Zlati delišes' pri posameznih obravnavanjih

Opomba: različne črke (a, b) pri vrednostih pomenijo statistično značilne razlike med obravnavanji (LSD test;  $p \leq 0,05$ ).

Q-3-O-ramnozid, Q-3-O-arabinofuranozid, Q-3-O-glukozid, Q-3-O-ksilozid in Q-3-O-galaktozid so flavonoli v mesu ploda, ki smo jih zajeli v analizo.

S slike 8 je razvidno, da ima med obravnavanji najmanjšo povprečno vsebnost flavonolov obravnavanje NBK (0,24 mg/100 g), ki se statistično značilno razlikuje od obravnavanj IP (0,32 mg/100 g) in kontrola (0,30 mg/100 g), med katerima ni statistično značilnih razlik.

#### 4.2.5 Skupni fenoli



Slika 9: Povprečne vsebnosti skupnih fenolov (mg/100 g) v mesu ploda jablane sorte 'Zlati delišes' pri posameznih obravnavanjih

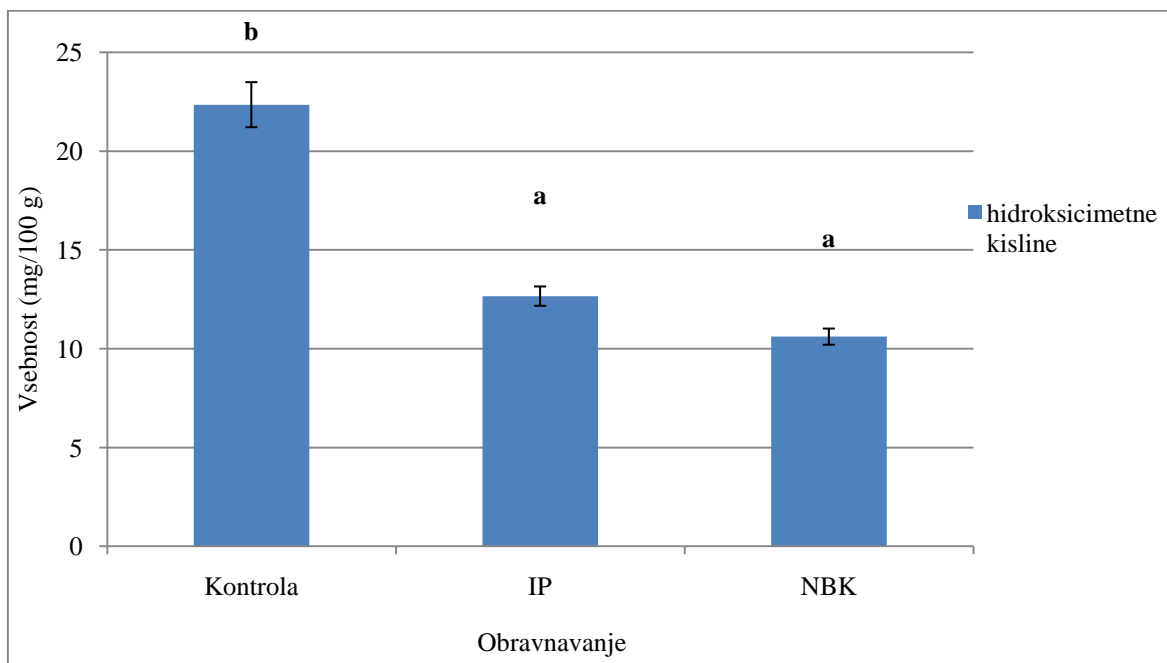
Opomba: različne črke (a, b) pri vrednostih pomenijo statistično značilne razlike med obravnavanji (LSD test;  $p \leq 0,05$ ).

Meritve so pokazale (slika 9), da je povprečna vsebnost skupnih fenolov v mesu ploda jablane sorte 'Zlati delišes' največja pri obravnavanju kontrola (13,51 mg/100 g), ki se statistično značilno razlikuje od obravnavanj IP (10,18 mg/100 g) in NBK (8,20 mg/100 g), med katerima ni statistično značilnih razlik.

V našem poskusu smo ugotovili, da obravnavanje NBK v povprečju vsebuje do 19,4 % manj skupnih fenolov kot obravnavanje IP ter do 39,3 % manj skupnih fenolov kot obravnavanje kontrola.

### 4.3 FENOLNE SNOVI V KOŽICI

#### 4.3.1 Hidroksicimetne kisline



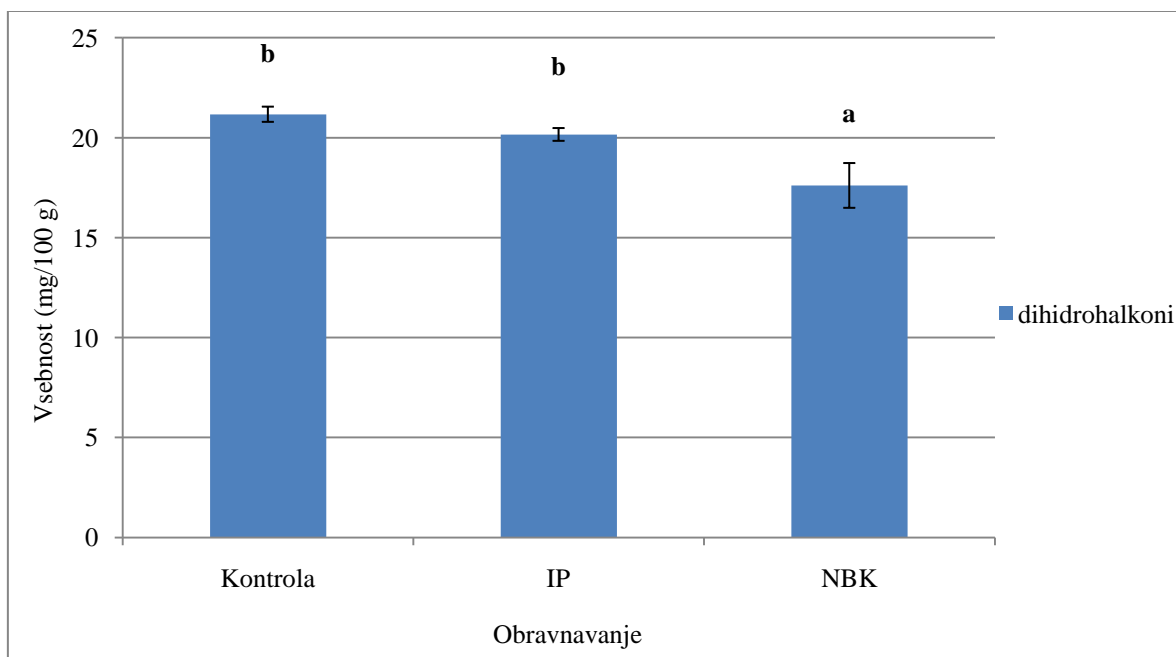
Slika 10: Povprečne vsebnosti hidroksicimetnih kislin (mg/100 g) v kožici ploda jablane sorte 'Zlati delišes' pri posameznih obravnavanjih

Opomba: različne črke (a, b) pri vrednostih pomenijo statistično značilne razlike med obravnavanji (LSD test;  $p \leq 0,05$ ).

V kožici ploda smo analizirali naslednje hidroksicimetne kisline: klorogensko, 4-*O*-*p*-kumarilkininsko in kavno kislino.

Največjo povprečno vsebnost hidroksicimetnih kislin (slika 10) ima obravnavanje kontrola (22,35 mg/100 g), ki se statistično značilno razlikuje od povprečnih vsebnosti pri obravnavanjih IP (12,66 mg/100 g) in NBK (10,6 mg/100 g), med katerima ni statistično značilnih razlik.

### 4.3.2 Dihidrohalkoni



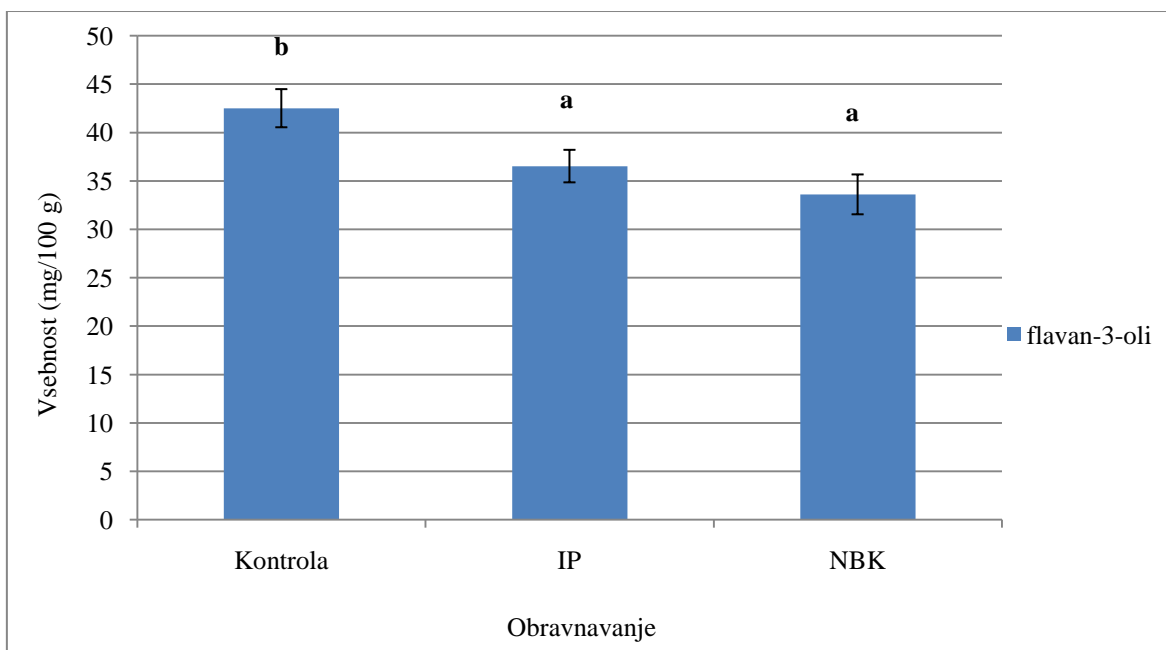
Slika 11: Povprečne vsebnosti dihidrohalkonov (mg/100 g) v kožici ploda jablane sorte 'Zlati delišes' pri posameznih obravnavanjih

Opomba: različne črke (a, b) pri vrednostih pomenijo statistično značilne razlike med obravnavanji (LSD test;  $p \leq 0,05$ ).

Floridzin in floretin-2-*O*-ksilozid sta dihidrohalkona v kožici ploda, ki smo ju zajeli v analizo.

Največjo povprečno vsebnost dihidrohalkonov (slika 11) imata obravnavanji kontrola (21,17 mg/100 g) in IP (20,16 mg/100 g), med katerima ni statistično značilnih razlik, najmanjšo pa obravnavanje NBK (17,61 mg/100 g), ki se statistično značilno razlikuje od drugih dveh obravnavanj.

### 4.3.3 Flavan-3-oli



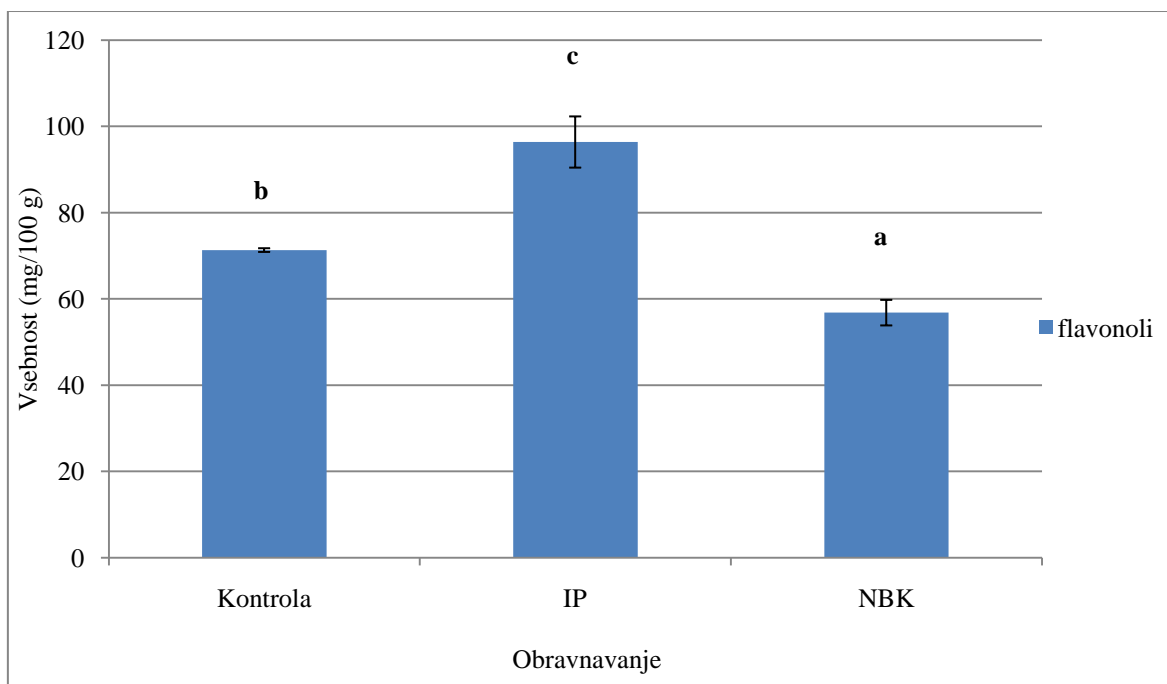
Slika 12: Povprečne vsebnosti flavan-3-olov (mg/100 g) v kožici ploda jabolane sorte 'Zlati delišes' pri posameznih obravnavanjih

Opomba: različne črke (a, b) pri vrednostih pomenijo statistično značilne razlike med obravnavanji (LSD test;  $p \leq 0,05$ ).

V kožici ploda smo analizirali naslednje flavan-3-ole: katehin, epikatehin, procianidin dimer ter procianidin B2.

S slike 12 je razvidno, da ima med obravnavanji največjo povprečno vsebnost flavan-3-olov obravnavanje kontrola (42,51 mg/100 g), ki se statistično značilno razlikuje od obravnavanj IP (36,53 mg/100 g) in NBK (33,61 mg/100 g), med katerima pa ni statistično značilnih razlik.

#### 4.3.4 Flavonoli



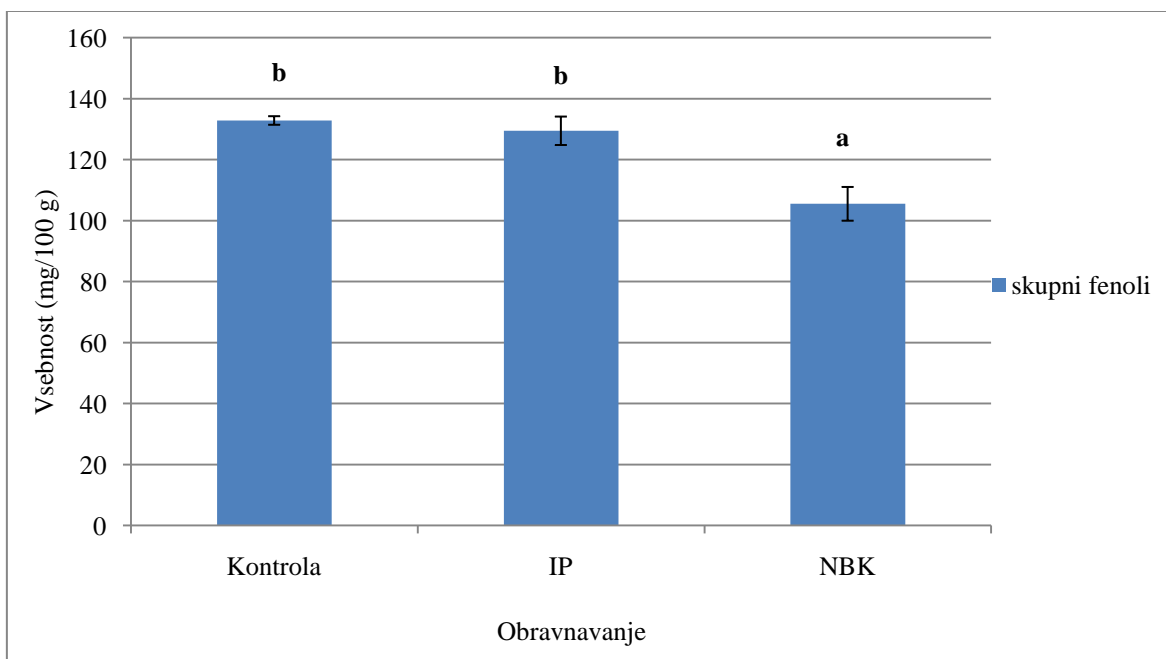
Slika 13: Povprečne vsebnosti flavonolov (mg/100 g) v kožici ploda jablane sorte 'Zlati delišes' pri posameznih obravnavanjih

Opomba: različne črke (a, b, c) pri vrednostih pomenijo statistično značilne razlike med obravnavanji (LSD test;  $p \leq 0,05$ ).

Q-3-O-arabinofuranozid, Q-3-O-arabinopiranozid, Q-3-O-galaktozid, Q-3-O-glukozid, Q-3-O-ramnozid, Q-3-O-rutinozid in Q-3-O-ksilozid so flavonoli v kožici ploda, ki smo jih zajeli v analizo.

S slike 13 je razvidno, da ima med obravnavanji največjo povprečno vsebnost flavonolov obravnavanje IP (96,36 mg/100 g), sledi obravnavanje kontrola (71,30 mg/100 g). Obravnavanje NBK (56,79 mg/100 g) ima v povprečju skoraj polovico manj flavonolov kot obravnavanje IP. Med vsemi tremi obravnavanji obstajajo statistično značilne razlike v povprečni vsebnosti flavonolov v kožici ploda.

#### 4.3.5 Skupni fenoli



Slika 14: Povprečne vsebnosti skupnih fenolov (mg/100 g) v kožici ploda jablane sorte 'Zlati delišes' pri posameznih obravnavanjih

Opomba: različne črke (a, b) pri vrednostih pomenijo statistično značilne razlike med obravnavanji (LSD test;  $p \leq 0,05$ ).

Meritve so pokazale (slika 14), da je povprečna vsebnost skupnih fenolov v kožici ploda jablane sorte 'Zlati delišes' največja pri obravnavanju kontrola (132,82 mg/100 g), ki se statistično značilno ne razlikuje od obravnavanja IP (129,44 mg/100 g). Najmanjšo povprečno vsebnost skupnih fenolov vsebuje obravnavanje NBK (105,49 mg/100 g), ki se statistično značilno razlikuje od ostalih dveh obravnavanj.

V našem poskusu smo ugotovili, da obravnavanje NBK v povprečju vsebuje do 18,5 % manj skupnih fenolov kot obravnavanje IP ter do 20,6 % manj skupnih fenolov kot obravnavanje kontrola.



## 5 RAZPRAVA

### 5.1 ZNAČILNOSTI LISTOV IN PLODOV

Jablana sorte 'Zlati delišes' je zelo občutljiva na jablanov škrlup, zato so bili listi in plodovi pri obravnavanju kontrola (s fungicidi neškropljeno) zelo močno okuženi. Pri obravnavanju kontrola je bilo več kot 75 % listov in plodov okuženih z jablanovim škrlupom, medtem ko je bila pri obravnavanju integrirana pridelava (IP) okužba minimalna. Na listih in plodovih dreves, ki smo jih škropili z 1 % vodno raztopino natrijevega bikarbonata (NBK), smo opazili uspešno zmanjšanje okužb z jablanovim škrlupom v primerjavi s kontrolo. Pri obravnavanju NBK je bilo z jablanovim škrlupom okuženih 20–50 % listov in do 20 % plodov. Kjer je bila okužba prisotna, je bila v manjšem obsegu (nekaj peg). Na poganjkih, ki so priraščali manj, je bil pojav okužb z jablanovim škrlupom proti koncu vej manj opazen (in obratno). Pri kontroli je razvoj listov in plodov zelo zaostal, saj praktično ni bilo lista ali ploda, ki ne bi bil močno okužen z jablanovim škrlupom, medtem ko so bili pri škropljenju z NBK bistveno manj okuženi. Razvoj plodov (teža, trdota, razmerje sladkorji/kislina) in listov iz obravnavanja NBK je bil primerljiv z razvojem tistih iz obravnavanja IP.

Ilhan in sod. (2006) poročajo, da tretiranje z 1 % vodno raztopino NBK na jablani sorte 'Mutsu' znatno zmanjšuje pojavnost in škodo, ki jo povzroča jablanov škrlup na listih in plodovih (96,5 % uspešnost) v primerjavi s kontrolo. Rezultati poskusa, ki so ga *in vitro* izvedli Jamar in sod. (2007) kažejo, da škropljenje z vodno raztopino NBK 24 ur pred in 24 ur po umetni okužbi z glivo *Venturia inaequalis* zmanjša pojav bolezni jablanovega škrlupa do stopnje 6,9 %, v primerjavi s stopnjo okužbe kontrole, ki je od 41 do 48,5 %.

Najmanjša povprečna masa ploda je bila izmerjena pri kontroli, sledita obravnavanja NBK in IP, med katerima ni statistično značilnih razlik. Jamar in sod. (2007) in Ilhan in sod. (2006) poročajo, da škropljenje z NBK vpliva na kakovost pridelanega sadja. Zaviranje razvoja jablanovega škrlupa z vodno raztopino NBK je lahko glavni razlog za povečanje mase plodov v primerjavi s kontrolo (Ilhan in sod., 2006).

Plodovi so pri obravnavanju kontrola imeli med vsemi obravnavanji največjo povprečno trdoto (8,14 kg/cm<sup>2</sup>), kar je verjetno posledica zelo močne okužbe z jablanovim škrlupom, ki je povzročila, da je razvoj plodov zaostal. Razvoj plodov iz obravnavanja NBK je bil primerljiv z razvojem tistih iz obravnavanja IP, zato se povprečna trdota plodov med obravnavanjem NBK (7,27 kg/cm<sup>2</sup>) in obravnavanjem IP (7,29 kg/cm<sup>2</sup>) praktično ni razlikovala. Vidic (2009) je zabeležil pri sorti 'Zlati delišes' povprečno vrednost trdote ploda 7,14 kg/cm<sup>2</sup>, kar je v skladu z našimi rezultati. V sedmih dneh s povprečnimi temperaturami nad 25 °C podnevi in 12 °C ponoči se trdota zmanjša za vrednost od 0,5 do 1,0 kg/cm<sup>2</sup> (Štampar in sod., 2005).

Pri ugotavljanju barve plodov ima parameter  $L^*$  vrednosti med 0 (črna barva) in 100 (bela barva). Obravnavanje IP (66,73) se statistično značilno razlikuje od kontrole (61,91) in NBK (61,25). Iz podatkov je razvidno, da so plodovi svetlejše barve.

Pri parametru  $h^\circ$  ni statistično značilnih razlik med obravnavanji. Najmanjšo izmerjeno vrednost je imelo obravnavanje kontrola ( $114,10^\circ$ ), sledi NBK ( $116,41^\circ$ ) in IP ( $114,98^\circ$ ). Pri parametru  $h^\circ$  so vrednosti med  $0^\circ$  in  $360^\circ$ , kjer je  $0^\circ$  rdeča barva,  $90^\circ$  rumena barva,  $180^\circ$  zelena barva in  $270^\circ$  modra barva. Pri vseh obravnavanjih smo zabeležili vrednosti med  $90^\circ$  in  $180^\circ$ , kar pomeni, da so plodovi rumeno zelene barve.

## 5.2 PRIMARNI METABOLITI

Največjo povprečno vsebnost skupnih sladkorjev v plodovih jabolane smo izmerili pri obravnavanju IP (118,90 g/kg), sledi NBK (101,24 g/kg) in kontrola (92,31 g/kg), medtem ko Hecke in sod. (2005) poročajo, da ima sorta 'Zlati delišes' v integrirani pridelavi povprečno vsebnost skupnih sladkorjev 135 g/kg. V času zorenja sadja ima vsebnost sladkorja dinamičen vzorec (Hecke in sod., 2005). Vidic (2009) je pri meritvi skupnih sladkorjev v plodovih jabolane sorte 'Zlati delišes' izmeril večjo vsebnost skupnih sladkorjev pri večjih obremenitvah.

Povprečna vsebnost skupnih organskih kislin v plodovih jabolane se je gibala med 6,61 g/kg (kontrola) in 5,56 g/kg (NBK), kar se ujema z rezultati Hecke in sod. (2005), ki so izmerili v integrirani pridelavi pri sorti 'Zlati delišes' povprečno vsebnost skupnih organskih kislin v plodovih jabolane 6,26 g/kg. V nasprotju z našimi rezultati pa je Vidic (2009) v plodovih jabolane sorte 'Zlati delišes' izmeril povprečno vsebnost skupnih organskih kislin 13,79 g/kg, kar bi lahko bila posledica slabega dozorevanja plodov. Z dozorevanjem se vsebnost kislin zmanjšuje. To zmanjševanje je odvisno od temperatur v okolju. Če so temperature visoke, se kisline zelo hitro zmanjšujejo (Štampar in sod., 2005).

Razmerje sladkorji/kislina je odgovorno za okus in aromo jabolka. Različna vsebnost sladkorjev in kislin se lahko spreminja glede na vreme in tla (Hecke in sod., 2005). V našem poskusu so imeli najmanjše razmerje sladkorji/kislina plodovi obravnavanja kontrola (14,87), kar je bila verjetno posledica zaostalega razvoja plodov zaradi močne okužbe z jablanovim škrlupom. Plodovi obravnavanja kontrola so bili nerazviti, imeli so manjšo težo, bili so bolj trdi ter bolj kisli kot plodovi pri ostalih dveh obravnavanjih, kjer je bilo razmerje sladkorji/kislina večje. Razvoj plodov iz obravnavanja NBK je bil primerljiv z razvojem tistih iz obravnavanja IP. Pri obravnavanju NBK so imeli plodovi razmerje sladkorji/kislina 18,39, medtem ko so imeli pri obravnavanju fungicidi 20,97, kar je blizu rezultatom Hecke in sod. (2005), ki so izmerili v integrirani pridelavi pri sorti 'Zlati delišes' razmerje sladkorji/kislina 21,56, kar uvršča jabolko v kategorijo sladkega okusa.

### 5.3 FENOLNE SNOVI V KOŽICI IN MESU PLODA

Hidroksicimetne kisline predstavljajo prvo večjo skupino v biosintetski poti fenolnih spojin (Slatnar in sod., 2010). V kožici in v mesu plodov smo zabeležili hidroksicimetne kisline, ki jih je v kožici ploda pri obravnavanju IP in NBK približno enkrat več, pri kontroli pa 3-krat več kot v mesu.

Mikulič Petkovšek in sod. (2010) poročajo, da je ekološka pridelava jabolk povzročila povečanje hidroksicimetnih kislin za 10–160 % v mesu in za 20–220 % v kožici v primerjavi z integrirano pridelavo. Mikulič Petkovšek in sod. (2009) so v svoji raziskavi ugotovili, da zdrava kožica ploda 'Zlati delišes' vsebuje do 4-krat manj hidroksicimetnih kislin kot okužena kožica ter do 7,6-krat manj hidroksicimetnih kislin kot mejno tkivo okoli okužbe. Slatnar in sod. (2010) so v svoji raziskavi prišli do podobnih rezultatov. Ugotovili so, da z jablanovim škrlupom okužena kožica ploda sorte 'Zlati delišes' vsebuje do 4-krat več hidroksicimetnih kislin kot zdravo tkivo ter kot mejno tkivo okoli okužbe.

Običajni odgovor rastline na stres je povečanje vsebnosti fenolnih spojin, tudi hidroksicimetnih kislin (Abram in Simčič, 1997). Fenole spojine lahko prispevajo k odpornosti jablane na glivo *Venturia inaequalis*. Tak primer so tudi hidroksicimetne kisline, ki zavirajo rast glive *Venturia inaequalis* (Mikulič Petkovšek in sod., 2009). Pomembna ugotovitev v naši raziskavi je, da okužba z glivo povzroči povečanje vsebnosti hidroksicimetnih kislin v kožici in mesu ploda.

Vsebnost dihidrohalkonov v kožici je 16 do 19-krat večja kot v mesu. Mikulič Petkovšek in sod. (2010) potrjujejo naše rezultate, saj so izmerili v kožici 15 do 30-krat več dihidrohalkonov kot v mesu. Škropljenje z NBK lahko izvajamo v ekološki pridelavi. V našem poskusu smo izmerili, da so imeli plodovi pri obravnavanju IP večjo vsebnost dihidrohalkonov kot pri obravnavanju NBK, kar je v nasprotju z rezultati, ki jih podajajo Chinnici in sod. (2004), da je vsebnost dihidrohalkonov večja v sadju organske kot v sadju integrirane pridelave. Mikulič Petkovšek in sod. (2009) so v svoji raziskavi ugotovili, da je vsebnost dihidrohalkonov pri sorti 'Zlati delišes' v zdravi kožici 30 do 110 % manjša v primerjavi z jablanovim škrlupom okuženo kožico in do 190 % manjša kot v mejnem tkivu okoli okužbe. Slatnar in sod. (2010) poročajo, da zdrava kožica sorte 'Zlati delišes' vsebuje manj dihidrohalkonov kot okuženo tkivo ter mejno tkivo okoli okužbe.

Zelo velik delež skupnih fenolov predstavljajo flavan-3-oli, katerih vsebnost je v kožici in mesu ploda najmanjša pri obravnavanju NBK, največja pa pri obravnavanju kontrola. Mikulič Petkovšek in sod. (2009) poročajo, da je vsebnost flavan-3-olov pri sorti 'Zlati delišes' v zdravi lupini od 20 do 100 % manjša v primerjavi z jablanovim škrlupom okuženo lupino ter do 150 % manjša kot v mejnem tkivu okoli okužbe. Slatnar in sod. (2010) pa so v svoji raziskavi ugotovili, da ima mejno tkivo okoli okužbe do 40 % več flavan-3-olov kot zdrava in okužena lupina ploda sorte 'Zlati delišes'. Mikulič Petkovšek in sod. (2010) so prišli do zaključka, da je stopnja flavan-3-olov v kožici in mesu ploda v

integrirani pridelavi manjša kot v ekološki pridelavi. Prav tako odporne sorte vsebujejo več flavan-3-olov kot občutljive sorte. Trditev potrjujejo Leser in Treutter (2005), ki poročata, da odporna sorta 'Rawena' vsebuje več flavan-3-olov kot občutljiva sorta 'Zlati delišes'.

Flavan-3-oli so prekurzorji za tanine, za katere je znano, da se radi vežejo z beljakovinami in tako posledično zavirajo encime, ki jih izločajo različne patogene glive (Mikulič Petkovšek in sod., 2009; Mikulič Petkovšek in sod., 2010).

Flavonoli so v naši raziskavi količinsko najpomembnejša skupina fenolov v kožici in najmanj pomembna v mesu ploda. Škropljenje z NBK lahko izvajamo v ekološki pridelavi. V našem poskusu so imeli plodovi obravnavanja NBK 30–120 % manj flavanolov kot plodovi pri obravnavanju IP, kar se ujema z rezultati Chinnici in sod. (2004), ki so prišli do zaključka, da je bilo v integrirani pridelavi pri sorti 'Zlati delišes' več flavanolov kot v ekološki pridelavi, medtem ko Mikulič Petkovšek in sod. (2010) poročajo, da imajo plodovi v ekološki pridelavi večjo vsebnost flavanolov kot tisti v integrirani. Mikulič Petkovšek in sod. (2009) poročajo, da je v zdravi kožici sorte 'Zlati delišes' vsebnost flavanolov do 100 % manjša kot v okuženi kožici ter do 300 % manjša kot v mejnem tkivu okoli okužbe. Slatnar in sod. (2010) pa so v svoji raziskavi ugotovili, da zdrava kožica ploda sorte 'Zlati delišes' vsebuje do 40 % več flavanolov kot okužena lupina ter do 90 % manj kot mejno tkivo okoli okužbe. Verjetna razlaga je lahko transport flavanolov v tkivo okoli okužbe za tvorbo ovire kot del obrambnega mehanizma rastline, da prepreči širjenje glive (Slatnar in sod., 2010).

Okužba z jablanovim škrlupom lahko vpliva na večjo vsebnost flavanolov, kar je posledica tega, da flavonole, ki so antimikrobne spojine, tvori rastlina kot odgovor na okužbo s patogenom. Chinnici in sod. (2004) poročajo, da se v sadju, okuženem z glivo *Venturia inaequalis*, poveča sinteza flavanolov, ki na mestu okužbe omejujejo širjenje glive.

Vsebnost skupnih fenolov je v kožici od 10 do 13-krat večja kot v mesu, saj je kožica prva linija obrambe med okoljem in notranjostjo plodu in zato tvori večje količine obrambnih snovi. Rezultate potrjujejo Veberič in sod. (2005) in Mikulič Petkovšek in sod. (2009), ki so prav tako izmerili večjo vsebnost skupnih fenolov v kožici kot pa v mesu. Škropljenje z NBK lahko izvajamo v ekološki pridelavi. Plodovi obravnavanja NBK imajo v naši raziskavi v kožici in v mesu najmanjšo vsebnost skupnih fenolov, kar je v nasprotju z rezultati Mikulič Petkovšek in sod. (2010) ter Chinnici in sod. (2004), ki poročajo, da imajo plodovi v ekološki pridelavi večjo vsebnost skupnih fenolov kot tisti v integrirani. Isti avtorji poročajo, da imajo okuženi plodovi večjo vsebnost fenolnih snovi kot zdravi, kar potrjujejo tudi naši rezultati, saj so imeli plodovi obravnavanja kontrola večjo vsebnost skupnih fenolov kot zdravi plodovi v obravnavanjih NBK in IP. Mikulič Petkovšek in sod. (2009) poročajo, da ima okužena kožica od 30 do 110 % več, v mejnem tkivu okoli okužbe pa do 150 % več skupnih fenolov kot zdrava kožica. Slatnar in sod. (2010) pa so prišli do ugotovitve, da ima zdrava kožica 5 % več skupnih fenolov in do 30 % manj skupnih fenolov kot mejno tkivo okoli okužbe, kar je lahko posledica tega, da se tkivo okoli okužbe obnaša kot ovira, ki bi ustavila nadaljnje širjenje glive.

## 6 SKLEPI

Na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete smo v rastni sezoni 2009 izvedli poskus, v katerega smo vključili drevesa jablane sorte 'Zlati delišes', ki so zelo občutljiva na okužbo z jablanovim škrlupom. Drevesom smo z naključnim izborom priredili tri obravnavanja (integrirana pridelava – IP, obravnavanje natrijev bikarbonat – NBK in kontrola).

Pri obravnavanju kontrola (s fungicidi neškropljeno) je bilo več kot 75 % listov in plodov okuženih z jablanovim škrlupom, medtem ko je bila pri obravnavanju integrirana pridelava (IP) okužba minimalna. Na listih in plodovih dreves, ki smo jih škropili z 1 % vodno raztopino natrijevega bikarbonata (NBK), smo opazili uspešno zmanjšanje okužb z jablanovim škrlupom v primerjavi s kontrolo. Pri obravnavanju NBK je bilo z jablanovim škrlupom okuženih 20–50 % listov in do 20 % plodov. Kjer je bila okužba prisotna, je bila v manjšem obsegu (nekaj peg). Na poganjkih, ki so priraščali manj, je bil pojav okužb z jablanovim škrlupom proti koncu vej manj opazen (in obratno). Pri kontroli je razvoj listov in plodov zelo zaostal, saj praktično ni bilo lista ali ploda, ki ne bi bil močno okužen, medtem ko so bili le-ti pri škropljenju z NBK bistveno manj okuženi. Razvoj plodov (teža, trdota in razmerje sladkorji/kislina) iz obravnavanja NBK je bil primerljivi z razvojem tistih iz obravnavanja IP.

Iz ocenjevanja okuženosti lahko sklepamo, da škropljenje z natrijevim bikarbonatom uspešno zmanjšuje pojavnost in škodo, ki jo povzroča jablanov škrlup na listih in plodovih jablane v primerjavi s kontrolo in posledično pozitivno vpliva na razvoj listov in plodov.

Vsebnost skupnih fenolov je bila v kožici 10 do 13-krat večja kot v mesu ploda, saj je kožica prva linija obrambe plodu pred vplivi iz okolja, zato tvori večje količine obrambnih snovi. Plodovi obravnavanja NBK imajo najmanjšo vsebnost vseh analiziranih posameznih fenolov in tudi vsebnost skupnih fenolov v kožici in v mesu. Vsebnost skupnih fenolov je pričakovano največja pri plodovih iz obravnavanja kontrola, kar potrjuje ugotovitve drugih raziskav. Vsebnost skupnih fenolov se v kožici pri obravnavanju IP bistveno ne razlikuje od obravnavanja kontrola, kar je verjetno posledica delovanja fungicidov na sintezo fenolov kot obrambni mehanizem pred škodljivimi patogeni.

Na podlagi meritev fenolnih snovi v plodovih ugotavljamo, da škropljenje z 1 % vodno raztopino natrijevega bikarbonata ne vpliva na povečano sintezo in akumulacijo fenolnih snovi v plodovih, vendar uspešno zmanjšuje okužbe listov in plodov z jablanovim škrlupom v primerjavi s kontrolo ter tako posredno vpliva na razvoj listov in plodov.

V nadaljnjih raziskavah bi lahko preučili, na kakšen način natrijev bikarbonat vpliva na uspešno zmanjševanje okužb z jablanovim škrlupom, kakšen interval škropljenja ter koncentracija bi bila najbolj primerna ter ali bi bili rezultati še boljši, če bi natrijev bikarbonat uporabljali v kombinaciji z naravnimi olji.

## 7 POVZETEK

V rastni sezoni 2009 smo na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete v Ljubljani izvedli poskus na drevesih jabolane (*Malus domestica* Borkh.) sorte 'Zlati delišes', ki je zelo občutljiva na okužbo z jablanovim škrlupom (*Venturia inaequalis* (Cooke) G. Wind./Aderh.). Drevesom smo z naključnim izborom priredili tri obravnavanja (integrirana pridelava – IP, kontrola in obravnavanje natrijev bikarbonat – NBK). Konec avgusta smo ocenili stopnjo okuženosti listov in plodov z jablanovim škrlupom, v tehnološki zrelosti pa smo izmerili karakteristike plodov, ločili kožico in meso ter s pomočjo HPCL metode določili vsebnost fenolnih spojin.

Bikarbonatne soli, med njimi natrijev bikarbonat, so ene od številnih alternativnih možnosti varstva pred rastlinskimi boleznimi, saj imajo fungicidne lastnosti in so zelo malo strupene za sesalce in okolje.

Rastlina začne tvoriti fenolne spojine kot obrambni mehanizem zaradi različnih stresnih dejavnikov. Fenolne spojine naj bi tako sodelovale pri odpornosti jabolane na jablanov škrlup, saj so nekatere zanj toksične.

Pri obravnavanju kontrola je bilo več kot 75 % listov in plodov okuženih z jablanovim škrlupom, zato je razvoj listov in plodov močno zaostal, medtem ko je bila pri obravnavanju integrirana pridelava (IP) okužba minimalna. Na listih in plodovih dreves, ki smo jih škropili z 1 % vodno raztopino natrijevega bikarbonata (NBK), smo opazili uspešno zmanjšanje okužb z jablanovim škrlupom v primerjavi s kontrolo. Pri obravnavanju NBK je bilo z jablanovim škrlupom okuženih 20–50 % listov in do 20 % plodov.

Vsebnost skupnih fenolov je bila v kožici od 10 do 13-krat večja kot v mesu ploda, saj je kožica prva linija obrambe plodu pred vplivi iz okolja. Največjo vsebnost skupnih fenolov v kožici in v mesu ploda ima obravnavanje kontrola, sledi IP ter NBK. Plodovi vsebujejo v kožici največ hidroksicimetnih kislin, dihidrohalkonov ter flavan-3-olov v obravnavanju kontrola, medtem ko največ flavonolov vsebujejo v obravnavanju IP. Plodovi vsebujejo v mesu največ hidroksicimetnih kislin ter flavan-3-olov v obravnavanju kontrola, največjo vsebnost dihidrohalkonov ter flavonolov pa vsebujejo v IP. V obravnavanju NBK imata kožica in meso ploda najmanjšo vsebnost vseh posameznih fenolnih spojin.

Jablana se na okužbo z glivo odzove s sintezo in akumulacijo fenolnih spojin. Prav tako lahko škropljenje s fungicidi vpliva na tvorbo fenolnih spojin. Škropljenje z natrijevim bikarbonatom ne vpliva na metabolizem preučevanih fenolov v plodovih, vendar uspešno zmanjšuje okuženost listov in plodov z jablanovim škrlupom v primerjavi s kontrolo ter posredno vpliva na razvoj listov in plodov.

## 8 VIRI

- Abram V. 2000. Antioksidativno delovanje flavonoidov. V: Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi živilski dnevi 2000, Portorož, 26. in 27. oktober 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 23–32
- Abram V., Simčič M. 1997. Fenolne spojine kot antioksidanti. Farmaceutski vestnik, 48: 573–589
- Andris H., Crisoto C. H., 1996. Reflective materials enhance “Fuji” apple color. California Agriculture, 50: 27–30
- Bravo L. 1998. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. Nutrition Reviews, 56: 317–333
- Chinnici F., Bendini A., Gaiani A., Ripon C., 2004. Radical scavenging activities of peels and pulps from cv. Golden Delicious apples as related to their phenolic composition. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 85: 2611–2616
- Cuthbertson A.G.S., Murchie A. K. 2003. The impact of fungicides to control apple scab (*Venturia inaequalis*) on the predatory mite *Anystis baccarum* and its prey *Aculus schlechtendali* (apple rust mite) in Northern Ireland Bramley orchards. Crop Protection, 22: 1125–1130
- Črnko J. 1990. Naš sadni izbor: najustreznejše sorte za vaš sadovnjak. Ljubljana, Kmečki glas: 244 str.
- Dolenc K., Štampar F. 1997. An investigation of the application and conditions of analyses of HPLC methods for determining of sugars and organic acids in fruits. Research Reports of Biotechnical Faculty University of Ljubljana Agriculture, 69: 99–106
- Einbond L. S., Reynertson K. A., Luo X.-D., Basile M. J., Kennelly E.J. 2004. Anthocyanin antioxidants from edible fruits. Food Chemistry, 84: 23–28
- Godec B., Jankovič I. 2003. Sadni izbor za Slovenijo 2002. 1. izdaja. Krško, Alex založništvo: 143 str.
- Gvozdenović D. 1989. Od obiranja sadja do prodaje. Ljubljana, Kmečki glas: 291 str.

Gvozdenović D., Dulić K., Lombergar F. 1988. Gosti sadni nasadi. Ljubljana, Kmečki glas: 255 str.

Hamazu Y. 2006. Role and evolution of fruit phenolic compounds during ripening and storage. *Stewart Postharver Review*, 2, 2: 1–7

Häkkinen S.H., Kärenlampi S. O., Heinonen I. M., Mykkänen H. M., Törrönen A. R. 1999. Content of the flavonols quercetin, myricetin and kaempferol in 25 edible berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 6: 2274–2279

Hecke K., Herbinger K., Veberič R., Trobec M., Toplak H., Štampar F., Keppel H., Grill D. 2005. Sugar-, acid- and phenol contents in apple cultivars from organic and integrated fruit cultivation. *European Journal of Clinical Nutrition*, 60: 1136–1140

Hočevar A., Petkovšek Z. 1988. Meteorologija - osnove in nekatere aplikacije. Ljubljana, Partizanska knjiga: 219 str.

HPLC nekaj osnov. 2009.

[http://www.scribd.com/doc/15501111/HPCL-Nekaj-Osnov-\(januar,2011\)](http://www.scribd.com/doc/15501111/HPCL-Nekaj-Osnov-(januar,2011))

Ilhan K., Arslan U., Karabulut O. A. 2006. The effect of sodium bicarbonate alone or in combination with a reduced dose of tebuconazole on the control of apple scab. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Uludag University, *Crop Protection*, 25:963–967

Jamar L., Lefrancq B., Lateur M. 2007. Control of apple scab (*Venturia inaequalis*) with bicarbonate salts under controlled environment. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 114, 5: 221–227

Kajfež - Bogataj L. 1996. Vaje iz meteorologije. Ljubljana, BF, Oddelek za agronomijo: 63 str.

Leser C., Treutter D. 2005. Effect of nitrogen supply on growth content of phenolic compounds and pathogen (scab) resistance of apples trees. *Physiologia Plantarum*, 123: 49–56

Maček J. 1990. Posebna fitopatologija. Patologija sadnega drevja in vinske trte. 2. izdaja. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, VTOZD za agronomijo: 276 str.



Mesečni bilten ARSO – letnik 2009.

<http://www.arso.gov.si/o%20agenciji/knji%C5%BEnica/mese%C4%8Dni%20bilten/bilten2009.htm> (januar, 2011)

Mikulič Petkovšek M., Slatnar A., Štampar F., Veberič R. 2010. The influence of organic/integrated production on the content of phenolic compounds in apple leaves and fruits in four different varieties over a 2-year period. *Journal Sci Food Agric* (2010)

Mikulič Petkovšek M., Štampar F., Veberič R. 2007. Parameters of inner quality of the apple scab resistant and susceptible apple cultivars (*Malus domestica* Borkh.). *Scientia Horticulturae*, 114: 37–44

Mikulič Petkovšek M., Štampar F., Veberič R. 2008. Increased phenolic content in apple leaves infected with the apple scab pathogen. *Journal of Plant Pathology*, 90: 49–55

Mikulič Petkovšek M., Štampar F., Veberič R. 2009. Accumulation of phenolic compounds in apple in response to infection by the scab pathogen, *Venturia inaequalis*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 74: 60–67

Natrijev bikarbonat.

<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/a/a3/SodiumBicarbonate.png> (januar, 2011)

Palmer C.L., Horst R.K., Langhans R.W. 1997. Use of bicarbonates to inhibit *in vitro* colony growth of *Botrytis cinerea*. *Plant Dis.*, 81: 1432–1438

Pečavar A. 1998. Osnove tekočinske kromatografije. Ljubljana, Kemijski inštitut: 30 str.

Robards K., Prenzer P. D., Tucker G., Swatsitang P., Glover W. 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, 66: 401–436

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

Slatnar A., Mikulič Petkovšek M., Halbwirth H., Štampar F., Stich K., Veberič R. 2010. Enzyme activity of the phenylpropanoid pathway as a response to apple scab infection. *Ann Appl Biol* 156: 449–456

- Stopar M., Bolčina U., Vanzo A., Vrhovšek U. 2002. Lower crop load for cv. Jonagold apples (*Malus domestica* Borkh.) increases polyphenol content and fruit quality. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50: 1643–1646
- Štampar F., Lešnik M., Veberič R., Solar A., Koron D., Usenik V., Hudina M., Osterc G. 2005. *Sadjarstvo*. Ljubljana, Kmečki glas: 416 str.
- Taiz L., Zeiger E. 2006. *Plant Physiology*. 4 izdaja. USA, Sunderland (Massachusetts.), Sinauer Associates: 764 str.
- Treutter D. 2005. Significance of flavanoids in plant resistance and enhancement of their biosynthesis. *Plant Biology*, 7: 581–591
- Veberič R. 1998. Preizkušanje odpornih sort jabolane (*Malus domestica* Borkh.). Diplomaska naloga. Ljubljana, Oddelek za agronomijo: 85 str.
- Veberič R., Zadavec P., Štampar F. 2007. Fruit quality of 'Fuji' apple (*Malus domestica* Borkh.) strains. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87: 593–599
- 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
- Vidic M. 2009. Pridetek jabolane (*Malus domestica* Borkh.) sorte 'Zlati delišes' glede na različne obremenitve drevesa. Diplomaska naloga. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 39 str.
- Viršček Marn M., Stopar M. 1998. Sorte jabolok. Ljubljana, Kmečki glas: 211 str.
- Viršček Marn M., Štampar F. 1999. Varstvo jablan pred boleznimi in škodljivci v biološki pridelavi. *SAD*, 10, 6:2–13
- Washington W.S., Villalta O., Appleby M. 1998. Control of pear scab with hydrated lime alone or in schedules with other fungicide sprays. *Crop Prot.*, 17: 569–580
- Žorž M. 1991. HPLC. Ljubljana, samozaložba: 154 str.

## **ZAHVALA**

Iskreno se zahvaljujem svojemu mentorju doc. dr. Robertu VEBERIČU za vse napotke, strokovne nasvete in pomoč pri izdelavi diplomskega dela.

Zahvaljujem se članu komisije, prof. dr. Franciju Acu CELARJU, in predsedniku komisije, prof. dr. Francu BATIČU, za dopolnila in pregled diplomskega dela.

Zahvaljujem se vsem zaposlenim na Katedri za sadjarstvo za strokovne nasvete ter za pomoč pri delu v sadovnjaku in v laboratoriju.

Posebna zahvala gre tudi moji družini, ki mi je študij omogočila in mi v vseh teh letih stala ob strani.

Hvala vsem sošolcem in prijateljem, ki ste me podpirali in spodbujali.

## PRILOGA A

### Povprečne mesečne temperature in količine padavin

Priloga A1: Povprečna mesečna temperatura zraka (°C), višina padavin (mm) in odstopanja povprečnih mesečnih temperatur in padavin od povprečja 1961–1990 v rastni dobi 2009 za Ljubljano (Mesečni bilten ..., 2009)

Mesec	T povp. (°C)	Temperaturni odklon od povp. (°C)	Višina padavin (mm)	Višina padavin v % od povprečja
April	13,3	+3,4	113	103
Maj	18,1	+3,5	59	48
Junij	18,9	+1,1	170	109
Julij	21,7	+1,8	168	138
Avgust	22,4	+3,3	77	53
September	17,4	+1,9	64	50

Priloga A2: Povprečna mesečna temperature zraka (°C) ter višina padavin (mm) po dekadah v rastni dobi 2009 za Ljubljano (Mesečni bilten ..., 2009)

Mesec	Dekada	T povp. (°C)	RR (mm)
April	I.	13,9	37,0
	II.	13,6	9,9
	III.	12,3	65,9
Maj	I.	15,5	11,5
	II.	19,5	0,6
	III.	19,1	46,9
Junij	I.	17,7	22,7
	II.	20,8	32,9
	III.	18,1	114
Julij	I.	19,9	121,1
	II.	21,9	45,9
	III.	23,2	1,4
Avgust	I.	22,6	23,4
	II.	23,6	9,6
	III.	21,1	43,8
September	I.	17,6	17,8
	II.	17,6	46,6
	III.	17,1	0,0

T povp – povprečna temperature zraka na višini 2m (°C)

RR – višina padavin (mm)

## PRILOGA B

### Termini škropljenja v nasadu v rastni sezoni 2009 ter koncentracija uporabljenih fitofarmacevtskih sredstev.

Priloga B: Termini škropljenja v nasadu v rastni sezoni 2009 ter koncentracija uporabljenih fitofarmacevtskih sredstev

Datum	Opravilo v sadovnjaku	Sredstva in koncentracija uporabljenih fitofarmacevtskih sredstev
6. 4. 2009	Škropljenje nasada	Champion Z (0,6–0,8 %)
		Oleodiozinon (1,5 %)
22. 4. 2009	Škropljenje nasada	Sylit 400 (0,15 %)
		Karathane (0,06 %)
		Delan (0,08 %)
		Topas (0,045 %)
4. 5. 2009	Škropljenje nasada	Zato 50 WG (0,15 %)
		Cosan (0,2 %)
		Dithane M45 (0,2 %)
		Systane (0,08 %)
12. 5. 2009	Škropljenje nasada	Score (0,02 %)
		Zato 50 WG (0,015 %)
		Delan (0,05 %)
		Calypso (0,025 %)
22. 5. 2009	Škropljenje nasada	Topas (0,025 %)
		Actara (0,02 %)
		Stroby (0,002 %)
		Merpan (0,2 %)
28. 5. 2009	Škropljenje nasada	Systane (0,08 %)
		Stroby (0,02 %)
		Dithane M45 (0,2 %)
		Envidor (0,005 %)
8. 6. 2009	Škropljenje nasada	Clarinet (0,15 %)
		Merpan (0,2 %)
		Cosan (0,2 %)
		Mimic (0,12 %)
19. 6. 2009	Škropljenje nasada	Indar (0,08 %)
		Sylit (0,15 %)
		Diazinon 20 (0,25 %)
		Cosan (0,2 %)
2. 7. 2009	Škropljenje nasada	Score (0,03 %)
		Delan (0,07 %)
		Mimic (0,08 %)
		Topas (0,025 %)
13. 7. 2009	Škropljenje nasada	Merpan (0,2 %)
		Cosan (0,2 %)
		Calypso (0,03 %)
24. 7. 2009	Škropljenje nasada	Sylit (0,16 %)
		Pyrinex (0,20 %)
12. 8. 2009	Škropljenje nasada	Bellis (0,08 %)
		Calypso (0,03 %)
24. 8. 2009	Škropljenje nasada	Bellis (0,08 %)