

UNIVERZA V NOVI GORICI
VISOKA ŠOLA ZA VINOGRADNIŠTVO IN VINARSTVO

**VPLIV ČASA RAZLISTANJA NA KAKOVOST GROZDJA
IN POJAVNOST ANTOCIANOV V GROZDJU IN VINU
SORTE 'MODRI PINOT' IZ VIPAVSKE DOLINE**

DIPLOMSKO DELO

Dejan Glavan

Mentor: Melita Sternad Lemut, univ.dipl.inž.živ.tehnol.

Ajdovščina, 2012

ZAHVALA

Zahvalil bi se družini, ki mi je pomagala in me spodbujala v času študija.

Posebno se zahvaljujem mentorici Meliti Sternad Lemut za mentorstvo in strokovno pomoč pri praktičnem ter teoretičnem delu diplomske naloge.

Zahvala gre tudi Matjažu Lemutu in Meliti Sternad Lemut, ki sta omogočila izvajanje poskusa v njenem vinogradu in vinifikacijo v kleti.

Hvala tudi vsem ostalim, ki ste mi kakorkoli pomagali pri izvedbi diplomske naloge.

POVZETEK

Odstranjevanje listov v območju grozdja je povsod po svetu razširjena vinogradniška tehnologija, ki lahko izboljša mikroklimatske pogoje v grmu vinske trte ter tako posledično vpliva na nekatere spremembe v biosintezi rastlinskih metabolitov. V okviru diplomskega dela smo v letniku 2010 opazovali vpliv časa izvedbe odstranjevanja listov na nekatere splošne kakovostne parametre grozdja in na pojavnost antocianov v grozdju in vinu sorte 'Modri pinot' (*Vitis vinifera* L.) v vinogradu v Vipavski dolini. Na naključno izbranih trtah smo v območju grozdja ročno odstranili liste: v fenofazi pred cvetenjem (PC), ob tvorbi jagod - v fenofazi po oploditvi (TJ) in v času obarvanja jagod - v fenofazi začetka dozorevanja grozdja (OJ), četrtnina opazovanih trt pa je ostala nerazlistanih (NR). Grozdne jagode vseh obravnavanj smo vzorčili tekom dozorevanja in ob trgatvi. V svežih vzorcih smo s standardnimi metodami spremljali vsebnost sladkorja (suhe snovi), skupnih kislin in pH vrednost v izstisnjenem grozdnem soku. Koncentracijo skupnih fenolov smo spremljali spektrofotometrično, kvalitativne in kvantitativne profile antocianov pa smo določali s pomočjo HPLC-VIS tehnike v metanolnih ekstraktih grozdnih kožic oziroma moštov. Ob trgatvi smo poleg kemijskih parametrov ovrednotili še nekatere količinske parametre pridelka ter grozdje ločeno pobrali in vinificirali. Rezultati so nakazali pozitivnejši vpliv zgodnejšega odstranjevanja listov na vsebnost antocianov, tako v grozdju ob trgatvi kot tudi v vinih po alkoholnem vrenju. Odstranjevanje listov pred cvetenjem je v danih pogojih povzročilo tudi zmanjšanje pridelka ter manjšo zbitost grozdov. Slednje lahko zmanjša nevarnosti okužbe z *Botrytis cinerea* in nekaterimi drugimi boleznimi grozdja.

Ključne besede: antociani, 'Modri pinot', odstranjevanje listov v območju grozdja, čas izvedbe odstranjevanja listov, zbitost grozdja.

SUMMARY

Grapevine leaf removal is a worldwide spread viticulture technique that can improve microclimate conditions in the leaf area and can therefore cause some changes in biosynthesis of plant metabolites. In our 2010 vintage experiment, we have studied the influence of leaf removal timing on some basic grape quality parameters and the occurrence of anthocyanins in 'Pinot Noir' (*Vitis vinifera* L.) grapes (and related wines) from Vipava Valley vineyard. On randomly selected vines we have manually performed leaf removal before flowering, at berry set and at veraison, while one quarter of selected vines remained untreated. Grape berries from all treatments were sampled during grape maturation and at harvest time. Analyses of basic grape chemical parameters (sugars, titratable acidity and pH value of grape juice) were performed on fresh samples using standard analytical procedures. Total polyphenol concentrations were analysed based on spectrophotometry, while qualitative and quantitative profiles of anthocyanins were detected with the help of HPLC-VIS technique in the methanol extracts of grape skins and grape musts. At harvest we have also evaluated some grape quantitative parameters and performed the vinification of separately harvested grapes. The results indicated preferential influences of earlier leaf removals on anthocyanins content in grapes at harvest as well as in related wines. In addition, the pre-flowering leaf removal has caused in given conditions lower yield and lower grape compactness, that can reduce the risk of *Botrytis cinerea* and some other grape infections.

Key words: anthocyanins, 'Pinot Noir', grapevine leaf removal, leaf removal timing, grape compactness.

KAZALO VSEBINE

1 UVOD	1
1.1 Povod za delo	1
1.2 Delovna hipoteza	2
2 TEORETIČNE OSNOVE	3
2.1 Vinorodni okoliš Vipavska dolina	3
2.1.1 RELIEF IN TLA	3
2.1.2 KLIMATSKE ZNAČILNOSTI VIPAVSKE DOLINE	3
2.2 Sorta 'Modri pinot'	4
2.2.1 BOTANIČNI OPIS	4
2.2.2 AGROBIOTIČNE ZNAČILNOSTI.....	5
2.2.3 TEHNOLOGIJA PRIDELAVE GROZDJA	6
2.3 Odstranjevanje listov v območju grozdja	6
2.3.1 ČASOVNA IZVEDBA ODSTRANJEVANJA LISTOV.....	7
2.3.1.1 Zgodnje odstranjevanje listov v območju grozdja	7
2.3.1.2 Pozno odstranjevanje listov v območju grozdja.....	8
2.4 Kemijska sestava grozdja in vina	9
2.4.1 PRIMARNI METABOLITI.....	9
2.4.1.1 Sladkorji	9
2.4.1.2 Organske kisline	10
2.4.2 SEKUNDARNI METABOLITI.....	10
2.4.2.1 Flavonoidi.....	11
2.5 Vplivi na sintezo in nalaganje antocianov v grozdju	12
2.5.1 KLIMA.....	13
2.5.2 SVETLOBA IN TEMPERATURA	13
3 EKSPERIMENTALNI DEL	15
3.1 Materiali	15
3.1.1 RASTLINSKI MATERIAL	15
3.1.1.1 Vzorčenje	15
3.1.2 POSKUSNI VINOGRAD.....	15
3.1.3 ZASNOVA POSKUSA	16

3.2 Metode.....	18
3.2.1 ANALIZA KEMIJSKIH PARAMETROV	18
3.2.1.1 Priprava vzorcev.....	18
3.2.1.1.1 Priprava grozdnega soka za osnovne kemijske analize	18
3.2.1.1.2 Ekstrakcija fenolnih komponent grozdja	18
3.2.1.1.3 Priprava vzorcev za HPLC analize.....	18
3.2.1.2 Analize kemijskih parametrov grozdja.....	19
3.2.1.2.1 Analiza osnovnih kakovostnih parametrov grozdja.....	19
3.2.1.2.3 HPLC analiza antocianov	21
3.2.2 SPREMLJANJE KLIMATSKIH POGOJEV	22
3.2.3 VINIFIKACIJA	22
3.2.4 DOLOČANJE VINOGRADNIŠKIH PARAMETROV	23
3.3 Obdelava podatkov	23
4 REZULTATI IN RAZPRAVA	24
4.1 Kakovostni parametri pridelka.....	24
4.1.1 VSEBNOST SUHE SNOVI V GROZDJU MED DOZOREVANJEM IN OB TRGATVI.....	24
4.1.2 VSEBNOST TITRACIJSKIH KISLIN V GROZDJU MED DOZOREVANJEM IN OB TRGATVI.....	26
4.1.3 VSEBNOST SKUPNIH FENOLOV V GROZDJU MED DOZOREVANJEM IN OB TRGATVI.....	28
4.1.4 POJAVNOST ANTOCIANOV V GROZDJU MED DOZOREVANJEM IN OB TRGATVI	30
4.1.4.1 Kvantitativni profili antocianov.....	30
4.1.4.1.1 Spremljanje temperature na površini grozdne jagode.....	32
4.1.4.2 Kvalitativni profili antocianov	34
4.1.5 SKUPNI ANTOCIANI V MOŠTU IN VINU.....	34
4.2 Količinski parametri pridelka	36
4.2.1 OSNOVNI KOLIČINSKI PARAMETRI PRIDELKA	36
4.2.2 MASA 100. JAGOD	37
4.2.3 ZBITOST GROZDJA.....	38
5 ZAKLJUČKI	39
6 VIRI	41

SEZNAM TABEL

Tabela 1: Funkcionalne skupine in povezana imena posameznih monomernih antocianov (Margalit, 2004)	12
Tabela 2: HPLC-UV/VIS analitski pogoji za identifikacijo in kvantifikacijo antocianov	21
Tabela 3: Osnovni količinski parametri pridelka po obravnavanjih: PC (pred cvetenjem), TJ (po oploditvi) OJ (začetek dozorevanja) in NR (nerazlistane trte).....	36

SEZNAM SLIK

Slika 1: Grozdje sorte 'Modri pinot' (Foto: Dejan Glavan, 2010)	5
Slika 2: Osnovna struktura flavonoidov (Margalit, 2004).....	11
Slika 3: Osnovna kemijska struktura antocianov (Margalit, 2004).....	12
Slika 4: Poskusni vinograd (Foto: Dejan Glavan, 2010).....	16
Slika 5: Plan poskusa v vinogradu Potoče, Vipavska dolina.....	17
Slika 6: Priprava vzorcev in analiza vsebnosti sladkorjev z digitalnim refraktometrom (Foto: Dejan Glavan, 2010).....	19
Slika 7: Prikaz dela med določanjem skupnih fenolov (Foto: Dejan Glavan, 2011)	20
Slika 8: Primer HPLC-UV/VIS kromatograma v vzorcih vina Modri pinot pri 520 nm z identifikacijo petih prisotnih antocianov (rdeče označeno: v času hladne maceracije, črno označeno: po alkoholni fermentaciji)	22
Slika 9: Dinamika nalaganja sladkorja (povprečne koncentracije suhe snovi) v vzorcih grozdja v odvisnosti od časa odstranjevanja listov: PC (pred cvetenjem), TJ (po oploditvi), OJ (začetek dozorevanja) in NR (nerazlistane trte). Na sliki je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev.	24
Slika 10: Povprečna koncentracija sladkorja (suhe snovi) ob trgatvi v odvisnosti od časa odstranjevanja listov: PC (pred cvetenjem), TJ (po oploditvi), OJ (začetek dozorevanja) in NR (nerazlistane trte). Na sliki A je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev; na sliki B je označen 95% interval zaupanja meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev.	25
Slika 11: Dinamika spreminjanja povprečne koncentracije skupnih titracijskih kislin v vzorcih grozdja med dozorevanjem v odvisnosti od časa odstranjevanja listov: PC (pred cvetenjem), TJ (po oploditvi), OJ (začetek dozorevanja) in NR (nerazlistane trte). Na sliki je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev.....	26
Slika 12: Povprečna koncentracija skupnih titracijskih kislin v vzorcih grozdja ob trgatvi v odvisnosti od časa odstranjevanja listov: PC (pred cvetenjem), TJ (po oploditvi), OJ (začetek dozorevanja) in NR (nerazlistane trte). Na sliki A je označen	

standardni odklon meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev; na sliki B je označen 95% interval zaupanja meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev.	27
Slika 13: Dinamika spreminjanja povprečnih koncentracij skupnih fenolov v vzorcih grozdja med dozorevanjem v odvisnosti od časa odstranjevanja: PC (pred cvetenjem), TJ (po oploditvi), OJ (začetek dozorevanja) in NR (nerazlistane trte). Na sliki je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev.	28
Slika 14: Povprečna koncentracija skupnih fenolov v vzorcih grozdja ob trgatvi v odvisnosti od časa odstranjevanja listov: PC (pred cvetenjem), TJ (po oploditvi), OJ (začetek dozorevanja) in NR (nerazlistane trte). Na sliki A je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev; na sliki B je označen 95% interval zaupanja meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev.	29
Slika 15: Dinamika spreminjanja povprečnih koncentracij skupnih antocianov (zgoraj v $\mu\text{g}/\text{jagodo}$; spodaj v mg/kg jagod) v vzorcih grozdja med dozorevanjem v odvisnosti od časa odstranjevanja listov: PC (pred cvetenjem), TJ (po oploditvi), OJ (začetek dozorevanja) in NR (nerazlistane trte). Na sliki je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev.	30
Slika 16: Povprečne koncentracije skupnih antocianov (A - v $\mu\text{g}/\text{jagodo}$; B - v mg/kg grozdja) v vzorcih grozdja ob trgatvi v odvisnosti od časa odstranjevanja listov: PC (pred cvetenjem), TJ (po oploditvi), OJ (začetek dozorevanja) in NR (nerazlistane trte). Na sliki je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev.	32
Slika 17: Dinamika spreminjanja povprečnih temperatur na površini jagod v odvisnosti od časa odstranjevanja listov: PC (pred cvetenjem), TJ (po oploditvi), OJ (začetek dozorevanja) in NR (nerazlistane trte), dne 10. avgusta, južna stran.	33
Slika 18: Dinamika spreminjanja povprečnih temperatur na površini jagod v odvisnosti od časa odstranjevanja listov: PC (pred cvetenjem), TJ (po oploditvi), OJ (začetek dozorevanja) in NR (nerazlistane trte), dne 10. avgusta, severna stran.	33
Slika 19: Povprečne koncentracije posameznih monomernih antocianov v grozdju ob trgatvi v odvisnosti od časa odstranjevanja listov: PC (pred cvetenjem), TJ (po oploditvi), OJ (začetek dozorevanja) in NR (nerazlistane trte). Na sliki je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev. Del = delfinidin; Cy = cianidin; Pet = petunidin; Peo = peonidin; Mal = malvidin; Glu = glukozid.	34
Slika 20: Povprečne koncentracije skupnih monomernih antocianov v moštu in vinu v odvisnosti od časa odstranjevanja listov: PC (pred cvetenjem), TJ (po oploditvi), OJ (začetek dozorevanja) in NR (nerazlistane trte). Na sliki je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev.	35
Slika 21: Dinamika spreminjanja povprečne mase 100. jagod v odvisnosti od časa odstranjevanja listov: PC (pred cvetenjem), TJ (po oploditvi), OJ (začetek dozorevanja) in NR (nerazlistane trte). Na sliki je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev.	37

Slika 22: Zbitost grozdja IZ (g/cm) v odvisnosti od časa odstranjevanja listov: PC (pred cvetenjem), TJ (po oploditvi), OJ (začetek dozorevanja) in NR (nerazlistane trte). Na sliki je označen 95% interval zaupanja meritev znotraj posameznih bioloških paralelek enako obravnavanih vzorcev.	38
Slika 23: Prečni prerez grozda ob trgatvi pri obravnavanju: levo PC (pred cvetenjem), desno NR (nerazlistano) (Foto: Melita Sternad Lemut, 2010).	38

OKRAJŠAVE

SA = skupni antociani

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

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

OJ = razlistanje vinske trte v času obarvanja jagod - fenofaza: začetek dozorevanja

NR = nerazlistane vinske trte (kontrola)

BBCH = skala razvojnih faz vinske trte

BBCH 57 = socvetja popolnoma razvita, cvetovi ločeni

BBCH 77 = začetek dotikanja jagod med sabo

BBCH 83 = obdobje napredujočega barvanja jagod

IZ = indeks zbitosti grozdja (masa grozda/dolžina grozda)

1 UVOD

1.1 Povod za delo

Sorta 'Modri pinot' (*Vitis vinifera* L.) je zgodaj dozorevajoča rdeča sorta vinske trte z grozdem nizkega barvnega potenciala oziroma z nizko naravno vsebnostjo antocianov. Antociani so produkt sekundarnega metabolizma vinske trte. Kot pigmenti rdeče barve so prednostno odgovorni za barvo rdečega grozdja in tudi vina.

Nizka intenziteta barve vin Modri pinot je lahko pogosto povezana tudi s problemom slabe obstojnosti barve med staranjem vina. Čeprav ponuja sorta na Vipavskem že zdaj dobre rezultate, pa zaradi pomanjkanja znanj glede optimalnih tehnoloških rešitev, še ni izkoristila vseh svojih potencialov.

Odstranjevanje listov v območju grozdja vinske trte (v nadaljevanju tudi skrajšano: odstranjevanje listov ali razlistanje) je povsod po svetu razširjena vinogradniška tehnologija, ki se je prvotno uporabljala predvsem z namenom izboljšanja dozorevanja in manjšega tveganja za mikrobiološke okužbe grozdja (Smart, 1985). Znano je, da lahko odstranjevanje listov v območju grozdja bistveno spremeni mikroklimo v grmu vinske trte. Ker je biosintetsko obnašanje vinske trte poleg genotipa, v veliki meri odvisno tudi od vplivov okolja, bi preišljena in načrtna manipulacija z mikroklimo lahko povzročila pozitivne spremembe v biosintetski poti nekaterih sekundarnih metabolitov, vključno z antociani (Gould in Lister, 2006; Jeandet in sod., 2002). Običajno se odstranjevanje listov izvaja v času po oploditvi jagod in vse do začetka dozorevanja grozdja (Poni in sod., 2006), medtem ko je potencial zgodnejšega odstranjevanja listov slabše raziskan. V klimatskih razmerah, toplejših od idealnih, lahko nekatere fenološke faze vinske trte potekajo hitreje, prej prihaja do dozorevanja in vzporedno do neželenega upada fenolnih komponent v zadnji fazi dozorevanja (Anderson in sod. 2008; Kennedy, 2000), medtem ko vinogradnik-vinar še čaka na razvoj zelenih aromatskih snovi.

V Sloveniji bi bilo potrebno na podlagi poizkusov in raziskav oblikovati smernice, ki bi določale tehnologijo, obseg in časovno izvajanje vinogradniških ukrepov za vse perspektivne sorte na vseh vinorodnih področjih. Posplošeno prenašanje izkušenj in znanj iz drugih vinorodnih dežel v naše podnebne pogoje ni strokovno upravičeno in je zato morebiti lahko tudi nevarno (Vršič in Lešnik, 2005).

1.2 Delovna hipoteza

V okviru diplomskega dela smo raziskovali vpliv časa odstranjevanja listov v območju grozdja na nekatere osnovne kakovostne parametre grozdja in na pojavnost antocianov v grozdju ter njihovo vsebnost v vinu. Na podlagi terenskih poskusov (v realnih mikroklimatskih scenarijih) smo poskušali določiti najprimernejši čas odstranjevanja listov v opazovanih razmerah tako iz stališča tvorbe antocianov v grozdju med dozorevanjem kot njihove kasnejše ekstrakcije v vino sorte 'Modri pinot' iz vinograda v osrednji Vipavski dolini.

V skladu s pregledano strokovno in znanstveno literaturo je naše delo temeljilo na naslednjih predpostavkah:

1. S spremembami mikroklimatskih razmer v grmu vinske trte bomo povzročili določene spremembe v biosintetskem obnašanju rastline-trte.
2. Z odstranjevanjem listov v območju grozdja v različnih fazah razvoja vinske trte bomo različno vplivali na sintezo nekaterih primarnih metabolitov vinske trte (osnovne kemijske parametre grozdja) in na nekatere količinske parametre pridelka (masa 100. jagod, pridelek, zbitost grozdov).
3. Z odstranjevanjem listov v območju grozdja v različnih časovnih terminih bomo vplivali tudi na sintezo v našem poskusu podrobneje opazovanih sekundarnih metabolitov – antocianov. Predvidevamo, da bomo vplivali tako na kvalitativne kot tudi kvantitativne profile antocianov, znanih po svoji odvisnosti od različne izpostavljenosti temperaturi in svetlobi.
4. Na podlagi poskusa bomo lahko določili najprimernejši čas odstranjevanja listov iz vidika opazovanih kakovostnih parametrov grozdja (in vina) v danih pogojih.

2 TEORETIČNE OSNOVE

2.1 Vinorodni okoliš Vipavska dolina

Vipavska dolina se nahaja med Trnovsko planoto in Nanosom na severu ter planoto Kras na jugu. Od Razdrtega na vходу se razteza vse do Goriške ravnine na zahodu, kjer meji z Italijo. V dolžino meri približno 40 km (Perko in Orožen Adamič, 1998).

Vinorodni okoliš Vipavska dolina zajema 2.526 ha vinogradniških površin (SURs, 2009). Deli se na vinorodna podokoliša Zgornja Vipavska dolina in Spodnja Vipavska dolina. (Ur. L. RS, št. 49/2007).

2.1.1 RELIEF IN TLA

Reka Vipava je s pomočjo svojih pritokov oblikovala močno razgiban relief in številne gričke; v spodnjem delu Vipavske doline je opaziti položnejše griče, ki so večinoma nižji od 200 metrov nadmorske višine, medtem ko so v zgornjem delu nekoliko bolj strmi in segajo tudi do nadmorske višine 500 metrov (Škvarč, 2007).

Glavni gradniki tal Vipavske doline so usedline oceanskega fliša. Fliš pogosto nastane iz plasti kremenovo-apnenčevega peščenjaka in laporjev. Vipavci radi poimenujejo fliš »soudan«, tistega z več laporja pa »opoka« (Škvarč, 2005).

2.1.2 KLIMATSKE ZNAČILNOSTI VIPAVSKE DOLINE

Vipavska dolina ima značilnosti tako celinskega kot mediteranskega podnebja (Škvarč, 2005). Značilnost te doline je tudi močna burja, ki lahko s svojimi sunki občasno poškoduje trte, hkrati pa lahko izsušuje zrak ter delno ohlaja prevroče poletne temperature.

Vipavska dolina ima letno med 1400 in 1700 mm padavin (Škvarč, 2005). Padavine so izrazitejše v začetku in na koncu vegetacijske dobe, poleti pa so pogosta bolj sušna obdobja. Čeprav padavin v skupni količini ni malo, je lahko problematična njihova neenakomerna porazdelitev.

Povprečje temperatur v Vipavski dolini potrjujejo klimatske značilnosti regije. Povprečna najvišja temperatura v obdobju med letoma 1991 in 2000 je 18,3°C, povprečna najnižja temperatura pa 7,7°C. Absolutna najvišja izmerjena temperatura v omenjenemu obdobju je 37,5 °C, najnižja pa kar -13,0 °C (ARSO, podatki za Bilje).

2.2 Sorta 'Modri pinot'

Izvor sorte 'Modri pinot' ni povsem razjasnjen. Morfološke lastnosti te sorte nakazujejo na domnevno sorodstvo z divjo vrsto vinske trte *Vitis sylvestris* (Gmel.), medtem ko je v času Rimljanov domnevno obstajala kot samostojna sorta, odbrana in kultivirana v zahodni Evropi iz divje trte *Vitis allobrogica* (Vršič, 2008 cit. po Regner in sod., 2000). Gojenje te sorte v Burgundiji sega v 4. stoletje (Vršič, 2008 cit. po Hillebrand in sod., 1998).

Na slovenskem ozemlju sorto 'Modri pinot' gojimo že najmanj dve stoletji. Prve trte sorte 'Modri pinot' je v dvajsetih letih 19. stoletja najverjetneje posadil Janez Habsburški (Kuljaj, 2005). Trsni izbor v Sloveniji dovoljuje sajenje sorte v vseh treh vinorodnih deželah. Med podokoliši pa sta izjemi vinorodna podokoliša Haloze in Šmarje-Virštanj kjer je sorta priporočena ter vinorodni podokoliš Kraška planota, kjer sorte ni med dovoljenimi (Ur. L. RS, št. 49/2007).

'Modri pinot' ima dober kakovosten potencial med sortami in dosega v dobrih letnikih sladkorno stopnjo do 90 °Oe in več. Hkrati velja za eno izmed bolj zahtevnih sort za pridelavo in vinifikacijo (Hrček in Korošec-Koruza, 1996).

Nekateri sinonimi in nazivi, ki se pri nas in po svetu uporabljajo za to sorto so: 'Modri burgundec' (Blauburgunder), 'Spätburgunder' in 'Pinot Noir' (Nemanič, 1996).

2.2.1 BOTANIČNI OPIS

Botanični opis sorte je povzet po Hrček in Korošec-Koruza (1996) in Vršič (2008).

Vršiček mladike sorte 'Modri pinot' je zelene barve, rahlo svetleč, kratek in pokončen, lahko je gol ali tudi nekoliko dlakav. Ob močni rasti je večkrat upognjen. List je srednje velikosti, okroglaste oblike, tri ali petdelen. Je topo zobčast, gornja stran je zelena in

mehurjasta, spodnja stran pa je gola. Peceljni sinus ima obliko črke 'U' ali pa je preklopljen. Pecelj je srednje dolg, zelen in rdečkasto progast ter debel.

Rozga je nežno progasta in srednje dolga. Prav tako so srednje dolgi internodiji, ki imajo slabše izražene nodije. Skorja je rjavkasta s temnordečimi nijansami, vijolično naprašena in sajasta.

Grozd sorte 'Modri pinot' je navadno majhen, valjaste oblike in zelo zbit. Pecelj je kratek in debel. Jagoda je okrogla, drobna, temno vijoličaste barve z debelejšo kožico.



Slika 1: Grozdje sorte 'Modri pinot' (Foto: Dejan Glavan, 2010)

2.2.2 AGROBIOTIČNE ZNAČILNOSTI

Sorta 'Modri pinot' spada med srednje bujne sorte, ki zorijo sorazmerno zgodaj. Pridelek je reden, ampak pogosto skromen (Hrček in Korošec-Koruza, 1996). Sorta velja za občutljivejšo na peronosporo vinske trte (*Plasmopara viticola* Berl. & de Toni). Je relativno odporna na oidij in na nizke temperature (Hrček in Korošec-Koruza, 1996). Zaradi zbitosti grozdov je lahko sorta precej podvržena okužbam z grozdno gnilobo (*Botrytis cinerea* Pers.) (Boso in Kassemeyer, 2008; Vršič, 2008).

2.2.3 TEHNOLOGIJA PRIDELAVE GROZDJA

'Modri pinot' je zelo zahtevna sorta glede lege. Predvsem v hladnejših vinorodnih območjih so nižje lege manj priporočljive. Kakovostnejša vina daje na bolj globokih, ne presuhih, zračnih in toplih tleh. Sorti ustreza intenzivna in nizka gojitvena oblika (enojni Guyot) (Vršič, 2008).

2.3 Odstranjevanje listov v območju grozdja

Razlistanje vinske trte je vinogradniški ukrep, pri katerem odstranjujemo določen del listov v območju grozdja (Vršič in Lešnik, 2005). Grozdje z ustrezno izpostavljenostjo sončnemu sevanju (tudi na račun odstranjevanja listov) lahko po nekaterih poročanjih bolj razvije barvo (Spayd in sod., 2002; Haselgrove in sod., 2000). Ob tem se lahko poveča tudi odpornost vinske trte na pepelovko (oidij) vinske trte in sivo grozdno gnilobo, predvsem zaradi boljše zračnosti in debelejšše kutikule jagod (Vierra, 2005; Vršič in Lešnik, 2005).

Z delno odstranitvijo listov v predelu grozdja hkrati izgubimo del asimilacijske površine. Med dozorevanjem imajo največjo asimilacijsko aktivnost prav veliki glavni listi v predelu grozdja, če so le dovolj zdravi in osvetljeni (Vršič in Lešnik, 2005; Petrie in sod., 2003). Zaradi tega je zelo pomembno pravilno oceniti količino in položaj listov, ki jih nameravamo odstraniti, tako, da tovrstno razlistanje pri danih pogojih ne predstavlja velike škode iz stališča izgube asimilacijske površine. Pri tem upoštevamo, da spodnji glavni listi v predelu grozdja med dozorevanjem slabše asimilirajo, še posebej, če so podvrženi suši, pomanjkanju magnezija ipd. (Vršič in Lešnik, 2005). Asimilacija listov v predelu grozdja pa je odvisna tudi od višine listne stene in medvrstne razdalje (Vršič in Lešnik, 2005), tako da je aktivnost listov pri višji listni steni in ožji medvrstni razdalji ohromljena.

Odstranjevanje listov v območju grozdja se načeloma bolj priporoča za rdeče sorte, medtem ko velja za bele sorte nekoliko večja zadržanost. Izvajati ga je smiselno predvsem tam, kjer imamo zaradi gojitvene oblike ali klimatskih razmer slabšo osvetlitev, zračnost ali nizko temperaturo na površini jagod (Vršič in Lešnik, 2005).

Z odstranjevanjem listov v predelu grozdja lahko vplivamo tudi na nekatere druge kakovostne parametre grozdja.

Vsebnost skupnih kislin se zaradi boljše osvetlitve zmanjša oz. se zmanjša vsebnost jabolčne kisline, prav tako se lahko poveča vsebnost sladkorja (Vršič in Lešnik, 2005). Pozitiven učinek odstranjevanja listov v območju grozdja pri rdečih sortah je tudi povišanje fenolnih spojin, predvsem rdečih barvil - antocianov. Vendar se je potrebno zavedati, da lahko v bolj toplih klimatskih razmerah zaradi prevelikega povišanja temperature na površini grozdne jagode, dosežemo ravno nasprotno (Tarara in sod., 2008).

2.3.1 ČASOVNA IZVEDBA ODSTRANJEVANJA LISTOV

Izbira časa izvedbe ukrepa odstranjevanja listov v območju grozdja je tako zelo kompleksna in zahteva tehtne premisleke kot tudi natančno prilagoditev danim razmeram. Optimizacija tega vinogradniškega ukrepa pa lahko omogoči boljšo kakovost grozdja. Ukrep se lahko izvaja v zgodnejših fenoloških fazah kot tudi v poznejših; najpogosteje se ga izvaja v fazi začetka dozorevanja (Vršič in Lešnik, 2005; Poni in sod., 2006).

2.3.1.1 Zgodnje odstranjevanje listov v območju grozdja

Zelo zgodnje odstranjevanje listov v območju grozdja – pred cvetenjem vinske trte – je nova in inovativna vinogradniška tehnologija (Poni in sod., 2006, 2009). Zgodnje odstranjevanje listov pred ali v času okoli cvetenja lahko zmanjša količino pridelka in povzroči manjšo zbitost grozdja (Poni in sod., 2006). Pri sortah z zbitimi grozdi in visokimi donosi lahko to predstavlja prednost, vendar je tako zgodnje odstranjevanje listov še zelo slabo raziskano.

Zbitost grozdja je med drugim lahko odvisna od sorte, klona in uporabljenih vinogradiških tehnologij. Večja zbitost grozdja vodi k večji stični površini med jagodam (Vail in sod., 1998). Deskriptorji za vinsko trto (IPGRI, UPOV, OIV., 1997) opisujejo gostoto oziroma zbitost grozdov kot: zelo zrahljane (jagode so v skupinah, peclji so vidni); zrahljane (posamezne jagode z vidnimi peclji); srednje zbite (gosto razporejene jagode, peclji niso vidni); zbite (jagode se ne morejo premikati) in zelo zbite (jagodam se zaradi pritiska spreminja oblika).

Rezultati v redki znanstveni literaturi, ki obravnavajo zgodnje odstranjevanje listov, temeljijo na samo nekaj sortah in samo nekaterih opazovanih geo-klimatskih pogojih, vendar pa obstoječe raziskave poleg omenjenih prednosti nakazujejo tudi pomembne izboljšave v sestavi grozdne jagode (Poni in sod., 2006, 2009; Intrieri in sod., 2008; Diago in sod., 2010). Ker se v tej fazi še lahko poveča aktivnost preostalih listov, se izguba asimilacijske površine listov boljše obnavlja kot v primeru poznejšega odstranjevanja listov, prav tako pa lahko aktivnost povečajo nastali zalistniki; nadalje lahko zgodnejše odstranjevanje listov tudi okrepi kutikulo jagode, kar ima za posledico boljšo odpornost na sončne ožige (Vršič in Lešnik, 2005).

Poleg odstranjevanja listov v območju grozdja pred cvetenjem ima lahko nekatere pozitivne vplive na kakovost grozdja sorte 'Modri pinot' tudi odstranjevanje listov kmalu po cvetenju – v fazi po oploditvi (Sternad Lemut in sod., 2011a).

2.3.1.2 Pozno odstranjevanje listov v območju grozdja

Najpogosteje se odstranjevanje listov v območju grozdja izvaja po oploditvi jagod in vse do začetka dozorevanja jagod (Poni in sod., 2006). Odstranjevanje listov v času začetka dozorevanja ima vpliv na sintezo primarnih in sekundarnih metabolitov ter posredno vpliva na hitrost fotosinteze (Bavaresco in sod., 2008). Odstranjevanje listov v začetku dozorevanja ima lahko vpliv na povečanje koncentracije sladkorjev, nekaterih aromatskih snovi in fenolnih spojin ter na zmanjšanje titracijskih kislin v grozdju (Poni in sod., 2006; Reynolds in sod., 1995).

V toplejših oziroma vročih klimatskih razmerah pa se lahko zaradi visoke temperature inhibira sinteza antocianov, hkrati pa se poveča verjetnost sončnih ožigov na površini grozdne jagode (Poni in sod., 2006).

Tehnologijo odstranjevanja listov v območju grozdja (obseg, lokacijo in čas) je torej potrebno previdno oceniti in preizkusiti v vseh geoklimatskih razmerah in za vsako sorto posebej iz vidika kakovostnih prednosti (kemijska sestava grozdnih jagod), zdravstvenih prednosti (npr. zmanjšanje okužbe z *B. cinerea*) in vidika tveganja sončnih ožigov na površini grozdne jagode (Sternad Lemut in sod., 2011c). Poleg območja in obsega odstranjevanja listov v območju grozdja je izbran čas njegove izvedbe najpomembnejši dejavnik za končno učinkovitost (Main in Morris, 2004).

2.4 Kemijska sestava grozdja in vina

Kakovost pridelka vinske trte je odvisna predvsem od sestave in razmerja njenih metabolitov (Ali in sod., 2010). Vinska trta/grozdje ima v svoji sestavi različne organske spojine, ki jih v osnovi delimo na primarne in sekundarne metabolite (Crozier in sod., 2006; Croteau in sod., 2000).

2.4.1 PRIMARNI METABOLITI

Primarne metabolite zasledimo v vseh rastlinski vrstah. Sodelujejo pri zelo pomembnih življenjskih procesih v rastlini (Croteau in sod., 2000) kot so: rast, razvoj, razmnoževanje ter tudi fotosinteza in dihanje (Ali in sod., 2010; Crozier in sod., 2006).

Najpomembnejši primarni metaboliti v grozdju so sladkorji, organske kisline, aminokisline in minerali. Poleg vode (70-85%) je v tkivih grozdne jagode največ sladkorjev (15-25%), medtem ko je delež organskih kislin 0,5-1%, delež dušičnih snovi 0,3-0,6% in delež mineralov le 0,01% (Winkler, 1974; Conde in sod., 2007; Creasy G.L. in Creasy L.L., 2009).

Pri vrednotenju osnovnih kemijskih parametrov grozdja največkrat spremljamo dinamiko nalaganja sladkorjev (suhe snovi) in dinamiko vsebnosti skupnih titracijskih kislin oziroma z njimi povezane pH vrednosti grozdnega soka.

2.4.1.1 Sladkorji

D-glukoza in L-fruktoza sta glavni predstavnici sladkorjev, ki sta navadno v razmerju 1:1. Razmerje niha za okoli 30%, nanj pa med drugimi vplivajo tako sorta kot zrelostna stopnja (Margalit, 2004) ter geo-klimatski dejavniki (Vršič in Lešnik, 2005). V obliki disaharida saharoze sladkor preide v grozdno jagodo, kjer se hidrolizira v enostavnejši heksozi: glukozo in fruktozo. Heksozi glukoza in fruktoza sta torej produkt fotosinteze vinske trte in predstavljata glavni vir hranil za kvasovke med alkoholno fermentacijo. Koncentracija sladkorjev v grozdju med dozorevanjem narašča (Bavčar, 2006).

2.4.1.2 Organske kisline

Med organskimi kisljinami grozdnega soka sta najpomembnejši vinska in jabolčna kislina, ki v času trgatve predstavljata 70-90% vseh kisljin v grozdju (Bavčar, 2006), v bistveno nižjih koncentracijah pa lahko zasledimo še druge organske kisline (npr. citronsko ali sukcinilno) (Margalit, 2004). Znano je, da se vinska kislina v začetni fazi zorenja nalaga v kožici jagode in mesu pod njo, medtem ko se jabolčna kislina nahaja v mesu bližje grozdnim pečkam. Koncentracija jabolčne kisline z dozorevanjem (v odvisnosti od temperature) pada (bolj v toplejših kot hladnejših klimatskih pogojih), medtem ko je vinska kislina bolj stabilna. Koncentracija skupnih kisljin se z dozorevanjem grozdja zmanjšuje, pH vrednost pa se posledično zvišuje (Bavčar, 2006).

Kisline so pomemben dejavnik pri določanju tehnološke zrelosti grozdja in s tem pri določanju najprimernejše točke trgatve. Vsebnost kisljin pa ima tudi neposreden vpliv na organoleptične lastnosti ter na fizikalno in biološko stabilnost grozdja in vina (Šikovec, 1993).

2.4.2 SEKUNDARNI METABOLITI

Med sekundarne metabolite uvrščamo spojine, ki niso neposredno vključene v primarne biokemične procese (Crozier in sod., 2006). Kljub temu, da jih zato nekateri smatrajo za stranske produkte rastline, so sekundarni metaboliti izrednega pomena za rastlino. Sodelujejo pri procesih zaščite rastline pred biotskimi in abiotskimi stresi, kot tudi v procesu razmnoževanja rastlin (signaliziranje, privlačenje) (Wink, 2003). Kot zaščitne snovi pa niso pomembne samo za rastlino, temveč tudi za človeka. V zadnjem času postajajo nekateri sekundarni metaboliti vedno bolj zanimivi zaradi različnih zdravju koristnih vplivov (Iriti in Faoro, 2006).

Skupine rastlinskih sekundarnih metabolitov so npr. alkaloidi, terpeni, eterična olja, glikozidi in fenoli (Ali in sod., 2010).

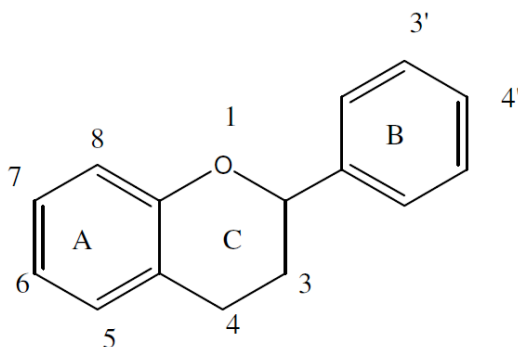
Fenoli so sekundarni metaboliti grozdja in vina, katerim se trenutno posveča največ pozornosti. Fenoli so ciklične benzenove spojine z eno ali več hidroksilnimi skupinami. Nahajajo se v kožici in pečkah grozdne jagode (Kennedy in sod., 2000; Bavčar, 2006). Delujejo kot antioksidanti in konzervansi, izkazujejo pa tudi antimikrobno delovanje (Bavčar, 2006).

Fenolne spojine so lahko eden izmed glavnih atributov vina. Odgovorne so za barvo vina kot tudi za določene organoleptične zaznave (trpkost, grenkoba) (Margalit, 2004).

Na podlagi njihove kemijske strukture jih v osnovi delimo na flavonoide in neflavonoide (Vrhovšek, 2000), pri čemer za našo raziskavo pomembnejši antociani sodijo v skupino flavonoidov.

2.4.2.1 Flavonoidi

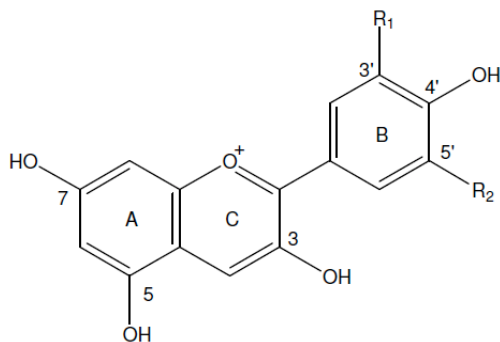
V skupino flavonoidov uvrščamo fenolne spojine, ki imajo značilen skelet C₆-C₃-C₆ (Margalit, 2004). Splošno veljajo flavonoidi za tipične spojine rdečih vin. Zavzemajo namreč do 85% vseh prisotnih fenolov, medtem ko v belih vinih zavzemajo le do 20% (Bavčar, 2006). Flavonoidi so lahko prisotni v prosti obliki (aglikoni), lahko pa so vezani tudi na flavonoide, neflavonoide in sladkorje kot glikozidi (Bavčar, 2006).



Slika 2: Osnovna struktura flavonoidov (Margalit, 2004)

Med najbolj pogoste flavonoide uvrščamo: antociane, flavonole (npr. kvercetin, miricetin, kamferol) in flavan-3-ole ali flavanole (katehin, epikatehin, proantocianidin ali kondenzirani tanin) (Bavčar, 2006; Kennedy, 2006).

Antociani: Za barvo rdečih vin so v največji meri odgovorni antociani, ki se nahajajo v kožicah grozdnih jagod (Kennedy, 2006). V grozdju žlahtne vinske trte *Vitis vinifera* se nahajajo izključno kot monomeri oziroma kot monoglukozidi (Bavčar, 2006). Antociane, ki niso vezani s sladkorji imenujemo antocianidini, medtem ko glikolizirane oblike imenujemo antocianini.



Slika 3: Osnovna kemijska struktura antocianov (Margalit, 2004)

V grozdju in vinu najdemo šest različnih monomernih antocianov, ki so večinoma glukozidirani (vezani na sladkorje). Pogosto so vezani z D-glukozo, nekoliko manjkrat pa se pojavljajo vezani z L-ramozo, L-rabinozo in D-galaktozo (Margalit, 2004). Antocian malvidin predstavlja v kožici grozdja sort *Vitis vinifera* 65% delež vseh antocianov (Stafford, 1990).

Zhao in sod., (2010) navajajo, da se sorta 'Modri pinot' razlikuje od ostalih, ker vsebuje le pet različnih antocianov: malvidin, delfinidin, cianidin, petunidin in peonidin oziroma njihove glukozidirane oblike.

Tabela 1: Funkcionalne skupine in povezana imena posameznih monomernih antocianov (Margalit, 2004)

R ₁	R ₂	Ime aglikona
H	H	PELARGONIDIN
OH	H	CIANIDIN
OCH ₃	H	PEONIDIN
OH	OH	DELFINIDIN
OCH ₃	OCH ₃	MALVIDIN
OCH	OH	PETUNIDIN

2.5 Vplivi na sintezo in nalaganje antocianov v grozdju

Sinteza in nalaganje antocianov je zapleten rastlinski biosintetski proces, poleg tega pa nanj vplivajo številni zunanji dejavniki kot so: letnik, sorta, klon, struktura in sestava

tal, zrelostna stopnja, klima, kot tudi različne vinogradniške tehnologije (Kennedy in sod., 2000, 2006; Dokoozlian in Kliewer, 1996; Jackson in Lombard, 1993; Ramos in sod., 1999; Xu in sod., 2011; Tian in sod., 2009). V našem poskusu smo z odstranjevanjem listov v območju grozdja v različnih fazah razvoja vinske trte povzročili spremembo v mikroklimatskih pogojih (temperatura, svetloba, relativna vlaga) na račun bolj oziroma prej odprte in osvetljene listne stene vinske trte.

2.5.1 KLIMA

V vinogradništvu ločimo tri nivoje klime (Smart, 1985; Keller, 2010):

- **makroklima:** podnebje regije, ki je običajno opisano na podlagi podatkov, zbranih na enem mestu ali z nekaj vremenskimi postajami. Lahko predstavlja tudi povprečje različnih leg v regiji. Omejuje se z geografsko lego (nadmorska višina, večji vodni viri, itd.) in je neodvisna od lokalne topografije (vrsta zemlje, rastlinja, itd.).
- **mezoklima:** klima določene lege ali večjega vinograda. Mezoklima je odvisna od lokalne topografije (zato včasih imenovana tudi topografija). Pomembna je pri izboru lokacije vinograda oziroma pri izboru ustreznih sort za to lokacijo.
- **mikroklima:** je klima znotraj grma vinske trte oziroma v neposredni bližini grozdov.

Na mikroklimo lahko vplivajo naklon, tip tal, kot tudi razporeditev listne površine. Ravno mikroklima pa je tista, ki jo lahko (načrtno) spreminjamo s pomočjo različnih vinogradniških tehnologij.

2.5.2 SVETLOBA IN TEMPERATURA

Sončna svetloba ima lahko številne vplive na sestavo grozdja. Zagotavlja energijo za fotosintezo ter stimulira metabolne procese, tako z direktnim sončnim sevanjem kot s segrevanjem zraka v okolici. Sončna toplota ima vpliv na celično dihanje in posledično na izgubo vode, kar pa lahko vpliva tudi na sintezo tako antocianov kot ostalih fenolnih spojin (Crippen in Morrison, 1986). V tem segmentu je pomembna tudi temperatura in njeno razmerje z izpostavljenostjo soncu. Razmerje teh dveh dejavnikov ima pomemben vpliv na končno jagodno sestavo (Spayd in sod., 2002).

Avtorja Smart in Robinson (1991) navajata, da se z izpostavljenostjo sončnemu sevanju povečujejo sladkorna stopnja, vsebnost antocianov in skupni fenoli v grozdni jagodi. Optimalna temperatura za sintezo barvnih pigmentov je med 18 in 25 °C (Vršič in Lešnik, 2005). Direktno osvetljene jagode v zmerno vročih dneh imajo optimalne pogoje za sintezo, medtem ko imajo tiste v senci manj ugodno temperaturo (Spayd in sod., 2002). Problem se pojavi v zelo vročih dneh (v vročih klimah), ko je temperatura na površini soncu izpostavljenih jagod, previsoka. V toplejših vinogradniških območjih se tako lahko pojavljajo problemi z barvo (Vršič in Lešnik, 2005).

Tvorba antocianov se namreč po poročanjih inhibira oziroma zaustavi, ko temperatura grozdne jagode preseže 30-35 °C (Haselgrove in sod., 2000; Spayd in sod., 2002).

Haselgrove in sod. (2000) razmišljajo, da je najverjetneje v razmerah, kjer je grozdje v zgodnjih fazah dozorevanja močno zasenčeno, svetloba najbolj omejujoč dejavnik za sintezo antocianov. Po drugi strani pa je verjetno v razmerah, kjer jagode sprejemajo dovolj sončne svetlobe, bolj omejujoč dejavnik temperatura.

V realnih terenskih poskusih je težko ločiti vplive svetlobe od vplivov temperature. Razlike, nastale na račun različne izpostavljenosti sončnemu sevanju so posledica sinergistične kombinacije učinkov temperature in svetlobe (Spayd in sod., 2002).

3 EKSPERIMENTALNI DEL

3.1 Materiali

3.1.1 RASTLINSKI MATERIAL

Kot rastlinski material za opazovanje smo uporabili grozdje sorte 'Modri pinot', ki ima najnižje vsebnosti antocianov med rdečimi sortami, poleg tega pa je zaradi značilne zbitosti grozdov bolj podvržen okužbam kot je npr. *Botrytis cinerea*.

3.1.1.1 Vzorčenje

Grozdne jagode vseh obravnavanj smo vzorčili v različnih fazah razvoja vinske trte in sicer v približno tedenskih časovnih razmikih s prilagoditvijo na vremenske razmere. V svežih vzorcih smo izvedli analize osnovnih kemijskih parametrov. Jagode za kasnejše analize fenolnih snovi pa smo vzorčili skupaj s pecljem in nepoškodovane takoj zamrznili na -20°C , nato pa iz njih pripravili metanolne ekstrakte. S tem smo se izognili oksidaciji in ostalim neželenim encimskim spremembam vzorcev. Mošte obravnavanega grozdja smo med vinifikacijo vzorčili vsaka 2 dni in jih spravili v metanol v razmerju vzorec:metanol 20:80 (v:v) ter do analize hranili na -20°C .

3.1.2 POSKUSNI VINOGRAD

Eksperimentalni del naloge smo izvajali v vinogradu, ki leži v neposredni bližini vasi Potoče v Vipavski dolini. Vinograd Potoče (3 ha) je ravninski, leži na nadmorski višini 95 m, vrste so orientirane vzhod-zahod, gostota zasaditve je 5682 trt/ha (0,8 m x 2,2 m). 'Modri pinot' je bil zasajen leta 2000 v sredini vinograda v skupni površini 1,1 ha, cepljen na podlago 'SO4' (*Vitis berlandieri* x *Vitis riparia*). Uporabljena gojitvena oblika je enojni Guyot.



Slika 4: Poskusni vinograd (Foto: Dejan Glavan, 2010)

3.1.3 ZASNOVA POSKUSA

Poskus smo zasnovali tako, da smo po naključnem sistemu izbrali 16 blokov na obravnavanje s petimi trtami na blok. Obravnavani bloki so bili naključno razdeljeni v 12 vrstah, začetek vrst je bil na zahodni strani vinograda, prvih 20 trsov v vsaki vrsti smo izključili z obravnavanj. Prav tako smo iz poskusa izključili vse trse, ki niso bili primerni za obravnavanje (bolni, manj razviti trsi ipd.). V poskus je bilo tako vključenih 320 trsov.

Na izbranih, označenih trtah smo odstranili liste v območju grozdja in sicer v času različnih fenoloških faz razvoja vinske trte. Prvo odstranjevanje, približno teden pred cvetenjem (**PC**) smo izvedli dne 31.5.2010 (v fazi BBCH 57). Sledilo je zgodnje razlistanje v času po oploditvi jagod (**TJ**) dne 15.6.2010 (v fazi BBCH 77). Zadnje odstranjevanje listov smo izvedli v času začetka dozorevanja grozdja (**OJ**) dne 9.8.2010, ko je bilo obarvanih cca 50% jagod (v fazi BBCH 83). Odstranjevanje listov v predelu grozdja smo opravili ročno, pri čemer smo odstranili 4-6 bazalnih listov (Poni in sod, 2006; 2009). Četrtnina obravnavanih trt je ostala nerazlistanih (**NR**) in je služila kot osnovna kontrola.

ŠTEVILKA VRSTE		12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1
ŠTEVILO TRSOV	20	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Legenda:

PC	- razlitanje vinske trte pred cvetenjem – fenofaza: pred cvetenjem
TJ	- razlitanje vinske trte v času tvorbe jagod – fenofaza: po oploditvi
OJ	- razlitanje vinske trte v času barvanja jagod – fenofaza: začetek dozorevanja
NR	- nerazlistane vinske trte (kontrola)

Slika 5: Plan poskusa v vinogradu Potoče, Vipavska dolina

3.2 Metode

3.2.1 ANALIZA KEMIJSKIH PARAMETROV

3.2.1.1 Priprava vzorcev

3.2.1.1.1 Priprava grozdnega soka za osnovne kemijske analize

Analize osnovnih kemijskih parametrov (vsebnost suhe snovi, skupnih titracijskih kislin in pH vrednosti) so potekale v svežih vzorcih. Po 200 jagod za vsako obravnavanje (tri biološke paralelke) smo ročno stisnili v PVC vrečki ter v označene čaše precedili grozdni sok, ki smo ga nato uporabili za omenjene kemijske analize.

3.2.1.1.2 Ekstrakcija fenolnih komponent grozdja

Še zmrznjene grozdne jagode smo stehtali (KERN ABJ 120-4M) ter jih natančno olupili (ločili kožice od mesa). Sestavine dvajsetih kožic grozdnih jagod (za vsa obravnavanja po tri paralelke za posamezen datum vzorčenja) smo izlužili v metanolu kot je opisano v Mattivi in sod., 2006. Kožice smo namočili za 24 ur v 100 mL metanola (Sigma, Nemčija), ekstrakcija je potekala v temnem, brez mešanja. Rastopino prve ekstrakcije smo ločili in kožicam dodali še 50 mL metanola ter jih izluževali še nadaljnji 2 uri. Rastopini obeh ekstraktov smo nato združili v temnih steklenih posodah in jih shranili pri - 20°C vse do analize (Mattivi in sod., 2006).

3.2.1.1.3 Priprava vzorcev za HPLC analize

Pred HPLC analizo antocianov smo pripravljene metanolne ekstrakte jagodnih kožic razredčili z 1% trifloroocetno kislino v vodi (1:1, v:v), da smo bolje ohranili simetrijo kromatografskih vrhov. Pred injiciranjem smo vzorce prefiltrirali skozi 0,45 µm filter, kot je opisano v Sternad Lemut in sod., 2011a. Vse analize smo izvajali v duplikatih.

3.2.1.2 Analize kemijskih parametrov grozdja

3.2.1.2.1 Analiza osnovnih kakovostnih parametrov grozdja

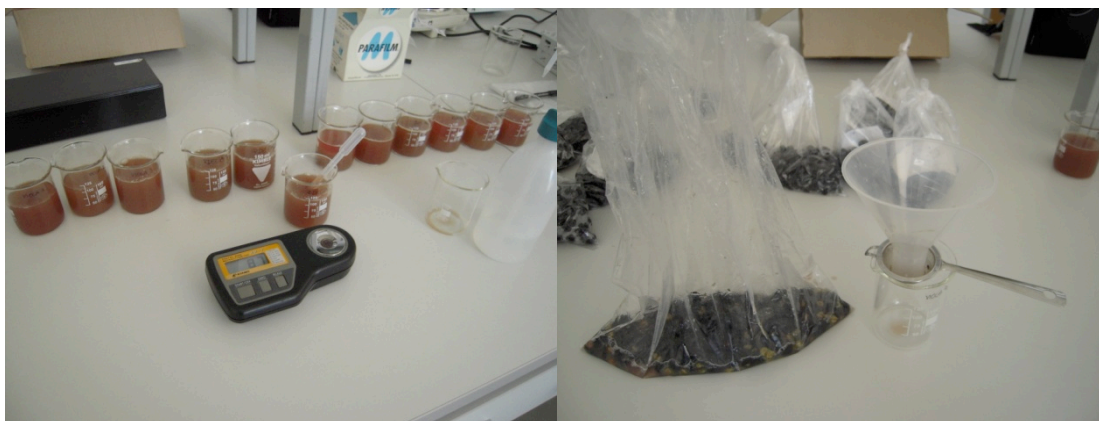
Analize osnovnih parametrov kakovosti grozdja (t.i. krivuljo dozorevanja) smo določali tekom dozorevanja v času med fazo začetka dozorevanja jagod in trgatvijo (po metodah opisanih v Commission Regulation Determining Community Methods for the Analysis of Wines (EEC) 2676/90). Vse analize smo opravili v treh bioloških paralelkah.

Skupne sladkorje oz. koncentracijo suhe snovi smo analizirali s pomočjo digitalnega refraktometra (ATAGO WM-7). Za odčitek sladkorjev v vzorcih grozdnega soka smo uporabili skalo v °Brix. Uporabljeni refraktometer samodejno upošteva korekcijo na temperaturo vzorca.

Koncentracijo titracijskih kislin smo določali z volumetrično titracijo, pri kateri smo končno točko titracije ugotovili potenciometrično s pH-elektrodo (HANNA-HI221). Koncentracijo smo nato izračunali iz porabe baze (0,1 M NaOH).

V 150 ml čašo smo odpipetirali 25 ml vzorca grozdnega soka. Stekleno elektrodo umerjenega pH-metra smo potopili v čašo ter obravnavani grozdni sok titrirali z 0,1 M raztopino NaOH do pH-vrednosti 7,0. V našem primeru je vrednost pH 7,0 predstavljala končno točko titracije.

Vrednost pH smo določili s pH-metrom (HANNA-HI221) s stekleno elektrodo.



Slika 6: Priprava vzorcev in analiza vsebnosti sladkorjev z digitalnim refraktometrom (Foto: Dejan Glavan, 2010)

3.2.1.2.2 Spektrofotometrična analiza skupnih fenolov v grozdju

Koncentracijo skupnih fenolov smo določili na podlagi redukcije fosfovolframove in fosfomolibdenove kisline (t.i. Fiolin-Ciolcalteau reagent) ter oksidacijo fenolov v modre pigmente v alkalni raztopini (Di Stefano in Guidoni, 1989), ob manjši prilagoditvi metode po Waterhouse in sod., 2002.

Uporabljen protokol je prilagojen majhnim količinam vzorca. Reakcija je potekala neposredno v 2 mL kivetah. Pripravili smo kivete s standardi galne kisline, z vzorci in kiveto z destilirano vodo (slepa proba). V vsako smo dodali 1,58 mL destilirane vode, za tem pa 100 μ L reagenta Fiolin-Ciolcalteu. Sledilo je mešanje. Zaradi časovno omejene reakcije smo najkasneje v osmih minutah v vse kivete dodali 300 μ L raztopine natrijevega karbonata, premešali ter pustili 2 uri pri sobni temperaturi. Sledila je spektrofotometrična analiza pri 765 nm (Waterhouse, 2002). Rezultate smo izračunali na podlagi pripravljene meritvene krivulje in jih izrazili kot mg/kg grozdja.



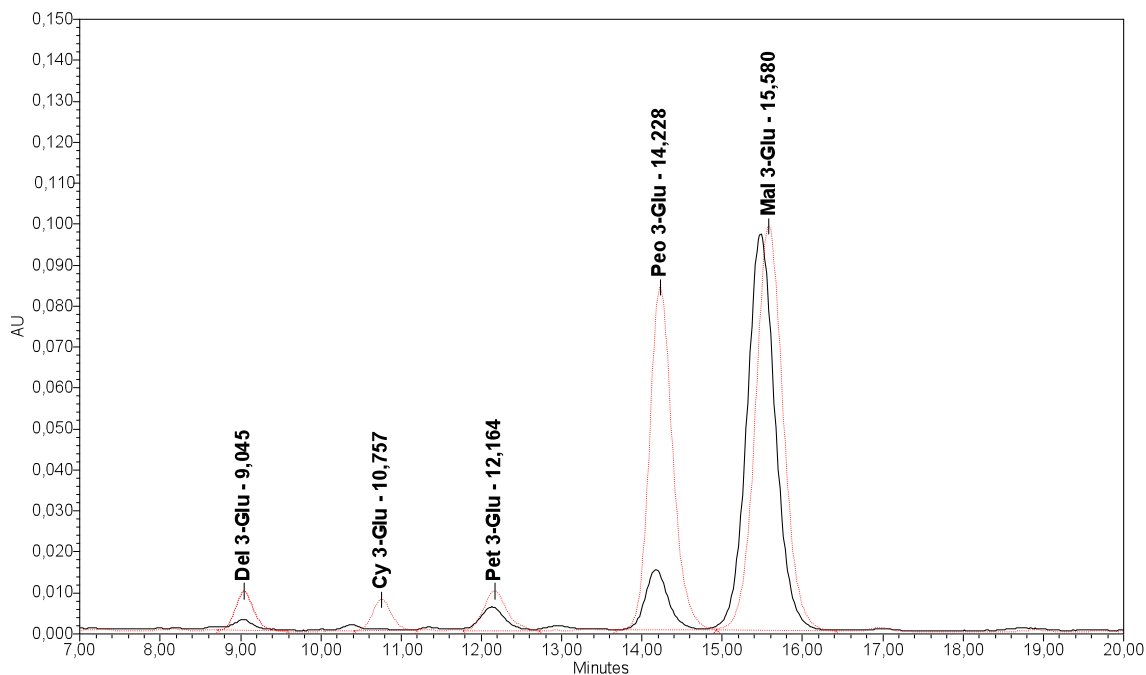
Slika 7: Prikaz dela med določanjem skupnih fenolov (Foto: Dejan Glavan, 2011)

3.2.1.2.3 HPLC analiza antocianov

Identifikacija posameznih antocianov je temeljila na osnovi ujemanja masnih spektralnih lastnosti s podatki iz literature ter na osnovi ujemanja z retencijskimi časi komercialno dostopnih standardov. Z analizo HPLC-UV/VIS smo pri 520 nm identificirali vseh pet antocianov, ki so prisotni v grozdju sorte 'Modri pinot': delfinidin 3-glukozid (Del 3-Glu), cianidin 3-glukozid (Cy 3-Glu), petunidin 3-glukozid (Pet 3-Glu), peonidin 3-glukozid (Peo 3-Glu) ter malvidin 3-glukozid (Mal 3-Glu). Vsebnost posameznih antocianov smo določili z integriranjem površin dobljenih kromatografskih pikov. Antociane smo izrazili kot ekvivalente malvidin 3-glukozida (Košir in sod., 2004; Trošt in sod., 2010). Skupne (monomerne) antociane pa smo izračunali kot vsoto koncentracij posameznih monomernih antocianov oz. njihovih glukozidnih oblik.

Tabela 2: HPLC-UV/VIS analitski pogoji za identifikacijo in kvantifikacijo antocianov

Inštrument	Waters sistem z binarno črpalko (510), avtomatskim podajalnikom vzorcev (717+) ter z UV/VIS detektorjem (2487)
Kolona	Waters Atlantis C18 (150 x 3,9 mm, 3 μ m)
Pretok	0,5 mL/min
Volumen injiciranja	20 μ L
Detekcija	UV/VIS (pri valovni dolžini 520 nm)
Mobilni fazi	A = CH ₃ CN/H ₂ O; 10:90 (v:v) + 0,2 vol.% trifloroacetne kisline B = CH ₃ CN/H ₂ O; 50:50 (v:v) + 0,2 vol.% trifloroacetne kisline CH ₃ CN = acetonitril
Gradientna ločba	0 min (10% B), 20 min (25% B), 40 min (55% B) in 41 min (90% B)



Slika 8: Primer HPLC-UV/VIS kromatograma v vzorcih vina Modri pinot pri 520 nm z identifikacijo petih prisotnih antocianov (rdeče označeno: v času hladne maceracije, črno označeno: po alkoholni fermentaciji)

3.2.2 SPREMLJANJE KLIMATSKIH POGOJEV

Makroklimatske in mezoklimatske pogoje v času poskusa smo spremljali s pomočjo meteorološke postaje, postavljeno v obravnavanem vinogradu (IMT 300, iMetos) .

Med mikroklimatskimi pogoji smo preverili temperaturo na površini grozdne jagode v odvisnosti od različnih obravnavanj in sicer s pomočjo infrardečega termometra (Volcraft IR-360).

3.2.3 VINIFIKACIJA

Da bi preverili kako se v vinogradu pridobljeni rezultati (razlike v koncentraciji antocianov) ohranijo tudi v vinih, smo grozdje ločeno pobrali in ga vinificirali po klasičnem postopku za sorto 'Modri pinot' - z 2-dnevno hladno maceracijo, ki ji je sledila inducirana fermentacija (kvasovka Premier Cru) z maceracijo (10 dni) pod izenačimi pogoji (vsebnost SO₂, hranila, temperatura, mešanje). Fermentacije so potekale v 25L nerjavečih posodah in sicer v treh paralelkah. Za ovrednotenje ekstrakcije monomernih antocianov med vinifikacijo smo mošt v vrenju vzorčili vsaka dva dni in ob zaključku alkoholne fermentacije.

3.2.4 DOLOČANJE VINOGRADNIŠKIH PARAMETROV

Vzorci grozdnih jagod, nabranih med dozorevanjem, smo stehali (KERN-440-47N) in določili maso 100. jagod. Ob trgatvi smo za vsako obravnavanje posebej prešteli in stehali grozde ter izračunali maso pridelka na trto.

Zbitost grozdja smo ovrednotili s pomočjo izračunanega razmerja med maso grozda in dolžino grozda. Med ločeno pobranim, označenim grozdom smo tako ob trgatvi naključno odbrali 50 grozdov vsakega obravnavanja. Posamezne grozde smo stehali (KERN-440-47N) in izmerili njihovo dolžino. S pomočjo teh podatkov smo izračunali indeks zbitosti grozdja IZ (masa grozda/dolžina grozda) (Sternad Lemut in sod., 2011b).

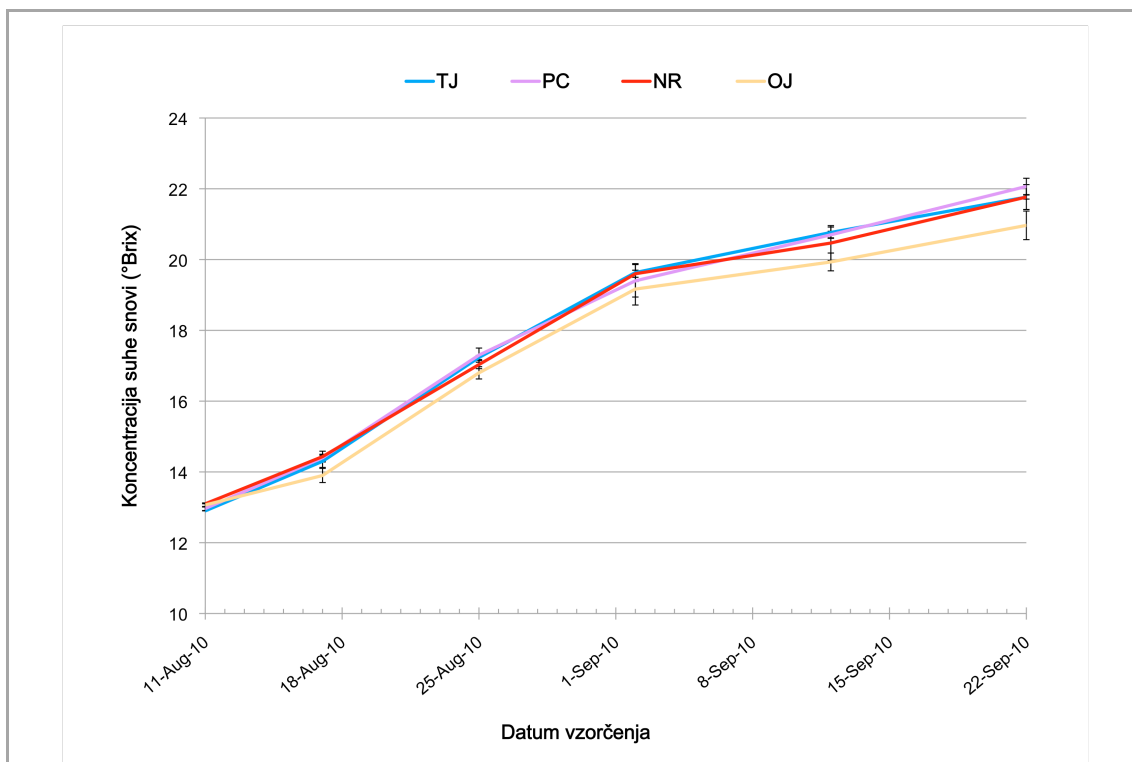
3.3 Obdelava podatkov

Rezultatom, pridobljenim s pomočjo treh bioloških paralelk (in dveh tehničnih paralelk) smo določili povprečne vrednosti in standardne odklone meritev, v nekaterih primerih smo uporabili tudi 95% interval zaupanja. Za obdelavo podatkov in prikaz rezultatov smo uporabljali programsko opremo Microsoft Excel, 2007.

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

4.1 Kakovostni parametri pridelka

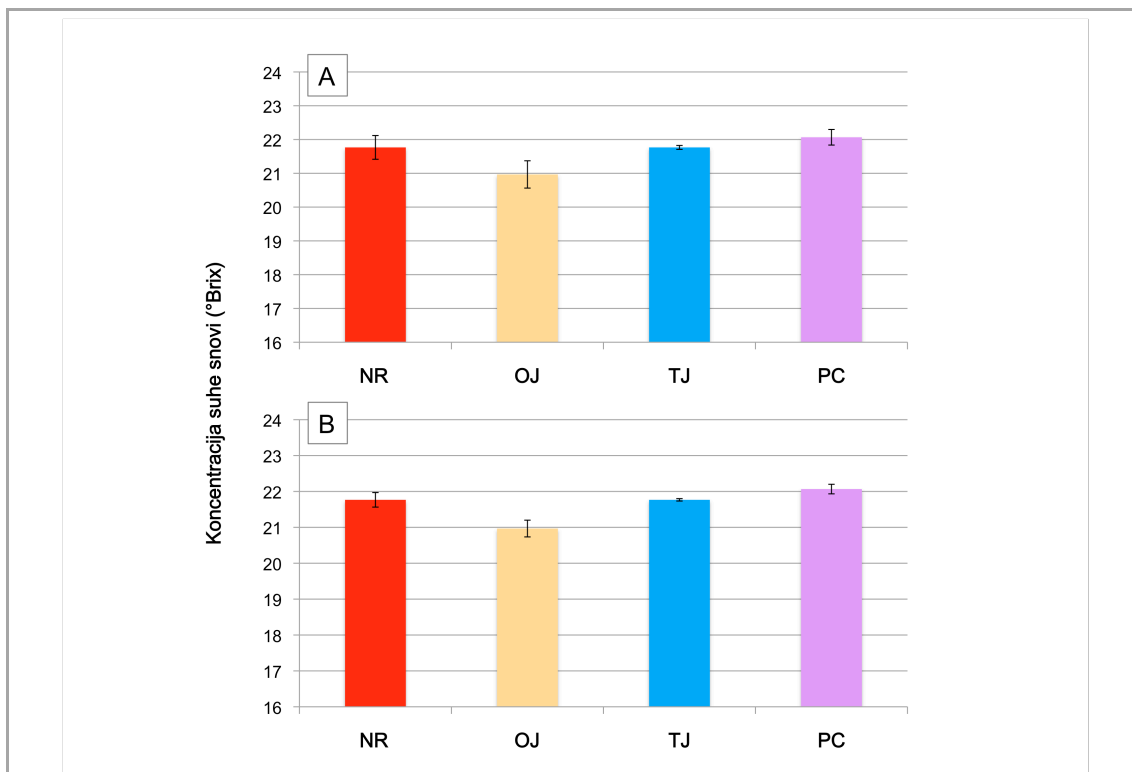
4.1.1 VSEBNOST SUHE SNOVI V GROZDJU MED DOZOREVANJEM IN OB TRGATVI



Slika 9: *Dinamika nalaganja sladkorja (povprečne koncentracije suhe snovi) v vzorcih grozdja v odvisnosti od časa odstranjevanja listov: PC (pred cvetenjem), TJ (po oploditvi), OJ (začetek dozorevanja) in NR (nerazlistane trte). Na sliki je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih bioloških paralelek enako obravnavanih vzorcev.*

Med dozorevanjem, kljub nekaterim navedbam v literaturi in ugotovitvam na primeru sorodne sorte 'Sivi pinot' iz istega vinograda (Sternad Lemut in sod., 2011c), v našem poskusu pri sorti 'Modri pinot' nismo zaznali bistvenih razlik v dinamiki nalaganja sladkorja med dozorevanjem v odvisnosti od časa odstranjevanja listov v območju grozdja. Pri vseh obravnavanjih je koncentracija suhe snovi med dozorevanjem enakomerno naraščala in se po začetku septembra nekoliko umirila.

Določene manjše razlike pa so se nakazale v času proti trgatvi. Zato smo posebej obdelali rezultate vzorcev ob trgatvi, ki je hkrati tehnološko najpomembnejša točka za oceno kakovosti grozdja.

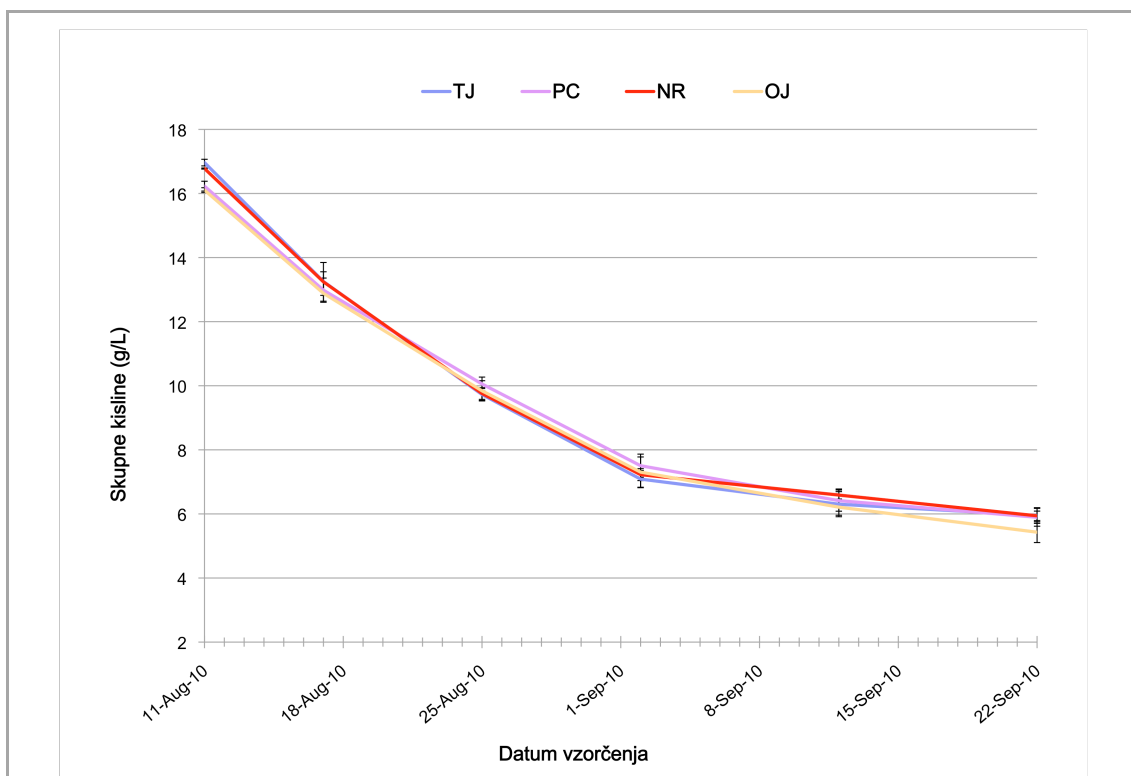


Slika 10: Povprečna koncentracija sladkorja (suhe snovi) ob trgatvi v odvisnosti od časa odstranjevanja listov: PC (pred cvetenjem), TJ (po oploditvi), OJ (začetek dozorevanja) in NR (nerazlistane trte). Na sliki A je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih bioloških paralelek enako obravnavanih vzorcev; na sliki B je označen 95% interval zaupanja meritev znotraj posameznih bioloških paralelek enako obravnavanih vzorcev.

Ob trgatvi je bila najmanjša povprečna koncentracija suhe snovi določena pri obravnavanju OJ (20,97 °Brix), največja pa pri obravnavanju PC (22,07 °Brix). Pri obravnavanju PC je bil sicer na relativni osnovi nakazan pozitiven trend povečanja koncentracije sladkorja v primerjavi s TJ in kontrolo (NR), vendar ob upoštevanju standardnih odklonov ni bilo moč potrditi razlik med obravnavanji PC, TJ in NR (Slika 10A). Tudi ob izračunu intervala zaupanja (95%) smo lahko sklepali le na pozitivnejši trend PC v primerjavi s TJ, ne pa tudi njuno odstopanje od kontrole (Slika 10B). Tako smo lahko ob trgatvi v bistvu zaznali le nekoliko manjšo vsebnost sladkorja v primeru poznega odstranjevanja listov v območju grozdja (OJ) in sicer najverjetneje zaradi

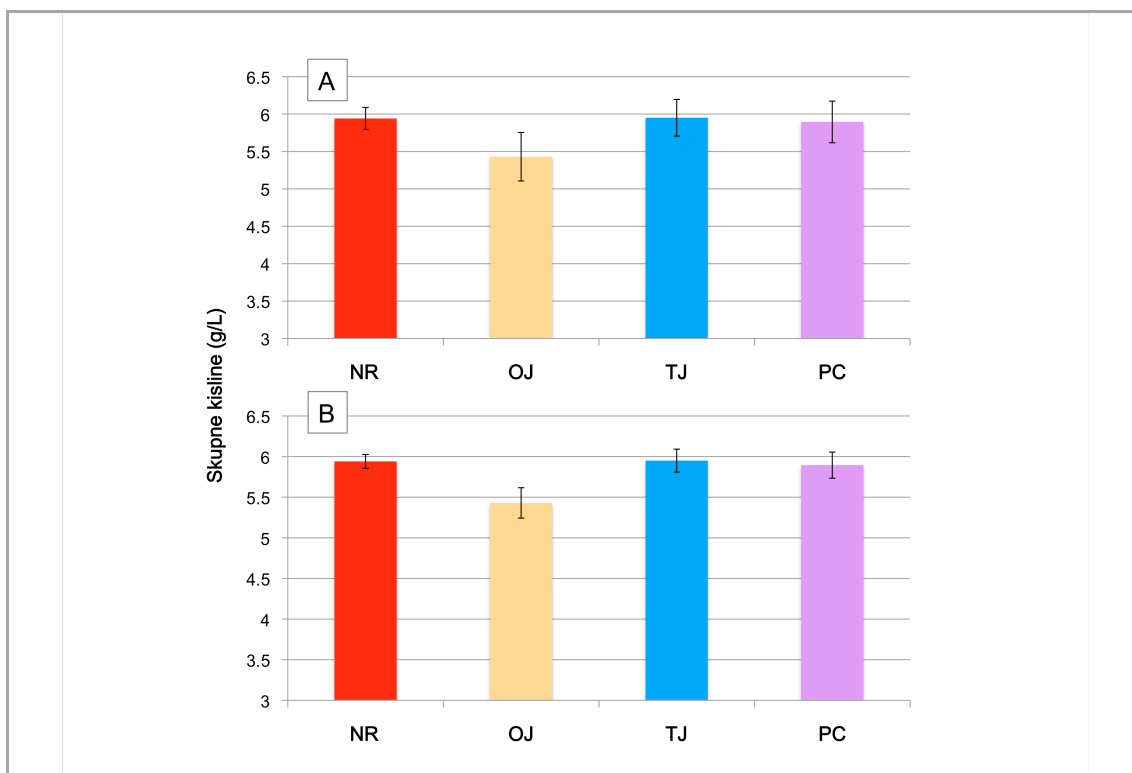
vpliva na fotosintetsko aktivnost (na račun odstranitve določene listne površine) v času, ko je le-ta zelo intenzivna.

4.1.2 VSEBNOST TITRACIJSKIH KISLIN V GROZDJU MED DOZOREVANJEM IN OB TRGATVI



Slika 11: Dinamika spreminjanja povprečne koncentracije skupnih titracijskih kislin v vzorcih grozdja med dozorevanjem v odvisnosti od časa odstranjevanja listov: PC (pred cvetenjem), TJ (po oploditvi), OJ (začetek dozorevanja) in NR (nerazlistane trte). Na sliki je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih bioloških paralelek enako obravnavanih vzorcev.

Po pričakovanjih in v skladu s tipičnimi krivuljami dozorevanja grozdja, so vsebnosti titracijskih kislin v grozdju med dozorevanjem padale. Podobno kot v primeru opazovanja suhe snovi pa med dozorevanjem nismo zaznali bistvenih razlik med obravnavanji tudi pri opazovanju vsebnosti skupnih titracijskih kislin. Proti koncu dozorevanja je bilo opaziti le trend povečanega padanja titracijskih kislin pri obravnavanju OJ v primerjavi z ostalimi obravnavanji (Slika 11). Podobno (rezultati niso prikazani) smo opazili pri spremljanju pH vrednosti v soku vzorcev. Padanje koncentracij titracijskih kislin v soku grozdja je povzročilo zvišanje vrednosti pH.

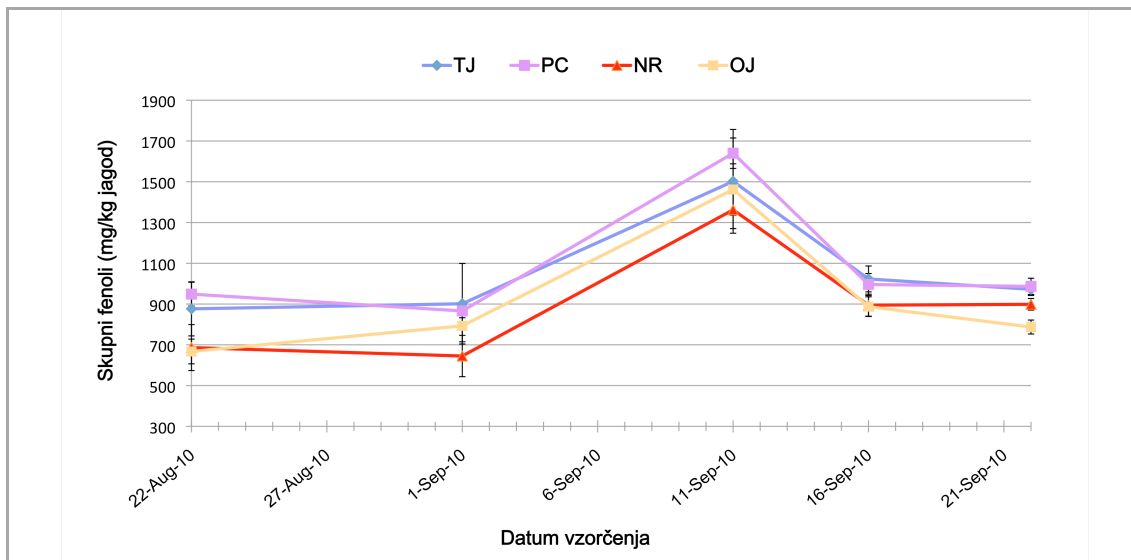


Slika 12: *Povprečna koncentracija skupnih titracijskih kislin v vzorcih grozdja ob trgatvi v odvisnosti od časa odstranjevanja listov: PC (pred cvetenjem), TJ (po oploditvi), OJ (začetek dozorevanja) in NR (nerazlistane trte). Na sliki A je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev; na sliki B je označen 95% interval zaupanja meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev.*

Ob trgatvi je bila povprečna vsebnost titracijskih kislin najmanjša pri obravnavanju OJ (5,4 g/L), največjo vrednost pa smo določili pri obravnavanju TJ (6,0 g/L). Ostali dve obravnavanji (NR in PC) sta ob trgatvi v povprečju obe dosegli 5,9 g/L titracijskih kislin (Slika 12). Izračunani standardni odkloni (Slika 12A) oziroma izračunani intervali zaupanja s stopnjo 95% (Slika 12B) pa so nam pokazali, da lahko ob trgatvi potrdimo le manjšo vsebnost titracijskih kislin pri OJ obravnavanju v primerjavi z drugimi obravnavanji.

Na splošno torej odstranjevanje listov v območju grozdja v različnem času tekom dozorevanja grozdja ni povzročilo bistvenih (večjih) razlik v osnovnih kemijskih parametrih obravnavanega grozdja (sladkor, kisline, pH) z izjemo nekoliko manjše vsebnosti kislin in sladkorjev ob trgatvi pri obravnavanju OJ.

4.1.3 VSEBNOST SKUPNIH FENOLOV V GROZDJU MED DOZOREVANJEM IN OB TRGATVI

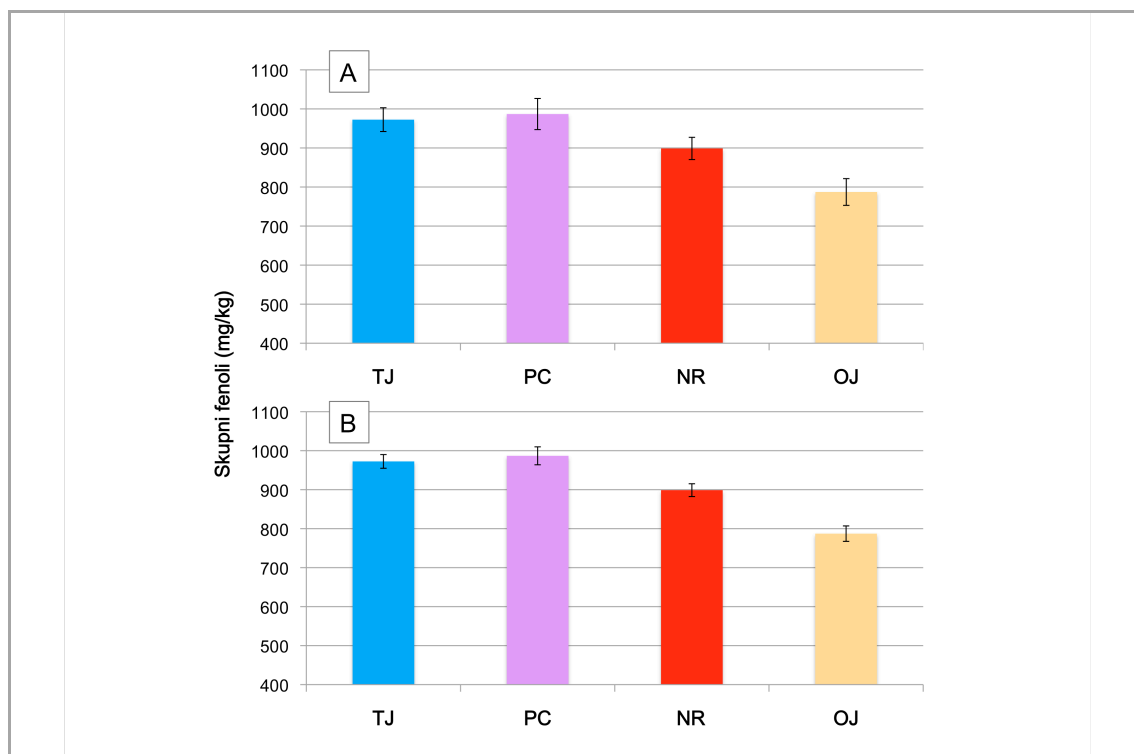


Slika 13: Dinamika spreminjanja povprečnih koncentracij skupnih fenolov v vzorcih grozdja med dozorevanjem v odvisnosti od časa odstranjevanja: PC (pred cvetenjem), TJ (po oploditvi), OJ (začetek dozorevanja) in NR (nerazlistane trte). Na sliki je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih bioloških paralelek enako obravnavanih vzorcev

Iz grafa (Slika 13) je razvidna dinamika nalaganja skupnih fenolov v obravnavanem grozdlju med dozorevanjem. Tekom celotnega opazovanja se je obdržal trend večjih koncentracij skupnih fenolov pri zgodnejših obravnavanjih (PC in TJ) v primerjavi s pozno izvedbo odstranjevanja listov OJ in kontrolo. Biosinteza fenolnih snovi je bila najintenzivnejša v začetku septembra (med 1.9. in 10. 9.), kasneje je v skladu z nekaterimi poročanji (Anderson in sod. 2008, Kennedy, 2000) prišlo do upadanja fenolnih snovi v času pred trgatvijo, ko vinogradnik še čaka na razvoj aromatskih snovi v grozdlju. Padanje koncentracije skupnih fenolov je bilo izrazitejše (oziroma opazno vse do trgatve) pri obravnavanju OJ. Verjetno je to posledica večje izpostavljenosti grozdnih jagod visokim temperaturam v zadnjih fazah dozorevanja, saj zaradi poznejšega razlivanja ni bilo časa za ponovno zaraščeno listne stene z lateralnimi listi, ki bi zasenčili in zaščitili grozdlje pred inhibitornim vplivom višje temperature na tvorbo nekaterih fenolnih snovi, med drugim tudi antocianov (Poni in sod., 2006).

Hkrati pa so bile grozdne jagode obravnavanja OJ večje/težje v primerjavi z drugimi obravnavanji (Slika 21), kar verjetno lahko pomeni, da je po olesenitvi pecljev (in s tem

prekinitve kroženja vode in drugih snovi preko rastlinskega transportnega sistema) kasneje prišlo do koncentriranja sestavin grozdja na račun izhlapevanja vode iz grozdnih jagod.

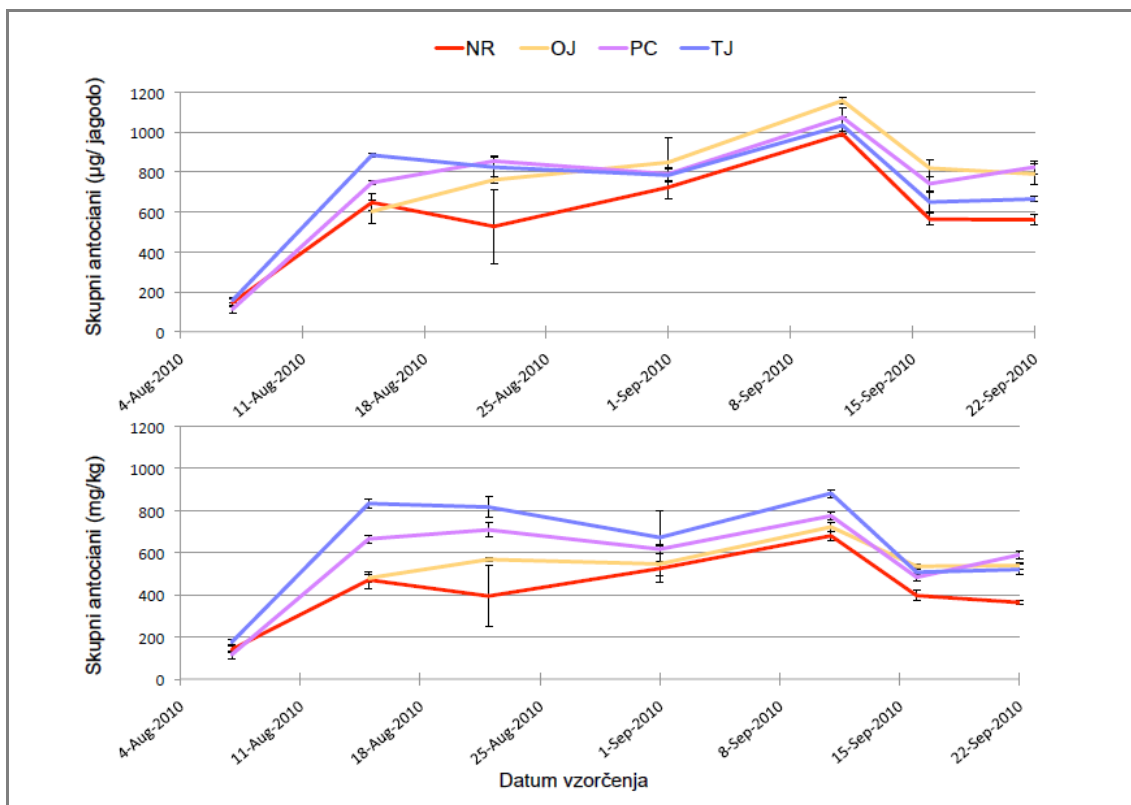


Slika 14: *Povprečna koncentracija skupnih fenolov v vzorcih grozdja ob trgatvi v odvisnosti od časa odstranjevanja listov: PC (pred cvetenjem), TJ (po oploditvi), OJ (začetek dozorevanja) in NR (nerazlistane trte). Na sliki A je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev; na sliki B je označen 95% interval zaupanja meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev.*

Ob trgatvi je bila vsebnost skupnih fenolov najmanjša pri obravnavanju OJ (787,3 mg/kg), sledila je kontrola (898,8 mg/kg), obravnavanji zgodnjega odstranjevanja listov TJ (972,5 mg/kg) in PC (986,9 mg/kg) pa sta kazali podobne rezultate, v obeh primerih obetavnejše v primerjavi s pozno izvedbo odstranjevanja listov (OJ) in nerazlistanimi trtami.

4.1.4 POJAVNOST ANTOCIANOV V GROZDJU MED DOZOREVANJEM IN OB TRGATVI

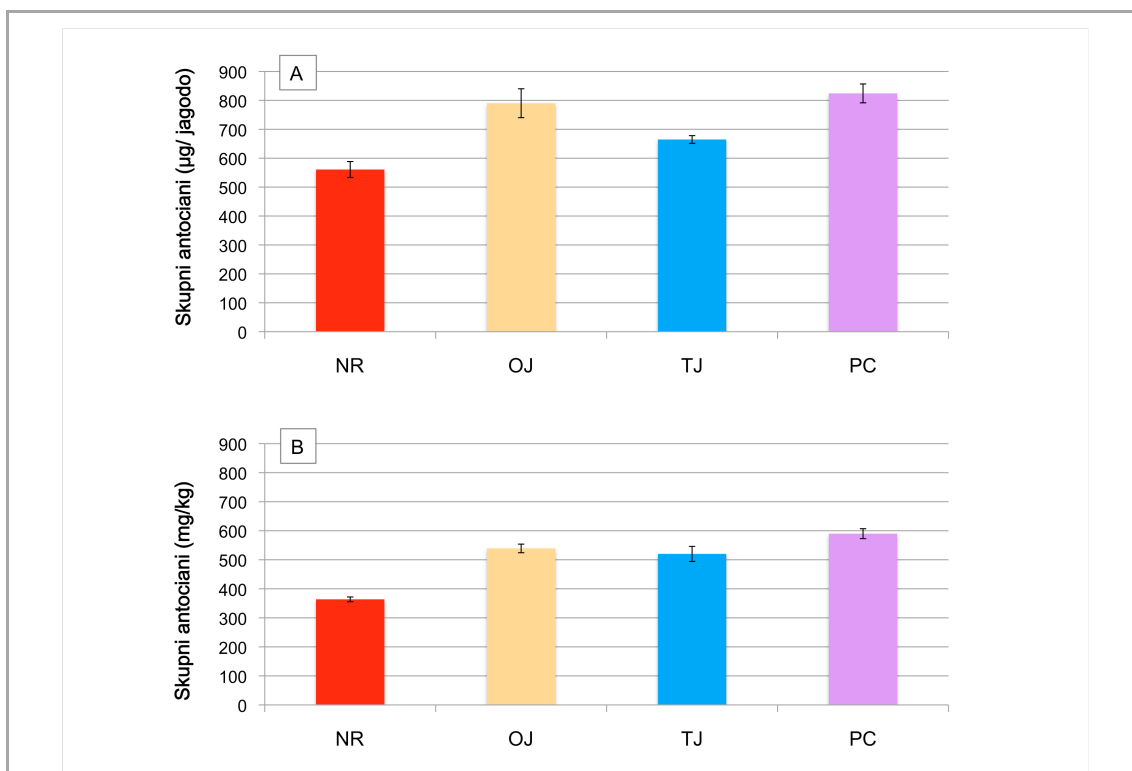
4.1.4.1 Kvantitativni profili antocianov



Slika 15: Dinamika spreminjanja povprečnih koncentracij skupnih antocianov (zgoraj v $\mu\text{g/jagodo}$; spodaj v mg/kg jagod) v vzorcih grozdja med dozorevanjem v odvisnosti od časa odstranjevanja listov: PC (pred cvetenjem), TJ (po oploditvi), OJ (začetek dozorevanja) in NR (nerazlistane trte). Na sliki je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih bioloških paralelek enako obravnavanih vzorcev.

Dinamika pojavnosti skupnih antocianov (SA) je razvidna na sliki 15. Do prvih dni avgusta so bile vsebnosti SA pod mejo detekcije. Sledilo je obdobje hitrega naraščanja v skladu z znanim biosintetskim obnašanjem vinske trte (fenofaza začetek dozorevanja), vendar smo antociane analitsko zaznali pred vidnim obarvanjem grozdnih jagod. Pri vseh obravnavanjih je nato sledil trend počasnega naraščanja (oziroma občasnega stagniranja) pojavnosti SA v grozdnih jagodah, največje vrednosti (vrh) pa smo določili v času okoli 11. septembra. Sledil je upad koncentracije SA, podobno kot smo to opazili že pri sledenju dinamike skupnih fenolnih snovi (Slika 13). Ker smo pri opazovanju mase jagod (poglavje 4.2.2) zaznali večje vrednosti v primeru OJ obravnave, nas je

zanimalo ali so razlike v SA med obravnavanji nastale na račun spremenjene mase (posledično velikosti) jagod ali na račun spremenjene biosinteze zaradi načrtne manipulacije z mikroklimo grma vinske trte. Zato smo preračunali rezultate na dva načina: koncentracijo SA na posamezno jagodo in na kilogram jagod. Zlasti v primeru obravnavanja OJ se je trend pojavnosti antocianov ob tem opazno spremenil. Čeprav smo v točki največjih vsebnosti (vrh) zaznali največje koncentracije SA v jagodi OJ obravnavanja, je bila slika pri preračunu na kilogram jagod drugačna. Ker so antociani praviloma manj odvisni od izpostavljenosti svetlobi kot npr. flavonoli - koncentracija slednjih se pri sorti 'Modri pinot' po poročanjih lahko bistveno spremeni na račun uspešnega mainipuliranja z mikroklimo (Sternad Lemut in sod., 2011a) - smo v našem poskusu po predvidevanjih dosegli določene razlike bolj na račun spremembe v velikosti jagod. Kot poročajo Haselgrove in sod., (2000), je v primeru zelo zasenčenih trt zelo verjetno, da je svetloba limitirajoči faktor za biosintezo antocianov, v primeru, da grozdne jagode prejmejo dovolj svetlobe, pa lahko postane limitirajoči faktor temperatura. V primeru zaprte listne stene (nerazlistane trte obravnavanja NR) so tako tudi v našem poskusu jagode prejele premalo svetlobe, zato je bila pojavnost antocianov tu (ne glede na velikost jagod) najmanjša. V primeru obravnav, kjer smo odstranili liste in smo s tem jagodam omogočili dovolj svetlobe, potrebne za biosintezo, pa je poleg velikosti jagod določeno vlogo verjetno odigrala tudi temperatura na površini grozdnih jagod, ki je bila pri različnih obravnavanjih zaradi različne stopnje zasenčenosti različna (Sliki 17 in 18).



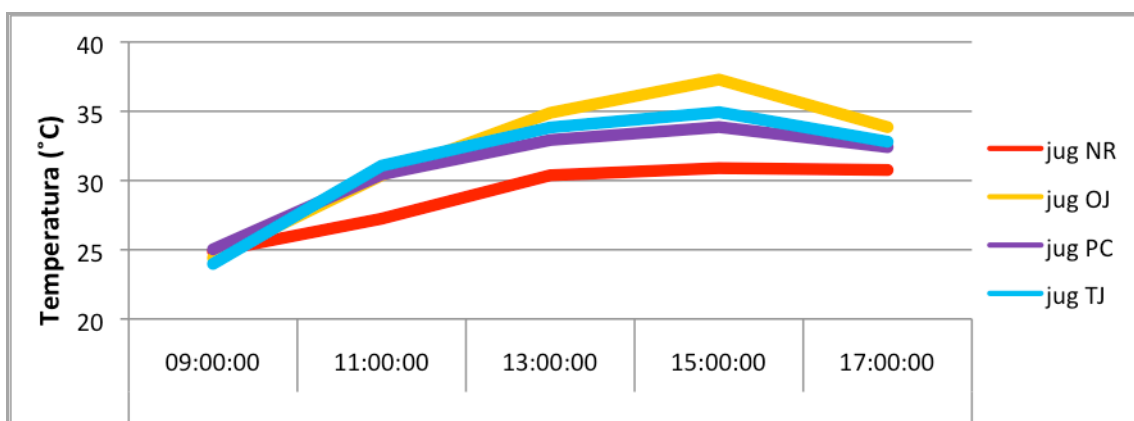
Slika 16: Povprečne koncentracije skupnih antocianov (A - v µg/jagodo; B - v mg/kg grozdja) v vzorcih grozdja ob trgatvi v odvisnosti od časa odstranjevanja listov: PC (pred cvetenjem), TJ (po oploditvi), OJ (začetek dozorevanja) in NR (nerazlistane trte). Na sliki je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih bioloških paralelek enako obravnavanih vzorcev.

Ob trgatvi so vsa tri obravnavanja z odstranjenimi listi dosegla opazno večje vsebnosti skupnih antocianov v primerjavi z nerazlistanimi trtami. Pri opazovanju koncentracij SA, preračunanih na posamezno jagodo, so bili doseženi rezultati največji pri obravnavanjih PC (824,2 µg/jagodo) in OJ (790,2 µg/jagodo), sledil je TJ (664,7 µg/jagodo). Ko smo rezultate preračunali na kilogram jagod (Slika 16 B) so bile razlike med razlistanimi obravnavanji manjše, pri obravnavanju OJ verjetno spet predvsem na račun velikosti jagod, medtem ko se zlasti pri obravnavanju PC da sklepati tudi na določene spremembe v biosintezi. Slednje bi bilo potrebno preveriti tekom opazovanja večih letnikov in v večih vinogradih ob vzporednem natančnem spremljanju mikroklimatskih pogojev v grmu vinske trte.

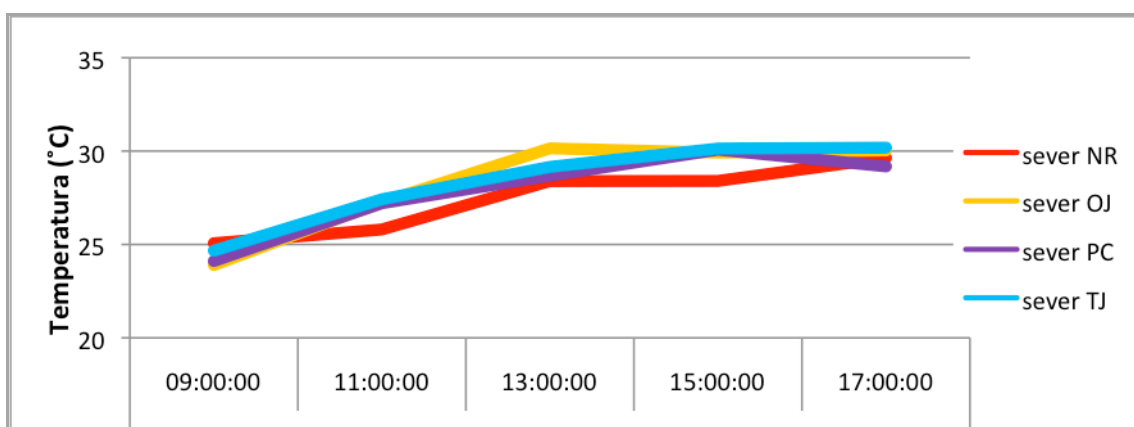
4.1.4.1.1 Spremljanje temperature na površini grozdne jagode

V času intenzivne biosinteze antocianov smo v sončnem dnevu spremljali temperaturo na površini grozdnih jagod različnih obravnavanj. Iz grafa (Slika 17) je razvidno, da so pri obravnavanju OJ na južni strani trt temperature v povprečju presegale kritično

temperaturo (35°C) za biosintezo antocianov večji del popoldneva (od 13h - do 16h). Sinteza antocianov je bila tako verjetno v tem času inhibirana, kljub temu, da je bilo na razpolago dovolj svetlobe. Pri obravnavanjih PC in TJ je bila v povprečju izmerjena nižja temperatura, saj je zgodnejše odstranjevanje listov omogočilo ponovno zaraščanje z lateralnimi listi in delno zasenčenje grozdja. Po pričakovanju so bile razlike med obravnavanji izrazitejše na južni strani kot na severni.



Slika 17: Dinamika spreminjanja povprečnih temperatur na površini jagod v odvisnosti od časa odstranjevanja listov: PC (pred cvetenjem), TJ (po oploditvi), OJ (začetek dozorevanja) in NR (nerazlistane trte), dne 10. avgusta, južna stran.



Slika 18: Dinamika spreminjanja povprečnih temperatur na površini jagod v odvisnosti časa odstranjevanja listov: PC (pred cvetenjem), TJ (po oploditvi), OJ (začetek dozorevanja) in NR (nerazlistane trte), dne 10. avgusta, severna stran.

4.1.4.2 Kvalitativni profili antocianov

Poleg dinamike pojavnosti skupnih antocianov smo preverili še morebitne razlike v kvalitativnem profilu antocianov v grozdju ob trgatvi. Na sliki št. 19 je razvidno, da se z različnimi mikroklimatskimi razmerami niso spremenile samo skupne vrednosti antocianov, ampak tudi razmerja med opazovanimi posameznimi monomernimi antociani, prisotnimi pri sorti 'Modri pinot'. To je v skladu z opazovanji Tarare s sod. (2008), ki so na primeru sorte 'Merlot' že poročali o spremenjenih kvalitativnih profilih antocianov na račun izpostavljenosti grozdnih jagod različnim pogojem glede osvetljenosti in temperature.

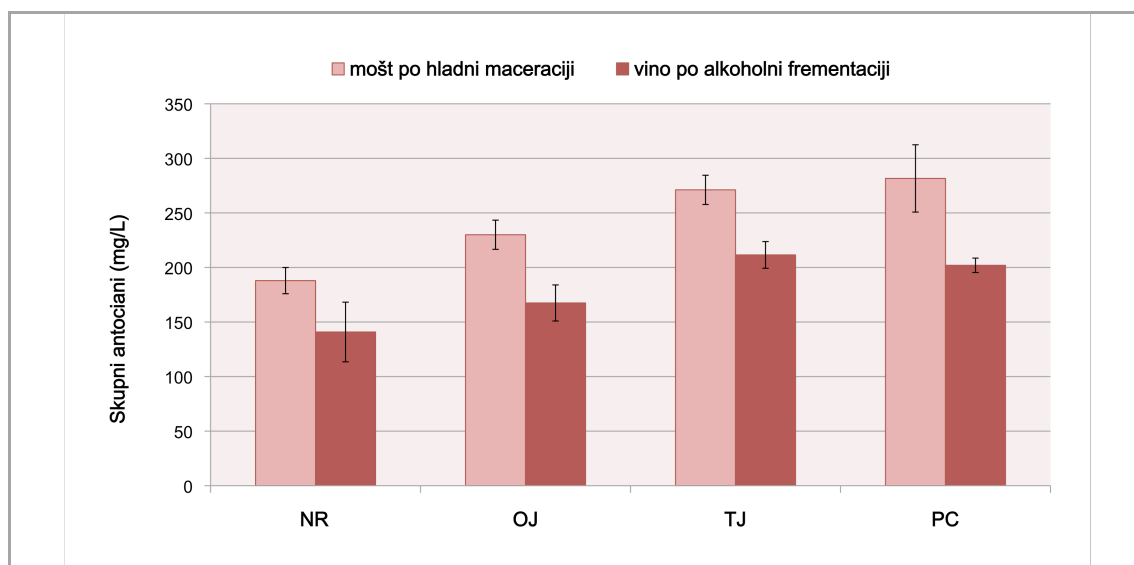


Slika 19: Povprečne koncentracije posameznih monomernih antocianov v grozdju ob trgatvi v odvisnosti od časa odstranjevanja listov: PC (pred cvetenjem), TJ (po oploditvi), OJ (začetek dozorevanja) in NR (nerazlistane trte). Na sliki je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev. Del = delfinidin; Cy = cianidin; Pet = petunidin; Peo = peonidin; Mal = malvidin; Glu = glukozid.

4.1.5 SKUPNI ANTOCIANI V MOŠTU IN VINU

Da bi preverili ali se razlike v vsebnosti antocianov, ki smo jih opazili v grozdju različnih obravnavanj ob trgatvi, kažejo tudi v vinih obravnavanega grozdja, smo

izvedli vinifikacijo ločeno pobranih grozdov in preverili koncentracije skupnih (monomernih) antocianov v moštu po hladni maceraciji in v vinu po alkoholni fermentaciji. Iz grafa (Slika 20) je razvidno, da so tako pri moštih kot tudi pri vinih koncentracije skupnih monomernih antocianov večje v primeru zgodnejšega odstranjevanja listov (PC in TJ) kot v primeru poznega razlistanja (OJ) in nerazlistane kontrole. Največjo povprečno koncentracijo antocianov v moštu smo določili pri obravnavanju PC (281,6 mg/L), sledi obravnavanje TJ s podobnimi vrednostmi (271,1 mg/L), nato obravnavanje OJ z opazno manjšo vsebnostjo (229,9 mg/L) ter kontrola (187,9 mg/L). V vinu je bila največja povprečna koncentracija monomernih antocianov izmerjena pri obravnavanju TJ (211,5 mg/L), sledilo je obravnavanje PC (201,9 mg/L), manjše vrednosti pa smo določili pri obravnavanjih OJ (167,5 mg/L) in NR (140,9 mg/L). Zmanjšanje koncentracije monomernih antocianov v vinu glede na mošt je posledica kopigmentacijskih in polimerizacijskih reakcij (Kennedy in sod., 2006).



Slika 20: Povprečne koncentracije skupnih monomernih antocianov v moštu in vinu v odvisnosti od časa odstranjevanja listov: PC (pred cvetenjem), TJ (po oploditvi), OJ (začetek dozorevanja) in NR (nerazlistane trte). Na sliki je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev.

4.2 Količinski parametri pridelka

4.2.1 OSNOVNI KOLIČINSKI PARAMETRI PRIDELKA

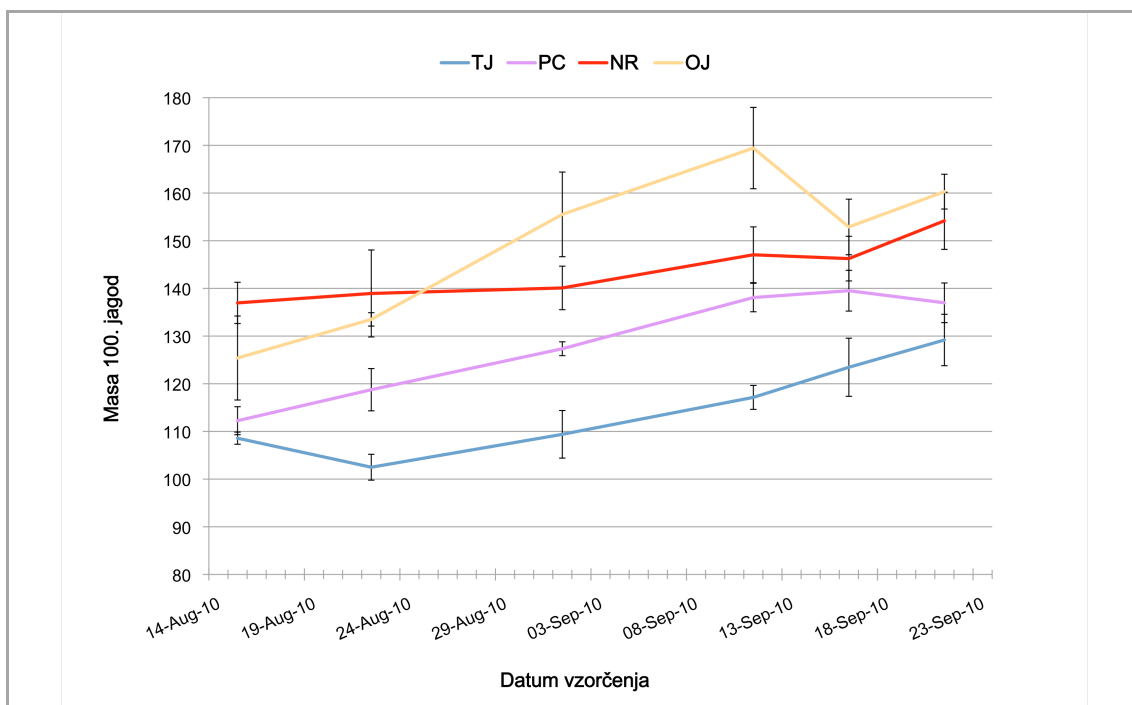
Osnovni količinski parametri pridelka so razvidni iz tabele št. 3.

Tabela 3: Osnovni količinski parametri pridelka po obravnavanjih: PC (pred cvetenjem), TJ (po oploditvi) OJ (začetek dozorevanja) in NR (nerazlistane trte).

	Število grozdov na trto	Masa pridelka na trto (kg/trto)	Masa grozda (g)
PC	11,1±1,2	1,02±0,22	92,1±20,3
TJ	11,1±1,3	1,29±0,15	117±12,9
OJ	12,1±1,5	1,43±0,24	119±14,8
NR	11,1±1,2	1,45±0,17	123±12,1

Podatki kažejo, da se je v primeru odstranjevanja listov pred cvetenjem (PC) bistveno zmanjšala masa pridelka, kot tudi povprečna masa grozda v primerjavi s kontrolo (NR). Nižji pridelek lahko predstavlja moteč stranski pojav za nekatere pridelovalce grozdja. Lahko pa je pozitiven, kadar želimo večjo kakovost grozdja ob vzdrževanju nižjega pridelka, saj lahko eliminira potrebo po kasnejšem redčenju grozdja in tako zmanjša čas in stroške dela.

4.2.2 MASA 100. JAGOD



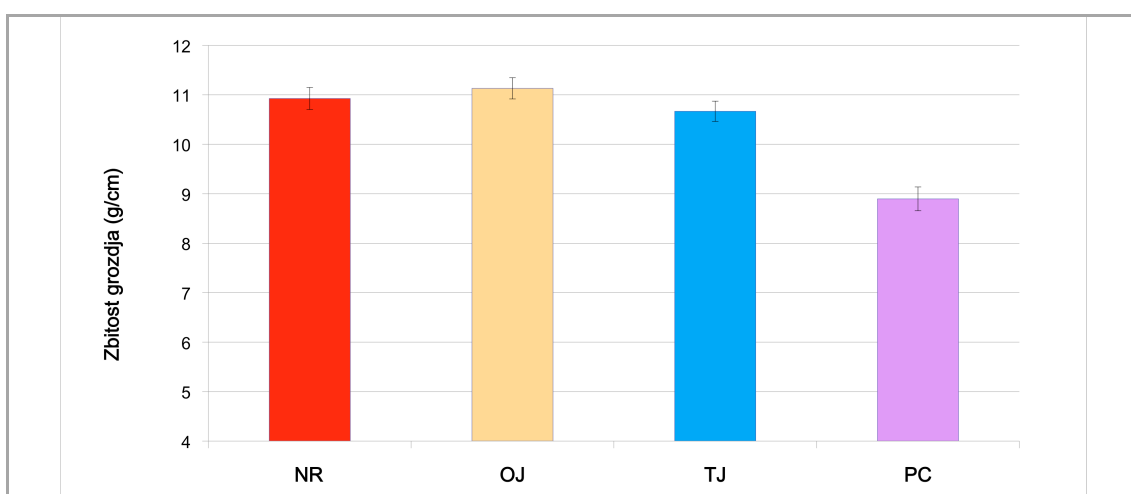
Slika 21: Dinamika spreminjanja povprečne mase 100. jagod v odvisnosti od časa odstranjevanja listov: PC (pred cvetenjem), TJ (po oploditvi), OJ (začetek dozorevanja) in NR (nerazlistane trte). Na sliki je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih bioloških paralelek enako obravnavanih vzorcev.

Razliko v masi 100. jagod znotraj posameznih obravnavanj je bilo možno opaziti že vizualno. Masa 100. jagod se je v primeru odstranjevanja listov v fazi začetka dozorevanja bistveno povečala in ostala večja v primerjavi z zgodnejšimi odstranjevanji listov tudi ob trgatvi. Podobno so v letniku 2009 že opazili in poročali Sternad Lemut in sod. (2011a). Ob začetku opazovanja (15.8.2010) je nakazovalo največjo povprečno maso 100. jagod obravnavanje NR (136,9 g), najmanjšo maso 100. jagod pa je imelo obravnavanje TJ (108,6 g). Z izjemo obravnavanja OJ, so se razlike/razmerja v masi 100. jagod pri ostalih obravnavanjih med dozorevanjem ohranila. Ob trgatvi sta imeli obravnavanji z zgodnjim odstranjevanjem listov manjšo maso jagod kot OJ in kontrola. Trend najmanjše mase 100. jagod je nakazovalo obravnavanje TJ.

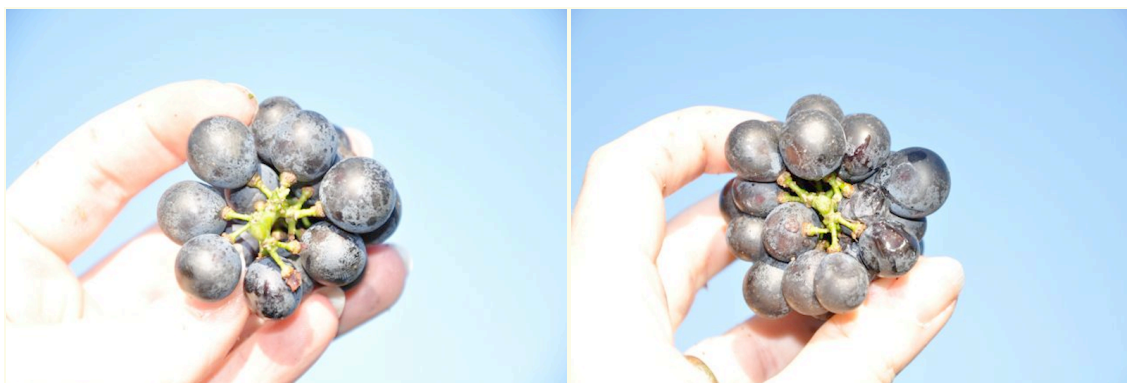
Masa jagod (in povezana velikost jagod) ima lahko velik vpliv na ekstrakcijo fenolnih snovi (vključno z antociani) v mošt med fermentacijo, saj se zaradi povečanih jagod spremeni razmerje med kožico jagod (kjer se nahajajo fenoli) in mesom jagode (oziroma količino grozdnega soka po stiskanju).

4.2.3 ZBITOST GROZDJA

Zbitost grozdja smo ovrednotili s pomočjo izračunanega razmerja med maso grozda in dolžino grozda in sicer tako, da smo izračunali indeks zbitosti grozdja IZ (masa grozda/dolžina grozda) (Sternad Lemut in sod., 2011b). Hkrati z manjšo povprečno maso grozdja pri obravnavanju PC smo ob izračunu 95% intervala zaupanja opazili tudi manjšo zbitost grozdja (manjši IZ) v primerjavi z drugimi obravnavami, kar je v skladu z ugotovitvami, ki jih je na nekaterih italijanskih sortah opisal Poni s sod. (2006). Manjša zbitost grozdov je pozitivna predvsem iz stališča manjšega tveganja za mikrobiološke okužbe grozdja.



Slika 22: Zbitost grozdja IZ (g/cm) v odvisnosti od časa odstranjevanja listov: PC (pred cvetenjem), TJ (po oploditvi), OJ (začetek dozorevanja) in NR (nerazlistane trte). Na sliki je označen 95% interval zaupanja meritev znotraj posameznih bioloških paralelek enako obravnavanih vzorcev.



Slika 23: Prečni prerez grozda ob trgatvi pri obravnavanju: levo PC (pred cvetenjem), desno NR (nerazlistano) (Foto: Melita Sternad Lemut, 2010).

5 ZAKLJUČKI

Odstranjevanje listov v (območju grozdja) vinske trte v času različnih fenoloških faz razvoja vinske trte je povzročilo določene spremembe v mikroklimi grma vinske trte, kar je nadalje povzročilo spremembe v kemijski sestavi obravnavanega grozdja in vplivalo na nekatere količinske parametre pridelka.

Odstranjevanje listov, ne glede na čas izvedbe, ni povzročilo bistvenih sprememb v opazovanih osnovnih kemijskih parametrov grozdja (sladkorna stopnja, skupne kisline, pH vrednost), z izjemo trendov zmanjšanja skupnih kislin in sladkorjev pri obravnavanju OJ ob trgatvi. Večje razlike med obravnavanji pa smo opazili ob določitvi vsebnosti skupnih fenolov in pri spremljanju pojavnosti antocianov med dozorevanjem kot tudi v njihovi vsebnosti v grozdju ob trgatvi ter v vinih.

Koncentracija skupnih fenolov v grozdju ob trgatvi je bila v primerjavi s kontrolo (nerazlistanimi trtami - NR) večja pri zgodnejšem odstranjevanju listov pred cvetenjem (PC) in v času tvorbe jagod – fenofaza po oploditvi (TJ), medtem ko je bila v primeru poznega razlistanja v času obarvanja jagod – fenofaza začetek dozorevanja (OJ) manjša kot pri kontroli.

Vsebnost skupnih antocianov v grozdni jagodi ob trgatvi je bila največja v primeru PC in OJ, sledilo je obravnavanje TJ, najmanjšo vsebnost skupnih antocianov pa je imela kontrola (NR).

Čas izvedbe odstranjevanja listov v območju grozdja ni vplival samo na kvantitativni profil antocianov v grozdju ob trgatvi temveč tudi na njihov kvalitativni profil, saj so se v odvisnosti od časa odstranjevanja listov spremenila razmerja med petimi v sorti 'Modri pinot' prisotnimi antociani oziroma njihovi glukozidiranimi oblikami.

Tako na vsebnosti antocianov v grozdju kot na njihovo ekstrakcijo v vino je vplivala tudi velikost jagod oziroma masa jagod. Ta je bila največja v primeru poznega odstranjevanja listov (OJ), sledila je kontrola (NR), najmanjše pa so bile jagode obravnavanj PC in TJ.

Pri količinskih parametrih pridelka je obravnavanje PC v primerjavi s kontrolo kazalo manjšo povprečno maso pridelka. Odstranjevanje listov je v primeru PC povzročilo tudi zmanjšanje zbitosti grozdja v primerjavi s preostalimi tremi obravnavanji.

Koncentracije monomernih antocianov v moštu po hladni maceraciji in v vinu po alkoholni fermentaciji so bile višje pri obravnavanjih zgodnejšega odstranjevanja listov kot pri odstranjevanju listov v času začetka dozorevanja jagod in pri kontroli.

Glede na dobljene rezultate je odstranjevanje listov v območju grozdja v fazi začetka dozorevanja jagod (OJ), kot se ga največkrat izvaja v Vipavski dolini, manj učinkovito kot zgodnejše odstranjevanje listov. Zlasti odstranjevanje listov pred cvetenjem predstavlja dober potencial v opazovanih geo-klimatskih pogojih in sicer ne samo iz vidika ugodnejše kemijske sestave grozdja in vina, ampak tudi z vidika manjšega tveganja mikrobioloških okužb na račun trenda manjše zbitosti grozdov. Zaradi manjšega pridelka v primeru razlistanja PC pa lahko tudi dodatno prihranimo stroške dela s kasnejšim redčenjem grozdja, potrebnim za doseganje višje kakovosti grozdja.

6 VIRI

Agencija Republike Slovenije za okolje. Podatki za nekatere postaje v obdobju 1991-2000. Pridobljeno dne 3.10.2011 s spletne strani:

http://www.arso.gov.si/vreme/napovedi%20in%20podatki/podneb_10_tabele.html.

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.

Anderson K., Findlay C., Fuentes S., Tyerman S. (2008). Viticulture, wine and climate change. *Garnaut Climate Change Review*, str. 1-22.

Bavaresco M., Gatti S., Pezzutto M., Fregoni M., Mattivi F. (2008). Effect of leaf removal on grape yield, berry composition, and stilbene concentration. *American Journal of Enology and Viticulture*, let. 59, št. 3, str. 292-298.

Bavčar D. (2006). Kletarjenje danes. Ljubljana, Kmečki glas, str. 286.

Boso S., Kassemeyer H.H. (2008). Different susceptibility of European grapevine cultivars for downy mildew. *Vitis*, let. 47, št. 1, str. 39-49.

Conde C., Silva P., Fontes N., Dias A.C.P., Tavares R.M., Sousa M.J., Agasse A., Delrot S., Gerós H. (2007). Biochemical changes throughout grape berry development and fruit and wine quality In: "Food". Global Science Books: Conde C., Silva P., Fontes N., Dias A.C.P. (Ur.). Global Science Books, str. 1-22.

Creasy G.L., Creasy L.L. (2009). Grapes (Crop production and Science in Horticulture series 16). Creasy G.L., Creasy L.L.(Ur.). MPG Books Group, str. 29-64.

Diago M.P., Vilanova M., Tardaguila J. (2010). Effects of timing of manual and mechanical early defoliation on the aroma of *Vitis vinifera* L. Tempranillo wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, let. 61, št. 3, str. 382-391.

Di Stefano R. in Guidoni S. 1989. The analysis of total polyphenols in musts and wines. *Vignevini*, št. 1-2, str. 47-52.

Crippen D. D. in Morrison J. C. (1986). The effects of sun exposure on the compositional development of Cabernet Sauvignon berries. *American Journal of Enology and Viticulture*, let. 37, št. 4, str. 235-242.

- Croteau R., Kutchan T.M., Lewis N.G. (2000). Natural Products (Secondary Metabolites). American Society of Plant Physiologists. In: *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. Buchanan B., Gruissem W., Jones R. (Ur.) ASPB, str. 1250-1318.
- Crozier A., Jaganath I.B., Clifford M.N. (2006). Phenols, polyphenols and tannins. In: *Plant secondary metabolites: occurrence, structure and role in the human diet*. Crozier A., Clifford M.N., Ashihara H. (Ur.). Blackwell Publishing Ltd, str. 2-18.
- Dokoozlian N.K., Kliewer W.M. (1996). Influence of light on grape berry growth and composition varies during fruit development. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, let.121, št. 5, str. 869-874.
- Gould K.S., Lister C. (2006). Flavonoid functions in plants. In: *Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications*. Andresen M., Markham K.R. (Ur.). CRC Taylor & Francis: Boca Raton, str. 397-441.
- Haselgrove L., Botting D., Van Heeswijck R., Hoj P.B., Dry C., Ford C., Iland P.G. (2000). Canopy microclimate and berry composition: the effect of bunch exposure on the phenolic composition of *Vitis vinifera* L. Cv. Shiraz grape berries. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, št. 1, str. 6141-149.
- Hillebrand W., Lott H., Pfaf F. (1998). Taschenbuch der Rebsorten. Fachverlag fraund, Mainz, str. 85-144.
- Hrček L., Korošec - Koruza Z. (1996). Sorte in podlage vinske trte. Ilustrirani prikaz trsnega izbora za Slovenijo. Ptuj, Slovenska vinska akademija Veritas, str. 191.
- Intrieri C., Filippetti G., Allegro M., Centinari M., Poni S. (2008). Early defoliation (hand vs. mechanical) for improved crop control and grape composition in Sangiovese (*Vitis vinifera* L.). *Australian Journal of Grape and Wine Research*, št. 14, str. 25-32.
- IPGRI, UPOV, OIV. (1997). Descriptors for Grapevine (*Vitis* spp.). International Union for the Protection of New Varieties of Plants, Geneva; Office International de la Vigne et du Vin, Paris; International Plant Genetic Resources Institute, Rome.
- Iriti M., Faoro F. (2006). Grape phytochemicals: a bouquet of old and new nutraceuticals for human health. *Medical Hypotheses*, št. 67, str. 833-838.

- Jackson D. I., Lombard P. B. (1993). Environmental and management practices affecting grape composition and wine quality. *American Journal of Enology and Viticulture*, let. 44, št. 4, str. 409-430.
- Jeandet P., Douill-Breuil A.C., Bessis R., Debord S., Sbaghi M., Adrian M. (2002). Phytoalexins from the vitaceae: biosynthesis, phytoalexin gene expression in transgenic plants, antifungal activity, and metabolism. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, let. 50, št. 10, str. 2731-2741.
- Kennedy J.A. Matthews M.A., Waterhouse A.L. (2000). Changes in grape seed polyphenols during fruit ripening. *Phytochemistry*, let. 55, št. 1, str. 77-85.
- Kennedy J.A., Saucier C., Glories Y. (2006). Grape and wine phenolics: History and perspective. *American Journal of Enology and Viticulture*, let. 57, št. 3, str. 239-248.
- Košir I. J., Lapornik B., Andrenšek S., Golc-Wondra A., Vrhovšek U., Kidrič J. (2004). Identification of antocyanins in wines by liquid chromatography, liquid chromatography-mass spectrometry and nuclear magnetic resonance. *Analytica Chimica Acta*, let. 513, št. 1, str. 277-282.
- Kuljaj I. (2005). Trte in vina na Slovenskem. Ljubljana, Založba Magnolija, str. 208.
- Main G.L., 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.
- Margalit Y. (2004). Concepts in wine technology. San Francisco, The Wine Appreciation Guild, str. 263.
- Mattivi F., Guzzon R., Vrhovsek U., Stefanini M., Velesco R. (2006). Metabolite profiling of grape: flavonols and anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, let. 54, str. 7692-7702.
- Nemanič J. (1996). Spoznajmo vino. Modri pinot. Ljubljana, Kmečki glas, str 62.
- Perko D. in Orožen Adamič M. (1998). Slovenija. Pokrajine in ljudje. Ljubljana, Mladinska knjiga, str. 735.

Petrie P.R., Trought M., Stanley Howell G., Buchan G. D. (2003). The effect of leaf removal and canopy height on whole-vine gas exchange and fruit development of *Vitis vinifera* L. Sauvignon Blanc. *Functional Plant Biology*, let. 30, št. 6, str. 711-717.

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.

Ramos R., Andrade P. B., Seabra R. M., Pereira C., Ferreira M. A., Faia M. A. (1999). A preliminary study of non-coloured phenolics in wines of varietal white grapes (códega, gouveio and malvasia fina): effects of grape variety, grape maturation and technology of winemaking. *Food Chemistry*, let. 67, št. 1, str. 39-44.

Regner F., Stadlbauer A., Eisenhels A., Kaserer H. (2000). Genetic Relationship. Among Pinots and Related Cultivars. *American Journal of Enology and Viticulture*, let. 51, št. 1, str. 7-14.

Reynolds A.G., Wardle D.A., Hall J.W., Dever M. (1995). Fruit maturation of four *Vitis vinifera* cultivars in response to vineyard location and basal leaf removal. *American Journal of Enology and Viticulture*, let. 46, št. 4, str. 542-558.

Smart R.E. (1985). Principles of grapevine canopy microclimate manipulation with implications for yield and quality: A review. *American Journal of Enology and Viticulture*, št. 36, str. 230-239.

Smart R. in Robinson M. (1991). Sunlight in to wine, a handbook for wine grape canopy management. Winetitles, str. 88.

Spayd S. E., Tarara J. M., Mee D. L., Ferguson J. C. (2002). *American Journal of Enology and Viticulture*, let. 53, št. 3, str. 171-241.

Stafford H. A. (1990). Flavonoid metabolism. Florida, CRC Press, str. 298.

Statistični urad Republike Slovenije. (2009). Popis vinogradov, Slovenija. Pridobljeno dne 25.10.2011 s spletne strani: http://www.stat.si/novica_prikazi.aspx?id=2967.

Sternad Lemut M., Trošt K., Sivilotti P., Vrhovsek 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., & Vrhovsek, U. (2011b). Controlling microbial infection by managing grapevine canopy. V: Pospišil, M. (Ur.): 46th Croatian & 6th International symposium on agriculture, Zagreb, str. 984-987.

Sternad Lemut, M., Sivilotti, P., Šuklje, K., Janež, L., Lisjak, K. (2011c). Zgodnje razlistanje vinske trte: Vpliv na parametre kakovosti pri sortah 'Sivi pinot' in 'Pinela'. V: ČUŠ, Franc (Ur.). Vinarski dan 2011, Ljubljana, sprejeto.

Šikovec S. (1993). Vinarstvo od grozdja do vina. Ljubljana, Kmečki glas, str. 284.

Škvarč A. (2005). Vinorodni okoliš Vipavska dolina. V: Pinela in Zelen, žlahtna dediščina Vipavske doline. T. Furlan (Ur.). Ajdovščina, Razvojna agencija ROD: str. 12–31.

Škvarč A. (2007). Vinogradništvo. Kmetijsko gozdarski zavod Nova Gorica. Pridobljeno dne 3.10.2011 s spletne strani: <http://www.kmetijskizavod-ng.si/panoge/vinogradnistvo>.

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 and Viticulture*, let 59, št. 3, str. 235-247.

Tian R. R., Pan Q. H., Zhan J. C., Li J. M., Wan S. B., Zhang Q. H., Wei-Dong Huang W. D. (2009). Comparison of phenolic acids and flavan-3-ols during wine fermentation of grapes with different harvest times. *Molecules*, let. 14, št. 2, str. 827-838.

Trošt K., Jerman T., Sternad Lemut M. 2010. Vpliv časa razlistanja na vsebnost antocianov in flavonolov v grozdju in vinu sorte 'Modri pinot' (*Vitis vinifera* L.) iz Vipavske doline. V: ČUŠ, Franc (Ur.). Vinarski dan 2010, Ljubljana, str. 39-48.

Ur. L. RS, št. 49/2007. Pravilnik o seznamu geografskih označb za vina in trsnem izboru. Pridobljeno dne 3.10.2011 s spletne strani: <http://www.uradni-list.si/1/objava.jsp?urlid=200749&stevilka=2634>.

Vail M.E., Wolpert J.A., Gubler W.D., Rademacher M.R. (1998). Effects of Cluster Tightness on *Botrytis* Bunch Rot in Six Chardonnay Clones. *Plant Disease*, let. 82, št. 1, str. 107-109.

Vierra T. (2005). Mechanized leaf removal shows good results. Practical Winery&Vineyard-Magazine. Pridobljeno dne 3.10.2011 s spletne strani: <http://www.practicalwinery.com/marapr05/marapr05p48.htm>.

Vrhovšek U. (2000). Bioaktivne polifenolne spojine grozdja in vina. V: Rajher, Z. (Ur.). Strokovni posvet Vino - hrana, zdravje 2000. Zbornik referatov. Poslovna skupnost za vinogradništvo in vinarstvo Slovenije, Celje, str. 42-56.

Vršič S. (2008). Modri pinot-kralj rdečih vin. Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede, str. 105.

Vršič S. in Lešnik M. (2005). Vinogradništvo. 2. natis, Ljubljana, Kmečki glas, str. 360.

Waterhouse A. L. (2002). Determination of total phenolics. Current protocols in food analytical chemistry. University of California, str. 11.1.1-11.1.8.

Wink M. (2003). Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. Review. *Phytochemistry*, let. 64, št. 1, str. 3-19.

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

Xu C., Zhang Y., Zhu L., Huang Y., Lu J. (2011). Influence of Growing Season on Phenolic Compounds and Antioxidant Properties of Grape Berries from Vines Grown in Subtropical Climate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, let. 59, št. 4, str. 1078-1086.

Zhao Q., Duan C.Q., Wang J. (2010). Anthocyanins Profile of Grape Berries of *Vitis amurensis*, Its Hybrids and Their Wines. *International Journal of Molecular Sciences*, let. 11, št. 5, str.: 2212-2228.