

»MLADI ZA NAPREDEK MARIBORA 2018«

35. SREČANJE

**MIKROORGANIZMI IN USTREZNA HRANILA KOT NARAVNA ZAŠČITA PRED
ZMRZALJO**

Raziskovalno področje: Biotehnologija, kmetijstvo, živilstvo

Raziskovalna naloga

Avtor: OŽBEJ IVAN ZORKO

Mentor: FRANC ČUŠ, PIERLORENZO BRIGNOLI

Šola: II. GIMNAZIJA MARIBOR

Maribor, februar 2018

»Mladi za napredek Maribora 2018«

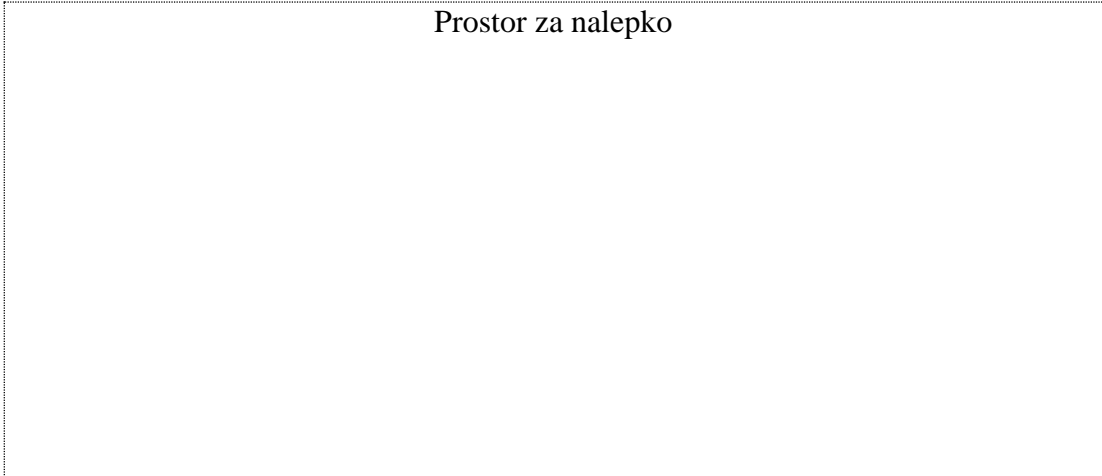
35. srečanje

**MIKROORGANIZMI IN USTREZNA HRANILA KOT NARAVNA ZAŠČITA PRED
ZMRZALJO**

Raziskovalno področje: Biotehnologija, kmetijstvo, živilstvo

Raziskovalna naloga

Prostor za nalepko



Maribor, januar 2018

ZAHVALA

Zahvaljujem se obema mentorja, ki sta me usmerjala in mi pomagala pri sestavljanju te naloge, na področju, ki me je zelo zanimalo. Rad bi se tudi zahvalil podjetju, ki je za to raziskovalno delo namenilo svoj vinograd in mi dovolilo, da sem kopal ob rastlinah, ki so za njih tako dragocene. Za razumevanje in pomoč bi se rad zahvalil tudi šolski koordinatorici za raziskovalno delo, ki je mi bila pri tej raziskovalni nalogi v veliko pomoč ter vsem ostalim, ki so me podpirali in mi pomagali ob izdelavi naloge.

KAZALO VSEBINE

POVZETEK	5
1. UVOD	6
2. PREGLED OBJAV	7
2.1 Mikroorganizmi v prsti	7
2.1.1 Rizosfera	7
2.1.2 Mikoriza	8
2.2 Osmotsko aktivna hranila	9
2.2.1 Fosfor (makrohranilo)	10
2.2.2 Kalij (makrohranilo)	10
2.2.3 Magnezij (makrohranilo)	10
2.2.4 Kalcij (makrohranilo)	11
2.2.5 Železo (mikrohranilo)	11
2.2.6 Cink (mikrohranilo)	11
2.3 Zmrzal	11
2.3.2 Kaj se v rastlini zgodi ob zmrzali	12
2.3.3 Zmrzal in vinska trta	13
2.4 Vezana voda	14
3. METODOLOGIJA DELA	15
3.1 Material	15
3.1.1 Izbira rastlin	16
3.2 Metode	16
3.2.1 Vzorčenje	16
3.2.2 Analiza zračnosti zemlje s prostim očesom	17
3.2.3 Analize korenin	18
3.2.4 Analize zemlje	19
4. REZULTATI	20
5. RAZPRAVA	21
6. ZAPIS O DRUŽBENI ODGOVORNOSTI	24
7. ZAKLJUČEK	24
8. VIRI IN LITERATURA	25

KAZALO SLIK

Slika 1: Primerjava delovanja endomikoriznih in ektomikoriznih gliv (Bugarčić, 2015).....	9
Slika 2: Izbran in označen trs (lasten vir).....	16
Slika 3: Korenine in struktura zemlje izbranega trsa (lasten vir)	16
Slika 4: Netretirana zemlja(lasten vir).....	17
Slika 5: Tretirana zemlja (lasten vir).....	17

KAZALO TABEL

Tabela 1: Vsebnost elementov v posameznem vzorcu_1. merjenje.....	19
Tabela 2: Primerjava vsebnosti elementov_1. in 2. merjenje.....	20

POVZETEK

Na področju Slovenije se vse pogosteje pojavljajo spomladanske zmrzali, ki povzročajo veliko škodo na rastlinah in posledično tudi veliko gospodarsko škodo.

Namen raziskovalne naloge je bil dokazati, da nekatere vrste mikroorganizmov rastlini pomagajo, da v svojih tkivih nakopiči večje količine osmotsko aktivnih hranil. Te snovi vežejo vodo in znižajo njeno ledišče. V primeru, da vseeno pride do pozebe pa rastlini pomagajo, da se bolje in hitreje obnovi.

Testiranje je bilo potrebno opraviti na večletnih rastlinah, ki jih zmrzal večkrat prizadene. Uporabili smo rastline vinske trte. Testirali smo sestavo korenin in zemlje (mikroorganizmi preoblikujejo tudi prst).

Rezultati so potrdili naša pričakovanja. Dodajanje mikroorganizmov je povečalo vsebnost osmotsko aktivnih hranil v rastlini in izboljšalo kvaliteto zemlje.

Manjšo občutljivost rastlin na nizke temperature v pomladanskem času lahko dokažemo zgolj teoretično, saj vegetacija v tem času še ni dovolj razvita, da bi bila dovzetna na pozebo.

1.UVOD

1.1 Namen

V raziskovalni nalogi smo želeli raziskati, kako mikroorganizmi spremenijo vsebnost hranil v vinski trti ter tako vplivajo na njeno odpornost proti zmrzali.

Naš namen je bil dokazati, da mikroorganizmi ugodno vplivajo na odpornost rastlin na pozebo. Rezultate sem primerjal z že opravljenimi raziskavami po svetu. Na podlagi lastnih in tujih opažanj smo tvorili zaključke. Pričakovane rezultate smo strnili v obliki hipotez.

1.2 Hipoteze

1. Tretiran trs ima zaradi prisotnosti mikroorganizmov boljše pogoje za rast od netretiranega.
2. Količina osmotsko aktivnih hranil je višja v koreninah tretiranih rastlin.
3. Zaradi delovanja mikroorganizmov, ki smo jih dodali je tretirana rastlina bolj pripravljena na zmrzal kot netretirana.

2.PREGLED OBJAV

2.1 Mikroorganizmi v prsti

Mikroorganizmi so v naravni zelo pomembni simbionti z rastlinami. Posebej velja omeniti, da opravljajo tudi fiksacijo dušika (N), ki je drugi najpomembnejši proces na našem planetu, takoj za fiksacijo ogljikovega dioksida (CO₂). Mikroorganizmi predelajo rastlinam drugače nedostopne elemente na način, da ti postanejo dostopni. Posledično jih rastlina lahko vsrka, zaradi česar rastlina bolje uspeva – lepše raste, ima več bolj zdravih plodov (Sivčev et al., 2005). Mikroorganizmi pa v zameno od rastline dobivajo rastlinske produkte, kot so ogljikovi hidrati in aminokisljine .

2.1.1 Rizosfera

Na rast rastlin vplivajo številni okoljski dejavniki. Od teh dejavnikov ima zelo velik pomen rizosfera, ki se nahaja na območju tik ob koreninah. Na tem območju delovanje rizosfernih organizmov spremeni fizikalne, kemijske in biološke lastnosti prsti ter vpliva na splošno aktivnost in sestavo mikroorganizemske flore (McCully, 2005).

Na območju rizosfere najdemo različne mikroorganizme, med katere spadajo glive, bakterije, alge in praživali. Med temi je največ bakterij, ki najbolj vplivajo na rastlinsko rast (Antoun in Kloepper, 2001). Snovi, ki jih v zemljo izločajo rastline na bakterijsko populacijo delujejo selektivno, kar zmanjša bakterijsko raznolikost v rizosferi, v primerjavi s prstjo, ki ni v neposredni bližini korenin. Po drugi strani pa je lahko sama količina bakterij v rizosferi do 100-krat večja od količine bakterij, ki živijo v prsti brez korenin. Vzrok za to lahko najdemo v manjšem nihanju vlage in dosti večji koncentraciji hranil, ki jih izločijo korenine (Haas in Defago, 2005). Ta dva faktorja sta glavni razlog za to, da so območja korenin glavna območja delovanja mikroorganizmov v tleh.

Medsebojne povezave med rastlino in mikroorganizmi so lahko pozitivne, nevtralne ali negativne. Tistim bakterijah, ki se nahajajo v rizosferi in ugodno vplivajo na razvoj rastline imenujemo s kratico iz angleščine PGPR (plant growth promoting rhizobacteria) (Kloepper et al., 1980).

Poleg že poznanih rizosfernih bakterij pa človeštvo s pomočjo sodobnih tehnologij odkriva nove in nove bakterijske rodove, kot so *Azospirillum sp.*, *Azobacter sp.*, *Alcaligenes sp.*,

Archobacter sp., *Bacillus sp.*, *Enterobacter sp.*, *Pseudomonas sp.* In *Serratia sp.* (Antoun in Kloepper, 2001).

Rastlini koristne rizosferne bakterije lahko na prst rastlin vplivajo direktno z izločanjem rastlinskih rastnih hormonov ali omogočanjem večje dostopnosti hranil (fosforja in dušika). Nekatere rastlini koristne rizosferne bakterije lahko na rast vplivajo preko več različnih mehanizmov naenkrat (Yasmin et al., 2007).

Eden najpomembnejših mehanizmov boljšega zagotavljanja hranil je fiksacija dušika. Arheje in bakterije iz zraka z encimi reducirajo dušik (N_2) v amonični dušik, ki ga rastline z lahkoto vsrkajo. Bakterije, ki so sposobne fiksacije dušika lahko živijo z rastlinami v simbiozi. Medtem ko rastline v simbiotske bakterije oskrbujejo s fotosintetskimi produkti, lahko te v zameno uporabijo produkte fiksacije dušika, ki jo izvajajo bakterije v tleh (Haas in Defago, 2005).

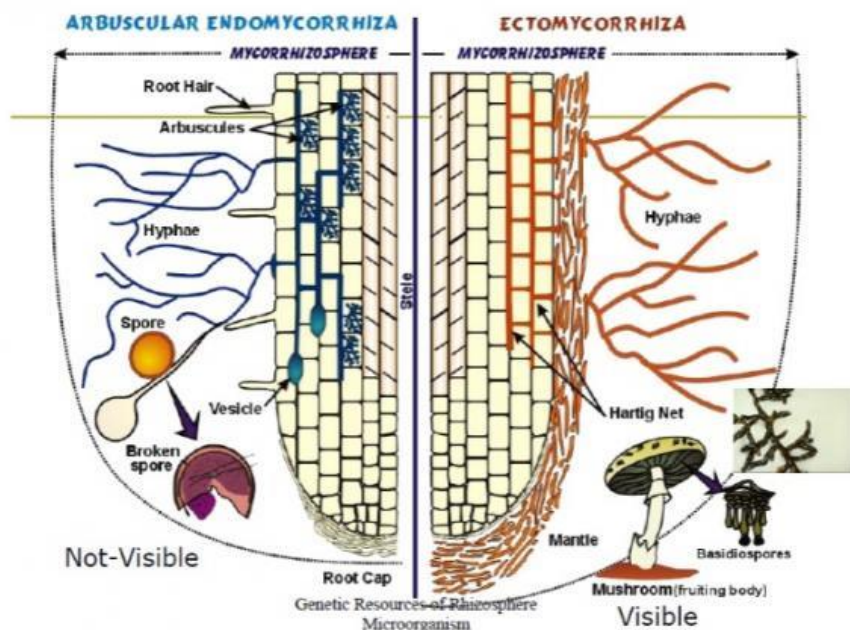
2.1.2 Mikoriza

Mikoriza je simbiotski odnos med glivami in višjimi rastlinami. Glive pospešujejo mineralizacijo v tleh (so eni izmed glavnih saprofitov) in tako snovi v prsti predelajo hitreje in na tak način, da jih rastlina zlahka vsrka. Zaradi delovanja gliv lahko rastline iz zemlje srkajo dodaten fosfor, dušik in nekatere vitamine, v sušnih obdobjih pa predstavljajo vir vode. Rastline so za glive vir sladkorjev, ki jih te potrebujejo za rast in razvoj. Mikoriza je sestavni del življenja mnogih rastlin (nekatere brez mikorize ne bi mogle normalno delovati ali celo preživeti) (Taiz and Zeiger, 2010). V naravi je mikoriza izredno pogosta, saj jo lahko v različnih oblikah najdemo pri kar 83% dvokaličnic, 79% enokaličnic in vseh golosemenkah.

Simbioza se začne, ko rastline in glive oddajajo snovi v okolico. Gliva se na zaznavanje rastlinskih hormonov v okolici odzove s klitjem in začetkom razvejane rasti micelija, ravno tako pa se začne proizvodnja signalnih molekul v glivi, ki sprožijo odziv rastline (Taiz and Zeiger, 2010). Korenine na katerih najdemo mikorizne glive se od drugih korenin iste starosti ločijo po tem, da so ponavadi debelejše, nekoliko bolj krhke in drugače obarvane (Harley, Marks in Kozlowski, 1975). Ločimo dva osnovna tipa mikoriznih gliv, ektomikorizne in endomikorizne glive.

Ektomikorizne glive prekrivajo počasneje rastoče dele korenin in prodrejo do različnih delov korenin vendar nikoli ne prodrejo globlje kakor do endodermalnega tkiva. Nikoli pa ne prodrejo skozi celične membrane (Harley, Marks in Kozłowski, 1975).

Pri endomikorizi hife prodrejo tudi znotraj rastlinskih celic v citoplazmo in črpajo hranila naravnost iz rastline (Harley, Marks in Kozłowski, 1975).



Slika 1: Primerjava delovanja endomikoriznih in ektomikoriznih gliv (Bugarčić, 2015).

2.2 Osmotsko aktivna hranila

Velika večina hranil je osmotsko aktivnih. Izjeme so le nepolarna hranila, kot je na primer škrob.

Glavna značilnost takšnih hranil je, da se okrog njih tvori tako imenovani hidratacijski ovoj (če je molekula negativno nabita se nanjo veže voda s pozitivnim delom in, če je pozitivno nabita se veže z negativnim delom). Takšna hranila ravno zaradi tega ne morejo prosto prehajati skozi membrane in potrebujejo posebne beljakovinske strukture v membrani, ki jim to omogočajo (Dermastia, Komelj in Turk, 2011).

V rastlinskem svetu poznamo makro in mikrohranila, ki imajo v vinski trti različne vloge.

2.2.1 Fosfor (makrohranilo)

Fosfor je eden od glavnih elementov pri prehrani vinske trte, saj je sestavni del beljakovin in ga lahko najdemo v vseh delih trte (količinsko pa ga je največ v mlajših delih rastline).

Njegova prisotnost pospešuje zorenje grozdja in mladih rastlin. Povečuje tudi rodovitnost in ugodno vpliva na kakovost grozdja in posledično tudi vina. Absorpcija fosforja skoraj v celoti poteče pred cvetenjem. Fosfor kot element je sestavni del protoplazme in jedra celice (Vršič in Lešnik, 2010).

Skozi vso rastno dobo se količina fosforja v rastlini veča. Fosfor sodeluje pri kopičenju rezervnih snovi in vpliva na večjo odpornost rastline proti suši in pozebi (Vršič in Lešnik, 2010).

2.2.2 Kalij (makrohranilo)

Kalij je zelo pomemben element pri vseh rastlinah, saj oblikuje škrob ali sladkor (Vršič in Lešnik, 2010). Pri vinski trti je kalij element od katerega je najbolj odvisna kvaliteta pridelka ter dozorevanje lesa (Vršič in Lešnik, 2010).

Če je oskrba s kalijem dobra, dobimo boljše koncentracijo citoplazme, poveča se izkoristek vode v tleh, kar je odločilno v sušnih obdobjih. Visoka vsebnost kalija vpliva tudi na boljši razvoj korenin in koreninskega sistema.

Kalijevo pomanjkanje se kaže v niski stopnji sladkorja, manjši odpornosti trte na glivične bolezni, slabši odpornosti na mraz in manjših količinah aromatskih snovi v grozdnih jagodah. (Vršič in Lešnik, 2010).

2.2.3 Magnezij (makrohranilo)

Magnezij je pomemben element za tvorbo klorofila in pretvorbo anorganskih spojin v organske. Od vsega magnezija v vinski trti ga je približno 15% - 20% vezanega v klorofilu, celičnih stenah in encimih (Vršič in Lešnik, 2010).

Magnezij ima pomembno vlogo pri razvoju semen in tvorjenju fosforjevih spojin. Sodeluje tudi pri nastajanju encimov, ki omogočajo razkrajjanje ogljikovih hidratov ob vrenju in dihanju. Kakor kalij ima podobno funkcijo pri presnovi ogljikovih hidratov in maščobnih kislin. Rastlina ga tudi potrebuje za sintezo aminokislin in beljakovin (Vršič in Lešnik, 2010).

2.2.4 Kalcij (makrohranilo)

Kalcij je prisoten v vseh organih vinske trte. Rastlina ga potrebuje ob delitvi celic med fazo rasti kot tudi ob klitju semena. Uravnava presnovne procese in vodni režim v rastlini ter sodeluje pri nastajanju beljakovin. Njegova naloga je tudi preprečevanje strupenosti organskih kislin v organih trte, z organskimi kislinami pa tvori kalcijeve soli (oksalate) (Vršič in Lešnik, 2010).

Za količino samega pridelka ga trta ne potrebuje veliko. Veliko več ga porabi ob razvoju listov in enoletnega lesa. S prisotnostjo kalcija med zorenjem se zmanjša količina skupnih kislin v jagodah. Prav tako ugodno vpliva na nastanek sladkorja in aromatičnih snovi. Kalcij je zelo pomemben za rast pelodne cevi, kalitev peloda in rast korenin (Vršič in Lešnik, 2010).

2.2.5 Železo (mikrohranilo)

Kakor magnezij je tudi železo zelo pomembno pri nastajanju klorofila in ga je v manjših količinah mogoče najti v vseh rastlinah (mikrohranilo). Železo sodeluje pri vseh oksidacijsko-redukcijskih procesih, ki potekajo v rastlinah in ima pri dihanju pomembno vlogo.

Najpomembnejša je njegova vloga ob presnavljanju nukleinskih kislin. Ob njegovem pomanjkanju se močno zmanjša vsebnost nukleinskih kislin. To vodi v moteno sintezo beljakovin, vsebnost prostih amidov in aminokislin se pa poveča. Železo sodeluje tudi ob tvorbi rdečih kožic na jagodah (rdeče sorte) (Vršič in Lešnik, 2010).

2.2.6 Cink (mikrohranilo)

Cinka v rastlinah najdemo zelo malo. Sodeluje ob aktivaciji več encimov, preko katerih vpliva tudi na tvorbo klorofila. Zaradi njega je pospešena aktivnost vitaminov, sodeluje tudi v oksidacijsko-redukcijskih procesih, procesih fotosinteze in beljakovinski presnovi. Cink je tudi zelo pomemben element ob nastanku avksinov (Vršič in Lešnik, 2010).

Cink povečuje odpornost rastline na sušo, ima pozitiven učinek na opráševanje in posledično na pridelek. Cink ugodno vpliva tudi na velikost jagod in njihovo vsebnost sladkorja. Ugoden vpliv ima na tvorbo kalusa (celjenje rastline) ob zaraščanju podlage in cepiča ter pri tvorbi korenin (Vršič in Lešnik, 2010).

2.3 Zmrzal

Poznamo štiri tipe pozebe: radiacijske, adveksijske, kombinirane in evaporacijske pozebe.

Do radiacijskih pozeb pride zaradi hladnih zračnih mas, ki se s severa Evrope počasi pomikajo proti jugu. Pojavijo se takrat, ko sončnim dnevom brez vetra sledijo jasne noči v katerih temperatura pada zaradi dolgovalovnega sevanja tal, ki ga imenujemo radiacija. Z dolgovalovnim sevanjem se tla ohlajajo s čimer ohlajajo tudi plast zraka v bližini. Ohlajen zrak ob tleh se zaradi večje gostote prične posedati in se nabira v nižje ležečih in zaprtih legah, ki jih poznamo pod imenom pozebne lege (Soršak et al., 2017). Radiacija je tudi razlog za nastanek inverzije, pojava pri katerem se ob brezvetrju hladne zračne mase naberejo na nižjih legah in temperatura z naraščanjem nadmorske višine narašča, namesto, da bi se zniževala. Kljub vsemu je plast hladnega zraka razmeroma tanka in v večini primerov omejena na posamezna območja (Soršak et al., 2017).

Drugi tip pozebe so adveksijske pozebe, ki nastanejo zaradi hitrih premikov velikih arktičnih zračnih mas proti jugu. Razmeroma hladnim oblačnim in občasno vetrovnim dnevom sledi brezvetrna jasna noč v kateri se temperature zelo hitro spustijo pod ničlo. Ker je plast hladnega zraka zelo debela pozeba prizadene celotna področja (Soršak et al., 2017).

Pri kombiniranih pozebah pa govorimo, ko skupaj s hladno fronto na območje pridejo tudi polarne zračne mase s temperaturami okoli ničle. Jasnim dnevom z redko visoko oblačnostjo ter vetrom sledi brezvetrna noč v kateri se zaradi radiacije temperature spustijo tudi pod -10 stopinj Celzija (Soršak et al., 2017).

Najredkejša izmed od zgoraj omenjenih pozeb so evaporacijske. Nastanejo pod specifičnimi in razmeroma redkimi pogoji. Pojavijo se, ko je rastlina omočena, temperatura pa je okoli 0 stopinj Celzija pri nizki zračni vlažnosti in močnem vetru. Voda na rastlini zaradi teh dejavnikov izhlapeva ter tako porablja velike količine energije in posledično niža temperaturo rastlini do nekaj stopinj pod ničlo s čimer povzroči poškodbe (Soršak et al., 2017).

2.3.2 Kaj se v rastlini zgodi ob zmrzali

Tvorba ledu se pri večini rastlinskih tkiv začne na površini celične stene, v delih rastline, ki prenašajo vodo (ksilem) ali v medceličnem prostoru (Rodrigo, 2000). Ledeni kristali se širijo skozi zunajcelična območja kar povzroči hitro rast koncentracije zunajceličnega prostora. Zaradi tega se vzpostavi koncentracijski gradient pri katerem tekoča voda prehaja iz celic (Mazur, 1969). Tukaj celica deluje kot osmotski sistem kjer se osmotska koncentracija povečuje s tem, ko voda z difuzijo prehaja iz celice kar dehidrira celico. Zaščitni učinek

zunajceličnega zmrzovanja se pojavi zaradi postopnega dehidriranja celice kar prepreči zmrzovanje znotraj celice (Weiser, 1970). Ko se led stopi se večina vode absorbira nazaj v celico. Celično smrt lahko povzroči ekstenzivna dehidracija celice (Pearce, 2001) ali zaradi motnje v celični membrani in drugih celičnih komponentah zaradi ledenih kristalov (Burke et al., 1976). Te motnje se ponavadi pokažejo s povečano kislostjo in/ali razbarvanostjo prizadetih tkiv (Pearce, 2001). Zaradi tega celice ob nizkih temperaturah ne dehidrirajo in zadržijo izvorno velikost in obliko (Rodrigo, 2000). Torej je led predpogoj za poškodbe. Ne glede na to, da se led začne topiti pri 0.8°C se temperatura zmrzovanja spreminja, saj v vodi raztopljene snovi navadno znižajo temperaturo ledišča. Takšno ohlajanje brez kristalizacije imenujemo super ohlajanje (Rodrigo, 2000).

Preživetje poganjkov je odvisno od tega koliko vitalnih tkiv je bilo poškodovanih in kakšna je kapaciteta celic, da obdržijo njihovo izvorno velikost in obliko ter sposobnost, da se celice razvijajo in rastejo naprej (Rodrigo, 2000). Zaradi tega lahko vidimo več anatomskih in morfoloških znakov poškodb pozebe pri plodovih sadnega drevja, ki nimajo takšne sposobnosti obnove.

2.3.3 Zmrzal in vinska trta

Vinska trta sodi med višje rastline, kar pomeni, da se v vodi raztopljene rudninske snovi proti vrhu pretakajo po ksilemu, mineralne snovi, proti koreninam pa po floemu. Asimilanti, ki jih rastlina ne uporabi za dihanje ali rast in se shranijo kot rezervna snov za zagon brstenja v prihodnjem letu.

Vinska trta vse rudninske snovi, razen ogljikovega dioksida in delno kisika, pridobi preko koreninskega sistema. Pogoj, da rastlina te snovi lahko sprejme, je njihova raztopljenost v vodi, saj jih preko koreninskih laskov vsrkava z osmozo. Vsrkani sokovi nato preko večjih korenin potujejo preko debla, do listov in drugih nadzemnih delov rastline (Vršič in Lešnik, 2010).

Vinska trta nizke temperature razmeroma dobro prenaša v zimskem času, ko se nanj pripravi in ga preživi v fazi zimskega mirovanja. Pri današnjem načinu gojenja se prve poškodbe v fazi zimskega mirovanja pojavijo pri večdnevnikih temperaturah med -15 in -18 stopinjami Celzija. Vsebnost vode v enoletnem lesu se na začetku mirovanja (koncu rastne dobe)

zmanjša za približno 50%, razgradnja rezervnih snovi pa že pri 0 stopinjah Celzija poteka v zelo omejenem obsegu (Vršič in Lešnik, 2010).

Pri pripravah na mirovanje se, pri stopinjah okoli 5 stopinjah v lesu prične pretvorba škroba v sladkor. Ta proces pretvorbe izboljša odpornost vinske trte na nizke temperature (Weiser, 1970). Z nižanjem temperatur se škrob pospešeno pretvarja v sladkor in tako ščiti rastlino pred poškodbami. Evropske sorte so tako zaradi visokega deleža sladkorja ter povečane koncentracije celičnega soka sposobne brez pozebe preživeti temperature nižje od -20 stopinj Celzija, če le ne trajajo predolgo (Vršič in Lešnik, 2010).

V pomladnih mesecih se z dvigom temperatur začne sladkor postopoma pretvarjati v škrob. V primeru, da v tem času temperature močno padejo ponovna pretvorba škroba v sladkor v tako širokem obsegu ni več mogoča kar povzroči hude poškodbe (Weiser, 1970).

Rastline so najobčutljivejše v fazi brstenja, saj mladike pozebejo pri -2,5 stopinjah, brsteča očesa pa pri -4 stopinjah Celzija (Vršič in Lešnik, 2010).

V našem okolju možnost pozebe vinske trte traja do sredine maja. Pozne pozebe zaradi bolj razvite vegetacije povzročijo hude poškodbe že pri temperaturah med -1,5 in -2 stopinjama celzija. Če temperature padejo pod -3 stopinje, je škoda popolna, pomrzne pa lahko tudi še nedozorelo grozdje (Vršič in Lešnik, 2010).

2.4 Vezana voda

Vezana voda je tanka plast vode, ki obdaja mineralne snovi (voda se različno orientira glede na to ali so snovi nabite pozitivno ali negativno).

Vodne molekule so tipične polarne molekule zaradi česar se zelo močno vežejo med sabo kakor tudi z drugimi snovmi kot so minerali v prsti in rastlinah (eno izmed večjih sposobnosti vezave vode ima glina) (Weiser, 1970).

Fizikalne lastnosti vezane vode so dokaj različne tistim od nevezane vode. Zaradi močne polarosti se okrog snovi razporedi v tako imenovani hidratacijski ovoj (ponavadi debel nekaj molekul). Zaradi močnih sil, ki vežejo vodo so njene molekule manj mobilne kar se najbolj pozna pri temperaturah zmrzovanja in izparevanja glede na nevezano vodo. Vezana voda lahko brez težav ostane nezmrznjena tudi pri temperaturah pod -20 stopinj Celzija. (Kramer in Boyer, 1995)

3. METODOLOGIJA DELA

3.1 Material

V raziskovalni nalogi smo analizirali hranila v koreninah vinske trte, sorte rumeni muškat. Vinsko trto te vrste smo izbrali na podlagi tega, ker je večletna rastlina in je dovzetna za zmrzal, saj je ena izmed zgodnejših sort in jo posledično pozeba največkrat prizadene v najranljivejšem stanju (med brstenjem ali tik pred cvetenjem).

Vinska trta spada v družino Vitacea, morfološko so zanje značilne vitice ali socvetja nasproti listov. Sistematika te družine obsega deset rodov. Med njimi je tudi rod *Vitis* v katerega spada vinska trta. V tem rodu je več kot 60 vrst. Večina jih pripada podrodu *Euvitis* (Vršič in Lešnik, 2010).

Korenine trto učvrstijo v tla, iz tal črpajo vodo in v njej topna hranila. V njih se sintetizirajo organske spojine, pretvarjajo neorganske dušikove spojine v organske, neorganski fosfor v organskega itn. Pri trti igrajo vlogo tudi mesta kopičenja hranilnih snovi (fotosintetski produkti, beljakovine) (Vršič in Lešnik, 2010).

Pri trti so korenine razdeljene na več delov.

Rosne in srednje korenine so korenine, ki se tvorijo najbližje površini. Te ne smejo biti preveč razvite, saj tako onemogočajo razvoj nižjih korenin, kar vodi do pomanjkanja glede oskrbe z vodo, predvsem v sušnih obdobjih. Prav tako pa jih v zimskem času zaradi njihove bližine površini pogosto poškoduje pozeba (Vršič in Lešnik, 2010).

Glavne (nožne korenine) so korenine, ki se razvijejo iz spodnjega nodija podzemnega debla. So najgloblje v zemlji in predstavljajo najpomembnejši del koreninskega sistema. Globina na kateri se razvijejo je odvisna od podlage, tipa tal in podnebnih razmer. Na primer: na nekaterih podlagah se lahko razvijejo zelo globoke in skoraj navpične korenine, medtem, ko se na drugih razvijejo plitkejše in skoraj vodoravne. Najpogosteje se glavne korenine razvijejo na globini med 30 in 60cm (Vršič in Lešnik, 2010). V težjih in neprepustnih tleh in na predelih kjer je v tleh več vode rastline razvijejo plitvejšo in bolj vodoravno razraščene korenine (Vršič in Lešnik, 2010).

3.1.1 Izbira rastlin

Za eksperiment smo uporabili korenine vinske trte, ki smo jih nabrali 19.10.2017 v vinogradu v Vajgnu, in 4.2.2018 na isti lokaciji.

3.2 Metode

Metode, ki smo jih uporabili pri delu so napisane v nadaljevanju, lahko razdelimo na dva sklopa. V prvi sklop smo uvrstili pridobivanje korenin v drugi pa njihovo analizo.

3.2.1 Vzorčenje

Prvo vzorčenje:

Najprej smo v vinogradu določili več parov med seboj primerljivih rastlin.

Po tem smo pri prvem paru izkopali luknjo globine približno 50cm, širine 30cm in dolžine 150cm in nabrali vsaj 100 gramov korenin.

Zemlja je bila ilovnata in zelo zbita, zaradi česar so bile korenine dokaj redke in globoko v zemlji. Zato je zbiranje 100g rastlin trajalo nekoliko dlje



Slika 2: Izbran in označen trs (lasten vir)



Slika 3: Korenine in struktura zemlje izbranega trsa (lasten vir)

Drugo vzorčenje:

Pri drugem vzorčenju smo vzeli dva para vnaprej določenih rastlin, ki so bile primerljive druga z drugo, tako ena rastlina z drugo, kot tudi en par rastlin z drugim.

Enkrat smo kopali pri kontrolnem paru rastlin in enkrat pri tretiranem. Že takoj smo opazili razliko v teksturi zemlje, saj je bila zemlja pri tretiranih rastlinah dosti bolj zračna in lažja za izkopavanje, medtem, ko je bila pri netretiranih rastlinah enako zbita kakor pri prvem vzorčenju. Zbrali smo 100g korenin pri vsakem paru rastlin in jih zapečatili v papirnate kuverte, da bi preprečili kakršnekoli zunanje vplive.



Slika 4: Netretirana zemlja (lasten vir)



Slika 5: Tretirana zemlja (lasten vir)

3.2.2 Analiza zračnosti zemlje s prostim očesom

Do določenih ugotovitev smo lahko prišli že samo z vidno analizo ob rastlinah odkopane prsti.

V netretirani prsti je bilo izkopavanje oteženo, saj je bila zemlja zbita in težka. Izkopavanje je bilo veliko zahtevnejše saj je material ostajal zbit in smo posledično dvigovali večje in težje kose prsti (nekateri so tehtali tudi preko 10 kg). Prav tako nismo imeli težav v določevanju plasti zemlje, saj so bili ti jasno vidi in razločni. Ena izmed značilnosti je bila tudi ta, da smo lahko luknji, ki smo jo izkopali naredili ostre robove, ki se niso sesuvali vase.

V tretirani prsti je bilo izkopavanje bistveno lažje. Zemlja je bila veliko lažja in rahla v primerjavi z netretiranimi rastlinami (razdalja med tretiranimi in netretiranimi rastlinama je

bil krajša kot 15m, s čimer smo želeli zagotoviti čim bolj enakovredne pogoje za obe skupini trsov ter tako omogočiti objektivnejšo primerjavo med vzorcema).

Plasti je bilo praktično nemogoče določiti (vsaj do globine 50cm), saj je bila prst homogena po vsej globini na kateri smo kopali. Prav tako je bilo zaradi manj zbite zemlje nemogoče narediti ostre robove kjer smo kopali, saj so se robovi zaradi zračnejše prsti sesuvali vase.

Iz slik lahko razberemo, da je tretirana prst tudi opazno temnejša od netretirane iz česar lahko sklepamo, da je v njej večji delež humusa oziroma razgrajene organske materije.

3.2.3 Analize korenin

Analizo korenin smo opravili na Kmetijskem inštitutu Slovenije v Ljubljani.

Za analizo korenin smo uporabili atomsko absorpcijsko spektrometrijo pri kateri se gre predvsem za snemanje, opazovanje, registriranje ter ovrednotenje in razlago spektra. Naloga spektrometrije je, da so v spektru, ki smo ga posneli, določene snovi podane intenzitete posameznih valovnih dolžin (oziroma frekvenc).

Iz rezultatov tako opravljene analize lahko sklepamo na prisotnost določenih elementov ali spojin v presevani svetlobi ali svetlobnem izvoru in tudi na nekatere spremenljivke kot so tlak temperatura in koncentracija.

Princip dela:

Suh in zmlet vzorec korenin smo upepelili v žarilni peči pri 550 ± 15 stopinjah Celzija. Pepel smo raztopili v klorovodikovi kislini (HCl) in prisotne silicijeve spojine odstranili z obarjanjem ter filtriranjem. V filtratu smo določili koncentracijo kalcija (Ca), magnezija (Mg), kalija (K), natrija (Na), bakra (Cu), železa (Fe), mangana (Mn) in cinka (Zn) z atomsko absorpcijsko spektrometrijo ter koncentracijo fosforja (P) z UV/VIS spektrometrijo.

Za atomsko absorpcijsko spektrometrijo smo uporabili instrument AAnalyst800, PerkinElmer. Za UV/VIS spektrometrijo pa instrument Cary 100, Varian.

Za ocenjevanje rezultatov analize smo se oprli na naslednje ISO standarde.

Za določevanje vsebnosti kalcija, magnezija, kalija, natrija, bakra, železa, mangana in cinka (uporabljena je bila metoda atomske absorpcijske spektrometrije) smo upoštevali standard ISO 6869 : 2000 Živalska krma.

Za določanje vrednosti fosforja (s spektrometrično metodo) smo upotevali standard ISO 6491 : 1998 Živalska krma.

Korenine smo testirali za vsebnost elementov navedenih v spodnji preglednici

Tabela 1: Vsebnost elementov v posameznem vzorcu_1. merjenje

Vzorec		1	2			
		V suhi snovi	V suhi snovi	Povprečje	Standardna deviacija	KV
Surovi pepel	g/kg	50	45	48	4	7
Kalcij- Ca	g/kg	12.6	11.2	11.9	1.0	8
Magnezij- Mg	g/kg	0.97	0.97	0.97	0.00	0
Kalij- K	g/kg	5.49	4.50	5.00	0.70	14
Natrij- Na	g/kg	<0.1	<0.1	/	/	/
Fosfor- P	g/kg	2.76	2.26	2.51	0.35	14
Baker- Cu	mg/kg	12	12	12	0	0
Železo- Fe	mg/kg	184	198	191	10	5
Mangan- Mn	mg/kg	11	10	10.5	1	7
Cink- Zn	mg/kg	43	43	43	0	0

Kot je razvidno iz tabele so vsebnosti snovi v koreninah dovolj podobne v koreninah tretiranih in netretiranih korenin, kar omogoča nadalno primerjavo.

3.2.4 Analize zemlje

Kislost tal (pH v KCl) smo določili po standardu SIST ISO 10390:2006

Kakovost tal – Določevanje pH,

Vsebnost rastlinam dostopnega fosforja in kalija smo določili po modificirani metodi ÖNORM L 1087 Chemische Bodenuntersuchungen - Bestimmung von pflanzenverfügbarem Phosphat und Kalium nach der Calcium-Acetat- Lactat (CAL)-Methode (modifikacija: amonlaktatna ekstrakcija)

Vsebnost rastlinam dostopnega magnezija smo določili po metodi Schachtschabel (Methodenbuch: Die Untersuchung von Böden, VDLUFA Verlag, Darmstadt, 1991, metoda A 6.2.4.1.).

Delež organske snovi smo določili po SIST ISO 14235:1998 Kakovost tal - Določevanje organskega ogljika z oksidacijo v kromžvepleni kislini – modificirano (faktor org.snov/org.C=1,724).

Za analizo skupnega dušika (N) smo uporabili ISO 11261: 1995 Kakovost tal - Ugotavljanje skupnega dušika - Modificirana Kjeldahlova metoda.

Za določitev deležev gline, finega in grobega melja ter finega in grobega peska smo uporabili modificirano metodo ISO 11277:2009 Kakovost tal - Določevanje porazdelitve velikosti delcev v mineralnem delu tal - Metoda s sejanjem in usedanjem.

Teksturni razred je bil določen po ameriški teksturni klasifikaciji.

4. REZULTATI

Tabela 2: Primerjava vsebnosti elementov_1. in 2. merjenje

Vzorec		1.Merjenje	2. Merjenje
		V suhi snovi	V suhi snovi
Kalcij- Ca	g/kg	11.9	Se poveča
Magnezij- Mg	g/kg	0.97	Se poveča
Kalij- K	g/kg	5.00	Se poveča
Natrij- Na	g/kg	/	Se poveča
Fosfor- P	g/kg	2.51	Se poveča
Baker- Cu	mg/kg	12	Se poveča

Železo- Fe	mg/kg	191	Se poveča
Mangan- Mn	mg/kg	10.5	Se poveča
Cink- Zn	mg/kg	43	Se poveča

Glede na to, da smo opazili veliko spremembo med tretiranimi in netretiranimi rastlinami že v sami prsti lahko trdimo, da se bo dolgoročno povečala vsebnost vseh snovi, ki smo jih merili. Razlog za to lahko najdemo v tem, da so mikroorganizmi spremenili teksturo prsti (prst je lažja, zračnejša) in pretvorili/predelali rastlino do zdaj nedostopna hranila v zemlji na način, ki omogoča njihovo kasnejšo absorpcijo v rastlino. Poleg tega imajo rastline v takšni prsti boljše pogoje za rast. Kar pomeni, da lahko sežejo globlje v zemljo in tudi bolj razvejajo že obstoječe korenine. To opazno poveča skupno površino korenin in tako lahko korenine črpajo dosti večje količine hranil iz tal. Kot smo opazili pri drugem izkopavanju korenin, so le te v tretiranem vzorcu bistveno nižje (na okoli 30 cm globine ni skoraj nobenih korenin). Ne le, da se s tem, ko so korenine postavljene nižje zmanjšajo izgube vode zaradi izhlapevanja skozi korenine v sušnih poletnih mesecih, tudi pozimi so korenine prekrte z večjo količino zemlje boljše zaščitene pred mrazom in so zato manj občutljive na zimske ter tudi kasnejše spomladanske pozebe.

Skupaj z mikroorganizmi smo v prst dodali tudi glive, ki se simbiotsko povežejo z rastlino (mikoriza). Te tvorijo okoli korenin ovoj, ki jim dodatno poveča že povečano površino korenin, kar omogoča znova večjo in hitrejšo absorpcijo hranil.

5. RAZPRAVA

Dve zaporedni pozebi, ki sta prizadeli velik del Slovenije v aprilu 2016 in 2017 sta povzročili veliko škodo. S finančnega vidika je pozeba aprila leta 2016 skupno povzročila za okoli 44 milijonov evrov škode (Šoštarč, 2016). Kljub dejstvu, da je pozeba leta 2016 veljala za praktično neponovljivo »stoletno« pozebo, je aprila 2017 zaradi pozebe nastala škoda v vrednosti 46,84 milijona evrov (24ur.com, 2017). Zato menimo, da je potrebno razvijati in odkrivati nove pristope s katerimi rastlino pripravimo na pozebo, poskrbimo, da ima na voljo vsa ustrezna hranila, izboljšamo njeno kondicijo in tako zmanjšamo posledice, ki jih imajo nizke pomladanske temperature na rastline in celotno gospodarstvo povezano s pridelavo sadja in zelenjave.

Po informacijah Kmetijsko gozdarskega zavoda Slovenije so vinogradi v obeh pozebah utrpeli med 60% in 100% pozebo. Škoda je bila odvisna od občutljivosti sorte ter lege vinograda (Kgzs.si, 2017). Rumeni muškat je bila ena izmed najbolj prizadetih sort vinske trte v preteklih pozebah (Lukman Žunec, 2017) zato menimo, da je zaščita pred zmrzaljo za to zgodnjo sorto vinske trte še posebej pomembna, izvedba naše raziskave pa zato še bolj smiselna.

Na področju vpliva mikroorganizmov na rastlinino odpornost na zmrzal še ni bilo izvedenih veliko raziskav ali eksperimentov. Zaradi tega njihova vloga še ni natanko določena. Ampak do zdaj zbrani rezultati nakazujejo, da naj bi na rastlinsko odpornost na zmrzal vplivali pozitivno. Splošno znano je že, da z mikroorganizmi lahko izboljšamo rast rastlin, pomagajo ji tudi s pretvorbo že prisotnih (a nedostopnih) snovi v takšno obliko, da jo rastlina lahko uporabi in pomagajo pri rastlinski zaščiti pred boleznimi.

Vinsko trto smo tretirali in po petih mesecih opazili veliko razliko v prsti. Pri tretirani rastlini, je bila ta dosti rahlejša, homogena in zračnejša. Prst pri netretiranih rastlinah pa je ostala zelo zbita, težka in sprijeta. Rahlejša prst je dosti primernejša za rast vinske trte, saj rastlini omogoča, da s koreninami prodira globlje v površino ter s tem zmanjša izgube vode v poletnih mesecih in najde izvire vode v okoljih kjer vode ni. Zadostna količina vode je nujno potrebna za optimalen razvoj vseh rastlin, tudi vinske trte, saj hranila, ki so v zemlji, če niso raztopljena v vodi za rastlino niso uporabna, saj jih ne more asimilirati.

Iz zgoraj navedenih rezultatov lahko potrdimo prvo hipotezo, ki pravi, da bo tretiran trs imel boljše pogoje za rast kot netretiran.

Potrdimo lahko tudi našo tretjo hipotezo, ki pravi, da bo zaradi delovanja mikroorganizmov, ki smo jih dodali, tretirana rastlina bolje pripravljena na zmrzal kot netretirana. Trditev lahko dokažemo na podlagi globine korenin pri posamezni rastlini. Ob kopanju in iskanju korenin vzorca smo pri tretiranih rastlinah korenine za analizo našli bistveno globlje v prsti. S tretmanom smo torej dosegli, da so bile korenine zaradi rahlejše prsti sposobne rasti bolj v globino kar jih dodatno zaščiti pred zmrzaljo.

Zaradi naselitve mikoriznih gliv se je okrog korenin tvorila zaščitna plast, ki še dodatno zaščiti korenino. Ta ista plast tudi pomaga, da rastlina lažje vsrkava hranila iz prsti, saj se je tako povečala skupna površina korenin. To omogoča večjo vsebnost osmotsko aktivnih snovi

v rastlini, ki spet dodatno zaščitijo rastlino pred zmrzaljo, saj se vežejo na molekule vode ter tako znižajo njeno ledišče. Ta hranila igrajo pomembno vlogo tudi pri pomladanskem zagonu rastlin (rastlina ima močnejše poganjke kar jo tudi bolje pripravi na visoke temperature, ki bodo sledile poleti). Ta ista hranila pa imajo tudi izjemen vpliv na nastanek poškodb in posledice v primeru, da do pozebe kljub temu pride. V primeru, da se temperature v času, ko je rastlina že začela poganjati vegetacijo vendarle spustijo več kot pet stopinj pod ledišče za že izrastle poganjke največkrat ni pomoči. Vendar pa zadostna količina hranil v dani situaciji omogoči ponoven zagon rastline in tako zmanjša škodo v količini pridelka ter dolgoročno škodo na rastlini.

Z dokaj veliko mero gotovosti lahko tudi trdimo, da bomo lahko potrdili tudi drugo hipotezo, ki pravi, da je količina osmotsko aktivnih hranil večja v koreninah tretiranih rastlin. Do tega zaključka smo prišli s sklepanjem, da so zaradi boljših pogojev pri črpanju osmotskih hranil (prisotnost vode, rastlini dostopni osmotski elementi) le ti v rastlini (v testiranih koreninah) prisotni v večjem številu. Tako možen razlog za povečanje je tudi dejstvo, da smo z naselitvijo mikoriznih bakterij okoli korenin ustvarili ovoj, ki je povečal skupno površino korenin (glive tudi pomagajo pri mineralizaciji tal) in tako dodatno pripomogli k povečanju vsebnosti vseh teh hranil znotraj rastline.

Raziskavo s področja vpliva mikroorganizmov in ustreznih hranil na zaščito pred zmrzaljo bi bilo smiselno nadaljevati dalj časa. Dejstvo je, da biološki procesi potekajo počasneje in bi bilo zato potrebno izvesti analizo korenin tudi kasneje. Predlagamo dve dodatni vzorčenji in analizi. Kot prvo predlagamo analizo v najbolj vročem in sušnem času leta (julija ali avgusta). Dodatno bi predlagali tudi izvedbo analize listov ter vidno primerjavo med tretiranimi in netretiranimi rastlinami. Globlje korenine, ki imajo na voljo več vode, bi omogočile več hranil v listih ter tako optimizirale tudi kakovost in količino grozdja na posameznem trsu.

Naslednjo analizo predlagamo v jesensko/zimskih mesecih (novembra oziroma takrat, ko odpade že velika večina listja). V tem obdobju je rastlina namreč že nabrala večino svojih zalog za zagon vegetacije v prihodnjem letu, pričela pa se je tudi pretvorba škroba v sladkorje, ki rastlino ščitijo pred mrazom.

6. ZAPIS O DRUŽBENI ODGOVORNOSTI

Pri izdelovanju te naloge smo spoznali, da imajo mikroorganizmi velik družbeni potencial. Sprva nam omogočajo, da omilimo ali celo popolnoma preprečimo škodo, ki nastane ob pozebi. Prav tako pa so mikroorganizmi koristni za samo rast in razvoj rastlin in bi lahko bila zelo dobra alternativa umetnim gnojilom, ki imajo kar veliko število določenih negativnih vplivov na okolje (manjša biološka pestrost na teh območjih in možnost onesnaženja podtalnice), ki jih biološki promotorji (gnojila na osnovi mikroorganizmov in organske materije) nimajo.

7. ZAKLJUČEK

Podrobneje smo spoznali mikroorganizme, njihovo delovanje in njihov vpliv na odpornost rastline na zmrzal. Odkrili smo, da mikorizne glive pri vinski trti ne samo povečajo količino osmotsko aktivnih hranil v celicah ampak rastlini pomagajo tudi s tem, da zaščitijo njene korenine pred različnimi dejavniki (vključno z zmrzaljo). Ugotovili smo tudi, da mikroorganizmi rastlini ne pomagajo samo tako, da omogočijo boljšo dostopnost hranil ampak ji z rahljanjem prsti omogočijo, da raste globlje v zemljo in se tako dodatno zaščiti pred zmrzaljo. Spoznali smo, da imajo mikroorganizmi zelo velik potencial v kmetijstvu ne samo zaradi boljše odpornosti na zmrzal ampak na splošno izboljšanje kvalitete in kvantitete brez degradacije okolja. Še več, v osiromašeno ali celo zasoljeno zemljo vrnejo življenje in ji vrnejo njeno rodovitnost.

8. VIRI IN LITERATURA

24ur.com. (2017). *Aprilska pozeba povzročila za 47 milijonov evrov škode*. Dostopno na: <http://www.24ur.com/novice/gospodarstvo/aprilska-pozeba-povzrocila-za-47-milijonov-evrov-skode.html>

Antoun, H., Kloeper, J.W. (2001). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). V: *Encyclopedia of Genetics, Academic Press*. New York. Edited by Brenner. S., Miller, J.H., str. 1477-1478

Bugarčić, S. (2015). *Tlo i mikorizne gljive*. Zdravasrbija.com. Dostopno na: <http://www.zdravasrbija.com/lat/Zemlja/Povrtarstvo/2041-Tlo-i-mikorizne-gljive.php>

Burke, M., Gusta, L., Quamme, H., Weiser, C. in Li, P. (1976). Freezing and Injury v Plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 27(1), str. 507-528.

Dermastia, M., Komelj, R. and Turk, T. ed., (2011). Gradniki življenja - atomi, molekule, makromolekule. V: *Kjer se življenje začne. Biologija celice in genetika za gimnazije..* Ljubljana: Založba Rokus KLETT, d.o.o., str. 22.

Haas, D. and Défago, G. (2005). Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nature Reviews Microbiology*, 3(4), str. 307-319.

Hacler, T. (2016). *V sadjarstvu in vinogradništvu škoda ponekod 90-odstotna*. Prvi interaktivni multimedijški portal, MMC RTV Slovenija. Dostopno na: <https://www.rtvsllo.si/slovenija/foto-v-sadjarstvu-in-vinogradnistvu-skoda-ponekod-90-odstotna/391773>.

Harley, J., Marks, G. and Kozlowski, T. (1975). Ectomycorrhizae, their Ecology and Physiology. *The Journal of Ecology*, 63(1), str. 369.

Jury, W. in Horton, R. (2004). *Soil physics*. 6th ed. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons.

Kgzs.si. (2017). *Škoda po pozebi je vsak dan večja*. Dostopno na: <http://www.kgzs.si/GV/Aktualno/V-srediscu/Novica/ArticleId/3451/Skoda-po-pozebi-je-vsak-dan-vecja.aspx>

Kloepper, J., Leong, J., Teintze, M. and Schroth, M. (1980). Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature*, 286(5776), str. 885-886.

Kramer, P. in Boyer, J. (1995). *Water relations of plants and soils*. London, UK: Academic Press Limited, str. 6 - 9.

Lukman Žunec, D. (2017). *Posledice pozebe že drugo leto zapored katastrofa*. www.vecer.com. Dostopno na: <https://www.vecer.com/posledice-pozebe-ze-drugo-leto-zapored-katastrofa-6259188>.

Mazur, P. (1969). Freezing Injury in Plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 20(1), str. 419-448.

McCully, M. (2005). The Rhizosphere: the key functional unit in plant/soil/microbial interactions in the field. Implications for the understanding of allelopathic effects. In *Proceedings of the 4th World Congress on Allelopathy. V: 4th World Congress on Allelopathy*. Wagga Wagga, NSW Australia: Charles Stuart University.

Pearce, R. (2001). Plant Freezing and Damage. *Annals of Botany*, 87(4), str. 417-424.

Rodrigo, J. (2000). Spring frosts in deciduous fruit trees — morphological damage and flower hardiness. *Scientia Horticulturae*, 85(3), str. 155-173.

Sivčev, B., Jović, S., Raičević, V., Petrović, A. in Lalević, B. (2005). Application of microbiological fertilizers in viticulture: Grape yield and quality of wine cv. Riesling. *Journal of Agricultural Sciences, Belgrade*, 50(1), str. 19-26.

Soršak, A., Gutman Kobal, Z., Kodrič, I. in Koron, D. (2017). *TEHNOLOŠKA NAVODILA ZA ZAŠČITO PRED SPOMLADANSKO POZEBO*. [kmetijskizavod-nm.si](http://www.kmetijskizavod-nm.si). Dostopno na: <http://www.kmetijskizavod-nm.si/file/7090/download/7833>.

Šoštarič, M. (2016). *Po aprilski pozebi za 44 milijonov evrov škode*. www.delo.si. Dostopno na: <http://www.delo.si/gospodarstvo/kmetijstvo/po-aprilski-pozebi-za-44-milijonov-evrov-skode.html>.

Taiz, L. in Zeiger, E. ed., (2010). Mineral Nutrition. V: *Plant Physiology*, 5th ed. Sunderland, MA: Sinauer Associates Inc, str. 88-105.

Vdlufa.de. (1991). *Methodenbuch Band I Böden*. Dostopno na:
<http://www.vdlufa.de/Methodenbuch/index.php/de/mb-i-boeden>.

Vršič, S. in Lešnik, M., (2010). Prehrana vinske trte. V: *Vinogradništvo*, 2. izdaja. Ljubljana: Založba Kmečki glas, strani. 50 - 66.

Weiser, C. (1970). Cold Resistance and Injury in Woody Plants: Knowledge of hardy plant adaptations to freezing stress may help us to reduce winter damage. *Science*, 169(3952), str.1269-1278.

Weiser, C.J. (1970). Cold Resistance and Injury in Woody Plants Knowledge of Hardy Plant Adaptations to Freezing Stress May Help Us to Reduce Winter Damage. Science, 169, 1269-1278. - References - Scientific Research Publishing. Dostopno na:
<http://www.scirp.org/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1390659>

Yasmin, F., Othman, R., Saad, M. and Sijam, K. (2007). Screening for beneficial properties of Rhizobacteria isolated from sweet potato rhizosphere. *Journal of Biotechnology*, 6(1), str. 49-52.