

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Vesna KUNST

**VPLIV FENOLNIH SPOJIN NA
INKOMPATIBILNOST PRI NAVADNI HRUŠKI
(*Pyrus communis* L.)**

MAGISTRSKO DELO

Magistrski študijski program - 2. stopnja

Ljubljana, 2013

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Vesna KUNST

**VPLIV FENOLNIH SPOJIN NA INKOMPATIBILNOST PRI
NAVADNI HRUŠKI (*Pyrus communis* L.)**

MAGISTRSKO DELO
Magistrski študijski program – 2. stopnja

**THE INFLUENCE OF PHENOLIC COMPOUNDS ON GRAFT
INCOMPATIBILITY AT PEAR (*Pyrus communis* L.)**

M. Sc. THESIS
Master Study Programmes

Ljubljana, 2013

Magistrsko delo je zaključek Magistrskega študijskega programa 2. stopnje Hortikulture. Delo je bilo opravljeno na Katedri za sadjarstvo, vinogradništvo in vrtarstvo Oddelka za agronomijo Biotehniške fakultete v Ljubljani.

Študijska komisija Oddelka za agronomijo je za mentorico magistrskega dela imenovala prof. dr. Metko HUDINA.

Komisija za oceno in zagovor:

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

Članica: prof. dr. Metka HUDINA
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

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

Datum zagovora:

Magistrsko delo je rezultat lastnega dela. Podpisana se strinjam z objavo svojega magistrskega dela na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je delo, ki sem ga oddala v elektronski obliki, identično tiskani verziji.

Vesna KUNST

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Du2
- DK UDK 634.13:547.56(043.2)
- KG sadjarstvo/hruška/*Pyrus communis*/podlage/inkompatibilnost/cepljeno mesto/fenoli
- AV KUNST, Vesna
- SA HUDINA, Metka (mentor)
- KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
- LI 2013
- IN VPLIV FENOLNIH SPOJIN NA INKOMPATIBILNOST PRI NAVADNI HRUŠKI (*Pyrus communis* L.)
- TD Magistrsko delo (Magistrski študijski program - 2. stopnja)
- OP IX, 42, [1] str., 4 pregl., 22 sl., 27 vir.
- IJ sl
- JI sl/en
- AI V našem delu smo ugotavljali vpliv različnih podlag za hruške na vsebnost fenolnih spojin v floemu nad in pod cepljenim mestom in vlogo fenolnih spojin pri pojavu inkompatibilnosti. V poskus so bila vključena 4-letna drevesa hrušk sort 'Viljamovka', 'Conference' in 'Abate Fetel', cepljena na različne podlage: kutina 'MA', kutina 'BA 29', 'Fox 11', 'Farold 40' ('Daygon'), lastne korenine (*Pyrus communis* L.) in sejanec (*Pyrus communis* L.). S HPLC-MS smo analizirali vzorce floema, ki so bili odvzeti nad in pod cepljenim mestom. Fenolna spojina, ki smo je določili v floemu največ je bil arbutin, sledila sta mu procianidin B1 in klorogenska kislina. Pri kombinacijah sort 'Conference' in 'Abate Fetel' s podlago kutina 'MA' smo določili največ arbutina nad cepljenim mestom, pri inkompatibilni sorti 'Viljamovka' pa smo več arbutina določili pod cepljenim mestom. Naši rezultati kažejo, da obstaja verjetnost, da so ne samo katehin in procianidin B1, ampak tudi arbutin in drugi flavanoli ter flavonoli udeleženi pri neskladnosti med podlago in sorto. Pri vseh sortah cepljenih na podlage kutine so bile vsebnosti epikatehina in procianidina B2 večje pod cepljenim mestom, čeprav nekatere razlike niso bile statistično značilne. Sklepamo lahko, da ti fenolni spojini ne sodelujeta pri inkompatibilnosti. Močno inkompatibilnost pa smo opazili pri kombinaciji sorte 'Viljamovka' na podlagi 'Fox 11'.

KEY WORDS DOCUMENTATION

- ND Du2
- DC UDC 634.13:547.56(043.2)
- CX fruit growing/pear/*Pyrus communis*/rootstock/incompatibility/graft union/phenols
- AU KUNST, Vesna
- AA HUDINA, Metka (supervisor)
- PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Agronomy
- PY 2013
- TY THE INFLUENCE OF PHENOLIC COMPOUNDS ON GRAFT INCOMPATIBILITY AT PEAR (*Pyrus communis* L.)
- DT M. Sc. Thesis (Master Study Programmes)
- NO IX, 42, [1] p., 4 tab., 22 fig., 27 ref.
- LA sl
- Al sl/en
- AB In our study we investigate the influence of various rootstocks for pear on the phenolic content in the phloem above and below the graft union and the role of phenols in pear graft incompatibility. The experiment included 4-year-old 'Williams', 'Conference' and 'Abate Fetel' pear trees grafted on various rootstocks: Quince 'MA', Quince 'BA 29', 'Fox 11', 'Farold 40' ('Daygon'), own rooted (*Pyrus communis* L.) and seedling (*Pyrus communis* L.). The samples of phloem taken above and below graft union were analyzed with HPLC-MS. The most abundant phenolic compound in phloem was arbutin, followed by procyanidin B1 and chlorogenic acid. At cvs. 'Conference' and 'Abate Fetel' higher arbutin content levels were measured above the graft union, while in the incompatible scion of 'Williams' on quince 'MA' higher arbutin content levels were measured below the graft union. The results indicate that not only catechin and procyanidin B1, but also arbutin and several flavanols and flavonols could be involved in graft incompatibility. All cultivars grafted on quince rootstocks had higher levels of epicatechin and procyanidin B2 below the graft union, even though some differences were not significant. We assume that those phenols do not affect pear incompatibility. A severe incompatibility between 'Williams' and 'Fox 11' rootstock was detected.

KAZALO VSEBINE

| | Str. |
|---|----------|
| Ključna dokumentacijska informacija | III |
| Key words documentation | IV |
| Kazalo vsebine | V |
| Kazalo preglednic | VIII |
| Kazalo slik | VIII |
| | |
| 1 UVOD | 1 |
| 1.1 VZROK ZA RAZISKAVO | 1 |
| 1.2 DELOVNA HIPOTEZA | 1 |
| 1.3 NAMEN RAZISKAVE | 1 |
| | |
| 2 PREGLED OBJAV | 2 |
| 2.1 INKOMPATIBILNOST | 2 |
| 2.2 VZROKI INKOMPATIBILNOSTI | 2 |
| 2.2.1 Okoljske razmere | 3 |
| 2.2.2 Prisotnost virusov | 3 |
| 2.2.3 Lignifikacija in encimi | 3 |
| 2.2.4 Cianogeni glukozid prunazin | 4 |
| 2.2.5 Avksini | 4 |
| 2.2.6 Fenolne spojine | 4 |
| | |
| 3 MATERIAL IN METODE DE LA | 6 |
| 3.1 POSKUSNI NASAD | 6 |
| 3.2 OKOLJSKE RAZMERE | 6 |
| 3.2.1 Analiza tal | 6 |
| 3.2.2 Klimatske razmere v obdobju 1961-1990 | 6 |
| 3.2.3 Klimatske razmere v obdobju 1991-2006 | 6 |
| 3.2.4 Klimatske razmere v letu 2011 | 6 |
| 3.3 RASTLINSKI MATERIAL | 7 |
| 3.3.1 Opis sort | 7 |
| 3.3.1.1 Sorta 'Viljamovka' | 7 |
| 3.3.1.2 Sorta 'Conference' | 7 |
| 3.3.1.3 Sorta 'Abate Fetel' | 8 |
| 3.3.2 Opis podlag | 8 |
| 3.3.2.1 Kutina 'MA' | 8 |
| 3.3.2.2 Kutina 'BA 29' | 9 |
| 3.3.2.3 'Fox 11' | 9 |
| 3.3.2.4 'Farold 40' ('Daygon') | 9 |
| 3.3.2.5 Sejanec | 9 |
| 3.3.2.6 Lastne korenine | 9 |
| 3.4 METODE DE LA | 10 |
| 3.4.1 Zasnova poskusa | 10 |
| 3.4.2 Vzorčenje | 10 |

| | |
|--|----|
| 3.4.3 Ekstrakcija | 10 |
| 3.4.4 Visokoločljivostna tekočinska kromatografija (HPLC) | 11 |
| 3.4.5 Statistična obdelava | 11 |
| | |
| 4 REZULTATI | 12 |
| 4.1 'VILJAMOVKA' | 14 |
| 4.1.1 Arbutin | 14 |
| 4.1.2 Katehin | 15 |
| 4.1.3 Epikatehin | 16 |
| 4.1.4 Procianidin B1 | 17 |
| 4.1.5 Procianidin B2 | 18 |
| 4.1.6 Klorogenska kislina | 19 |
| 4.1.7 Glikozidi kvercetina | 20 |
| 4.2 'CONFERENCE' | 21 |
| 4.2.1 Arbutin | 21 |
| 4.2.2 Katehin | 22 |
| 4.2.3 Epikatehin | 23 |
| 4.2.4 Procianidin B1 | 24 |
| 4.2.5 Procianidin B2 | 25 |
| 4.2.6 Klorogenska kislina | 26 |
| 4.2.7 Glikozidi kvercetina | 27 |
| 4.3 'ABATE FETEL' | 28 |
| 4.3.1 Arbutin | 28 |
| 4.3.2 Katehin | 29 |
| 4.3.3 Epikatehin | 30 |
| 4.3.4 Procianidin B1 | 31 |
| 4.3.5 Procianidin B2 | 32 |
| 4.3.6 Klorogenska kislina | 33 |
| 4.3.7 Glikozidi kvercetina | 34 |
| | |
| 5 RAZPRAVA | 35 |
| 5.1 'VILJAMOVKA' | 35 |
| 5.2 'CONFERENCE' | 35 |
| 5.3 'ABATE FETEL' | 36 |
| | |
| 6 SKLEPI | 37 |
| | |
| 7 POVZETEK | 39 |
| | |
| 8 VIRI | 40 |
| | |
| ZAHVALA | |

KAZALO PREGLEDNIC

| | Str. |
|--|------|
| Preglednica 1: Stopnja statistične značilnosti glede na podlago, mesto vzorčenja (nad in pod cepljenim mestom) ter njuna interakcija na vsebnost fenolov v floemu sort 'Viljamovka', 'Conference' in 'Abate Fetel'. | 12 |
| Preglednica 2: Povprečne vsebnosti posameznih glikozidov kvercetina (mg/kg) ± standardna napaka v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Viljamovka', cepljeno na različne podlage. Različne črke v stolpcih označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) v vsebnosti glikozidov kvercetina znotraj ene podlage. | 20 |
| Preglednica 3: Povprečne vsebnosti posameznih glikozidov kvercetina (mg/kg) ± standardna napaka v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Conference', cepljeno na različne podlage. Različne črke v stolpcih označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) v vsebnosti glikozidov kvercetina znotraj ene podlage. | 27 |
| Preglednica 4: Povprečne vsebnosti posameznih glikozidov kvercetina (mg/kg) ± standardna napaka v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Abate Fetel', cepljeno na različne podlage. Različne črke v stolpcih označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) v vsebnosti glikozidov kvercetina znotraj ene podlage. | 34 |

KAZALO SLIK

| | Str. |
|--|------|
| Slika 1: Plod sorte 'Viljamovka' | 7 |
| Slika 2: Plod sorte 'Conference' | 8 |
| Slika 3: Plod sorte 'Abate Fetel' | 8 |
| Slika 4: Vzorčenje nad in pod cepljenim mestom | 10 |
| Slika 5: Povprečne vsebnosti arbutina (mg/kg) v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Viljamovka', cepljeno na različne podlage. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) v vsebnosti arbutina znotraj ene podlage. | 14 |
| Slika 6: Povprečne vsebnosti katehina (mg/kg) v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Viljamovka', cepljeno na različne podlage. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) v vsebnosti katehina znotraj ene podlage. | 15 |
| Slika 7: Povprečne vsebnosti epikatehina (mg/kg) v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Viljamovka', cepljeno na različne podlage. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) v vsebnosti epikatehina znotraj ene podlage. | 16 |
| Slika 8: Povprečne vsebnosti procianidina B1 (mg/kg) v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Viljamovka', cepljeno na različne podlage. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) v vsebnosti procianidina B1 znotraj ene podlage. | 17 |
| Slika 9: Povprečne vsebnosti procianidina B2 (mg/kg) v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Viljamovka', cepljeno na različne podlage. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) v vsebnosti procianidina B2 znotraj ene podlage. | 18 |
| Slika 10: Povprečne vsebnosti klorogenske kisline (mg/kg) v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Viljamovka', cepljeno na različne podlage. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) v vsebnosti klorogenske kisline znotraj ene podlage. | 19 |
| Slika 11: Povprečne vsebnosti arbutina (mg/kg) v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Conference', cepljeno na različne podlage. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) v vsebnosti arbutina znotraj ene podlage. | 21 |
| Slika 12: Povprečne vsebnosti katehina (mg/kg) v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Conference', cepljeno na različne podlage. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) v vsebnosti katehina znotraj ene podlage. | 22 |
| Slika 13: Povprečne vsebnosti epikatehina (mg/kg) v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Conference', cepljeno na različne podlage. Različne črke nad stolpci | |

- označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) v vsebnosti epikatehina znotraj ene podlage. 23
- Slika 14: Povprečne vsebnosti procianidina B1 (mg/kg) v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Conference', cepljeno na različne podlage. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) v vsebnosti procianidina B1 znotraj ene podlage. 24
- Slika 15: Povprečne vsebnosti procianidina B2 (mg/kg) v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Conference', cepljeno na različne podlage. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) v vsebnosti procianidina B2 znotraj ene podlage. 25
- Slika 16: Povprečne vsebnosti klorogenske kisline (mg/kg) v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Conference', cepljeno na različne podlage. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) v vsebnosti klorogenske kisline znotraj ene podlage. 26
- Slika 17: Povprečne vsebnosti arbutina (mg/kg) v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Abate Fetel', cepljeno na različne podlage. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) v vsebnosti arbutina znotraj ene podlage. 28
- Slika 18: Povprečne vsebnosti katehina (mg/kg) v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Abate Fetel', cepljeno na različne podlage. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) v vsebnosti katehina znotraj ene podlage. 29
- Slika 19: Povprečne vsebnosti epikatehina (mg/kg) v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Abate Fetel', cepljeno na različne podlage. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) v vsebnosti epikatehina znotraj ene podlage. 30
- Slika 20: Povprečne vsebnosti procianidina B1 (mg/kg) v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Abate Fetel', cepljeno na različne podlage. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) v vsebnosti procianidina B1 znotraj ene podlage. 31
- Slika 21: Povprečne vsebnosti procianidina B2 (mg/kg) v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Abate Fetel', cepljeno na različne podlage. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) v vsebnosti procianidina B2 znotraj ene podlage. 32
- Slika 22: Povprečne vsebnosti klorogenske kisline (mg/kg) v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Abate Fetel', cepljeno na različne podlage. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) v vsebnosti klorogenske kisline znotraj ene podlage. 33

1 UVOD

1.1 VZROK ZA RAZISKAVO

Cepljenje sort hrušk na podlago je enostaven način razmnoževanja rastlin, poleg tega pa ima podlaga ugoden vpliv na drevo. Podlaga lahko vpliva na zmanjšano rast drevesa, zgodnejši vstop v rodnost, stalno in dobro rodnost, velikost in maso plodov, nekatere pa vplivajo tudi na boljšo odpornost proti nekaterim boleznim.

Inkompatibilnost (neskladnost) med podlagami in cepiči je resen problem v sadjarstvu. Pojavlja se pri različnih sadnih vrstah, najbolj znana pa je pri cepilni zvezi med hruško in kutino. Zaradi propadanja dreves, slabše kakovosti pridelka in zmanjšane rodnosti je lahko povzročena resna gospodarska škoda.

Mnogi raziskovalci ugotavljajo vzroke neskladnosti. Ta pojav je lahko zelo kompleksen, simptomi niso specifični, lahko se pokažejo šele po več letih normalne rasti drevesa, lahko pa drevo propade tudi brez očitnih znakov inkompatibilnosti. Vzrokov je lahko več, lahko pa je pomembna tudi kombinacija le-teh. Ena od posledic neskladnosti je tudi različna vsebnost fenolnih spojin pod in nad cepljenim mestom.

1.2 DELOVNA HIPOTEZA

Vsebnost istih fenolnih spojin je različna pod in nad cepljenim mestom pri različnih kombinacijah cepljenja sort hrušk na različne podlage.

1.3 NAMEN RAZISKAVE

Namen raziskave je bil ugotoviti, ali obstajajo razlike v vsebnosti fenolnih spojin nad in pod cepljenim mestom pri sortah hrušk 'Viljamovka', 'Conference' in 'Abate Fetel', cepljenih na različne podlage (kutina 'MA', kutina 'BA 29', 'Fox 11', 'Farold 40' ('Daygon'), lastne korenine in sejanec).

2 PREGLED OBJAV

2.1 INKOMPATIBILNOST

Inkompatibilnost je kompleksen pojav, prisoten pri različnih rastlinskih vrstah, ko se med cepičem in podlago ne more ustvariti uspešna cepilna zveza. Inkompatibilnost je fiziološka motnja, ki vključuje mnoge simptome in se razlikuje glede na rastlino. Pomeni slabo anatomsko ali fiziološko skladnost podlage in sorte (Bauer in sod., 1989).

Inkompatibilnost je značilna za gensko nesorodne vrste, pojavlja pa se tudi pri gensko sorodnih. Znano je, da se pojavlja pri breskvah, slivah, marelicah in mandljevcu pri medsebojnem cepljenju ter pri višnjah in češnjah cepljenih na rešeljiko. Prav tako se inkompatibilnost pojavlja pri hruškah, cepljenih na kutino. Avtorji pa poročajo tudi o inkompatibilnosti pri drugih lesnatih vrstah, kot je Gunnov evkalipt (De Cooman in sod., 1996).

Simptomi, ki se pojavljajo ali pa tudi ne, so nespecifični. Iste simptome lahko povzročajo druge bolezni ali dejavniki. Najbolj očiten znak je zlom cepilne zveze zaradi prekinitve prevodnih tkiv. Splošni simptomi, ki se velikokrat pojavljajo pri inkompatibilnih kombinacijah so: popolni ali delni propad brsta oziroma cepiča takoj po cepljenju, naknadni propad sadike že v prvem letu po cepljenju, zelo močna rast cepljenih dreves v prvih letih po cepljenju, čemur sledi počasni ali nenadni propad drevesa, opazne razlike v rasti podlage in cepiča ter prekomerne odebelitve nad ali pod cepilno zvezo (Turk, 1979).

Ločimo različne oblike in tipe inkompatibilnosti. Hudina (1998) loči glede na intenzivnost in čas pojava 3 oblike: totalno (popolno ali botanično), nepopolno (delno ali mehanično) in pozno (fiziološko) inkompatibilnost. Ločimo pa tudi translocirano in lokalizirano inkompatibilnost. Lokalizirano inkompatibilnost lahko premostimo z uporabo posredovalke, translocirano pa ne. Kot posredovalki se največ uporabljata pri hruški sorti 'Pastorjevka' in 'Hardijeva' ('Gelertova').

Različne sorte hrušk so različno kompatibilne z različnimi podlagami. Dondini in Sansavini (2012) ugotavljata, da je 'Viljamovka' zelo slabo kompatibilna s podlagami kutine, sorta 'Conference' pa je z njimi delno kompatibilna. Navajata tudi, da podlaga 'Farold 40' velja za dobro skladno s sorto 'Viljamovka'. Za sorte 'Viljamovka', 'Conference' in 'Abate Fetel' pa po navajanjih Godec in sod. (2011b) ni primerna podlaga 'Fox 11', saj so se v njihovem poskusu pri vseh treh sortah pokazali izraziti znaki inkompatibilnosti že po prvih letih opazovanja.

2.2 VZROKI INKOMPATIBILNOSTI

Možnih vzrokov inkompatibilnosti je lahko več. Na pojav inkompatibilnosti vplivajo okoljske razmere, prisotnost virusov v rastlini, encimi, hormoni – avksini in fenolne snovi.

2.2.1 Okoljske razmere

Največkrat omenjeni okoljski dejavniki so temperatura, vlažnost zraka in tip tal. Temperatura zraka je pomembna v fazi razvoja kalusa. Ob prenizkih ali previsokih temperaturah se kalus ne tvori pravilno. Tudi močno nihanje zračne vlage ima lahko negativen vpliv na uspešno tvorbo cepilne zveze. Na različnih tipih tal se inkompatibilnost različno izrazi, na lažjih tleh je inkompatibilnost močnejše izražena (Hudina, 2004).

Gur in sod. (1968) so ugotovili, da nekatere sorte hrušk, cepljene na kutino, pri nižjih temperaturah ne kažejo inkompatibilnosti, medtem ko so iste kombinacije v toplih razmerah inkompatibilne.

Moore (1984) ugotavlja, da ima relativna zračna vlaga vpliv predvsem na celice kalusa na zunanjem robu cepilne zveze. Ob veliki zračni vlagi ostanejo te obrobne celice kalusa nepoškodovane in so sposobne za cepljenje.

Na večjih zemljepisnih širinah je za rastline zelo pomembna toleranca na poškodbe zaradi mraza. V toplejših območjih manjše geografske širine pa morajo biti posajene hruške z manjšo zahtevo za mraz in večjo toleranco na vročino. Poleg tega bi se ti genotipi izognili težavam z inkompatibilnostjo zaradi nezadostnega mraza in pretirane vročine (Dondini in Sansavini, 2012).

2.2.2 Prisotnost virusov

Turk (1979) navaja, da so v rastlinskih tkivih lahko prisotni latentni virusi ali virusni kompleksi in v primeru tolerance na ta virus, se ne pokažejo bolezenski znaki. Šele ko okuženo komponento cepimo z občutljivo, se lahko pojavijo bolezenski znaki in cepljena rastlina lahko propade.

Wood (1997) je raziskoval okuženost različnih sort hrušk in podlag za hruške z virusi in fitoplazmami na Novi Zelandiji. Ugotovil je veliko okuženost pri sortah hrušk, izmed podlag pa je bila okužena samo ena. Ker je bilo večino razmnoževalnega materiala za hruške na Novo Zelandijo pripeljanega iz Evrope, je domneval, da je bil že izvorni material okužen, kar je povzročilo hiter razmah bolezni. Škodo so omejili z uvedbo toplotne terapije.

2.2.3 Lignifikacija in encimi

Turk (1979) je ugotavljala, da je lignifikacija na mestu cepilne zveze zelo pomembna za uspešno povezavo tkiv podlage in cepiča. Če se vsaj delno izvrši lignifikacija kalusa in se povežejo prevodna tkiva, lahko sadika nadaljuje z rastjo.

2.2.4 Cianogeni glukozyd prunazin

Hudina (2004) poroča o spojini prunazin, ki se nahaja v tkivih kutine, v tkivih hruške je pa ni. Prunazin se po cepljenju hruške na kutino prenese v tkiva hruške, kjer se razgradi in povzroči anatomske motnje na stiku med podlago in sorto. Inkompatibilne sorte hrušk razgradijo večje količine prunazina, saj imajo več arbutina. Le-ta vpliva na tvorbo encima, ki razgrajuje prunazin (Hudina, 1998; Gur in sod., 1968).

2.2.5 Avksini

Na razvoj kompatibilne zveze pomembno vplivajo tudi avksini, saj povzročajo diferenciacijo prevajalnih tkiv (Pina in Errea, 2005).

Moore (1984) navaja, da je lahko vzrok za pomanjkanje avksinov v pomanjkanju njegovih virov, to je listov na cepiču. V primeru, da ni ustreznega toka avksinov, ne pride do diferenciacije prevajalnih tkiv, ki spodbuja tvorbo uspešne cepilne zveze.

2.2.6 Fenolne spojine

Errea (1998) je raziskoval vplive fenolnih spojin na razvoj inkompatibilne cepilne zveze in ugotavljal, da pri večini rastlin poteka povečan nastanek novih fenolnih spojin ob ranitvah, v stresnih situacijah, okužbah ali pri drugih obrambnih mehanizmi. Nastanek uspešne cepilne zveze je razdelil na tri faze in v vseh treh fazah bi naj imele fenolne spojine pomembno vlogo.

Vsebnost flavanolor (katehinov in proantocianidinov) se pogosto poveča v stresnih situacijah, kot je tudi cepljenje (Errea in sod., 1992, 1994; Feucht in sod., 1992). Akumulacija flavanolor in njihova razgradnja ima lahko pomemben vpliv na rast tkiv in metabolizem v cepilni zvezi. Če stres traja dlje časa, se flavanoli nepovratno oksidirajo in lahko delujejo kot toksične spojine pri lignifikaciji (Errea, 1998).

Zaraščanje rane in lignifikacija na mestu cepljenja zahteva difuzijo nekaterih fenolnih spojin skozi cepljeno mesto v obe smeri, da zagotovijo trdno povezavo med podlago in cepičem. Kvantitativne in kvalitativne razlike v fenolnem vzorcu med podlago in cepičem lahko povzročijo metabolne napake v cepilni zvezi (Errea, 1998).

Pri mehanizmu adaptacije med obema cepilnima partnerjema, lahko močna akumulacija fenolnih spojin vodi do tega, da se nekatere fenolne spojine oksidirajo do kinonov. Polimerizacija kinonov pa je lahko toksična za marsikatero metabolno reakcijo, kar se kaže v inhibiciji sinteze lignina (Errea, 1998).

Pri zapozneli inkompatibilnosti je mogoče, da v začetku neškodljive fenolne snovi počasi in progresivno naraščajo in rušijo ravnotežje cepilne zveze. Prehajajo iz celic cepiča v celice podlage in povzročajo metabolne nepravilnosti (Usenik, 1999; Feucht in Treutter, 1991).

Različni avtorji so ugotavljali, katere fenolne spojine so prisotne v tkivih hruške in katere v tkivih kutine. Cui in sod. (2005) so ugotovili, da je arbutin v vrstah iz rodu *Pyrus* prisoten, Andrade in sod. (1998) pa, da arbutina v tkivih kutine ni. Musacchi in sod. (2000) v poskusu ugotavljajo, da so vsebnosti epikatehina in procianidina B2 večje v tkivih kutine kot v tkivih hruške. Veberič (2010) pa poroča o večji vsebnosti katehina in epikatehina pri sortah hrušk, ki niso skladne s kutino.

3 MATERIAL IN METODE DELA

3.1 POSKUSNI NASAD

Poskus je potekal v letu 2011 v Sadjarskem centru Bilje, ki se nahaja v kraju Bilje pri Novi Gorici.

3.2 OKOLJSKE RAZMERE

3.2.1 Analiza tal

Analiza tal, kjer je bil zasnovan poskus, je bila opravljena 28. 2. 2011. Globina vzorčenja je bila 0-40 cm. Rezultati so pokazali, da je pH tal 6,8, organske snovi v tleh je 2,8 %. Založenost s fosforjem je 26 mg/100 g tal, kar pomeni, da so tla čezmerno založena s fosforjem. Tudi založenost tal s kalijem je čezmerna, količina kalija v tleh je 34 mg/100 g tal. Založenost tal z magnezijem je dobra, analiza je pokazala, da ga je 9 mg/100 g tal. Aktivnega apna je v tleh 1 %.

3.2.2 Klimatske razmere v obdobju 1961-1990

V 30-letnem obdobju je bila povprečna letna temperatura zraka na hidrometeorološki postaji Bilje 11,8 °C. Najvišja povprečna mesečna temperatura je bila julija, 21,4 °C, najnižja povprečna mesečna temperatura pa januarja, 2,7 °C. Povprečna letna količina padavin je bila 1456 mm. Največja povprečna mesečna količina padavin je bila novembra, 150 mm, najmanjša povprečna mesečna količina padavin pa februarja, 93,2 mm (ARSO, 2013).

3.2.3 Klimatske razmere v obdobju 1991-2006

V obdobju 1991-2006 je bila povprečna letna temperatura zraka na hidrometeorološki postaji Bilje 12,6 °C. Najvišja povprečna mesečna temperatura je bila julija, 22,6 °C, najnižja povprečna mesečna temperatura pa je bila januarja, 3,2 °C. Povprečna letna količina padavin v obdobju 1991-2006 je bila 1422,8 mm. Največja povprečna mesečna količina padavin je bila septembra, 190,1 mm, najmanjša povprečna mesečna količina padavin pa februarja, 58,8 mm (ARSO, 2013).

3.2.4 Klimatske razmere v letu 2011

V letu 2011, v katerem je potekal poskus, je bila povprečna letna temperatura 13,3 °C. Najvišja povprečna mesečna temperatura je bila avgusta, 23,4 °C, najnižja pa januarja, 3,1 °C. V letu 2011 je bilo 990 mm padavin, največ padavin je bilo oktobra, 211 mm, najmanj pa avgusta, 2 mm (ARSO, 2013).

3.3 RASTLINSKI MATERIAL

V poskusu smo uporabili tri sorte hrušk: 'Viljamovka', 'Conference' in 'Abate Fetel'. Vsaka sorta hrušk je bila cepljena na pet različnih podlag: kutina 'MA', kutina 'BA 29', 'Fox 11', 'Farold 40' ('Daygon') in sejanec. V poskus pa so bila vključena tudi drevesa na lastnih koreninah.

3.3.1 Opis sort

3.3.1.1 Sorta 'Viljamovka'

Sorta 'Viljamovka' (originalno 'Williams Bon Chretien') ima srednje bujno rast. Skladnost s podlago je zelo slaba. Cveti srednje pozno in ima srednje velik plod. Zarodi zgodaj in daje redne ter velike pridelke, plodovi zorijo sredi avgusta in začetek septembra. Srednje občutljiva je na škrlup, zelo občutljiva pa za klorozo, hruševu bolšico in hrušev ožig (Godec in sod., 2011a; Štampar in sod., 2009).



Slika 1: Plod sorte 'Viljamovka'

3.3.1.2 Sorta 'Conference'

Sorta 'Conference' ima srednje bujno rast. Skladnost s podlago je zadovoljiva. Cveti srednje pozno in ima srednje velik do velik plod. Zarodi zgodaj in ima redne ter velike pridelke. Zori v sredini septembra. Srednje občutljiva je za kalcijevo klorozo, zelo občutljiva pa na hrušev ožig in toplotne ožige (Štampar in sod., 2009; Godec in sod., 2011a).



Slika 2: Plod sorte 'Conference'

3.3.1.3 Sorta 'Abate Fetel'

Sorta 'Abate Fetel' ima srednje bujno rast in je slabo skladna s podlago. Cveti srednje zgodaj in ima srednje velik do zelo velik plod. Obrodi srednje dobro in nekoliko neredno, zori sredi septembra. Zelo je občutljiva na spomladansko pozebo in hrušev ožig, srednje občutljiva pa na hruševo bolšico (Štampar in sod., 2009; Godec in sod., 2011a).



Slika 3: Plod sorte 'Abate Fetel'

3.3.2 Opis podlag

3.3.2.1 Kutina 'MA'

Podlaga kutina 'MA' je občutljiva na sušo, zelo občutljiva za klorozo in hrušev ožig ter viruse, srednje občutljiva za zimski mraz, malo do srednje občutljiva za ogorčice ter odporna na krvavo uš. Skladnost s sortami hrušk je srednja do dobra, vendar veliko sort zahteva posredovalko. Bujnost sort na podlagi kutina 'MA' je srednja. Podlaga vpliva na zgodnejši vstop v rodnost, ki je dobra. Hruške na podlagi kutina 'MA' slabo prenašajo tla z večjim odstotkom fiziološkega aktivnega apna, ker se na njih pojavlja kloroza (Štampar in sod., 2009).

3.3.2.2 Kutina 'BA 29'

Kutina 'BA 29' se zelo dobro prilagodi na glinasta in srednje dobro na peščena tla. Je manj občutljiva na sušo in klorozo kot kutina 'MA', srednje občutljiva na viruse in ogorčice in malo občutljiva na krvavo uš. Ni odporna na hrušev ožig. Občutljiva je na nizke zimske temperature, vendar manj kot kutina 'MA'. Skladnost s sortami hrušk je srednja do dobra. Rast dreves je za 15 - 20 % bujnejša kot na podlagi kutina 'MA'. Rodnost je stalna in zelo dobra. Vpliva tudi na večjo debelino plodov (Štampar in sod., 2009).

3.3.2.3 'Fox 11'

Drevesa na podlagi 'Fox 11' so nekoliko bujnejša kot na podlagi kutina 'BA 29'. Podlaga ne razvije globokega koreninskega sistema, zato je potrebna pazljivost pri sajenju. Podlaga je dobro skladna z večino sort hrušk, predvsem s sortama 'Abate Fetel' in 'Conference'. Zelo je tolerantna na apnena tla in visok pH. Rodnost je dobra (ANFIC, 2013).

3.3.2.4 'Farold 40' ('Daygon')

Podlaga 'Farold 40' vpliva na večjo bujnost dreves kot na podlagi kutina 'BA 29'. Pridelek je manjši kot pri kutini 'MC'. Hruške sorte 'Viljamovka' so zelo dobro skladne s podlago 'Farold 40', ki vpliva tudi na boljši pridelek in velikost plodov ter na odpornost proti hruševem ožigu (Dondini in Sansavini, 2012). Sadimo jo lahko na nevtralnih do bazičnih tleh. Tolerantna je na bolezen odmiranja hrušk ter na mraz (Vitro Plant, 2013).

3.3.2.5 Sejanec

Podlage sejanca so zelo neizenačene v rasti, saj jih razmnožujemo s semenom. Zelo občutljive so na krvavo uš, ogorčice, hrušev ožig in viruse, odporne pa na nizke zimske temperature. Skladnost s sortami hrušk je zelo dobra oziroma primerna, optimalna. Rast dreves je bujna, hruške pozneje vstopijo v rodnost, ki je zelo dobra. Plodovi dozorevajo nekoliko pozneje, prav tako pa drevesa pozneje preidejo v mirovanje. Dobro prenašajo večje količine aktivnega apna. Bolje prenaša sušo kot podlage kutine. Korenine sejancev zelo dobro usidrajo posamezna drevesa v tla, z globokimi koreninami pa preprečijo tudi plazenje tal (Štampar in sod., 2009).

3.3.2.6 Lastne korenine

Drevesa na lastnih koreninah so bila razmnožena s potaknjenci iz sort, ki so bile vključena v naš poskus ('Viljamovka', 'Conference', 'Abate Fetel').

3.4 METODE DELA

3.4.1 Zasnova poskusa

Sajenje sadik je potekalo 6. februarja 2007. Gojitvena oblika je ozko vreteno. Sadilna razdalja med drevesi je 4 x 2 m. V statistično zasnovanem poskusu smo za vsako podlago posadili 15 dreves ene sorte (15 dreves x 6 podlag x 3 sorte). Vseh posajenih dreves je bilo 270.

3.4.2 Vzorčenje

Vzorčenje je potekalo 7. junija 2011. Za vzorčenje smo izbrali tri drevesa za vsako kombinacijo podlaga/sorta. Z nožem smo odstranili 3 cm dolg in 1 cm širok del skorje, na vsakem drevesu 1 cm nad cepljenim mestom in 1 cm pod cepljenim mestom. Nato smo iz odvzete skorje odstranili floem in ga takoj zamrznili v tekočem dušiku.



Slika 4: Vzorčenje nad in pod cepljenim mestom

3.4.3 Ekstrakcija

Floem naših vzorcev smo v terilnici s pomočjo tekočega dušika zmleli v fini prah. 100 mg vsakega vzorca smo prelili z 2 ml ekstrakcijske raztopine (metanol, z dodano 3 % mravljično kislino in 1 % 2,6-di-*tert*-butil-4-metilfenol (BHT) za preprečitev oksidacije med ekstrakcijo) in nato smo vzorce dali za eno uro na ledeno ultrazvočno kopel. Po kopeli smo vzorce centrifugirali 7 minut na 5 °C pri 10 000 obratih na minuto. Vzorce smo prefiltrirali skozi Chromafil® AO-45/25 poliamidni filter. Tako so bili vzorci pripravljene za analizo z visokoločljivostno tekočinsko kromatografijo.

3.4.4 Visokoločljivostna tekočinska kromatografija (HPLC)

Za analizo fenolnih spojin smo uporabili Thermo Finnigan Surveyor HPLC sistem. Detekcija fenolnih spojin je potekala pri valovnih dolžinah 280 nm in 350 nm. Za mobilno fazo smo uporabili 1 % vodno raztopino mravljične kisline in 100 % acetonitril, hitrost pretoka je bila 1 ml/min. Volumen injiciranega vzorca je bil 20 μ l. Kolona, ki smo jo uporabili, je bila Phenomenex Gemini C18 (150 x 4.6 mm 3 μ m) pri temperaturi 25 °C. Koncentracije posameznih fenolnih spojin smo izračunali s pomočjo ustreznih standardov.

Fenolne spojine so bile identificirane z masnim detektorjem LCQ Deca XP MAX napravo z "electrospray" ionizatorjem z detekcijo negativnih ionov. MSⁿ detekcija je potekala v razponu m/z 115 do 2000. Kolona in kromatografske razmere so bile iste kot pri HPLC analizi. Identifikacija je potekala s primerjavo retenzijskih časov in spektrov in tudi z dodajanjem ustreznih zunanjih standardov.

3.4.5 Statistična obdelava

Statistična analiza je bila narejena s programom Statgraphics Plus 4.0. Naredili smo enosmerno analizo variance (ANOVA). Razlike v vsebnosti fenolov glede na mesto vzorčenja (nad in pod cepljenim mestom) smo preverili s t-testom. Da smo ugotovili, kako vplivajo podlage in mesta vzorčenja ter njihove interakcije na vsebnost fenolnih spojin, smo uporabili dvosmerno analizo variance pri tveganju $p \leq 0,05$. Razlike med podlagami smo ocenili s HSD testom. Obravnavanja, ki se med seboj statistično značilno razlikujejo, so označena z različno črko.

4 REZULTATI

V poskusu, ki smo ga spremljali, so bile na pet različnih podlag cepljene tri sorte hrušk. V poskus pa smo vključili tudi drevesa na lastnih koreninah. Pri vsaki cepilni kombinaciji sorte hruške na določeno podlago smo analizirali vzorce floema, ki smo jih odvzeli nad in pod cepljenim mestom. Rezultate, ki smo jih dobili, smo primerjali znotraj posamezne sorte hruške. Opazovali smo fenolne vzorce in vsebnost posamezne fenolne spojine glede na uporabljeno podlago, in jih nato primerjali med različnimi podlagami.

Preglednica 1: Stopnja statistične značilnosti glede na podlago, mesto vzorčenja (nad in pod cepljenim mestom) ter njuna interakcija na vsebnost fenolov v floemu sort 'Viljamovka', 'Conference' in 'Abate Fetel'.

| Sorta | Fenolna spojina | Podlaga (P) ^a | Nad/pod cepljenim mestom (N) | P x N |
|---------------|---------------------|--------------------------|------------------------------|-------|
| 'Viljamovka' | Arbutin | *** | *** | *** |
| | Katehin | *** | *** | *** |
| | Epikatehin | *** | *** | ** |
| | Procianidin B1 | ** | NS | *** |
| | Procianidin B2 | *** | *** | *** |
| | Klorogenska kislina | NS | NS | NS |
| | Q-3-galaktozid | *** | ** | *** |
| | Q-3-glukozid | *** | *** | *** |
| | Q-3-rutinozid | NS | NS | NS |
| | Q-3-ramnozid | * | * | * |
| 'Conference' | Arbutin | *** | ** | *** |
| | Katehin | ** | * | *** |
| | Epikatehin | *** | NS | * |
| | Procianidin B1 | *** | *** | *** |
| | Procianidin B2 | *** | NS | * |
| | Klorogenska kislina | *** | ** | *** |
| | Q-3-galaktozid | *** | NS | NS |
| | Q-3-glukozid | * | NS | NS |
| | Q-3-rutinozid | NS | NS | NS |
| | Q-3-ramnozid | *** | NS | * |
| 'Abate Fetel' | Arbutin | *** | *** | *** |
| | Katehin | * | NS | *** |
| | Epikatehin | *** | ** | NS |
| | Procianidin B1 | ** | NS | *** |
| | Procianidin B2 | *** | *** | * |
| | Klorogenska kislina | ** | NS | *** |
| | Q-3-galaktozid | NS | * | * |
| | Q-3-glukozid | NS | NS | * |
| | Q-3-rutinozid | * | *** | ** |
| | Q-3-ramnozid | NS | NS | * |

^aNS – ni značilno; * - značilno pri $p \leq 0,05$; ** - značilno pri $p \leq 0,01$; *** - značilno pri $p \leq 0,001$; Q-3-galaktozid – Kvercetin 3-O-galaktozid; Q-3-glukozid – Kvercetin 3-O-glukozid; Q-3-rutinozid – Kvercetin 3-O-rutinozid; Q-3-ramnozid – Kvercetin 3-O-ramnozid

Vremenske razmere v proučevanem letu niso vplivale na rezultate poskusa, saj se bistveno niso razlikovale od dolgoletnega povprečja.

Iz preglednice 1 je razvidno, da je imela podlaga statistično značilen vpliv na vsebnost arbutina, katehina, epikatehina, procianidina B1 in procianidina B2 pri vseh treh sortah hrušk. Pri sortah 'Conference' in 'Abate Fetel' je imela podlaga tudi vpliv na vsebnost klorogenske kisline. Podlaga je imela statistično značilen vpliv tudi na vsebnost nekaterih flavonolov. Pri sortah 'Viljamovka' in 'Conference' je podlaga vplivala na vsebnosti kvercetin 3-O-galaktozida, kvercetin 3-O-glukozida in kvercetin 3-O-ramnozida. Pri sorti 'Abate Fetel' pa je podlaga vplivala le na vsebnost kvercetin 3-O-rutinozida.

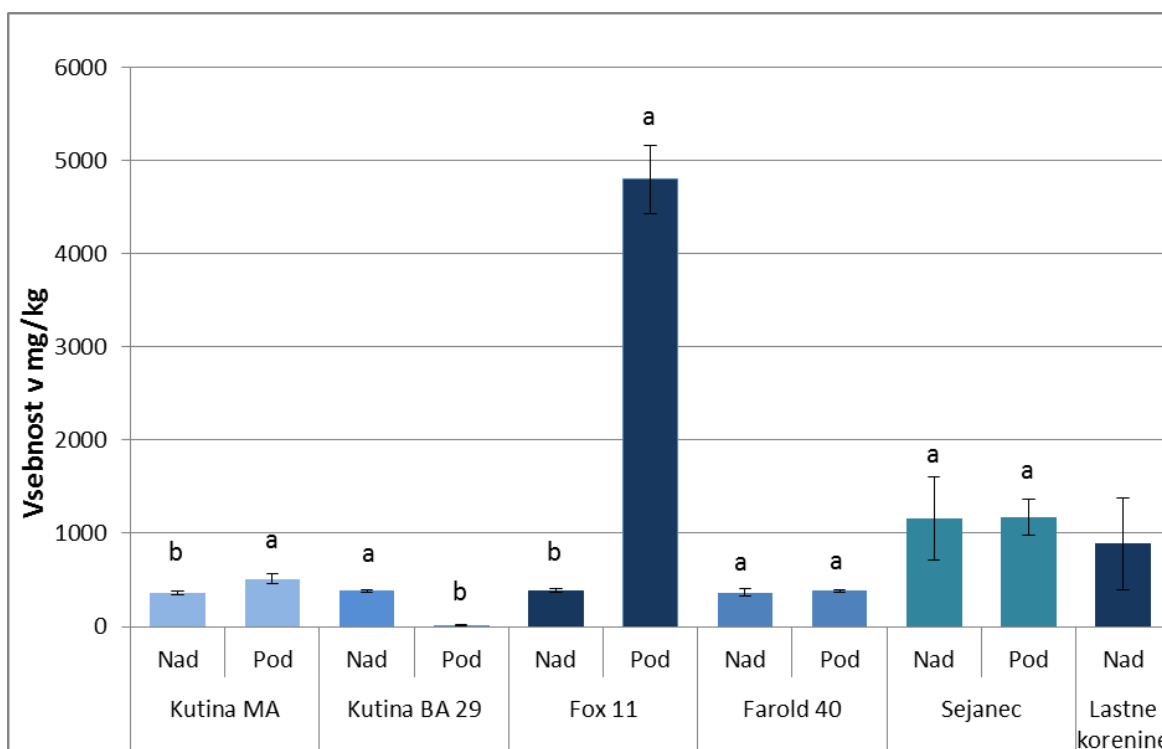
Preverjali smo tudi vpliv mesta vzorčenja na vsebnost fenolnih spojin. Pri sorti hruške 'Viljamovka' je mesto vzorčenja, nad in pod cepljenim mestom, vplivalo na vsebnosti arbutina, katehina, epikatehina, procianidina B2, kvercetin 3-O-galaktozida, kvercetin 3-O-glukozida in kvercetin 3-O-ramnozida. Pri sorti 'Conference' je imelo mesto vzorčenja statistično značilen vpliv na vsebnosti arbutina, katehina, procianidina B1 in klorogenske kisline, pri sorti 'Abate Fetel' pa na vsebnosti arbutina, epikatehina, procianidina B2, kvercetin 3-O-galaktozida in kvercetin 3-O-rutinozida (preglednica 1).

Pri sorti hruške 'Viljamovka' interakcija med podlago in mestom vzorčenja ni bila statistično značilna za vsebnost klorogenske kisline in kvercetin 3-O-rutinozida (preglednica 1). Pri sorti 'Conference' interakcija med podlago in mestom vzorčenja ni bila statistično značilna za vsebnost kvercetin 3-O-galaktozida, kvercetin 3-O-glukozida in kvercetin 3-O-rutinozida, pri sorti 'Abate Fetel' pa le za vsebnost epikatehina. Za vse ostale analizirane fenolne snovi je bila pri vseh treh sortah interakcija med podlago in mestom vzorčenja statistično značilna.

4.1 'VILJAMOVKA'

Pri sorti 'Viljamovka' je na podlagi kutina 'BA 29' propadlo 1 drevo, na podlagi 'Fox 11' pa kar 9 dreves.

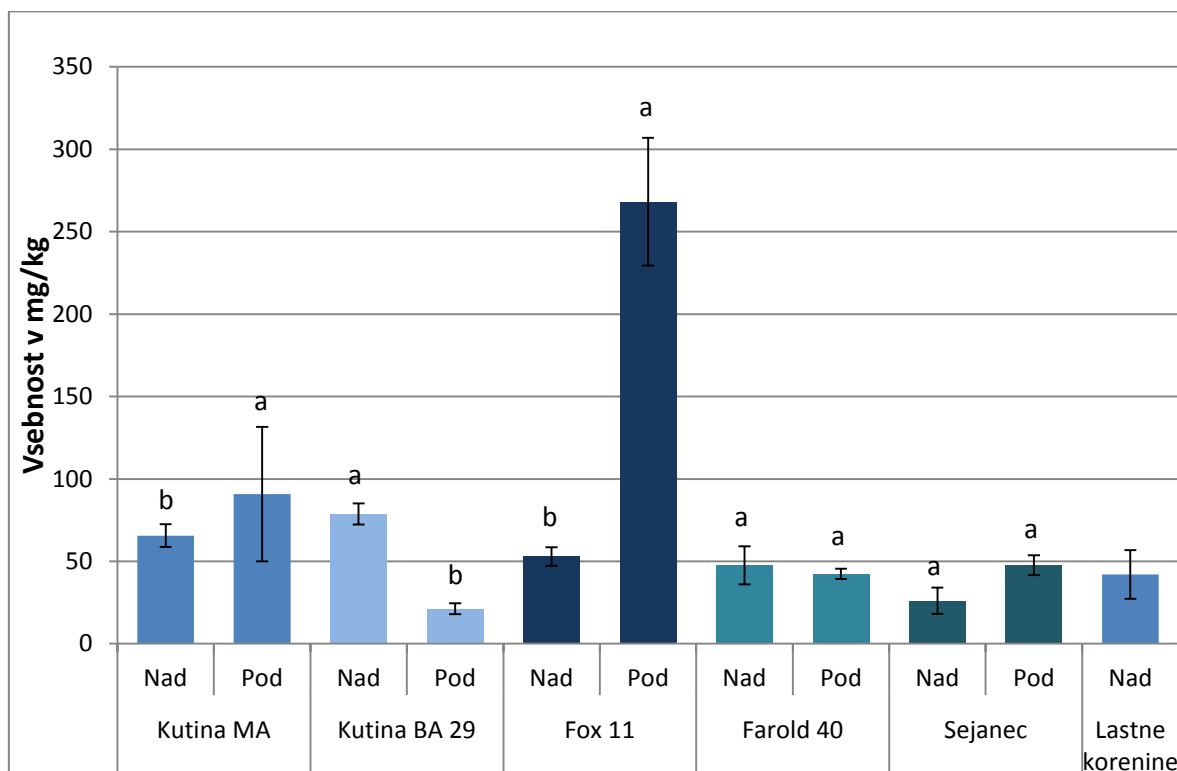
4.1.1 Arbutin



Slika 5: Povprečne vsebnosti arbutina (mg/kg) v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Viljamovka', cepljeno na različne podlage. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) v vsebnosti arbutina znotraj ene podlage.

Arbutin je bil prisoten v vseh analiziranih vzorcih. Statistično značilno večje povprečne vsebnosti arbutina pod cepljenim mestom smo izmerili pri kombinacijah sorte 'Viljamovka' s podlago kutina 'MA' ($511,76 \pm 47,89$ mg/kg) in podlago 'Fox 11' ($4794,28 \pm 370,54$ mg/kg), slednja je imela tudi največjo povprečno vsebnost posamezne fenolne spojine. Pri kombinaciji s podlago kutina 'BA 29' smo izmerili statistično značilno večjo povprečno vsebnost arbutina nad cepljenim mestom ($379,89 \pm 19,43$ mg/kg). Povprečne vsebnosti arbutina nad in pod cepljenim mestom pri ostalih kombinacijah sorte 'Viljamovka' s podlago 'Farold 40' in s sejanecem se statistično niso razlikovale (slika 5).

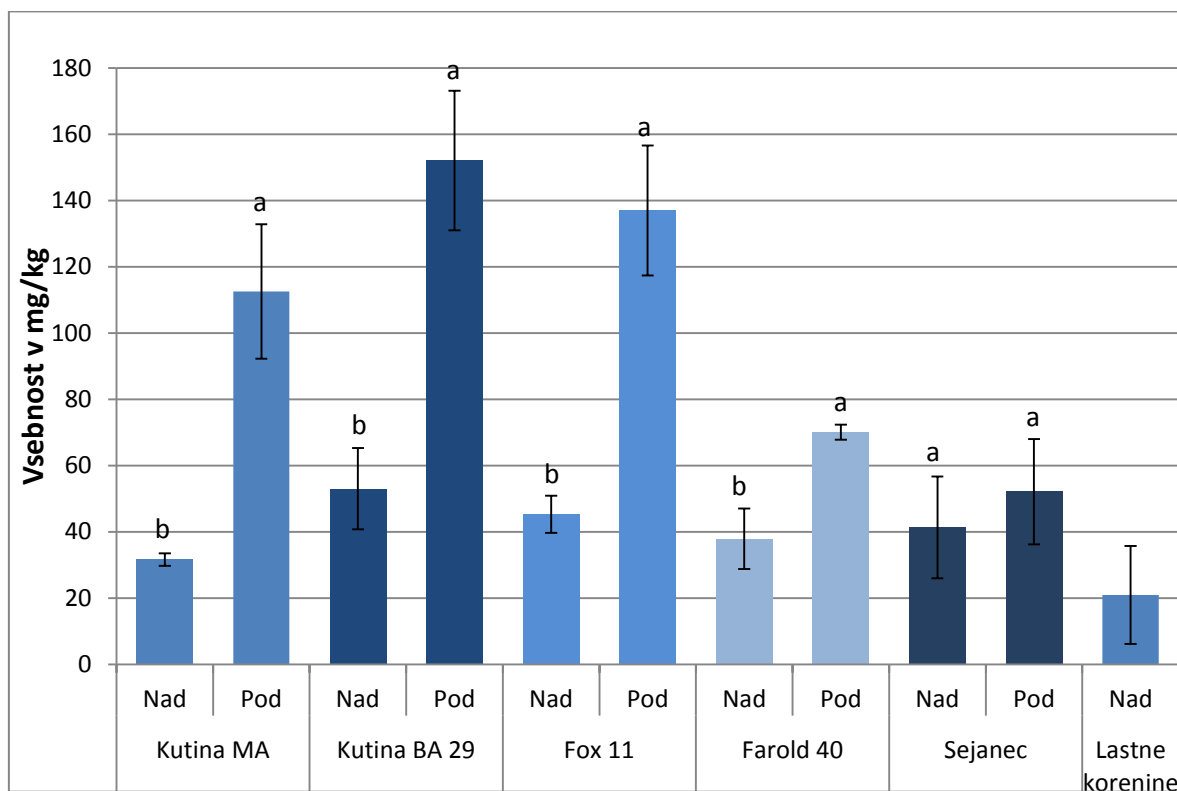
4.1.2 Katehin



Slika 6: Povprečne vsebnosti katehina (mg/kg) v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Viljamovka', cepljeno na različne podlage. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) v vsebnosti katehina znotraj ene podlage.

Analiza je pokazala, da je v vseh vzorcih floema prisoten tudi flavanol katehin. Statistično značilne razlike smo izmerili pri kombinacijah sorte 'Viljamovka' s podlago kutina 'MA' ($90,75 \pm 40,81$ mg/kg) in podlago 'Fox 11' ($268,17 \pm 38,67$ mg/kg), kjer je bila povprečna vsebnost katehina večja pod cepljenim mestom, ter s podlago kutina 'BA 29' ($78,72 \pm 6,45$ mg/kg), kjer je bila večja povprečna vsebnost v tkivu nad cepljenim mestom. Pri kombinacijah 'Viljamovke' s podlagama 'Farold 40' in sejancem se povprečne vsebnosti katehina nad in pod cepljenim mestom niso statistično značilno razlikovale. Največja povprečna vsebnost je bila pri kombinaciji sorte 'Viljamovka' s podlago 'Fox 11' v floemu podlage (slika 6).

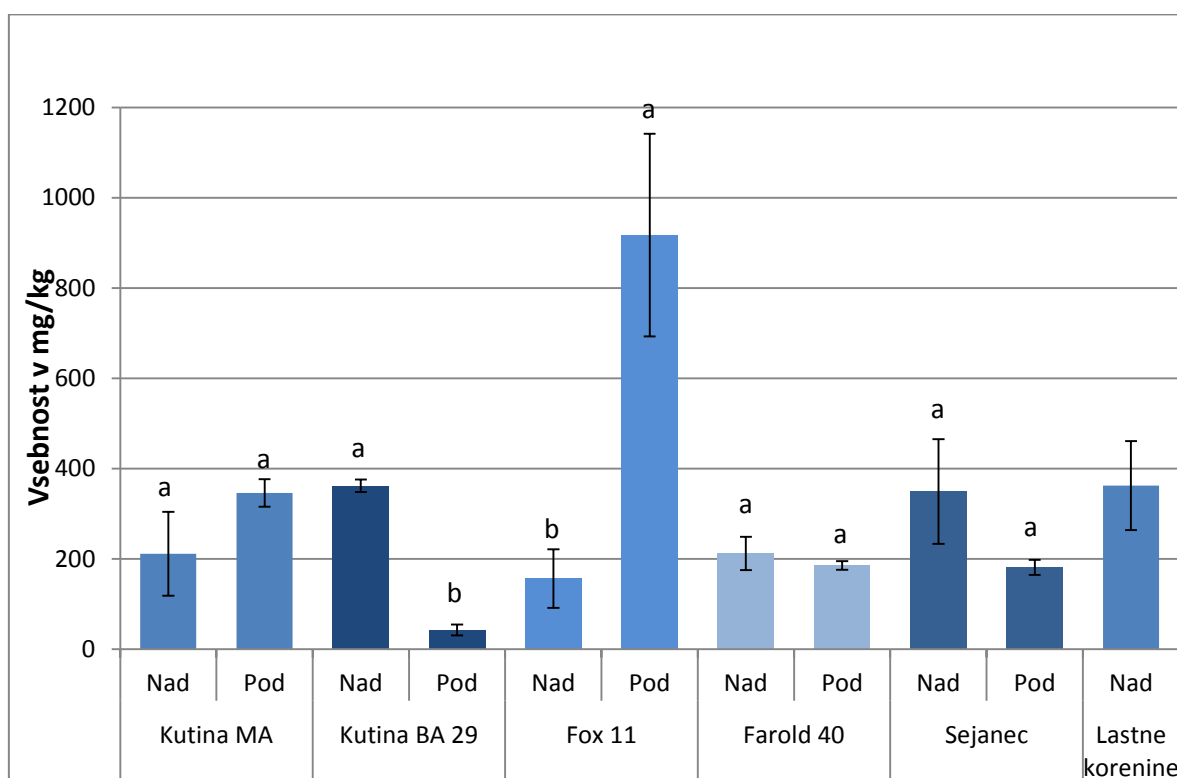
4.1.3 Epikatehin



Slika 7: Povprečne vsebnosti epikatehina (mg/kg) v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Viljamovka', cepljeno na različne podlage. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) v vsebnosti epikatehina znotraj ene podlage.

Epikatehin je bil prisoten v vseh analiziranih tkivih. Statistično značilne razlike v njegovi povprečni vsebnosti so se pokazale pri kombinacijah sorte 'Viljamovka' s podlagami kutina 'MA' ($112,53 \pm 20,27$ mg/kg), kutina 'BA 29' ($152,08 \pm 21,08$ mg/kg), 'Fox 11' ($137 \pm 19,62$ mg/kg) in 'Farold 40' ($70,04 \pm 2,28$ mg/kg), kjer je bila povprečna vsebnost večja pod cepljenim mestom, torej v floemu podlage. Pri vzorcih, kjer je bila sorta cepljena na sejanec, ni bilo statistično značilnih razlik. Največja povprečna vsebnost epikatehina je bila v tkivih podlage kutina 'BA 29' (slika 7).

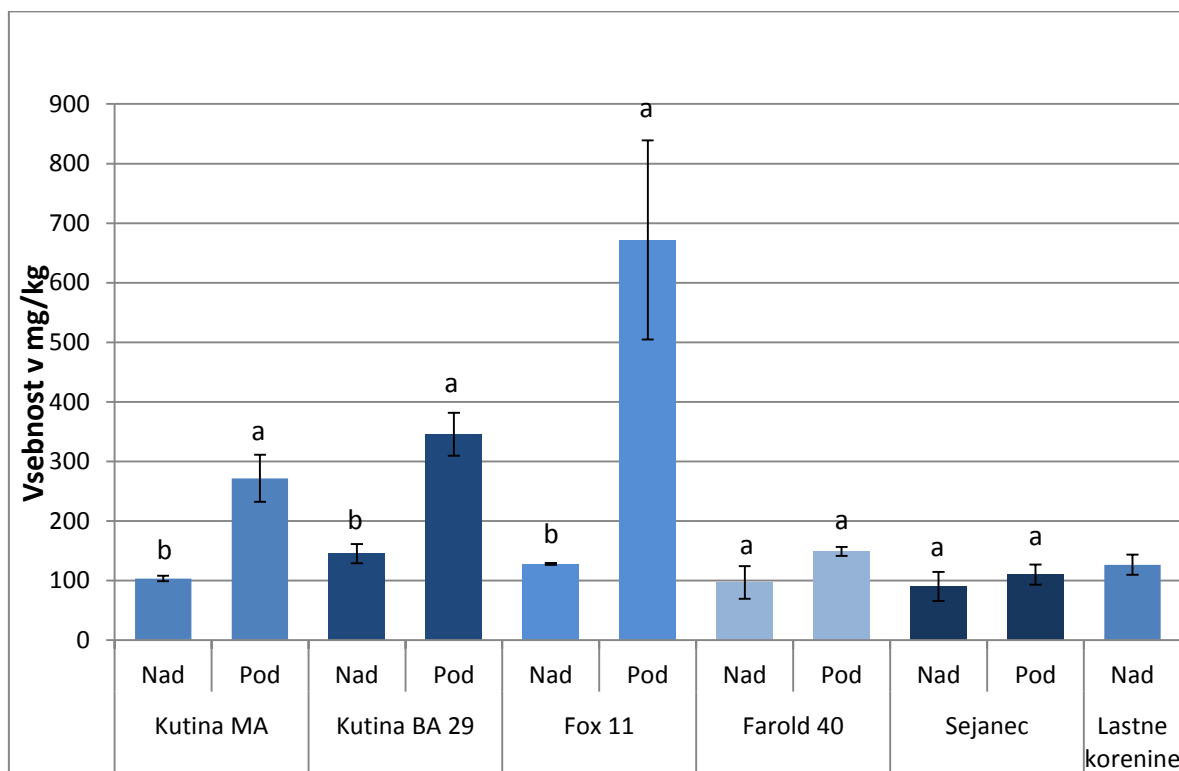
4.1.4 Procianidin B1



Slika 8: Povprečne vsebnosti procianidina B1 (mg/kg) v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Viljamovka', cepljeno na različne podlage. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) v vsebnosti procianidina B1 znotraj ene podlage.

Povprečna vsebnost procianidina B1 nad in pod cepljenim mestom se statistično ni razlikovala pri kombinacijah sorte 'Viljamovka' s podlago kutina 'MA', s podlago 'Farold 40' ter s sejancem. V kombinaciji sorte s podlago kutina 'BA 29' je bila povprečna vsebnost procianidina B2 značilno večja nad cepljenim mestom ($361,83 \pm 13,98$ mg/kg), v kombinaciji s podlago 'Fox 11' pa pod cepljenim mestom ($917,4 \pm 224,31$ mg/kg). Tudi največja povprečna vsebnost procianidina B1 je bila v floemu podlage 'Fox 11' (slika 8).

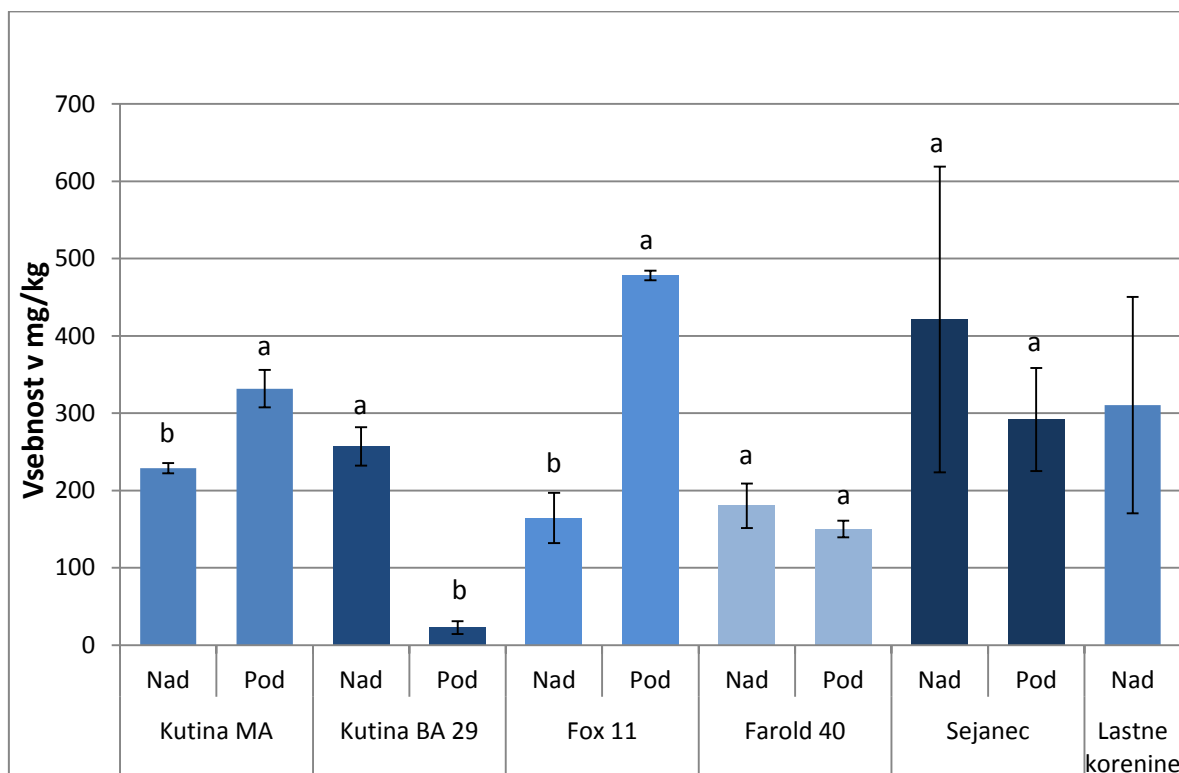
4.1.5 Procianidin B2



Slika 9: Povprečne vsebnosti procianidina B2 (mg/kg) v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Viljamovka', cepljeno na različne podlage. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ($p < 0,05$) v vsebnosti procianidina B2 znotraj ene podlage.

Pri kombinaciji sorte 'Viljamovka' s podlago kutina 'MA' je bila povprečna vsebnost procianidina B2 statistično značilno večja pod cepljenim mestom ($271,7 \pm 39,52$ mg/kg), prav tako tudi pri kombinaciji s podlago kutina 'BA 29' ($345,59 \pm 36,21$ mg/kg) in podlago 'Fox 11' ($671,75 \pm 167,20$ mg/kg). Kombinacije sorte s podlagama 'Farold 40' in s sejancem niso kazale statistično značilnih razlik pod in nad cepljenim mestom (slika 9).

4.1.6 Klorogenska kislina



Slika 10: Povprečne vsebnosti klorogenske kisline (mg/kg) v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Viljamovka', cepljeno na različne podlage. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ($p < 0,05$) v vsebnosti klorogenske kisline znotraj ene podlage.

Vsebnosti klorogenske kisline so se v vzorcih razlikovale. Statistično značilne razlike so bile pri kombinaciji sorte 'Viljamovka' in podlage kutina 'MA', kjer je bila povprečna vsebnost klorogenske kisline večja pod cepljenim mestom ($331,64 \pm 24,24$ mg/kg), prav tako tudi pri kombinaciji s podlago 'Fox 11' ($478,15 \pm 6,11$ mg/kg). Pri kombinaciji sorte s podlago kutina 'BA 29' je bila povprečna vsebnost klorogenske kisline značilno večja nad cepljenim mestom ($257,09 \pm 24,80$ mg/kg). Kombinacije sorte s podlagama 'Farold 40' in s sejancem niso kazale statistično značilnih razlik v vsebnosti klorogenske kisline nad in pod cepljenim mestom (slika 10).

4.1.7 Glikozidi kvercetina

Preglednica 2: Povprečne vsebnosti posameznih glikozidov kvercetina (mg/kg) ± standardna napaka v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Viljamovka', cepljeno na različne podlage. Različne črke v stolpcih označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) v vsebnosti glikozidov kvercetina znotraj ene podlage.

| Podlaga | Mesto vzorčenja | Q-3-galaktozid ^y | Q-3-glukozid | Q-3-rutinozid | Q-3-ramnozid |
|-----------------|-----------------|-----------------------------|----------------|---------------|-----------------|
| Kutina 'MA' | Nad | 0,47 ± 0,01 b | 0,41 ± 0,09 b | 0,85 ± 0,06 a | 0,57 ± 0,10 b |
| | Pod | 0,83 ± 0,10 a | 1,35 ± 0,07 a | 0,80 ± 0,05 a | 1,20 ± 0,13 a |
| Kutina 'BA 29' | Nad | 0,59 ± 0,07 b | 0,43 ± 0,07 b | 0,81 ± 0,14 b | 0,33 ± 0,13 b |
| | Pod | 0,93 ± 0,08 a | 0,94 ± 0,11 a | 1,66 ± 0,07 a | 1,17 ± 0,15 a |
| 'Fox 11' | Nad | 1,20 ± 0,35 b | 0,93 ± 0,14 b | 0,86 ± 0,15 b | 0,27 ± 0,12 b |
| | Pod | 18,89 ± 5,64 a | 16,56 ± 3,37 a | 3,06 ± 0,92 a | 31,95 ± 16,37 a |
| 'Farold 40' | Nad | 0,72 ± 0,09 a | 0,40 ± 0,04 b | 0,91 ± 0,17 a | 0,83 ± 0,11 a |
| | Pod | 0,72 ± 0,09 a | 0,54 ± 0,06 a | 0,84 ± 0,15 a | 0,78 ± 0,09 a |
| Sejanec | Nad | 2,13 ± 0,59 a | 1,50 ± 0,38 a | 2,55 ± 0,88 a | 2,94 ± 1,03 a |
| | Pod | 0,45 ± 0,03 b | 0,77 ± 0,12 a | 0,69 ± 0,22 a | 5,56 ± 2,68 a |
| Lastne korenine | Nad | 2,25 ± 1,27 | 0,85 ± 0,34 | 2,23 ± 1,12 | 1,83 ± 1,27 |

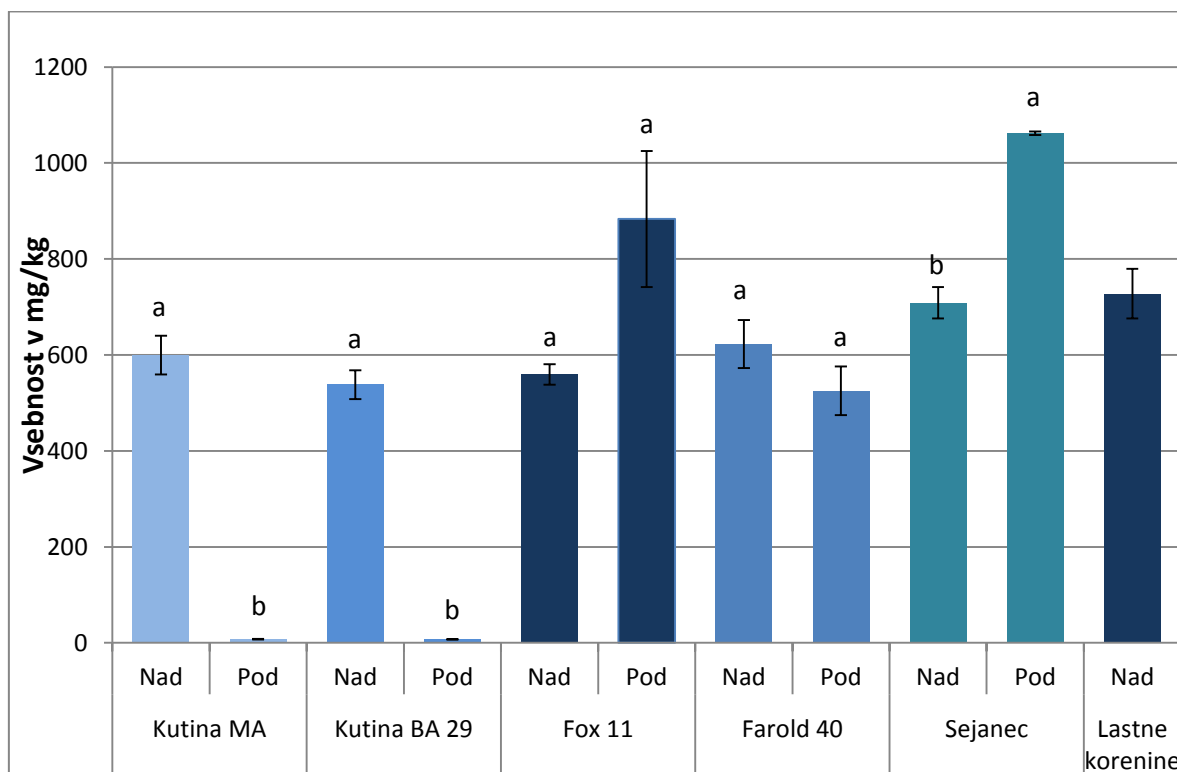
^yQ-3-galaktozid – Kvercetin 3-O-galaktozid; Q-3-glukozid – Kvercetin 3-O-glukozid; Q-3-rutinozid – Kvercetin 3-O-rutinozid; Q-3-ramnozid – Kvercetin 3-O-ramnozid

Pri sorti 'Viljamovka', cepljeni na kutino 'MA', so bile povprečne vsebnosti zaznanih glikozidov kvercetina značilno večje pod cepljenim mestom, razen kvercetin 3-O-rutinozida, pri katerem ni bilo značilnih razlik. Povprečne vsebnosti glikozidov kvercetina so bile značilno večje pod cepljenim mestom tudi pri kombinacijah sorte 'Viljamovka' s kutino 'BA 29' in s podlago 'Fox 11'. Povprečne vsebnosti vseh glikozidov kvercetina so bile daleč največje pri podlagi 'Fox 11'. Pri podlagi 'Farold 40' so bile statistično značilne razlike samo v vsebnosti kvercetin 3-O-glukozida, ki ga je bilo več pod cepljenim mestom. Pri cepljenju na sejanec pa je bilo statistično značilno več kvercetin 3-O-galaktozida nad cepljenim mestom, pri ostalih glikozidih kvercetina ni bilo statistično značilnih razlik (preglednica 2).

4.2 'CONFERENCE'

Pri sorti 'Conference' je na podlagi kutina 'BA 29' propadlo 1 drevo, na podlagi 'Fox 11' pa kar 9 dreves.

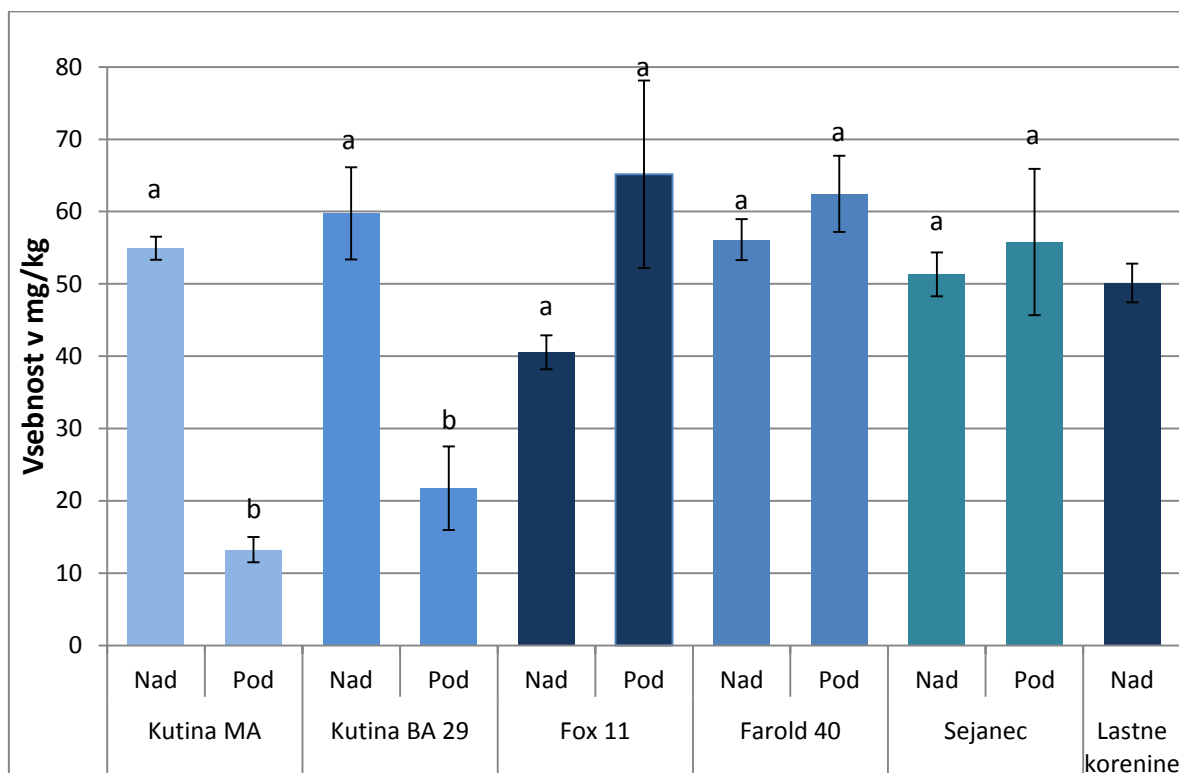
4.2.1 Arbutin



Slika 11: Povprečne vsebnosti arbutina (mg/kg) v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Conference', cepljeno na različne podlage. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) v vsebnosti arbutina znotraj ene podlage.

Iz slike 11 je razvidno, da so obstajale statistično značilne razlike v povprečnih vsebnostih arbutina med vzorci, vzetimi nad in pod cepilnim mestom, v primerih, ko je bila sorta 'Conference' cepljena na podlage kutina 'MA' ($599,79 \pm 40,52$ mg/kg), kutina 'BA 29' ($538,23 \pm 30,04$ mg/kg) in na sejanec ($1062,3 \pm 3,70$ mg/kg). Pri kombinacijah s kutino je bila povprečna vsebnost arbutina večja nad cepljenim mestom, v kombinaciji s sejancem pa je bilo arbutina več pod cepljenim mestom. Pri cepljenju sorte 'Conference' na podlagi 'Fox 11' in 'Farold 40' ni bilo značilnih razlik med odvzetimi vzorci. Največjo povprečno vsebnost smo izmerili v vzorcih odvzetih pod cepljenim mestom pri sejancu.

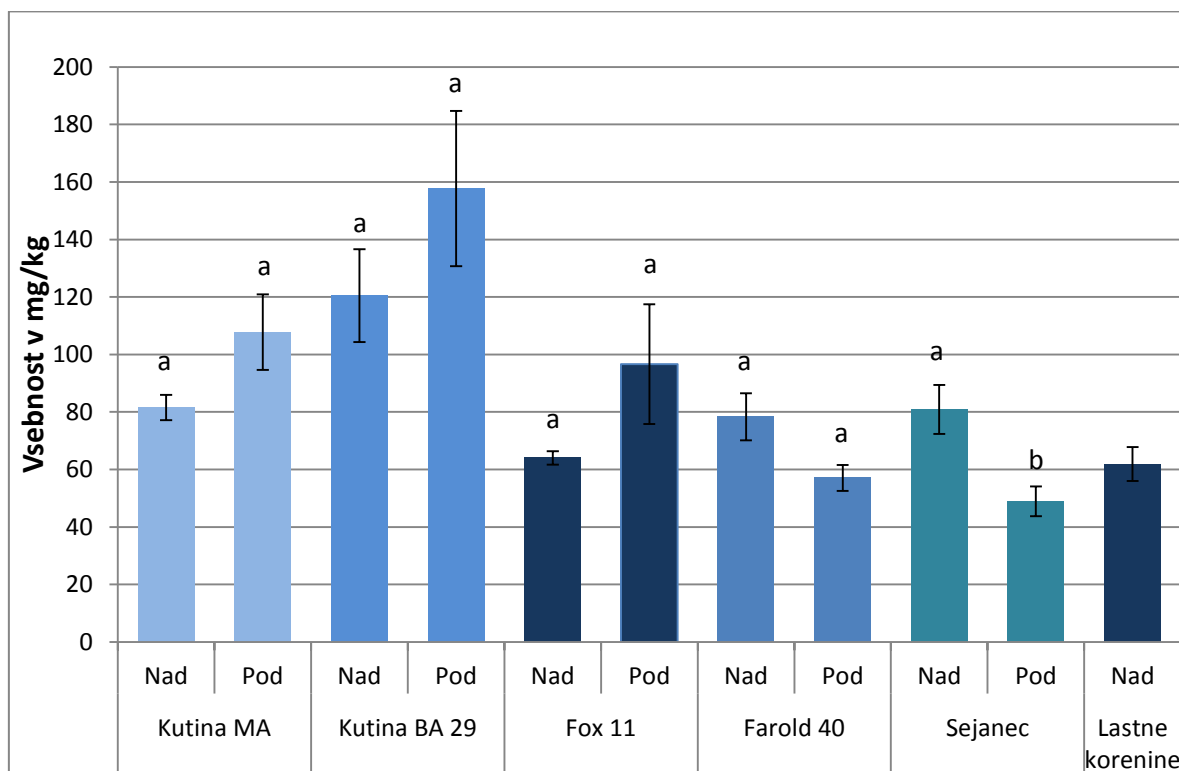
4.2.2 Katehin



Slika 12: Povprečne vsebnosti katehina (mg/kg) v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Conference', cepljeno na različne podlage. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ($p < 0,05$) v vsebnosti katehina znotraj ene podlage.

Statistično značilne razlike v povprečnih vsebnostih katehina nad in pod cepljenim mestom so obstajale v kombinacijah sorte 'Conference' s podlagama kutina 'MA' ($54,93 \pm 1,60$ mg/kg) in kutina 'BA 29' ($59,76 \pm 6,36$ mg/kg), kjer so bile večje povprečne vsebnosti nad cepljenim mestom. Pri kombinacijah z ostalimi podlagami ni bilo statistično značilnih razlik (slika 12).

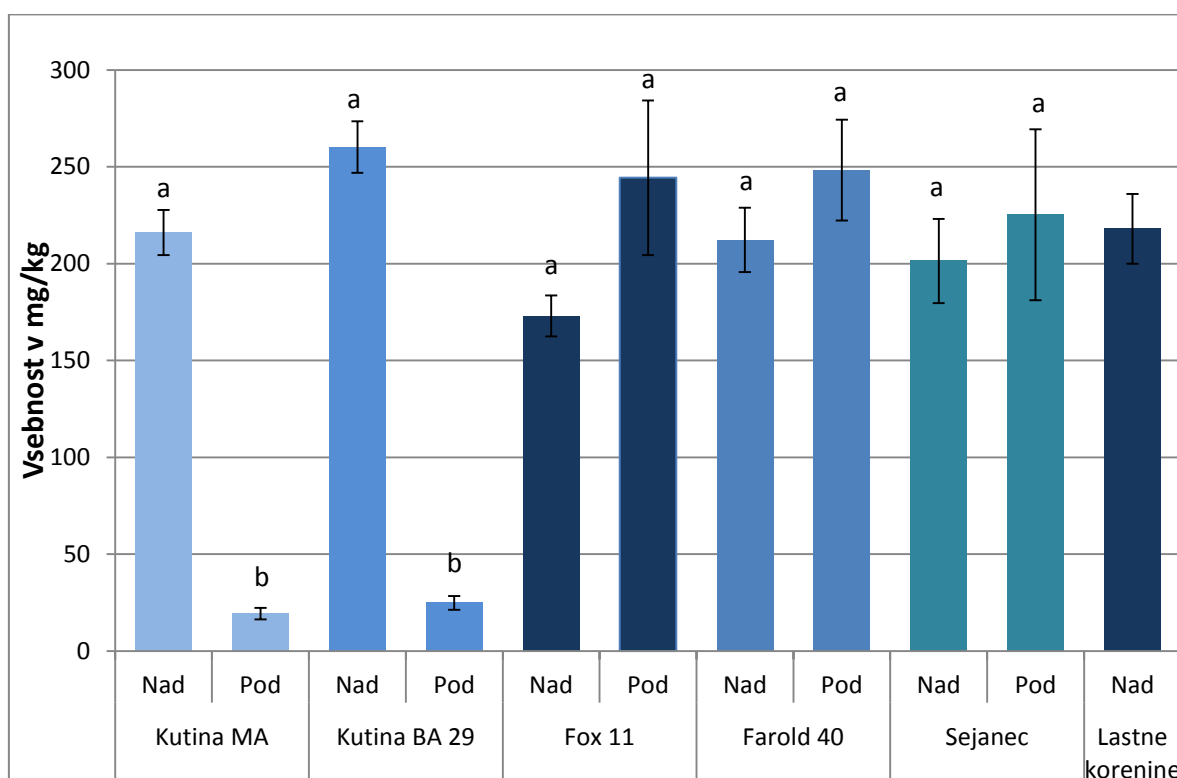
4.2.3 Epikatehin



Slika 13: Povprečne vsebnosti epikatehina (mg/kg) v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Conference', cepljeno na različne podlage. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ($p < 0,05$) v vsebnosti epikatehina znotraj ene podlage.

Statistično značilne razlike v povprečni vsebnosti epikatehina so pri kombinaciji sorte 'Conference' cepljene na sejanec. Povprečne vsebnosti so bile večje nad cepljenim mestom ($80,89 \pm 8,51$ mg/kg). Pri drugih kombinacijah sorte 'Conference' s podlagami ni značilnih razlik (slika 13).

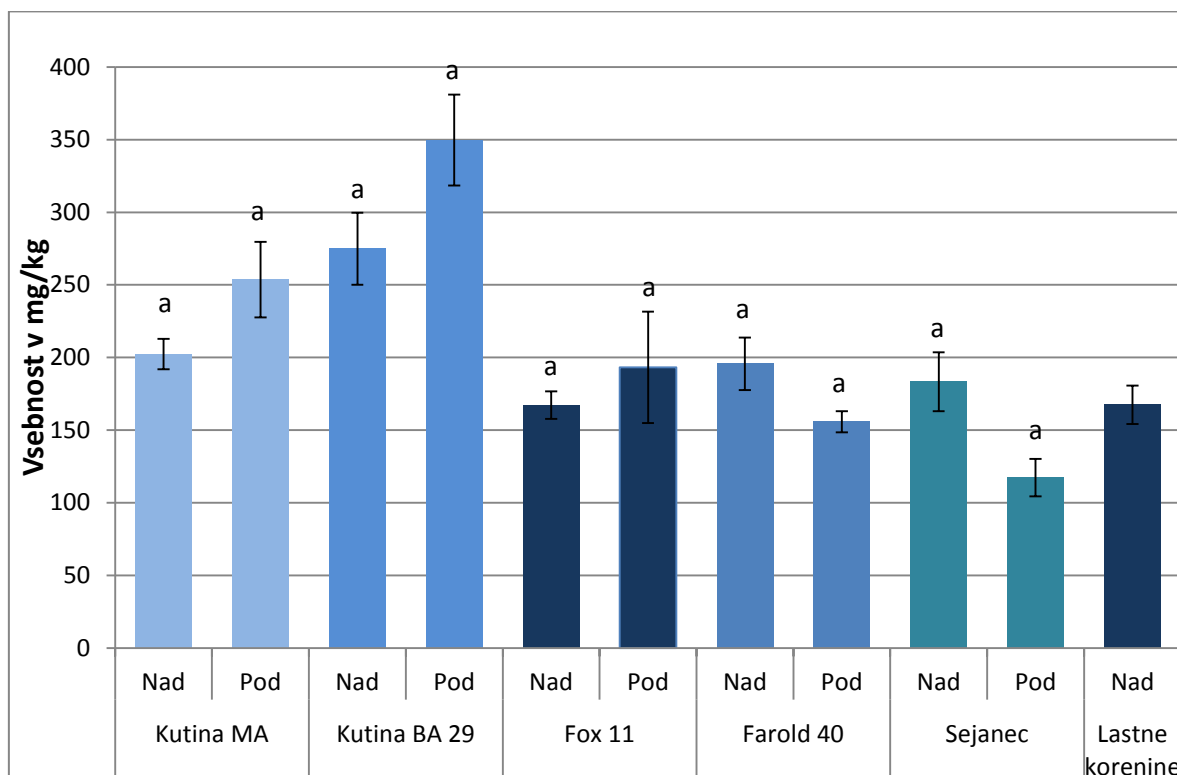
4.2.4 Procianidin B1



Slika 14: Povprečne vsebnosti procianidina B1 (mg/kg) v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Conference', cepljeno na različne podlage. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ($p < 0,05$) v vsebnosti procianidina B1 znotraj ene podlage.

Kombinacije sorte 'Conference' s podlagami kutina 'MA' ($216,04 \pm 11,63$ mg/kg) in kutina 'BA 29' ($260,15 \pm 13,31$ mg/kg) kažeta statistično značilne razlike v povprečnih vsebnostih procianidina B1 v vzorcih odvzetih nad cepljenim mestom glede na vzorce odvzete pod cepljenim mestom. Prišlo je do kopičenja procianidina B1 nad cepljenim mestom. Ostale kombinacije ne kažejo statistično značilnih razlik v povprečnih vsebnostih procianidina B1 nad in pod cepljenim mestom (slika 14).

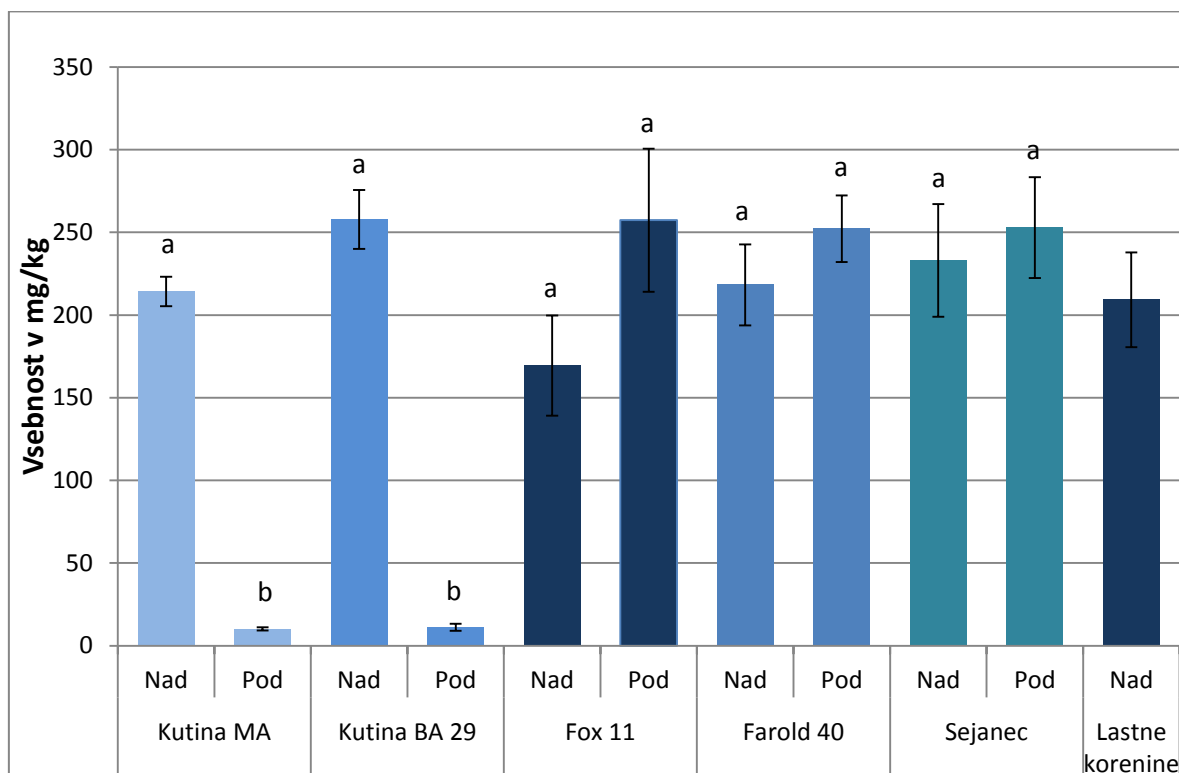
4.2.5 Procianidin B2



Slika 15: Povprečne vsebnosti procianidina B2 (mg/kg) v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Conference', cepljeno na različne podlage. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ($p < 0,05$) v vsebnosti procianidina B2 znotraj ene podlage.

Na sliki 15 je razvidno, da pri nobeni kombinaciji sorte 'Conference' s podlagami ni bilo statistično značilnih razlik v povprečnih vsebnostih procianidina B2 nad in pod cepljenim mestom.

4.2.6 Klorogenska kislina



Slika 16: Povprečne vsebnosti klorogenske kisline (mg/kg) v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Conference', cepljeno na različne podlage. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ($p < 0,05$) v vsebnosti klorogenske kisline znotraj ene podlage.

Povprečne vsebnosti klorogenske kisline nad in pod cepljenim mestom so se statistično značilno razlikovale v kombinacijah sorte 'Conference' s podlagama kutina 'MA' ($214,22 \pm 8,93$ mg/kg) in kutina 'BA 29' ($257,76 \pm 17,84$ mg/kg), kje je bilo več klorogenske kisline nad cepljenim mestom. Pri kombinacijah s podlagami 'Fox 11', 'Farold 40' in sejancem niso obstajale statistično značilne razlike v vsebnosti klorogenske kisline pod in nad cepljenim mestom (slika 16).

4.2.7 Glikozidi kvercetina

Preglednica 3: Povprečne vsebnosti posameznih glikozidov kvercetina (mg/kg) ± standardna napaka v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Conference', cepljeno na različne podlage. Različne črke v stolpcih označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) v vsebnosti glikozidov kvercetina znotraj ene podlage.

| Podlaga | Mesto vzorčenja | Q-3-galaktozid ^y | Q-3-glukozid | Q-3-rutinozid | Q-3-ramnozid |
|-----------------|-----------------|-----------------------------|---------------|---------------|---------------|
| Kutina 'MA' | Nad | 0,50 ± 0,07 a | 0,76 ± 0,03 a | 1,06 ± 0,03 a | 0,36 ± 0,08 a |
| | Pod | 0,62 ± 0,07 a | 0,68 ± 0,06 a | 0,77 ± 0,27 a | 0,34 ± 0,03 a |
| Kutina 'BA 29' | Nad | 0,39 ± 0,11 a | 0,84 ± 0,13 a | 1,14 ± 0,04 a | 0,31 ± 0,19 a |
| | Pod | 0,74 ± 0,12 a | 0,70 ± 0,07 a | 1,41 ± 0,16 a | 0,38 ± 0,02 a |
| 'Fox 11' | Nad | 0,39 ± 0,05 a | 0,61 ± 0,04 a | 1,14 ± 0,05 a | 0,52 ± 0,08 b |
| | Pod | 0,40 ± 0,06 a | 0,80 ± 0,14 a | 0,72 ± 0,17 a | 1,61 ± 0,07 a |
| 'Farold 40' | Nad | 0,59 ± 0,11 a | 0,67 ± 0,03 a | 1,21 ± 0,15 a | 0,43 ± 0,06 a |
| | Pod | 0,61 ± 0,09 a | 0,72 ± 0,09 a | 1,06 ± 0,12 a | 1,45 ± 0,43 a |
| Sejanec | Nad | 1,59 ± 0,39 a | 1,11 ± 0,19 a | 1,21 ± 0,09 a | 1,39 ± 0,62 a |
| | Pod | 0,87 ± 0,40 a | 0,81 ± 0,25 a | 0,21 ± 0,70 a | 0,94 ± 0,17 a |
| Lastne korenine | Nad | 0,20 ± 0,03 | 0,54 ± 0,03 | 0,97 ± 0,12 | 0,06 ± 0,01 |

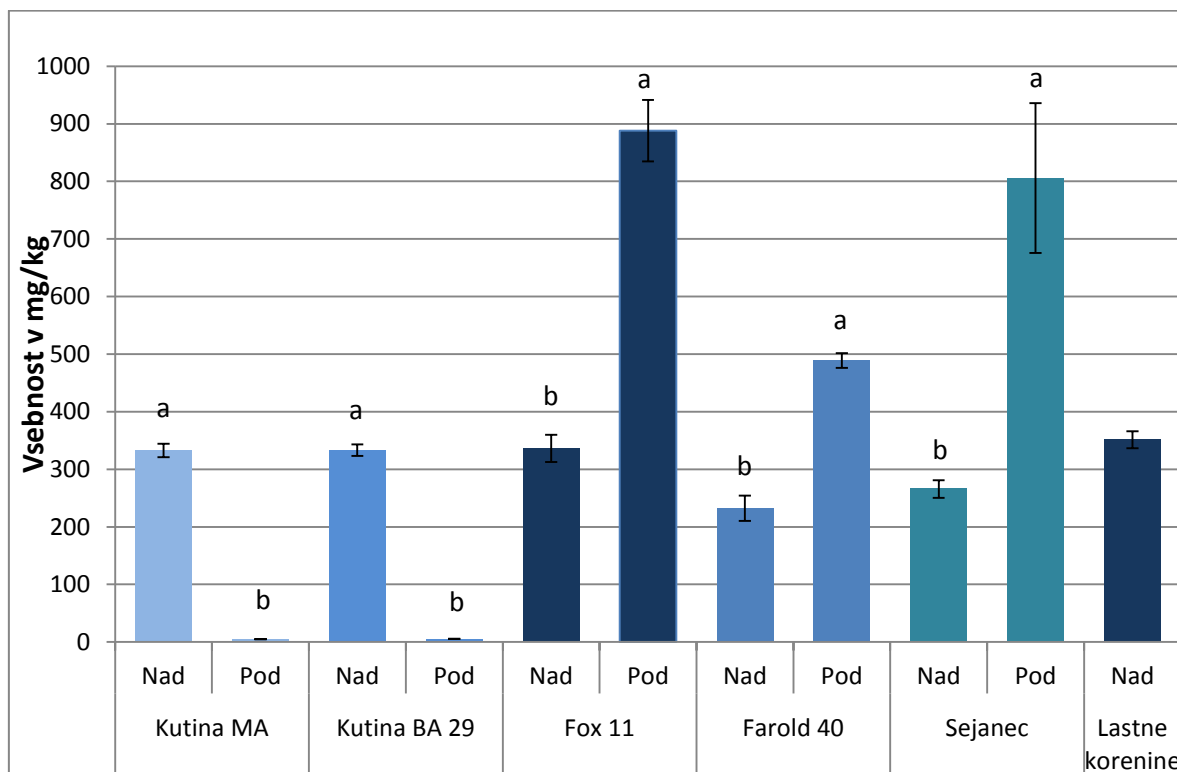
^yQ-3-galaktozid – Kvercetin 3-O-galaktozid; Q-3-glukozid – Kvercetin 3-O-glukozid; Q-3-rutinozid – Kvercetin 3-O-rutinozid; Q-3-ramnozid – Kvercetin 3-O-ramnozid

Pri vseh kombinacijah cepljenja sorte 'Conference' na različne podlage ni bilo statistično značilnih razlik, razen v primeru cepljenja sorte na podlago 'Fox 11', ko je bilo kvercetin 3-O-ramnozida več pod cepljenim mestom (preglednica 3).

4.3 'ABATE FETEL'

Pri sorti 'Abate Fetel' je na sejancu propadlo 1 drevo, na podlagi 'Fox 11' pa 6 dreves.

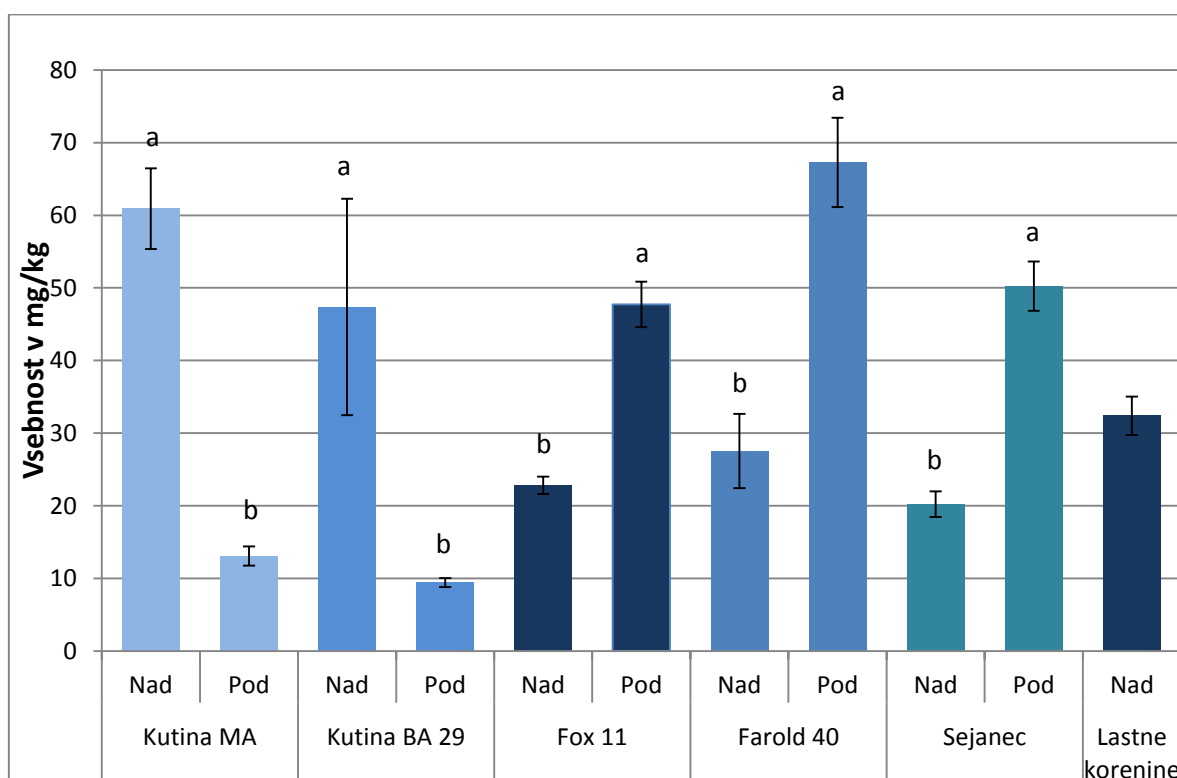
4.3.1 Arbutin



Slika 17: Povprečne vsebnosti arbutina (mg/kg) v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Abate Fetel', cepljeno na različne podlage. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) v vsebnosti arbutina znotraj ene podlage.

Statistična analiza je pokazala, da obstajajo statistično značilne razlike v povprečnih vsebnostih arbutina nad in pod cepljenim mestom pri vseh kombinacijah cepljenja sorte 'Abate Fetel' na različne podlage. Pri cepljenju na kutino 'MA' ($332,62 \pm 11,79$ mg/kg) in kutino 'BA 29' ($333,26 \pm 10,24$) je večja povprečna vsebnost arbutina nad cepljenim mestom, pri cepljenju na podlage 'Fox 11' ($888,25 \pm 53,30$ mg/kg), 'Farold 40' ($489,05 \pm 12,77$ mg/kg) in na sejanece ($805,80 \pm 130,02$ mg/kg) pa so večje povprečne vsebnosti pod cepljenim mestom (slika 17).

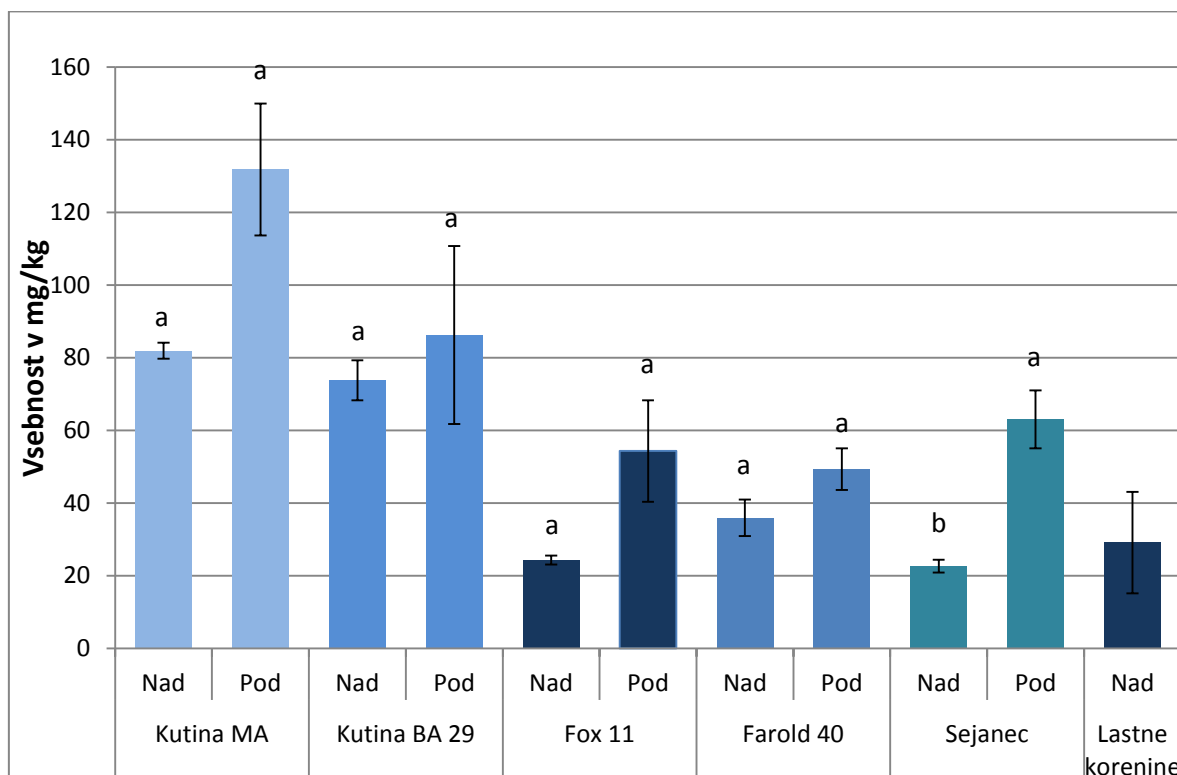
4.3.2 Katehin



Slika 18: Povprečne vsebnosti katehina (mg/kg) v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Abate Fetel', cepljeno na različne podlage. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) v vsebnosti katehina znotraj ene podlage.

Povprečne vsebnosti katehina pri kombinacijah cepljenja sorte 'Abate Fetel' na podlagah kutina 'MA' ($60,89 \pm 5,55$ mg/kg) in kutina 'BA 29' ($47,37 \pm 14,91$ mg/kg) so bile statistično značilno večje nad cepljenim mestom. Statistično značilno večje povprečne vsebnosti katehina pod cepljenim mestom pa so bile pri kombinacijah s podlagami 'Fox 11' ($47,74 \pm 3,12$ mg/kg), 'Farold 40' ($67,27 \pm 6,16$ mg/kg) in s sejancem ($50,24 \pm 3,39$ mg/kg) (slika 18).

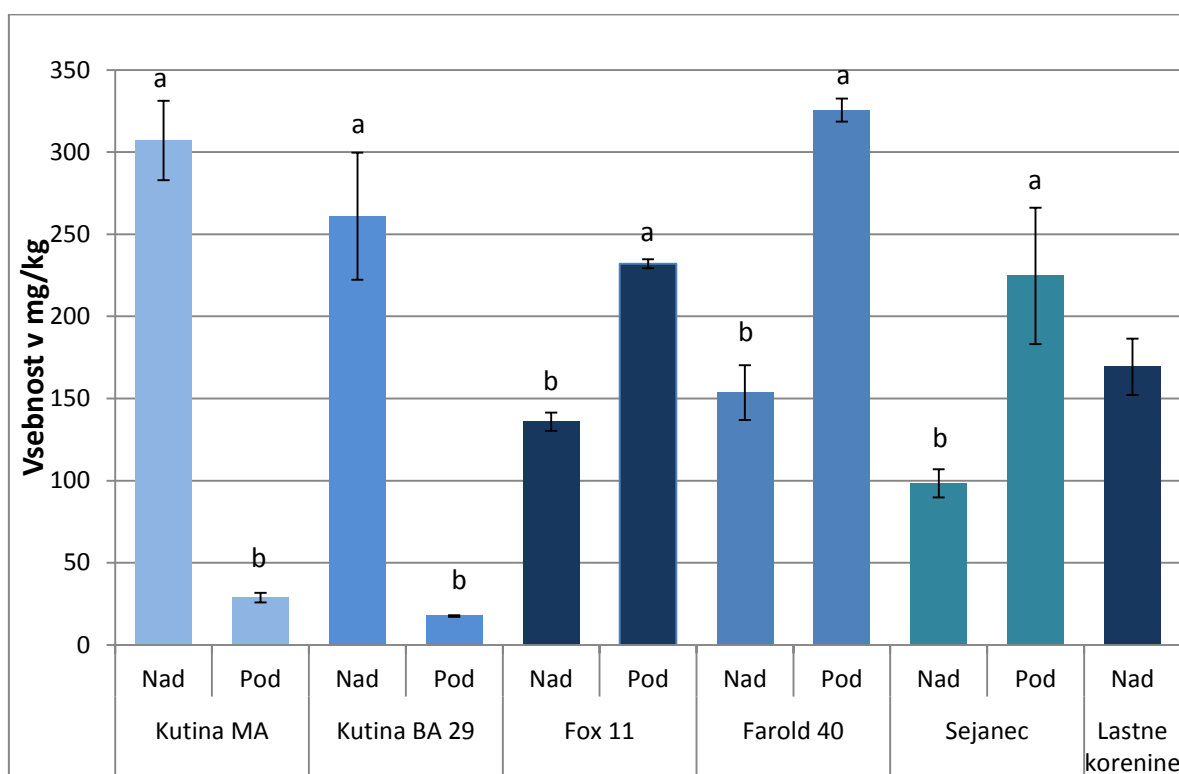
4.3.3 Epikatehin



Slika 19: Povprečne vsebnosti epikatehina (mg/kg) v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Abate Fetel', cepljeno na različne podlage. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) v vsebnosti epikatehina znotraj ene podlage.

Povprečna vsebnost epikatehina nad in pod cepljenim mestom se ni statistično značilno razlikoval pri cepljenjih sorte 'Abate Fetel' na podlage kutina 'MA', kutina 'BA 29', 'Fox 11' in 'Farold 40'. Statistično značilna razlika pa je opazna pri kombinaciji sorte 'Abate Fetel' na sejancu, kjer je bila povprečna vsebnost epikatehina večja pod cepljenim mestom ($63,04 \pm 7,94$ mg/kg) (slika 19).

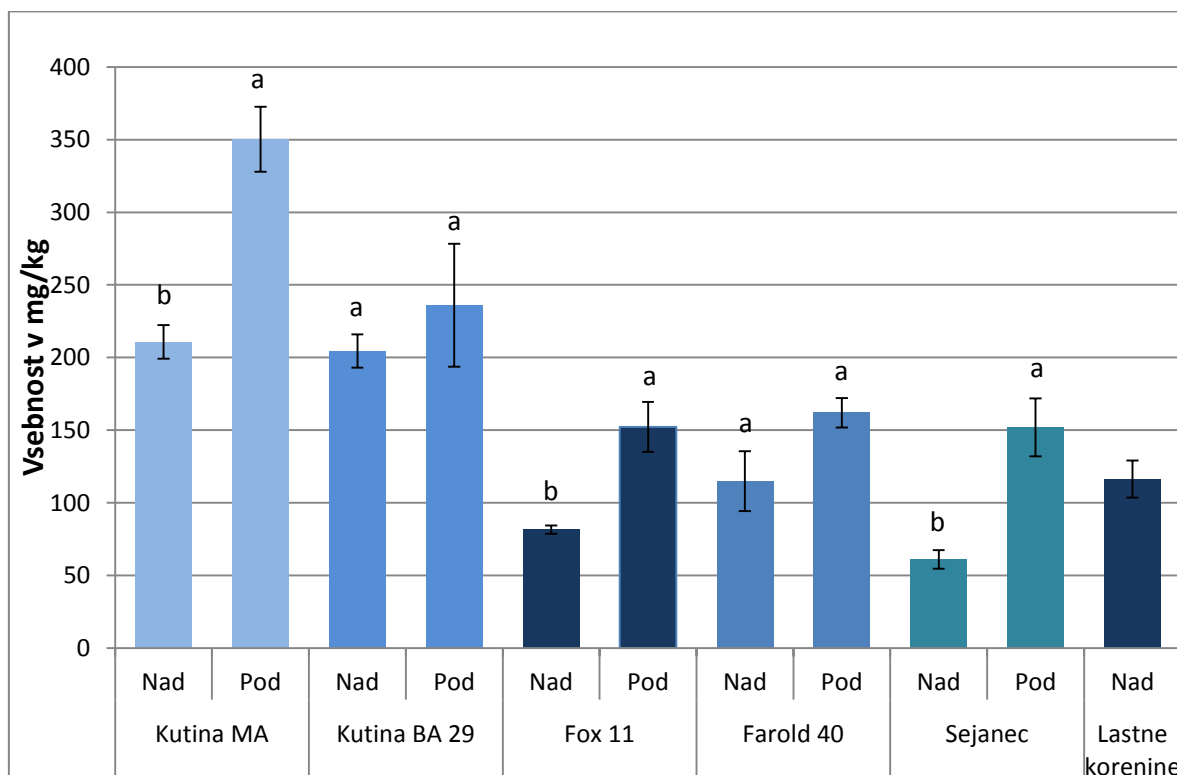
4.3.4 Procianidin B1



Slika 20: Povprečne vsebnosti procianidina B1 (mg/kg) v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Abate Fetel', cepljeno na različne podlage. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ($p < 0,05$) v vsebnosti procianidina B1 znotraj ene podlage.

Analiza vzorcev odvzetih nad in pod cepljenim mestom pri drevesih sorte 'Abate Fetel', cepljenih na kutino 'MA' ($307,13 \pm 24,16$ mg/kg) in kutino 'BA 29' ($260,98 \pm 38,71$ mg/kg) je pokazala statistično značilno večje povprečne vsebnosti procianidina B1 nad cepljenim mestom. Pri cepljenju na podlage 'Fox 11' ($232,03 \pm 2,66$ mg/kg), 'Farold 40' ($325,62 \pm 7,05$ mg/kg) in sejanec ($224,71 \pm 41,53$ mg/kg) pa so statistično značilno večje povprečne vsebnosti pod cepljenim mestom (slika 20).

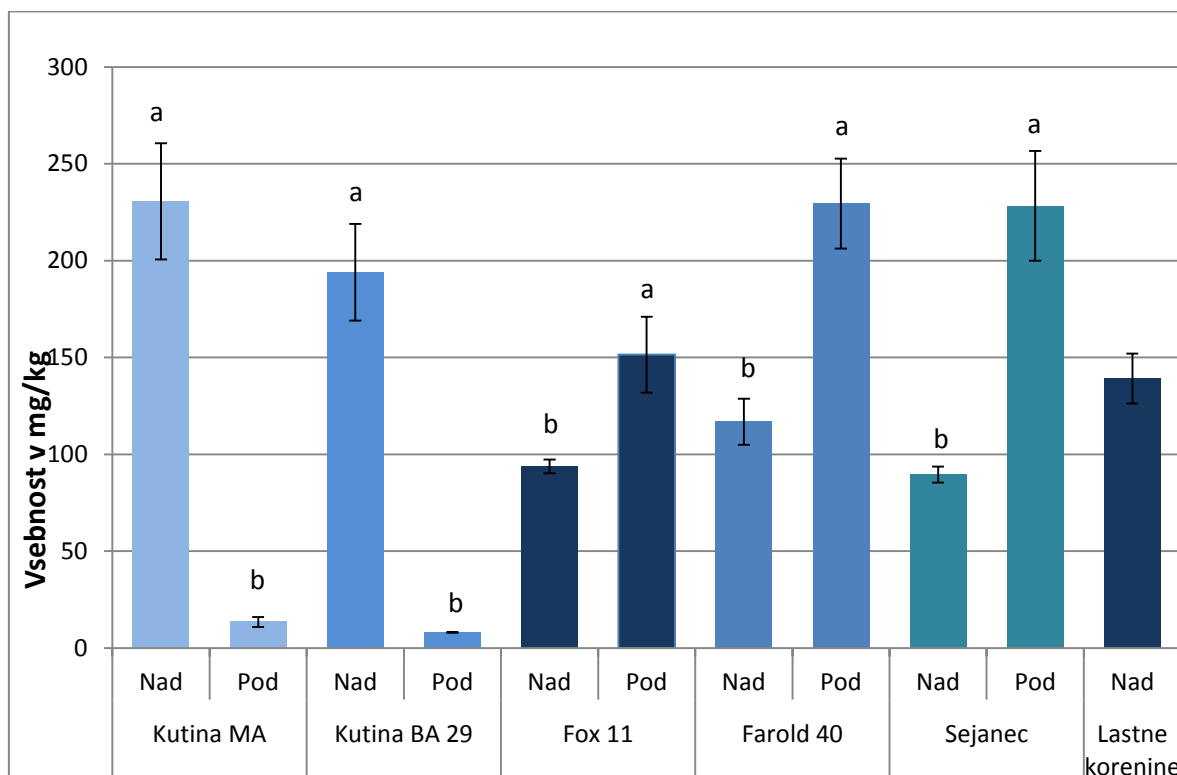
4.3.5 Procianidin B2



Slika 21: Povprečne vsebnosti procianidina B2 (mg/kg) v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Abate Fetel', cepljeno na različne podlage. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ($p < 0,05$) v vsebnosti procianidina B2 znotraj ene podlage.

Statistično značilne razlike v povprečnih vsebnostih procianidina B2 smo analizirali pri kombinacijah cepljenja sorte 'Abate Fetel' na podlage kutina 'MA' ($350,28 \pm 22,40$ mg/kg), 'Fox 11' ($152,33 \pm 17,21$ mg/kg) in na sejanec ($151,93 \pm 19,97$ mg/kg), kjer so bile povprečne vsebnosti večje pod cepljenim mestom. Pri cepljenju na podlagi kutina 'BA 29' in na 'Farold 40' pa ni bilo statistično značilnih razlik v povprečnih vsebnostih procianidina B2 nad in pod cepljenim mestom (slika 21).

4.3.6 Klorogenska kislina



Slika 22: Povprečne vsebnosti klorogenske kisline (mg/kg) v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Abate Fetel', cepljeno na različne podlage. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ($p < 0,05$) v vsebnosti klorogenske kisline znotraj ene podlage.

Povprečne vsebnosti klorogenske kisline v floemu so bile statistično značilno večje nad cepljenim mestom pri sorti 'Abate Fetel' cepljeni na podlagi kutina 'MA' ($230,67 \pm 29,96$ mg/kg) in kutina 'BA 29' ($193,95 \pm 24,96$ mg/kg). Pri kombinacijah s podlagami 'Fox 11' ($151,49 \pm 19,64$ mg/kg), 'Farold 40' ($229,48 \pm 23,17$ mg/kg) in s sejancem ($228,30 \pm 28,35$ mg/kg) pa so bile povprečne vsebnosti klorogenske kisline značilno večje pod cepljenim mestom (slika 22).

4.3.7 Glikozidi kvercetina

Preglednica 4: Povprečne vsebnosti posameznih glikozidov kvercetina (mg/kg) ± standardna napaka v floemu nad in pod cepljenim mestom za sorto 'Abate Fetel', cepljeno na različne podlage. Različne črke v stolpcih označujejo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) v vsebnosti glikozidov kvercetina znotraj ene podlage.

| Podlaga | Mesto vzorčenja | Q-3-galaktozid ^y | Q-3-glukozid | Q-3-rutinozid | Q-3-ramnozid |
|-----------------|-----------------|-----------------------------|---------------|---------------|---------------|
| 'Kutina 'MA' | Nad | 1,00 ± 0,22 a | 0,76 ± 0,13 a | 3,86 ± 0,82 a | 1,32 ± 0,47 a |
| | Pod | 0,76 ± 0,11 a | 0,68 ± 0,08 a | 1,13 ± 0,07 b | 0,33 ± 0,06 a |
| 'Kutina 'BA 29' | Nad | 0,72 ± 0,28 a | 0,62 ± 0,13 a | 3,65 ± 0,59 a | 0,76 ± 0,38 a |
| | Pod | 0,85 ± 0,11 a | 0,79 ± 0,07 a | 1,30 ± 0,20 b | 0,66 ± 0,05 a |
| 'Fox 11' | Nad | 1,03 ± 0,19 a | 0,55 ± 0,14 a | 3,27 ± 0,24 a | 1,41 ± 0,51 a |
| | Pod | 0,19 ± 0,05 b | 0,78 ± 0,15 a | 0,58 ± 0,15 b | 0,65 ± 0,12 a |
| 'Farold 40' | Nad | 1,79 ± 0,62 a | 1,08 ± 0,38 a | 2,85 ± 0,33 a | 3,46 ± 1,72 a |
| | Pod | 0,45 ± 0,04 a | 0,53 ± 0,06 a | 0,72 ± 0,13 b | 0,96 ± 0,07 a |
| Sejanec | Nad | 0,71 ± 0,13 a | 0,38 ± 0,05 b | 1,80 ± 0,12 a | 0,26 ± 0,08 b |
| | Pod | 0,72 ± 0,24 a | 1,00 ± 0,09 a | 1,36 ± 0,37 a | 2,46 ± 0,69 a |
| Lastne korenine | Nad | 0,76 ± 0,10 | 0,62 ± 0,06 | 2,68 ± 0,04 | 0,52 ± 0,09 |

^yQ-3-galaktozid – Kvercetin 3-O-galaktozid; Q-3-glukozid – Kvercetin 3-O-glukozid; Q-3-rutinozid – Kvercetin 3-O-rutinozid; Q-3-ramnozid – Kvercetin 3-O-ramnozid

Povprečne vsebnosti kvercetin 3-O-rutinozida so bile statistično značilno večje nad cepljenim mestom pri kombinacijah cepljenja sorte 'Abate Fetel' na podlage kutina 'MA', kutina 'BA 29' in 'Farold 40'. V povprečnih vsebnostih ostalih glikozidov kvercetina pri teh kombinacijah ni bilo statistično značilnih razlik. Kombinacija sorte 'Abate Fetel' s podlago 'Fox 11' je pokazala statistično značilne razlike pri kvercetin 3-O-galaktozidu in kvercetin 3-O-rutinozidu, katerih vsebnosti so bile večje nad cepljenim mestom. Analiza vzorcev, pri katerih je bila kot podlaga uporabljen sejanec, je pokazala drugačno sliko. Statistično značilne razlike so obstajale pri kvercetin 3-O-glukozidu in kvercetin 3-O-ramnozidu. Obeh je bilo več pod cepljenim mestom (preglednica 4).

5 RAZPRAVA

5.1 'VILJAMOVKA'

Največji delež vseh analiziranih fenolnih snovi pri kombinacijah sorte 'Viljamovka' s podlagami je predstavljal arbutin. Pri cepilni zvezi sorte 'Viljamovka' s podlago kutina 'MA' in podlago 'Fox 11' so bile povprečne vsebnosti vseh fenolnih spojin večje pod cepljenim mestom. Največje povprečne vsebnosti posamezne fenolne spojine, tudi glikozidov kvercetina, so bile izmerjene pri kombinaciji s podlago 'Fox 11' pod cepljenim mestom, razen epikatehina, katerega smo največ analizirali pod cepljenim mestom s kutino 'BA 29'. Kombinacija s podlago kutina 'BA 29' je izstopala tudi, ker smo določili večje povprečne vsebnosti flavanolov nad cepljenim mestom. Nad cepljenim mestom, torej v floemu sorte 'Viljamovka', so bile večje vsebnosti arbutina, katehina, procianidina B1 ter klorogenske kisline.

Errea (1998) ugotavlja, da lahko razlike v fenolnem vzorcu med podlago in cepičem vodijo v metabolne napake v cepilni zvezi, kar lahko vodi do pojava inkompatibilnosti. Fenolni vzorec pri sorti 'Viljamovka' in sejancu se ni razlikoval. Pri podlagi 'Farold 40', ki velja za dobro skladno s sorto 'Viljamovka' (Dondini in Sansavini, 2012), so obstajale samo majhne razlike pri vsebnosti epikatehina in kvercetin 3-O-glukozida, pri ostalih fenolnih spojinah ni bilo razlik.

Dondini in Sansavini (2012) navajata, da je 'Viljamovka' zelo slabo kompatibilna s podlagami kutine, kar nakazujejo tudi naši podatki, saj so se fenolni vzorci kutine 'MA', kutine 'BA 29' in sorte 'Viljamovka' zelo razlikovali. Musacchi in sod. (2000) so ugotovili, da so bile vsebnosti epikatehina in procianidina B2 večje v tkivih kutine kot v tkivih hruške, kar soupada z našimi rezultati.

Različna fenolna vzorca pa sta imela tudi sorta 'Viljamovka' in podlaga 'Fox 11'. Godec in sod. (2011b) navajajo, da podlaga 'Fox 11' ni primerna za sorto 'Viljamovka', saj se že v prvih letih pojavijo izraziti znaki inkompatibilnosti, propadlo pa je tudi po 9 dreves na tej podlagi pri sorti 'Viljamovka' in 'Conference' ter 6 dreves pri sorti 'Abate Fetel'.

5.2 'CONFERENCE'

Cepilne zveze sorte 'Conference' s podlagami kutine (kutina 'MA', kutina 'BA 29') so pokazale večje vsebnosti večine fenolnih spojin nad cepljenim mestom, manjše vsebnosti nad cepljenim mestom so bile le pri epikatehinu in procianidinu B2, vendar te razlike niso bile statistično značilne. Pri kombinacijah s podlagama 'Fox 11' in 'Farold 40' ni bilo statistično značilnih razlik v povprečnih vsebnostih fenolnih spojin, toda povprečne vsebnosti flavanolov pri kombinaciji s podlago 'Fox 11' so bile nekoliko večje pod cepljenim mestom.

Pri glikozidih kvercetina ni bilo pri nobeni podlagi razlik, razen pri podlagi 'Fox 11' je bilo pod cepljenim mestom več kvercetin 3-O-ramnozida.

Sorta 'Conference' je delno kompatibilna s podlagami kutine (Dondini in Sansavini, 2012). Fenolni vzorci sorte 'Conference' in podlag kutina 'MA' in kutina 'BA 29' se v našem poskusu niso zelo razlikovali. Vsebnosti epikatehina in procianidina B2, ki sta po Musacchi in sod. (2000) lahko indikatorja za inkompatibilnost, se pri nobeni kombinaciji ne razlikujejo, kar kaže na dobro skladnost. Cui in sod. (2005) navajajo, da so vrste iz rodu *Pyrus* dober vir arbutina in klorogenske kisline, Andrade in sod. (1998) pa ugotavljajo, da arbutina v tkivih kutine ni in s tema ugotovitvama sovpadajo tudi naši rezultati pri sorti hruške 'Conference' na podlagah kutine, kar kaže na inkompatibilnost.

Fenolni vzorci pri podlagah sejaneč, 'Fox 11' in 'Farold 40' so si zelo podobni, razen vsebnosti arbutina in epikatehina pri sejancu, kar kaže na dobro kompatibilnost sorte 'Conference' s podlagami, ki imajo za gensko osnovo hruško.

5.3 'ABATE FETEL'

Povprečne vsebnosti arbutina, katehina, procianidina B1 in klorogenske kisline so bile večje nad cepljenim mestom pri obeh kombinacijah sorte 'Abate Fetel' s podlagami kutine (kutina 'MA' in kutina 'BA 29'). Največja razlika nad in pod cepljenim mestom je bila v vsebnosti arbutina pri kombinaciji s kutino 'MA', saj so bile vsebnosti nad cepljenim mestom 65-krat večje. Prav tako pri obeh podlagah ni bilo razlik v vsebnosti epikatehina nad in pod cepljenim mestom. Povprečna vsebnost procianidina B2 pa je bila večja pod cepljenim mestom pri kutini 'MA', medtem ko pri kutini 'BA 29' ni bilo značilnih razlik. Vzorec glikozidov kvercetin je bil pri podlagah kutine enak.

Podlage, ki imajo za gensko osnovo hruško, so pokazale podoben vzorec fenolnih spojin. Pri sejancu so bile povprečne vsebnosti vseh fenolnih spojin večje pod cepljenim mestom. Ugotovili pa smo nekaj razlik v vzorcu fenolnih spojin, saj cepljenje povzroči v rastlini stres in kot poročata Feucht in Treutter (1989) je lahko v bližini cepljenega mesta poškodovan metabolizem fenolnih spojin. Pri podlagi 'Fox 11' so bile vsebnosti vseh fenolnih spojin, razen epikatehina, večje pod cepljenim mestom. Pri podlagi 'Farold 40' pa sta izstopala epikatehin in procianidin B2, kjer ni bilo značilnih razlik nad in pod cepljenim mestom.

Glikozidi kvercetin so pokazali zelo različno sliko. Pri vseh podlagah, razen pri sejancu, je bila vsebnost kvercetin 3-O-rutinozida večja nad cepljenim mestom, pri sejancu pa ni bilo značilnih razlik. Pri sejancu sta izstopali tudi vsebnosti kvercetin 3-O-ramnozida in kvercetin 3-O-glukozida, katerih povprečne vsebnosti so bile večje pod cepljenim mestom.

Veberič (2010) poroča, da ugotavljajo večje vsebnosti katehina in epikatehina pri sortah hrušk, ki niso skladne s kutino, še preden se pokažejo vidni simptomi, kar so ugotovili tudi pri marelici. Pri kombinacijah sorte 'Abate Fetel' s podlagami kutine v vsebnosti epikatehina ni bilo razlik, vsebnosti katehina pa so bile večje nad cepljenim mestom. Vsebnost flavanolorov (katehinov in proantocijanidinov) se pogosto poveča v stresnih situacijah, kot je tudi cepljenje (Errea in sod., 1992, 1994; Feucht in sod., 1992).

6 SKLEPI

V poskusu, ki smo ga opravili v letu 2011 v Biljah pri Novi Gorici, smo želeli ugotoviti, ali imajo fenolne spojine vpliv na pojav inkompatibilnosti pri različnih sortah hrušk, cepljenih na različne podlage. Uporabili smo tri sorte hrušk, ki veljajo za različno kompatibilne s podlagami. Uporabili smo sorto 'Viljamovka', ki velja za najmanj kompatibilno, ter sorti 'Conference' in 'Abate Fetel', ki sta dobro kompatibilni z izbranimi podlagami. Vzorčenje smo opravili na štiriletnih drevesih.

S HPLC analizo smo določili fenolne spojine, ki so bile prisotne v naših vzorcih. V vseh vzorcih smo določili prisotnost arbutina, katehina, epikatehina, procianidina B1, procianidina B2, klorogenske kisline in flavonolov: kvercetin 3-O-galaktozida, kvercetin 3-O-glukozida, kvercetin 3-O-rutinozida in kvercetin 3-O-ramnozida. Določili smo tudi količine posameznih fenolnih spojin v posameznem vzorcu in izračunali povprečne vsebnosti za iste kombinacije sorta – podlaga.

Pri kombinacijah sorte 'Viljamovka' z vsemi podlagami je največji delež analiziranih fenolnih spojin predstavljal arbutin. Največ ga je bilo v tkivu podlage 'Fox 11'. V podlagi 'Fox 11' smo izmerili tudi največje vsebnosti katehina, procianidina B1 in B2 ter klorogenske kisline. Epikatehina je bilo največ v tkivih kutine 'BA 29'. Fenolni vzorci pri vseh kombinacijah razen pri sejancu so se zelo razlikovali.

Pri sorti 'Conference' je največji delež fenolnih spojin pri večini vzorcev predstavljal arbutin. Izstopajo vzorci pod cepljenim mestom pri kombinacijah s podlagama kutine 'MA' in kutine 'BA 29', kjer so vsebnosti arbutina, katehina, procianidina B1 in klorogenske kisline občutno manjše kot nad cepljenim mestom. Vsebnosti epikatehina in procianidina B2 pa ne kažejo razlik. Fenolni vzorci pri podlagah 'Fox 11', 'Farold 40' in pri sejancu se niso zelo razlikovali.

V večini vzorcev pri kombinacijah sorte 'Abate Fetel' s podlagami je bil največji delež arbutina, razen v vzorcih odvzetih pod cepljenim mestom pri kombinacijah s podlagami kutine (kutina 'MA' in kutina 'BA 29'). V vzorcih kutine je bil največji delež procianidina B2, najmanjše vsebnosti pa so bile katehina. Največja izmerjena vsebnost arbutina je bila v floemu podlage 'Fox 11'.

Delovno hipotezo smo potrdili. Vsebnosti istih fenolnih spojin so bile različne pod in nad cepljenim mestom pri različnih kombinacijah cepljenja sort hrušk na različne podlage. Največje razlike so bile pri sorti 'Viljamovka'. Fenolni vzorci pri sortah 'Conference' in 'Abate Fetel' pa so se razlikovali glede na gensko osnovo podlage.

Naši rezultati kažejo, da je lahko poleg drugih fenolnih spojin tudi arbutin vključen v pojav inkompatibilnosti. Arbutin namreč nastaja samo v tkivih hruške, v tkivih kutine pa ne. Pri kompatibilnih kombinacijah podlag kutine s sortama 'Conference' in 'Abate Fetel' so bile vsebnosti arbutina večje nad cepljenim mestom. Pri kombinaciji s sorto 'Viljamovka', ki velja za inkompatibilno, pa je bilo arbutina, ki je prisoten samo v tkivih hruške, več pod cepljenim mestom.

Ugotovili smo tudi, da so bile vsebnosti epikatehina in procianidina B2 pri vseh kombinacijah sorte hruške in podlage večje pod cepljenim mestom, čeprav nekatere razlike niso bile statistično značilne. Glede na naše ugotovitve in navajanje drugih avtorjev lahko sklepamo, da fenola epikatehin in procianidin B2 nimata vpliva na pojav inkompatibilnosti.

7 POVZETEK

Inkompatibilnost (neskladnost) pri različnih rastlinskih vrstah je zapleten pojav. Vsi mehanizmi nastanka neskladnosti še vedno niso znani. Pridelovalci v sadjarstvu se lahko soočajo z velikimi izpadom pridelave zaradi simptomov neskladnosti in nenadnega propadanja dreves, ki se lahko pojavi tudi po več letih normalne rasti dreves.

V našem poskusu smo preverjali vpliv fenolnih spojin na pojav neskladnosti med podlago in sorto. Najprej smo določili fenolne spojine, ki so bile prisotne v naših vzorcih in nato ugotavljali, ali imajo vpliv na uspešen razvoj cepilne zveze. Vsebnost fenolnih spojin v vzorcih se je razlikovala glede na različne kombinacije cepljenja. V tkivih iste sorte hruške, ampak cepljene na različne podlage, so bile različne vsebnosti iste fenolne spojine.

Primerjali smo tri sorte hrušk, ki veljajo za različno skladne s proučevanimi podlagami. Največje razlike v fenolnih vzorcih so se pokazale pri najmanj skladni sorti, to je bila sorta 'Viljamovka'. Pri sortah 'Conference' in 'Abate Fetel' smo ugotovili, da je najmanj razlik pri podlagah z gensko osnovo hruške, s katerimi so sorte tudi bolj skladne kot s kutino.

Pridobljeni rezultati kažejo, da lahko prisotnost arbutina, katehina, procianidina B1 in klorogenske kisline napovedujejo pojav problemov, še preden se pojavijo vidni zunanji znaki neskladnosti. Prav tako lahko uporabimo vsebnosti flavonolov kot indikatorje za pojav neskladnosti. Fenolni spojini epikatehin in procianidin B2 pa na pojav neskladnosti najverjetneje nimata vpliva.

Poudariti je potrebno, da je neskladnost kompleksen pojav, katerega lahko povzroča več dejavnikov, kot so rastne razmere, prisotnost virusov, okoljske razmere ali drugi stresni dejavniki. V sadovnjakih bi morali poskrbeti, da bi čim bolj zmanjšali vplive vseh možnih vzrokov za pojav neskladnosti in zagotavljati optimalne razmere za rast in razvoj dreves. Potrebne pa so še nadaljnje raziskave, tudi na področju fenolnih spojin. Predlagamo, da se preverijo še drugi možni vplivi na vsebnosti fenolnih spojin.

8 VIRI

- Andrade P. B., Carvalho A. R. F., Seabra R. M., Ferreira M. A. 1998. A previous study of phenolic profiles of quince, pear, and apple purees by HPLC diode array detection for the evaluation of quince puree genuineness. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 968-972
- ANFIC. 2013. Australian nurserymen's fruit improvement company.
http://www.anfic.com.au/DCA_Fox11.htm (13. 2. 2013)
- ARSO. 2013. Agencija Republike Slovenije za okolje.
<http://www.arso.gov.si/vreme/napovedi%20in%20podatki/bilje.html> (9. 1. 2013)
<http://www.arso.gov.si/vreme/podnebje/Bilje06.pdf> (9. 1. 2013)
<http://www.arso.gov.si/o%20agenciji/knji%20C5%20BEnica/mese%20C4%20Dni%20bilten/bilten2011.htm> (9. 1. 2013)
- Bauer H., Treutter D., Schmid P. P. S., Schmitt E., Feucht W. 1989. Specific accumulation of o-diphenols in stressed leaves of *Prunus avium*. *Phytochemistry*, 28, 5: 1363-1364
- Cui T., Nakamura K., Ma L., Li J. Z., Kayahara H. 2005. Analyses of arbutin and chlorogenic acid, the major phenolic constituents in oriental pear. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 3882-3887
- De Cooman L., Everaert E., Curir P., Dolci M. 1996. The possible role of phenolics in incompatibility expression in *Eucalyptus gunnii* micrografts. *Phytochemical Analysis*, 7: 92-96
- Dondini L., Sansavini S. 2012. European pear. V: Fruit breeding. *Handbook of Plant Breeding* 8. Badenes M. L., Byrne D. H. (ur.). Wien, Springer: 369-413
- Errea P., Treutter D., Feucht W. 1992. Scion-rootstock effects on the content of flavan-3-ols in the union of heterografts consisting of apricots and diverse *Prunus* rootstocks. *Gartenbauwissenschaft*, 57: 134-138
- Errea P., Treutter D., Feucht W. 1994. Characterization of flavanol type-polyphenols in apricot cultivar and rootstocks. *Advances in Horticultural Science*, 8: 165-169
- Errea P. 1998. Implications of phenolic compounds in graft incompatibility in fruit tree species. *Scientia Horticulturae*, 71: 195-205
- Feucht W., Treutter D. 1989. Phenolische Naturstoffe. Ihre Bedeutung für Gartenbau. München, Obst- und Gartenbauverlag: 150 str.
- Feucht W., Treutter D. 1991. Phenol gradients in opposing cells of *Prunus* heterografts. *Advances in Horticultural Science*, 5: 107-111

- Feucht W., Treutter D., Christ E. 1992. The precise localization of catechins and proanthocyanidins in protective layers around fungal infections. *Journal of Plant Disease and Protection*, 99: 404-413
- Godec B., Hudina M., Fajt N., Koron D., Solar A., Vesel V., Ambrožič Turk B., Vrhovnik I., Kodrič I. 2011a. Sadni izbor za Slovenijo 2010. Ljubljana, Orbis: 73 str.
- Godec B., Hudina M., Usenik V., Solar A., Vesel V., Ambrožič Turk B., Koron D. 2011b. Posebno preizkušanje in vzgoja novih sort sadnih rastlin v letu 2010. Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije: 70 str.
- Gur A., Samish R. M., Lifshitz E. 1968. The role of the cyanogenic glycoside of the quince in the incompatibility between pear cultivars and quince rootstocks. *Horticultural Research*, 8: 113-134
- Hudina M. 1998. Vzroki inkompatibilnosti med podlago in cepičem pri hruški (*Pyrus communis* L.). *SAD*, 9, 5: 2-5
- Hudina M. 2004. Zakaj propadajo drevesa hrušk? *Moj mali svet*, 36, 3: 36-37
- Moore R. 1984. A model for graft compatibility-incompatibility in higher plants. *American Journal of Botany*, 71, 5: 752-758
- Musacchi S., Pagliuca G., Kindt M., Piretti M. V., Sansavini S. 2000. Flavonoids as markers for pear-quince graft incompatibility. *Angewandte Botanik*, 74: 206-211
- Pina A., Errea P. 2005. A review of new advances in mechanism of graft compatibility-incompatibility. *Scientia Horticulturae*, 106: 1-11
- Štampar F., Lešnik M., Veberič R., Solar A., Koron D., Usenik V., Hudina M., Osterc G. 2009. Sadjarstvo. 2. dopolnjena izdaja. Ljubljana, Kmečki glas: 416 str.
- Turk M. 1979. Proučevanje stopnje inkompatibilnosti med kutino MA in kultivarji hrušk 'Precoce de trevoux', 'Williams Bon Chretien' in 'Passe crassane' v klimatskem območju Goriške in severovzhodne Slovenije (*Cydonia oblonga* Mill., *Pyrus communis* L.). Magistrsko delo. Ljubljana, Univerza Edvarda Kardelja v Ljubljani, VDO Biotehniška fakulteta: 64 str.
- Usenik V. 1999. Polifenolne snovi kot kazalniki nezdržljivosti različnih podlag (*Prunus spp.* L.) in kultivarjev češenj (*Prunus avium* L.). Doktorska disertacija. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 117 str.
- Veberič R. 2010. Bioactive compounds in fruit plants. Ljubljana, Biotehniška fakulteta: 65 str.

Vitro Plant. 2013. Technologies for Agricultural Plants. Italia.

http://www.vitroplant.it/index.php?option=com_zoo&task=item&item_id=617&category_id=79&Itemid=173&lang=en (13. 2. 2013)

Wood G. A. 1997. Viruses and phytoplasma in European pear trees in New Zealand and the role of these pathogens in the compatibility of pear with quince rootstocks. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 25: 333-340

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorici prof. dr. Metki HUDINA za spodbudo, strokovne nasvete in vso pomoč pri nastajanju magistrskega dela.

Zahvaljujem se tudi izr. prof. dr. Robertu VEBERIČU in predsedniku komisije za zagovor prof. dr. Francu BATIČU za pregled dela.

Zahvala velja tudi dr. Primožu ORAŽMU za pomoč na terenu in v laboratoriju.

Najlepša hvala pa seveda tudi Daniju, družini in prijateljem, brez katerih ne bi bilo tega magistrskega dela.