Utjecaj ektomikorize na mehanički i kemijski sastav grožđa sorte cv. Syrah (Vitis vinifera L.)

Novak, Kristina

Master's thesis / Diplomski rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:286533

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

UTJECAJ EKTOMIKORIZE NA MEHANIČKI I KEMIJSKI SASTAV GROŽĐA cv. SYRAH (*Vitis vinifera* L.)

DIPLOMSKI RAD

Kristina Novak

Zagreb, srpanj, 2017.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

Diplomski studij:
Vinogradarstvo i vinarstvo

UTJECAJ EKTOMIKORIZE NA MEHANIČKI I KEMIJSKI SASTAV GROŽĐA cv. SYRAH (*Vitis vinifera* L.)

DIPLOMSKI RAD

Kristina Novak

Mentor: izv. prof. dr. sc. Marko Karoglan

Zagreb, srpanj, 2017.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA STUDENTA
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Kristina Novak**, JMBAG 0178089855, rođena dana 17.01.1993. u Zagrebu, izjavljujem da sam samostalno izradila diplomski rad pod naslovom:

UTJECAJ EKTOMIKORIZE NA MEHANIČKI I KEMIJSKI SASTAV GROŽĐA cv. SYRAH (*Vitis vinifera* L.)

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____ _____

Potpis studentice

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studentice **Kristine Novak**, JMBAG 0178089855, naslova

UTJECAJ EKTOMIKORIZE NA MEHANIČKI I KEMIJSKI

SASTAV GROŽĐA cv. SYRAH (*Vitis vinifera* L.)

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____ , dana _____ .

Povjerenstvo:			potpisi:
1.	izv. prof. dr. sc. Marko Karoglan	mentor	_____
2.	prof. dr. sc. Bernard Kozina	član	_____
3.	prof. dr. sc. Sanja Sikora	član	_____

ZAHVALA

U prvom redu zahvaljujem svom mentoru, doc. dr. sc. Marku Karoglanu, na posvećenom vremenu, podršci, pomoći i korisnim savjetima tijekom izrade diplomskog rada.

Veliko hvala i doc. dr. sc. Luni Maslov, dr. sc. Ivani Tomaz, dr. sc. Mireli Osrečak te prof. dr. sc. Sanji Sikori na nesebičnoj pomoći i savjetima!

Također, hvala svim profesorima i asistentima Zavoda za vinogradarstvo i vinarstvo Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu na prenesenim znanjima tijekom studiranja.

Hvala svim prijateljima i kolegama koji su najljepše razdoblje odrastanja učinili zabavnim i nezaboravnim!

No, najveće hvala zaslužuju moji roditelji zbog bezuvjetne ljubavi, neizmjerne podrške, pomoći i velikog razumijevanja na ovome putu studiranja. Bili ste uz mene od prvog dana pa do ovog posljednjeg, u svim teškim, ali i sretnim trenucima studiranja.

Ovaj diplomski rad, dragi Pavica i Darko, s ponosom posvećujem Vama!

Hvala Vam!

Sažetak

Diplomskog rada studentice **Kristine Novak**, naslova

UTJECAJ EKTOMIKORIZE NA MEHANIČKI I KEMIJSKI SASTAV GROŽĐA cv. SYRAH (*Vitis vinifera* L.)

Predmet ovog istraživanja bio je utvrditi kako živi ektomikorizni micelij komercijalnog naziva „Mykoflor“, apliciran na korijen vinove loze sorte Syrah (*Vitis vinifera* L.), utječe na mehanički i kemijski sastav grožđa. Eksperiment je postavljen 2013. godine u Zagrebu, na vinogradarsko-vinarskom pokušalištu Agronomskog fakulteta „Jazbina“. Mikorizno cjepivo aplicirano je na 40 trsova sorte Syrah, a analiza je provedena na prosječnom uzorku od 10 grozdova. Temeljem dobivenih rezultata utvrđeno je da je mikoriza pozitivno utjecala na povećanje prosječne mase bobice i grozda, na povećanje broja bobica u grozdu i broja grozdova po trsu, što je rezultiralo i povećanjem prinosa po trsu. Također je utjecala i na mehanički sastav bobice, odnosno na povećanje udjela mesa, a smanjenje udjela kožice i sjemenke u grozdu. S obzirom na veći prinos, mikoriza je očekivano dovela do smanjenja sadržaja šećera, dok na sadržaj ukupnih kiselina i pH nije značajno utjecala. Mikoriza je utjecala na povećanje sadržaja vinske i smanjenje sadržaja jabučne kiseline, a nije utjecala na sadržaj polifenola.

Ključne riječi: ektomikoriza, Syrah, prinos, sadržaj šećera, ukupna kiselost, polifenoli.

Summary

Of the master's thesis – student **Kristina Novak**, entitled

EFFECT OF ECTOMYCORRHIZA ON THE MECHANICAL AND CHEMICAL COMPOSITION OF GRAPE cv. SYRAH (*Vitis vinifera* L.)

The purpose of this study was to determine the way that ectomycorrhizal mycelium under commercial name *Mykoflor* applied to the root of the vine varieties Syrah (*Vitis vinifera* L.) affects the mechanical and chemical composition of grapes. The experiment was placed in 2013., in the experimental station *Jazbina*, which is a part of Department of viticulture and enology, Faculty of Agriculture in Zagreb. Mycorrhizal vaccine was applied to 40 vines of varieties Syrah whereas analysis was implemented on an average sample of 10 clusters. It was found that mycorrhiza increased the average cluster and berry weight, number of berries in a cluster and clusters per vine, and also yield per vine. Mycorrhiza had an positive impact on the proportion of meat and negative impact on proportions of skin and seeds. Mycorrhiza reduced sugar content and had no impact on total acidity and pH content. Mycorrhiza increased tartaric acid content and decreased malic acid content but did not affect the content of polyphenols.

Keywords: ectomycorrhizae, Syrah, yield, sugar content, total acidity, polyphenols.

SADRŽAJ

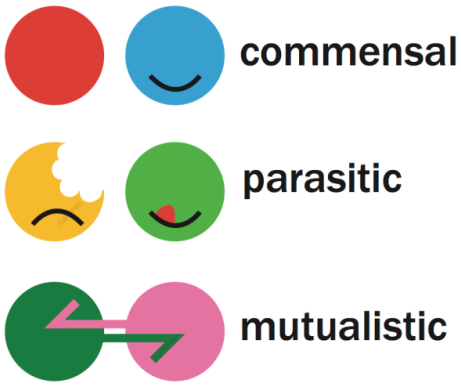
1. Uvod 1
1.1. Cilj istraživanja 2
1.2. Hipoteza 2
2. Pregled literature 3
2.1. Ektomikoriza 4
2.1.1. Ektomikorizne biljke i gljive 4
2.1.2. Glavni organi ektomikorize 5
2.1.3. Komunikacija simbionata u pred kolonizaciji 6
2.1.4. Utjecaj ektomikorize na vinovu lozu i unos hranjiva 7
3. Materijali i metode 11
3.1. Kultivar Syrah crni 11
3.1.1. Podrijetlo i rasprostranjenost 11
3.1.2. Botanička i fenološka obilježja 12
3.1.3. Enološka svojstva 13
3.2. Lozna podloga *Vitis berlandieri* x *Vitis riparia* SO_4 13
3.3. Vinogradarsko-vinarsko pokušalište Jazbina 14
3.3.1. Pokusni nasad Syraha 14
3.4. Klima 15
3.4.1. Temperatura zraka 16
3.4.2. Svjetlost 18
3.4.3. Vlaga 19
3.4.4. Vjetar 21
3.5. Tlo 22
3.5.1. Karakteristike tla pokušališta Jazbina 22
3.6. Plan pokusa 23
3.7. Uvometrijska i mehanička analiza bobice i grozda 24
3.8. Fizikalno-kemijske metode analize mošta 26
3.8.1. Određivanje sadržaja šećera 26
3.8.2. Određivanje razine ukupne i realne kiselosti 27
3.8.3. Određivanje pojedinačnih organskih kiselina 29
3.8.4. Određivanje sadržaja pojedinačnih polifenola iz kožice i sjemenke 29
3.9. Statistička analiza 32

4. Rezultati i rasprava 33
4.1. Broj grozdova i prinos po trsu te broj bobica u grozdu 33
4.2. Masa grozda i bobice 34
4.3. Mehanički sastav bobice 34
4.4. Kemijski sastav mošta 35
4.5. Sadržaj pojedinačnih organskih kiselina 36
4.6. Sadržaj antocijana 37
4.7. Sadržaj flavonola 38
4.8. Sadržaj flavanola 39
4.9. Sadržaj ukupnih polifenola 40
5. Zaključak 42
6. Literatura 43
7. Prilog 47
7.1. Popis slika i fotografija 47
Životopis autora 48

1. Uvod

Vinova je loza ekonomski vrlo vrijedna i u proizvodnji široko rasprostranjena kulturna biljka, čiji uzgoj nije jednostavan i jeftin. Prilikom uzgoja vinove loze čovjek se često susreće s mnogim nedaćama poput raznih bolesti ili klimatskih neprilika na koje uglavnom ne može utjecati, a ako dođe do nedostatka nekog od mikro- ili makroelemenata u vinovoj lozi, javljaju se prepoznatljivi simptomi koji ukazuju na to da je potrebno reagirati gnojidbom. Osim klasičnih i lako dostupnih načina prevencije navedenih poteškoća, pomoću primjene mineralnih gnojiva i kemijskih sredstava za zaštitu, u novije se vrijeme sve više primjenjuju i biotehnološki načini. Naime, jedna od biotehnoloških alternativa iz dana u dan budi zanimanje sve više znanstvenika diljem svijeta i postaje sve češći predmet raznih istraživanja. Definirana je kao simbiotska asocijacija između viših biljaka i određenih vrsta gljiva – mikoriza, a njeni će utjecaji na vinovu lozu biti detaljnije prikazani ovim istraživanjem.

Simbioza predstavlja suživot jedinki dviju različitih vrsta, u kojem barem jedan ili oba člana te zajednice imaju određenu korist. U simbiotskoj zajednici obično je veći organizam domaćin, dok je drugi mutualist ili parazit. Osim toga, simbioza ima i šire značenje te se kao takva može dalje podijeliti na mutualizam, parazitizam[1] i komenzalizam[2] (Slika 1). Takvi simbiotski odnosi predstavljaju značajnu ulogu u evoluciji populacije vrsta.



Slika 1: Simbioza
Izvor: Insect – microbial symbiosis lab, The Ohio State University (2014.)

Mutualizam, kao vrlo česta pojava u prirodi, predstavlja odnos koji je obostrano koristan za obje jedinke ili vrste. Fakultativni mutualizam onaj je u kojemu neke vrste mogu živjeti bez svojih mutualističkih partnera, dok su kod obligatnog mutualizma one ovisne o

[1] Parazitizam predstavlja oblik životne zajednice u kojem nametnički organizam (parazit) živi na račun organizma domaćina (Hrvatska enciklopedija, Leksikografski zavod Miroslav Krleža, 2017).
[2] Komenzalizam predstavlja odnos pozitivan za komenzala, a neutralan za domaćina (Šolić, 2005).

mutualističkom odnosu i ne mogu živjeti izvan njega. Između tri tipa mutualizma: trofičkog, obrambenog[3] i rasprostranjivačkog[4], mikoriza pripada trofičkom tipu (Johnson i sur., 1997) koji podrazumijeva specijalizaciju partnera za međusobnu pomoć pri dobavljanju hranjiva i energije (Šolić, 2005). Smatra se da je koegzistencija biljaka s gljivama zaslužna za koloniziranje kopna, siromašnog hranjivim tvarima, tijekom evolucije. Većina kritosjemenjača, golosjemenjača i papratnjača, brojne mahovine i nekoliko vrsta algi, odnosno više od 90 % biljnih vrsta, udružuju se s barem jednom četvrtinom poznatih vrsta gljiva u nepatogene ili mutualističke simbioze (Harley, 1989).

1.1. Cilj istraživanja

Cilj ovog istraživanja je utvrditi na koji način primijenjeno cjepivo živog ektomikoriznog micelija, komercijalnog naziva „Mykoflor“ (tvrtka Bio-budućnost d.o.o.), koje je bilo aplicirano na korijen vinove loze kultivara Syrah u 2013. godini, utječe na mehanički i kemijski sastav grožđa berbe 2014. godine.

1.2. Hipoteza

Uzevši u obzir rezultate provedenih istraživanja raznih znanstvenika diljem svijeta o utjecaju mikorize na vinovu lozu, logična je pretpostavka kako će i ovo ektomikorizno cjepivo najvjerojatnije imati afirmativan utjecaj na određene ispitivane parametre u ovome istraživanju.

S obzirom na to da postoji mnogo znanstvenih radova posvećenih utjecaju vezikularno-arbuskularne mikorize, ali ne i ektomikorize, na kultivare *Vitis vinifera* L., želja je bila vidjeti na koji će način korijen vinove loze reagirati na ektomikorizne gljive.

Budući da je riječ o simbiozi, očekuje se da će korijen vinove loze i ektomikorizne gljive aplicirane u tlo pokazati sinergiju u smislu međusobnog suživota, što će u konačnici biti vidljivo na dobivenim laboratorijskim rezultatima mjerenja mehaničkog i kemijskog sastava grožđa kultivara Syrah.

[3] Obrambeni mutulizam obuhvaća vrste koje dobivaju hranu i zaklon od svojih partnera, a zauzvrat ih brane od parazita, predatora i herbivora (Šolić, 2005).
[4] Rasprostranjivački mutualizam obuhvaća životinje koje prenose polen do cvjetova ili rasprostranjuju sjemenke, zauzvrat dobivaju nektar ili plodove (Šolić, 2005).

2. Pregled literature

Naziv mikoriza dolazi od grčke riječi *rhiza*, što znači korijen i *mykos* – *g*ljivica. Iako se smatra da je mikorizu otkrio poljski znanstvenik Franciszek Dionizy Kamieński, još davnih 1880-ih godina, ona do danas nije do kraja razjašnjena zajednica viših biljaka i gljiva. Korijenje velikog broja fotoautotrofnih biljnih vrsta, pa tako i vinove loze, živi u takvoj simbiotskoj zajednici s gljivama, koje su pak sposobne uspostaviti obostrano koristan odnos na i/ili u korijenu biljke domaćina.

Uspostava mikorize na korijenu vinove loze događa se nakon interakcije i kontinuiranog molekularnog dijaloga između biljke domaćina i gljive, pri čemu uglavnom dolazi do kolonizacije korijena (Smith i Gianinazzi-Pearson, 1988). Nerijetko se događa da biljke ne mogu usvojiti neka hranjiva iz tla jer se ona nalaze u nepristupačnim oblicima za biljke. Nakon što hife koloniziraju korijen biljaka, one razvijaju micelij koji se razgranjuje u tlu i pomaže biljci u stjecanju mineralnih hranjiva iz tla, budući da mikorizne gljive mnogo uspješnije apsorbiraju minerale te slabo pokretne ione (Biricolti i sur., 1997). Značaj mikoriznih gljiva i njihovih hifa vrlo se dobro očituje u uvjetima kada su koncentracije fosfora i drugih hranjiva u tlu na niskim razinama (Barea, 1991; White, 1993).

Naime, hife su cjevaste jednostanične ili višestanične tvorevine koje grade tijelo razvijenijih gljiva. Znatno su tanje strukture nego li korijenove dlačice te su sposobne prodrijeti i u najsitnije pore tla, odnosno i do 200 puta dublje nego li to može sam korijen kojeg gljive koloniziraju (Quinn, 2011). Na taj način poboljšavaju dostupnost vode iz tla i hranjiva. Debljina im je od 1 do 2 μm, a stanična im je stijenka građena od hitina, lignina, ugljikohidrata, celuloze, pektina i dr. (Ćosić i sur., 2006). One rastu izduživanjem vrha, tvore postrane ogranke, a njihovim se grananjem stvara vegetativno tijelo gljive, odnosno micelij (Smith i Read, 2008).

S druge strane, heterotrofne gljive iz procesa fotosinteze, koju obavlja biljka domaćin, dobivaju ugljikohidrate i druge organske spojeve (Harley i Smith, 1983; Harley, 1989; Azcón-Aguilar i Barea, 1996; Smith i Read, 2008). Naime, biljke u procesu fotosinteze vežu ugljik iz atmosfere, koji se u obliku topivih šećera i organskih kiselina translocira iz lišća u korijen biljke domaćina te se prenosi u gljivu u obliku saharoze (glukoza i fruktoza) (Azcón-Aguilar i Barea, 1997). Biljka domaćin opskrbljuje gljivu s oko 20 % ugljikohidrata dobivenih fotosintezom, u zamjenu za čak 70 % potrebnog dušika i fosfora, ali i drugih hranjiva koja

biljci omogućuje mreža hifa, koja se proteže duboko u tlo (Daguerre i sur., 2016). Dakle, apsorpcijski organi autotrofnih biljaka domaćina gljivama daju ekološki zaštićeno stanište, dok heterotrofne gljive pomažu biljci u opskrbljivanju hranjivima (Biricolti i sur., 1997). Važno je napomenuti i da gljive prilikom kolonizacije prodiru u korijen najdalje do endoderme, no nikad ne prodiru u vršni meristem. Nakon uspostave mikorize, gljiva u osnovi postaje dio korijenovog sustava biljke domaćina, dolazi do izmjene hranjivih tvari između simbionata, pri čemu biljke i gljive igraju ključnu ulogu u kruženju hranjiva u ekosustavu (Biricolti i sur., 1997).

Prema načinu uspostave razlikuju se dva glavna oblika mikorize: endomikoriza i ektomikoriza te neka vrsta prijelaznog oblika – ektoendomikoriza. Najzastupljeniji je tip mikorize među biljnim vrstama u prirodnim uvjetima endomikoriza, unutar koje postoje još tri oblika: erikoidna endomikoriza, endomikoriza orhideja te najraširenij oblik, vezikularno-arbuskularna endomikoriza (Barea, 1991; Brundrett, 2004).

2.1. Ektomikoriza

Ektomikorizu u prirodi vjerojatno tvori samo oko 3 % viših biljaka (Meyer, 1973), i to pretežno šumsko drveće iz porodica Fagaceae, Betulaceae, Pinaceae, Eucalyptus i neke od drvenastih mahunarki (Azcón-Aguilar i Barea, 1997).

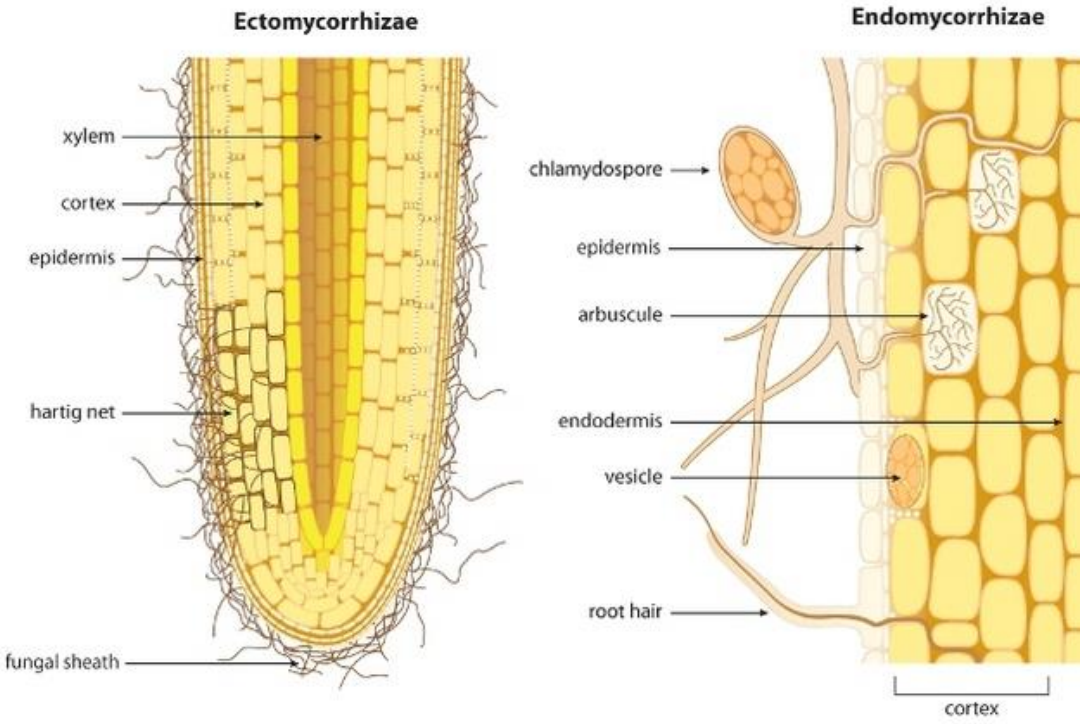
2.1.1. Ektomikorizne biljke i gljive

Ektotrofna mikoriza specifična je po velikoj raznolikosti gljiva koje su uključene u njeno formiranje. Naime, Molina i suradnici (1992.) u svojim istraživanjima navode kako je između 5000 i 6000 vrsta gljiva sposobnih formirati ektomikorizu. Ektomikorizne gljive koje se najčešće javljaju su one iz rodova *Basidiomycetes*, *Ascomycetes* te *Zygomycetes* (Pöder, 1996; Smith i Read, 2008). Osim toga, Trappe (1977.) navodi kako se jedna biljna vrsta u svom prirodnom geografskom području može udružiti s tisućama vrsta gljiva. Jednako tako, na lokalnoj razini, na pojedinačnim stablima može biti pronađeno na desetke ektomikoriznih gljiva (Bruns, 1995). Kao indikator pojave ektomikorize u ranim je promatranjima najprije korištena pojava sporokarpa, što je uglavnom zamijenjeno metodama temeljenim na morfološkoj analizi te kasnije molekularnim metodama (Smith i Read, 2008). Anatomske strukture plašta i micelija postojane su na nivou roda gljive i sve se više koriste kako bi se olakšala karakterizacija ektomikorize (Agerer, 1987-2002; Ingleby i sur., 1990; Goodman i sur., 1998).

Mikorize imaju određeni vijek trajanja. Naime, dok njihova proksimalna regija stari ili pak cijeli organ zajedno propada, hife mogu apikalno rasti proizvodeći novo aktivno područje. Tijekom starenja hife mogu ostati aktivne i nakon što stanice počnu degenerirati.

2.1.2. Glavni organi ektomikorize

Ektotrofna mikoriza ili ektomikoriza specifična je po gustom spletu hifa različite debljine koje obavijaju kratko i debelo postrano korijenje biljaka domaćina te po intercelularnom ulasku hifa između stanica kore (Slika 2). Ektomikorizu karakteriziraju tri sastavne komponente: **plašt, Hartigova mreža i ekstraradikalni micelij.**



Slika 2: Shematski prikaz ekto- i endomikorize
Izvor: Nature Education, Bonfante i Genre (2013.)

Hife prilikom kolonizacije korijena najprije obavijaju kratko lateralno korijenje, a zatim se šire po vanjskoj površini korijena tvoreći plašt (engl. *mantle*). Nakon toga, hife s površine korijena, osim što se radijalno šire u tlo, ulaze i u apoplast korteksa korijena, gdje zajedno s kortikalnim i epidermalnim stanicama korijena biljke formiraju Hartigovu mrežu. Hartigova mreža svojim izgledom podsjeća na mrežu i zbog takvog je oblika olakšan i povećan kontakt između dvaju simbionata. Dakle, Hartigova mreža predstavlja sučelje gdje se odvijaju molekularni dijalozi i razmjena nutrijenata između simbionata. Hife funkcionalno zamjenjuju korijenove dlačice te omogućavaju olakšanu apsorpciju vode s otopljenim hranjivim tvarima, odnosno predstavljaju glavne apsorbirajuće organe te djeluju kao akumulatori nutrijenata.

Kod ektomikoriza micelijski plašt djeluje kao organ koji nagomilava hranjive tvari (Harley i Smith, 1983), dok Hartigova mreža ima ulogu razmjene tvari između gljive i biljke domaćina (Brundrett, 2004). Nadalje, filamentozne hife koje prorastaju iz plašta i šire se u okolno tlo tvore ekstraradikalni micelij. Osim što se hife šire u tlo, one mogu tvoriti rizomorfe koji su specijalizirani za brz transport hranjivih tvari i vode iz tla. Ekstraradikalni micelij koji se proteže u tlo čini vegetativno tijelo ektomikoriznih gljiva (Peterson i sur., 2004). Ipak, postoje znatne razlike u mjeri u kojoj se mogu razvijati ove tri sastavne komponente koje čine ektomikorizu.

2.1.3. Komunikacija simbionata u pred kolonizaciji

Korijenje biljaka, pa tako i vinove loze, luči velik broj različitih spojeva u svojoj neposrednoj blizini, koji su uključeni u komunikacijske procese u rizosferi (Smith i Gianinazzi-Pearson, 1988). Ti spojevi nazvani su korijenovim eksudatima, a u njih se ubrajaju: aminokiseline, šećeri, polisaharidi, alifatske, aromatske i masne kiseline, polifenoli, steroli, vitamini, regulatori rasta i ostali sekundarni metaboliti (Akiyama i sur., 2005). Korijenovi eksudati čine hranu za rizosferne mikroorganizme, poboljšavaju kontakt korijena biljke s česticama tla, sadrže organske spojeve koji služe za mobilizaciju hranjivih tvari te sadrže molekule, odnosno kemijske spojeve, esencijalne za uspostavu mikorize.



Slika 3: Korijenje kolonizirano ektomikoriznim gljivama
Izvor: https://mycorrhizas.info/ecm.html

Korijenovi eksudati biljaka domaćina sadrže spojeve koji potiču metabolizam gljiva, zbog čega hife počinju rasti i granati se kako bi uspjele doseći korijen domaćina. Poznato je da biljni hormoni, uključujući i regulatore rasta, citokinini i auksini (indol-3-octena kiselina), mogu utjecati na rast i grananje hifa (Gay i Debaud, 1987). Dakle, korjenčići koje koloniziraju ektomikorizne gljive često pokazuju veće razgranjenje i iniciraju na karakteristično nabubreno

korijenje (Slika 3). Općenito govoreći, ovaj tip mikorize jasno se razlikuje od svih ostalih tipova mikorize na temelju odsutnosti intrastanične (unutarstanične) penetracije gljiva u korijen, no gljiva ponekad može i intrastanično prodirati u stare dijelove korijenove osi ili u slučaju kada je poremećena ravnoteža hranjivih tvari u asocijaciji gljiva – biljka. Stoga se u takvim okolnostima gljiva može ponašati na patogen način.

2.1.4. Utjecaj ektomikorize na vinovu lozu i unos hranjiva

Ishrana vinove loze vrlo je bitna jer određuje njenu funkcionalnost i utječe na kvalitetu vina. Ekstenzivan micelij gljiva omogućava intenzivniji rast biljke domaćina, odnosno vinove loze, zbog bolje sorpcije hranjivih tvari, osobito onih niske mobilnosti ili onih prisutnih u izrazito niskim koncentracijama, uključujući i metale u tragovima, i vode.

Fosfor se naziva „elementom energije“ i njegova se fiziološka uloga veže uz opskrbu vinove loze energetskim spojevima (ATP i ADP) koji su potrebni za pravilan rad metabolizma biljke (Gluhić 2013). Glavni oblici fosfora koje je biljka sposobna primiti nalaze se u anionskom obliku kao $H_2PO_4^-$ i HPO_4^{2-}, a za razliku od dušika i sumpora, ugrađuju ga u organsku tvar bez redukcije. Naime, najveće potrebe biljaka za fosforom javljaju se na početku vegetacije u trenucima intenzivnog rasta korijenovog sustava te prilikom ulaska biljke u reproduktivnu fazu života. Nedostatak fosfora u lozi obično se rijetko pojavljuje, ne samo zbog ograničenih zahtjeva za fosforom, nego i zbog dostatne količine fosfora u većini vinogradarskih tala i ponovne mobilizacije iz odrvenjelih dijelova trsa i korijena tijekom razdoblja povećane potrebe za fosforom. Ipak, iako je lako pokretljiv u biljci, pokretljivost u otopini tla mu je slaba i simptomi njegovog nedostatka odgovaraju usporavanju metabolizma cijele biljke, odnosno usporavanju rasta mladice, smanjenju suhe tvari i bobica grozdova (Skinner i Matthews, 1989), povećanoj osjetljivosti na nepovoljne uvjete (temperatura, suša, bolesti), a uslijed pojačanog usvajanja fosfora dolazi do intenzivnijeg vegetativnog porasta (Biricolti i sur., 1997). Pojava nedostatka fosfora uglavnom je zabilježena u kiselim tlima koja su povoljna za fiksaciju fosfora, isto kao i u kišnim područjima ili nakon fumigacije tala siromašnih fosforom (Menge i sur., 1983). Naime, u mikoriziranim korijenima, ekstraradikalni micelij čini veliku mrežu izvan zone dosega samog korijena te skraćuje udaljenost za difuziju fosfora u tlu.

Nadalje, dušik je element u tlu koji najviše utječe na razvoj loze i sastav grožđa (Reynolds, 2010), a loza ga prima u obliku nitratnog i amonijevog iona (NO_3^- i NH_4^+ ion). Vinova loza može usvojiti dušik preko lista – folijarnom gnojidbom ili iz tla, u čemu joj pomažu

mikorizne gljive, budući da se dušik u tlu nalazi u sastavu organske tvari. Vrlo je bitan i odgovarajući N:P:K odnos u vinogradarskim tlima, jer ako dođe do suviška dušika u odnosu na nedostatnu količinu fosfora i kalija, javlja se bujan rast, smanjuje se kvaliteta grožđa, povećava se osjetljivost na bolesti te može predstavljati ekološki problem zbog mogućnosti ispiranja. Osim toga, prema autorima Keller i Hrazdina (1998.) visoke količine dušika mogu umanjiti akumulaciju fenolnih komponenata, posebno flavonola u pokožici, tijekom dozrijevanja gožđa. Također, u uvjetima slabog osvjetljenja, a pri visokom sadržaju dušika, smanjena je akumulacija fenolnih komponenata. No, isti su autori utvrdili kako niska dostupnost dušika također negativno utječe na lozu i to osobito u vrijeme cvatnje, na način da niska dostupnost N potiče sintezu fenolnih spojeva, posebno glikozida, u početnoj fazi dozrijevanja grožđa. Osim toga, nedostatak dušika opaža se u slabom rastu mladica, svijetlozelenoj boji lišća, osipanju cvjetova i rehuljavosti grozdova te sitnim bobicama. Stoga, potrebna je adekvatna i pravovremena opskrba dušikom prije kretanja vegetacije, kako bi se omogućio brzi razvoj mladih cijepova i kako bi se osigurao brzi rast mladica u proljeće te pravilno odvijanje svih fenofaza. Naime, dušik je deset puta mobilniji od fosfora, ali je i potreban u 10 puta većoj koncentraciji, osobito tijekom intenzivnog rasta mladica i korijena. S obzirom na to da unos dušika ovisi o tipu tla i organskoj tvari, može se smatrati obilježjem terroira.

Osim fosfora i dušika, postoje i neki drugi elementi važni za rast i razvoj vinove loze poput kalija, magnezija, cinka i bora. Loza je veliki potrošač kalija, koji se u tlu sporo premješta, a njegov se nedostatak u vinovoj lozi javlja zbog niske količine kalija u tlu, nepovoljne vlažnosti tla i nedovoljno razvijenog korijenovog sustava (Christensen i sur., 1978). Nedostatak kalija javlja se u tlima bogatim kalcijem ili magnezijem te u kišnim regijama. Trsovi s nižim sadržajem kalija skloniji su suši te su osjetljiviji na hladnoću (Reynolds, 2010).

Nadalje, nedostatak cinka zbog smanjene topljivosti u alkalnim tlima dovodi do slabijeg prinosa, a nedostatak bora javlja se u pjeskovitim tlima gdje kiše ili navodnjavanje uzrokuju njegovo ispiranje. Također, u vinogradarskim se tlima rijetko javlja nedostatak željeza, sumpora i mangana, a potrebni su za skladan rast i razvoj loze. Naravno, svojstva tla i uzgojna praksa u vinogradu utječu na unos hranjivih tvari, no očekuje se da će prvenstveno unos fosfatnog, amonijevog i kalijevog iona biti posebno olakšan mikorizom.

U korijen biljke domaćina, zajedno s vodom, ulaze različite hranjive soli preko kojih biljka prima potrebne elemente: kalij, kalcij, magnezij, dušik, sumpor, fosfor, željezo, bor, mangan,

bakar, cink, molibden i dr. U gljivinom plaštu mogu biti uskladištene značajne količine hranjivih soli (Harley i Smith, 1983). Naime, aktivnost mikoriznih gljiva dovodi do nakupljanja hranjivih tvari u zoni korijena biljke domaćina, budući da su gljive sposobne apsorbirati hranjive tvari na daljinu i translocirati ih u korijen (Smith i Read, 1983). Pohranjene hranjive tvari olakšavaju brzu aktivaciju metabolizma na početku vegetacije za biljke koje se nalaze na nepovoljnim lokacijama i uvjetima.

Odnos primanja i davanja (tzv. mutualistički balans) između obaju partnera, mikoriznih gljiva i vinove loze, moguće je mijenjati unosom hranjiva u tlo. Važnost mikoriza u apsorpciji dušičnih spojeva, fosfora i kalija u simbioznom sustavu potvrđena je od strane mnogih znanstvenika i njihovih eksperimenata. Općenito govoreći, one biljke koje su sposobne apsorbirati relativno nepokretne resurse tla, poput fosfora, manje su ovisne o formiranju mikorize (Brundrett, 2004). Poznato je da je sposobnost korijenovog sustava da apsorbira slabo pokretna hranjiva iz tla u pozitivnoj korelaciji s područjem površine korijena, što je pak posljedica arhitekture korijenovog sustava. Stoga, biljke s niskom frekvencijom grananja, malim brojem lateralnog korijenja i korijenovih dlačica ovisnije su o mikorizi zbog pomoći pri unosu hranjiva (Biricolti i sur., 1997; Brundrett, 2004). Prvi izravni dokaz o važnosti hifa u apsorpciji i translokaciji hranjiva ka biljci domaćinu dali su znanstvenici E. Melin i H. Nilsson, a objavljen je između 1950. i 1958. godine. Nadalje, mikoriza može utjecati na povećanje vodnog potencijala listova, a proliferirana micelijska mreža oko korijena u tlu čini dodatnu apsorpcijsku površinu, čime se povećava sposobnost i učinkovitost korijenja u izvlačenju vode s otopljenim mineralnim hranjivima iz tla. Osim toga, 1959. godine Kostyuk i Shterenberg dokazuju da trsovi inficirani mikorizom imaju tamnije zelenu boju i da su bolje razvijenosti od onih neinficiranih. Mikorizirane biljke uglavnom su konkurentnije i bolje podnose biotičke i abiotičke stresove od ne-mikoriziranih biljaka (Bethlenfalvay i Linderman, 1992; Bonfante, 2003; Brundrett, 2004).

S druge strane, gljivin plašt pokazuje veliku potražnju za ugljikom, stoga je Frank (1885.) smatrao da ih biljke domaćini mogu najbolje podržati u snabdijevanju. Naime, mikorizne gljive imaju dostupnu stalnu opskrbu iskoristivih ugljikohidrata od strane svojih domaćina, što im omogućuje lakšu kompeticiju s ne-mikoriznim mikroorganizmima samo za anorganske hranjive tvari, a ne i za ugljikove spojeve, što je vrlo važno.

Gljive štite biljku domaćina od štetnih kemijskih utjecaja u tlu – otrovnih tvari, teških metala i povećane kiselosti tla. Osim toga, gljivin plašt može djelovati kao učinkovita barijera protiv

infekcija i patogena, budući da gljive proizvode antibiotike i hlapive komponente – etanol i aceton, koji inhibiraju rast patogenih mikroorganizama i na taj način štite biljku. Kod povrtnih kultura gljive štite od infekcija uzrokovanih vrstama iz rodova *Pythium* i *Phytophtora* (Oomycota) (Pöder, 1996), a kod vinove loze stvaraju bolju obrambenu reakciju na bolest pepelnicu (lat. *Uncinula necator*), a manja je i pojava bolesti korijena (*Armillaria sp*., *Fusarium, Phytophtora*).

3. Materijali i metode

3.1. Kultivar Syrah crni

Syrah je crni vinski kultivar koji je do 70-ih godina prošlog stoljeća bio relativno zapostavljen, a zadnjih se godina intenzivno sadi i danas se uzgaja u mnogim vinogradarskim zemljama svijeta, što dovodi do stalnog porasta površina pokrivenih nasadima Syraha. Naziv Syrah upotrebljava se u Europi, Argentini, SAD-u i Čileu, dok se naziv Shiraz koristi u Australiji, Novom Zelandu, Kanadi te Južnoafričkoj Republici. Budući da se uzgaja u raznim dijelovima svijeta, karakterizira ga i velik broj sinonima: Sirah, Sirac, Schiras, Shiraz, Balsamina, Candive, Hermitage, Marsanne Noire i drugi.

3.1.1. Podrijetlo i rasprostranjenost

Postoji mnogo legendi i hipoteza o podrijetlu Syraha. Naime, zbog sličnosti njegovih sinonima i imena nekih gradova, Syrah su povezivali s iranskim gradom Širazom te Sicilijom (lat. *Syracusae*). No, tek pojavom genetičkih analiza (1999.) utvrđeno je kako Syrah potječe iz francuske pokrajine Rhône. Osim toga, poznati su i roditelji Syraha. Godine 1998., DNA analizom roditeljstva provedenom na Kalifornijskom Sveučilištu Davis i INRA-i (Institut National de la Recherche Agronomique) u Montpellieru, utvrđeno je da je Syrah nastao spontanim križanjem sorata Mondeuse Blanche i sorte Dureza (Bowers i sur., 2000).

Njegov uzgoj zauzima ukupnu površinu od 776 900 ha i slovi kao 7. sorta po zastupljenosti u svijetu. Najviše se uzgaja u Francuskoj (dolina Rhône), Australiji, SAD-u (Kalifornija), Argentini, Čileu, Španjolskoj, Italiji, Portugalu, a posljednjih godina i u Hrvatskoj.

U Hrvatskoj je Syrah preporučena sorta u podregijama Slavonija, Istra, Hrvatsko Primorje, Sjeverna Dalmacija i Dalmatinska zagora. Razumljivo je da je sorta rasprostranjenija u uzgoju na području priobalja (regija Primorska Hrvatska), a da je njena proizvodnja na području Kontinentalne Hrvatske vrlo mala.

Cijepovi ovog kultivara, njih 500, posađeni su 2005. godine na vinogradarsko-vinarskom pokušalištu Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, u Jazbini, u svrhu istraživanja, iako se Syrah ne nalazi na popisu preporučenih kultivara za ovo područje.

3.1.2. Botanička i fenološka obilježja

Izgled Syraha karakteriziraju paučinasti i uspravni vršci mladica s crvenkastim rubovima. Mladica je zelena, žljebasta i paučinasta, a cvijet je dvospolan, pravilan. Syrah ima peterodijelan, srednje velik i okrugao list s dubokim sinusima, gdje je ponekad neki preklopljen. Sinus peteljke otvoren je u obliku lire ili slova „U“. Lice lista blistavo je zeleno, a naličje je svjetlije s blago crvenkastom rebrastom nervaturom. Ima dugu i tanku peteljku lista sa srednjim do velikim zupcima. Sorta je srednje bujnosti (Mirošević i Turković, 2003).

U tehnološkoj zrelosti grozd je srednje velik, cilindričan, kompaktan i najčešće izdužen. Bobice grožđa su okrugle do ovalne, srednje velike do malene, vrlo tamno plavog obojenja s obilnim maškom (Slika 4). Meso je slatko, užitno i sočno.



Slika 4: Kultivar Syrah
Izvor: http://grappolidivini.blogspot.hr/2009/11/il-syrah.html

Ovoj sorti najviše odgovaraju uvjeti tople klime te topla, strukturna tla dobrog kapaciteta za vodu. U takvim uvjetima oplodnja je redovita, a prema Pulliatu pripada II., odnosno ranoj III. epohi dozrijevanja. Sorta je osrednje rodnosti. Najpogodniji su niski i povišeni sustavi uzgoja uz primjenu kratkog reza. Sorta je srednje osjetljiva na biljne bolesti, a osjetljiva je na grinje te sušu i klorozu. Preporučene podloge su Ruggeri 140 (*Berlandieri* x *Rupestris*), 41 B (*Chasselas* x *Berlandieri*), 333 EM (*Cabernet* x *Berlandieri*) (Mirošević i Turković, 2003).

3.1.3. Enološka svojstva

Syrah je tipična vinska sorta koja postiže srednju do visoku kakvoću, ovisno o okolinskim uvjetima. Ukoliko su pedološki i klimatski uvjeti zadovoljavajući, utoliko sorta nakuplja između 18 i 25 % sladora te od 6,0 do 8,0 g/L ukupnih kiselina.

U proizvodnji vina, od tehnoloških se procesa koristi produljena maceracija, budući da Syrah obiluje taninima i ima deblju kožicu. Na taj se način postiže bolja ekstrakcija polifenolnih spojeva koncentriranih u kožici bobice. Naime, zbog karakteristike dobre obojenosti, sorta je prikladna za kupaže. Važno je napomenuti i da područje uzgoja i okolinski uvjeti također uvelike utječu na intenzitet obojenosti koji se razlikuje u toplijem i hladnijem klimatu.

3.2. Lozna podloga *Vitis berlandieri* x *Vitis riparia* SO_4

Na vinogradarsko-vinarskom pokušalištu Agronomskog fakulteta u Jazbini, sorta Syrah cijepljena je na podlozi *Vitis berlandieri* x *Vitis riparia* SO_4. Razlog tome vjerojatno je činjenica da je ova podloga prikladna za sjevernije vinogradarske krajeve, budući da dospijeva do 15 dana ranije u usporedbi s podlogom Kober 5BB. Osim toga, Mirošević i Karoglan Kontić (2008.) navode kako je karakteristika podloge SO_4 i to da svojstvo ranijeg dozrijevanja prenosi i na plemku, odnosno da utječe na ranije dozrijevanje grožđa i raniji ulazak trsa u fazu mirovanja.

Drugi mogući razlog bio bi dobra otpornost podloge na vapno, s obzirom na to da je kultivar Syrah osjetljiv na klorozu. Podloga SO_4 podnosi 40 – 50 % ukupnog, odnosno 17 – 18 % fiziološki aktivnog vapna. Također, važno je napomenuti i svojstvo dobre otpornosti podloge SO_4 na korijenovu formu filoksere, visoku otpornost na nematode, kao i to da se podloga dobro ukorjenjuje te da ima dobar afinitet s kultivarima *Vitis vinifera* L. Korijenov sustav podloge vrlo je snažan i dobro razgranat te mu odgovaraju rastresita tla umjerene vlažnosti s dovoljno hranjivih tvari.

Podloga SO_4 križanac je selekcioniran u Njemačkoj iz populacije *Vitis berlandieri* x *Vitis riparia* Teleki 4B. Podloga je poznata je pod sinonimima *Berlandieri* x *Riparia* selekcija Oppenheim 4, selekcija Oppenheim 4, Oppenheim 4, SO_4. Navedena podloga danas je rasprostranjena gotovo u svim vinogradarskim zemljama svijeta, osobito u zadnjih dvadesetak godina. Najviše je rasprostranjena u umjerenim klimatskim područjima Srednje Europe poput Njemačke, sjeverne Italije i Francuske. Vinogradari je koriste i zato što utječe na nakupljanje šećera bez promjene u koncentraciji ukupnih kiselina u moštu.

3.3. Vinogradarsko-vinarsko pokušalište Jazbina

Godine 1939. na obroncima Zagrebačke gore, u sjeverozapadnom djelu Hrvatske, smjestilo se Vinogradarsko-vinarsko pokušalište Jazbina s nakanom edukacije studenata Agronomskog fakulteta u Zagrebu. Pokušalište je dio Zagrebačkog vinogorja i pripada vinogradarskoj podregiji Prigorje-Bilogora, jednoj od sedam vinogradarskih podregija u regiji Kontinentalna Hrvatska. Podregija Prigorje-Bilogora obuhvaća vinogorja Zagreb, Zelina, Bilogora, Koprivnica-Đurđevac, Kalnik i Dugo Selo-Vrbovec. Vinogradarsko-vinarsko pokušalište smješteno je na blagim padinama Medvednice okrenutim ka jugu i jugozapadu, odnosno na brijegu Biskupov čret, na mjestu prikladnom za vinogradarsku i voćarsku proizvodnju (Slika 5).

Kompleks pokušališta zauzima površinu od cca 25 ha od kojih je oko 10 ha vinograda i više od 120 različitih kultivara (Vončina i sur., 2011); odnosno 8 ha proizvodnih nasada vinskog grožđa, 0,1 ha stolnih kultivara, 0,3 ha kolekcijskog nasada, 0,2 ha međuvrsnih križanaca te 1 ha matičnjaka loznih podloga (Bažon, 2011). Karakterizira ga najviša točka na 302 m nadmorske visine i generalni nagib od 16 %, odnosno varira od minimalnih 6 % do 30 % i više, na najstrmijim dijelovima pristranka (Dolanjski i Stričević, 1996). S geološkog aspekta, pokušalište Jazbina okruženo je Pliocenskim i Plio-Pleistocenskim aluvijalnim naslagama ispresijecanim Holocenskim lesnim i poplavnim sedimentima (Bažon, 2011).

U razdoblju između 1994. i 1996. godine provedena je sustavna revitalizacija objekata i uređenje površina koje je obuhvaćalo mjere ravnanja terasa te hidro- i agromelioracije (Tomić i sur., 1994; Dolanjski i Stričević, 1996). Provedene mjere uređenja zemljišta obuhvaćale su sistematizaciju terena, detaljnu odvodnju cijevnom drenažom, rigolanje, kalcifikaciju, meliorativnu gnojidbu i humizaciju. Osim toga, posađeni su novi vinogradi i obnovljene su gospodarske zgrade, a vinogradarsko-vinarsko pokušalište Jazbina tada poprima današnji izgled.

3.3.1. Pokusni nasad Syraha

Pokusni nasad na Vinogradarsko-vinarskom pokušalištu u Jazbini čine trsovi kultivara Syrah koji je cijepljen na podlogu *Vitis berlandieri* x *Vitis riparia* SO_4, a posađen je 2005. godine na 250 metara nadmorske visine.

Redovi u nasadu Syraha pružaju se u smjeru sjeveroistok-jugozapad, povoljnom za uzgoj vinove loze u sjevernim vinogradarskim krajevima, kakav je Jazbina. Nagib je vinograda oko

10 %. Primijenjeni razmak sadnje bio je 2,00 x 1,20 m, što bi prema izračunu činilo sklop od 4,166 trsova/ha. Za sortu Syrah odabran je jedan od najjednostavnijih sustava uzgoja s mješovitim rezom, dvostruki Guyot visine stabla 80 cm, budući da u podregiji Prigorje-Bilogora postoji opasnost od niskih temperatura koje su najniže pri tlu. Odabrani sustav uzgoja reže se na dva reznika i dva lucnja čime se postiže opterećenje 20 – 24 pupa. U vegetaciji su u ovome pokusnom vinogradu provođene uobičajene ampelo- i agrotehničke mjere za područje kontinentalne Hrvatske (Osrečak i sur., 2016).



Slika 5: Pokušalište Jazbina
Izvor: www.agr.unizg.hr

3.4. Klima

Vinova loza ima specifične zahtjeve prema uvjetima tla i klime. Za uspješan rast i razvoj potrebno je obratiti pažnju na makroklimatske[5] i mezoklimatske[6] čimbenike s obzirom na područje uzgoja (regija, podregija, vinogorje, položaj). Za rentabilan i održiv uzgoj vinove loze potrebno je pravilno odvijanje pojedinih fenofaza tijekom godišnjeg biološkog ciklusa, odnosno pravilna izmjena četiriju godišnjih doba u umjerenom klimatskom pojasu. S gledišta

[5] Makroklima – klima većeg područja Zemlje, npr. neke države ili jednoga njezina većeg dijela. (Hrvatska enciklopedija, Leksikografski zavod Miroslav Krleža, 2017).
[6] Mezoklima – prosječno stanje atmosfere prirodno omeđenih manjih područja koja se i po sastavu tla, reljefu i nadmorskoj visini razlikuju od klimatskih prilika u široj okolici. (Hrvatska enciklopedija, Leksikografski zavod Miroslav Krleža, 2017).

vinogradarske proizvodnje, klimu nekog područja obilježavaju klimatski čimbenici: temperatura, svjetlost, vlaga i vjetrovi (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008).

Republika Hrvatska nalazi se cijelim zemljopisnim područjem u granicama prikladnosti za uzgoj vinove loze, odnosno između 42° i 47° sjeverne geografske širine. Budući da se pokušalište Jazbina nalazi u gradu Zagrebu, ono pripada vinogradarskoj podregiji Prigorje-Bilogora. Podregiju karakterizira umjerena kontinentalna klima čija su odlika blage i tek ponekad hladnije zime te ugodno topla i ponekad vruća ljeta (Pajač I., 2007; Pajač M., 2007). Srednja godišnja temperatura ovog područja kreće se od 11,2 °C, dok u tijeku vegetacije iznosi od 17,8 °C. Raspon suma efektivnih temperatura u vegetacijskom razdoblju kreće se 1250 – 1450 °C. Tijekom godine padne otprilike oko 830 mm oborina (pola u doba vegetacije) i one su dobro raspoređene.

Prema podacima Hrvatskog Hidrometeorološkog zavoda, godina 2014. bila je po mnogočemu specifična. Godina je bila ekstremno topla na cijelom teritoriju Republike Hrvatske. Osim iznad prosječno visokih temperatura po određenim mjesecima tijekom godine, važno je napomenuti da je 2014. godina istovremeno bila i vrlo kišna. Naime, prevladavalo je ekstremno kišno vrijeme na 70 %, vrlo kišno na 25 % te kišno na 5 % područja. Ekstremne klimatske prilike, kao što su toplinski i hladni valovi te ekstremno sušna i vlažna razdoblja, od osobite su važnosti za praćenje, budući da znatno utječu na ljude i gospodarstvo. Naime, klimatske su prilike u pojedinoj godini, osobito u danima neposredno pred berbu, vrlo važan čimbenik, budući da utječu na dinamiku dozrijevanja grožđa i uvjetuju trenutak berbe.

Za prikaz i objašnjenje klimatskih prilika područja pokusnog vinograda Jazbina korišteni su podaci meteorološke mjerne postaje Zagreb-Maksimir, koja je udaljena oko 5 kilometara od pokušališta.

3.4.1. Temperatura zraka

Temperatura zraka možda je najbitniji čimbenik uzgoja vinove loze i u izravnoj je vezi sa Sunčevom radijacijom. Više je načina gubitaka pozitivne radijacije pretvorene u toplinu na površini Zemlje. Jedan dio ulazi u tlo i zagrijava ga, drugi dio zagrijava zrak, a treći se dio troši na evapotranspiraciju.

Naime, sve životne funkcije vinove loze i njezin cjelokupan rast ovise o temperaturi. Poznato je da u proljeće vinova loza ne počinje s vegetacijom dok temperatura zraka ne dosegne biološku nulu, odnosno dok se ne nakupi određena suma srednjih dnevnih temperatura viših

od 10 °C. Najpovoljnija srednja dnevna temperatura zraka za kretanje vegetacije iznosi 10 – 12 °C. Temperatura je od presudnog značaja i za formiranje i pravilnu funkciju reproduktivnih organa, stoga potrebna temperatura za cvatnju i oplodnju mora doseći 20 – 30 °C, a za razvoj grozdova i bobica najpovoljnija temperatura je 25 – 30 °C (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008).

Budući da se pokusni vinograd nalazi u klimatskoj zoni B[7], gdje se suma srednjih dnevnih temperatura otprilike kreće oko 3560 °C godišnje (Zagreb), važno je napomenuti da često postoji opasnost od oštećenja organa uslijed pojave niskih temperatura i kasnih proljetnih mrazova. Mirošević i Karoglan Kontić (2008.) navode kako ekstremne temperature dovode do zastoja i problema u rastu i razvoju te oštećenja pojedinih organa te u konačnici gubitka prinosa. Vinova loza najpodložnija je utjecaju niskih temperatura na početku vegetacije, dok u razdoblju zimskog mirovanja pokazuje najveću otpornost, no pojedini organi različito reagiraju na određene temperature. Naime, najveću otpornost prema niskim zimskim temperaturama pokazuje staro drvo, koje strada pri temperaturama od -24 do -26 °C i rozgva od -22 do -25 °C. Pupovi tijekom zimskog mirovanja stradaju pri temperaturi od -15 do -18 °C. Mladice i listovi stradaju pri temperaturi od -2 °C, dok je cvat najosjetljiviji organ na niske temperature i podložan je stradavanju već pri temperaturi od 0 °C. Osim toga, do oštećenja korijena i korijenovog sustava dolazi pri temperaturama tla od -5 °C, odnosno -8 °C, ali u našim uvjetima uzgoja rijetko dolazi do smrzavanja korijena. Općenito govoreći, otpornost loze temelji se najprije na svojstvima kultivara, zatim starosti trsa, svojstvima tla, ishrani, bujnosti vegetacije, vremenu reza, o položaju vinograda i drugim čimbenicima.

Srednja godišnja temperatura zraka za 2014. godinu na području Republike Hrvatske, kao i ona izmjerena na meteorološkoj postaji Zagreb-Maksimir, a prikazana tablicom 3.1., iznosila je 12,9 °C i bila je viša od višegodišnjeg prosjeka (1961. – 1990.). Naime, u proljetnim mjesecima (ožujak, travanj i svibanj) 2014. godine temperatura zraka u pojedinim razdobljima bila je viša od uobičajenog prosjeka za proljeće s razdobljima iznimno hladnog vremena. Klimatološka analiza srednje sezonske temperature zraka za navedene mjesece pokazala je da je proljeće 2014. bilo toplije od prosjeka (1961. – 1990.) i to za 1 do 3 stupnja u unutrašnjosti. Srednja mjesečna temperatura za ožujak iznosila je 10,5 °C, što je utjecalo i na raniji početak suzenja vinove loze i kretanje vegetacije.

[7] Prema Winkleru (1974.) sva vinogradarska područja svijeta podijeljena su prema zbiru efektivnih temperatura na klimatske zone; Hrvatsku čine 4 klimatske zone (B, C1, C2, C3). (Hrvatska enciklopedija, Leksikografski zavod Miroslav Krleža, 2017).

U ljetnim mjesecima (lipanj, srpanj i kolovoz) temperature su također uglavnom bile iznad višegodišnjeg prosjeka, kao i u mjesecu rujnu (DHMZ, 2017). Najtopliji mjesec u 2014. godini bio je srpanj, sa srednjom mjesečnom temperaturom zraka od 21,8 °C. U listopadu 2014. godine bilo je također iznadprosječno toplo, osobito između 6. listopada, kada je i obavljena berba sorte Syrah, te 14. listopada.

Tablica 3.1.: Prikaz srednjih mjesečnih temperatura zraka (°C) za Zagreb-Maksimir

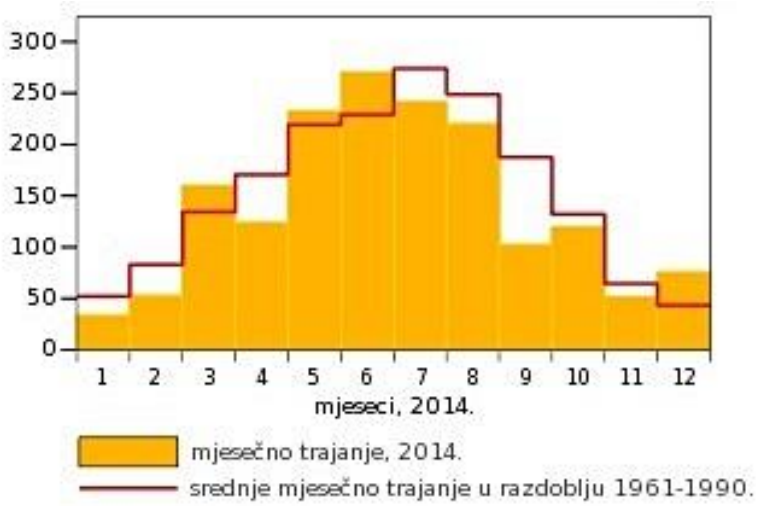
Srednje mjesečne temperature zraka Zagreb-Maksimir °C													
Mjesec/ Godina	**I**	**II**	**III**	**IV**	**V**	**VI**	**VII**	**VIII**	**IX**	**X**	**XI**	**XII**	**Srednja veget. temp**
2014.	4,9	5,3	**10,5**	**13,3**	**15,7**	**20,2**	**21,8**	**20,2**	**16,2**	**13,6**	9,0	4,2	16,4
'61.-'90.	-0,8	1,9	5,9	**10,6**	**15,3**	**18,5**	**20,1**	**19,3**	**15,8**	**10,5**	5,3	0,9	15,7

3.4.2. Svjetlost

Osim temperature, svjetlost je također vrlo važan čimbenik za uzgoj svih biljaka, pa tako i vinove loze. Vinova loza biljka je koja zahtjeva intenzivno osvjetljenje i mnoštvo vedrih i mješovitih dana, i to tijekom cijelog vegetacijskog perioda. Ono je biljkama prvenstveno neophodno za obavljanje procesa fotosinteze, odnosno za sintezu organske tvari. Naime, organska tvar potrebna je za rast i razvoj te nesmetano odvijanje metaboličkih procesa, stoga je svjetlost od velike važnosti tijekom odvijanja svih fenofaza. Osim toga, svjetlost je čimbenik potreban kako bi sorta osigurala svoj maksimalni rodni potencijal, tj. za diferencijaciju rodnih pupova (Maletić i sur., 2008).

Vinova loza prvenstveno se koristi izravnim sunčevim svjetlom, ali i reflektirajućim i difuznim svjetlom. Količina i intenzitet osvjetljenja mijenjaju se zavisno od sorte, a ukupna količina svjetla ovisi o geografskim čimbenicima poput geografske širine, nadmorske visine, inklinacije, ekspozicije, blizine vodenih površina, ali i o gustoći sadnje, uzgojnom obliku i načinu rezidbe (Licul i Premužić, 1982; Mirošević i Karoglan Kontić, 2008). Odgovarajućim ampelotehničkim zahvatima važno je osigurati optimalno prodiranje svjetlosti u unutrašnje dijelove trsa, kako bi se postigao maksimum fotosintetske aktivnosti te kako bi se diferencirao što veći broj pupova. Pri velikoj gustoći lisne mase, svjetlost slabije prodire u unutrašnjost trsa te je moguća pojava rehuljavosti i osipanja. Nadalje, svjetlost je važna za dozrijevanje i

kakvoću grožđa budući da ono utječe na brzinu nakupljanja šećera i stupanj obojenosti bobica.



Slika 6: Insolacija (h), Zagreb-Maksimir
Izvor: http://meteo.hr/

Količina svjetlosti nekog područja izražava se kao insolacija, odnosno brojem sati sijanja sunca tijekom vegetacije. Prema podacima statističkog ljetopisa za 2014. godinu, u kontinentalnoj Hrvatskoj na godinu ima između 1800 i 2000 sati sijanja sunca, više u istočnom nego li u zapadnom dijelu. U 2014. godini, zbroj sati sijanja sunca u vegetacijskom periodu iznosio je 1445 sati (Slika 6), što je manje od višegodišnjeg prosjeka (1961. – 1990.). Mjesec s najviše sati sijanja sunca bio je lipanj sa skoro 270 sati, što je više i od višegodišnjeg prosjeka (1961. – 1990.). Zanimljivo je da je travanj bio mjesec s najmanje sunca u vegetacijskom periodu (101,5 sati), dok je ožujak imao skoro 160 sunčanih sati. Mjesec rujan bio je najsunčaniji na svim mjernim postajama u trećoj dekadi (u danima pred berbu) čiji je udio u mjesečnoj sumi bio veći od 50 % na kontinentalnim postajama. U prvoj dekadi listopada, kada je grožđe sorte Syrah pobrano s trsova, suma trajanja sijanja sunca iznosila je 38 sati.

3.4.3. Vlaga

Vinova loza koristi se svojim korijenom za pribavljanje potrebne količine vode s otopljenim hranjivim tvarima. Za optimalan rast i razvoj vinove loze tijekom vegetacije, količina koja joj je potrebna ovisi o afinitetima kultivara za vlagom, načinu uzgoja, svojstvima tla, temperaturi i dr. Kiša je najučestaliji oblik oborina u Republici Hrvatskoj, pa tako i na području sjeverozapadne Hrvatske. Osim što je najučestaliji, ona je i najpovoljniji oblik oborina, uz

umjerenu jačinu padanja. Vinova loza kultura je koja preferira tople i tihe kiše slabog intenziteta.

Najveću potrebu za vodom ima u početku vegetacije kada dolazi do rasta mladica te u fazi razvoja bobica. S druge strane, vinova loza ne podnosi previše vlažna tla jer ona smanjuju kapacitet za zrak u tlu i time onemogućavaju rast korijena. U teškim i loše dreniranim tlima, kada se takvo stanje zadrži dulje vrijeme, može doći do asfiksije korijena (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008). Osim toga, prekomjerna vlaga nije poželjna ni u vrijeme cvatnje i oplodnje jer može doći do slabijeg oprašivanja, kao ni u vrijeme dozrijevanja grožđa, nakon dugotrajne suše te u pripremi loze za zimski odmor.

Statistički ljetopis Republike Hrvatske dao je analizu godišnjih količina oborina na području Republike Hrvatske, koja je pokazala da je u 2014. godini zabilježeno više oborina od višegodišnjeg prosjeka (1961. – 1990.). Podaci o količini oborina po mjesecima u 2014. godini dobiveni su s mjerne postaje Zagreb-Maksimir. Ukupna godišnja količina oborina na tom području iznosila je 1317,8 mm, a ukupna količina oborina u vegetacijskom periodu 963 mm.

Proljetne mjesece 2014. godine (ožujak, travanj i svibanj) obilježilo je promjenjivo vrijeme s čestom kišom i pljuskovima. U ljetnim mjesecima (lipanj, srpanj i kolovoz) nastavilo se promjenjivo vrijeme s čestom kišom i pljuskovima s grmljavinom u cijeloj Hrvatskoj. Ljeto je bilo iznadprosječno kišno, budući da je bilo ekstremnih količina kiše te pojava tuče, koja nije povoljna oborina za vinovu lozu.

Analiza količina oborina za rujan 2014. godine pokazuje da je rujan također okarakteriziran mjestimičnim iznadprosječnim količinama oborina, što je dovelo do poplava na pojedinim područjima Hrvatske. Ukupna količina oborina za mjesec rujan na mjernoj postaji Zagreb-Maksimir, iznosila je 178,6 mm, što znači da je rujan bio mjesec s najviše oborina. Početkom listopada, odnosno u danima pred berbu (1. – 6. listopada), vremenske su prilike bile promjenjive. Naime, 1. je listopada u zapadnim dijelovima zemlje bilo kiše i jutarnje magle, a zatim je 2. – 5. listopada bilo djelomično sunčano s maglovitim jutrima.

Mirošević i Karoglan Kontić (2008.) navode da je najmanja potrebna godišnja količina oborina za uzgoj vinove loze i proizvodnju grožđa 300 – 350 mm, dok je optimalna 600 – 800 mm oborina na godinu, uz povoljan raspored tijekom vegetacijskog ciklusa. Naime, u zapadnom dijelu sjeverne unutrašnjosti Republike Hrvatske količine oborina kreću se od 900

do 1000 mm. U 2014. godini na meteorološkoj postaji Zagreb-Maksimir ukupno je palo 1317,8 mm oborina, a prosječna količina oborina kroz godine na postaji Maksimir iznosi 851,7 mm. Godina 2014. rekordna je godina po količini oborina u povijesti meteoroloških mjerenja, točnije od 1949. godine, što je prikazano i u tablici 3.2. (DHMZ, 2017).

Tablica 3.2.: Prikaz količina oborina (mm) za Zagreb-Maksimir

Ukupne mjesečne i godišnje količine oborina Zagreb-Maksimir (mm)

	2014. godina	**1961. – 1990. godine**
I	58,1	46,4
II	141,3	42,1
III	**21,0**	55,8
IV	**70,4**	**63,6**
V	**145,0**	**78,7**
VI	**147,0**	**100,1**
VII	**157,8**	**83,4**
VIII	**115,2**	**94,6**
IX	**178,6**	**79,3**
X	**128,0**	**69,2**
XI	84,5	81,2
XII	70,9	58,0
$\sum_{\text{godišnja}}$	1317,8	852,4
$\sum_{\text{vegetacije}}$	963	568,9

3.4.4. Vjetar

Vjetar je još jedan od klimatskih čimbenika koji čini klimu nekog područja i utječe na fiziološke procese vinove loze. Način na koji će vjetar utjecati na vinovu lozu ovisi o njegovim obilježjima, jačini i smjeru te vremenu pojave.

U unutrašnjosti Republike Hrvatske prevladavaju vjetrovi sjeveroistočnog smjera, a potom jugozapadnoga. Prema jačini najčešće su slabi do umjereni. Općenito govoreći, slabi do umjereni vjetrovi potpomažu oprašivanje i oplodnju, djeluju na sprječavanje pojave kasnih proljetnih mrazova i isušuju rosu s listova loze.

3.5. Tlo

Vinova loza nije toliko zahtjevna kultura prema tipu tla, kao što je zahtjevna prema klimi. Može rasti i relativno se uspješno razvijati na različitim vrstama tala i nagibima. S druge strane, tlo svojim kemijskim, fizikalnim te biološkim posebnostima može uvelike utjecati na prirod i kvalitetu grožđa. Najbolje rezultate pokazala je na propusnim tlima lakšeg mehaničkog sastava, kao što su pjeskovita tla, skeletoidna i tla na lesu, upravo zbog velikog kapaciteta za zrak i visoke mikrobiološke aktivnosti. Na takvim tlima korijen vinove loze dubokim rastom omogućava pravilnu opskrbu hranjivim tvarima i vodom.

U proljeće, kada kreće vegetacija, osim temperature zraka, vrlo su bitna i dobra toplinska svojstva tla. Ona utječu na kretanje i tijek vegetacijskog ciklusa. U otopini tla nalaze se biogeni elementi potrebni za pravilno odvijanje životnih procesa vinove loze, a ako dođe do njihovog nedostatka, javljaju se prepoznatljive fiziološke i morfološke promjene na vinovoj lozi. Vinova loza usvaja makroelemente poput dušika (amonijev i nitratni ion), fosfora (primarni i sekundarni fosfatni ion), kalija (kalijev ion), ugljika, kalcija, sumpora i magnezija u većim količinama, dok mikroelemente bor, cink, mangan, željezo, bakar, kobalt i molibden usvaja u manjim količinama. Nadalje, korijen proizvodi i biljne hormone – citokinine koji su bitni za rast i zametanje pupova vinove loze (Maletić i sur., 2008).

Osim korijena kojeg možemo nazvati protagonistom u snabdijevanju nadzemnih dijelova vinove loze otopljenim hranjivim tvarima i vodom, važnu ulogu imaju i mikorizne gljive smještene na njenom korijenu (Jemrić, 2007).

3.5.1. Karakteristike tla pokušališta Jazbina

Za uzgoj vinove loze i proizvodnju vina na nekom području važni su prostorni i vremenski čimbenici. Vinogradarski i vinarski potencijal određenog vinogradarskog položaja (terroir) određen je čimbenicima: klimom, tlom, topografijom i utjecajem čovjeka. Međunarodna organizacija za vinovu lozu i vino (O.I.V.) usvojila je definiciju pojma terroir kao koncept koji se odnosi na područje u kojem se razvija kolektivno znanje o međudjelovanju prepoznatljivog okoliša i primijenjene vinogradarsko-vinarske prakse, pri čemu su pruženi uvjeti za proizvodnju proizvoda koji potječe s tog određenog područja.

Pedološko istraživanje tla na području pokušališta Jazbina provedeno je 1952. godine na Zavodu za tloznanstvo tadašnjeg Poljoprivredno-šumarskog fakulteta u Zagrebu. Jazbinska tla podijeljena su prema Škoriću (1953.) na antropogenizirano podzolirano tlo i podzolirano

smeđe tlo, no uz opasku da morfologija profila i dijagnostički znakovi nisu bili tipični za procese pedolizacije. Nadalje, prema aktualnoj klasifikaciji hrvatskih tala (Škorić i sur., 1985), u Jazbini je zastupljeno dominantno rigolano tlo vinograda iz obronačnog pseudogleja na podlozi pleistocenskih ilovina i pliocenskih glina. Prosječna vrijednost pH tla relativno je visoka (pH 6,08) i ujednačena kroz gotovo cijelu dubinu profila, iako to nije uobičajeno za tipičan pseudoglej. Kao mogući uzrok ovakve pojave navodi se agromelioracijska mjera kalcifikacija koja je provedena u sklopu uređenja površina radi smanjenja kiselosti tla (Bažon, 2011). Osim vrijednosti pH, povećan je i sadržaj humusa na dubini oko 160 cm, što se također pripisuje ravnanju terena.

Pseudoglejna tla tipična su za humidna i semihumidna klimatska područja, čija su karakteristika izraženi kasno jesensko-zimsko-proljetni vlažni period i vrlo sušna ljeta. Takva su tla u suštini manje plodna, s plitkim aktivnim profilom i nepovoljnim vodnim, toplinskim i zračnim svojstvima. Takva su tla vrlo često sklona eroziji na strmom reljefu.

3.6. Plan pokusa

Istraživanje utjecaja ektomikorize provedeno je 2014. godine na Vinogradarsko-vinarskom pokušalištu Agronomskog fakulteta Jazbina u svrhu utvrđivanja njenog utjecaja na mehaničke i kemijske parametre grožđa sorte Syrah. Mikorizno cjepivo aplicirano je na 40 trsova sorte Syrah tijekom vegetacijske sezone 2013. godine, a isti broj trsova, na koje cjepivo nije bilo primijenjeno, poslužio je kao kontrola u istraživanju.

Naime, postoji više tehnika kojima se na „umjetan“ način može „stvoriti“ mikoriza na korijenu vinove loze, ali i ostalih biljaka. Moguće je mikropropagacijom proizvesti kvalitetne sadnice, odnosno podloge, koje bi prilikom sadnje u tlo već bile inficirane mikoriznim gljivama, ili se pak proizvodi mikorizno cjepivo koje se aplicira u tlo, u neposrednu blizinu same sadnice vinove loze. Komercijalno proizvedeno cjepivo može biti u obliku živog mikoriznog micelija (vegetativni inokulum) ili micelij u stanju hibernacije i spore.

U ovome istraživanju korišteno je cjepivo komercijalnog naziva „Mykoflor“, tvrtke „Bio-budućnost d.o.o.“. Navedeno cjepivo suspenzija je živog ektomikoriznog micelija u obliku hidro gela, a sadrži različite rodove gljiva izolirane s korijena vinove loze iz prirodnih staništa Hrvatske. Prilikom selekcije mikoriznih gljiva za proizvodnju cjepiva treba obratiti pozornost na adaptabilnost određene mikorizne gljive na mjesto presađivanja biljke domaćina i rezistentnost gljive na pripadajuće rizosferne patogene. Osim toga, za uspješnu uspostavu mikorize, vrlo je bitan faktor i kompatibilnost između gljive i biljke domaćina. Navedeno je

cjepivo aplicirano izravno u zonu korijena pomoću ručnog zemljišnog injektora (Kwazar), a cjepivo je dovoljno primijeniti jednom za cijeli životni vijek biljke.

Proizvođač navedenog cjepiva tvrdi da je živi mikorizni micelij pogodniji od suhih preparata jer spore nerado kliju, a budući da se živi mikorizni micelij nalazi u vodenoj otopini, kada je apliciran u tlo, hife vrlo brzo koloniziraju korijen vinove loze koji se nalazi u njihovom dosegu i dolazi do uspostave obostrano korisne zajednice – mikorize. Kao glavne prednosti ovog mikoriznog cjepiva navode se smanjeni ukupni troškovi proizvodnje, povećan prinos i kvaliteta te smanjene posljedice suše, budući da su hife sposobne prodrijeti u mikropore tla kako bi dosegle vodu i hranjive tvari. Nadalje, navedeno je kako ektomikorizno cjepivo ima pozitivan utjecaj na rast vinove loze u uvjetima vodnog stresa, povećanje površine asimilacijskih ćelija u lišću, povećanje razmaka između nodusa i brže drvenjenje loze. Osim toga, proizvod smanjuje potrebu za kemijskom zaštitom za 30 – 50 %, a loza je otpornija na bolesti i patogene korijena.

Grožđe je sa svih pokusnih trsova pobrano ručno u trenutku kada je nastupio prestanak nakupljanja sadržaja šećera i usporavanje pada ukupne kiselosti u bobici, odnosno u fazi pune zrelosti grožđa. Indeks zrelosti, odnosno rok berbe kultivara Syrah određen je iz reprezentativnog uzorka analiziranog u laboratoriju temeljem uzorkovanja 200 g nasumično odabranih bobica s dna, sredine i vrha grozda.

Nakon što je grožđe bilo pobrano s trsova, odneseno je u laboratorij koji djeluje u sklopu pokušališta Jazbina. Izmjeren je prinos po trsu (kg/trs) i odvojen je prosječan uzorak od 10 grozdova, odnosno 100 bobica na kojem je provedena uvometrijska analiza (mjeriva obilježja grozda i bobice) i analiza mehaničkog sastava grozda i bobice prema Prostoserdovu (1946.). Provedene su i osnovne kemijske analize mošta koje uključuju sadržaj šećera (Oe°) i ukupnih kiselina (g/L) u moštu te pH vrijednost mošta prema metodama O.I.V.-a (2001.). Koncentracija ukupnih polifenola određena je prema Folin-Ciocalteu metodi, dok su ukupni antocijani određeni spektrofotometrijski, metodom izbjeljivanja bisulfitom.

3.7. Uvometrijska i mehanička analiza bobice i grozda

U istraživanju su provedene ampelografske metode mjerenja poput uvometrije (Slika 7) i mehaničke analize grozda, radi dobivanja objektivnijih rezultata.

Uvometrijom (lat. *uva* – grozd) se utvrđuju mjeriva obilježja grozda i bobice poput mase grozda, dužine i širine grozda, broja bobica te dimenzija bobica, odnosno njihove veličine,

širine te oblika. Uvometrijska se istraživanja provode u fazi pune zrelosti grožđa, na reprezentativnom uzorku ne manjem od 10 grozdova i 100 bobica koji ne smiju biti oštećeni i moraju biti uzeti s trsova na točno propisan način (Maletić i sur., 2008).



Slika 7: Uvometrija – mjerenje dimenzija grozdova (kontrola – gore, mikoriza – dolje)

Izvor: Kristina Novak

Mehanička se analiza grozda i bobice provodi također na reprezentativnom uzorku od 10 grozdova, odnosno 100 bobica u fazi pune zrelosti, i to obično usporedno s uvometrijom. Usmjerena je na procjenu tehnoloških obilježja sorte kao sirovine za preradu u vino ili za druge namjene (zobatice, proizvodnja suhica i dr.) Analiza se provodi tako da se svakom od grozdova izbroje bobice i odijele se od peteljkovine te se izmjeri masa bobica i masa peteljkovine. Iz kompletnog se uzorka izdvoji 100 bobica kojima se odvoji kožica, meso i sjemenke. Na laboratorijskoj se vagi izvaže masa kožica 100 bobica te masa i broj sjemenki 100 bobica.

Na temelju dobivenih rezultata mjerenja mogu se utvrditi pokazatelji sastava grozda i bobica. Navedeni parametri mogu biti iskazani apsolutnim vrijednostima, no najvažniji i najinformativniji za gospodarsku evaluaciju relevantni su pokazatelji: postotak peteljkovine u

grozdu, postotak mesa (pokazatelj iskorištenja sirovine), strukturni pokazatelj grozda (masa mesa prema masi čvrstog ostatka, koji čine peteljkovina, kožica i sjemenke) te pokazatelj bobica (broj bobica u 100 g grozda). Veći randman imaju sorte koje imaju povoljniji odnos mesa u odnosu na čvrsti ostatak, što je od osobite važnosti kod vinskih sorata (Maletić i sur., 2008).

3.8. Fizikalno-kemijske metode analize mošta

Međunarodna organizacija za vinovu lozu i vino (O.I.V.) sa sjedištem u Parizu brine o uvođenju i unificiranju enoloških analitičkih metoda i propisuje referentne (provjerene) metode. Prema O.I.V.-u, mošt je definiran kao tekući proizvod dobiven od svježeg grožđa, a proizveden je spontano ili pomoću fizikalnih procesa kao što su: muljanje, runjenje, ocjeđivanje i/ili prešanje.

Nakon što je grožđe pobrano s pokusnih trsova i odneseno u laboratorij, provedene su određene kemijske i fizikalne metode kojima je utvrđen sadržaj šećera (°Oe) i ukupnih kiselina (g/L) u moštu te je izmjeren pH.

3.8.1. Određivanje sadržaja šećera

Šećer u bobicu dolazi iz lišća floemskim putem i to u obliku disaharida saharoze koja se odmah hidrolizira na heksoze (glukozu i fruktozu), a tijekom dozrijevanja koncentracija šećera se povećava. Koncentracija šećera u moštu određuje se kemijskim i/ili fizikalnim metodama.

Naime, kemijske su metode, iako kompleksnije i mnogo preciznije, a bazirane su na kemijskim reakcijama šećera s odgovarajućim reagensima. Od kemijskih metoda određivanja sadržaja šećera u moštu razlikujemo Rebelein metodu i Lane-Eynon metodu.
S druge strane, fizikalne su metode veoma brze i mnogo jednostavnije. Mana fizikalnih metoda smanjena je točnost za razliku od kemijskih metoda, no u praksi one daju zadovoljavajuće rezultate i vrlo se često koriste. Fizikalne metode mjere ukupnu topivu tvar u moštu, što je izravan pokazatelj sadržaja šećera, budući da šećer čini oko 95 % ukupne topive tvari mošta. Za mjerenje sadržaja šećera fizikalnim metodama koriste se instrumenti areometar ili moštna vaga (Babo, Oechsle, Brix) te optički instrument – refraktometar.

Sadržaj šećera u ovome je istraživanju izmjeren pomoću ručnog refraktometra. Refraktometar je optički instrument pomoću kojeg se iz izmjerenog graničnoga kuta pri totalnoj refleksiji određuje indeks loma koji prolazi kroz sloj mošta. Veličina kuta pod kojim se svjetlost lomi

ovisi o gustoći mošta. Što je gustoća mošta veća, veći je i lom svjetlosti i obrnuto. Lom svjetlosti na skali refraktometra vidi se u obliku manjeg ili većeg stupca sjene, a očitavaju se vrijednosti koje se nalaze na granici svijetlog i tamnog polja. Refraktometar koji je korišten u ovom istraživanju (Atago) imao je dvije mjerne skale s kojih su očitani stupnjevi po Brixu i Oechslu (Slika 8), no postoje i noviji refraktometri koji sadrže do tri mjerne skale (Baboo, Brix i Oechsle), dok su stariji refraktometri na skali sadržavali postotak suhe tvari.



Slika 8: Ručni refraktometar

Izvor: Kristina Novak

3.8.2. Određivanje razine ukupne i realne kiselosti

Postoje dva najvažnija načina izražavanja kiselosti, a to su ukupna kiselost (titracijski aciditet) i realna kiselost (pH vrijednost).

3.8.2.1. Ukupna kiselost

Ukupnu kiselost čine slobodne organske i neorganske kiseline, i to najvećim dijelom vinska i jabučna kiselina, te njihove soli kao i druge kisele tvari koje se mogu titrirati bazom. Tijekom dozrijevanja grožđa vinska je kiselina mnogo stabilnija, dok se koncentracija jabučne kiseline smanjuje i to u prvom redu zbog procesa disanja u kojem kao glavni izvor energije zamjenjuje glukozu. Ukupna se kiselost određuje metodom potenciometrijske titracije i metodom direktne titracije.

Ukupna kiselost u ovom istraživanju određena je metodom direktne titracije (Slika 9). Navedena se metoda bazira na neutralizaciji svih kiselih frakcija otopinom neke lužine. Na osnovi utroška lužine, odnosno natrijevog hidroksida (NaOH) izračunava se ukupna kiselost. Kao indikator najčešće se koristi bromothymol plavi. Titracijska kiselost izražava se u g/L, kao vinska kiselina.

Naime, u Erlenmeyerovu tikvicu ili laboratorijsku čašu pipetira se 10 mL uzorka mošta u koji se dodaju 2 – 3 kapi tekućeg indikatora bromothymol plavog. Titrira se s 0,1 M NaOH do pojave maslinasto zelene boje. Nakon toga očita se vrijednost utrošene 0,1 M NaOH izražene u mL pomnožena s 0,75 pri čemu je dobivena vrijednost ukupne kiselosti (g/L kao vinska).



Slika 9: Metoda direktne titracije uzorka

Izvor: Kristina Novak

3.8.2.2. Realna kiselost (pH vrijednost)

Koncentracija slobodnih vodikovih iona u moštu ili vinu čini realnu kiselost mošta ili vina. Vrijednost ovisi o stupnju disocijacije pojedinačnih organskih kiselina te koncentraciji kalijevih i natrijevih iona. Najjače disocira vinska kiselina, dok jabučna disocira slabije, a ostale kiseline još slabije.

pH vrijednost mošta i vina uglavnom se kreće između 2,8 – 4,0. Realna kiselost utječe na niz biokemijskih i fizikalno-kemijskih procesa tijekom dozrijevanja i starenja vina. Vina koja imaju nižu vrijednost pH kiselija su i pogodnija za čuvanje budući da se u njima teže razmnožavaju nepoželjni mikroorganizmi. pH vrijednost mošta i vina određuje se uređajem koji se naziva pH-metar.

3.8.3. Određivanje pojedinačnih organskih kiselina

Najznačajniji su predstavnici organskih kiselina vinska, jabučna, limunska i jantarna kiselina, a izražavaju se u g/L. Odnos između pojedinačnih organskih kiselina određuje se metodom tekućinske kromatografije, enzimatski te metodom papir kromatografije. Njihov je odnos definiran sortom, položajem i klimatskim prilikama tijekom dozrijevanja. Koncentracija vinske kiseline kreće se od 3 pa sve do 10 g/L, a jabučne kiseline od 1 do 4 g/L.

U ovom eksperimentu pojedinačne su organske kiseline (izražene u g/L) određene tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti (engl. *High Performance liquid Chromatography, HPLC*). Analiza organskih kiselina provedena je uz izokratno eluiranje pri protoku od 0,6 mL min^{-1}, temperaturu kolone od 65 °C i detekciju pri 210 nm. Korištena kolona bila je kationski izmjenjivač Aminex HPX-87H 300 x 7,8 mm i.d. (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA), dok je kao mobilna faza korištena 0,0065 %-tna vodena otopina fosforne kiseline.

3.8.4. Određivanje sadržaja pojedinačnih polifenola iz kožice i sjemenke

Polifenoli čine veliku grupu spojeva i izrazito su važni za svojstva i kakvoću crnih vina, a sintetiziraju se iz aminokiseline fenilalanina. Ovisno o načinu prerade grožđa, polifenoli u mošt dolaze u najvećoj mjeri iz peteljke i sjemenke, a s manjim udjelom slijedi kožica i sok grožđa.

Količina ukupnih polifenola viša je u grožđu nego li u vinu. Naime, crno grožđe u prosjeku sadrži oko 5500 mg/kg ukupnih polifenola (izraženo kao galna kiselina), dok bijelo grožđe sadrži manje, oko 4000 mg/kg. Koncentracija polifenola u grožđu mijenja se ovisno o kultivaru, klimatskim te ampelo- i agrotehničkim uvjetima. Polifenoli uvelike oblikuju organoleptičke karakteristike vina poput okusa, boje i adstringencije.

U grožđu i moštu razlikujemo dvije osnovne skupine polifenola: neflavonoide i flavonoide. U neflavonoide ubrajamo fenolne kiseline (derivate cimetne kiseline i derivate benzojeve kiseline) i stilbene, dok flavonoide čine flavonoli, flavanonoli, flavanoli ili flavan-3-oli i antocijani.

Za potrebe ovog istraživanja ispitivan je sadržaj flavonoida, odnosno antocijana, flavonola i flavanola.

3.8.4.1. Postupak ekstrakcije kožice grožđa

Prije početka provođenja samog postupka ekstrakcije, dok je bobica još bila u smrznutom stanju, kožica je odvojena od mesa bobice te su tako odvojene kožice dalje ostavljene da se odmrznu. Odmrznute su kožice sušene na zraku te su potom usitnjene. Na uzorak mase od 125 mg dodano je 10 mL ekstrakcijskog otapala (20 % acetonitril, 1 % mravlja kiselina, 79 % voda).

Ekstrakcijska je smjesa ostavljena na magnetskoj miješalici pri temperaturi od 50 °C u trajanju od jednog sata (Slika 10). Smjesa je potom centrifugirana, a dobiveni supernatant odvojen je te prebačen u odmjernu tikvicu od 10 mL te nadopunjen otapalom A do oznake. Prije provođenja HPLC analize, dobivena je otopina filtrirana preko PTFE membranskog filtera.



Slika 10: Prikaz pripreme uzoraka kožice i magnetska miješalica
Izvor: Kristina Novak

3.8.4.2. Postupak ekstrakcije sjemenke grožđa

Prije početka same ekstrakcije, sjemenka je odvojena od mesa dok je bobica bila u smrznutom stanju. Odvojene sjemenke ostavljene su da se odmrznu. Nakon toga, odmrznute su sjemenke sušene na zraku te usitnjene. Na uzorak mase od 125 mg dodano je 10 mL ekstrakcijskog otapala (20 % acetonitril, 1 % mravlja kiselina, 79 % voda). Ekstrakcijska je smjesa ostavljena na magnetskoj miješalici pri temperaturi od 50 °C u trajanju od dva sata.

Smjesa je zatim centrifugirana (Slika 11), a dobiveni supernatant odvojen je i prebačen u odmjernu tikvicu od 10 mL te je tikvica nadopunjena otapalom A do oznake. Dobivena se otopina prije HPLC analize filtrirala preko PTFE membranskog filtera.



Slika 11: Priprema uzoraka sjemenke i ekstrakcija
Izvor: Kristina Novak

3.8.4.3. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti – HPLC metoda

Sadržaj pojedinačnih polifenola u dobivenim ekstraktima iz kožica i sjemenki određen je RP-HPLC metodom opisanom u Tomaz i Maslov (2015.) pomoću HPLC instrumenta Agilent 1100 Series (Agilent, SAD). Odvajanje polifenola provedeno je na Phenomenex Luna Phenyl-hexyl koloni (250 x 4,6 mm, Phenomenex, SAD) uz gradijentno eluiranje korištenjem 0,5 % (v/v) vodene otopine fosforne kiseline (otapalo A), dok se kao otapalo B koristila otopina koja je sadržavala acetonitril:vodu:fosfornu kiselinu (50:49,5:0,5; v/v/v) s brzinom protoka od 0,9 mL/min. Tijekom analize korišteni su sljedeći uvjeti: volumen ubrizganog uzorka 20 µL i temperatura kolone 50 °C. Flavonoli su određeni pri valnoj duljini od 360 nm te antocijani pri valnoj duljini od 518 nm. Flavan-3-oli određeni su primjenom fluorescencijskog detektora pri λ_{ex} = 225 nm i λ_{em} = 320 nm. Identifikacija pikova temeljila se na usporedbi vremena zadržavanja komponenti iz uzorka s vremenima zadržavanja, kao i usporedbom s UV spektrima standarda, dok je za kvantifikaciju korištena metoda vanjskog standarda.

3.8.4.4. Brzo određivanje polifenola iz grožđa

Na uzorak od 10 kožica dodano je 20 mL ekstrakcijskog otapala (70 % EtOH, 1 % HCOOH, 29 % H_2O). Ekstrakcijska smjesa ostavljena je na maceraciji u trajanju od 24 sata. Nakon toga smjesa je centrifugirana, a dobiveni supernatant odvojen je i podvrgnut daljnjoj analizi.

Ukupni polifenoli

Sadržaj ukupnih polifenola u ovom eksperimentu određen je Folin-Ciocalteu reagensom prema AOAC metodi (Amerine i Ough, 1988). Ukupni su polifenoli izraženi u mg/kg ekvivalenata galne kiseline.

U odmjernu tikvicu od 10 mL dodano je 2,5 mL H_2O i 0,5 mL razrijeđenog ekstrakta. Dodano je 0,5 mL Folin-Ciocalteuovog reagensa i nakon 3 do 5 minuta dodano je 10 % Na_2CO_3. Tikvica je nadopunjena do oznake vodom. Nakon 90 minuta mjerena je apsorbancija pri λ = 700 nm.

Ukupni polifenoli izračunani su prema formuli:

γ (ukupni polifenoli) = 186,5 x A x d; d = razrjeđenje, A_{700} = apsorbancija pri 700 nm

3.9. Statistička analiza

Budući da Analiza varijance – ANOVA ne pokazuje koje su grupe različite od drugih, već samo postoji li značajna razlika, napravljen je post hoc test. Korišten je post hoc test analize varijance – parametrijski Bonferroni (Dunn) test, koji služi za provjeru značajnosti razlika između pojedinih situacija ili uzoraka. Dobiveni rezultati mjerenja statistički su obrađeni, a statističke analize podataka provedene su korištenjem SAS programskog sustava.

U nastavku su statističkim testovima ispitani eksperimentalni podaci i na temelju očekivane distribucije, hipoteza je prihvaćena ili odbačena. Razina značajnosti (signifikantnosti) interpretirana je kao pogreška α:0,05 ili 5 %, odnosno kao sigurnost procjene od 95 %. Ako je $p>0,05$, prihvaćamo nultu hipotezu i zaključujemo da ne postoji statistički značajna razlika među uzorcima. No, ako je $p<0,05$, tada odbacujemo nultu hipotezu i zaključujemo da postoji značajna razlika među uzorcima.

U statističkoj obradi rezultata korištene su oznake **K** i **M**, pri čemu K predstavlja ne-mikorizirane, odnosno kontrolne trsove, dok oznaka M predstavlja trsove koji su bili mikorizirani. Osim toga, malim slovima **a** (veća vrijednost) i **b** (manja vrijednost) označeno je razlikuje li se kontrola od mikorize, pri čemu zvjezdica (*****) u stupcu „Značajnost“ predstavlja da se uzorci međusobno značajno razlikuju sa sigurnošću od 95 %, odnosno da se oni značajno ne razlikuju (ns).

Statistička analiza obuhvaćala je podatke za prinos po trsu, broj grozdova po trsu, prosječan broj bobica u grozdu, prosječnu masu grozda, prosječnu masu jedne bobice, postotak mesa u bobici, postotak kožice u bobici, postotak sjemenke u bobici, sadržaj šećera i ukupnih kiselina, pH, vinsku, jabučnu i limunsku kiselinu, pojedinačne i ukupne antocijane, ukupne flavonole, neke od pojedinačnih flavanola i ukupne flavanole.

4. Rezultati i rasprava

4.1. Broj grozdova i prinos po trsu te broj bobica u grozdu

Za rentabilan uzgoj i proizvodnju vina od presudne je važnosti prinos grožđa po trsu. On najprije ovisi o rodnom potencijalu sorte, ali i o okolinskim, klimatskim i pedološkim uvjetima uzgoja te agro- i ampelotehničkim zahvatima u vinogradu. Iako je poznato da su prinos i kvaliteta u obrnuto proporcionalnom odnosu, odnosno da reduciranje prinosa utječe na povećanje kakvoće grožđa i obrnuto, proizvođač navodi kako će primijenjeno mikorizno cjepivo imati afirmativan utjecaj na prinos, ali i na kvalitetu.

Tablica 4.1.: Prosječne vrijednosti prinosa po trsu (kg), broja grozdova po trsu te prosječnog broja bobica u grozdu, Syrah 2014.

Syrah	**K**	**M**	Značajnost
Prinos po trsu	1,51**b**	3,95**a**	*****
Broj grozdova po trsu	14,1**b**	31,9**a**	*****
Broj bobica u grozdu	57,4**b**	92,7**a**	*****

U tablici 4.1. prikazane su prosječne vrijednosti prinosa po trsu izražene u kilogramima za kontrolu i mikorizu, i prosječan broj grozdova po trsu te prosječan broj bobica u grozdu za kontrolne i mikorizirane trsove sorte Syrah u 2014. godini. Iz tablice 4.1. vidljivo je da je prosječan prinos po trsu (kg) bio značajno veći kod mikoriziranih (3,95 kg) trsova sorte Syrah, nego li kod kontrolnih trsova (1,51 kg). Nadalje, jasno je da je prosječan broj grozdova po trsu također bio značajno veći kod trsova kod kojih je bilo aplicirano mikorizno cjepivo. Mikorizirani su trsovi dali grozdove i sa značajno većim prosječnim brojem bobica (92) u odnosu na kontrolne trsove (57).

Budući da mikoriza svojim razgranatim micelijem potpomaže unos mikro- i makroelemenata iz tla (Biricolti i sur., 1997), osobito biogenih elemenata poput dušika, u žargonu nazvanog „elementom prinosa“, ali i kalija, „elementa kvalitete“, koji je glavni element u postizanju visoke kvalitete grožđa, dobiveni rezultati nisu iznenađujući. Shodno tome, sa sigurnošću možemo zaključiti da je u 2014. godini mikoriza utjecala na značajno povećanje prosječne vrijednosti prinosa po trsu, broja grozdova po trsu te prosječnog broja bobica u grozdu.

4.2. Masa grozda i bobice

Grozdovi se međusobno razlikuju prema mnoštvu obilježja, no najuočljivije su karakteristike svakako oblik i veličina. Naime, grozdovi kultivara Syrah srednje su veliki i najčešće izduženi, a zrele bobice okrugle su do ovalne, srednje velike do male. U punoj zrelosti bobice čine 92 – 98 % težine grozda.

U tablici 4.2. prikazane su prosječne vrijednosti mase grozda i mase jedne bobice grozda izražene u gramima, u kontrolnoj i mikoriznoj varijanti kultivara Syrah za 2014. godinu.

Tablica 4.2.: Prosječna masa grozda i prosječna masa jedne bobice (g), Syrah 2014.

Syrah	**K**	**M**	Značajnost
Masa grozda	106,8**b**	122,8**a**	*****
Masa jedne bobice	1,46**b**	1,58**a**	*****

Iz tablice 4.2. jasno je vidljivo kako je mikoriza utjecala na bolju ishranjenost trsa, osobito fosforom, čiji se nedostatak manifestira u usporenom i nepravilnom razvoju bobica grozdova. Pozitivan utjecaj mikorize odrazio se na značajno povećanje prosječne mase grozda (g) i prosječne mase jedne bobice (g). Naime, u varijanti kontrole prosječna masa grozda iznosila je 106 g, dok je kod mikorize zabilježen porast prosječne mase i ona je iznosila 122 g. Shodno tome, u varijanti mikorize povećala se i prosječna masa jedne bobice (1,58 g) u odnosu na kontrolu (1,46 g).

Stoga, sa sigurnošću možemo zaključiti da je u 2014. godini mikoriza značajno utjecala na povećanje prosječne mase grozda i prosječne mase jedne bobice.

4.3. Mehanički sastav bobice

Grozd je građen od mesa, kožice i sjemenke, koji čine bobicu te peteljkovine. Bobice se razlikuju među sortama u veličini, obliku, čvrstoći mesa, okusu, boji kožice te boji soka. Bobice čine glavni dio grozda i osnovna su sirovina za proizvodnju vina.

U tablici 4.3. prikazani su prosječni udjeli mesa, kožice i sjemenke (%) u bobici kultivara Syrah, godine 2014. Prikazane su vrijednosti kontrolnih i mikoriziranih trsova.

Rezultati dobiveni statističkom analizom prikazuju kako je mikoriza značajno utjecala na povoljniji mehanički sastav bobice i to tako da je zabilježeno statističko značajno povećanje

prosječnog udjela mesa u bobici (%) u varijanti mikorize, dok su prosječni udjeli kožice i sjemenke (%) bili statistički značajno veći u kontrolnoj varijanti. Budući da je mikoriza utjecala na povećanje prinosa i mase grozda, bilo je za očekivati da će se sukladno tome povećati i udio mesa u bobici, što se i dogodilo. Naime, povećanje prosječnog udjela mesa koje je zabilježeno u mikoriziranoj varijanti izravno je povezano s većim randmanom.

Tablica 4.3.: Prosječni udjeli mesa, kožice i sjemenke (%) u bobici, Syrah 2014.

Syrah	**K**	**M**	Značajnost
Udio mesa u bobici	86,9**b**	89,1**a**	*
Udio kožice u bobici	11,6**a**	9,7**b**	*
Udio sjemenke u bobici	1,4**a**	1,2**b**	*

Dakle, sa sigurnošću možemo zaključiti da je u 2014. godini mikoriza utjecala na povećanje prosječnog udjela mesa (%) u bobici i smanjenje prosječnog udjela kožice i sjemenke (%) u bobici.

4.4. Kemijski sastav mošta

Osnovni su sastojci mošta voda, šećeri, kiseline, fenolni spojevi, sastojci arome, spojevi s dušikom, minerali. Količina šećera u pojedinim zonama bobice nije ista, a osnovni šećeri grožđa su glukoza i fruktoza, koje čine preko 95 % ukupnih šećera u grožđu. Osim šećera, kiselost je također svojstvo koje karakterizira tehnološku vrijednost grožđa. Razina kiselosti mijenja se tijekom dozrijevanja grožđa tako da se povećava do nastupa šare, dok u šari naglo pada i nastavlja blago i ravnomjerno padati u fazi dozrijevanja grožđa.

U tablici 4.4. prikazani su osnovni kemijski parametri mošta za kontrolu i mikorizu kultivara Syrah u godini 2014.

Tablica 4.4.: Kemijski sastav grožđa, Syrah 2014.

Syrah	**K**	**M**	Značajnost
Šećer (°Oe)	78,3**a**	68,3**b**	*
Ukupna kiselost (g/L)	11,82	12,00	**ns**
pH	3,18	3,17	**ns**

Naime, u ovom se slučaju postavlja pitanje kako to da je mikoriza značajno utjecala na smanjenje prosječnog sadržaja šećera u odnosu na kontrolu, budući da je poznato da mikoriza utječe na bolje usvajanje kalija iz tla, čija se fiziološka uloga veže uz sintezu ugljikohidrata te je glavni element u postizanju visoke kvalitete grožđa. S druge strane, budući da su prinos i sadržaj šećera u pravilu u obrnuto proporcionalnom odnosu, a rezultati iz tablice 4.1. pokazuju da je mikoriza utjecala na povećanje svih promatranih parametara prinosa, bilo je za očekivati da će se prosječan sadržaj šećera najvjerojatnije smanjiti u varijanti mikorize.

Osim toga, iz tablice 4.4. vidljivo je kako mikoriza nije utjecala na prosječne sadržaje ukupne kiselosti i pH vrijednosti, koji su ostali približno nepromijenjeni. Budući da pH vrijednost mošta najviše ovisi o količini vinske kiseline, koja je pak najzastupljenija u ukupnoj kiselosti mošta, ne iznenađuje podatak vidljiv u tablici 4.4. kako su prosječni sadržaji ukupne kiselosti i pH vrijednosti ostali približno jednaki.

S obzirom na to da je 2014. godina bila ekstremna godina po svojim obilježjima, moguće je da su klimatske prilike imale utjecaj na nepovoljan sadržaj šećera i ukupnih kiselina. No, prema dobivenim rezultatima sa sigurnošću možemo zaključiti da je u 2014. godini mikoriza utjecala na smanjenje prosječnog sadržaja šećera.

4.5. Sadržaj pojedinačnih organskih kiselina

Ukupna kiselost grožđa, odnosno mošta, zajedno s koncentracijom šećera karakterizira tehnološku vrijednost grožđa. Vinska, jabučna i limunska kiselina čine osnovne kiseline grožđa. Ukupna kiselost pada tijekom dozrijevanja grožđa zbog oksidacije organskih kiselina i neutralizacije kiseline mineralima koji prelaze iz tla u pojedine dijelove loze.

Udio vezanih kiselina ovisi o klimatskim uvjetima i sastavu tla. Naime, u sušnim je godinama transport minerala manji i viši je udio slobodnih kiselina, dok je u kišnim godinama veći dotok minerala iz tla te veći dio kiselina prelazi u soli. Omjer slobodnih i vezanih kiselina utječe na pH vrijednost grožđa, odnosno mošta.

Vinska je kiselina najvažnija i najjača kiselina u moštu i vinu koja najviše utječe na pH vrijednost, a njena se koncentracija u zrelom grožđu kreće 1 – 7 g/L. Iz tablice 4.5. vidljivo je kako su mikorizirani trsovi imali značajno veći prosječni sadržaj vinske kiseline u punoj zrelosti grožđa (5 g/L), dok je sadržaj kontrole iznosio (4,5 g/L).

Nadalje, koncentracija jabučne kiseline u grožđu ovisi o kultivaru, stupnju zrelosti grožđa i klimatskim uvjetima, a najčešće iznosi 1 – 4 g/L. U zrelom je grožđu vinska kiselina

zastupljenija od jabučne kiseline, budući da je jabučna kiselina sklonija oksidaciji tijekom procesa disanja. Naime, u slučaju sadržaja jabučne kiseline zabilježeno je značajno smanjenje kod mikoriziranih trsova (3,5 g/L) u odnosu na kontrolne trsove koji su imali veći sadržaj jabučne kiseline u punoj zrelosti grožđa (3,8 g/L).

U tablici 4.5. prikazan je prosječan sadržaj pojedinačnih organskih kiselina u moštu u varijanti grožđa pobranog s kontrolnih i mikoriziranih trsova kultivara Syrah za 2014. godinu.

Tablica 4.5.: Sadržaj pojedinačnih organskih kiselina u moštu (g/L), Syrah 2014.

Syrah	**K**	**M**	Značajnost
Vinska kiselina	4,58**b**	5,19**a**	*****
Jabučna kiselina	3,85**a**	3,60**b**	*****
Limunska kiselina	0,28	0,28	**ns**

Limunska se kiselina u grožđanom soku nalazi u razmjerno niskim koncentracijama 100 – 300 mg/L. U slučaju limunske kiseline nije došlo do značajne promjene ni u jednoj od varijanata, te je prosječan sadržaj limunske kiseline ostao gotovo nepromijenjen kod mikoriziranih trsova, u odnosu na kontrolu.

Uzevši u obzir dobivene rezultate, sa sigurnošću možemo zaključiti da je u 2014. godini mikoriza utjecala na povećanje prosječnog sadržaja vinske kiseline (g/L) te smanjenje prosječnog sadržaja jabučne kiseline (g/L) u grožđu.

4.6. Sadržaj antocijana

Antocijani pripadaju velikoj skupini flavonoida. To su crveni pigmenti koji se uglavnom nalaze u kožici grožđa, no mogu se javiti i u mesu bobice (tzv. sorte bojadiseri) i javljaju se u obliku monoglikozida. Oni u najvećoj mjeri određuju boju vina i smatraju se odgovornima za boju crnih vina te imaju dokazano pozitivan utjecaj na ljudsko zdravlje. Promjena boje kožice bobice grožđa iz zelene u crveno-ljubičastu za vrijeme dozrijevanja označava akumulaciju i rast koncentracije antocijana.

Koncentracija ukupnih antocijana, kao i udio pojedinačnih monoglikozida značajno variraju među kultivarima i ekološkim uvjetima, a omjer koncentracija pojedinih antocijana utječe na stabilnost boje i nijanse boje. Osim toga, boja antocijana izravno je vezana za pH vrijednost medija u kojemu se nalaze. Naime, crvena boja prevladava u kiselom mediju, dok s

povećanjem pH vrijednosti dolazi do gubitka boje. Pri pH vrijednosti višoj od 4 boja varira od svjetlo ljubičaste do plave, a u neutralnom i alkalnom mediju prelazi u žutu.

Antocijani u obliku monoglikozida uključuju delfinidin-3-*O*-glukozid, cijanidin-3-*O*-glukozid, petunidin-3-*O*-glukozid, peonidin-3-*O*-glukozid i malvidin-3-*O*-glukozid. Najzastupljeniji među antocijanima je malvidin-3-*O*-glukozid (50 – 90 %).

Tablicom 4.6. prikazan je prosječan sadržaj pojedinačnih i ukupnih antocijana za kontrolu i mikorizu kultivara Syrah u godini 2014.

Tablica 4.6.: Prosječan sadržaj pojedinačnih i ukupnih antocijana (mg/kg), Syrah, 2014.

Syrah	**K**	**M**	Značajnost
Delfinidin-3-*O*-glukozid	999,04	1003,23	**ns**
Cijanidin-3-*O*-glukozid	134,85	97,82	**ns**
Petunidin-3-*O*-glukozid	1357,63	1143,30	**ns**
Peonidin-3-*O*-glukozid	603,63	446,63	**ns**
Malvidin-3-*O*-glukozid	6486,0	6610,6	**ns**
UKUPNI ANTOCIJANI	9581,1	9301,6	**ns**

Iz tablice 4.6. vidljivo je kako ni kod jednog od pojedinačnih antocijana nije došlo do značajne promjene uslijed tretiranja mikorizom, odnosno da mikoriza nije imala značajnog utjecaja na prosječan sadržaj pojedinačnih i ukupnih antocijana u 2014. godini. Razlog tome, osim izrazito nestabilne godine po klimatskim prilikama, moglo bi biti i povećanje prinosa uzrokovano mikorizom, odnosno povećanje udjela mesa i smanjenja udjela kožice.

Stoga, sa sigurnošću možemo zaključiti kako mikoriza nije imala utjecaj na prosječan sadržaj pojedinačnih i ukupnih antocijana sorte Syrah u 2014. godini.

4.7. Sadržaj flavonola

Osim antocijana, i flavonoli pripadaju skupini flavonoida. Flavonoli su žuti pigmenti koji se uglavnom nalaze u epidermi kožice bobice grožđa i određuju boju bijelih vina, dok su u crnim vinima maskirani antocijanima. Djeluju i kao UV-zaštitne tvari budući da snažno apsorbiraju UV-A i UV-B valne duljine, a imaju i pozitivan učinak na ljudsko zdravlje.

Flavanoli se javljaju u glikozidnom obliku, a glavni predstavnici flavonola su kvercetin, kemferol i miricetin. Ukupan sadržaj flavonola u grožđu kreće se u rasponu od 1 do 80 mg/kg svježih bobica grožđa te su crne sorte bogatije flavonolima, koji su ujedno i vrlo važni za kvalitetu crnih vina.

U tablici 4.7. prikazan je prosječan sadržaj ukupnih flavonola u mikoriznoj i kontrolnoj varijanti kultivara Syrah u 2014. godini.

Tablica 4.7.: Sadržaj ukupnih flavonola (mg/kg), Syrah 2014.

Syrah	**K**	**M**	Značajnost
UKUPNI FLAVONOLI	809,04	738,89	**ns**

Statističkom analizom dobiveni su podaci u tablici 4.7. iz kojih je vidljivo kako nije došlo do značajnih promjena u prosječnom sadržaju ukupnih flavonola u varijanti mikorize u odnosu na kontrolu. Naime, visoke koncentracije dušika u vinovoj lozi mogu dovesti do smanjene akumulacije flavonola u kožici bobice grožđa, a budući da je udio kožice u bobici grožđa bio smanjen u varijanti mikorize, moguće je da je i to bio razlog zbog kojeg su ukupni flavonoli bili veći u kontrolnoj varijanti kultivara Syrah u 2014. godini.

Uzevši u obzir dobivene rezultate, sa sigurnošću možemo zaključiti kako u 2014. godini mikoriza nije utjecala na prosječan sadržaj ukupnih flavonola sorte Syrah.

4.8. Sadržaj flavanola

Osim antocijana i flavonola, flavan-3-oli ili flavanoli također pripadaju grupi flavonoida. Mogu se nalaziti u obliku monomera, dimera, trimera te polimera, a u tom se slučaju nazivaju taninima.

Tablicom 4.8. prikazan je prosječan sadržaj ukupnih flavanola te prosječan sadržaj osnovnih flavanola, katehina i epikatehina, u dvije varijante, mikorize i kontrole za kultivar Syrah u 2014. godini.

Flavanoli su prvenstveno sadržani u kožici bobice grožđa, ali ima ih i u sjemenci i peteljci. Osnovni su flavanoli katehin i epikatehin. Koncentracija katehina u moštu i vinu varira 5 – 100 mg/kg. Naime, u slučaju flavanola, grožđe s mikoriziranih trsova imalo je značajno manji prosječni sadržaj epikatehina (7,9 mg/kg) u odnosu na grožđe kontrolnih trsova (30,6 mg/kg) kultivara Syrah. Postoji mogućnost da je smanjenje prosječnog sadržaja epikatehina u

varijanti mikorize rezultat ranije spomenutog smanjenja prosječnog udjela kožice i sjemenke u mikoriziranim trsovima.

Tablica 4.8.: Prosječan sadržaj pojedinačnih i ukupnih flavanola (mg/kg), Syrah 2014.

Syrah	**K**	**M**	Značajnost
Katehin	40,54	21,84	**ns**
Epikatehin	30,640**a**	7,983**b**	*****
UKUPNI FLAVANOLI	189,36	152,11	**ns**

Što se tiče katehina, grožđe kontrolnih trsova imalo je veću koncentraciju prosječnog sadržaja katehina od onog s mikoriziranih trsova, ali razlika nije bila značajna. Prosječan sadržaj ukupnih flavanola bio je viši u kontrolnoj varijanti (189 mg/kg), za razliku od mikorizne varijante (152 mg/kg), no razlika nije bila značajna.

Stoga, u slučaju pojedinačnih i ukupnih flavanola sa sigurnošću možemo zaključiti da je u 2014. godini mikoriza utjecala na smanjenje prosječnog sadržaja epikatehina.

4.9. Sadržaj ukupnih polifenola

Kao što je i ranije spomenuto, količina ukupnih polifenola u pravilu je viša u grožđu nego li u vinu. U ovome istraživanju rezultati ukupnih polifenola dobiveni su na osnovi ispitivanja kožica i sjemenki grožđa sorte Syrah.

U tablici 4.9. prikazan je sadržaj ukupnih polifenola, odnosno sadržaj ukupnih antocijana, ukupnih flavonola i ukupnih flavanola u mikoriznoj i kontrolnoj varijanti kultivara Syrah u 2014. godini.

Tablica 4.9.: Sadržaj ukupnih polifenola (mg/kg), Syrah 2014.

Syrah	**K**	**M**
Ukupni antocijani	9581,1	9301,6
Ukupni flavonoli	809,04	738,89
Ukupni flavanoli	189,36	152,11
Ukupni polifenoli	10579,5	10192,6

Naime, na temelju zbroja ukupnih antocijana, flavonola i flavanola prikazani su ukupni polifenoli u kontrolnoj i mikoriznoj varijanti. Iz tablice 4.9. vidljivo je kako su ukupni polifenoli kod kontrolnih trsova (10579,5) bili veći u odnosu na mikorizirane trsove (10192,6). Jedan od mogućih razloga smanjene koncentracije polifenola u varijanti mikorize je svakako nestabilna godina i smanjen broj vedrih dana. Naime, pri visokoj količini dušika u tlu, a u uvjetima slabog osvjetljenja, smanjena je akumulacija fenolnih komponenata. Stoga, iako je u proizvodnji vina poželjno povećanje sadržaja polifenola u grožđu, tretiranje trsova mikorizom nije utjecalo na povećanje sadržaja ukupnih polifenola kod sorte Syrah.

5. Zaključak

Istraživanje utjecaja ektomikorize na mehanički i kemijski sastav grožđa sorte Syrah u godini 2014., na vinogradarsko-vinarskom pokušalištu Jazbina dalo je rezultate iz kojih se mogu izvući određeni zaključci:

1. Ektomikoriza je utjecala na povećanje prosječnog broja bobica u grozdu, broja grozdova po trsu te prinosa po trsu.
2. Ektomikoriza je utjecala na povećanje prosječne mase grozda i jedne bobice.
3. Ektomikoriza je utjecala na mehanički sastav bobice, odnosno na povećanje prosječnog udjela mesa (%), a smanjenja prosječnog udjela kožice i sjemenke (%) u bobici.
4. Ektomikoriza je utjecala na smanjenje prosječnog sadržaja šećera, ali nije značajno utjecala na prosječan sadržaj ukupne kiselosti i pH-vrijednosti.
5. Ektomikoriza je utjecala na povećanje prosječnog sadržaja vinske kiseline i smanjenje prosječnog sadržaja jabučne kiseline.
6. Ektomikoriza nije imala značajnijeg utjecaja na prosječan sadržaj pojedinačnih antocijana, kao ni na prosječan sadržaj ukupnih antocijana i flavonola.
7. Ektomikoriza nije imala utjecaj na prosječan sadržaj ukupnih flavanola ni prosječan sadržaj katehina, a utjecala je na smanjenje prosječnog sadržaja epikatehina.

Budući da su navedeni rezultati dobiveni iz jednogodišnjeg istraživanja, iste nije moguće smatrati u potpunosti relevantnima. Osim toga, godina 2014. bila je ekstremna za naše podneblje po pitanju temperatura i oborina, stoga bi za dobivanje pouzdanijih rezultata i donošenje valjanih zaključaka istraživanje bilo preporučljivo nastaviti u narednim godinama i različitim ekološkim uvjetima. Ipak, ovo nam istraživanje može poslužiti kao orijentacija i potvrda kako mikoriza u većoj ili manjoj mjeri zaista ima utjecaja na vinovu lozu i zasigurno ima potencijala postati *biološkom alternativom,* kako je neki već danas nazivaju.

6. Literatura

1. Agerer R. (ed.) (1987-2002). Colour Atlas of Ectomycorrhizae. EinhornVerlag, Schwäbisch, Gmünd.
2. Akiyama K.. Matsuzaki K., Hayashi H. (2005). Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi. Nature 435:824-827.
3. Amerine i Ough (1988). Methods for Analysis of musts and Wines, John Wiley & Sons Inc, Hoboken, NY USA.
4. Azcón-Aguilar C., Barea J. M. (1997). Applying mycorrhiza biotechnology to horticulture: significance and potentials. Scientia Horticulturae 68 (1997) 1-24.
5. Barea J. M. (1991). Vesicular-arbuscular mycorrhizae as modifiers of soil fertility. In: B.A. Stewart (Editor), Advances in Soil Science. Springer-Verlag, New York, pp. l-40.
6. Bažon I. (2011). Geokemijska karakterizacija i plodnost tala kao elementi terroir-a vinogradarskog položaja «Jazbina», Zagreb. Studentski rad, Agronomski fakultet, Sveučilište u Zagrebu.
7. Bethlenfalvay G. J., Linderman R. G. (1992). Mycorrhizae in Sustainable Agriculture. ASA Spec. Publ., Madison, XII.
8. Biricolti S., Ferrini F., Rinaldelli E., Tamantini I., Vignozzi N. (1997). VAM fungi and soil lime content influence rootstock growth and nutrient content. Am J Enol Vitic 48:93-99.
9. Bonfante P. (2003). Plants, mycorrhizal fungi and endobacteria: a dialogue among cells and genomes. Biological Bulletin 204 (2): 215-220.
10. Bowers J. E., Siret R., Meredith C. P., This P., Boursiquot J. M. (2000). A single pair of parents proposed for a group of grapevine varieties in Northeastern France. Acta Hort 528: 129-132.
11. Brundrett M. C. (2004). Diversity and classification of mycorhizal associations. Biol. Rev. 79, 473-495.
12. Bruns T. D. (1995). Thoughts on the processes that maintain local species diversity of ectomycorrhizal fungi. Plant and Soil, 170, 63-73.
13. Christensen L. P., Kasamatis A. N., Jensen F. L. (1978). Grapevine nutrition and fertilization in the San Joaquin Valley. UC ANR Pub 4087 Oakland, CA. 41 p.
14. Ćosić J., Jurković D., Vrandečić K. (2006). Praktikum iz fitopatologije. Poljoprivredni fakultet, Osijek.

15. Daguerre Y., Plett J. M., Veneault-Fourrey C. (2016). Signaling pathways driving the development of ectomycorrhizal symbiosis. In F. Martin (Ed.), Molecular Mycorrhizal Symbiosis (pp. 141-157).
16. Dolanjski D., Stričević I. (1996). Uređenje vodnog režima tla nastavno pokusnog objekta "Jazbina".
17. Frank A. B. (1885). Ueber die auf Wurzelsymbiose beruhende Ernährung gewisser Bäume durch unterirdische Pilze. Ber.dtsch. Bot. Ges. 3, 128-145.
18. Gay G., Debaud J. C. (1987). Genetic study on indole-3-acetic-acid production by ectomycorrhizal *Hebeloma* species : inter- and intraspecific variability in homo- and dikaryotic mycelia. Applied Microbiology and Bioteehnology 26, 141-146.
19. Gluhić D. (2013). Uloga dušika, fosfora i kalija u ishrani vinove loze. Pregledni rad. Glasnik Zaštite Bilja, Vol.36 No.1 Veljača 2013.
20. Goodman D. M., Trofymow J. A. (1998). Distribution of ectomycorrhizas in micro-habitats in mature and old-growth stands of Douglas-fir on southeastern Vancouver Island. Soil Biol Biochem 30:2127-2138.
21. Harley J. L., Smith S. E,. (1983). Mycorrhizal Symbiosis. London and New York: Academic Press.
22. Harley J. L. (1989). The significance of mycorrhiza. Mycol. Res. 92, 129-139.
23. Ingleby K., Mason P. A., Last F. T., Flemming L. V. (1990). Identification of ectomycorrhizas. Institute for Terrestrial Ecology, Natural Environmental Research Council, London, UK Res. Publ. No. 5.
24. Jemrić T. (2007). Cijepljenje i rezidba voćaka. Naklada Uliks, Rijeka.
25. Johnson N. C., Graham J. H., Smith F. A. (1997). Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism-parasitism continuum. New Phytologist 135 (4): 575-586.
26. Keller M., Hrazdina G. (1998). Interacton of nitrogen availability during bloom and light intensity during veraison. II. Effect on anthocyanin and phenolic development during grape ripening, Am. J. Enol. Vitic. 49(3);341-349.
27. Licul R., Premužić D. (1982). Praktično vinogradarstvo i podrumarstvo. Nakladni zavod Znanje, Zagreb.
28. Maletić E., Karoglan Kontić J., Pejić I. (2008). Vinova loza. Školska knjiga, Zagreb.
29. Melin E., Nilsson H. (1958). Translocation of nutrient elements through mycorrhizal mycelium to pine seedlings. Botaniska Notiser 111, 251-256.
30. Menge J. A., Raski D., Lider L. A. (1983). Interactions between mycorrhizal fungi, soil fumigation, and growth of grapes in California. Am J Enol Vitic 34:117-121.

31. Meyer F. H. (1973). Distribution of ectomycorrhizae in native and man-made forests. In: Ectomycorrhizae their Ecology and Physiology (Ed. by G. C. Marks and T. T. Kozlowski). pp. 79-105. Academic Press, New York.
32. Mirošević N., Turković Z. (2003). Ampelografski atlas. Golden marketing, Zagreb.
33. Mirošević N., Karoglan Kontić J. (2008). Vinogradarstvo. Nakladni zavod Globus, Zagreb.
34. Molina R., Massicotte H., Trappe J. M. (1992). Specificity phenomena in mycorrhizal symbioses: community-ecological consequences and practical implications. Mycorrhizal Functioning (ed. M.F. Allen), pp. 357-423. Chapman & Hall, New York.
35. O.I.V. „International Code of Oenological Practices", edition 2001, Paris.
36. Osrečak M., Kozina B., Štambuk P., Karoglan M. (2016). Biološka i agronomska svojstva cv. Syrah (Vitis vinifera L.) u uvjetima Zagrebačkog vinogorja. Glasnik zaštite bilja 6/2016. Znanstveni rad.
37. Pajač I. (2007). Inventarizacija samonikle vaskularne flore u voćnjacima pokušališta "Jazbina". Diplomski rad, Agronomski fakultet, Sveučilište u Zagrebu.
38. Pajač M. (2007). Samonikla vaskularna flora u vinogradima pokušališta "Jazbina". Diplomski rad, Agronomski fakultet, Sveučilište u Zagrebu.
39. Peterson R. L., Massicotte H. B., Melville L. H. (2004). Mycorrhizas: Anatomy and Cell Biology. NRC Research Press, Ottawa.
40. Pöder R. (1996). Ectomycorrhizae In: Methods in Soil Biology (eds. F. Schinner, R. Öhlinger, E. Kandeler, R. Margesin), Springer: 281-294.
41. Prostoserdov I. I. (1946). Tehnologičeskae harakteristika vinograda i produktiv ego peredabotki. Ampelografia SSSR, Tom I, Moskva.
42. Reynolds A. G. (2010). Managing wine quality: viticulture and wine quality. Science, Elsevier.
43. Skinner P. W., Matthews M. A. (1989). Reproductive development in grape (*Vitis vinifera* L.) under phosphorus-limited conditions. Sci Horticult-Amsterdam 38:49-60.
44. Smith S. E., Gianinazzi-Pearson V. (1988). Physiological interactions between symbionts in vesicular arbuscular mycorrhizal plants. Ann. Rev. Plant. Physiol. Plant Mol. Biol., 39: 221-244.
45. Smith S. E., Read D. J. (2008). Mycorrhizal Symbiosis Third Edition. Academic Press, New York.
46. Statistički ljetopis Republike Hrvatske 2014. Državni zavod za statistiku Republike Hrvatske. Zagreb, prosinac 2014.

47. Škorić A. (1953). Pedološka karta fakultetskog dobra “Jazbina” Poljoprivredno-šumarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.
48. Škorić A., Filipovski G., Čirić M. (1985). Klasifikacija zemljišta Jugoslavije. Posebno izdanje knjiga Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine – odjela prirodnih i matematičkih nauka, Sarajevo.
49. Šolić M. (2005). Ekologija – interna skripta studija Biologija i ekologija mora, Split.
50. Tomaz I., Maslov L. (2015). Simultaneous Determination of Phenolic Compounds in Different Matrices using Phenyl-Hexyl Stationary Phase. Food Anal. Methods DOI 10.1007/s12161-015-0206-7.
51. Tomić F., Dolanjski D., Klačić Ž. (1994). Uređenje površina nastavno pokusnog objekta “Jazbina” Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Elaborat, Agronomski fakultet, Sveučilište u Zagrebu.
52. Trappe J. M. (1977). Selection of fungi for ectomycorrhizal inoculation in nurseries. Ann. Rev. Phytopath. 15, 203-222.
53. Vončina D., Badurina D., Preiner D., Cvjetković B., Maletić E.,Karoglan Kontić J. (2011). Incidence of virus infections in grapevines from Croatian collection plantations. Phytopathol Mediterr 50: 316-326.
54. Quinn G. (2011). Mycorrhizae help feed your plants. Fine Gardening 96:82.

7. Prilog

7.1. Popis slika i fotografija

Slika 1. Simbioza. Insect – microbial symbiosis lab, The Ohio State University (2014). https://u.osu.edu/sabreelab/ Pristupljeno: 07.02.2017.

Slika 2. Shematski prikaz ekto- i endomikorize. Nature Education, Bonfante i Genre (2013). http://quasargroupconsulting.com/Encyclopedia/EarthScience/Geology/TheRhizosphere.php Pristupljeno: 07.02.2017.

Slika 3. Korijenje kolonizirano ektomikoriznim gljivama. https://mycorrhizas.info/ecm.html Pristupljeno: 15.02.2017.

Slika 4. Kultivar Syrah. http://grappolidivini.blogspot.hr/2009/11/il-syrah.html Pristupljeno: 27.02.2017.

Slika 5. Pokušalište Jazbina. www.agr.unizg.hr Pristupljeno: 05.03.2017.

Slika 6. Insolacija (h). http://meteo.hr/ Pristupljeno: 14.03.2017.

Slika 7. Uvometrija – mjerenje dimenzija grozdova (kontrola – gore, mikoriza – dolje). Izvor: Kristina Novak

Slika 8. Ručni refraktometar. Izvor: Kristina Novak

Slika 9. Direktna titracija uzorka. Izvor: Kristina Novak

Slika 10. Prikaz pripreme uzoraka kožice i magnetska miješalica. Izvor: Kristina Novak

Slika 11. Priprema uzoraka sjemenke i ekstrakcija. Izvor: Kristina Novak

Životopis autora

Kristina Novak rođena je 17. siječnja 1993. godine u Zagrebu. Završava osnovnu školu Ivana Perkovca u Šenkovcu 2007. godine i iste godine upisuje opću gimnaziju u srednjoj školi Ban Josip Jelačić u Zaprešiću. Nakon završetka srednje škole, 2011. godine upisuje preddiplomski studij Hortikultura na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Nakon uspješne obrane završnog rada teme *Primjena mikrobnih pripravaka mikoriza u vinogradu* stječe akademski naziv Sveučilišne prvostupnice *Baccalaurea* Inženjerke Hortikulture. Studij nastavlja upisujući diplomski studij Hortikultura, usmjerenja Vinogradarstvo i vinarstvo 2014. godine, gdje odmah započinje s radom i istraživanjem na fakultetskom pokušalištu Jazbina s ciljem izrade diplomskog rada. Dobitnica je dvije sveučilišne stipendije za izvrsnost, za akademsku godinu 2014./2015. i 2015./2016. Također je dobitnica stipendije Hrvatske Školske Zaklade (Croatian Scholarship Fund) koja joj omogućuje obavljanje stručne prakse u kalifornijskoj vinariji *Mayacamas Vineyards* u trajanju od 3 mjeseca, gdje primjenjuje stečena i prikuplja nova znanja o vinogradarsko-vinarskoj struci.