

UNIVERZA V NOVI GORICI
VISOKA ŠOLA ZA VINOGRADNIŠTVO IN VINARSTVO

**VPLIV ZGODNJEGA ODSTRANJEVANJA LISTOV PRI
SORTAH *VITIS VINIFERA* 'CABERNET SAUVIGNON' IN
'MERLOT' NA OSNOVNE KAKOVOSTNE PARAMETRE
IN VSEBNOST METOKSIPIRAZINOV V GROZDJU**

DIPLOMSKO DELO

Irena KRAJNIGER

Mentorja: Melita Sternad Lemut, *univ. dipl. inž. živ. tehnol.*
dr. Klemen Lisjak

Nova Gorica, 2014

ZAHVALA

Zahvaljujem se pred. Meliti Sternad Lemut in dr. Klemnu Lisjaku za mentorstvo, trud in strokovno pomoč pri pisanju diplomske naloge.

Zahvala gre tudi Kmetijskemu inštitutu Slovenije in Katji Šuklje za vso pomoč pri izvajanju analiz.

POVZETEK

V skladu s poročanji lahko zgodnje odstranjevanje listov v predelu grozdov (zgodnja defoliacija) predstavlja dobro alternativo bolj razširjeni pozni defoliaciji. Slednja namreč v zadnjem času izgublja veliko svojih prednosti na račun rahlo povišanih temperatur in povečanega UV-sevanja tekom občutljivejših faz dozorevanja grozdja. Pri sicer redkih do danes preučevanih sortah so že dokazani pozitivni vplivi zgodnejšega posega na vsebnost nekaterih tehnološko pomembnih metabolitov. Znano pa je tudi, da se metaboliti vinske trte sintetizirajo v okviru zelo kompleksno povezanih biosintetskih poti, kar pomeni, da lahko izboljšanje vsebnosti enega metabolita hkrati povzroči poslabšanje vsebnosti nekega drugega metabolita. S ciljem, da bi razširili znanje z vidika hkratnega izplena večih vplivnih metabolitov, smo v poskusu preučevali ali lahko zgodnji razlistanji (*i*) pred cvetenjem in (*ii*) v fazi tvorbe jagod (obe z dokazanimi pozitivnimi vplivi na vsebnost fenolov) vplivata tudi na biosintezo metokspirazinov v grozdju. Te senzorično zelo lahko zaznavne spojine lahko ob višjih vsebnostih povzročijo neželene "zelene" arome v vinu rdečih sort, kar je zlasti pogosto pri sorti 'Cabernet Sauvignon' (*Vitis vinifera* L.). Poleg sorte 'Cabernet Sauvignon' smo se v okviru poskusa osredotočili še na zelo zastopano in s tem z ekonomskega stališča pomembno vipavsko sorto 'Merlot' (*Vitis vinifera* L.). Najprej smo preučili vpliv časa razlistanja na osnovne kakovostne in količinske parametre grozdja, nato pa smo s pomočjo HS-SPME-GC-MS tehnike spremljali kinetiko pojavnosti dveh na aromatično vplivnejših metokspirazinov – IBMP in IPMP. Rezultati so pokazali nekatere manjše spremembe osnovnih kakovostnih parametrov ter nakazali zmanjšanje količine pridelka v primeru razlistanja pred cvetenjem. Tako pri IPMP kot tudi pri bolj zastopanem IBMP smo v začetku dozorevanja zaznali razlike med obravnavanji, vendar zanimivo, z različnimi trendi med sortama. Do trgatve so se razlike v vsebnosti IBMP med obravnavanji zmanjšale, vseeno pa je bilo pri obeh sortah še vedno opazno povečanje v primeru razlistanja pred cvetenjem. Nasprotno pa IPMP ob trgatvi ni bil več analitsko zaznaven oziroma so postale razlike, dosežene med dozorevanjem, nepomembne.

Ključne besede: zgodnje odstranjevanje listov, odstranjevanje listov pred cvetenjem, odstranjevanje listov ob tvorbi jagod, metokspirazini, 'Cabernet Sauvignon' (*Vitis vinifera* L.), 'Merlot' (*Vitis vinifera* L.)

SUMMARY

According to the existing reports, earlier leaf removal could represent a good alternative to widely adopted late leaf removal, which is nowadays losing many of its advantages due to slightly higher seasonal temperatures and greater UV-radiation within sensitive phases of grape berry maturation. Several advantages of earlier leaf removal are reported for the cultivars under observation up to date. However, many important metabolites are known to be on the same biosynthetic pathways, meaning that the improvement in occurrence of one technologically very important metabolite can influence the presence of the other(s). Thus, in our experiment we investigated if earlier leaf removals (*i*) before flowering and (*ii*) at berry set, both reported to have several positive effects particularly on phenolic compounds, could in parallel also in any way impact the occurrence of methoxypyrazines in grapes. Those sensory-easy-detectable compounds are often causing unwanted "green" aromas in red cultivars, especially in 'Cabernet Sauvignon' (*Vitis vinifera* L.) grapes and wines. Together with 'Cabernet Sauvignon', known for its green-aroma problems, we have put under the same investigation also very abundant and hence economically very important grapevine variety of Vipava Valley, 'Merlot' (*Vitis vinifera* L.). Along with basic grape quality and yield parameters as affected by early leaf removal treatments, we have monitored the related occurrence of two aroma-influential methoxypyrazines – IBMP and IPMP during maturation and at harvest time by means of HS-SPME-GC-MS. The results revealed only few minor changes in basic grape quality parameters between the treatments and indicated some changes in yield parameters in case of pre-flowering approach as compared to control and berry set leaf removal. For IPMP as well as for more abundantly present IBMP different trends between the two cultivars were observed around veraison as well as some substantial differences between the treatments were shown at that point. At harvest, the differences in IBMP among treatments were indeed less obvious, however, pre-flowering leaf removal led to slightly higher content in both cultivars. In opposite, IPMP was no longer analytically detectable at harvest, thus the small changes triggered earlier in the season became irrelevant.

Key words: early leaf removal, pre-flowering leaf removal, berry set leaf removal, methoxypyrazines, 'Cabernet Sauvignon' (*Vitis vinifera* L.), 'Merlot' (*Vitis vinifera* L.)

KAZALO VSEBINE

| | |
|--|-------------|
| POVZETEK | V |
| SUMMARY | VI |
| KAZALO VSEBINE | VII |
| SEZNAM TABEL | X |
| SEZNAM SLIK | XI |
| OKRAJŠAVE | XIII |
| 1 UVOD | 1 |
| 1.1 Povod za delo | 1 |
| 1.2 Raziskovalni cilji in delovna hipoteza | 2 |
| 2 TEORETIČNE OSNOVE | 4 |
| 2.1 Vinogradniške tehnologije | 4 |
| 2.1.1 ODSTRANJEVANJE LISTOV V OBMOČJU GROZDJA | 4 |
| 2.1.1.1 Časovna izvedba odstranjevanja listov | 5 |
| 2.1.1.1.1 Zgodnje odstranjevanje listov | 5 |
| 2.2 Metaboliti grozdja in vina | 6 |
| 2.2.1 PRIMARNI METABOLITI | 6 |
| 2.2.1.1 Sladkorji | 7 |
| 2.2.1.2 Organske kisline | 7 |
| 2.2.2 SEKUNDARNI METABOLITI | 7 |
| 2.2.2.1 Aromatične spojine | 7 |
| 2.2.2.1.1 Metokspirazini in njihova pojavnost v grozdju | 7 |
| 3 EKSPERIMENTALNI DEL | 10 |
| 3.1 Materiali | 10 |

| | | |
|------------|--|-----------|
| 3.1.1 | RASTLINSKI MATERIAL | 10 |
| 3.1.2 | POSKUSNA VIPOGRADA | 11 |
| 3.1.3 | ZASNOVA POSKUSA | 11 |
| 3.1.4 | VZORČENJE IN HRANJENJE VZORCEV | 14 |
| 3.2 | Metode | 14 |
| 3.2.1 | DOLOČANJE OSNOVNIH VIPOGRADNIŠKIH PARAMETROV OZ. OSNOVNIH KOLIČINSKIH PARAMETROV GROZDJA | 14 |
| 3.2.1.1 | Določanje mase 100 jagod | 14 |
| 3.2.1.2 | Določanje mase pridelka | 14 |
| 3.2.2 | DOLOČANJE KEMIJSKIH PARAMETROV GROZDJA | 15 |
| 3.2.2.1 | Priprava vzorcev za kemijske analize | 15 |
| 3.2.2.1.1 | Priprava vzorcev za določanje osnovnih kakovostnih parametrov grozdja | 15 |
| 3.2.2.1.2 | Priprava vzorcev za določanje metokspirazinov | 16 |
| 3.2.2.2 | Analitski postopki | 16 |
| 3.2.2.2.1 | Analiza osnovnih kakovostnih parametrov grozdja | 16 |
| 3.2.2.2.2 | Analiza vsebnosti metokspirazinov | 17 |
| 3.3 | Obdelava podatkov | 18 |
| 4 | REZULTATI IN RAZPRAVA | 19 |
| 4.1 | Določanje osnovnih vinogradniških parametrov oz. osnovnih količinskih parametrov pridelka | 20 |
| 4.1.1 | MASA STOTIH JAGOD MED DOZOREVANJEM IN OB TRGATVI V ODVISNOSTI OD ČASA RAZLISTANJA | 20 |
| 4.1.2 | DRUGI KOLIČINSKI PARAMETRI PRIDELKA | 22 |
| 4.2 | Določanje osnovnih kakovostnih parametrov pridelka | 24 |

| | | |
|------------|---|-----------|
| 4.2.1 | VSEBNOST SUHE SNOVI MED DOZOREVANJEM IN OB TRGATVI V ODVISNOSTI OD ČASA RAZLISTANJA | 24 |
| 4.2.2 | VSEBNOST SKUPNIH TITRACIJSKIH KISLIN MED DOZOREVANJEM IN OB TRGATVI V ODVISNOSTI OD ČASA RAZLISTANJA..... | 27 |
| 4.3 | Določanje vsebnosti metokspirazinov | 30 |
| 4.3.1 | VSEBNOST 3-IZOBUTIL-2-METOKSPIRAZIN MED DOZOREVANJEM IN OB TRGATVI V ODVISNOSTI OD ČASA RAZLISTANJA..... | 30 |
| 4.3.2 | VSEBNOST 3-IZOPROPIL-2-METOKSPIRAZIN MED DOZOREVANJEM V ODVISNOSTI OD ČASA RAZLISTANJA..... | 33 |
| 5 | ZAKLJUČKI | 35 |
| 6 | VIRI | 36 |

SEZNAM TABEL

| | |
|--|----|
| Tabela 1: Zasnova poskusa: preglednica izvedenih vinogradniških ukrepov za posamezno obravnavanje..... | 12 |
| Tabela 2: Količinski parametri pridelka ob trgatvi v odvisnosti od časa razlistanja: nerazlistane trte (NR), pred cvetenjem (PC) in ob tvorbi jagod (TJ) pri sorti 'Cabernet Sauvignon' (CS) in sorti 'Merlot' (ME). V tabeli so navedene povprečne vrednosti ter standardni odkloni meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev..... | 23 |

SEZNAM SLIK

| | |
|--|----|
| Slika 1: Strukturne formule metokspirazinov (Sala, 2004a) | 8 |
| Slika 2: Grozdje sort 'Cabernet Sauvignon' ob trgatvi (levo) (Foto: Matjaž Lemut, 2013) in 'Merlot' med dozorevanjem (desno) (Foto: Melita Sternad Lemut, 2011) | 10 |
| Slika 3: Poskusna vinograda Potoče (sorta 'Cabernet Sauvignon' (Vitis vinifera L.)) (levo) in Plače (sorta 'Merlot' (Vitis vinifera L.)) (desno) (Foto: Melita Sternad Lemut, 2011) | 11 |
| Slika 4: Zasnova poskusa v vinogradu Potoče, Vipavska dolina, sorta 'Cabernet Sauvignon' | 13 |
| Slika 5: Zasnova poskusa v vinogradu Plače, Vipavska dolina, sorta 'Merlot' | 13 |
| Slika 6: Tehtanje (določanje mase 100 jagod) s tehtnico KERN 440-47N (Foto: Irena Krajniger, 2012) | 15 |
| Slika 7: Priprava (rekonstrukcija) vzorcev s segrevanjem na 40 °C (Büchi R-210 rotavapor; Švica) (levo, sredina) in določanje vsebnosti skupnih titracijskih kislin (Titrino 848 plus, Metrohm; Švica) (desno) (Foto: Irena Krajniger, 2012) | 17 |
| Slika 8: Dinamika spreminjanja povprečne mase stotih jagod med dozorevanjem v odvisnosti od časa razlistanja: nerazlistane trte (NR), pred cvetenjem (PC) in ob tvorbi jagod (TJ) pri sorti 'Cabernet Sauvignon' (CS) in sorti 'Merlot' (ME). Na sliki so označeni standardni odkloni meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev. | 20 |
| Slika 9: Povprečna masa stotih jagod ob trgatvi v odvisnosti od časa razlistanja: nerazlistane trte (NR), pred cvetenjem (PC) in ob tvorbi jagod (TJ) pri sorti 'Cabernet Sauvignon' (CS) in sorti 'Merlot' (ME). Na sliki so označeni standardni odkloni meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev. | 22 |
| Slika 10: Dinamika nalaganja sladkorja (povprečne koncentracije suhe snovi) med dozorevanjem v odvisnosti od časa razlistanja: nerazlistane trte (NR), pred cvetenjem (PC) in ob tvorbi jagod (TJ) pri sorti 'Cabernet Sauvignon' (CS) in sorti 'Merlot' (ME). | |

| | |
|--|----|
| Na sliki so označeni standardni odkloni meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev. | 24 |
| Slika 11: Povprečna koncentracija sladkorja (suhe snovi) ob trgatvi v odvisnosti od časa razlitanja: nerazlistane trte (NR), pred cvetenjem (PC) in ob tvorbi jagod (TJ) pri sorti 'Cabernet Sauvignon' (CS) in sorti 'Merlot' (ME). Na sliki so označeni standardni odkloni meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev. . | 25 |
| Slika 12: Dinamika spreminjanja povprečne koncentracije skupnih titracijskih kislin med dozorevanjem v odvisnosti od časa razlitanja: nerazlistane trte (NR), pred cvetenjem (PC) in ob tvorbi jagod (TJ) pri sorti 'Cabernet Sauvignon' (CS) in sorti 'Merlot' (ME). Na sliki so označeni standardni odkloni meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev. | 27 |
| Slika 13: Povprečna koncentracija skupnih titracijskih kislin ob trgatvi v odvisnosti od časa razlitanja: nerazlistane trte (NR), pred cvetenjem (PC) in ob tvorbi jagod (TJ) pri sorti 'Cabernet Sauvignon' (CS) in sorti 'Merlot' (ME). Na sliki so označeni standardni odkloni meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev. . | 28 |
| Slika 14: Dinamika spreminjanja povprečne koncentracije IBMP (3-izobutil-2-metoksipirazin) med dozorevanjem v odvisnosti od časa razlitanja: nerazlistane trte (NR), pred cvetenjem (PC) in ob tvorbi jagod (TJ) pri sorti 'Cabernet Sauvignon' (CS) in sorti 'Merlot' (ME). Na sliki so označeni standardni odkloni meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev. | 30 |
| Slika 15: Povprečna koncentracija IBMP ob trgatvi v odvisnosti od časa razlitanja: nerazlistane trte (NR), pred cvetenjem (PC) in ob tvorbi jagod (TJ) pri sorti 'Cabernet Sauvignon' (CS) in sorti 'Merlot' (ME). Na sliki so označeni standardni odkloni meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev. | 31 |
| Slika 16: Dinamika spreminjanja povprečne koncentracije IPMP (3-izopropil-2-metoksipirazin) med dozorevanjem v odvisnosti od časa razlitanja: nerazlistane trte (NR), pred cvetenjem (PC) in ob tvorbi jagod (TJ) pri sorti 'Cabernet Sauvignon' (CS) in sorti 'Merlot' (ME). Na sliki so označeni standardni odkloni meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev. | 33 |

OKRAJŠAVE

CS = 'Cabernet Sauvignon' (*Vitis vinifera* L.)

ME = 'Merlot' (*Vitis vinifera* L.)

NR = nerazlistane vinske trte (kontrola)

PC = razlistanje vinske trte pred cvetenjem – fenofaza: pred cvetenjem

TJ = razlistanje vinske trte v času tvorbe jagod – fenofaza: po oploditvi

BBCH = skala razvojnih faz vinske trte (Lorenz in sod., 1995)

BBCH 57 = socvetja popolnoma razvita, cvetovi ločeni

BBCH 77 = začetek dotikanja jagod med sabo

HS-SPME = mikroekstrakcija na trdno fazo iz plinske faze vzorca

GC-MS = plinska kromatografija z masnospektrometričnim detektorjem

IBMP = 3-izobutil-2-metoksipirazin

IPMP = 3-izopropil-2-metoksipirazin

SBMP = 3-*sec*-butil-2-metoksipirazin

ETMP = 3-etil-2-metoksipirazin

1 UVOD

1.1 Povod za delo

Odstranjevanje listov v območju grozdja (t. i. defoliacija) je povsod po svetu uveljavljena vinogradniška tehnika, s pomočjo katere lahko bistveno vplivamo na mikroklimatske razmere v grmu vinske trte. Posledično lahko s tem zmanjšamo tveganje za mikrobiološke okužbe grozdja, kot tudi vplivamo na biosintetsko obnašanje vinske trte oziroma na izplen nekaterih tehnološko zelo pomembnih metabolitov v grozdni jagodi (Poni in sod., 2006; Sternad Lemut in sod., 2013b).

Do pred kratkim je večina vipavskih vinogradnikov defoliacijo izvajala v fenofazi obarvanja grozdnih jagod (veraison). V zadnjem času postaja to tako imenovano pozno odstranjevanje listov vedno manj učinkovito, zlasti v toplejših in vročih vinogradniških okoljih, kamor uvrščamo tudi Vipavsko dolino (Jones in sod., 2006). Na račun nekoliko povišanih temperatur v času dozorevanja grozdov in povečanega UV-sevanja zaradi večanja t. i. ozonske luknje lahko pozno odpiranje grma vinske trte (v času najvišjih temperatur) pogosto privede do sončnih opeklin na površini grozdne jagode (Chorti in sod., 2010) kot tudi do značilno upočasnjene sinteze nekaterih pigmentov (Tarara in sod., 2008). Zaradi teh težav je defoliacija v vročih krajih pogosto odsvetovana (Keller, 2010).

V skladu s poročanjem lahko zgodnejše odstranjevanje listov v območju grozdja pri nekaterih sortah predstavlja primeren alternativni ukrep v danih razmerah (Sternad Lemut in sod., 2011a, 2013a). Dovolj zgoden poseg namreč omogoči dovolj sončne svetlobe, potrebne za nemoteno sintezo od svetlobe bolj odvisnih metabolitov, hkrati pa na račun sekundarne zaraščenosti z novimi lateralnimi listi omogoči delno zasenčenost grozdov v času najhujše vročine. V novejši literaturi lahko zasledimo tudi navedbe o mnogih pozitivnih učinkih zelo zgodnjega odstranjevanja listov, ki se ga izvaja že pred cvetenjem vinske trte (Poni in sod., 2009; Sternad Lemut in sod., 2013a,b). Med pozitivnimi učinki razlitanja pred cvetenjem avtorji največkrat navajajo večjo vsebnost nekaterih zelenih sekundarnih metabolitov. Vendar pa je ta nova inovativna ampelotehnika do danes še zelo slabo raziskana in preizkušena na zelo

malo sortah ter samo v nekaterih geoklimatskih pogojih. Da bi jo lahko priporočili vinogradnikom tudi v našem okolju, jo je torej potrebno čim bolj natančno preučiti tekom več zaporednih letnikov.

Ker je celoten biosintetski odziv rastline na uravnavanje mikroklimе v grmu vinske trte (s pomočjo defoliacije) zelo kompleksen in kot tak še zelo slabo poznan proces, se lahko kaj hitro zgodi, da z izboljšanjem vsebnosti ene sestavine grozdne jagode bistveno poslabšamo prisotnost neke druge (ali drugih).

Eden izmed znanih problemov pri sorti 'Cabernet Sauvignon' (*Vitis vinifera* L.) je možnost pojava nekaterih senzorično zelo lahko zaznavnih in že pri relativno nizkih koncentracijah motečih aromatskih spojin – metoksipirazinov (Scheiner in sod., 2010). S tem problemom se soočamo tudi v Vipavski dolini, saj ravno pojavnost metoksipirazinov pogosto omejuje potencial kakovosti vin te sorte pri nas.

Zanimalo nas je torej ali lahko z zgodnjim razlistanjem (s ciljem izboljšanja vsebnosti fenolnih spojin) pri rdeči sorti 'Cabernet Sauvignon' tvegamo poslabšanje situacije že zdaj problematičnih metoksipirazinov ali pa se le-ta morebiti izboljša. Poleg sorte 'Cabernet Sauvignon' smo v naš poskus vključili še sorto 'Merlot' (*Vitis vinifera* L.). Kot najbolj zastopana rdeča sorta Vipavske doline je le-ta namreč za naš vinorodni okoliš izrednega ekonomskega pomena, zaradi česar je lahko vsaka nadgradnja znanja o njenem biosintetskem obnašanju in morebitni možnosti za (pozitivno) vplivanje nanj zelo dobrodošla.

1.2 Raziskovalni cilji in delovna hipoteza

V okviru diplomskega dela smo raziskovali vpliv dveh zgodnjih ukrepov odstranjevanja listov v predelu grozdja:

- (i) defoliacije pred cvetenjem;
- (ii) defoliacije v fenofazi tvorbe jagod;

na nekatere osnovne kakovostne in količinske parametre grozdja med dozorevanjem in ob trgatvi, vsebnost metoksipirazinov v grozdnem soku med dozorevanjem in ob trgatvi ter osnovne količinske parametre grozdja ob trgatvi.

Glavni cilj diplomskega dela je bil torej preučiti vpliv obeh obravnavanih zgodnjih ukrepov na vsebnost metoksipirazinov in sicer v geoklimatskih pogojih Vipavske doline. Tovrstni potencial obeh zgodnejših defoliacij smo opazovali pri dveh sortah ('Cabernet Sauvignon' in 'Merlot'), vse v primerjavi s kontrolnim obravnavanjem (nerazlistane trte).

Na podlagi zbrane strokovne in znanstvene literature je naše delo temeljilo na naslednjih predpostavkah:

1. Z odstranjevanjem listov v zgodnjih fazah razvoja vinske trte bomo v manjši meri vplivali na osnovne kakovostne parametre grozdja in sicer pri obeh opazovanih sortah.
2. V skladu z razpoložljivo literaturo (ki temelji na opazovanju drugih sort) pričakujemo možnost zmanjšanja mase pridelka vsaj v primeru razlistanja pred cvetenjem, predvidoma pri obeh opazovanih sortah.
3. Predvidevamo, da bosta zgodnji razlistanji v primerjavi s kontrolnim obravnavanjem različno (pozitivno ali negativno) vplivali na sintezo opazovanih metoksipirazinov med dozorevanjem. V skladu s preučeno literaturo pričakujemo pri vseh obravnavanjih trend padanja vsebnosti metoksipirazinov med dozorevanjem, predvidoma pri obeh opazovanih sortah.

2 TEORETIČNE OSNOVE

Sinteza in kopičenje metabolitov v grozdnih jagodah sta zapletena fiziološka procesa, na katera lahko vpliva mnogo različnih faktorjev. Le-te lahko na kratko strnemo v tri osnovne skupine: vplivi genotipa, vplivi okolja (fenotipa) in vplivi uporabljenih vinogradniških tehnologij (človekov poseg v vinograd) (Jackson in Lombard, 1993). V našem diplomskem delu se bomo osredotočili na vpliv vinogradniških tehnologij, natančneje vpliv zgodnje defoliacije na opazovano sestavo grozdne jagode.

2.1 Vinogradniške tehnologije

Znano je, da lahko vinogradnik s pomočjo vinogradniških tehnologij (ampelotehničnih ukrepov) do določene mere vpliva na količinske in kakovostne parametre pridelka. Smart (1985) meni, da imajo vinogradniške tehnologije skupaj s splošnimi geoklimatskimi pogoji vinogradniške lege (sestava tal, makroklima, mezoklima) direktne učinke, medtem ko ima manipulacija z mikroklimo v grmu vinske trte dodatne, nedirektne vplive na fiziološki razvoj vinske trte in s tem tudi na končno kemijsko sestavo grozdne jagode.

2.1.1 ODSTRANJEVANJE LISTOV V OBMOČJU GROZDJA

Defoliacija ali razlitanje vinske trte v predelu grozdov je pomemben, po celem svetu razširjen vinogradniški ukrep, pri katerem odstranimo določen del listov v območju grozdja. S tem lahko vplivamo na mikroklimo v grmu vinske trte in posledično na potek dozorevanja grozdja oziroma na vsebnost nekaterih metabolitov ob trgatvi (Vršič in Lešnik, 2010; Šuklje in sod., 2011; Sternad Lemut in sod., 2013b). Ker s tem ukrepom izboljšamo tudi zračnost v grmu vinske trte, se hkrati zmanjša možnost za okužbo s sivo grozdno plesnijo (Fleet in sod., 2002).

Odstranjevanje listov v območju grozdja je bolj priporočljivo pri rdečih sortah, medtem ko je pri belih priporočena večja zadržanost (Vršič in Lešnik, 2010). V vsakem primeru pa je bolj smiselno pri sortah, ki so podvržene okužbi z *Botrytis cinerea* in pri bujnih

sortah oziroma trtah z veliko listno površino, zaradi česar je grozdje slabše osvetljeno in manj zračno (Vršič in Lešnik, 2010).

2.1.1.1 Časovna izvedba odstranjevanja listov

Poleg izbora lokacije in drastičnosti ukrepa (količina odstranjenih listov) je čas razlivanja verjetno najpomembnejši faktor za njegovo končno učinkovitost (Main in Morris, 2004). Odstranjevanje listov se lahko izvaja tako v zgodnejših kot tudi v poznejših fenoloških fazah razvoja vinske trte – v praksi to pomeni nekje med fazo po oploditvi in fazo začetka dozorevanja (Sternad Lemut in sod., 2013b). Najpogosteje se ukrep izvaja v fazi začetka dozorevanja (Poni in sod., 2006; Vršič in Lešnik, 2010), kot že omenjeno, pa lahko na račun globalnega segrevanja tak pozni poseg dandanes pogosto privede do novih problemov. Zato se v zadnjem času intenzivneje preizkuša in uvaja defoliacija v zgodnejših fazah (po oploditvi), medtem ko je zelo zgodnji ukrep – celo v fazi pred cvetenjem vinske trte – povsem nov in inovativen ukrep v vinogradništvu, ki pa potrebuje še veliko preučevanja in preizkušanja na različnih sortah in v različnih vinogradniških okoljih.

2.1.1.1.1 Zgodnje odstranjevanje listov

Z zgodnjim odstranjevanjem listov se poskušamo prilagoditi na spremenjene klimatske razmere oziroma nekoliko povišane temperature v vinogradu, ki smo jim priča v zadnjem času. Z zgodnjim posegom lahko povečamo odpornost grozdja na ožige in poškodbe zaradi vročine. Jagodam omogočimo zgodnjo prilagoditev na povečevanje UV-sevanja in višje temperature, saj lahko zaradi nenadnega pojava vročega podnebja nastane škoda na grozdju, ki je bilo več časa v senci (Vršič in Lešnik, 2010).

Sternad Lemut in sod. (2013b) poročajo, da je zelo zgodnje odstranjevanje listov (pri sorti 'Modri pinot' (*Vitis vinifera* L.)) povzročilo hitrejšo in povečano tvorbo lateralnih listov, ki so delno zasenčili grozde med najtoplejšimi dnevi v avgustu; novi lateralni listi so tako ščitili jagode pred ožigi in morda nevarnimi previsokimi temperaturami. Hkrati je zgodnje razlivanje omogočilo dovolj svetlobe za tvorbo tistih metabolitov, katerih sinteza je v precejšnji meri odvisna od svetlobe, oziroma je celo vplivalo na

povečanje vsebnosti nekaterih metabolitov, za katere se je izkazalo, da se lahko tvorijo le v zgodnejših fazah razvoja grozdne jagode (Sternad Lemut in sod., 2013b).

Odstranjevanje listov pred cvetenjem na drugih sortah pa lahko v skladu s poročanji privede do manjšega pridelka (Poni in sod., 2006), kar je lahko za vinogradnika tudi koristno, saj mu teoretično lahko prihrani delo (in stroške) s kasnejšim redčenjem grozdja, v primeru, da želi izboljšati kakovost pridelka (Sternad Lemut in sod., 2011b).

2.2 Metaboliti grozdja in vina

Kakovost pridelka vinske trte je v največji meri odvisna od prisotnosti oziroma odsotnosti njenih metabolitov, ki se kopičijo v grozdnih jagodah (Ali in sod., 2010). Rastline, vključno s trto, lahko sintetizirajo izjemno število različnih organskih spojin, ki jih v grobem delimo na primarne in sekundarne metabolite. Natančna meja med tema dvema skupinama ni vedno očitna, načeloma pa jih ločujemo bolj na podlagi njihove vloge za rastlino kot na podlagi kemijske sestave (Villas Boas in sod., 2007). Tako se za primarne metabolite štejejo tisti, ki so odločilnega pomena za delovanje in preživetje rastline, medtem ko se za sekundarne metabolite štejejo tisti, ki niso nujno potrebni za osnovno delovanje rastline, vendar pa lahko zelo pomembno doprinesejo predvsem k zaščiti rastline pred različnimi biotskimi ali abiotskimi stresi (Croteau in sod., 2000; Crozier in sod., 2006). V okviru našega opazovanja se bomo osredotočili na nekatere primarne metabolite vinske trte (sladkorji, kisline) ter na aromatske spojine iz skupine metoksipirazinov (sekundarni metaboliti).

2.2.1 PRIMARNI METABOLITI

Primarni metaboliti se nahajajo v vseh rastlinah. Imajo zelo pomembne metabolne vloge in sodelujejo pri osnovnih življenjskih procesih rastlin, kot so rast, razvoj, fotosinteza in dihanje (Croteau in sod., 2000; Crozier in sod., 2006).

V grozdju so med primarnimi metaboliti najpomembnejši sladkorji, organske kisline, dušikove spojine in minerali. Največji delež v tkivu grozdne jagode predstavlja voda (70–80 %), sledijo sladkorji (15–25 %), organske kisline (0,3–1,5 %), dušikove spojine (0,03–0,17 %) in minerali (0,3–0,6 %) (Winkler in sod., 1974).

2.2.1.1 Sladkorji

Glavna sladkorja v grozdni jagodi sta glukoza in fruktoza. Koncentracija sladkorjev v grozdju narašča med dozorevanjem (Bavčar, 2009), razmerje med glukozo in fruktozo pa se med dozorevanjem spreminja. V začetnih fazah prevladuje glukoza, v polni zrelosti je njuno razmerje 1 : 1, po polni zrelosti pa prevladuje fruktoza (Bavčar, 2009).

2.2.1.2 Organske kisline

Tako skupna vsebnost kot tudi sestava oziroma razmerje med posameznimi organskimi kisljinami v grozdnem soku sta zelo pomembna, saj različno vplivata na organoleptične lastnosti vin. V grozdnem soku sta najpomembnejši vinska in jabolčna kislina (Bavčar, 2009; Ali in sod., 2010), v manjših količinah pa najdemo še sukcinilno in citronsko kislino (Ali in sod., 2010).

Koncentracija jabolčne kisline z dozorevanjem v odvisnosti od temperature pada (ob toplejšem podnebjju bolj kot v hladnejšem), vinska kislina pa je praviloma bolj stabilna oziroma bolj neodvisna od temperature (Bavčar, 2009).

2.2.2 SEKUNDARNI METABOLITI

Med tehnološko najpomembnejše sekundarne metabolite grozdja in vina uvrščamo dve izredno široki in raznovrstni skupini, to so fenoli in aromatične spojine.

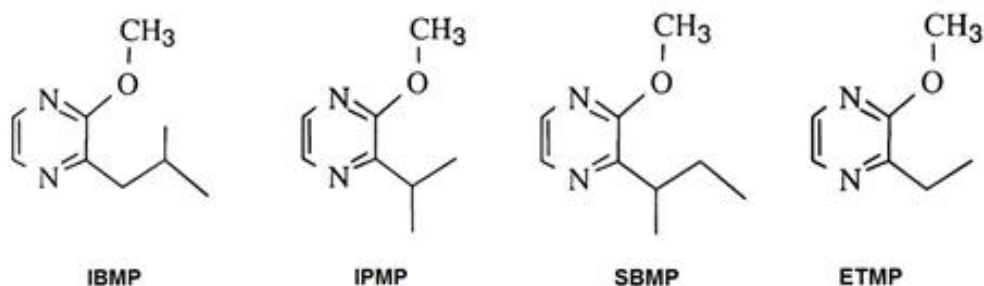
2.2.2.1 Aromatične spojine

Aromatične spojine v vinu vplivajo na vonj in okus (aromo). Razdelimo jih na aromatične spojine iz grozdja, aromatične spojine, nastale med alkoholno fermentacijo in aromatične spojine, nastale med zorenjem vina (Bavčar, 2009) oziroma tako imenovane primarne, sekundarne in terciarne arome.

2.2.2.1.1 Metokspirazini in njihova pojavnost v grozdju

Metokspirazini v grozdnih jagodah nastanejo kot posledica metabolizma aminokislin vinske trte in spadajo med primarne (iz grozdja pridobljene) aromatične spojine, ki se nahajajo predvsem v grozdju in vinu sort 'Cabernet Sauvignon', 'Merlot' in 'Sauvignon'

(*Vitis vinifera* L.) (Bavčar, 2009; Šuklje in sod., 2011). Tehnološko najpomembnejši metoksipirazini so 3-izobutil-2-metoksipirazin, 3-*sec*-butil-2-metoksipirazin in 3-izopropil-2-metoksipirazin (Sala in sod., 2004a; Bavčar, 2009). V rastlinskem svetu je poznan tudi 3-etil-2-metoksipirazin, vendar pa je v grozdju prisoten v zelo nizkih koncentracijah ali pa ga sploh ni (Sala in sod., 2004a,b).



Slika 1: Strukturne formule metoksipirazinov (Sala, 2004a)

Metoksipirazini lahko pozitivno prispevajo h kvaliteti in sortnemu karakterju nekaterih vin, če so prisotni v koncentracijah blizu senzoričnega praga. Če pa je vsebnost metoksipirazinov prekomerna, imajo vina neprijetno zelene in zeliščne arome (Ryona in sod., 2008; Scheiner in sod., 2010). Zaradi njihovega zelo nizkega senzoričnega praga so lahko odločilne že zelo majhne spremembe v njihovi koncentraciji (Dunlevy in sod., 2013).

Metoksipirazinom pripisujemo vonj po zeleni papriki, travi in asparagasu. V literaturi (Bavčar, 2009) so navedene meje zaznave v okviru 1–2 ng/L, v nezrelem grozdju sort 'Cabernet Sauvignon' in 'Sauvignon' pa lahko najdemo koncentracije celo do 200 ng/L. V vinih sort 'Cabernet Sauvignon' in 'Merlot' je prekomerna zaznava metoksipirazinov največkrat posledica pridelave iz manj zrelega grozdja (Bavčar, 2009), kar je lahko posledica letnika ali pa seveda izbora vinogradniške lege oziroma že samo vinogradniško območje. Vina iz hladnejših območjih imajo praviloma višje vsebnosti metoksipirazinov in bolj izraženo zeliščno-rastlinsko aromo (Sala in sod., 2004a,b; Šuklje in sod., 2011).

Po Jonesu (2006) je sorta 'Cabernet Sauvignon' sorta pretežno toplih klimatskih vinogradniških območij (lahko uspeva tudi v srednjih in vročih), sorta 'Merlot' pa je sorta srednje toplih do toplih vinogradniških območij.

Poskusi korekcije pretiranih količin metoksipirazinov med vinifikacijo oziroma v vinu do danes niso prinesli plodnih rezultatov (Dunlevy in sod., 2013). Vsebnost metoksipirazinov lahko tako zaenkrat kontroliramo zgolj z vinogradniškimi tehnikami, ki zmanjšujejo vsebnost metoksipirazinov že v grozdju.

Prevladujoč in najbolj pomemben metoksipirazin v grozdju in vinu je IBMP. Zanj je značilna predvsem aroma zelene paprike (Sala in sod., 2004a; Bavčar, 2009).

Največjo vsebnost metoksipirazina IBMP najdemo v pecljih. Med zorenjem njegov delež v pecljih in peškah upade, poveča pa se v kožicah. V jagodnem mesu ga ni (Roujou de Boubée in sod., 2002).

2.2.2.1.1 Vplivi na tvorbo metoksipirazinov med dozorevanjem grozdja

Najpomembnejši vpliv na vsebnost metoksipirazinov v grozdju imajo vinogradniške tehnike (npr. razlistanje, namakanje) in geoklimatski dejavniki (npr. zemlja, svetloba, temperatura) (Sala in sod., 2004a).

Vinogradniške tehnike, ki jih uporabimo pri začetni akumulaciji metoksipirazinov v grozdju, imajo večji vpliv na končno koncentracijo metoksipirazinov ob trgatvi kot tehnike, ki jih uporabimo kasneje v sezoni (Scheiner in sod., 2010).

Geoklimatsko gledano v literaturi (Sala in sod., 2004a) navajajo, da grozdje v vinogradih na peščeno meljnatih tleh vsebuje višje vsebnosti metoksipirazina IBMP kot grozdje v vinogradih na prodnatih tleh. Na koncentracijo metoksipirazinov pa poleg sestave zemlje vpliva tudi količina svetlobe in višja temperatura. Njihov razpad pospešuje direktna osvetlitev grozdja, saj so občutljivi na svetlobo, njihova koncentracija pa se med dozorevanjem zaradi višje temperature zmanjšuje (Bavčar, 2009).

Kot vplive na biosintetsko obnašanje praviloma najbolj zastopanega metoksipirazina v grozdju (IBMP) avtorji poleg že prej navedenih faktorjev navajajo še zrelostno stopnjo grozdja, vodni stres, vigor vinske trte in maso pridelka (Dunlevy in sod., 2013).

3 EKSPERIMENTALNI DEL

3.1 Materiali

3.1.1 RASTLINSKI MATERIAL

Naš opazovani rastlinski material so bile grozdne jagode vinskih sort 'Cabernet Sauvignon' (*Vitis vinifera* L.) in 'Merlot' (*Vitis vinifera* L.), letnika 2011.

'Cabernet Sauvignon' (*Vitis vinifera* L.) je pozna rdeča sorta vinske trte, ki izvira iz področja Bordeaux v Franciji. Najbolj razširjena je prav v Franciji, vendar pa raste v vseh vinorodnih deželah zmerne klime in je tako ena izmed svetovno najbolj razširjenih rdečih sort. Ustrezajo ji zračna in topla tla. V Sloveniji jo največ gojimo na Primorskem. Povprečna teža njenih grozdov znaša od 50 do 90 gramov (Hrček in Korošec Koruza, 1996).

'Merlot' (*Vitis vinifera* L.) je srednje pozna rdeča sorta vinske trte, ki izvira iz okolice Bordeaux – Medoc v Franciji. Najbolj razširjena je v Franciji, vendar pa raste tudi v številnih drugih vinorodnih deželah zmerne klime. Najbolj ji ustrezajo srednje težka, ne prevlažna tla in topli položaji. V Sloveniji jo tako gojimo le na Primorskem. Povprečna teža njenih grozdov se giblje med 100 do 140 gramov (Hrček in Korošec Koruza, 1996).



Slika 2: Grozdje sort 'Cabernet Sauvignon' ob trgatvi (levo) (Foto: Matjaž Lemut, 2013) in 'Merlot' med dozorevanjem (desno) (Foto: Melita Sternad Lemut, 2011)

3.1.2 POSKUSNA VINOGRADA

Poskus na sorti 'Cabernet Sauvignon' smo izvajali v vinogradu v vasi Potoče v Vipavski dolini. Vinograd obsega 3 hektarje (od tega je 0,5 hektarja sorte 'Cabernet Sauvignon') in ima ravninsko lego. Zasajen je bil leta 2000, leži pa na nadmorski višini 95 metrov. Vrste v vinogradu so orientirane od vzhoda proti zahodu, skupno število trsov na hektar je 5682. Razdalja zasaditve med vrstami je 2,2 metra, med trsi pa 0,8 metra, gojitvena oblika je guyot.

Poskus na sorti 'Merlot' smo izvajali v vinogradu v vasi Plače v Vipavski dolini. Vinograd obsega 1,25 hektarja (od tega je 0,8 hektarja sorte 'Merlot') in ima ravninsko lego. Zasajen je bil leta 2004, leži pa na nadmorski višini 143 metrov. Vrste v vinogradu so orientirane od vzhoda proti zahodu, skupno število trsov na hektar je 4600. Razdalja zasaditve med vrstami je 2,2 metra, med trsi 0,8 metra, gojitvena oblika je guyot.



Slika 3: Poskusna vinograda Potoče (sorta 'Cabernet Sauvignon' (Vitis vinifera L.)) (levo) in Plače (sorta 'Merlot' (Vitis vinifera L.)) (desno) (Foto: Melita Sternad Lemut, 2011)

3.1.3 ZASNOVA POSKUSA

Pri obeh obravnavanih sortah smo v naš poskus vključili 120 trt iz šestih vrst v sredini vinograda, pri čemer smo izključili prvih dvajset (t. i. zunanjih) trt v vsaki vrsti. Trte v okviru izbrane sredinske parcele smo razporedili v skupine po 5 zaporednih rastlin (v nadaljevanju bloke), pri čemer smo po potrebi izvzeli manj razvite in/ali bolne rastline. Nato smo naključno s pomočjo programa »Research Randomizer« (Urbaniak in sod., 2007) izbrali trikrat po osem blokov (3 x 40 trt) ter jih ustrezno označili z obstojnimi, plastičnimi trakovi treh različnih barv (tri obravnavanja).

Na (2 x 40) izbranih označenih trtah na sorto smo odstranili liste v območju grozdja (defoliacija) v različnih fenoloških fazah razvoja vinske trte, kot sledi (Tabela 1):

Tabela 1: Zasnova poskusa: preglednica izvedenih vinogradniških ukrepov za posamezno obravnavanje

| | SORTA | |
|----------------------------|---|---|
| OBRAVNAVANJE | 'Cabernet Sauvignon' | 'Merlot' |
| Defoliacija 1 (1/3 trt) | Pred cvetenjem (PC), v fenološki fazi BBCH 57 (*) Datum: 26. 5. 2011 | Pred cvetenjem (PC), v fenološki fazi BBCH 57 (*) Datum: 20. 5. 2011 |
| Defoliacija 2 (1/3 trt) | Ob tvorbi jagod (TJ), v fenološki fazi BBCH 77 (*) po oploditvi Datum: 14. 6. 2011 | Ob tvorbi jagod (TJ), v fenološki fazi BBCH 77 (*) po oploditvi Datum: 12. 6. 2011 |
| Kontrola (1/3 trt) | / (brez defoliacije) | / (brez defoliacije) |

* Skala razvojnih faz vinske trte (Lorenz in sod., 1995)

Tretjina (40 trt) naključno izbranih trt na sorto je ostala nerazlistana (brez defoliacije) in je služila kot kontrola.

V nadaljevanju sta prikazana eksperimentalna načrta poskusov v obeh vinogradih (Sliki 4 in 5).

| | | ŠTEVILO TRSOV | | | | | | | | |
|----------------|---|---------------|----|----|----|----|----|----|----|-----|
| | | 20 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | ... |
| ŠTEVILKA VRSTE | 1 | ... | | | PC | PC | | | | ... |
| | 2 | ... | NR | NR | NR | PC | TJ | TJ | NR | ... |
| | 3 | ... | | PC | | | | NR | PC | ... |
| | 4 | ... | | TJ | | | PC | NR | TJ | ... |
| | 5 | ... | NR | NR | | TJ | | TJ | TJ | ... |
| | 6 | ... | | TJ | | PC | | | PC | ... |

| | |
|----|--|
| NR | nerazlistane vinske trte (kontrola) |
| PC | razlistanje vinske trte pred cvetenjem – fenofaza: pred cvetenjem |
| TJ | razlistanje vinske trte v času tvorbe jagod – fenofaza: po oploditvi |

Slika 4: Zasnova poskusa v vinogradu Potoče, Vipavska dolina, sorta 'Cabernet Sauvignon'

| | | ŠTEVILO TRSOV | | | | | | | | |
|----------------|---|---------------|----|----|----|----|----|----|----|-----|
| | | 20 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | ... |
| ŠTEVILKA VRSTE | 1 | ... | | PC | | TJ | | | PC | ... |
| | 2 | ... | NR | NR | | TJ | | PC | TJ | ... |
| | 3 | ... | | TJ | | | NR | NR | TJ | ... |
| | 4 | ... | | PC | NR | NR | NR | PC | PC | ... |
| | 5 | ... | | | | TJ | TJ | TJ | NR | ... |
| | 6 | ... | | | PC | PC | | | | ... |

| | |
|----|--|
| NR | nerazlistane vinske trte (kontrola) |
| PC | razlistanje vinske trte pred cvetenjem – fenofaza: pred cvetenjem |
| TJ | razlistanje vinske trte v času tvorbe jagod – fenofaza: po oploditvi |

Slika 5: Zasnova poskusa v vinogradu Plače, Vipavska dolina, sorta 'Merlot'

3.1.4 VZORČENJE IN HRANJENJE VZORCEV

Vzorčenja so potekala tekom dozorevanja – od fenofaze veraison (začetek obarvanja jagod) do vključno trgatve – in sicer v časovnih razmakih štirinajst dni (z manjšimi izjemami na račun prilagajanja vremenskim razmeram).

Ob vsakem vzorčenju smo za vsako obravnavanje posebej povzorčili trikrat po 250 naključno izbranih grozdnih jagod (tri biološke paralelke). V laboratoriju smo jagode stehali, iz njih v zaprti PVC vrečki ročno stisnili sok, ga precedili v označene 50 mL centrifugirke in ga del zamrznili pri temperaturi $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, del pa pri temperaturi $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ (slednje za analize metoksipirazinov).

Pri sorti 'Merlot' smo tekom našega opazovanja (od fenofaze veraison do trgatve) izvedli tri vzorčenja (pri sorti 'Cabernet Sauvignon' štiri), saj je sorta 'Merlot' zgodnejša sorta oziroma njegovalna poteka približno 10–20 dni pred trgatvijo sorte 'Cabernet Sauvignon'. Tako je bilo pri sorti 'Merlot' tretje vzorčenje v bistvu že končno vzorčenje ob trgatvi.

3.2 Metode

3.2.1 DOLOČANJE OSNOVNIH VINOGRADNIŠKIH PARAMETROV OZ. OSNOVNIH KOLIČINSKIH PARAMETROV GROZDJA

3.2.1.1 Določanje mase 100 jagod

Med dozorevanjem in ob trgatvi smo sveže vzorce grozdnih jagod vseh obravnavanj (trikrat po 100 naključno izbranih jagod na obravnavanje za vsako sorto) stehali s pomočjo tehtnice KERN 440-47N ter izračunali povprečno maso stotih jagod.

3.2.1.2 Določanje mase pridelka

Ob trgatvi smo za vsako obravnavanje posebej prešteli in stehali grozde v blokih (3 bloki = 3 x 5 trt na obravnavanje). Iz pridobljenih podatkov smo izračunali povprečno maso pridelka na trto za vsa obravnavanja pri obeh sortah.



Slika 6: Tehtanje (določanje mase 100 jagod) s tehtnico KERN 440-47N (Foto: Irena Krajniger, 2012)

3.2.2 DOLOČANJE KEMIJSKIH PARAMETROV GROZDJA

3.2.2.1 Priprava vzorcev za kemijske analize

3.2.2.1.1 Priprava vzorcev za določanje osnovnih kakovostnih parametrov grozdja

Določanje osnovnih kakovostnih parametrov grozdja je najbolje izvajati na svežih vzorcih. V primeru, da v sezoni ni dovolj časa za sprotne analize, lahko vzorce zamrznemo ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$), vendar se moramo v tem primeru zavedati nekaterih sprememb vzorcev (oziroma možnih odstopanj od rezultatov, pridobljenih na svežih vzorcih), zaradi česar je priporočljivo opraviti določene korekcije (CRCV, 2004; Olarte Mantilla in sod., 2013). Ker meritve suhe snovi (sladkorne stopnje) niso dovolj točne v primeru zamrzovanja celih jagod, je bolj priporočljivo spraviti grozdni sok. Kot poroča Olarte Mantilla s sod. (2013), zamrzovanje grozdnega soka ne vpliva na rezultate določanja suhe snovi. Pred analizo je tako potrebno le naravno odmrzovanje oziroma po potrebi temperiranje vzorcev na sobno temperaturo (odvisno od vrste uporabljenega refraktometra). Nasprotno pa zamrzovanje vzorcev vpliva na rezultate skupnih titracijskih kislin (in s tem tudi na določanje pH vrednosti v soku), saj pride do

kristalizacije vinske kisline (CRCV, 2004; Olarte Mantilla in sod., 2013), kar vodi k netočnim rezultatom. Pred analizo je torej potrebna rekonstrukcija vzorca, pri čemer zamrznjeni sok po odtalitvi 30 minut segrevamo na 40 °C (z namenom dekrystalizacije kislin), ga dobro pretresemo/pomešamo in pustimo, da se ohladi na sobno temperaturo (CRCV, 2004).

3.2.2.1.2 Priprava vzorcev za določanje metoksipirazinov

V skladu z literaturo Lisjak in sod. (2011) ter Šuklje in sod. (2011) smo grozdni sok za določanje vsebnosti metoksipirazinov (predhodno hranjen na -80 °C) najprej naravno odmrznili, nato pa sok iz centrifugirkih prelili v 25 mL bučke in dodali 25 ng/L dIBMP (interni standard). Bučke smo nato do oznake dopolnili s sokom in dobro premešali. V vialo smo natehtali 3 g NaCl, dodali magnetke in 1,6 mL vzorčnega grozdnega soka z dodanim standardom, 6,4 mL destilirane vode in 2 mL NaOH. Vialo smo nato dobro zaprli s kovinskimi pokrovčki in postavili na magnetno mešalo za 5 minut, da se je NaCl dobro raztopil (Lisjak in sod., 2011; Šuklje in sod., 2011). Tako pripravljene zaprte vzorce (z magnetki vred) smo zamrznili na -20 °C, kjer so počakali do analiz s HS-SPME-GC-MS tehniko.

3.2.2.2 Analitski postopki

3.2.2.2.1 Analiza osnovnih kakovostnih parametrov grozdja

V predhodno odmrznjenih vzorcih smo s pomočjo digitalnega refraktometra (ATAGO WM-7) najprej določili stopnjo sladkorja. Rezultate meritev smo odčitali v skalah °Brix in °Oe. Uporabljen refraktometer pred prikazom rezultatov avtomatsko opravi korekcijo na temperaturo (v območju 10–40 °C). Vsebnost skupnih titracijskih kislin (izraženih kot g/L vinske kisline) in pH vrednost predhodno rekonstruiranega grozdnega soka/mošta (glej 3.2.2.1.1) pa smo v skladu z navodili proizvajalca ter metodami, opisanimi v Commission Regulation Determining Community Methods for the Analysis of Wines (EEC) 2676/90, opravili s pomočjo avtomatskega titratorja (Titrino 848 plus, Metrohm; Švica). Vse meritve smo opravili v bioloških triplikatih.



Slika 7: Priprava (rekonstrukcija) vzorcev s segrevanjem na 40 °C (Büchi R-210 rotavapor; Švica) (levo, sredina) in določanje vsebnosti skupnih titracijskih kislin (Titrimo 848 plus, Metrohm; Švica) (desno) (Foto: Irena Krajniger, 2012)

3.2.2.2.2 Analiza vsebnosti metokspirazinov

Vsebnost metokspirazinov smo določali s pomočjo mikroekstrakcije na trdni fazi (z vzorčenjem iz plinske faze nad vzorcem) in v nadaljevanju s pomočjo plinske kromatografije z masnospektrometrično detekcijo (ang. headspace solid phase microextraction with gas chromatography and mass spectrometry, HS-SPME-GC-MS). Ekstrakcija metokspirazinov je potekala 40 minut pri 40 °C, pri čemer smo uporabili vlakno iz divinilbenzena/karboksena/polidimetilsiloksana (DVB/CAR/PDMS). Ločitev posameznih metokspirazinov je potekala na dveh zaporedno vezanih kolonah HP-1MS in HP-INNOWAX (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, ZDA) v skladu s predhodno objavljenimi pogoji (Lisjak in sod., 2011; Šuklje in sod., 2011); detekcija pa je potekala s pomočjo masnega spektrometra s snemanjem izbranih ionov (Selective ion monitoring mode): za IPMP s snemanjem ionov 137 m/z in 152 m/z , za IBMP s snemanjem ionov 124 m/z , 151 m/z in za interni standard [$^2\text{H}_3$]-IBMP s snemanjem ionov 127 m/z , 154 m/z (Lisjak in sod., 2011; Šuklje in sod., 2011). Vse meritve smo opravili v bioloških triplikatih.

3.3 Obdelava podatkov

Rezultatom, ki smo jih pridobili s pomočjo treh bioloških paralelk, smo določili povprečne vrednosti in standardne odklone meritev. Za obdelavo vseh podatkov in prikaz rezultatov smo uporabili programsko opremo Microsoft Office Excel 2010.

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

Pri predstavitvi in pri razpravi o rezultatih bomo za obravnavanja uporabljali med poskusom vpeljane naslednje okrajšave in barvne oznake:

NR = nerazlistane trte (kontrola) rdeča,

PC = trte, razlistane pred cvetenjem vijolična,

TJ = trte, razlistane po oploditvi; v času tvorbe jagod siva,

za obravnavani sorti okrajšavi:

CS = 'Cabernet Sauvignon' (*Vitis vinifera* L.),

ME = 'Merlot' (*Vitis vinifera* L.),

pri obravnavanih metoksipirazinih pa kratici:

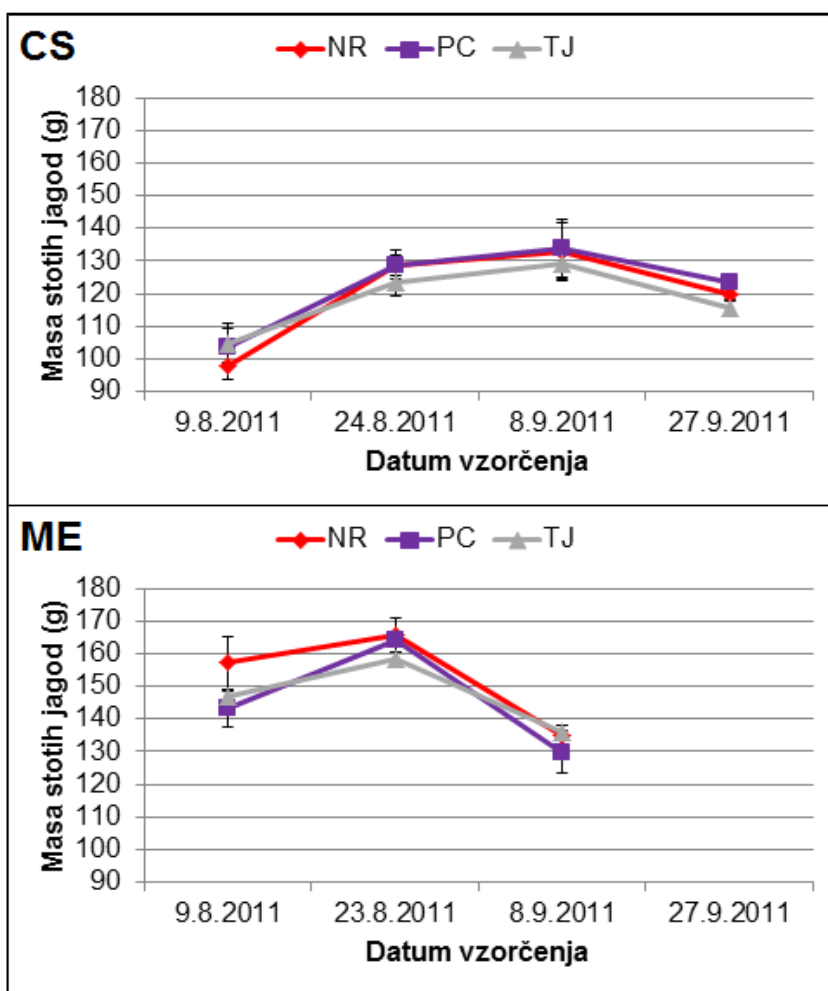
IBMP = 3-izobutil-2-metoksipirazin,

IPMP = 3-izopropil-2-metoksipirazin.

Opomba: Kot je podrobneje razloženo pod točko 3.1.4 (Vzorčenje), smo izvedli pri zgodnejši sorti 'Merlot' tri (3) vzorčenja (zadnje, tretje vzorčenje ob trgatvi); pri bolj pozni sorti 'Cabernet Sauvignon' pa štiri (4) vzorčenja (zadnje, četrto vzorčenje ob trgatvi).

4.1 Določanje osnovnih vinogradniških parametrov oz. osnovnih količinskih parametrov pridelka

4.1.1 MASA STOTIH JAGOD MED DOZOREVANJEM IN OB TRGATVI V ODVISNOSTI OD ČASA RAZLISTANJA



Slika 8: Dinamika spreminjanja povprečne mase stotih jagod med dozorevanjem v odvisnosti od časa razlistanja: nerazlistane trte (NR), pred cvetenjem (PC) in ob tvorbi jagod (TJ) pri sorti 'Cabernet Sauvignon' (CS) in sorti 'Merlot' (ME). Na sliki so označeni standardni odkloni meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev.

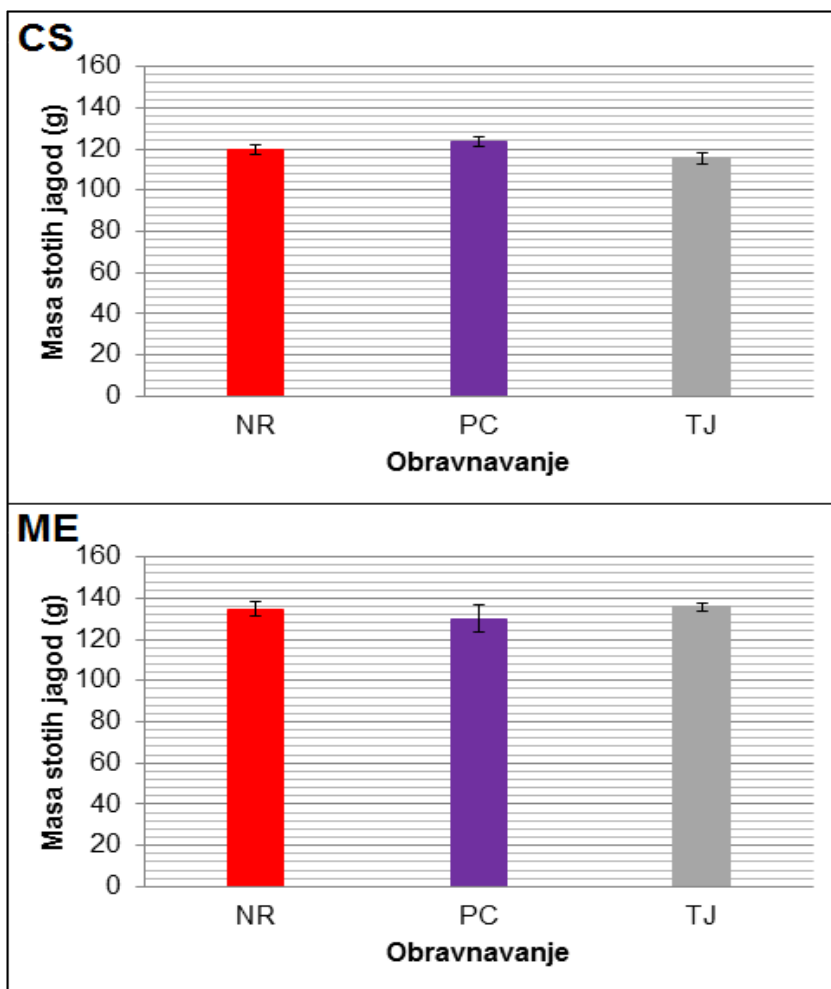
Masa stotih jagod je pri obeh opazovanih sortah (CS in ME) med dozorevanjem sprva naraščala, nato pa v zadnjih tednih pred trgatvijo padala (Slika 8). Naraščanje mase jagod v t. i. drugi rastni fazi (od fenološke faze veraison naprej) je bilo v soglasju z

obstoječo literaturo (Kennedy, 2002). Vzrok za padec mase jagod pred trgatvijo pa je bila v našem primeru najverjetneje prekinitev pretoka med pecljevino in grozdom – pojav, do katerega pride v času po fiziološki zrelosti rastline (Kennedy, 2002; Keller, 2010). V vinogradništvu namreč ločimo dve vrsti zrelosti: fiziološko, ko je jagoda pripravljena za reprodukcijo, in tehnološko, ko sestava grozdja doseže optimalne lastnosti za predvideno uporabo (González-San José in sod., 1991). Pri rdečih vinskih sortah je tehnološka zrelost pogosto dosežena šele po fiziološki, saj želijo vinogradniki oziroma vinarji pred trgatvijo doseči čim boljšo polifenolno zrelost pridelka. Kot je znano, pa lahko zmanjšan oz. prekinjen dotok vode (s hranilnimi snovmi) v jagode, ob hkratnem izhlapevanju vode iz jagod (zlasti v sončnem oz. toplem vremenu), povzroči določeno izgubo mase pridelka, kar se je najverjetneje dogajalo tudi v našem poskusu. To smo lahko opazili že vizuelno ob vzorčenju jagod, saj so bile jagode ob tehnološki zrelosti (trgatev) manj napete ali pa celo že rahlo nagubane. Zaradi zgodnejše trgatve (ko so bile temperature še relativno visoke) je bil upad mase stotih jagod v zadnjih dneh pred trgatvijo opaznejši pri sorti ME kot pri sorti CS.

Ob preučevanju dinamike mase stotih jagod med samim dozorevanjem v odvisnosti od posameznih obravnavanj nismo opazili bistvenih in/ali dosledno obstojnih trendov v prid kateremukoli obravnavanju (Slika 8).

Ko pa smo podrobneje preučili stanje ob trgatvi (Slika 9), smo pri sorti CS opazili nekoliko večjo povprečno maso stotih jagod pri obravnavanju PC kot pri obravnavanju TJ, medtem ko pri sorti ME (ob upoštevanju standardnih odklonov med biološkimi vzorci) nismo opazili pomembnih razlik, kvečjemu je obravnavanje PC (nasprotno kot pri sorti CS) nakazalo trend zmanjšanja mase stotih jagod v primerjavi z ostalima dvema obravnavanjema.

V skladu s pričakovanji oziroma sortnimi značilnostmi so bile jagode sorte CS (kljub relativno poznih obeh trgatvah) v tej točki lažje od jagod pri sorti ME. Njihova povprečna masa pa je bila v primeru obeh sort primerljiva z navedbami avtorjev Hrček in Korošec Koruza (1996).



Slika 9: Povprečna masa stotih jagod ob trgatvi v odvisnosti od časa razlitanja: nerazlistane trte (NR), pred cvetenjem (PC) in ob tvorbi jagod (TJ) pri sorti 'Cabernet Sauvignon' (CS) in sorti 'Merlot' (ME). Na sliki so označeni standardni odkloni meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev.

4.1.2 DRUGI KOLIČINSKI PARAMETRI PRIDELKA

V Tabeli 2 so prikazani zbrani rezultati preostalih opazovanih količinskih parametrov grozdja v odvisnosti od časa razlitanja pri sortah CS in ME ob trgatvi.

Obremenitev trte je bila v skladu s sortnimi značilnostmi (velikost oz. masa povprečnega grozda) in vsakoletno prakso lastnika vinograda (rez) večja pri sorti CS kot pri sorti ME. Ker pa je bilo število grozdov pri posameznih obravnavanjih (znotraj posamezne sorte) primerljivo, smo lahko dovolj kakovostno povzeli tudi podatke o masi

povprečnega grozda in povprečne mase pridelka na posamezno trto v odvisnosti od časa razlistanja.

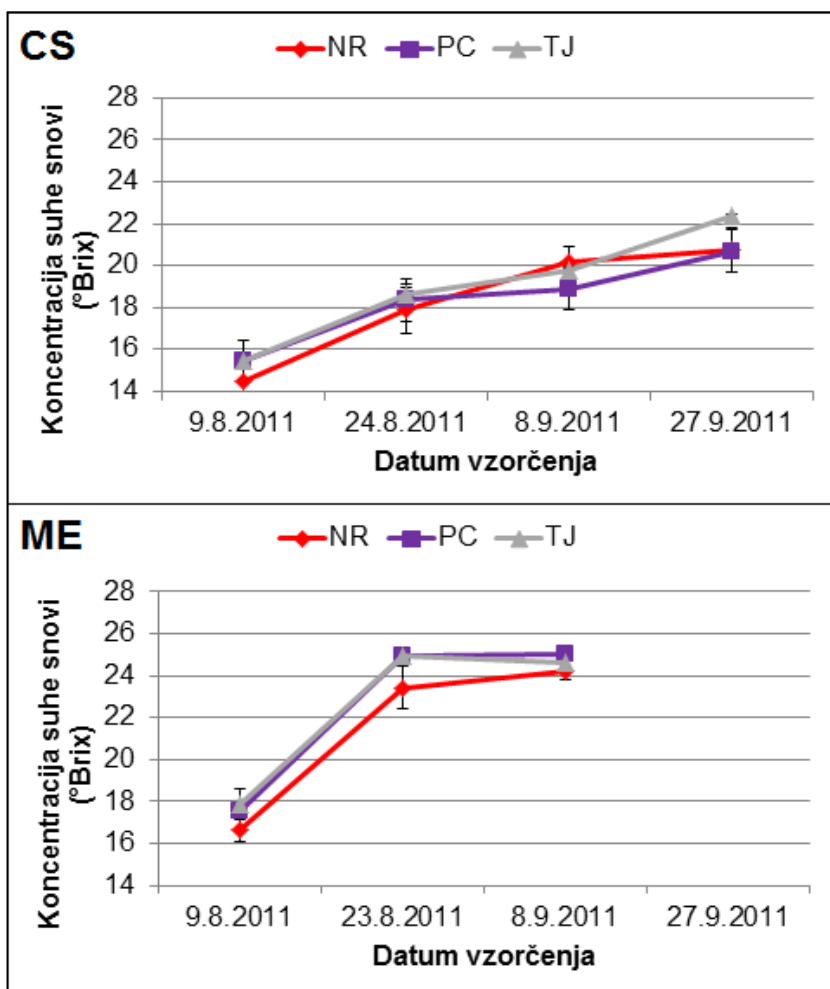
Pri obeh sortah (CS in ME) smo opazili trend zmanjšanja povprečne mase grozda kot tudi manjše povprečne mase pridelka na posamezno trto pri obravnavanju PC, sledilo mu je obravnavanje TJ, oboje v primerjavi s kontrolnimi trtami (NR), ki so nakazale največji povprečni masi grozda in pridelka. Vpliv na povprečno maso grozda in posledično na povprečno maso pridelka je bil opaznejši pri sorti CS, kjer smo lahko opazili bistveno razliko med PC in NR (tako pri masi grozda kot masi pridelka). Nasprotno pri sorti ME, ob upoštevanju standardnih odklonov med biološkimi vzorci, kljub podobnemu trendu kot pri sorti CS, nismo mogli potrditi pomembnih razlik med obravnavanji. Trend znižanja ali celo značilna znižanja količinskih parametrov pridelka v primeru razlistanja pred cvetenjem so predhodno že opazili različni avtorji pri različnih sortah (Poni in sod., 2006, 2009; Sternad Lemut in sod., 2011b), naši rezultati pa jih nakazujejo tudi pri sortah CS in ME, vendar je potrebno še nadaljnje spremljanje dogajanja, predvsem tekom več različnih sezon. Razkorak med rahlim povečanjem mase stotih jagod in upadom mase pridelka v primeru obravnavanja PC pri sorti CS lahko razložimo na račun že opisanega vpliva defoliacije pred cvetenjem na t. i. zbitost grozdja. Ob tako zgodnjem posegu lahko namreč rastlina odreagira z zmanjšanjem cvetnih nastavkov in posledično manjšim številom jagod na grozd (Poni in sod., 2006).

Tabela 2: Količinski parametri pridelka ob trgatvi v odvisnosti od časa razlistanja: nerazlistane trte (NR), pred cvetenjem (PC) in ob tvorbi jagod (TJ) pri sorti 'Cabernet Sauvignon' (CS) in sorti 'Merlot' (ME). V tabeli so navedene povprečne vrednosti ter standardni odkloni meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev.

| Sorta | Obravnava | Število grozdov na trto | Masa grozda (g) | Masa pridelka (kg na trto) |
|-------|-----------|-------------------------|-----------------|----------------------------|
| CS | NR | 13.9±0.7 | 90.53±2.99 | 1.26±0.03 |
| CS | PC | 13.9±1.3 | 73.03±4.83 | 1.01±0.03 |
| CS | TJ | 14.5±2.3 | 82.80±9.12 | 1.19±0.08 |
| ME | NR | 8.0±0.3 | 114.16±3.85 | 0.91±0.05 |
| ME | PC | 7.8±0.4 | 105.98±4.23 | 0.83±0.04 |
| ME | TJ | 8.1±0.4 | 108.77±2.66 | 0.88±0.03 |

4.2 Določanje osnovnih kakovostnih parametrov pridelka

4.2.1 VSEBNOST SUHE SNOVI MED DOZOREVANJEM IN OB TRGATVI V ODVISNOSTI OD ČASA RAZLISTANJA

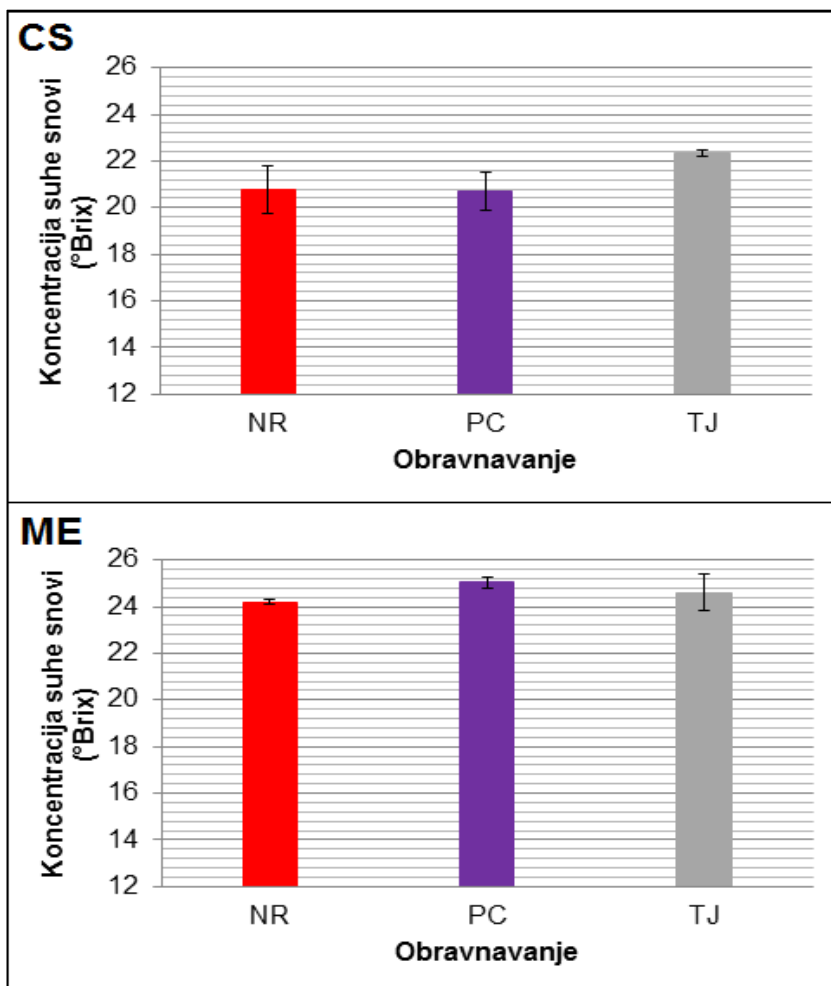


Slika 10: Dinamika nalaganja sladkorja (povprečne koncentracije suhe snovi) med dozorevanjem v odvisnosti od časa razlistanja: nerazlistane trte (NR), pred cvetenjem (PC) in ob tvorbi jagod (TJ) pri sorti 'Cabernet Sauvignon' (CS) in sorti 'Merlot' (ME). Na sliki so označeni standardni odkloni meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev.

Po pričakovanju in v skladu z literaturo (Kennedy, 2002; Bavčar, 2009) je pri vseh obravnavanih koncentracija suhe snovi med dozorevanjem naraščala oz. pri sorti ME v zadnjih dveh tednih pričela že stagnirati. Medtem ko pri sorti CS med dozorevanjem nismo zaznali bistvenih razlik v dinamiki nalaganja sladkorja med posameznimi

obravnavanji, pa smo pri sorti ME v času med prvim in drugim vzorčenjem zaznali trend hitrejšega nalaganja pri obeh obravnavanjih z defoliacijo (PC in TJ) v primerjavi s kontrolo (NR) (Slika 10).

Ko smo nato podrobneje preučili stanje ob trgatvi (Slika 11), smo opazili pri sorti CS nekoliko večjo vsebnost sladkorja pri obravnavanju TJ ($22,3 \pm 0,7$ °Brix) v primerjavi s PC in NR ($20,7 \pm 0,8$ in $20,7 \pm 0,2$ °Brix).



Slika 11: Povprečna koncentracija sladkorja (suhe snovi) ob trgatvi v odvisnosti od časa razlistanja: nerazlistane trte (NR), pred cvetenjem (PC) in ob tvorbi jagod (TJ) pri sorti 'Cabernet Sauvignon' (CS) in sorti 'Merlot' (ME). Na sliki so označeni standardni odkloni meritev znotraj posameznih bioloških paralelek enako obravnavanih vzorcev.

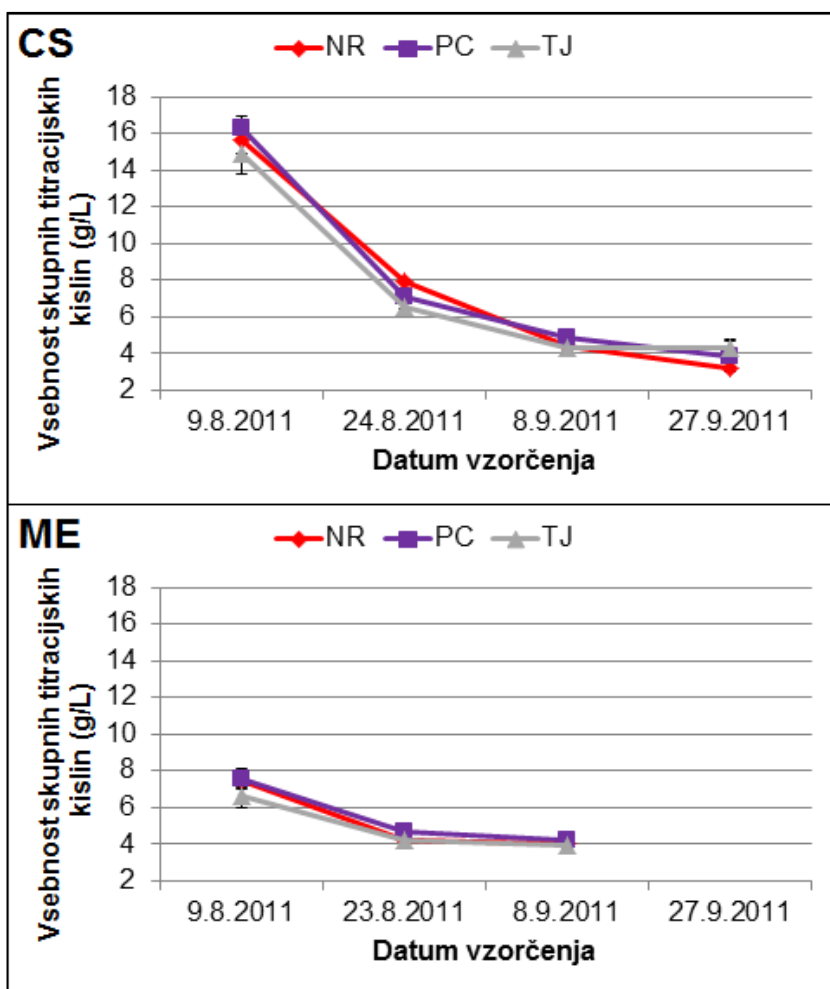
Nekoliko presenetljivo (kljub nižjim pridelkom) pa nismo opazili večje vsebnosti sladkorja pri obravnavanju PC v primerjavi s kontrolnim obravnavanjem (NR); vendar

so do podobnih rezultatov v primeru nekaterih sort že prišli avtorji objav na podlagi podobnih poskusov (Sternad Lemut in sod., 2011c).

Nasprotno smo pri sorti ME pri obravnavanju PC zaznali večjo vsebnost sladkorja kot pri kontrolnem obravnavanju (NR), česar zaradi relativno velikih odstopanj med biološkimi paralelkami v primeru obravnavanja TJ nismo mogli zaključiti.

Ugotovljene razlike med drugim potrjujejo v praksi poznano dejstvo, da se različne sorte pogosto različno odzivajo na enake abiotske strese ter da izkušenj pri eni sorti ne moremo preprosto prenesti na druge sorte.

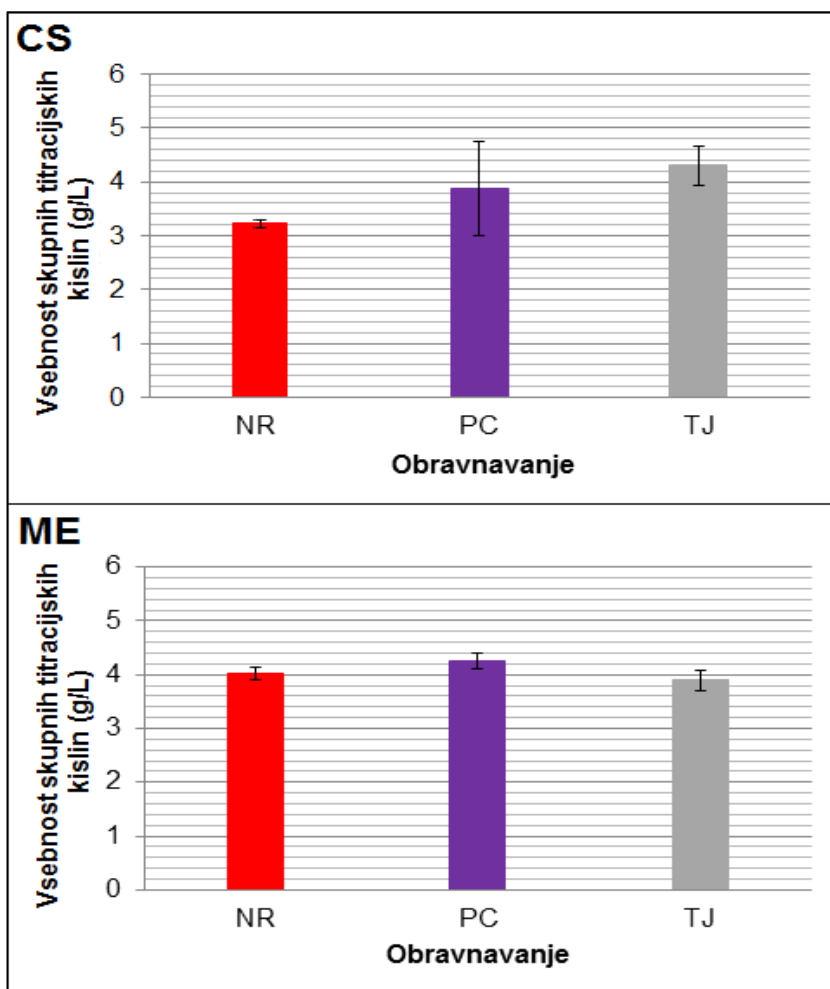
4.2.2 VSEBNOST SKUPNIH TITRACIJSKIH KISLIN MED DOZOREVANJEM IN OB TRGATVI V ODVISNOSTI OD ČASA RAZLISTANJA



Slika 12: Dinamika spreminjanja povprečne koncentracije skupnih titracijskih kislin med dozorevanjem v odvisnosti od časa razlistanja: nerazlistane trte (NR), pred cvetenjem (PC) in ob tvorbi jagod (TJ) pri sorti 'Cabernet Sauvignon' (CS) in sorti 'Merlot' (ME). Na sliki so označeni standardni odkloni meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev.

V skladu s tipičnimi krivuljami dozorevanja grozdja so vsebnosti skupnih titracijskih kislin med dozorevanjem padale (Bavčar, 2009) (Slika 12). Zaradi čakanja na tehnološko zrelost grozdja so bile kisline ob trgatvi precej nizke. Čeprav je bilo proti koncu dozorevanja pri sorti CS opaziti trend povečanega padanja kislin pri kontrolnem obravnavanju (NR) v primerjavi z razlistanima obravnavanjema (PC in TJ) oz. pri sorti ME upočasnjen trend padanja pri obravnavanju PC, pa je šlo pri obeh sortah za zelo

majhne spremembe, ki niso bile dosledno v prid enemu samemu obravnavanju. Na podlagi naših rezultatov smo tako zaključili, da zgodnji defoliaciji v primerjavi s kontrolo ne vplivata bistveno na dinamiko vsebnosti skupnih titracijskih kislin med dozorevanjem v danih pogojih.



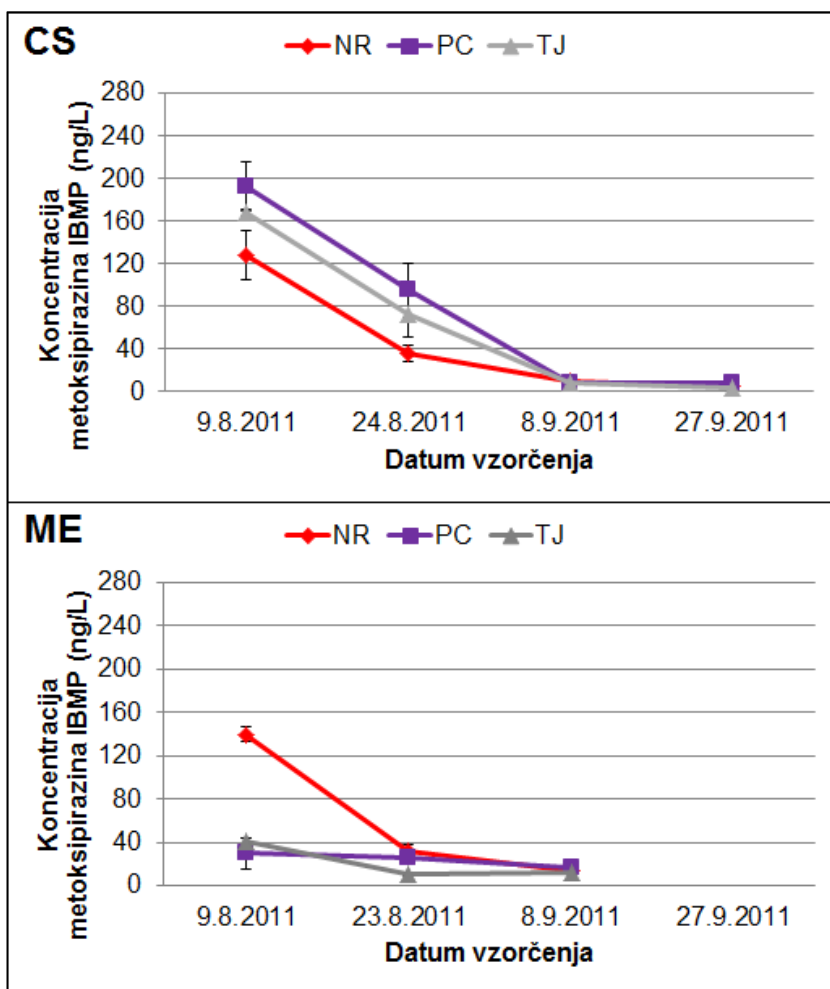
Slika 13: *Povprečna koncentracija skupnih titracijskih kislin ob trgatvi v odvisnosti od časa razlistanja: nerazlistane trte (NR), pred cvetenjem (PC) in ob tvorbi jagod (TJ) pri sorti 'Cabernet Sauvignon' (CS) in sorti 'Merlot' (ME). Na sliki so označeni standardni odkloni meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev.*

Kljub neprepičljivi dinamiki padanja kislin v odvisnosti od obravnavanj med dozorevanjem, smo ob trgatvi opazili pri sorti CS bistveno večjo vsebnost skupnih titracijskih kislin pri obravnavanju TJ ($4,30 \pm 0,36$ g/L) v primerjavi s kontrolnim obravnavanjem (NR) ($3,22 \pm 0,07$ g/L). Nasprotno pa je bila pri sorti ME pri

obravnavanju TJ določena najmanjša povprečna koncentracija skupnih titracijskih kislin, vendar pa bi ob upoštevanju standardnih odstopanj med biološkimi paralelkami pri sorti ME tudi v točki trgatve težko zaključili v prid kateregakoli obravnavanja.

4.3 Določanje vsebnosti metoksipirazinov

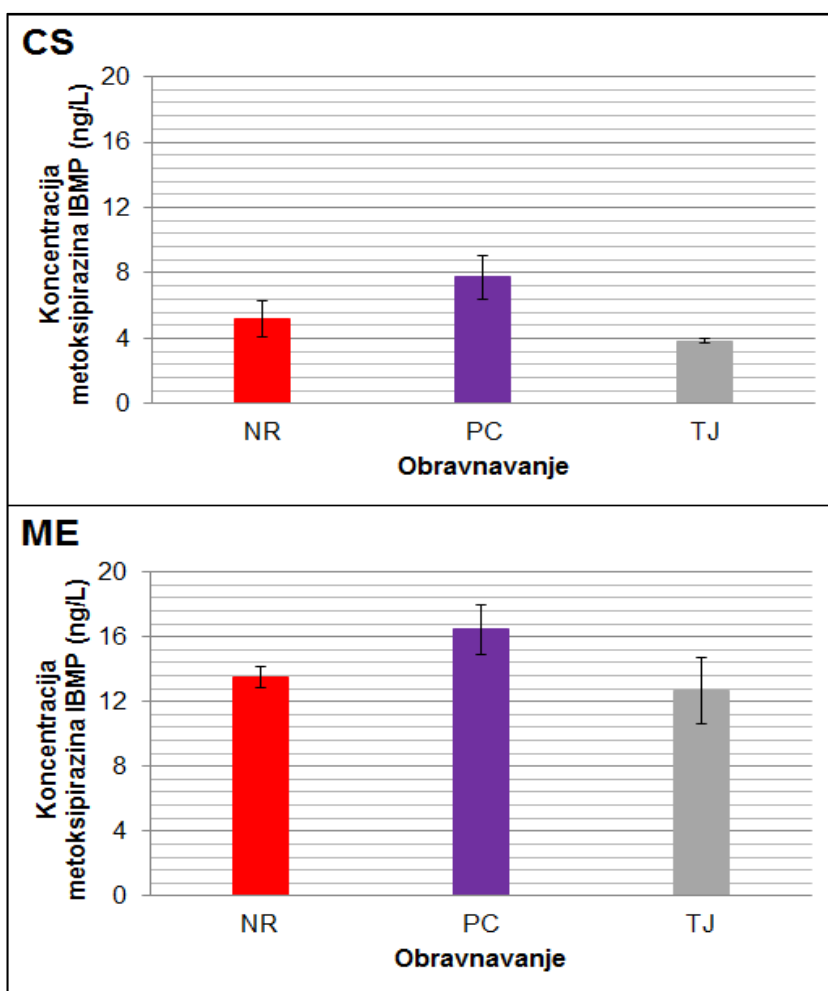
4.3.1 VSEBNOST 3-IZOBUTIL-2-METOKSIPIRAZIN MED DOZOREVANJEM IN OB TRGATVI V ODVISNOSTI OD ČASA RAZLISTANJA



Slika 14: Dinamika spreminjanja povprečne koncentracije IBMP (3-izobutil-2-metoksipirazin) med dozorevanjem v odvisnosti od časa razlistanja: nerazlistane trte (NR), pred cvetenjem (PC) in ob tvorbi jagod (TJ) pri sorti 'Cabernet Sauvignon' (CS) in sorti 'Merlot' (ME). Na sliki so označeni standardni odkloni meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev.

Vsebnost IBMP je pri obeh sortah med dozorevanjem padala, kar je v soglasju z dosedanjimi objavami o njegovi dinamiki (Kennedy, 2002; Šuklje in sod., 2011). Zanimivo pa smo hkrati ob prvem vzorčenju (okoli fenofaze veraison) zaznali bistveno drugačne vplive posameznih obravnavanj na vsebnost IBMP pri prvi (CS) in drugi

(ME) sorti. Če smo v začetku opazovanja pri sorti CS opazili bistveno večjo povprečno koncentracijo IBMP pri obravnavanju PC (zlasti v primerjavi s kontrolo), pa smo nasprotno, pri sorti ME, ob prvem vzorčenju opazili največjo povprečno koncentracijo IBMP pri kontrolnem obravnavanju (NR) (Slika 14). Manjša razlika med kontrolo in zgodnjima ukrepoma pri sorti CS v primerjavi s sorto ME je najbrž posledica sortno značilne bujnosti pri sorti CS, saj so bili grozdi do prvega vzorčenja kljub defoliaciji ponovno močno zasenčeni na račun številnih novo zraslih lateralnih listov (zalistnikov).



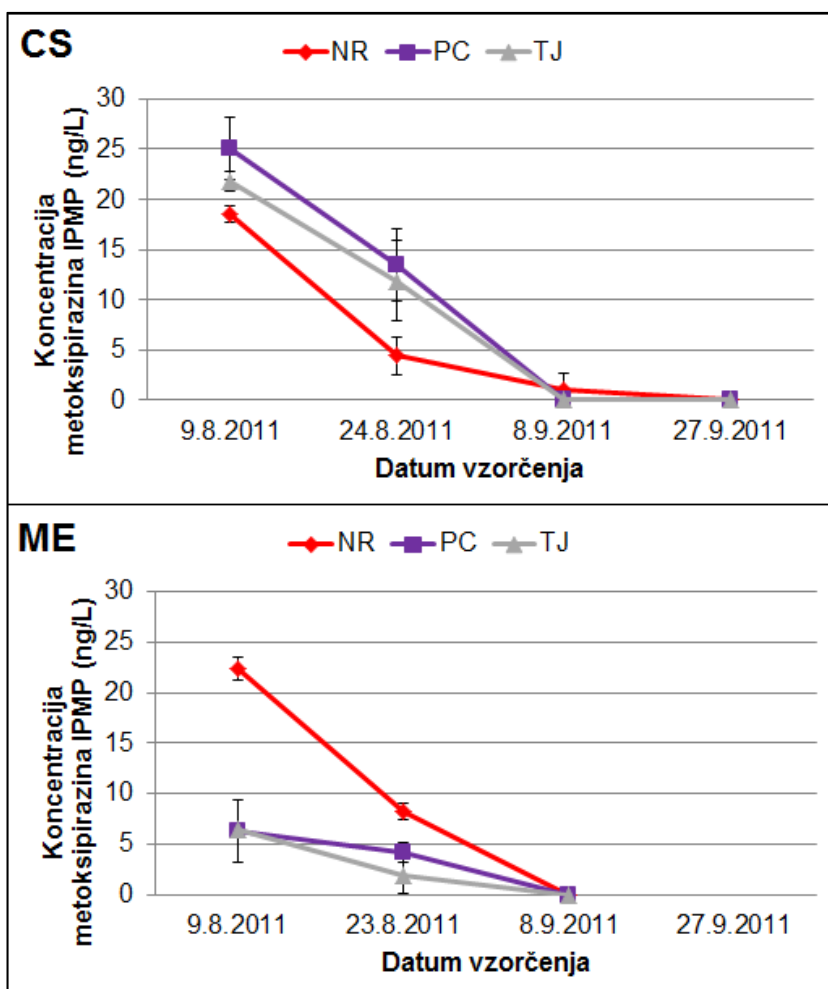
Slika 15: Povprečna koncentracija IBMP ob trgatvi v odvisnosti od časa razlitanja: nerazlistane trte (NR), pred cvetenjem (PC) in ob tvorbi jagod (TJ) pri sorti 'Cabernet Sauvignon' (CS) in sorti 'Merlot' (ME). Na sliki so označeni standardni odkloni meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev.

Opažene razlike v zgodnejšem obdobju dozorevanja so se pozneje pri obeh sortah bistveno zmanjšale do dneva trgatve, ko smo pri obeh sortah določili največjo vsebnost

IBMP pri obravnavanju PC (v primerjavi s kontrolnim obravnavanjem) (Slika 15). Nasprotno pa smo opazili pri sorti CS najmanjšo vsebnost IBMP pri obravnavanju TJ, kar je še posebej za to sorto obetaven rezultat. Čeprav gre za relativno majhne razlike, pa so le-te lahko izrednega pomena za senzorično kakovost vin iz obravnavanih sort, saj lahko, kot navaja literatura, že zelo majhen dvig koncentracije povzroči velik nagib proti neprijetnim »zelenim¹« zaznavam v vinu in obratno – že zelo majhno znižanje lahko bistveno pripomore k večji kakovosti in tržni sprejemljivosti teh vin (Dunlevy in sod., 2013).

¹ Tipični senzorični deskriptorji za opis zaznav, povezanih z metoksipirazini so: zelena paprika, asparagus, zeleni fižol.

4.3.2 VSEBNOST 3-IZOPROPIL-2-METOKSIPRAZIN MED DOZOREVANJEM V ODVISNOSTI OD ČASA RAZLISTANJA



Slika 16: Dinamika spreminjanja povprečne koncentracije IPMP (3-izopropil-2-metoksipirazin) med dozorevanjem v odvisnosti od časa razlistanja: nerazlistane trte (NR), pred cvetenjem (PC) in ob tvorbi jagod (TJ) pri sorti 'Cabernet Sauvignon' (CS) in sorti 'Merlot' (ME). Na sliki so označeni standardni odkloni meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev.

Vsebnost IPMP je bila v primerjavi z vsebnostjo IBMP skozi celotno dozorevanje bistveno manjša (približno 10-krat). Ob začetku opazovanja je bila vsebnost IPMP pri sorti CS največja pri obravnavanju PC, pri sorti ME pa pri kontrolnem obravnavanju (NR). Podobno kot pri IBMP so se tudi pri IPMP razlike med obravnavanji tekom dozorevanja manjšale, ob trgatvi pa ga celo sploh nismo več analitsko zaznali. V nadaljnjih poskusih bi bilo verjetno zanimivo preučiti, ali so vsebnosti pod mejo

detekcije našega analitskega pristopa hkrati tudi pod mejo povprečne senzorične zaznave potrošnika. Zaenkrat pa obstoječi rezultati nakazujejo, da bi bil kakršenkoli trud vinogradnika v smeri manipulacije z vplivi na biosintezo IPMP precej manj smiseln kot poskus obvladovanja koncentracij IBMP.

Na podlagi vseh naših rezultatov bi torej lahko zaključili, da je kljub objavam o mnogih pozitivnih učinkih najnovejše vinogradniške tehnologije (defoliacije pred cvetenjem) na vsebnost različnih posameznih kot tudi skupnih fenolov v grozdju vsekakor potrebna večja previdnost pri vpeljavi tega zgodnjega ukrepa v primeru sort, katerih kakovost vin je v veliki meri odvisna od vsebnosti metoksipirazinov. Zavedati se je namreč potrebno tudi, da se do danes noben od poskusov korekcije vsebnosti teh aromatskih snovi v kleti (med samo vinifikacijo grozdja) ni izkazal kot uspešen (Dunlevy in sod., 2013).

Hkrati pa naši rezultati nakazujejo, da bi (v zadnjem času manj učinkovito) pozno razlitanje oziroma v toplejših krajih priporočeno popolno izogibanje defoliaciji (problematično zaradi tveganja mikrobnih okužb) lahko zelo uspešno nadomestili z zgodnjim razlitanjem v času po oploditvi oziroma v fenofazi tvorbe jagod.

5 ZAKLJUČKI

Oba zgodnja ukrepa defoliacije sta v primerjavi s kontrolnim obravnavanjem povzročila le manjše spremembe opazovanih osnovnih kakovostnih parametrov grozdja. Ob trgatvi smo zaznali v primerjavi s kontrolo nekoliko večjo povprečno vsebnost sladkorja v primeru defoliacije v fenofazi tvorbe jagod (TJ) pri sorti 'Cabernet Sauvignon' oziroma v primeru defoliacije pred cvetenjem (PC) pri sorti 'Merlot'. Vsebnost skupnih titracijskih kislin je bila podobna pri vseh obravnavanjih pri obeh sortah z izjemo večje vsebnosti kislin, opažene pri obravnavanju TJ v primerjavi s kontrolo pri sorti 'Cabernet Sauvignon'.

Ob opazovanju osnovnih vinogradniških parametrov smo pri sorti 'Cabernet Sauvignon' zaznali povečanje mase stotih jagod pri obravnavanju PC v primerjavi z obravnavanjem TJ, medtem ko pri sorti 'Merlot' nismo potrdili pomembnejših razlik med obravnavanji. Opazili smo tudi pomemben upad mase pridelka pri obravnavanju PC pri sorti 'Cabernet Sauvignon', ne pa tudi pri sorti 'Merlot'.

Vsebnost metokspirazinov je med dozorevanjem padala pri obeh opazovanih sortah, zanimivo pa smo v začetnih fazah dozorevanja grozdja pri sorti 'Cabernet Sauvignon' opazili ravno nasprotno vplive posameznih obravnavanj na vsebnost teh spojin kot pri sorti 'Merlot'. Razlike so se v času proti trgatvi sicer manjšale, vendar smo v točki tehnološke zrelosti še vedno lahko zaznali vplive različnih obravnavanj. Največje koncentracije metokspirazina IBMP smo določili v vzorcih iz obravnavanja PC in sicer pri obeh opazovanih sortah; najmanjše koncentracije IBMP pa pri obravnavanju TJ pri sorti 'Cabernet Sauvignon'. Nasprotno, ob trgatvi metokspirazin IPMP ni bil več analitsko prisoten v nobenem od naših vzorcev.

Na podlagi pridobljenih rezultatov bi lahko zaključili, da je potrebna večja previdnost pri vpeljavi najnovejšega zgodnjega ukrepa (PC) v primeru sort, katerih kakovost vin je v veliki meri odvisna od vsebnosti metokspirazinov.

Hkrati pa naši rezultati nakazujejo, da bi v zadnjem času manj učinkovito pozno razlitanje lahko uspešno nadomestili z zgodnjim razlitanjem v fenofazi tvorbe jagod. Prav tako rezultati razlitanja ob tvorbi jagod nakazujejo obetavnejšo rešitev od popolne opustitve defoliacije, priporočene predvsem v bolj vročih vinogradniških območjih.

6 VIRI

Ali K., Maltese F., Choi Y. H., Verpoorte R. (2010). Metabolic constituents of grapevine and grape-derived products. *Phytochemistry Reviews*, št. 9, str. 357–378.

Bavčar D. (2009). *Kletarjenje danes*. Druga dopolnjena izdaja, Ljubljana: Kmečki glas, str. 296.

Chorti E., Guidoni S., Ferrandino A., Novello V. (2010). Effect of different cluster sunlight exposure levels on ripening and anthocyanin accumulation in Nebbiolo Grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, let. 61, št. 1, str. 23–30.

Croteau R., Kutchan T. M., Lewis N. G. (2000). Biochemistry and Molecular Biology of Plants. V: Natural products (Secondary metabolites). Buchanan B., Grissem W., Jones R. (ur.). American Society of Plant Biologists, Rockville, MD, str. 1250–1318.

Crozier A., Jaganath I. B., Clifford M. N. (2006). Phenols, polyphenols and tannins. V: Plant secondary metabolites: Occurrence, structure and role in the human diet. Crozier A., Clifford M. N., Ashihara H. (ur.). Blackwell Publishing Ltd, str. 1–22.

Cooperative Research Centre for Viticulture (Multiple authors). (2004). V: Viticare on farm trials: Establishing an On Farm Trial, Manual 1. Pridobljeno dne 2. 9. 2012 s spletne strani: <http://www.crcv.com.au/viticare>.

Dunlevy J. D., Soole K. L., Perkins M. V., Nicholson E. L., Maffei S. M., Boss P. K. (2013). Determining the methoxypyrazine biosynthesis variables affected by light exposure and crop level in 'Cabernet Sauvignon'. *American Journal of Enology and Viticulture*, let. 64, št. 4, str. 450–458.

Fleet G. H., Prakitchaiwattana C., Beh A. L., Heard G. (2002). The yeast ecology of wine grapes. V: Biodiversity and biotechnology of wine yeasts. Ciani M. (ur.). Research Signpost India, str. 1–17.

González-San José M. L., Barren L. J. R., Junquera B., Robredo L. M. (1991). Application of principal component analysis to ripening indices for wine grapes. *Journal of Food Composition and Analysis*, let. 4, št. 3, str. 245–255.

- Hrček L. in Korošec Koruza Z. (1996). *Sorte in podlage vinske trte*. Ilustrirani prikaz trsnega izbora za Slovenijo. Ptuj, Slovenska vinska akademija Veritas, str. 191.
- Jackson D. I. in Lombard P. B. (1993). Environmental and management practices affecting grape composition and wine quality: A Review. *American Journal of Enology and Viticulture*, let. 44, št. 4, str. 409–430.
- Jones G. V., White M. A., Cooper O. R., Storchmann K. (2006). Climate change and global wine quality. *Climatic Change* 73, str. 319–343.
- Keller M. (2010). *Anatomy and Physiology. V: The science of grapevines*, Keller M. (ur.). Elsevier Academic Press Inc, str. 377.
- Kennedy J. (2002). Understanding of grape berry development. *Practical Winery and Vineyard Journal*, let. 2, št. 7/8, str. 14–18.
- Lisjak K., Šuklje K., Baša Česnik H., Janeš L., Bregar Z. (2011). Aromatski potencial slovenskih Sauvignonov. V: Čuš F. (ur.). *Vinarski dan 2011*, Ljubljana, str. 83–96.
- Lorenz D. H., Eichhom K. W., Bleiholder H., Klose R., Meier U., Weber E. (1995). Growth stages of the grapevine: phenological growth stages of the grapevine (*Vitis vinifera* L. ssp. *Vinifera*) – codes and descriptions according to the extended BBCH scale. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, let. 1, str. 100–103.
- Main G. L. in Morris J. R. (2004). Leaf-removal effects on Cynthiana yield, juice composition and wine composition. *American Journal of Enology and Viticulture*, let. 55, št. 2, str. 147–152.
- Olarte Mantilla S. M., Collins C., Iland P. G., Kidman C. M., Jordans C., Bastian S. E. P. (2013). Comparison of sensory attributes of fresh and frozen wine grape berries using Berry Sensory Assessment. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, let. 19, str. 349–357.
- Poni S., Bernizzoni F., Civardi S., Libelli N. (2009). Effects of pre-bloom leaf removal on growth of berry tissues and must composition in two red *Vitis vinifera* L. cultivars. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, let. 15, št. 2, str. 185–193.

- Poni S., Casalini L., Bernizzoni F., Civardi S., Intrieri C. (2006). Effects of early defoliation on shoot photosynthesis, yield components and grape composition. *American Journal of Enology and Viticulture*, let. 57, št. 4, str. 397–406.
- Roujou de Boubée D., Cumsille A. M., Pons M., Dubourdieu D. (2002). Location of 2-methoxy-3-isobutylpyrazine in 'Cabernet Sauvignon' grape bunches and its extractability during vinification. *American Journal of Enology and Viticulture*, let. 53, št. 1, str. 1–5.
- Ryona I., Pan B. S., Intrigliolo D. S., Lakso A. N., Sacks G. L. (2008). Effects of cluster light exposure on 3-isobutyl-2-methoxypyrazine accumulation and degradation patterns in red wine grapes (*Vitis vinifera* L. Cv. 'Cabernet Franc'). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, let. 56, str. 10838–10846.
- Sala C., Busto O., Guasch J., Zamora F. (2004a). Factors affecting the presence of 3-alkyl-2-methoxypyrazines in grapes and wines. *3-alkil-2-metoxipirazines en mostos i vins: determinació analítica i estudi de la influència d' alguns factors vitivinícoles*; Sala C., Doctoral Dissertation, Universitat Rovira i Virgili, str. 53–58.
- Sala C., Busto O., Guasch J., Zamora F. (2004b). Influence of vine training and sunlight exposure on the 3-alkyl-2-methoxypyrazines content in musts and wines from the *Vitis vinifera* variety 'Cabernet Sauvignon'. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, let. 52, str. 3492–3497.
- Scheiner J. J., Sacks G. L., Pan B., Ennahli S., Tarlton L., Wise A., Lerch S. D., Vanden Heuvel J. E. (2010). Impact of severity and timing of basal leaf removal on 3-isobutyl-2-methoxypyrazine concentrations in red winegrapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, let. 61, št. 3, str. 358–364.
- Smart R. E. (1985). Principles of grapevine canopy microclimate manipulation with implications for yield and quality: A review. *American Journal of Enology and Viticulture*, let. 36, str. 230–239.
- Sternad Lemut M., Trošt K., Sivilotti P., Vrhovšek U. (2011a). 'Pinot Noir' grape colour related phenolics as affected by leaf removal treatments in the Vipava Valley. *Journal of Food Composition and Analyses*, let. 24, št. 6, str. 777–784.

- Sternad Lemut M., Sivilotti P., Butinar L., Vrhovšek U. (2011b). Controlling microbial infection by managing grapevine canopy. V: Abstracts and proceedings, Pospišil M. (ur.). 46th Croatian & 6th International Symposium on Agriculture, February 14.–18., Opatija, Croatia, Zagreb, Faculty of Agriculture, str. 984–987.
- Sternad Lemut M., Sivilotti P., Šuklje K., Janeš L., Lisjak K. (2011c). Zgodnje razlistanje vinske trte: vpliv na parametre kakovosti pri sortah 'Sivi pinot' in 'Pinela'. V: Čuš F. (ur.). Vinarski dan 2011, Ljubljana, str. 135–144.
- Sternad Lemut M., Trošt K., Sivilotti P., Arapitsas P., Vrhovšek U. (2013a). Early *versus* late leaf removal strategies for 'Pinot Noir' (*Vitis vinifera* L.): effect on colour-related phenolics in young wines following alcoholic fermentation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, let. 93, št. 15, str. 35.
- Sternad Lemut M., Sivilotti P., Franceschi P., Wehrens R., Vrhovšek U. (2013b). Use of metabolic profiling to study grape skin polyphenol behavior as a result of canopy microclimate manipulation in a 'Pinot noir' vineyard. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, let. 61, št. 37, str. 8976–8986.
- Šuklje K., Lisjak K., Baša Česnik H., Janeš L., Vanzo A., Du Toit W., Coetzee Z., Deloire A. (2011). Vpliv odstranjevanja listov in velikosti jagod na vsebnost nekaterih primarnih in sekundarnih metabolitov grozdja sorte 'Sauvignon'. V: Čuš F. (ur.). Vinarski dan 2011, Ljubljana, str. 123–134.
- Tarara J. M., Lee J., Spayd S. E., Scagel C. F. (2008). Berry temperature and solar radiation alter acylation, proportion, and concentration of anthocyanin in Merlot grapes. *American Journal of Enology Viticulture*, let. 59, št. 3, str. 235–247.
- Urbaniak G. C., Plous S., Levstik M. (2007). »Research Randomizer« »Software«. Pridobljeno dne 1. 5. 2011 s spletne strani: <http://www.randomizer.org/>.
- Villas-Boas S. G., Nielsen J., Smedsgaard J., Hansen M. A. E., Roessner-Tunali U. (2007). An Introduction to Metabolomics. V: Metabolome analysis. Wiley-Interscience, John Wiley & sons Inc., str. 311.
- Vršič S. in Lešnik M. (2010). *Vinogradništvo*. Druga dopolnjena izdaja, Ljubljana: Kmečki glas, str. 404.

Winkler A. J., Cook J. A., Kliewer W. M., Lider L. A. (1974). *General viticulture*. Los Angeles, University of California press, str. 710.