



UNIVERZITET U BANJOJ LUCI
POLJOPRIVREDNI FAKULTET



Mr Senad Murtić, dipl.inž.

**Efikasnost primjene biostimulatora
u regulaciji produktivnosti šeri paradajza
(*Lycopersicon esculentum* Mill. "Sakura")**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Banja Luka, 2018.



UNIVERSITY OF BANJA LUKA
FACULTY OF AGRICULTURE



M.Sc. Senad Murtić, B.Sc.

**The effectiveness of biostimulator application in
productivity regulation sherry tomatoes
(*Lycopersicon esculentum* Mill. "Sakura")**

DOCTORAL DISSERTATION

Banja Luka, 2018.

KOMISIJA ZA OCJENU I ODBRANU DOKTORSKE DISERTACIJE

1. Prof. dr Ivana Maksimović, redovni profesor

Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, predjednik komisije

2. Prof. dr Rodoljub Oljača, redovni profesor

Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Banjoj Luci, mentor

3. Prof. dr Vida Todorović, vanredni profesor

Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Banjoj Luci, član komisije

4. Prof. dr Hamdija Čivić, redovni profesor

Poljoprivredno-prehrabreni fakultet, Univerzitet u Sarajevu, član komisije

5. Prof. dr Tijana Cvetić Antić, vanredni profesor

Biološki fakultet, Univerzitet u Beogradu, član komisije

Mentor – Prof. dr Rodoljub Oljača, redovni profesor

Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Banjoj Luci

**Efikasnost primjene biostimulatora u regulaciji produktivnosti
šeri paradajza (*Lycopersicon esculentum* Mill. "Sakura"),**

Rezime:

Osnovni cilj ovog rada je bio ispitati uticaj Bio-algeena S-92, Ergonfilla i Slavola na odabране fiziološke parametre odbrambenog mehanizma presadnica šeri paradajza (*Lycopersicon esculentum* Mill. "Sakura") u uslovima suše. Ispitivani parametri su bili sljedeći: sadržaj prolina, vodni potencijal, površina listova, sadržaj hlorofila *a* i *b*, sadržaj karotenoida, sadržaj ukupnih fenola i flavonoida u listovima, ukupni antioksidacijski kapacitet, te aktivnost antioksidacijskih enzima; superoksid dismutaze (SOD), katalaze (CAT), gvajakol (GPX), pirogalol (PPX) i askorbat peroksidaze (APX) u listovima presadnica šeri paradajza. Dodatni cilj ovog rada je ispitati uticaj korišćenih preparata na prinos i kvalitet šeri paradajza. Kao objekt ovog istraživanja izabran je šeri paradajz, prvenstveno zbog toga što je ova povrtna kultura osjetljiva na nedostatak vode, a takođe i zbog značaja šeri paradajza u ishrani čovjeka.

Istraživanje je provedeno u kontrolisanim uslovima u stakleniku KJP "PARK" u Sarajevu tokom 2014. i 2015. godine. Eksperiment je postavljen u randomizovanom blok sistemu sa četiri tretmana u tri ponavljanja. Svaka od varijanti prezentovana je sa 40 biljaka.

Sva tretiranja su izvršena u skladu sa uputama proizvođača, s tim da je prvo tretiranje izvršeno odmah nakon presađivanja, a drugo petnaest dana poslije. Pet dana nakon drugog tretiranja izvršen je drugi dio ogleda u kojem je unutar svake varijante polovina presadnica (20 biljaka) bila izložena uslovima vodnog stresa (nezalijevanju), a druga polovina (također 20 biljaka) nije tj. ona je redovno zalijevana (kontrola). Izlaganje presadnica uslovima vodnog stresa je trajalo sve do momenta dok se na prvim presadnicama nisu pojavili vizualno uočljivi efekti suše u vidu padajuće forme listova. Taj momenat je ujedno predstavljao i početak mjerjenja odabranih fizioloških parametara odbrambenog mehanizma presadnica šeri pardajza na sušu. Ovim dijelom istraživanja obuhvaćeno je 10 biljaka, dok je druga polovina biljaka (10 biljaka) nesmetano uzgajana sve do momenta tehnološke zrelosti plodova.

Sve analize su izvršene u tri ponavljanja, a rezultati su prikazani kao prosječna vrijednost \pm standardna devijacija. Dobiveni rezultati su obrađeni primjenom statističke metode analize varianse i korelace analize uz korištenje SAS i Microsoft Excell softverskog paketa. Signifikantnost razlika između prosječnih vrijednosti ispitivanih varijanti je utvrđena korišćenjem LSD testa pri nivou signifikantnosti $p<0.05$.

Rezultati istraživanja su pokazali da su presadnice šeri paradajza tretirane Bio-algeenom S92, Ergonfillom i Slavolom imale manji sadržaj proline, veći vodni potencijal, te smanjenu aktivnost antioksidacijskih enzima u odnosu na netretirane sadnice izloženim vodnom stresu, što ukazuje da primjena tih stimulatora rasta znatno pridonosi boljom prilagodbi presadnica šeri paradajza na stres.

Rezultati ovog istraživanja također upućuju na zaključak da kontrolisano izlaganje presadnica šeri paradajza vodnom stresu značajno doprinosi povećanju kvaliteta plodova: većem sadržaju rastvorljive suhe materije, ukupne kiselosti, sadržaju askorbinske kiseline i likopena, sadržaju ukupnih fenola i flavonoida, te ukupnog antioksidacijskog kapaciteta, i to nezavisno da li su presadnice šeri paradajza prethodno bile tretirane stimulatorima rasta ili ne, a što indicira da izlaganje presadnica šeri paradajza kontrolisanim stresnim uslovima može predstavljati vrlo obećavajuću agrotehničku mjeru usmjerenu ka povećanju nutritivne vrijednosti plodova šeri paradajza.

Ključne riječi: *Lycopersicon esculentum* Mill. "Sakura", biostimulator, stres, supstrat.

Naučna oblast: Poljoprivredne nauke

Naučno polje: Poljoprivredne biljne nauke (hortikultura, fiziologija biljaka)

Klasifikaciona oznaka: B 006; B 390

Tip licence Kreativne zajednice: Autorstvo – nekomercijalno (CC BY – NC)

Mentor – PhD Rodoljub Oljača, Full time Professor
Faculty of Agriculture, University of Banja Luka

**The effectiveness of biostimulator application in productivity regulation sherry tomatoes
(*Lycopersicon esculentum* Mill. "Sakura"),**

Abstract:

The aim of this study was to examine the effects of Bio-algeen S-92, Ergonfill and Slavol on selected physiological parameters for evaluating drought tolerance of cherry tomato seedlings (*Lycopersicon esculentum* Mill. var. cerasiforme "Sakura"). The following physiological parameters were investigated: proline content, water potential, content of chlorophyll a and b, carotenoids content, leaf area, total phenolic and flavonoid content, total antioxidant capacity, and activities of the superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), guaiacol peroxidase (GPX), pirogalol peroxidase (PPX) and ascorbate peroxidase (APX) of leaf extracts of cherry tomato seedlings. An additional objective of this study was to examine its effect on the yield and quality of cherry tomato. Cherry tomato was selected as the subject of this study, particularly because this species is commonly affected by a lack of moisture, and also because the plants features prominently in human diets.

The study was conducted during 2014 and 2015 under controlled conditions, in hothouse of public communal company "Park" in Sarajevo. The experiment was set up in a randomized block design with four fertilizer treatments in three replications. Each of treatments was present with forty plants.

Fertilizers were applied at the concentrations recommended by the manufacturers. The first application of fertilizer was carried out immediately after the transplanting of seedlings, and the second 15 days later. Five days after the second treatment, one half of the cherry tomato seedlings within each variant (20 plants) was exposed to water stress conditions (non-watering), while the second half (also 20 plants) served as the controls which were not exposed to stress conditions, that is, they were regularly watered. This moment was the beginning of the measurement of physiological parameters of defense mechanisms of cherry tomato seedlings

against drought stress. Half of the plants (10 plants) was included in this part of the study, while the other half of the plants was grown until the time of technological maturity of fruit.

All experimental measurements were done in triplicates and the results were presented as mean \pm standard deviation. SPSS 15.0 and Microsoft Excel software were used for statistical analysis of results. Least significance means were compared by LSD-test and significant differences were considered at $P < 0.05$.

Cherry tomato seedlings treated by Bio-algeen S92, Ergonfill and Slavol had a lower content of proline higher leaf water potential, and reduced activities of antioxidant enzymes compared to non-treated seedlings under water stress, which indicates that application of these fertilizers contributes to better adaptation of cherry tomato seedlings to stress.

The results of present study also lead to the conclusion that controlled exposure of cherry tomato seedlings to water stress significantly improved fruit quality; increased total soluble solids, titratable acidity, content of ascorbic acid and lycopene, total phenolic and flavonoids content, total antioxidant capacity but decreased yield, regardless of fertilizer treatment, suggesting that exposure of plant to controlled water stress conditions may represent a very promising approach to enhance the nutritional quality of cherry tomato.

Key words: *Lycopersicon esculentum* Mill. "Sakura", biostimulator, stress, supstrat.

Scientific field: Agricultural Sciences

Scientific area: Agricultural plant sciences (horticulture, plant physiology)

Classification Code: B 006; B 390

Type of license of Creative Community: Autorship–noncommercial (CC BY – NC)

Zahvaljujem se mentoru prof. dr. Rodoljubu Oljači na vođenju, razumijevanju, te na sveobuhvatnoj pomoći i podršci pruženoj tokom izrade ove doktorske disertacije.

Zahvalnost upućujem i prof. dr. Ivani Maksimović, prof. dr. Vidi Todorović, te prof. dr. Hamdiji Čiviću na svim korisnimsavjetima i sugestijama.

Posebnu zahvalnost dugujem prof. Tijani Cvetić Antić na velkoj i nesebičnoj pomoći dатој tokom izrade eksperimentalnog dijela ove doktorske disertacije.

Veliku zahvalnost upućujem dr. sc. Ivani Koleški, dragom prijatelju i saradniku, na svoj iskazanoj pomoći i podršci, kako u sklopu izrade ove doktorske disertacije, tako i izvan nje.

Najveća zahvalnost ide supruzi Mireli, sestri Nuri i majci Seniji. Podugačke bi bile rečenice kada bih navodio sve razloge zahvale, pa neka sve budu sažete u jedno veliko hvala.

Senad Murtić

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. CILJ ISTRAŽIVANJA	5
3. PREGLED LITERATURE	6
4. RADNA HIPOTEZA	32
5. MATERIJAL I METODE RADA	33
5.1. Materijal rada.....	33
5.1.1. Stimulatori rasta (Slavol, Bio-algeen S92 i Ergonfill)	33
5.1.2. Šeri paradajz cv. Sakura F1 (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. "Sakura")	36
5.2. Postavljanje ogleda	37
5.3. Metode rada	43
5.3.1. Određivanje vodnog potencijala biljnog tkiva (ϕ)	44
5.3.2. Određivanje sadržaja prolina u listovima	46
5.3.3. Određivanje sadržaja fotosintetskih pigmenata u listovima	47
5.3.4. Određivanje površine listova	48
5.3.5. Ekstrakcija i određivanje ukupnih proteina u listovima	48
5.3.6. Određivanje aktivnosti pirogalol, gvajakol i askorbat peroksidaze	50
5.3.7. Određivanje aktivnosti katalaze (CAT)	53
5.3.8. Određivanje aktivnosti superoksid dismutaze (SOD)	54
5.3.9. Određivanje sadržaja fenola u ispitivanom biljnom materijalu	56
5.3.10. Određivanje ukupnih flavonoida u ispitivanom biljnom materijalu	57
5.3.11. Određivanje ukupnog antioksidacijskog kapaciteta u ispitivanom biljnom materijalu FRAP metodom (Ferric Reducing Antioxidant Power Method)	57
5.3.12. Određivanje rastvorljive suve materije u plodovima šeri paradajza	58
5.3.13. Određivanje ukupne kiselosti u plodovima šeri paradajza	59
5.3.14. Određivanje vitamina C u plodovima šeri paradajza	59
5.3.15. Određivanje likopena u plodovima šeri paradajza	60
5.3.16. Ekstrakcija fenolnih jedinjenja iz plodova šeri paradajza za HPLC	61
5.3.17. Identifikacija i kvantifikacija dominantnih fenolnih jedinjenja u ekstraktima HPLC metodom	61
5.3.18. Određivanje ukupnog prinosa	63
5.3.19. Statistička obrada podataka	63

6.	REZULTATI RADA I DISKUSIJA	64
6.1.	Vodni potencijal u listovima presadnica šeri paradajza.....	64
6.2.	Sadržaj prolina u listovima presadnica šeri paradajza	68
6.3.	Sadržaj fotosintetskih pigmenata u listovima presadnica šeri paradajza	72
6.4.	Površina listova presadnica šeri paradajza	76
6.5.	Aktivnost antioksidacijskih enzima u listovima presadnica šeri paradajza	78
6.5.1.	Aktivnost pirogalol peroksidaze (PPX)	79
6.5.2.	Aktivnost gvajakol peroksidaze (GPX)	83
6.5.3.	Aktivnost askorbat peroksidaze (APX)	86
6.5.4.	Aktivnost katalaze (CAT)	89
6.5.5.	Aktivnost superoksid dismutaze (SOD)	92
6.6.	Sadržaj ukupnih fenola u listovima presadnica šeri paradajza	96
6.7.	Sadržaj ukupnih flavonoida u listovima presadnica šeri paradajza	99
6.8.	Ukupni antioksidacijski kapacitet u listovima presadnica šeri paradajza	102
6.9.	Rezultati korelace analize između sadržaja fenola/flavonoida i antioksi-dacijskog kapaciteta u listovima presadnica šeri paradajza	104
6.10.	Rastvorljiva suva materija i ukupna kiselost u plodovima šeri paradajza	106
6.11.	Sadržaj vitamina C u plodovima šeri paradajza	108
6.12.	Sadržaj ukupnih fenola u plodovima šeri paradajza	111
6.13.	Sadržaj ukupnih flavonoida u plodovima šeri paradajza	114
6.14.	Sadržaj dominantnih fenolnih jedinjenja u plodovima šeri paradajza	115
6.15.	Sadržaj likopena u plodovima šeri paradajza	119
6.16.	Ukupni antioksidacijski kapacitet u plodovima šeri paradajza	123
6.17.	Rezultati korelace analize između ispitivanih antioksidanasa i ukupnog antioksidacijskog kapaciteta u plodovima šeri paradajza	124
6.18.	Ukupni prinos šeri paradajza	128
7.	ZAKLJUČCI	131
8.	LITERATURA	134
	BIOGRAFIJA	155

1. UVOD

U toku svog životnog ciklusa biljke su izložene djelovanju različitih spoljašnjih faktora koji u velikoj mjeri utiču na rast i razvoj biljke, te na realizaciju njihovog genetskog potencijala. Ukoliko je djelovanje nekog spoljnog faktora izvan optimuma potrebnog za odvijanje fizioloških procesa u biljci, postoji velika opasnost da biljka uđe u tzv. stanje stresa. Svako stanje stresa je obilježeno određenim poremećajima u načinu odvijanja fizioloških procesa u biljci, što se negativno reflektuje na kvalitet i produktivnost uzgajane biljke, a vrlo često se manifestuje i samim njenim uginućem (*Nešković i sar.*, 2003).

Biljke kao sesilni organizmi nisu u stanju da izbjegnu nepovoljne faktore na svome staništu, ali su u stanju da se u granicama svog genetskog potencijala, svojim vlastitim mehanizmima odbrane prilagode nepovoljnim uslovima sredine u kojima se nalaze. Što je taj stepen razvjeta mehanizma odbrane na stres jače razvijen, biljka ima i veće šanse da opstane u navedenim uslovima (*Pevalek Kozlina*, 2003).

Stresni faktori mogu biti abiotiske ili biotske prirode, a faktor koji može biljku u vrlo kratkom periodu dovesti u stanje stresa je suša uslovljena nedostatkom vode u zemljištu ili pak nemogućnošću iskorištavanja prisutne vode od strane biljke (*Hopkins*, 1995).

Jedni od najranijih odbrambenih mehanizama koje biljka koristi kada se nađe u sušnim uslovima su zatvaranje stoma, usporavanje rasta ćelija, te smanjenje površine i broja listova. Zatvaranjem stoma, biljka umanjuje gubitak vode transpiracijom, ali istovremeno smanjuje i mogućnost nakupljanja ugljen dioksida, što se negativno odražava na proces fotosinteze. Usljed navedenog, učinci vodnog stresa se indirektno očituju i na smanjenoj količini stvorenih asimilata, kao i na usporavanju njihovog transporta u biljci, što sve zajedno znatno umanjuje šanse biljke da preživi u uslovima stresa (*Taiz i Zeiger*, 2010).

Odbrambenim mehanizmom u vidu usporavanja rasta ćelija, biljka smanjuje i svoju površinu, a time i mogućnost isparavanja vode sa površine lista u nezasićenu atmosferu. Ako je biljka izložena vodnom stresu nakon što su njeni listovi već formirani, odgovor biljke je u pravilu usmjeren u pravcu stimulacije opadanja listova. Ova prilagodba je najvećim dijelom genetski determinisana, potaknuta je djelovanjem hormona etilena, a doprinosi biljci da lakše preživi u okolini s ograničenim sadržajem pristupačne vode (*Verma i sar.*, 2016).

Vrlo važan segment odbrambenog mehanizma pojedinih biljaka u uslovima vodnog stresa je i sposobnost osmotskog prilagođavanja biljke datim prilikama. Naime, biljka može primati vodu iz zemljišta, samo kada je vodni potencijal, odnosno koncentracija vode u rastvoru zemljišta viša u odnosu na koncentraciju vode u korijenovim dlačicama. Kako uslijed suše vrijednost vodnog potencijala u zemljištu postaje sve niža, automatski se time smanjuje i mogućnost biljke da apsorbuje vodu iz zemljišta. Do kojeg trenutka će biljka nastaviti primati vodu, velikim dijelom zavisi i od sposobnosti biljke da akumuliše i sintetiše osmotski aktivne materije u svojim ćelijama. One biljke koje su sposobne stvoriti i nakupiti ih više, u mogućnosti su i primiti više vode iz rastvora zemljišta. Rezultat nakupljanja osmotski aktivnih materija, među kojima je vrlo značajna aminokiselina prolin, je snižavanje vodnog potencijala u ćelijama korijenovih dlačica, čime i prag za primanje vode u korijenov sistem biljke postaje niži. Na ovaj način biljci je još neko vrijeme omogućen nastavak primanja vode iz rastvora zemljišta, što podrazumijeva i nastavak odvijanja svih životno važnih procesa u biljci (*Ridge, 1991*).

Razvoj biljke u uslovima suše znatno će zavisiti i od njene sposobnosti da se odupre negativnom efektu slobodnih radikala čije je veće prisustvo prateća manifestacija, odnosno sastavni dio vodnog stresa. Naime, uslijed dehidratacije, u biljnoj ćeliji je uz ostalo smanjena i prisutnost produkata fotolize vode, što dovodi do poremećaja u transportu elektrona u procesima fotosinteze i disanja, a samim time i do pomaka ravnoteže u oksido - reduksijskim reakcijama u smjeru oksidacije. Kao rezultat toga, u ćelijama se povećava količina slobodnih radikala, posebno aktivnih formi kiseonika koji u svojim spoljnim orbitalama posjeduju jedan ili više nesparenih elektrona, što ih čini vrlo nestabilnima. Zbog težnje da popune te orbitale i time postignu stabilnu elektronsku konfiguraciju, slobodni radikali su izrazito reaktivni, a posljedično i opasni za organizam. Slobodni radikali svoju stabilnost u pravilu pokušavaju postići na način da nedostajući elektron uzmu od najbliže elektronski stabilne molekule, čime istu dovode u nestabilno stanje. Time ta reakcija postaje lančana i na kraju rezultuje promjenama u strukturi napadnutih biomolekula. Te promjene, koje se najčešće ogledaju u vidu oštećenja, izrazito se nepovoljno odražavaju na funkcionisanje biljnih ćelija, tkiva i organa. Tako nastala oštećenja mogu izazvati inhibiciju različitih signalnih puteva u ćeliji ili mogu na neki drugi način poremetiti način odvijanja biohemijskih procesa, što sve za posljedicu ima negativnu refleksiju na produktivnost i kvalitet uzgajane biljke (*Nimse i Pal, 2015*).

Svaka biljna ćelija posjeduje vlastiti sistem odbrane kojim se pokušava odbraniti od negativnog djelovanja slobodnih radikala, no osnov svih tih sistema je postojanje antioksidansa. Antioksidansi su supstance koje su u stanju neutralisati slobodne radikale, a način djelovanja antioksidansa zasniva se na njihovoj sposobnosti da onemogućavaju stvaranje slobodnih radikala u ćeliji ili da uništavaju već stvorene slobodne radikale. Osim neutralizacije slobodnih radikala, djelovanje antioksidansa može biti usmjereno i u pravcu popravljanja šteta nastalih uslijed djelovanja slobodnih radikala, u smislu obnavljanja strukture napadnutih molekula (*Sies*, 1997).

Antioksidansi u biljnoj ćeliji se prema prirodi i načinu djelovanja mogu podijeliti na enzimske i neenzimske antioksidanse. Enzimski antioksidansi imaju primarnu funkciju u uklanjanju slobodnih radikala iz ćelije, a u okviru njih se ubrajaju: superoksid dismutaza (SOD), katalaza (CAT), gvajakol peroksidaza (GPX), pirogalol peroksidaza (PPX) i askorbat peroksidaza (APX). Način njihovog djelovanja je specifičan i selektivan, zavisno od vrste enzima i reakcije koja se katalizuje, no konačni rezultat svih tih reakcija je uništavanje slobodnih radikala ili njihova transformacija u nereaktivna jedinjenja. Neenzimski antioksidansi su jedinjenja različite prirode koja se stvaraju u biljci, a imaju takođe sposobnost da neutrališu negativno djelovanje slobodnih radikala. Jedni od važnijih neenzimskih antioksidansa koji se sintetišu u biljnim ćelijama, a od čijeg sadržaja u velikoj mjeri zavisi antioksidacijski odbrambeni mehanizam biljke su jedinjenja fenolne prirode. Biljke koje su sposobne stvoriti više fenolnih jedinjenja i uopšte antioksidansa, imaju i veći antioksidacijski kapacitet, odnosno veću sposobnost da se odupru negativnim efektima oksidacijskog stresa (*Kaur i Mondal*, 2014).

Osim navedenih, postoje i drugi odbrambeni mehanizmi kojima se pojedine biljke pokušavaju adaptirati i aklimatizovati u uslovima vodnog stresa kao što su: usmjeravanje pojedinih dijelova biljke da funkcionišu dehidrirano, izduživanje korijenskog sistema biljke u potrazi za vodom, prilagođavanje fotosinteze i ostalih fizioloških procesa stresnim uslovima, završavanje životnog ciklusa prije započinjanja suše, te niz drugih (*Pevalek Kozlina*, 2003).

Koje će odbrambene mehanizme u uslovima vodnog stresa pojedina biljka upotrijebiti najviše zavisi od agroekoloških prilika u kojima se biljka nalazi, genetskog potencijala same biljke, ali i od vremena i jačine djelovanja stresnog faktora. Nezavisno od navedenog, veće prisustvo antioksidansa, te osmotski aktivnih materija u biljnim ćelijama bi trebalo doprinijeti većoj otpornosti biljaka na uslove vodnog stresa, te se stoga u poljoprivredi različitim biološkim i hemijskim mjerama nastoji uticati na njihovo povećanje.

Mnogi stimulatori rasta koji se primjenjuju u poljoprivrednoj proizvodnji u sebi sadrže fiziološki aktivne materije čije djelovanje bi trebalo pokazati pozitivan uticaj na povećanje sadržaja osmotski aktivnih materija i antioksidanasa u biljci, a s tim u vezi i na poboljšanje odbrambenog mehanizma biljke u uslovima suše. U tom kontekstu, među stimulatorima rasta se posebno izdvajaju preparati Bio-algeen S92, Ergonfill i Slavol, prvenstveno zbog svojih sastavnih komponenti koje bi trebale pozitivno uticati na stimulaciju metaboličkih procesa u biljci.

Bio-algeen S92 je preparat nastao ekstrakcijom iz morske alge *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. i kao takav u sebi sadrži prirodne aktivne supstance za koje je dokazan stimulativan uticaj na tok odvijanja fizioloških procesa u biljci (*Abdel-Latif*, 1995; *Pertuit*, 1995; *Blunden i sar.*, 1996; *Hafez*, 2001; *Dobromilska i sar.*, 2008; *Tantawi i sar.*, 2009). Ergonfill je hemijski preparat sa visokim sadržajem aminokiselina, minerala i ostalih supstanci koje podstiču brže odvijanje fizioloških procesa u biljci, dok Slavol predstavlja tekuće mikrobiološko đubrivo koje u svom sastavu uz korisne bakterije azotofiksatore i fosfomineralizatore sadrži i hormon rasta auksin. Uzveši u obzir karakteristike navedenih stimulatora rasta za pretpostaviti je da bi njihova primjena trebala imati pozitivan efekat na podizanje nivoa odbrambenog mehanizma biljke u uslovima vodnog stresa, a što bi se u konačnici trebalo odraziti pozitivno na rast i razvoj cijele biljke.

U sklopu ove doktorske disertacije ispitivan je uticaj navedenih stimulatora rasta na mogućnost povećanja tolerantnosti presadnica šeri paradajza prema nedostatku vode. Dobijeni rezultati bi trebali biti dobar osnov za razumijevanje ponašanja presadnica šeri paradajza u uslovima vodnog stresa, te za donošenje ispravnih zaključaka o mogućnostima poboljšanja njihove otpornosti na stresne uslove primjenom odgovarajućih stimulatora rasta.

Nezavisno od dobijenih rezultata, za razumijevanje ponašanja biljaka u uslovima vodnog stresa, važno je napomenuti da će bez obzira na mehanizam odbrane, ukoliko efekat suše pređe granicu mogućnosti adaptacije i aklimatizacije biljke na novonastale uslove, nastupiti stanje stresa u biljci koje u pravilu rezultuje venućem same biljke. Međutim ukoliko je moguće primjenom određenih stimulatora rasta tu granicu pomaknuti i s naučnog stanovišta je i objasniti, onda je za očekivati da će rezultati ovog rada ići u prilog donošenjima kvalitetnih rješenja za unapređenje proizvodnje šeri paradajza, ali i ostalih povrtnih kultura u uslovima suše.

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Osnovni cilj istraživanja u sklopu ove doktorske disertacije je bio ispitati uticaj primjene stimulatora rasta Bio-algeena S92, Ergonfilla i Slavola na fiziološke parametre odbrambenog mehanizma presadnica šeri paradajza (*Lycopersicon esculentum* Mill. "Sakura") u uslovima suše, te posljedično na prinos i kvalitet uzgajane biljke. Vrlo važan segment ovog istraživanja je bio i utvrditi, te objasniti povezanost između fiziološki aktivnih komponenti sadržanih u korišćenim stimulatorima i ispitivanih parametara odbrambenog mehanizma biljke u uslovima vodnog stresa.

Istraživanje je provedeno na šeri paradajzu prvenstveno zbog značaja ove povrtnе kulture u ishrani čovjeka, ali i zbog činjenice da je ista sve više zastupljena u uzgoju u Bosni i Hercegovini, a i šire, te bi rezultati dobijeni u ovom istraživanju trebali biti od velikog interesa kako za proizvođače ove povrtnе kulture, tako i za naučnike koji se bave ispitivanom problematikom.

Ispitivani parametri odbrambenog mehanizma biljke u uslovima vodnog stresa bili su sljedeći: vodni potencijal biljnog tkiva, sadržaj osmotski aktivne materije prolina, sadržaj fotosintetskih pigmenata u listovima, lisna površina, sadržaj ukupnih fenola, flavonoida i ukupni antioksidacijski kapacitet, te aktivnost enzimskih antioksidansa; superoksid dismutaze (SOD), katalaze (CAT) i peroksidaza (GPX, PPX i APX) u listovima presadnica šeri paradajza.

Ovi parametri su odabrani iz razloga jer isti u velikoj mjeri ukazuju na sposobnost biljke da se odupre negativnom efektu suše, a ispitani su u različitim fazama vodnog stresa. Prvo određivanje ispitivanih parametara je izvršeno u momentu započinjanja vodnog stresa, tj. u momentu kada su se na presadnicama šeri paradajza uzgajanim u kontrolisanim uslovima počeli pojavljivati prvi vizuelno uočljivi efekti suše u vidu padajuće forme listova, a drugo u završnoj fazi izlaganja presadnica vodnom stresu.

Važan segment ovog istraživanja je bilo i testiranje hipoteze da li će presadnice šeri paradajza sa većom tolerantnošću na nedostatak vlage uspjeti ostvariti veći prinos i kvalitet. Navedena teza je testirana u fazi tehnološke zrelosti plodova kada su na plodovima šeri paradajza ispitani sljedeći parametri: ukupni prinos po biljci, sadržaj rastvorljive suve materije i ukupnih kiselina, sadržaj vitamina C, sadržaj likopena, sadržaj ukupnih fenola, flavonoida i ukupni antioksidacijski kapacitet, te sadržaj dominantno zastupljenih fenolnih jedinjenja u plodovima šeri paradajza: hlorogenske kiseline, kafeinske kiseline, rutina i naringenina.

3. PREGLED LITERATURE

U prirodnim staništima, kao i u poljoprivrednoj proizvodnji, biljke su izložene djelovanju faktora okoline, koji mogu uticati i nepovoljno na razvoj biljke. Izloženost biljaka nepovoljnim ekološkim uslovima uzrokuje poremećaje u biljci koji u konačnici mogu rezultirati i izazivanjem stresnog stanja (*Gill i Tuteja, 2010*).

Izazivanje stresnog stanja kod biljke, djelovanjem nekog stresnog faktora, može se ostvariti u različitim vremenskim periodima. Određeni stresni faktor, kao što je npr. nedostatak mineralnih materija ili neki drugi poremećaj u ishrani biljaka uzrokovat će stresno stanje u biljci tek nakon duže izloženosti biljaka navedenim uslovima, dok nagla promjena temperature može uzrokovati stresno stanje kod biljke vrlo brzo, čak u roku nekoliko minuta (*Ahuja i sar., 2010*).

Takođe, i nedostatak vode u zemljištu ili nemogućnost iskorištavanja prisutne vode od strane biljke, kao i neefikasnost biljke u iskorišćavanju primljene vode mogu izazvati stresno stanje kod biljaka u relativno kratkom periodu. Pri tome se vrijeme nastupanja vodnog stresa znatno razlikuje od jedne do druge biljne vrste, pa čak i unutar jedne vrste, što prvenstveno zavisi od odbrambenih reakcija biljke i mogućnosti njene prilagodbe novonastalim uslovima.

Kako će se deficit vode odraziti na razvoj biljke zavisi i od faze razvoja u kojoj se biljka nalazi. Potrebe biljke za vodom tokom ontogeneze se znatno mijenjaju, a najveće su u početnim fazama rasta, te se nedostatak vode u tom periodu i najviše odražava na razvoj biljke. Međutim, nezavisno od faze razvoja u kojoj se biljka nalazi, u slučajevima duže izloženosti biljke nedostatku vode, nastupiće stanje stresa u biljci (*Skirycz i Inze, 2010*).

Za razumijevanje ponašanja biljaka u stresnim uslovima treba imati u vidu i činjenicu da stresni faktori (suša, visoka temperatura...) ne djeluju izolovanona biljku već često u sinergiji, što uvelike može da promijenipojedinačnefekat stresnih faktora, ali i adaptivnu reakciju biljke na stres (*Nešković i sar., 2003*).

Efekti vodnog stresa i odbrambeni mehanizmi biljke

Velika potreba biljaka za vodom i ključna uloga vode u fiziološkim procesima čine vodu osnovnom i nezamjenjivom komponentom u biljci. Voda predstavlja medij u kojem se odvija transport metabolita u ćeliji i kroz biljku u cjelini, univerzalni je rastvarač, neposredni je učesnik

u mnogim hemijskim reakcijama, štiti biljku od prekomjernog zagrijavanja, te omogućava održavanje strukturnog jedinstva biljne ćelije (*Osakabe i sar.*, 2014).

Cjeloklupni promet vode u biljci se označava kao vodni režim, a isti obuhvaća usvajanje vode, transport vode kroz biljku i odavanje vode u spoljašnju sredinu. Ukoliko količina odavane vode premaši količinu usvojene vode u biljkama dolazi do deficita vode, što često rezultuje i izazivanjem stresnog stanja u biljci (*Molina i sar.*, 2008).

Vodni stres se može javiti kao posljedica smanjene količine vode u zemljištu (suša) ili kao rezultat poremećaja u usvajanju vode uslijed niske temperature zemljišta ili povišene koncentracije zemljišnog rastvora (fiziološka suša). Nezavisno od razloga, nedostatak vode u biljci negativno se odražava na tok odvijanja svih fizioloških procesa u biljci: počevši od sinteze proteina, diobe ćelija, aktivacije enzima i hormona, regulacije otvaranja i zatvaranja stoma, fotosinteze, disanja, pa do procesa vezanih uz senescenciju biljaka (*Li i sar.*, 2009).

Efekti vodnog stresa na biljku u prvom redu zavise od intenziteta i dužine trajanja vodnog stresa, vrste biljke i faze razvoja u kojoj se biljka nalazi, ali i od sposobnosti biljke da se adaptira i aklimatizuje na novonastale uslove.

Pod pojmom adaptacije podrazumijeva se genetski uslovljena otpornost biljke na stres, dok aklimatizacija nije genetski determinisana već predstavlja prilagodbu biljke određenoj situaciji. Granice adaptacije i aklimatizacije na stresne uslove se razlikuju kod pojedinih biljnih vrsta i mogu se mijenjati zavisno od razvijenosti odbrambenih mehanizama biljke, te od djelovanja ostalih ekoloških faktora. Kada je riječ o poljoprivrednim kulturama, one gotovo sve spadaju u mezofite tj. u biljke prilagođene na život u umjereni vlažnim zemljištima, te je efekat vodnog stresa na njih, kao i reakcija biljke na stres, odnosno odbrambeni mehanizmi biljke u svojoj osnovi sličan (*Pevalek Kozlina*, 2003).

Efekat vodnog stresa na procese rasta i razvića biljaka

Od svih fizioloških procesa na nedostatak vode je najosjetljiviji proces rasta ćelije. Naime, uslijed nedostatka vode u biljci smanjuje se unutrašnji sadržaj ćelije, a samim time i turgor tj. pritisak protoplasta na ćelijski zid. Posljedica navedenog je poremećaj svih fizioloških procesa zavisnih od turgora, a to je u prvom redu rast ćelija. Rast se ostvaruje samo ukoliko je vrijednost turgora iznad vrijednosti graničnog pritiska, što i jeste slučaj u normalnim fiziološkim uslovima. Međutim kako se uslijed smanjenja sadržaja vode u ćeliji posljedično smanjuje i turgor, u

uslovima vodnog stresa rast ćelija će se usporiti, pa čak i potpuno zaustaviti ukoliko se vrijednost turgora izjednači ili bude ispod vrijednosti graničnog pritiska. Negativna strana vodnog stresa je i činjenica da je rastezljivost ćelijskog zida znatno manja u dehidriranim uslovima, što takođe indirektno utiče na smanjenje stope rasta ćelija. U suštini, smanjenje stope rasta biljnih ćelija predstavlja odbrambenu reakciju biljke u uslovima vodnog stresa, a ostvaruje se iz razloga što će se smanjenjem rasta ćelija listova smanjiti i vanjska površina biljke, a preko manje površine, biljka će i gubiti manje vode transpiracijom (*Bray, 1997*).

Ako je biljka izložena vodnom stresu duže vremena ili u periodu nakon što su njeni listovi već formirani, odgovor biljke na sušu će biti usmjeren u pravcu stimulacije opadanja listova. Ova prilagodba je najvećim dijelom genetski determinisana, a omogućava biljci da preživi u okolini s ograničenim sadržajem pristupačne vode. Dakle, opadanje listova predstavlja takođe odbrambenu reakciju biljke u uslovima nedostatka vlage, a samu reakciju biljka reguliše i kontroliše zahvaljujući u prvom redu aktivnosti fitohormona etilena (*Bai i sar., 2011*).

Kada je riječ o opadanju listova, signal predstavlja nedostatak vlage ili nemogućnost njene apsorpcije od strane korijenovog sistema biljke. Primanje tog signala i njegovo provođenje ostvaruje se zahvaljujući prisutnosti hormona etilena u biljci i njegovom vezanju za određeni proteinski receptor u membrani ćelija. Vezanjem za receptor, etilen prelazi u aktivni oblik koji izaziva specifičan odgovor biljne ćelije, a isti se manifestuje aktivacijom gena na DNK molekulineophodnih za stvaranje proteina koji ulaze u sastav specifičnih hidrolitičkih enzima (celulaza, pektinaza...). Djelovanje ovih enzima je usmjereni u pravcu ubrzavanja razgradnje ćelijskih zidova u rastavnom sloju baze peteljke uslijed čega dolazi do olabavljanja tog dijela i odvajanja rastavnog sloja između baze lista i grančice, a posljedično i do opadanja lišća. Bez prisutnosti etilena, ti geni se ne uključuju, te reakcija razgradnje ćelijskih zidova, a time i opadanja lišća niti ne započinju. Na opadanje listova su posebno osjetljivi stariji listovi jer je u tim listovima količina etilena znatno veća u odnosu na mlađe listove (*Bradford i Yang, 1980*).

U uslovima vodnog stresa biljkapokreće i druge odbrambene mehanizme sa ciljem racionalizacije potrošnje vode, a među njima je za opstanak biljke od presudnog značaja regulacija mehanizma zatvaranja stoma (*Schroeder i sar., 2001*).

Stome su posebni otvori na epidermisu lista čijim otvaranjem se omogućava isparavanje vode sa površine lista u nezasićenu vanjsku atmosferu, što biljci osigurava neprekidan tok vode

od korijena do listova, te je štiti od prekomjernog zagrijavanja. Otvaranjem stoma omogućava se i razmjena plinova O_2 i CO_2 tokom procesa disanja i fotosinteze.

U uslovima vodnog stresa biljka je prisiljena zatvarati stome jer bi njihova otvorenost značila ubrzani gubitak i ono malo vode što biljka sadrži u sebi. Međutim, u početnim fazama vodnog stresa, biljka ne zatvara stome u potpunosti već samo djelomično kako bi omogućila nesmetani tok odvijanja fotosinteze. Ako je duže izložena vodnom stresu, biljka je prisiljena u potpunosti zatvoriti stome kako bi spriječila ili barem odgodila dehidrataciju biljnog tkiva, a posljedično i uvenuće (*Atkinson i sar.*, 2008).

Sam mehanizam zatvaranja stoma je kompleksan, a hormon apscisinska kiselina (ABA) u njemu ima ključnu ulogu. Naime, u uslovima stresa znatno se povećava sinteza apscisinske kiseline, kako u ćelijama mezofila lista, tako i u ćelijama korijena koje takođe predstavljaju mjesto sinteze navedenog hormona. Iz korijena će apscisinska kiselina putem ksilema dospjeti do lista, što će dodatno ubrzati njen efekat na zatvaranje stoma. Osim o količini, efekat apscisinske kiseline u velikoj mjeri zavisi o njenom obliku i preraspodjeli u listu, a što je u direktnoj zavisnosti od pH vrijednosti medija u kojem se ABA nalazi. U uslovima suše medij u ksilemu i apoplastu je znatno alkalniji ($7,2^{\circ}C$) u odnosu na normalne fiziološke uslove ($6,3^{\circ}C$), uslijed čega se apscisinska kiselina većinom nalazi u disociranom obliku (ABA^-). Navedeni oblik se slabo usvaja od strane mezofilnih ćelija lista, što stvara mogućnost da se ABA vrlo brzo transportuje i usvoji od strane ćelija zatvaračica koje okružuju stomin otvor, a to se u uslovima suše upravo i događa (*Sharp*, 2002).

Vezujući se na odgovarajući proteinski receptor na membrani ćelija zatvaračica, apscisinska kiselina (ABA) je u stanju pokrenuti kaskadu reakcija koje će na kraju dovesti do zatvaranja stoma. Najraniji učinak ABA-e uslijed njenog ulaska u ćelije zatvaračice ogleda se u prilagođavanju jonskih kanala za prolaz jona kalcijuma u ćelije zatvaračice, što dovodi do blokade H^+ -ATP-azne pumpe i ulaznih kanala za K^+ na membrani ćelija zatvaračica. Navedena dešavanja aktiviraju refluks jona kalijuma koji izlaze iz vakuole u citosol, a zatim prekoizlaznih kanala za kalijum i van stominih ćelija. Osim toga aktiviraju se i dva tipa izlaznih anjonskih kanala koji omogućavaju izlaženje hlora i malat jona van ćelija (Cl^- i $C_4H_4O_5^-$). Usljednavedenog u ćelijama zatvaračicama dolazi do gubitka K^+ , ali i anjona što će dovesti do pada turgora, a posljedično i do splašnjavanja tih ćelija, čime se i zatvara otvor između njih, tj. stoma. U suprotnom, u uslovima kada H^+ -ATP-azna pumpa i ulazni kanali za kalijum na membrani ćelija

zatvaračica nisu blokirani, vrijednost turgora ne pada, te tada ni ne dolazi do zatvaranja stoma. Dakle, na mehanizam zatvaranja stoma utiče niz faktora, ali su oni svi na direktni ili indirektni način vezani sa djelovanjem ABA-e (*Pillitteri i Torii*, 2012).

Vrlo važna odbrambena reakcija biljke u uslovima vodnog stresa je i izduživanje korijenovog sistema, te njegovo usmjeravanje u dublje slojeve zemljišta, odnosno u slojeve zemljišta bogatije vodom (*Zotarelli i sar.*, 2009).

Objašnjenje ove reakcije leži u razumijevanju odnosa rasta između nadzemnog i podzemnog dijela biljke. Iako je ovaj odnos vrlo složen i zavisан od brojnih metaboličkih procesa, u osnovi se može pojednostavljeno objasniti postojanjem funkcionalne ravnoteže između rasta nadzemnog i podzemnog dijela biljke. Ako je opskrba korijena vodom i hranjivima na zadovoljavajućem nivou proporcionalno raste i nadzemni dio biljke, sve dok ne dođe do zastoja u opskrbi korijena biljke sa vodom i u njoj rastvorenim mineralnim materijama. Zauzvrat, nadzemni dio biljke opskrbljuje korijen produktima fotosinteze, čime ono, barem što se tiče izvora za stvaranje energije, ima nesmetane uslove za svoj razvoj (*Arreola i sar.*, 2006).

Međutim, kako u uslovima vodnog stresa biljka automatski reaguje zatvaranjem stoma, smanjiće se i ulazak CO₂ kroz stome u list, što će za posljedicu imati inhibiciju procesa fotosinteze. Upočetnim fazama vodnog stresa zatvaranje stoma znatno ćebrže inhibirati transpiraciju, nego što će inhibirati proces fotosinteze, a time i tok asimilata od lista prema korijenu. Iz navedenog proizlazi da utim okolnostima korijenov sistem biljke prima sasvim dovoljno asimilata da usmjeri rastsrog korijenskog sistema u dublje slojeve zemljišta, što se i događa, a sve sa ciljem stvaranja većih mogućnosti za snabdijevanje biljke vodom. No, ukoliko nedostatak vode bude izražajniji, posljedice po biljku, s obzirom na rast i nadzemnog i podzemnog dijela biljke biće sve teže, što će u slučaju duže izloženosti biljaka nedostatku vode neizbjegno dovesti do dehidratacije biljke, a posledično i do njenog venuća (*Nešković i sar.*, 2003).

Mehanizam osmotskog prilagođavanja biljke na nedostatak vlage

Osim o stepenu razvića korijenovog sistema, primanje vode iz zemljišta u stresnim uslovima u znatnoj mjeri zavisi i od mogućnosti osmotske prilagodbe biljke datim prilikama. Naime, biljka može primati vodu iz zemljišta, bez utroška energije, samo kada je vodni potencijal, odnosno koncentracija vode u zemljiju viša u odnosu na koncentraciju vode u

korijenovim dlačicama. Kako uslijed sušenja vrijednost vodnog potencijala u zemljištu postaje sve niža, automatski se time smanjuje i mogućnost apsorbiranja pristupačne vode, što rezultuje pojavom osmotskog stresa i dehidratacijom, kako na nivou ćelije tako i na nivou cijele biljke (*Kamrun i sar.*, 2011).

Na nivou ćelije dehidratacija dovodi do promjena strukturalnih veza između membranskih lipida i proteina, ali i u sastavu fosfolipidnih komponenti što se negativno reflektuje na fluidnost i propustljivost membrane, a samim time i na transport materija u ćeliji. Osim toga dolazi i do promjena u strukturi citoplazme, smanjuje se razmjena materija između kompartimenata unutar ćelije, a takođe aktivnost enzima što koči i reakcije koje ti enzimi katalizuju. Dehidratacija će pokazati negativne reperkusije i na diobu ćelija, ali i na metabolizamugljenih hidrata i azotnih jedinjenja, uslijed čega je i održavanje strukturalnog jedinstva ćelije dovedeno u pitanje. Jedan od štetnih efekata dehidratacije je i disbalans fitohormona u biljci, što sve mijenja normalni tok odvijanja fizioloških procesa u biljnim ćelijama (*Nyabundi i sar.*, 2009).

Na osmotski stres,biljke u osnovi pokušavaju da se prilagode na dva načina: održavanjem homeostaze u svojim ćelijama, te detoksikacijom.

Pod pojmom homeostaze podrazumijeva se održavanje stabilnih fizioloških uslova u unutrašnjosti ćelije u smislu omogućavanja nesmetanog odvijanja metaboličkih procesa u ćeliji. Ovaj mehanizam odbrane je baziran na osmoregulaciji, odnosno na sposobnosti biljke da putem sinteze i akumulacije osmotski aktivnih materija održi homeostazu u svojim ćelijama. Naime, osmotski aktivne materije snižavaju vodni potencijal u ćeliji, što doprinosi održavanju turgora, a samim time i održavanju svih metaboličkih procesa zavisnih od turgora. Shodno navedenome, sposobnost biljke da akumuliše i sintetiše osmotski aktivne materije u svojim ćelijama smatra se vrlo važnim segmentom odbrambenog mehanizma biljke u uslovima stresa. Naravno, pri tome nužno treba razlikovati ovakav porast koncentracije osmotski aktivnih materija od porasta nastalog tokom dehidracije, koji je uslovljen gubitkom vode, a karakterizovan padom turgora i smanjenjem zapremine ćelije (*Fernadez i sar.*, 2011).

Način na koji biljke u svojim ćelijama, tokom osmotske prilagodbe prikupljaju osmotski aktivne materije, djelomično je rezultat određenih hemijskih reakcija unutar biljnih ćelija, a djelomično rezultat odgovora biljne ćelije, u smislu poticanja ekspresije gena, neophodnih za inicijaciju sinteze osmotski aktivnih materija u ćeliji (*Grzesiakisar.*,2007).

Materije koje učestvuju u osmoregulaciji mogu biti organske ili anorganske prirode. Od neorganskih materija za osmotsku regulaciju je svakako najvažniji kalijum o kojem uvelike zavisi vodni režim biljke, ali i kalcijum koji je bitan sa aspekta učvršćenja ćelijskih membrana, dok se organske materije koje učestvuju u osmoregulaciji mogu podijeliti u dvije grupe: na ugljenohidratne osmolite i osmolite koji u svom sastavu sadrže azot.

U ugljenohidratne osmolite spadaju šećerni alkoholi (manitol, sorbitol), monosaharidi (glukoza, fruktoza), oligosaharidi (saharoza, trehaloza) te neki polisaharidi (fruktan), a njihova osnovna osmoregulacijska uloga je da u uslovima vodnog stresa održavaju hidratizovano stanje proteina. Navedene materije imaju i sposobnost da se u ekstremnim uslovima suše vežu vodonikovim vezama sa proteinima, te na taj način odgadaju denaturaciju proteina i održavaju integritet ćelijske strukture (*Subbarao i sar.*, 2000).

Od osmolita koji u sebi sadrže azot za osmoregulaciju je posebno značajana aminokiselina prolin jer ista uz navedeno ima vrlo pozitivan uticaj na stabilizaciju strukture membranskih proteina. Sinteza prolina takođe povećava kiselost citoplazme, a pozitivno utiče i na odgovarajući odnos NADP⁺/NADPH što sve doprinosi osmotskoj regulaciji citoplazme tj. održavanju osmotskog pritiska unutar ćelije (*Mansourisar.*, 1998).

Osim osmoregulacije, biljne ćelije na osmotski stres pokušavaju da se prilagode i detoksikacijom. Pod pojmom detoksifikacije podrazumijeva se sposobnost biljnih ćelija da iz sebe odstrane ili neutrališu komponente koje mogu ugroziti njihovo strukturno i funkcionalno jedinstvo. U komponente koje destabilizujuće djeluju na integritet biljne ćelije u prvom redu spadaju slobodni radikali, tj. hemijske vrste koje u svojim spoljnim orbitalama posjeduju jedan ili više nesparenih elektrona, a čiji intenzitet nastajanja je posebno povećan u uslovima vodnog stresa. Zbog težnje da popune te orbitale i time postignu stabilnu elektronsku konfiguraciju, slobodni radikali su izrazito visoke reaktivnosti, što im omogućava lako stupanje u reakciju sa elektronski stabilnim molekulama uslijed čega iste gube elektron i prelaze u nestabilno stanje. Na taj način stabilne molekule postaju potencijalni slobodni radikali, sposobni da uzimaju elektrone od iduće najbliže molekule, čime ova reakcija postaje lančana i na kraju rezultuje oksidativnim stresom (*Noctor i sar.*, 2014).

Učinak oksidativnog stresa se u pravilu manifestuje promjenama u strukturi „napadnutih“ biomolekula, a te promjene, koje se najčešće očituju u vidu oštećenja, izrazito se nepovoljno odražavaju na funkcionisanje biljnih ćelija, tkiva i organa. Tako nastala oštećenja mogu uticati na

narušavanje homeostaze jona, izazvati inhibiciju različitih signalnih puteva u ćeliji ili na neki drugi način poremetiti tok provođenja fizioloških procesa u biljci (*Wrzaczekisar.*, 2013).

Dakle, slobodni radikali i generalno reaktivne slobodno radikalne i neradikalne vrste ulazeći u reakciju sa ćelijskim komponentama (lipidima, ugljenim hidratima, proteinima i nukleinskim kiselinama) izazivaju njihovu oksidaciju i raspadanje, te zbog toga ove hemijske vrste predstavljaju jednu od najjačih i najvećih opasnosti za funkcionisanje biljnog organizma u cjelini.

Mehanizmi antioksidativne odbrane biljke u uslovima vodnog stresa

Odgovor biljke u uslovima oksidacijskog stresa zavisiće od više faktora: genetskom potencijalu biljke, vrsti i količini slobodnih radikalakoji nastaju u biljnim ćelijama, dužini izlaganja biljnih ćelija oksidativnom stresu, djelovanju slobodnih radikala, te od sposobnosti biljkida uklone višak slobodnih radikala i uopšteno reaktivnih jedinjenja iz svojih ćelija.

Da bi se razumjeli mehanizmi antioksidativne odbrane biljke u uslovima vodnog stresa neophodno je prethodno znati šta je oksidativni stres, kada i kako nastaju slobodni radikali, te na koji način djeluju.

Oksidativni stres predstavlja pomak ravnoteže oksido-reduksijskih procesa u ćeliji u smjeru oksidacije, a može biti uslovljen i vodnim stresom tj. nedostatkom vode u biljci. Naime, u uslovima vodnog stresa uslijed gubitka vode dolazi do poremećaja u elektron-transportnim lancima prvenstveno u tilakoidnoj i mitohondrijalnoj membrani, što rezultuje povećanim stvaranjem slobodnih radikala tj. oksidanasa u biljnim ćelijama. Kao posljedica navedenog u ćelijama se intenziviraju oksidativni procesi, uslijed čega dolazi do razgradnje stabilnih biomolekula, a samim time i do narušavanja strukturnog i funkcionalnog jedinstva ćelije.

Nastajanje slobodnih radikala

Slobodni radikali nastaju svakodnevno u organizmu tokom odvijanja uobičajnih metaboličkih procesa u kojima se stvara energija neophodna za održavanje i regulisanje svih funkcija u biljnom organizmu. Za funkcionisanje biljnog organizma nije opasno njihovo nastajanje, već poremećaj ravnoteže oksido-reduksijskih procesa u pravcu oksidacije, nastalog uslijed prekomjernog stvaranja slobodnih radikala ili nemogućnosti biljne ćelije da ih svojim antioksidacijskim mehanizmom odbrane ukloni (*Carocho iFerreira*, 2013).

U normalnim fiziološkim uslovima koncentracija oksidanasa tj. slobodnih radikala u biljnim ćelijama je mala, odnosno u ravnoteži je sa njihovim uklanjanjem, ali u stresnim uslovima njihova koncentracija u biljnim ćelijama naglo raste, prvenstveno u hloroplastima i mitohondrijama. Navedene organele u sebi sadrže velike količine molekula kiseonika, koje se u uslovima stresa u velikoj mjeri redukuju u slobodne radikale, u ovom slučaju u reaktivna kiseonikova jedinjenja. Razlog povećanog stvaranja reaktivnih oblika kiseonika u hloroplastima i mitohondrijama je poremećaj u elektron transportnim lancima u tilakoidnoj i mitohondrijalnoj membrani uslovljen nedostatkom vode, uslijed čega dio elektrona „pobjegne“ iz transportnog lanca i uzrokuje redukciju kiseonika u reaktivne kiseonikove vrste (ROS).

Po svojoj štetnosti za organizam od reaktivnih vrsta kiseonika izdvajaju se superoksidni radikal (O_2^-) i hidroksil radikal(OH^\bullet), a od nereaktivnih vrsta vodonik peroksid. Takođe, u slobodne radikale ubrajaju se i radikali azota (N_2O_3 , N_2O_4), koji su prisutni u biljnoj ćeliji, ali u manjoj količini (*Phaniendra i sar.*, 2015).

Nastajanje superoksidnog radikala (O_2^-)

- Najčešći način nastajanja superoksidnog radikala (O_2^-) je jednoelektronska redukcija molekule kiseonika u elektron transportnom lancu disanja.

U elektron transportnom lancu disanja donor elektrona je proteinski kompleks IV koji u svom sastavu sadrži citohrom c-oksidazu. Sastavni dio ovog kompleksa enzima su i dva atoma bakra, koji imaju značajnu ulogu u zadnjim fazama prijenosa elektrona do kiseonika.

- Superoksidni radikal (O_2^-) nastaje i pri reakciji kiseonika sa jonima prelaznih metala (Fentonova reakcija)
 - Superoksidni radikal (O_2^-) može nastati i kao rezultat oksidativne razgradnje različitih jedinjenja kao što su npr. hidrohinon, leukoflavin, tioli... (*Apel i Hirt*, 2004).

Nastajanje hidroksil radikala (OH^\bullet)

Hidroksil radikal se smatra najreaktivnijim slobodnim radikalom (*Halliwell i Gutteridge*, 1999), a nastaje na više načina:

- dismutacijom vodonik peroksida,
- interakcijom vodonik peroksidu sa jonima prelaznih metala (*Fenton-ova reakcija*)

- uslijed reakcije vodonik peroksida sa superoksidnim radikalom (*Haber-Weiss-ova reakcija*)
 - te cijepanjem O-O veze u molekuli vodonik peroksida, pod uticajem različitih faktora okoline (*Furbankisar.*, 1983).

Nastajanje vodonik peroksida

Vodonik peroksid ima stabilnu elektronsku konfiguraciju te se shodno tome ne može ni svrstati u slobodne radikale. Nezavisno od navedenog, vodonik peroksid ima izrazito visoku reaktivnost, a uzrok tome je podložnost vodonik peroksida oksidaciji, te njegovo svojstvo da vrlo lako ulazi u interakciju sa jonima prelaznih metala prilikom čega se obrazuju hidroksil radikali (Fenton-ova reakcija).

Vodonik peroksid može nastati:

- kao rezultat jednoelektronske redukcije superoksidnog radikala- O_2^-
- dismutacijom iz superoksidnog radikala (O_2)
- direktnom dvoelektronском redukcijom molekulskog kiseonika (*Li i sar.*, 2011)

Ostali načini stvaranja slobodnih radikala u biljnim ćelijama

Osim stvaranja slobodnih radikala u elektron-transportnom lancu disanja ili u procesu fotosinteze, te stvaranja slobodnih radikala kao produkata oksidativne razgradnje supstrata, postoji i niz drugih načina nastajanja slobodnih radikala u biljnim ćelijama. Oni mogu nastati kao posljedica toksičnih procesa unutar biljnih ćelija (uticaj zračenja, toksini) ili kao rezultat djelovanja određenih enzima (NADP oksidaza, lipooksidaza). Takođe, samooksidacija manjih molekula (flavini), kao i proces oksidacije masnih kiselina u peroksizomima, u značajnoj mjeri pridonose pojačanoj količini slobodnih radikala unutar biljnih ćelija (*Cadenas i Davies*, 2000; *Moller i sar.*, 2007).

Djelovanje slobodnih radikala

Djelovanje slobodnih radikala se zasniva na njihovoj elektronskoj nestabilnosti budući da isti u svojoj spoljašnjoj orbitali posjeduju jedan ili više nesparenih elektrona. Shodno navedenome izrazito su reaktivni jer teže spariti te elektrone, te time postići stabilnu elektronsku konfiguraciju (*Alscher i sar.*, 1997).

Svoju stabilnost mogu postići na više načina: u međusobnoj reakciji ili u reakciji sa najbližom elektronski stabilnom molekulom. Ulazeći u reakciju sa elektronski stabilnim molekulama izazivaju oksidaciju napadnutih materija i njihovo raspadanje. U osnovi, djelovanje slobodnih radikala je usmjereni u pravcu uzimanja elektrona od napadnute molekule, uslijed čega dolazi do narušavanja elektronske konfiguracije tih molekula i njihovog prelaska u nestabilno stanje. Napadnuta molekula postaje potencijalni slobodni radikal sposoban da napadne neku drugu stabilnu molekulu čime se nastavlja već opisani tok oksidacije i oštećenja molekula (*Baxter i sar.*, 2014).

Negativnom djelovanju slobodnih radikala češće su izložene elektronski manje stabilne molekule poput nezasićenih masnih kiselina koje su zbog svojih dvostrukih veza idealna meta za napad slobodnih radikala. Uvezši u obzir činjenicu da su masne kiseline sastavni dio svih membrana, njihovo oštećenje će imati negativnu reperkusiju na funkcionalnost cijele ćelije. Način djelovanja slobodnih radikala na oksidaciju nezasićenih masnih kiselini uopšte lipida je kompleksan, no u osnovi obuhvaća tri faze: inicijaciju, propagaciju i terminaciju (*Fu i Huang*, 2001).

Prva faza oksidacije lipida karakterisana je reakcijom između inicijatora oksidacije lipida, najčešće nekog slobodnog radikalai ugljenikovog lanca nezasićenih masnih kiselina. Tokom te reakcije dolazi do eliminacije vodonikovog atoma iz metil grupe i stvaranja alkil radikala masne kiseline (L^*).

U fazi propagacije dolazi do intermolekularnog premještanja dvostrukе veze, a alkil radikal reaguje sa kiseonikom pri čemu nastaje peroksidni radikal masne kiseline (LOO^*), sposoban da eliminiše vodonik iz susjedne metil grupe nezasićene masne kiseline. Na taj način nastaje lipidni hidroperoksid ($LOOH$) i novi alkil radikal (L^*) sposoban da nastavi već opisani tok oksidacije lipida. Iako je lipidni hidroperoksid ($LOOH$) u normalnim fiziološkim uslovima stabilan, on se u prisutnosti jona prelaznih metala (Fe^{3+}) vrlo brzo razgrađuje uslijed čega nastaju novi slobodni radikali, čime se proces razgradnje lipida dodatno ubrzava.

Faza terminacije predstavlja završetak oksidacije lipida koja se može ostvariti ili potpunom razgradnjom lipida ili prekidom njihove lančane oksidativne razgradnje. Lančana reakcija oksidativne razgradnje lipida se može prekinuti samo kada slobodni radikali reaguju međusobno ili kada reaguju sa antioksidansom. Kao rezultat tih reakcija sprečava se stvaranje novih inicijatora oksidacije lipida, a time je i zaustavljen daljnji tok raspadanja lipidnih komponenti

ćelije. Oksidativna razgradnja lipida se izrazito negativno odražava na fluidnost membrane, a time i na njenu permeabilnost. Nadalje, razgradnjom lipidnih komponenti membrane, mogu nastati brojni nezasićeni aldehidi čije prisustvo je izrazito toksično za ćelije (*Mueller i sar.*, 2008).

Kao i lipidi i druge molekule mogu biti izložene djelovanju slobodnih radikala. Oksidativna oštećenja proteina uslovljena djelovanjem slobodnih radikala za posljedicu mogu imati modifikaciju aminokiselina ili fragmentaciju peptidnih lanaca, uslijed čega proteini bivaju više podložni proteolizi, tj. potpunoj razgradnji. Osim toga, produkti oksidativnog oštećenja proteina mogu uticati na funkciju receptora u ćelijskim membranama, ali i doprinijeti slabijoj aktivnosti različitih enzima.

Takođe i nukleinske kiseline mogu biti izložene negativnom djelovanju slobodnih radikala, posebno reaktivnih oblika kiseonika, uslijed čega često dolazi do oštećenja azotnih baza, kao i do kidanja fosfodiesterskih veza između nukleotida. Ako DNK mehanizam reparacije odmah ne reaguje, dolazi do poremećaja u redoslijedu nukleotida u DNK molekuli, a samim time i do poremećaja u sintezi proteina (*Yoshiyama i sar.*, 2014).

Nivoi antioksidativne odbrane biljke od djelovanja slobodnih radikala

U cilju zaštite od napada slobodnih radikala, odnosno od oksidacijskih oštećenja, biljni organizmi su tokom evolucije razvili različite odbrambene mehanizme pomoću kojih uspostavljaju ravnotežu oksido-reduktičkih procesa unutar ćelija. Pri tome svaka biljna ćelija posjeduje vlastiti sistem odbrane kojim ostvaruje tu ravnotežu, no osnova svih tih odbrambenih mehanizama je postojanje antioksidanasa, materija koje zavisno o koncentraciji mogu da smanje ili u potpunosti neutrališu negativno djelovanje slobodnih radikala (*Hirayama i Shinozaki*, 2010).

Sa funkcionalnog gledišta, biljna ćelija svoj antioksidativni sistem može ostvariti na više različitih nivoa.

Prvi nivo predstavlja preventivnu zaštitu biljne ćelije, a ostvaruje se na način da se već u začetku onemogući stvaranje slobodnih radikala. Na tom principu djeluju mnoge materije kao npr. feritin, protein prisutan u biljkama, koji ima sposobnost da na sebe veže jone prelaznih metala (Fe). S obzirom da ti joni predstavljaju potencijalne reaktante prilikom stvaranja slobodnih radikala (Fentonova reakcija), njihovim uklanjanjem indirektno se sprečava eventualna mogućnost nastajanja slobodnih radikala na ovaj način.

Drugi nivo zaštite, koji je i najvažniji dio antioksidativnog sistema odbrane biljnih ćelija, zasniva se na sposobnosti antioksidansa da u reakciji sa oksidansima uništi ili neutrališenjihovo negativno djelovanje.

Treći nivo zaštite podrazumijeva popravljanje šteta nastalih uslijed djelovanja slobodnih radikala, u smislu obnavljanja strukture napadnutih molekula, a u njega mogu biti uključeni različiti enzimski antioksidansi (*Damanik i sar.*, 2010).

U svakom od navedenih nivoa zaštite, ključnu ulogu imaju antioksidansi, a oni se prema prirodi i načinu djelovanja mogu podijeliti na: enzimske i neenzimske antioksidanse.

Enzimski antioksidansi

Način djelovanja enzimskih antioksidanasa je specifičan i selektivan, zavisno od vrste enzima i reakcije koja se katalizuje, alikrajnji rezultat svih tih reakcija je uništavanje slobodnih radikala ili njihova transformacija u nereaktivna jedinjenja. Jedni od osnovnih enzima antioksidativnog sistema biljne ćelije su: peroksidaze (pirogalol peroksidaza, gvajakol peroksidaza, askorbat peroksidaza, glutation peroksidaza), katalaza i superoksid dismutaza (*Mittler*, 2002).

Peroksidaze (PX)

Peroksidaze predstavljaju široku grupu enzima čija aktivnost je usmjerena u regulaciju brojnih fizioloških procesa (biosinteza lignina, izgradnja komponenti ćelijskog zida, katabolizam auksina, senescencija), te u antioksidacijskom odgovoru biljne ćelije na stresne uslove (*Passardi i sar.*, 2005).

Zajednička strukturna karakteristika svih biljnih peroksidaza je da sadrže hem kao prostetičku grupu (Fe^{3+} - protoporfirin IX), koja je preko dva histidina povezana s glikoproteinskim dijelom enzima sastavljenog od glukoze, manoze, arabinoze, ksiloze, fukoze i heksozamina. U funkcionalnom smislu sve biljne peroksidaze pripadaju grupi oksidoreduktaza koje katalizuju pretvaranje vodonik peroksida (H_2O_2) u vodu, čineći na taj način vodonik peroksid nereaktivnim i bezopasnim za stabilnost ćelijskih kompartimenata. Preciznije rečeno, svoj antioksidacijski učinak enzimi iz grupe peroksidaza postižu na način da katalizuju reakcije oksidacije različitih supstrata uz prisutnost vodonik peroksida koji se pri tome redukuje.

Značajniji enzimi iz grupe peroksidaza u antioksidativnom sistemu odbrane biljne ćelije su enzimi iz klase III biljnih peroksidaza.

Peroksidaze III klase su glikolizovane nespecifične peroksidaze koje koriste vodonik peroksid kao elektron akceptor za oksidaciju širokog spektra različitih supstrata kao npr. fenolnih jedinjenja, pirogalola i gvajakola. Najčešće korišćeni supstrati *in vitro* su pirogalol i gvajakol, a reakcije u kojima ova dva jedinjenja služe kao donori elektrona potrebnih za redukciju $H_2O_2 + H_2O \rightarrow$ purpurogalin + H_2O i gvajakol + $H_2O_2 \rightarrow$ tetragvajkol (smeđe obojen produkt) + H_2O .

Enzimi iz klase III biljnih peroksidaza su većinom smješteni u vakuolama, ćelijskom zidu i endoplazmatskom retikulumu, a brojna istraživanja su pokazala da navedeni enzimi imaju važnu ulogu u metabolizmu auksina, biosintezi etilena i lignina, te u odgovoru biljke na stres uzrokovani zagađenjem vazduha (*Kamal i sar.*, 2001; *Yazdi i sar.*, 2002)

Glutation peroksidaza(GTPX) je antioksidativni enzim čija je aktivnost takođe usmjerena u pravcu detoksifikacije vodonik peroksid. Njegova uloga u antioksidativnom sistemu odbrane biljne ćelije se posebno ogleda pri niskim koncentracijama H_2O_2 u ćeliji. Glutation peroksidaza takođe može neutralisati reaktivne hidroperoksile masnih kiselina.

U biljnim ćelijama glutation peroksidaza je prisutna u nekoliko izoformi, koje se međusobno razlikuju po afinitetu prema supstratu, te smještaju unutar ćelije. Iz ove grupe enzima značajan doprinos uklanjanju reaktivnih oksidativnih jedinjenja iz ćelije, daje selen-zavisna glutation peroksidaza. Ova izoforma glutation peroksidaze sadrži atom selena u svom aktivnom centru koji je osnovni faktor regulacije aktivnosti spomenutog enzima. GTPX u većoj koncentraciji prisutan je u mitohondrijama i hloroplastima gdje katalizuje reakciju redukcije reaktivnog vodonik peroksid ili hidroperoksil radikala u prisustvu redukovanih glutationa.

Dakle, GTPX ubrzava redukciju vodonik peroksid do vode ili organskih hidroperoksilova do odgovarajućih alkohola, pri čemu se glutation oksidiše u disulfid glutation. Još jedan enzim iz grupe glutation zavisnih enzima, značajan za uklanjanje reaktivnih jedinjenja iz biljne ćelije jeste fosfolipid zavisna glutation peroksidaza. Aktivnošću ovog enzima ubrzava se redukcija fosfolipidnih peroksil radikala i to bez prethodnog odvajanja fosfatne skupine iz oksidovanih masnih kiselina djelovanjem fosfolipaze (*Guernouri i sar.*, 1991).

Askorbat peroksidaza(APX) je enzim iz grupe peroksidaza koji takođe učestvuje u redukciji vodonik peroksid. To čini kroz tzv. askorbat - glutationski ciklus pri čemu se askorbat

kao supstrat za doniranje elektrona oksidiše u monodehidro-askorbinsku kiselinu, a vodonik peroksid redukuje u vodu (*Caversan i sar.*, 2012).

Nastali monodehidro askorbat može se direktno vratiti u askorbat - glutationski ciklus uz djelovanje enzima monodehidroaskorbat reduktaze ili se prvo konvertuje u dehidro akorbat (DHA), a zatim djelovanjem glutation dehidroaskorbat reduktaze prelazi u askorbat.

Askorbat peroksidaza (APX) je u biljnim ćelijama prisutna u pet različitih izoformi, a specifičnost ovog enzima je da mu je potrebna visoka količina supstrata tj. askorbata za aktivaciju, te da je u nedostatu askorbata vrlo nestabilan (*Teixeira i sar.*, 2004). Shigeoka i sar. (2002) navode da APX gubi aktivnost ako je njegova koncentracija u ćeliji ispod 20 μM .

Superoksid dismutaza (SOD) je enzim čije djelovanje je prvenstveno usmjereni u pravcu uklanjanja superoksidnog radikala iz ćelije, a to ostvaruje na način da katalizuje dismutaciju superoksidnog radikala (O_2^-), pri čemu se jedan O_2^- redukuje u vodonik peroksid, a drugi oksidiše u kiseonik (*Huseynova i sar.*, 2014).

Superoksid dismutaza (SOD) pripada grupi metaloenzima i u biljnim ćelijama je prisutna u četiri izoforme: Cu-Zn SOD, Mn SOD, Fe SOD i Ec SOD (vanćelijska superoksid dismutaza). Podjela je napravljena u zavisnosti od građe, smještaja, te od vrste metalnog jona kojeg sadrže u svom aktivnom centru (*Mittler i sar.*, 2002).

Cu-Zn SOD se sastoji od dvije podjedinice, u aktivnom središtu sadrži jone bakra ili cinka, a smješten je u citozolu, tečnom dijelu citoplazme. Prisutnost ovog enzima determinisana je i u drugim dijelovima ćelije: hloroplastima, peroksizomima i apoplastu. U hloroplastima je u većoj mjeri uočena i prisutnost Fe SOD, koja djeluje na sličnom principu kao i Cu-Zn SOD.

Mn SOD smještena je najvećim dijelom u matriksu mitohondrija, a sastoji se od četiri podjedinice. Svaka podjedinica u svom aktivnom centru sadrži atom mangana, neophodnog za neutralizaciju superoksidnih radikala.

Ec SOD je izoenzim koji djeluje u vanćelijskom prostoru, štiteći tako i apoplast od napada superoksidnog radikala. Sastoji se od četiri podjedinice koje kao koenzim sadrže jon Cu ili Zn. Ovakvom raspodjelom izoenzima SOD unutar i vanbiljne ćelije omogućeno je vrlo brzo uklanjanje superoksidnih radikala. Bez obzira o kojoj izoformi superoksidaze se radi, oni su zahvaljujući jonima metala u svojoj strukturi, odnosno njihovoj sposobnosti primanja ili otpuštanja elektrona, u mogućnostivrlo brzo neutralisati negativno djelovanje superoksidnog radikala (*Ahmad i sar.*, 2010).

Katalaza (CAT) je tetramerni enzim pri čemu svaki dio sadrži jednu molekulu hema. U biljnim ćelijama nalazi se većim dijelom u peroksizomima, gdje uklanja vodonik peroksid nastao tokom fotorespiracije ili oksidacije masnih kiselina. To čini na način da ubrzava direktnu disproporcionalaciju vodonik peroksidu na kiseonik i vodu (*Kovalchuk*, 2010).

Specifičnost katalaze je nizak afinitet prema supstratu, te su mu za početak djelovanja potrebne dvije molekule H_2O_2 istovremeno vezane na aktivno mjesto. Međutim, ovaj enzim ima visoku katalitičku aktivnost, što ovom enzimu omogućuje visok efekat u detoksifikaciji vodonik peroksidu u uslovima njegove visoke prisutnosti u ćelijama (*Mhamdi i sar.*, 2010). Uz to što je vodonik peroksid inicijator stvaranja niza slobodnih radikala, njegova visoka koncentracija u biljnim ćelijama negativno se odražava i na fiksaciju ugljen dioksida, te je zbog toga uklanjanje vodonik peroksidu od ključnog značaja za funkcionisanje biljnog organizma (*Voss i sar.*, 2013).

Neenzimski antioksidansi

Neenzimski antioksidansi čine sekundarnu liniju odbrane organizma protiv negativnog djelovanja slobodnih radikala. Za razliku od enzima čija se antioksidativna zaštita u osnovi zasniva na neutralizaciji već stvorenih oksidanasa, djelovanje neenzimskih antioksidansa je prvenstveno usmjereni na ograničavanje oksidativnih procesa u ćeliji, odnosno na njihovo blokiranje ili usporavanje (*Das i Roychoudhury*, 2014).

U okviru neenzimskih antioksidansa poseban značaj za odbrambeni sistem biljne ćelije imaju askorbinska kiselina (vitamin C), glutation, tokoferol (vitamin E), ubikvinon (koenzim Q), karotenoidi i polifenoli.

Vitamin C je organsko jedinjenje male molekulske mase koje je po svojoj strukturi vrlo slično glukozi, a u organizmu kako biljke, tako i čovjeka, javlja se kao nezamjenjiv katalizator različitih hemijskih reakcija. Ovaj vitamin je neophodan i za liječenje bolesti skorbuta, pa se vrlo često kao sinonim za njega koristi naziv askorbinska kiselina (*Smirnoff*, 2000).

Antioksidativnu aktivnost u biljnom organizmu vitamin C ostvaruje na više načina: Vitamin C redukuje slobodne radikale, prvenstveno superoksidni i hidroksilni radikal na način da im preda nedostajući elektron, pri čemu se on sam oksidiše u dehidroaskorbinsku kiselinu. Ovaj efekat inaktivacije slobodnih radikala, postiže zahvaljujući svojoj strukturi, odnosno posjedovanju endiolne grupe koja mu omogućuje snažna reduksijska svojstva. Za regeneraciju

vitamina C, odnosno njegov prelaz iz oksidovanog u redukovani oblik, neophodno je prisustvo glutationa i enzima dehidroaskorbat reduktaze.

Vitamin C, po istom mehanizmu uklanjanja superoksidnog i hidroksilnog radikala, uklanja i lipidne radikale, odnosno sekundarne produkte lančanih reakcija u terminalnoj fazi lipidne peroksidacije. U stanju je i inaktivirati singlentne oblike kiseonika na način da im donira nedostajući elektron, a uloga vitamina C u antioksidativnom odbrambenom sistemu biljne ćelije ogleda se i u njegovoj sposobnosti stvaranja kompleksa sa teškim metalima, čime inaktivira njihovo negativno djelovanje.

Vitamin C je koenzim askorbat peroksidaze, enzima odgovornog za neutralizaciju H_2O_2 , a takođe učestvuje i u prevodenju azotnih radikalnih jedinjenja u nereaktivne proizvode, te u regeneraciji drugih neenzimskih antioksidansa (vitamina E, glutationa i β -karotena) što sve ukazuje na njegovu veliku ulogu u antioksidativnom sistemu odbrane biljne ćelije.

Prirodnu sposobnost stvaranja vitamina C imaju gotovo svi biljni organizmi, ali i većina životinja, dok to nije slučaj za ljudski organizam. Razlog tome je što u ljudskom organizmu na genetskom nivou ne postoji mogućnost kodiranja sinteze L-gulono-1,4-lakton oksidaze, enzima neophodnog za stvaranje vitamina C (*Valpuesta i Botella*, 2004). Ljudski organizam nije u stanju stvoriti ni većinu drugih vitamina, tako da ih nužno mora unositi ishranom.

Vitamin C u biljkama može nastati iz različitih heksoza direktnom i indirektnom konverzijom, a način njegovog nastajanja zavisi od genetske konstitucije i metabolizma pojedine biljke.

Direktna konverzija podrazumijeva nastajanje vitamina C direktno iz heksoza bez prethodnog raspadanja istih na jednostavnija jedinjenja, dok indirektna konverzija podrazumijeva nastajanje vitamina C iz produkata cijepanja heksoza. Najčešći prekursori u stvaranju vitamina C u biljkama su glukoza, galakturonska kiselina i sorbitol.

Osim antioksidativnog djelovanja, u iznimnim situacijama, vitamin C može pokazati prooksidativna svojstva, odnosno pospješiti stvaranje novih slobodnih radikala. U uslovima visoke koncentracije vitamina C u biljnoj ćeliji i uz prisustvo nevezanih metalnih jona, vitamin C je sposoban redukovati trovalentne jone željeza (Fe^{3+}) i dvovalentne jone bakra (Cu^{2+}). Redukovani oblici željeza i bakra (Fe^{2+} , Cu^{+}) mogu zatim stupiti u reakciju sa vodonik peroksidom (Fentonova reakcija) uslijed čega nastaju izuzetno štetni hidroksil radikali.

Uzveši u obzir činjenicu da se metali u biljnoj ćeliji većinom nalaze vezani u kompleksima sa proteinima, te da je u ćeliji koncentracija vitamina C rijetko iznimno visoka u normalnim fiziološkim uslovima preovladava antioksidativna uloga vitamina C.

Karotenoidi su biljni pigmenti rastvorljivi u mastima. Poznato ih je preko šest stotina vrsta, a razvrstani su u dvije osnovne grupe: karotene i ksantofile. Karoteni predstavljaju grupu karotenoida koji imaju samo ugljenik i vodonik u svom sastavu, a među njima su najpoznatiji β -karoten i likopen. Drugu grupu karotenoida čine ksantofili, odnosno karotenoidi koji u svom sastavu uz ugljenik i vodonik imaju kiseonik i to najčešće u keto ili hidroksi formi. Iz ove grupe karotenoida najpoznatiji su lutein i zeaksantin (*Britton, 2004*).

Karotenoidima pripada značajna uloga u antioksidativnom sistemu odbrane biljke. Smatra se da je najvažniji antioksidativni efekat karotenoida neutralizacija singletnih oblika kiseonika čije je nastajanje u uslovima stresa intenzivirano (*Cvetković i sar., 2013*).

Karotenoidi svoje antioksidativno djelovanje ostvaruju na način da smanjuju reaktivnost pojedinih molekula prema slobodnim radikalima. Ovaj učinak postiže zahvaljujući svome visokom redoks potencijalu i lipofilnom karakteru. Shodno navedenome karotenoidi u lipidnim dijelovima membrane su u većoj mogućnosti neutralisati slobodne radikale u odnosu na mnoge druge antioksidanse. Takođe je uočeno da je ovaj učinak znatno izražajniji uz prisustvo vitamina E, što ukazuje na sinergističko djelovanje ovih dvaju antioksidanasa (*Johnson, 2002*).

Osim direktnog antioksidativnog djelovanja karotenoidi su značajni i sa aspekta omogućavanja nesmetanog odvijanja svijetle faze fotosinteze. Naime, karotenoidi imaju važnu ulogu u zaštiti pigmenta hlorofila od jakog intenziteta svjetlosti (sprečavanjem njihove oksidativne razgradnje) čime se osigurava apsorpcija fotosintetski efikasnog dijela spektra. Osim toga, karotenoidi dio apsorbovane svjetlosne energije putem induksijske rezonance prenose do pigmenata hlorofila a (reakcijskih centara fotosistema P₇₀₀ i P₆₈₀) povećavajući time njihovu sposobnost za pokretanje svijetle faze fotosinteze (*Fernandez-Garcia i sar., 2012*).

Likopen je jedan od najpoznatijih pigmenata iz grupe karotenoida. Sintetišu ga biljke, a odgovoran je za crvenu boju plodova. Intenzivno je prisutan u plodu paradajza, pri čemu njegov udio u plodu zavisi od ispitivanog genotipa, stepena zrelosti, te agro-ekoloških uslova u kojima je paradajz uzgajan (*Shi i sar., 2004*).

Sadržaj likopena u plodu paradajza obično varira u vrijednostima od 3 do 15 mg likopena na 100 g svježeg ploda (*Bramlej, 2000*). Likopen je jedinjenje izoprenoidne prirode, sastoji se od

osam izoprenskih jedinica, pri čemu je centralni dio molekule u obliku dugačkog konjugovanog lanca, a krajevi lanca su ciklizovani.

Likopen je jedan od najmoćnijih antioksidanasa u biljci, a njegova antioksidativna aktivnost je prvenstveno rezultat specifične strukture koja je obilježena velikim brojem funkcionalnih grupa, te velikim brojem dvostrukih veza u njegovoj strukturi (jedanaest konjugovanih i dvije nekonjugovane dvostrukе veze). Zahvaljujući njima u stanju je stupiti u vezu sa slobodnim radikalima čineći ih time manje reaktivnim (*Lenucci i sar.*, 2006). S obzirom da likopen iste efekte pokazuje i u organizmu čovjeka, konzumacija plodova paradajza sa višim sadržajem likopena smatra se vrlo poželjnim sa aspekta podizanja antioksidativnog sistema odrbrane organizma. Mnoga istraživanja su pokazala da likopen ima vrlo važnu ulogu u prevenciji mnogih oboljenja, kao što su razni oblici karcinoma i kardiovaskularnih bolesti (*Gerster*, 1997; *Agarwal i sar.*, 2001).

Fenolna jedinjenja predstavljaju veliku grupu jedinjenja koja u svojoj strukturi imaju barem jedan aromatski prsten na koji je vezana jedna ili više hidroksilnih grupa (*Robards i sar.*, 2009). Produkt su sekundarnog metabolizma biljne ćelije i u istima se rijetko pojavljuju u slobodnom obliku. Većinom su vezani sa šećerima u obliku glikozida ili u vidu kompleksnih, složenih jedinjenja sa proteinima, alkaloidima i terpenoidima (*Krstić i sar.*, 1998). Do danas je poznato preko 8000 fenolnih jedinjenja koja se međusobno razlikuju kako po svojoj strukturi, tako i po hemijskim svojstvima.

Postoje dva osnovna puta sinteze fenolnih jedinjenja: šikiminski biosintetski put i acetatno-malatni biosintetski put. U šikiminskom putu koji je najčešći put sinteze fenolnih jedinjenja u višim biljkama, ključni intermedijarni produkt je šikiminska kiselina, te odатle i potiče naziv za navedeni put njihovog stvaranja (*Maeda i Dudareva*, 2012).

Prvi korak u sintezi fenolnih jedinjenja šikiminskim biosintetskim putem je kondenzacija eritroze (IV) fosfata, nastale kao produkt pentoza fosfatnog ciklusa, i fosfoenol piruvata, nastalog kao produkt glikolize. Kao rezultat njihove kondenzacije nastaje DAHP kiselina (3-deoksi-D-arabinoheptulonska kiselina) čijom postepenom ciklizacijom nastaje 3-dehidrošikiminska kiselina, a zatim redukcijom šikiminska kiselina. Iz šikiminske kiseline zatim određenim transformacijama nastaju aromatske aminokiseline: fenilalanin, tirozin i triptofan, koje su prekursori stvaranja brojnih fenolnih jedinjenja (*Herrmann i Weaver*, 1999; *Achnine i sar.*, 2004). Tako na primjer deaminacijom fenilalanina nastaje cimetna kiselina, a naknadnom

hidroksilacijom cimetne kiseline na različitim položajima unutar benzenskog prstena nastaju kafeinska i kumarna kiselina koje su vrlo zastupljene u plodu paradajza.

Acetatno-malatni put ili tzv. poliketidni put je karakterisan povezivanjem acetatnih i malatnih jedinica u odgovarajući poliketidni ugljenovodonični lanac (*Horinouchi*, 2009). Acetatne jedinice, odnosno molekule acetil CoA, nastaju ili kao produkt glikolize ili kao produkt β -oksidacije masnih kiselina, dok malatne jedinice u pravilu nastaju karboksilacijom molekula acetil CoA. Poliketidni lanac nastao povezivanjem navedenih acetatnih i malatnih jedinica je zbog velikog broja keto grupa vrlo reaktiv, te zbog toga ima tendenciju stvaranja stabilnije strukture koja se ostvaruje na način da se prsten zatvori aldolnom ili Cleisen-ovom kondenzacijom, a enolizacijom nastalog prstena nastaje benzenski prsten, gradivna struktura svih fenolnih jedinjenja (*Šušković*, 2007).

U naučnoj literaturi se navode različite podjele fenolnih jedinjenja. Podjele se obično prave s obzirom na broj konstitutivnih ugljenikovih atoma vezanih u osnovnom skeletu strukture fenola, a jedna od najčešćih podjela koja se vrlo često primjenjuje u naučnim krugovima je podjela fenolnih jedinjenja na jednostavne fenole, fenolne kiseline, flavonoide i stilbene (*Rastija i sar.* 2009).

Flavonoidi su najbrojnija grupa unutar fenolnih jedinjenja. U izgradnji flavonoida, uključena su oba puta sinteze: šikiminski i acetatno-malatni put (*Martens i sar.*, 2010). Do danas ih je identifikovano preko 6000, a prisutni su u gotovo svim dijelovima biljke: sjemenkama, lišću, cvijeću i plodovima (*Ferrer i sar.*, 2006).

Osnovnu strukturu svih flavonoida čini difenilpropan, odnosno 2-fenilbenzopiran, strukturalna forma izgrađena od petnaest ugljenikovih atoma.

U najjednostavnijem obliku ova forma sadrži dva fenilna prstena (A- i B- prsteni) međusobno povezanih propanskim lancem koji ne mora, ali najčešće sa kiseonikom formira heterociklični C-prsten ($C_6-C_3-C_6$). Iz ove forme, određenim modifikacijama unutar C prstena, izvodi se niz strukturno različitih podgrupa flavonoida: flavonoli, flavoni, izoflavoni, flavani, flavanoni, flavanoli, flavanonoli, flavan-3,4-dioli i antocijanidini (*Winkel-Shirley*, 2002). Strukturne razlike između podgrupa uglavnom su zasnovane na stepenu oksidacije C prstena, broju i položaju hidroksilnih grupa, te stepenu njihove alkilacije i/ili glikozidacije (*Kazazić*, 2004).

Od flavonoida u plodu paradajza su značajno prisutni kvercetin i naringenin. Kvercetin pripada podgrupi flavonola čija je osnovna karakteristika prisutnost hidroksilne grupe na trećem ugljenikovom atomu C prstena. U plodu paradajza se rijetko nalazi odvojen, većinom je vezan sa šećerom rutinozom u glikozid-rutin. Za razliku od kvercetina, naringenin spada u flavanone za koje je karakteristično da u svojoj strukturi ne sadrže dvostruku vezu između drugog i trećeg ugljenikovog atoma u centralnom prstenu. Mnoga istraživanja su pokazala da konzumacija plodova sa visokim sadržajem naringenina smanjuje nakupljanje masnih naslaga u krvnim sudovima, te da navedeno jedinjenje pokazuje i snažno antioksidativno djelovanje. Shodno navedenome veća količina naringenina u plodu paradajza je izuzetno poželjna sa aspekta povišenja njegove nutritivne vrijednosti (*Rigano i sar.*, 2014).

Antioksidacijsko djelovanje fenolnih jedinjenja

Antioksidativno djelovanje fenolnih jedinjenja manifestuje se na više načina. Neutralizacija negativnog djelovanja slobodnih radikala smatra se najefikasnijim antioksidacijskim djelovanjem polifenola, a to postiže na način da slobodnim radikalima predaju nedostajući elektron, pri čemu sami ostanu stabilni (*Hasanuzzaman i sar.*, 2013). Pretpostavlja se da je sposobnost pojedinih fenolnih jedinjenja da doniraju elektron povezana s njihovom raspodjelom elektrona unutar molekule. Njihova elektronska konfiguracija se može objasniti samo uz pretpostavku da su neki elektroni delokalizovani, što znači da se više ili manje podjednako raspodjeljuju unutar dijela ili cijele molekule. Zbog delokalizacije elektrona smanjuje se međusobno odbijanje elektrona unutar molekule, pa se stabilnost molekule povećava, tako da one i nakon davanja elektrona ostaju stabilni. Delokalizovani elektroni odnose se na elektrone smještene u tzv. π -orbitalama. Jedinjenja koja imaju veći stepen π -delokalizacije su aktivnija u davanju elektrona (*Halliwell*, 2006).

Sljedeći vrlo važan način antioksidativnog djelovanja polifenola je njihova sposobnost vezanja redukovanih jona prelaznih metala (Fe^{2+} , Cu^+) uslijed čega se sprečava njihovo stupanje u reakciju sa vodonik peroksidom i stvaranje reaktivnih hidroksilnih radikala (*Triantaphylides i Havaux*, 2009). Prisustvo polifenola utiče povoljno i na aktivaciju antioksidacijskih enzima, kao i na inhibiranje oksidaza, što djeluje na pospješenje antioksidativnog sistema odbrane biljke (*Williamson i Scalbert*, 2000). U interakciji sa drugim antioksidansima, prvenstveno sa vitaminom C, polifenoli pokazuju sinergijski efekt. Taj povećani efekat povezan je sa svojstvom

vitamina C da zbog svog visokog redoks potencijala zaštiti polifenol od oksidativne degeneracije (*Athar i sar.*, 2008).

Osim navedenih antioksidacijskih efekata, polifenoli imaju i sposobnost doniranja elektrona peroksil radikalima, nastalim oksidacijom masnih kiselina. Rezultat te reakcije je neutralizacija peroksil radikala i stvaranje manje reaktivnog fenoksi radikala nesposobnog da pokrene daljnji tok oksidacijskih reakcija razgradnje lipida (*Amorati i sar.*, 2003).

Od prisustva fenolnih supstanci u biljci zavisi i adaptacija biljne vrste na različite ekološke faktore, kao i druge odbrambene reakcije biljke: zaštita od patogenih mikroorganizama ili potencijalnih natjecatelja za isti životni prostor (*Cornell i Hawkins*, 2003). U složeni kompleks polifenolnih sastojaka ubrajaju se i fitoaleksini, jedinjenja koja se pri uobičajenim okolnostima ne mogu naći u biljci ili su prisutni u vrlo maloj količini. Fitoaleksini se sintetišu i akumulišu u biljnim ćelijama kao odgovor na bakterijske i gljivične infekcije (*Cvjetković*, 1997), a zbog svoje efikasnosti se smatraju glavnim nosiocima mehanizma otpornosti na različite biljne bolesti.

Fenoli pokazuju veliki biološki efekat i na druge organizme. Neki od tih efekata se manifestuju u jačanju imunološkog sistema čovjeka, najčešće takođe inaktivacijom negativnog uticaja slobodnih radikala. Fenolnim jedinjenjima se pripisuju i druga korisna djelovanja: antiupalna, antimikrobna, antimutagena i antikancerogena (*Williams i sar.*, 2004; *Alberto i sar.*, 2006; *Parvaiz i Satyawati*, 2008). Rezultati istraživanja objavljeni od strane mnogih naučnika koji se bave medicinom i hemijom hrane su potvratile ove navode i ukazale na važnost fenola u jačanju imunološkog sistema čovjeka (*Walker i sar.*, 1975; *Mangas i sar.*, 1999; *Mattila i sar.*, 2006; *Duda-Chodak i sar.*, 2010).

Stimulatori rasta i mogućnosti njihove primjene u jačanju odbrambenih mehanizama biljke u uslovima vodnog stresa

Tokom svog životnog ciklusa svaka biljka prolazi kroz različite stadijume, počevši od razvijanja vegetativnih organa, korijena, stabljike i lista, a zatim i generativnih, cvijeta, ploda i sjemena. U svakom od navedenih stadijuma biljke su izložene jačem ili slabijem djelovanju različitih faktora spoljašnje sredine, od kojih neki mogu vrlo negativno uticati na razvoj biljke (*Hopkins*, 1995).

Snabdjevenost biljaka vodom je svakako jedan od najvažnijih faktora koji utiče na razvoj biljke jer je voda najznačajnija strukturalna komponenta ćelijskih organela, a i neophodna je za

odvijanje svih metaboličkih procesa u biljci. Shodno navedenome i mali nedostatak vode u biljci može uticati negativno na razvoj biljke, pa čak dovesti i do velikih gubitaka u kvalitetu i prinosu uzgajanih kultura. Ovaj problem je uslijed globalnih temeperaturnih promjena zadnjih godina posebno izražen i očekivanja su da će se ovaj trend povećanja temperatura u budućnosti i nastaviti, što će dodatno umanjiti ionako već ograničene resurse vode.

Biljke kao sesilni organizmi nisu u stanju da izbjegnu eventualnu pojavu suše na određenom staništu, ali su u stanju da se u granicama svog genetskog potencijala, svojim vlastitim mehanizmima odbrane prilagode nepovoljnim uslovima sredine u kojima se nalaze. Što je taj stepen razvoja mehanizma odbrane na stres jače razvijen, biljka ima i veće šanse da opstane u navedenim uslovima (*Nešković*, 2003).

Jedan on načina kojim bi se umnogome mogli poboljšati odbrambeni mehanizmi biljke u uslovima suše je primjena odgovarajućih stimulatora rasta koji u sebi sadrže supstance za koje je dokazano da stimulativno utiču na tok odvijanja metaboličkih procesa u biljci. Sastav nekih stimulatora je baziran isključivo na hemijskim supstancama, kod nekih su baza sastava korisni mikroorganizmi, dok neki predstavljaju komplekse prirodnih biljnih ekstrakata. Nezavisno od sastava, zajednička osobina svih stimulatora rasta je ista, a to je da pozitivno utiču na tok odvijanja fizioloških procesa u biljci, te na hormonalnu i metaboličku aktivnost unutar biljke. Shodno navedenome, njihova primjena bi trebala doprinijeti poboljšanju odbrambenog mehanizma biljke u uslovima suše, što je u mnogim naučnim radovima i dokazano (*Kertikov i Radeva*, 1998; *Muralidharan i sar.*, 2000; *Paradžiković i sar.*, 2008).

Sa ciljem dobijanja kvalitetnih i zdravstveno ispravnih jestivih dijelova biljke, u poljoprivrednoj proizvodnji, pa tako i u proizvodnji paradajza, sve je veća tendencija korišćenja stimulatora rasta na bazi prirodnih biljnih ekstrakata.

Sidhu i sar. (2017) u svom radu navode pozitivan efekat primjene stimulatora rasta Stimplex, dobijenog ekstrakcijom morske alge *Ascophyllum nodosum* (L) Le Jolis, na sadržaj fenola, likopena i uopšte antioksidativnih materija u plodovima paradajza. *Spann i sar.* (2010) su u svom istraživanju utvrđili veliku efikasnost primjene ovog preparata i kod uzgoja narandže u stresnim uslovima. Pozitivan efekat primjene preparata na bazi morskih algi na parametre kvaliteta i prinosa poljoprivrednih kultura utvrđen je i u brojnim drugim istraživanjima (*Kocira i sar.*, 2016; *Zarzecka i sar.*, 2017).

Jedan od preparata čiji je proizvodnja zasnovana na ekstrakciji morske alge *Ascophyllum nodosum* (L) Le Jolis je i Bio algeen S-90. Njegova primjena se posebno pokazala efikasnom u uzgoju presadnica šeri paradajza gdje su mlade biljke izložene stresnim uslovima kao posljedica presađivanja (*Dobromilska i sar.*, 2008).

Budući da Bio-algeen S90 , tj. njegov osnovni sastojak morska alga *Ascophyllum nodosum* (L) Le Jolis u sebi sadrži veliki broj raznovrsnih fiziološki aktivnih supstanci, među kojima i određenu količinu prolina i vitamina E za koje je poznato da su važni segmenti osmotskog i antioksidativnog odbrambenog sistema biljke (*Craigie*, 2011; *Gupta i Abu-Ghannam*, 2011), za pretpostaviti je da bi se primjena ovog preparata trebala odraziti pozitivno i na jačanje odbrambenih mehanizama šeri paradajza u uslovima vodnog stresa. No, da li će ovaj preparat u datim uslovima imati pozitivne efekte na odbrambene mehanizme biljke, osim od njegovog sastava, zavisiće i od genetskog potencijala biljke, odnosno od njene sposobnosti da iskoristi materije iz navedenog preparata za jačanje svojih odbrambenih mehanizama.

Kod uzgoja paradajza i uopštenopoljoprivrednih kultura za stimulaciju metabolizma biljke vrlo često se primjenjuju i preparatina bazi mikroorganizama. Pozitivan uticaj navedenih preparata na rast i razviće biljaka utvrđen je u brojnim naučnim radovima (*Chabot i sar.*, 1996; *Richardson i sar.*, 2009; *Kaur i Reddy*, 2014).

Primjena mikroorganizma, kao sredstva za pospješivanje razvoja biljke, je pokazala svoju opravdanost i kod uzgoja biljaka u stresnim uslovima (*Rolli i sar.*, 2015; *Vurukonda i sar.*, 2016)

Chitarra i sar. (2016) u svom radu navode pozitivan uticaj primjene mikroorganizama *Funneliformis mosseae* i *Rhizophagus intraradices* na odbrambene mehanizme paradajza gajenog u uslovima stresa, a do kompatibilnih zapažanja u svojim radovima došli su i drugi naučnici, uz napomenu da su predmet njihovog istraživanja bile druge biljne vrste (*Estrada i sar.*, 2013; *Pedranzani i sar.*, 2015). Bhattacharyya i Jha (2012) smatrali su da pozitivan efekat mikroorganizama na parametre odbrambenog mehanizma biljke na stres u prvom redu može pripisati njihovoj sposobnosti da u sistemu zemlja-biljka poboljšaju vodno-vazdušne karakteristike zemljišta te usvajanje hranjiva od strane korijena biljke, a što se direktno reflektuje na uspešniji razvoj biljke, kao i njenu veću otpornost na stresne uslove.

Slavol je mikrobiološki preparat koji u sebi sadrži bakterije azotofiksatore i fosfomineralizatore, ali snjim prema dostupnoj naučnoj literaturi nije rađeno puno istraživanja na paradajzu. S tog aspekta promatrano interesantno je ispitati kako će se primjena ovog preparata

odraziti na odbrambene mehanizme presadnica šeri paradajza gajenih u uslovima vodnog stresa, što bi trebalo biti od interesa kako proizvođačima ove povrtnе kulture, tako i naučnicima koji se bave ispitivanom problematikom. Iz navedenih razloga ovaj preparat i jeste odabran kao objekat istraživanja u sklopu ove doktorske disertacije.

Izuvez preparata na bazi morskih algi i mikroorganizama, za pospješenje odbrambenih mehanizama biljke u uslovima stresa koriste se i drugi organski stimulatori rasta. Neki su bazirani na visokom sadržaju huminskih kiselina, neki na bazi minerala kao što su zeolit i pirofilit, a neki na ekstraktima viših biljaka.

Pozitivan efekat primjene stimulatora rasta baziranog na huminskim kiselinama na razviće paradajza u stresnim uslovima utvrđen je u radu *Amana i Raba* (2013), ali i u radovima drugih naučnika (*Kazemi*, 2013; *Asri i sar.*, 2015; *Farnia i Moradi*, 2015). Cimrin i Yilmaz (2005) navode da je glavni razlog efikasnosti huminskih kiselina sposobnost navedenih supstanci da potaknu rast korijena, a samim time i usvajanje vode i hranjiva. *Chen i sar.* (2014) smatraju da huminske kiseline mogu postići i diobu ćelija, kao i aktivaciju hormona i enzima u biljci, što je u direktnoj korelaciji sa procesima rasta u biljci i njenim metabolizmom.

Zeolit kao stimulacijsko sredstvo je već odavno u upotrebi u poljoprivrednoj proizvodnji i to zahvaljujući činjenici što ovaj mineral izuzetno dobro apsorbuje vlagu i hranjiva te ih tako čini dostupnim biljkama duže vrijeme. Samim time, primjena zeolita ima svoju opravdanost i kod uzgoja biljaka u uslovima suše, što je u brojnim radovima i dokazano (*Lego*, 2000; *Hasanagić i sar.*, 2015).

Za stimulaciju razvoja biljke koriste se i ekstrakti biljaka, a efikasnost njihove primjene, posebno sa aspekta antimikrobnog djelovanja, je potvrđena u brojnim radovima (*Osorio i sar.*, 2010; *Shami i sar.*, 2013; *Sheikh i sar.*, 2013). Valdes i sar. (2017) u opsežnom preglednom članku navode pozitivne efekte primjene ekstrakta biljki na usporavanje ili zaustavljanje razvoja patogenih gljivica kod uzgoja paradajza, a takođe naglašavaju i značaj njihove primjene sa aspekta zaštite čovjekove okoline.

Vrlo interesantan stimulator rasta koji se odnedavno pojavio na tržištu je preparat Ergonfill. Ono što je njegova posebna karakteristika je da je proizведен hidrolitičkom razgradnjom životinjskih proteina, te da kao takav u sebi sadrži veliki broj aminokiselina i drugih aktivnih supstanci za koje se očekuje da pozitivno utiču na tok fizioloških procesa u biljci. Da bi taj efekat bio i ostvariv neophodno je da uzgajane biljke usvoje te sastojke i adekvatno ih iskoriste.

Budući da sa ovim preparatom nije rađeno puno istraživanja koja bi mogla potvrditi ili osporiti navedenu tezu, ovaj preparat je takođe odabran kao objekat rada u sklopu ove doktorske disertacije.

4. RADNA HIPOTEZA

Efikasnost primjene određenog stimulatora rasta na odbrambene mehanizme biljke, osim od sastava stimulatora, zavisi i od genetskog potencijala biljke, odnosno od njene sposobnosti da iskoristi supstance iz stimulatora rasta za jačanje svojih odbrambenih mehanizama.

Među stimulatorima rasta, po svojim karakteristikama, posebno se izdvajaju preparati Bio-algeen S92, Slavol i Ergonfill, prvenstveno iz razloga što su to preparati novije generacije pa je njihov učinak na biljku nedovoljno poznat, ali i zbog toga što su po svom sastavu vrlo specifični. Bio-algeen S92 je proizvod dobijen ekstrakcijom morskih algi, Slavol je mikrobiološko đubrivo, a Ergonfill je preparat nastao kao produkt hidrolitičke razgradnje životinjskih proteina.

Shodno karakteristikama Bio-algeena S92, Slavola i Ergonfilla za prepostaviti je da bi njihova primjena trebala imati pozitivan efekat na podizanje nivoa odbrambenog mehanizma biljke u uslovima vodnog stresa, te je u skladu s tim postavljena i osnovna hipoteza ovog istraživanja, a to je da će presadnice šeri paradajza tretirane stimulatorima rasta imati veću tolerantnost prema nedostatku vlage u odnosu na netretirane.

Za očekivati je da presadnice sa većom adaptibilnošću prema suši iskažu i veći potencijal za ostvarivanjem većeg prinosa i kvaliteta, a navedena hipoteza je testirana u fazi tehnološke zrelosti plodova.

Vrlo važan segment ovog istraživanja je utvrditi i objasniti povezanost između fiziološki aktivnih komponenti sadržanih u primjenjenim stimulatorima i ispitivanih parametara odbrambenog mehanizma biljke, a hipoteza je da ta povezanost postoji i da je ona vrlo značajna sa aspekta povećanja tolerantnosti presadnica šeri paradajza prema nedostatku vode.

Rezultati dobijeni na osnovu testiranja hipoteza bi trebali biti dobar osnov za razumijevanje ponašanja biljaka u uslovima vodnog stresa, a s tim u vezi i za donošenje ispravnih zaključaka o mogućnostima unapređenja proizvodnje ove povrtne kulture korišćenjem stimulatora rasta Bio-algeena S-92, Slavola i Ergonfilla.

5. MATERIJAL I METODE RADA

5.1. Materijal rada

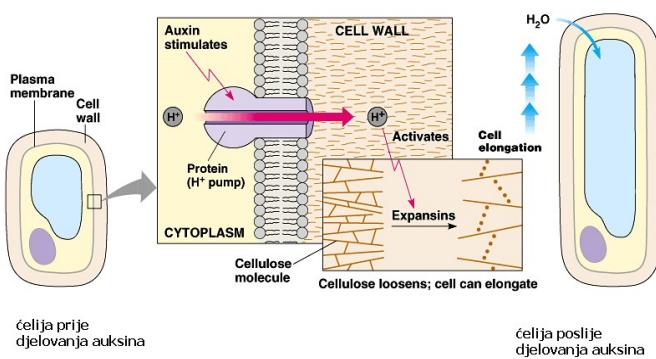
5.1.1. Stimulatori rasta (Slavol, Bio-algeen S92 i Ergonfill)

U radu su korišćeni slijedeći stimulatori rasta: Slavol (proizvođač Agrounik), Bio-algeen S92 (proizvođač Shulze i Hermen GmbH), i Ergonfill (proizvođač K-Adriatica).

Slavol

Slavol je tečno mikrobiološko đubrivo namijenjeno u prvom redu za organsku i integralnu poljoprivrednu proizvodnju budući da njegova primjena ne zagađuje zemljište i nema negativnu refleksiju na okolinu. Ovaj preparat u sebi sadrži korisne mikroorganizme, odnosno bakterije iz grupe azotofiksatora i fosfomineralizatora za koje je poznato da poboljšavaju strukturu zemljišta i doprinose boljem usvajanju hranjiva. Azotofiksatori imaju sposobnost da obavljaju proces azotofiksacije, tj. da prevode atmosferski azot u oblike pristupačne biljci (*Chauhan i sar.*, 2015), dok fosfomineralizatori razlažu organska jedinjenja fosfora i prevode ih u biljci pristupačan oblik (*Rfaki i sar.*, 2015). Njihov dodatak u zemljište trebao bi doprinijeti boljem usvajanju azota i fosfora od strane korijenovog sistema biljke, što bi se trebalo pozitivno odraziti i na tok odvijanja metaboličkih procesa u biljci, posebno ako se uzme u obzir činjenica da su azot i fosfor makroelementi i da ih biljka treba u velikim količinama. Osim toga, uslijed unošenja (inokulacije) ovih bakterija u zemljište smanjuje se potreba za dodavanjem mineralnih đubriva, čime se daje nemjerljiv doprinos zaštiti okoline i čovjekove sredine (*Bhattacharyya i Jha*, 2012).

Preparat Slavol osim korisnih mikroorganizama u sebi sadrži i hormon rasta auksin koji stimulativno djeluje na procesa rasta u biljci (slika 1). Povećanje biljnih ćelija, posebno ako jer riječ o povećanju ćelija rizodermisa korijena, podrazumijeva i veću površinu korijenovih dlačica, što znači i veću sposobnost korijenovog sistema biljke da usvaja vodu i u njoj rastvorene hranjive materije. Veća apsorpcija hranjiva podrazumijeva i veći sadržaj hranjiva u nadzemnom dijelu biljke, a s tim u vezi i jači razvoj biljke u cjelini. Shodno navedenome, primjena Slavola koji u sebi sadrži hormon rasta auksin bi se trebala odraziti pozitivno na povećanje apsorpcione površine korijena, a posljedično i na razvoj cijele biljke.



Slika 1. Mehanizam djelovanja auksina na rast ćelije

(preuzeto sa <https://www2.mcdaniel.edu/Biology/botf99/hormweb/hauxin.html>)

Bio-algeen S92

Bio-algeen S92 je preparat dobijen ekstrakcijom iz morske alge *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jolis, a smatra se jednim od vrlo efikasnih prirodnih sredstava za stimulaciju razvoja biljaka.

Efikasnost Bio-algeena S92 se u prvom redu može pripisati specifičnom hemijskom sastavu morskih algi iz kojih je ovaj preparat proizведен. Analiza njihovog hemijskog sastava je pokazala da ove alge u sebi sadrže čak devetnaest esencijalnih aminokiselina, te visok i raznovrstan sadržaj vitamina i biogenih elemenata (Craigie, 2011). Sadržaj biogenih elemenata u preparatu Bioalgeen S92 prikazan je u tabeli 1.

Tabela 1. Sadržaj biogenih elemenata u preparatu Bio-algeen S92*

voda	96,9%
azot	0,02%
fosfor	0,01%
kalijum	0,1%
kalcijum	0,31%
sumpor	0,08%
natrijum	1,33%
bor	16 mg l ⁻¹
željezo	6,31 mg l ⁻¹
cink	1 mg l ⁻¹
mangan	0,6 mg l ⁻¹
bakar	0,2 mg l ⁻¹
olovo	0,08 mg l ⁻¹
arsen	0,05 mg l ⁻¹
nikl	0,04 mg l ⁻¹
kadmijum	0,01 mg l ⁻¹
hrom	0,01 mg l ⁻¹

*Analiza preparata je napravljena na univerzitetu Hoehenheim

Shodno hemijskom sastavu Bio-algeena S92, kao i spoznaji da su rezultati mnogih istraživanja potvrdili pozitivan efekat ekstrakta morskih algi na parametre razvoja biljke (*Hafez*, 2001; *Dobromilska i sar.*, 2008)., za očekivati je da se primjena ovog preparata odrazi pozitivno na parametre odbrambenog mehanizma šeri paradajza u uslovima suše, ali i na njen cjelokupan razvoj.

Ergonfill

Ergonfill je stimulator rasta čija je glavna karakteristika visok sadržaj aminokiselina, a osnov dobijanja ovog preparata je hidrolitička razgradnja životinjskih proteina. Ovaj preparat u sebi sadrži aminokiselinu prolin, koja ima vrlo bitnu ulogu u odbrambenom mehanizmu biljke u uslovima stresa, te aminokiselinu triptofan koja je prekursor u stvaranju biljnog hormona indolsirćetne kiseline (*Bidwell*, 1979). Uz aminokiseline, ovaj preparat u sebi sadrži izvjesne količine azota, te željeza i magnezijuma koji su neophodni sa aspekta sinteze pigmenta hlorofila i omogućavanja normalnog odvijanja procesa fotosinteze.

Detaljan prikaz hemijskog sastava Ergonfilla koji je naveden na etiketi proizvoda je prikazan u tabeli 2.

Tabela 2. Hemijski sastav preparata Ergonfilla

Hemijski sastav preparata Ergonfill			
ugljenik		10,0%	
azot		3,4%	
magnezij oksid		2,0%	
željezo		0,2%	
molibden		0,003%	
aminokiseline		0,3%	
<i>glutaminska kis.</i>	18%	<i>fenilalanin</i>	3%
<i>prolin</i>	9%	<i>alanin</i>	2%
<i>leucin</i>	8%	<i>glicin</i>	2%
<i>lizin</i>	7%	<i>histidin</i>	2%
<i>asparaginska kis.</i>	6%	<i>arginin</i>	2%
<i>valin</i>	5%	<i>tirozin</i>	2%
<i>serin</i>	4%	<i>metionin</i>	2%
<i>izoleucin</i>	4%	<i>triptofan</i>	1%
<i>treonin</i>	3%		
vitamin B ₂		0,2%	
vitamin B ₁		0,1%	

Prema uputstvu proizvođača (Agrofill, Italija) stimulator rasta Ergonfill se u prvom redu preporučuje kod uzgoja biljaka koje potencijalno mogu biti izložene djelovanju stresnih faktora, ali i u svim drugim uslovima u kojima se želi potaknuti uspješniji rast biljaka.

5.1.2. Šeri paradajz cv. Sakura F1 (*Lycopersicon esculentum* Mill. "Sakura")

Šeri paradajz Sakura se ubraja u indeterminatne, visoke kultivare šeri paradajza, te je za njegov uzgoj neophodan naslon. Daje visoki prinos i otporan je na niz oboljenja među kojima i na virusno mozaično oboljenje (ToMV), te fuzarijsko venuće (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*). Velika prednost ovog kultivara je i visoka tolerancija na nematode, ali i na temperaturne oscilacije. Stabljika se odlikuje snažnim vegetativnim rastom i otvorenim habitusom s relativno kratkim internodijima, a tokom svog rasta stvara veliki broj zaperaka koje je u cilju uspješnijeg razvoja glavnih rodnih grana neophodno uklanjati. Plodovi su jednolične, crvene boje, okruglastog oblika, prosječne mase od 18 do 22 grama, odličnog kvaliteta i čvrstoće, te slatkastog i vrlo aromatičnog okusa (slika 2). Od sadnje do pojave prvih zrelih plodova u standardnim klimatskim uslovima prođe oko 70 dana. Za ovaj kultivar je takođe karakteristično konstantno i ujednačeno dozrijevanje, te je stoga vrlo omiljen kako kod proizvođača, tako i kod konzumenata. Ukus ploda takođe znatno varira, a istraživanja kažu da se ovaj sortiment paradajza odlikuje velikim brojem supstanci korisnim za zdravlje čovjeka, te je stoga na tržištu dosta tražen (Lenucci i sar., 2006). Većina sortimenta šeri paradajza daje plodove u grozdovima, a visina stabljike im dosta varira, od 10 cm do iznad 1 m.

Zbog navedenih razloga ovaj kultivar šeri paradajza je i odabran kao objekt istraživanja u sklopu ove doktorske disertacije.



Slika 2. *Lycopersicon esculentum* Mill. "Sakura" (original)

5.2. Postavljanje ogleda

Istraživanje u kojem je ispitivan uticaj stimulatora rasta Bioalgeena S92, Ergonfilla i Slavola na mogućnost povećanja tolerantnosti presadnica šeri paradajza prema nedostatku vode je provedeno u kontrolisanim uslovima u stakleniku KJP "PARK" u Sarajevu tokom 2014. i 2015. godine.

Prva faza istraživanja odnosila se na proizvodnju presadnica šeri paradajza. U svakoj godini istraživanja sjetva deklarisanog sjemena ovog kultivara šeri paradajza (*Lycopersicon esculentum* Mill. var. cerasiforme, cv. "Sakura") je provedena početkom aprila mjeseca, a obavljena je u PVC kontejnerima ispunjenim supstratom Klasmann Seedling Substrat, koji su zatim smješteni u odgovarajuće komore. Temperatura u komorama je tokom klijanja održavana na 30 °C, uz potpunu zasićenost vazduha vlagom što je postignuto upotrebom mikrorasprskivača, a sve sa ciljem stvaranja optimalnih uslova za klijanje sjemena. Nakon sedam dana, u momentu kad su isklijale gotovo sve sjemenke, kontejneri su prebačeni u grijane zaštićene prostore gdje su bili izloženi istovjetnim temperaturnim uslovima kao i u komori, uz redovno prozračivanje i održavanje vlažnosti supstrata. Nakon što su mlade biljčice razvile kotiledonske listove, temperatura u zaštićenom prostoru je snižena par stepeni (21 °C), s tim da su biljke preko noći bile izložene 3 - 4 °C nižoj temperaturi nego tokom dana.

U momentu razvijanja prva dva prava lista (BBCH - 102), za što je trebalo oko 20 dana od momenta sjetve, izvršeno je pikiranje mladih biljčica iz sjetvenih kontejnera u uzgojne kontejnere prečnika rupa 6 cm ispunjenih supstratom Klasmann Substrat 1. Tri dana nakon pikiranja izvršeno je tretiranje mladih biljčica fungicidom Previkurom prvenstveno sa ciljem suzbijanja patogenih gljivica iz roda *Phyti*um, uzročnika polijeganja rasada.

Četrdeset i pet dana nakon sjetve, kada su mlade biljčice šeri paradajza razvile četiri do pet pravih listova (BBCH 10.), izvršeno je njihovo presađivanje iz uzgojnih kontejnera u saksije prečnika 24 cm, visine 184 mm, a zapremine 4,75 litara. Za punjenje saksija korišćen je supstrat "Park".

Supstrat "Park" je predstavljao mješavinu baštenske zemlje i lumbrichumusa u omjeru 3:1, a proizведен je unutar firme KJP "PARK" u Sarajevu. Da bi se utvrdila podobnost korišćenog supstrata za uzgoj šeri paradajza i dala odgovarajuća preporuka đubrenja, prije provođenja ovog dijela eksperimenta napravljena je hemijska analiza supstrata u okviru koje su ispitani sljedeći parametri: kiselost zemljišta u H₂O i 1M KCl, sadržaj humusa, te sadržaj lako pristupačnih oblika fosfora i kalijuma. Kiselost zemljišta je određena pH metrom (ISO 10390, 2005), sadržaj humusa dihromatnom metodom (ISO 14235, 1998), a sadržaj lakopristupačnih oblika kalijuma i fosfora tzv. AL - metodom (*Egner i sar.*, 1960).

Hemijska analiza supstrata "Park" rađena je u laboratoriji Poljoprivredno-prehrabrenog fakulteta u Sarajevu, a rezultati provedene analize prikazani su u tabeli 3.

Tabela 3. Hemijske karakteristike supstrata „Park“

Supstrat	pH H ₂ O	pH KCl	humus %	P ₂ O ₅ mg 100 g ⁻¹	K ₂ O mg 100 g ⁻¹
"Park"	7,30	6,50	15,28	54,95	78,40

Prilikom presađivanja mladih biljaka iz uzgojnih kontejnera u saksije izdvojene su sve nerazvijene presadnice ili presadnice koje su se svojim habitusom značajnije razlikovale, a sa ciljem dobijanja što uniformnijeg materijala za provođenje ogleda.

Ovako pripremljen materijal je korišćen za provođenje druge faze istraživanja, a ona je podrazumijevala postavljanje ogleda u okviru kojeg su presadnice šeri paradajza tretirane odgovarajućim stimulatorima rasta (slika 3).

Ogled je postavljen po metodi slučajnog bloknog rasporeda, sa četiri varijante tretiranja u tri ponavljanja. Svaka varijanta obuhvatala je četrdeset biljaka, što znači da je ovim ogledom bilo obuhvaćeno ukupno 480 biljki.



Slika 3. Postavljanje ogleda (original)

Varijante tretiranja stimulatorima rasta su bile sljedeće:

- 1. varijanta: primjena Bio-algeena S92 u konc. 0,2% (2 ml u 1 l vode),
- 2. varijanta: primjena Slavola u konc. 1% (10 ml u 1 l vode),
- 3. varijanta: primjena Ergonfilla u konc. 0,1% (1 ml u 1 l vode),
- 4. varijanta: netretirana varijanta.

Sva tretiranja su izvršena u skladu sa uputstvom proizvođača stimulatora rasta, s tim da je prvo tretiranje izvršeno odmah nakon presađivanja (BBCH - 10.), a drugo petnaest dana poslije (BBCH - 20.). Stimulatori rasta Bio-algeen S92 i Ergonfill su primijenjeni folijarnim putem uz korišćenje ručne prskalice (slika 4), pri čemu je za svaku varijantu koja je sadržavala 40 biljaka

utrošeno 2 l rastvora po tretmanu (50 ml po biljci). Tretiranje Slavolom je obavljeno preko zemljišta zalijevanjem, pri čemu je za svaku biljku utrošeno takođe 50 ml.



Slika 4. Tretman presadnica šeri paradajza sa stimulatorima rasta (original)

Pet dana nakon drugog tretiranja izvršen je drugi dio ogleda u kojem je unutar svake varijante polovina presadnica (20 biljaka) bila izložena uslovima vodnog stresa (nezalijevanju), a druga polovina (takođe 20 biljaka) nije tj. ona je redovno zalijevana (kontrola). Razlog odabira ovog momenta za započinjanje drugog dijela ogleda je bio taj što je prethodni period (razmak od prvog tretmana stimulatorom rasta do momenta provođenja ovog dijela ogleda) bio optimalan sa aspekta usvajanja aktivnih suspstanci iz korišćenih preparata, te njihovog uključivanja u metaboličke procese u biljci.

Izlaganje dijela presadnica uslovima vodnog stresa je trajalo sve do momenta dok se na prvim presadnicama nisu pojavili vizualno uočljivi efekti suše u vidu padajuće forme listova. Taj momenat je uslijedio drugi dan po prestanku zalijevanja presadnica šeri paradajza.

U narednih pet dana uzimani su uzorci listova biljke potrebni za ispitivanje parametara odbrambenog mehanizma biljke na sušu. Pri tome su uzimani samo potpuno razvijeni, fiziološki aktivni i neoštećeni listovi sa središnjeg dijela prve plodne grane (neposredno ispod prvih otvorenih cvjetova). Listovi namijenjeni za ispitivanje enzimske aktivnosti (dva lista po biljci) su odmah po branju smrznuti u tečnom azotu, zatim su stavljeni u odgovarajuću plastičnu vrećicu, te

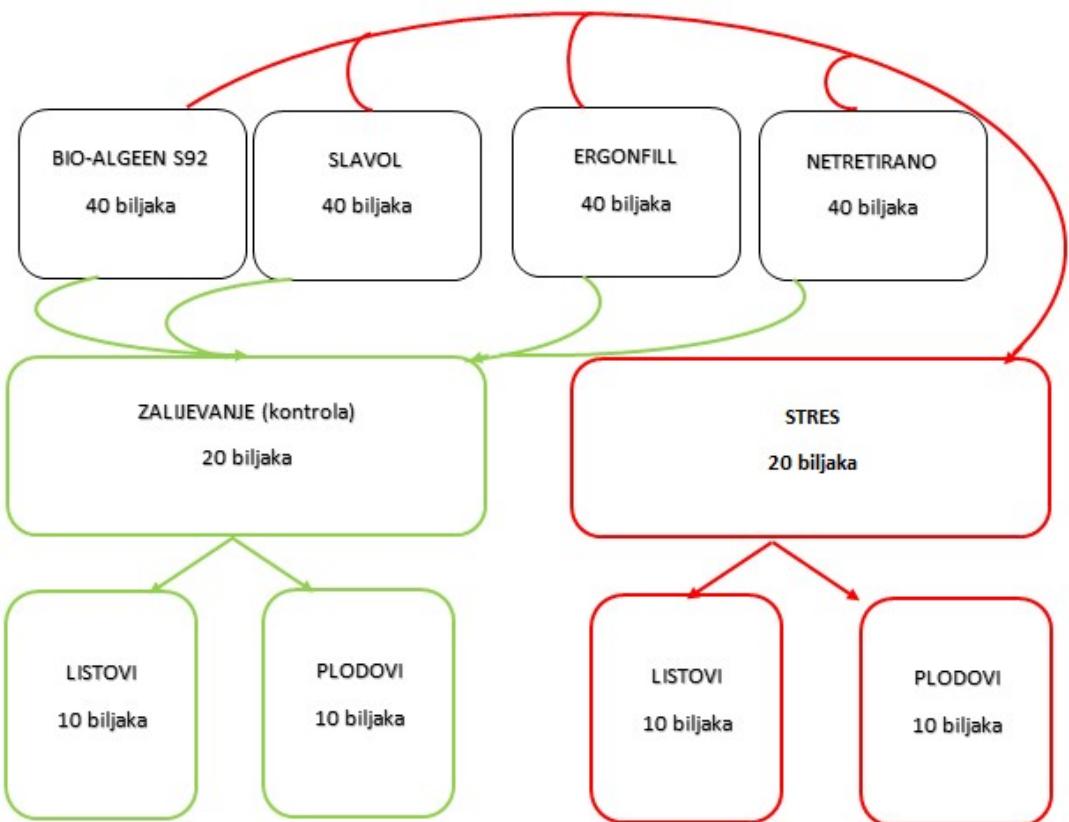
u frižider. Nakon tako izvršenog uzorkovanja, listovi su dopremljeni u laboratoriju gdje se pristupilo ispitivanju odgovarajućih parametara odbrambenog mehanizma biljke u uslovima suše.

Fiziološki parametri odbrambenog mehanizma biljke obuhvaćeni ovim istraživanjem bili su:

- vodni potencijal biljnog tkiva,
- sadržaj osmotski aktivne materije proline,
- sadržaj fotosintetskih pigmenata: hlorofila *a*, hlorofila *b* i karotenoida,
- površina listova,
- sadržaj ukupnih fenola i flavonoida,
- ukupni antioksidacijski kapacitet,
- sadržaj ukupnih proteina,
- te aktivnost enzimskih antioksidansa: superoksid dismutaze (SOD), katalaze (CAT), gvajakol (GPX), pirogalol (PPX) i askorbat peroksidaze (APX) u listovima presadnica šeri paradajza.

Za određivanje vodnog potencijala, sadržaja proline, sadržaja fotosintetskih pigmenata u listovima, te površine listova korišćeni su svježi listovi, za određivanje sadržaja ukupnih fenola, flavonoida i ukupnog antioksidacijskog kapaciteta listovi prethodno osušeni u sušioniku na temperaturi 40 °C, a za određivanje sadržaja ukupnih proteina i aktivnosti enzima korišćeni su smrznuti listovi.

Uzorkovanje listova je izvršeno na polovini biljaka unutar svake grupacije od 20 biljaka i iste više nisu predstavljale materijal ogleda, dok je druga polovina biljaka (10 biljaka) nesmetano uzgajana sve do momenta tehnološke zrelosti plodova (BBCH - 809), što znači da su na tim biljkama, nezavisno od eventualnih prethodnih tretmana stimulatorom rasta ili izloženosti stresu, sve agrotehničke mjere neophodne za uspješan razvoj šeri paradajza (zalijevanje, đubrenje, pinciranje i zaštita..) bile na jednaki način provođene. Šema eksperimenta je prikazana na slici 5.



Slika 5. Šema eksperimenta (original)

Za očekivati je bilo da presadnice sa većom adaptibilnošću prema suši iskažu i veći potencijal za ostvarivanjem većeg prinosa i kvaliteta, a navedena teza je testirana u fazi tehnološke zrelosti plodova (BBCH - 809). Pri uzorkovanju, plodovi šeri paradajza su uzimani sa prve cvjetne grane, nakon berbe su stavljeni u odgovarajuće plastične kutijice pri čemu je svaka kutijica posebno predstavljala prosječni uzorak plodova jedne varijante, te su zatim transportovani do laboratorije, gdje su ispitani sljedeći parametri: sadržaj rastvorljive suve materije i ukupnih kiselina, sadržaj vitamina C, sadržaj likopena, rutina, naringenina, hlorogenske i kafeinske kiseline, sadržaj ukupnih fenola i flavonoida, te vrijednost ukupnog antoksidacijskog kapaciteta u plodovima šeri paradajza. Za određivanje ukupnih fenola, flavonoida i antoksidacijskog kapaciteta plodovi su prethodno osušeni u sušioniku na 40 °C.

5.3. Metode rada

Metode rada korišćene u terenskim istraživanjima bile su sljedeće:

- postavljanje ogleda,
- tretman presadnica šeri paradajza sa ispitivanim stimulatorima rasta,
- uzorkovanje listova i plodova šeri paradajza za analizu.

Metode rada korištene u laboratorijskim istraživanjima bile su sljedeće:

- za određivanje vodnog potencijala biljnog tkiva korišćena je tzv. metoda na osnovu promjene koncentracije rastvora u kom se nalazilo biljno tkivo (*Lisjak i sar.*, 2009),
- za određivanje sadržaja proolina u listovima korišćena je ninhidrinska metoda (*Bates i sar.*, 1973),
 - ekstrakcija pigmenata iz svježih listova šeri paradajza obavljena je pomoću acetona, a determinacija fotosintetskih pigmenata; hlorofila *a*, hlorofila *b* i ukupnih karotenoida spektrofotometrijskom metodom uz primjenu odgovarajućih jednačina (*Wettstein*, 1957),
 - određivanje površine listova obavljeno je metodom konture lista na papiru (*Oljača i sar.*, 2012),
 - ekstrakcija i određivanje koncentracije proteina u biljnom materijalu je obavljeno prema Bradfordovoj metodi (*Bradford*, 1976),
 - aktivnost pirogalol peroksidaze je određena spektrofotometrijski prema metodi Nakane i Asade (1981),
 - aktivnost gvajakol peroksidaze je određena spektrofotometrijskom metodom prema metodi Chance i Maehly (1955),
 - određivanje aktivnosti askorbat peroksidaze je obavljeno spektrofotometrijskom metodom prema metodi Nakane i Asade (1981),
 - aktivnost katalaze je određena spektrofotometrijskom metodom po Aebi-u (1984),
 - aktivnost superoksid dismutaze je određena spektrofotometrijskom metodom (*McCord i Fridrovich*, 1969),
 - sadržaj ukupnih fenola u biljnom materijalu je određen spektrofotometrijskom metodom koja se temelji na kolornoj reakciji fenola s Folin-Ciocalteae reagensom (*Ough i Amerine*, 1988),

- sadržaj ukupnih flavonoida u biljnom materijalu je određen spektrofotometrijskom metodom koja se temelji na kolornoj rekciji flavonoida s AlCl_3 (*Zhishen i sar.*, 1999),
- ukupni antioksidacijski kapacitet u biljnom materijalu određen je FRAP metodom - ferric reducing/antioxidant power method (*Benzie i Strain*, 1996),
- sadržaj rastvorljive suve materije u plodovima šeri paradajza određen je refraktometrijskom metodom (*ISO*, 2003),
- za određivanje ukupne kiselosti u plodovima šeri paradajza korišćena je titracijska metoda s rastvorom NaOH, uz fenoftalein kao indikator (*AOAC*, 2000),
- za određivanje vitamina C (L-askorbinske kiseline) korišćena je titrimetrijska metoda s 2,6-p-dihlorfenolindofenolom (*AOAC*, 2006),
- sadržaj likopena u ispitivanim uzorcima je određen spektrofotometrijskom metodom uz korištenje heksana kao ekstrakcionog sredstva (*Davis i sar.*, 2003),
- ekstrakcija fenolnih komponenti iz plodova šeri paradajza za HPLC analizu je obavljena prema metodi Escarpe i Gonzalesa (2000) uz korišćenje smjese rastvarača (metanol + 3% metanska kiselina + 1% m / v 2,6-di-tert-butil-4-metilfenol / BHT),
- identifikacija i kvantifikacija hlorogenske i kafeinske kiseline, te rutina i naringenina u ekstraktima obavljena je primjenom tečne hromatografije visoke efikasnosti uz korišćenje Thermo Scientific Finnigan Surveyor HPLC-DAD sistema.

5.3.1. Određivanje vodnog potencijala biljnog tkiva (Ψ)

Vodni potencijal biljnog tkiva (Ψ) predstavlja razliku između hemijskog potencijala vode u biljnom tkivu i hemijskog potencijala čiste vode. Budući da je hemijski potencijal čiste vode pri standardnim uslovima (atmosferskom pritisku od 101 kPa i temperaturi od 298 K) po konvenciji dogovorno jednak nuli, vodni potencijal bilo kakvog rastvora će uvijek imati negativnu vrijednost. Sa aspekta uzgoja biljaka, vrijednost vodnog potencijala je vrlo značajna jer ukazuje na vodni status biljke, odnosno na stepen vodnog stresa kojem je biljka izložena. Negativnija vrijednost vodnog potencijala jednog sistema (biljnog tkiva) ukazuje istodobno i na viši stepen dehidratacije, odnosno izloženosti biljke vodnom stresu.

U ovom istraživanju vodni potencijal u listovima presadnica šeri paradajza je određen na osnovu ispitivanja promjene koncentracije rastvora (% rastvorljive suve materije) u kojem je

određeno vrijeme stajalo biljno tkivo (*Lisjak i sar.*, 2009). Zavisno od vodnog potencijala biljnog tkiva, rastvor ili prima vodu iz biljnog tkiva (smanjuje se koncentracija rastvora) ili dio vode iz rastvora ulazi u biljno tkivo (povećava se koncentracija rastvora). Ako se koncentracija rastvora ne mijenja, to znači da je neto-kretanje vode u tkivo i iz tkiva jednako nuli, odnosno da je vodni potencijal takvog rastvora jednak vodnom potencijalu biljnog tkiva. Vodni potencijal rastvora izvan biološkog sistema (npr. rastvor šećera u vodi) je proporcionalan osmotskom potencijalu (jer turgora nema), iz čega proizlazi da vrijednost osmotskog potencijala određuje vrijednost vodnog potencijala.

Formula za izračunavanje osmotskog potencijala je sljedeća:

$$\Psi\pi = - c \times R \times T \times i$$

$\Psi\pi$ - osmotski potencijal (Pa)

c - koncentracija izotoničnog rastvora (mol dm⁻³)

R - gasna konstanta (8,314 J K⁻¹ mol⁻¹)

T - apsolutna temperatura (K) sredine u kojoj se izvodi eksperiment (273 + 0°C)

i - Hoff-ov izotonični koeficijent (za neelektrolite = 1, za elektrolite > 1, za NaCl i KCl = 1.5)

Postupak određivanja vodnog potencijala u biljnom materijalu je bio sljedeći:

- Od osnovnog 1M rastvora saharoze razblaživanjem je napravljena serija rastvora saharoze od 1 do 0.1 M.

- Tečnost iz svake čaše poznatog rastvora je raspodijeljena na dva jednakata dijela (2 × 5 ml). Jedna serija epruveta sa rastvorima saharoze poznate koncentracije je stavljena u jedan stalak, a druga serija u drugi.

- U jedan niz rastvora su potopljeni komadići biljnog tkiva (svježi listovi šeri paradajza sa vršnog dijela biljke, podjednakog broja i veličine), a u drugom nizu rastvora (bez biljnog tkiva) je pomoću refraktometra određen refrakcijski index tj. % rastvorljive suve materije.

- Nakon 30 minuta, u seriji rastvora gdje je bilo potopljeno biljno tkivo je takođe pomoću refraktometra određen % rastvorljive suve materije.

- Vrijednosti % rastvorljive suve materije su zatim upoređene u jednoj i drugoj seriji rastvora i tamo gdje nije došlo do promjene koncentracije smatra se da je biljni materijal (komadići listova šeri paradajza) bio u izotoničnom rastvoru, odnosno da je koncentracija u biljnom materijalu jednaka koncentraciji rastvora saharoze u kojem su listovi šeri paradajza bili potopljeni. U slučajevima gdje se ta vrijednost nalazila između dvije koncentracije rastvora

saharoze, onda je tražena koncentracija u biljnog materijalu izračunata interpolacijom uz pomoć kalibracijskog dijagrama: na osu apisu koordinativnog sistema je nanešena koncentracija saharoze (0,1 M - 10 M), a na osu ordinatu % rastvorljive suve materije rastvora. Unošenjem podataka za rastvore bez biljnog materijala i povezivanjem dobijenih tačaka dobijen je pravac 1, a unošenjem podataka za rastvore sa biljnim materijalom i povezivanjem dobijenih tačaka dobijen je pravac 2. Iz sjecišta ovih dvaju pravaca je sruštanjem okomice na apisu očitana koncentracija izotoničnog rastvora koja je analogna koncentraciji rastvora sa biljnim materijalom.

- Na osnovu podatka o koncentraciji rastvorenih materija u listovima šeri paradajza, vrijednost osmotskog potencijala je izračunata preko prethodno navedene formule
 $(\Psi\pi = - c \times R \times T \times i)$

5.3.2. Određivanje sadržaja prolina u listovima

Određivanje prolina u listovima šeri paradajza je obavljen spektrofotometrijskom metodom koja se temelji na kolornoj reakciji ninhidrina sa ekstrahovanim prolinom pri čemu nastaje crvenkasto obojenje (*Bates i sar.*, 1973). Intenzitet obojenja je proporcionalan koncentraciji prolina u uzorku, a mjeri se spektrofotometrijski na talasnoj dužini od 520 nm.

Postupak određivanja prolina u ispitivanom biljnog materijalu je bio sljedeći:

- 0,5 g biljnog materijala je homogenizovano sa 10 ml 3% sulfosalicilne kiseline, te je sadržaj profiltiriran kroz filter papir (Whatman 2) u plastičnu epruvetu.

- 2 ml filtrata je otpipetirano u novu epruvetu, te je dodano 2 ml ninhidrin reagensa i 2 ml ledene sirčetne kiseline (ninhidrin reagens je pripremljen na način da je 2,5 g ninhidrina rastvoren u 60 ml ledene sirčetne kiseline i 40 ml 6 M H₃PO₄).

- Epruvete su zatim zatvorene i stavljene na inkubaciju u vodeno kupatilo sat vremena na temperaturu 100 °C, a nakon toga je reakcija prekinuta prebacivanjem epruveta u led.

- Reakcijskoj smjesi u epruveti je zatim dodano 4 ml toluena, te je izvršeno vorteksiranje u trajanju od 15 do 20 sekundi. U gornjem sloju reakcione smjese odvojio se toluenski sloj sa ekstrahovanim prolinom koji je crvenkaste boje.

- Nakon prilagodbe epruveta sobnoj temperaturi pomoću mikropipete je navedeni gornji sloj smjese prebačen u kivetu te mu je na spektrofotometru očitana apsorbanca na talasnoj dužini od 520 nm. Slijepa proba kod očitanja je bio čisti toluen.

- Paralelno sa uzorcima napravljena je i serija standarda za prolin (od 0 do 5 $\mu\text{g ml}^{-1}$), te je sa svakim standardom ponovljen istovjetni postupak kao i sa uzorcima.
- Sadržaj prolina u uzorcima izračunat je iz jednačine standardne krive za prolin, a zatim su dobijene vrijednosti za sadržaj prolina u uzorcima preračunate na svježu materiju lista uvezši u obzir faktor razrijeđenja i masu lista uzetog za analizu ($\mu\text{g g}^{-1}$ svježeg lista).

5.3.3. Određivanje sadržaja fotosintetskih pigmenata u listovima

Ekstrakcija fotosintetskih pigmenata iz svježih listova šeri paradajza je obavljena metodom po Wettsteinu (*Wettstein*, 1957) na sljedeći način:

- Na analitičkoj vagi izvagano je 200 mg svježe materije lista, sadržaj je prebačen u tarionik i izvršena je homogenizacija i maceracija tučkom uz dodatak male količine kvarcnog pjeska i 5-10 ml 80% acetona. Postupak maceracije je izvođen brzo, u zamraćenim uslovima, zbog fotosenzibilnosti pigmenata.
- Nakon par minuta (kada je biljni materijal postao izbijeljen) ekstrakt je filtriran u odmjerne tikvice od 25 ml uz pomoć grubog filter papira, te su iste zatim nadopunjene acetonom do oznake.
- Sadržaj svake tikvice je promućkan, a zatim im je na spektrofotometru očitana apsorbanca na talasnim dužinama od 662, 644 i 440 nm. Dobijene vrijednosti su zatim uvrštene u jednačine na osnovu kojih su izračunate vrijednosti koncentracije pigmenata u ispitivanim uzorcima (mg ml^{-1}). Prije očitanja je izvršeno nuliranje spektrofotometra uz pomoć slijepe probe (80% aceton).
- Jednačine korišćene za određivanje koncentracije pigmenata u ispitivanim uzorcima (po Holmu i Wettsteinu) bile su sljedeće:

$$c \text{ hlorofil } a = 9.784 \times A_{662} - 0.990 \times A_{644}$$

$$c \text{ hlorofil } b = 21.426 \times A_{644} - 4.650 \times A_{662}$$

$$c \text{ karotenoidi} = 4.695 \times A_{440} - 0.268 \times (c \text{ hlorofil } a + c \text{ hlorofil } b)$$

c - koncentracija (mg ml^{-1})

A - apsorbanca pri odgovarajućoj talasnoj dužini

- Dobijeni podaci su zatim preračunati po jedinici lisne mase (mg g^{-1} svježeg lista) uzimajući u obzir faktor razrijeđenja i masu lista uzetog za analizu.

5.3.4. Određivanje površine listova

Površina listova šeri paradajza u ovom istraživanju određena je metodom konture lista na papiru (*Oljača i sar.*, 2012). Ova metoda je vrlo jednostavna, a zasniva se na iscrtavanju konture listova šeri paradajza na papiru poznate površine i mase, te poređenju tih vrijednosti sa masom i površinom konture ispitivanog lista. U sklopu istraživanja testirane su i druge metode određivanja površine listova: planimetrijska metoda i metoda izračunavanja površine listova na milimetarskom papiru, a dobijeni rezultati nisu značajno odstupali od vrijednosti dobijenih korišćenjem prve navedene metode.

Postupak mjerjenja površine lista metodom konture lista na papiru je bio sljedeći:

- Iz papira A₄ formata, pomoću makaza izrezan je kvadrat dimenzija 10 cm × 10 cm i izmjerena je njegova masa na analitičkoj vagi.

- Na izvagani komad papira stavljen je list šeri paradajza, te su olovkom iscrtane konture lista koje su zatim izrezane i izvagane na analitičkoj vagi.

- Iz poznatih pokazatelja; mase kvadrata (m), mase konture lista (m₁) i poznate površine kvadrata (P), površina lista (P₁) je izračunata prema sljedećoj proporciji:

$$P_1 \text{ (površina lista)} = \frac{m_1 \cdot P}{m}$$

- Površina listova izražena je u cm².

5.3.5. Ekstrakcija i određivanje ukupnih proteina u listovima

Postupak ekstrakcije proteina iz svježih listova šeri paradajza izведен je na sljedeći način:

- Svježe biljno tkivo (0,5 g) je usitnjeno u tarioniku do praškaste konzistencije pomoću tečnog azota uz dodatak 0,015 g polivinilpolipirolidina (PVPP).

- Iz usitnjenog tkiva proteini su ekstrahovani dodatkom 1,5 ml ekstrakcionog kalijum fosfatnog pufera uz lagano miješanje u trajanju od 10 minuta na ledu. Ekstrakcioni pufer predstavlja je smjesu 50 mM KH₂PO₄, 50 mM K₂HPO₄, 1 mM EDTA (etilen diamin tetra sirćetna kiselina) i 1 mM DDT (ditiotreitol), pH 7.0) a pripremljen je tako da je u odgovarajuću zapreminu (100 ml) smjese rastvora 50 mM KH₂PO₄, 50 mM K₂HPO₄ podešene na pH 7, dodano 1 mM EDTA, odnosno 1 mM DTT-a u prahu shodno zapremini pripremljenog pufera.

EDTA je dodana kako bi se izdvojili metali iz reakcione smjese, a DTT da djeluje kao agens za razaranje disulfidnih veza između polipeptidnih lanaca, čime se pospješuje ekstrakcija proteina).

- Homogenati su zatim prebačeni u reakcione posude (Eppendorf mikro tube 2 ml), te je izvršeno centrifugiranje u trajanju 10 min. na 10 000 rpm i 4 °C.

- Dobijeni supernatanti su prebačeni u nove reakcione posude, te su čuvani u zamrzivaču (-20 °C) do momenta analize.

Određivanje koncentracije ukupnih proteina u dobijenim supernatantima obavljeno je metodom po Bradfordu koja se temelji na kolornoj reakciji proteina sa reagensom (radni rastvor Bradfordovog reagensa čiji je osnovni sastojak boja Coomassie Brilliant Blue CBB G-250). Navedena boja veže se na proteine hidrofobnim interakcijama i jonskim vezama uslijed čega dolazi do vidljive promjene boje reagensa iz crvenkasto-smeđe (kada nema proteina) u plavu (kompleks protein - boja), a intenzitet nastalog obojenja se mjeri spektrofotometrom ili mikroplate readerom na talasnoj dužini 595 nm. Kako je vezanje boje na protein relativno brz proces (oko 2 minute), a sam kompleks boja-protein stabilan najmanje jedan sat, metoda se smatra brzom i jednostavnom, te je stoga u širokoj upotrebi (*Bradford, 1976*).

Određivanje koncentracije ukupnih proteina u dobijenim ekstraktima proteina iz svježih listova šeri paradajza je rađeno na spektrofotometru i microplate readeru.

Spektrofotometrijsko određivanje koncentracije proteina je izvedeno na sljedeći način:

- u reakcionu posudu je dodano 100 µl uzorka, tj. standarda, tj. pufera kao slijepe probe i 3 ml Bradford-ovog reagensa (priprema Bradfordovog reagensa je navedena u tabeli 4),

- sadržaj u reakcionim posudama je izmiješan uz korištenje vorteksa,

- nakon deset minuta stajanja ispitivane smjese su prebačene u kivete te im je određena apsorbanca na 595 nm. Kao standard za određivanje proteina korišćen je albumin goveđeg seruma (bovine serum albumin, BSA) seta razrijedenja 0.1 - 1 mg ml⁻¹; a razrijedenje je rađeno ekstrakcionim puferom.

Određivanje koncentracije proteina na microplate readeru je izvedeno na sljedeći način:

- u udubljenja na pločici je dodano 5 µl uzorka, tj. standarda, tj. pufera kao slijepe probe i 200 µl Bradford-ovog reagensa, te je nakon par minuta reakcionim smjesama očitana apsorbanca na 595 nm.

- Na temelju očitanih vrijednosti apsorbance za seriju standardnih rastvora gdje je koncentracija proteina poznata, napravljena je kalibraciona kriva koja je poslužila za izračunavanje sadržaja ukupnih proteina u uzorcima (mg ml^{-1}).

Tabela 4. Prikaz pripreme Bradford-ovog reagensa

CBB G-250 (boja)	100 mg
95 % etanol	50 ml
H_3PO_4	100 ml
vode do	200 ml

Boja je rastvorena u etanolu, te je dodana kiselina i voda do konačne zapremine 200 ml (rastvor 1). Rastvor 1 je služio za pripremu Bradfordovog reagensa na način da je 100 ml tog rastvora razrijeđeno vodom do zapremine 500 ml. Sadržaj je profiltriran pri čemu filter papir nije dodirivan prstima. Ovako pripremljen rastvor je stabilan 2-3 sedmice ukoliko je uskladišten na sobnoj temperaturi.

5.3.6. Određivanje aktivnosti pirogalol, gvajakol i askorbat peroksidaze

Za spektrofotometrijsko određivanje enzimske aktivnosti pirogalol, gvajakol i askorbat peroksidaze korišćeni su već postojeći ekstrakti u kojima je određena koncentracija proteina.

Određivanje aktivnosti pirogalol peroksidaze (PPX).

Aktivnost pirogalol peroksidaze (PPX) određena je spektrofotometrijski prema metodi opisanoj od strane Nakana i Asade (1981). Postupak je proveden na način da je u reakcionu posudu (kvarcnu kivetu) neposredno prije mjerena dodano 50 μl ekstrakta (uzorka), 900 μl 50 mM kalijum-fosfatnog pufera pH vrijednosti 6,42 μl 1M pirogalola i 8 μl 1M H_2O_2 (ukupni volumen 1 ml). Priprema reagensa je prikazana u tabeli 5. Kao slijepa proba korišćena je identična reakcionala smjesa osim što je umjesto 50 μl ekstrakta korišćeno 50 μl pufera korištenog za ekstrakciju proteina.

Mjerenje aktivnosti PPX je provedeno svakih 15 sekundi tokom 5 minuta na 420 nm, a izračunata je prema sljedećim jednačinama:

$$\text{PPX} = \frac{\Delta\text{As.v.} \cdot 4 \cdot \text{Vr.s.} \cdot \text{F.R.}}{\text{Vuz} \cdot \epsilon \cdot 1} (\mu\text{mol min}^{-1} \text{ ml}^{-1})$$

$$PPX = \frac{\Delta A \mu\text{mol min}^{-1} \text{ml}^{-1}}{\text{mg(proteina)} \cdot \text{ml}^{-1}} (\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1})$$

PPX - aktivnost pirogalol peroksidaze

$\Delta A_{\text{s.v.}}$ - srednja vrijednost promjene apsorbance pri 420 nm u 15 sekundi

4 – faktor korekcije za izražavanje rezultata u minutu

Vr.s. - zapremina reakcione smjese (1 ml)

F.R. - faktor razrijedjenja (1)

Vuz - zapremina uzorka (50 μl)

ε - molarni ekstincijski koeficijent $\varepsilon=2,47 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

l - dužina optičkog puta (1 cm)

Aktivnost pirogalol peroksidaze PPX je izražena kao količina nastalih produkta u mikromolima po minuti po mg proteina.

Tabela 5. Prikaz pripreme reagensa za određivanje aktivnosti PPX

50 mM rastvor kalijum fosfatnog pufera je pripremljen na sljedeći način: Odvagano je 0,435 g K_2HPO_4 u odmernu posudu i dopunjeno sa destilovanom vodom do 50 ml, te uporedno u drugu posudu odvagano je 0,34 g KH_2PO_4 i dopunjeno sa destilovanom vodom takođe do 50 ml. Ova dva rastvora su zatim pomiješana do postizanja pH vrijednosti 6. Dobijeni pufer je čuvan do momenta upotrebe na sobnoj temperaturi.

1,5 ml 1M rastvora pirogalola je pripremljeno tako da je u Eppendorf tubicu odvagano 0,189165 g pirogalola i dopunjeno sa puferom ili destilovanom vodom do oznake 1,5 ml. Ovaj rastvor je uvijek korišćen svjež, a do momenta upotrebe čuvan je u ledu

1 ml 1M H_2O_2 je pripremljen na način da je u Eppendorf tubicu otpipetirano 0,103 ml 30% H_2O_2 i dopunjeno sa puferom ili destilovanom vodom do oznake 1 ml. Ovaj rastvor je uvijek korišćen svjež, a do momenta upotrebe čuvan je u ledu

Određivanje aktivnosti gvajakol peroksidaze (GPX)

Određivanje aktivnosti gvajakol peroksidaze (GPX) je obavljeno spektrofotometrijski prema metodi opisanoj od strane Chance i Maehly (1955). Postupak je proveden na način da je u reakcionu posudu (kivetu) neposredno pred mjerjenje dodano 100 μl ekstrakta (uzorka) i 900 μl reakcione smjese (50 mM kalijum-fosfatni pufer, 5 mM H_2O_2 , 18 mM gvajakol, pH vrijednosti 7) pri čemu gvajakol u prisutnosti enzima GPX i vodonik peroksida prelazi u žuto obojeni tetravgajakol.

Mjerjenje aktivnosti GPX je provedeno svakih 15 sekundi tokom 3 minute na 470 nm, a izračunata je prema sljedećim jednačinama:

$$GPX = \frac{\Delta As.v. \cdot 4 \cdot Vr.s. \cdot F.R.}{Vuz \cdot \varepsilon \cdot 1} (\mu\text{mol min}^{-1} \text{ ml}^{-1})$$

$$GPX = \frac{\Delta A \mu\text{mol min}^{-1} \text{ ml}^{-1}}{\text{mg(proteina)} \cdot \text{ml}^{-1}} (\mu\text{mol min}^{-1} \text{ mg}^{-1})$$

GPX - aktivnost gvajakol peroksidaze

$\Delta As.v.$ - srednja vrijednost promjene apsorbance pri 470 nm u 15 sekundi

4 - faktor korekcije za izražavanje rezultata u minutu

Vr.s. - zapremina reakcione smjese (1 ml)

F.R. - faktor razrijedenja (1)

Vuz - zapremina uzorka (100 μl)

ε - ekstincijski koeficijent $\varepsilon=26.6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

l - dužina optičkog puta (1 cm)

Aktivnost gvajakol peroksidaze GPX je izražena u μmol nastalih produkta (tetragvajakol) po minuti po mg proteina.

Određivanje aktivnosti askorbat peroksidaze (APX)

Aktivnost askorbat peroksidaze (APX) je sprovedena spektrofotometrijski prema metodi opisanoj od strane Nakana i Asade (1981).

Prije početka izvođenja metode pripremljeni su sljedeći reagensi: 50 mM kalijum-fosfatni pufer pH 7, 12 mM H_2O_2 , 10 mM askorbinske kiseline, 10 mM EDTA i pufer A sastavljen od 100 ml 50 mM kalijum-fosfatnog pufera pH 7 i 1 ml 10 mM EDTA. Kao reakcionala smjesa za određivanje APX korišćena je smjesa sastavljena od 800 μl pufera A, 10 μl 10 mM askorbinske kiseline, 10 μl 12 mM H_2O_2 u koju je zatim dodano 180 μl ekstrakta, a kao slijepa proba korišćena je ista smjesa s tim da je umjesto 180 μl ekstrakta uzeto 180 μl pufera korišćenog za ekstrakciju proteina.

Mjerenje aktivnosti APX je provedeno svakih 10 sekundi tokom tri minute na 290 nm, a izračunata je prema sljedećim jednačinama:

$$APX = \frac{\Delta As.v. \cdot 6 \cdot Vr.s. \cdot F.R.}{Vuz \cdot \varepsilon \cdot 1} (\mu\text{mol min}^{-1} \text{ ml}^{-1})$$

$$APX = \frac{\Delta A \mu\text{mol min}^{-1} \text{ml}^{-1}}{\text{mg(proteina)} \cdot \text{ml}^{-1}} (\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1})$$

APX - aktivnost askorbat peroksidaze

$\Delta A_{\text{s.v.}}$ - srednja vrijednost promjene apsorbance pri 290 nm u 10 sekundi

6 - faktor korekcije za izražavanje rezultata u minutu

Vr.s. - zapremina reakcione smjese (1 ml)

F.R. - faktor razrijedjenja (1)

Vuz - zapremina uzorka (180 μl)

ε - molarni ekstincijski koeficijent $\varepsilon=2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

l - dužina optičkog puta (1 cm)

Aktivnost askorbat peroksidaze APX je izražena u μmol nastalih produkta po minuti po mg proteina.

5.3.7. Određivanje aktivnosti katalaze (CAT)

Za spektrofotometrijsko određivanjeenzimske aktivnosti katalaze korišćeni su već postojeći ekstrakti u kojima je određena koncentracija proteina.

Aktivnost enzima katalaze (CAT) obavljena je prema metodi *Aebi-a* (1984) koja se temelji na spektrofotometrijskom praćenju razgradnje H_2O_2 na 240 nm.

Postupak je izведен na način da je u reakcionu posudu (kvartu kivetu) neposredno pred mjerjenje izmješano 950 μl reakcione smjese i 50 μl ekstrakta. Reakcionala smjesa je bila sačinjena od 50 mM kalijum-fosfatnog pufera i 10 mM H_2O_2 . 50 mM rastvor kalijum-fosfatnog pufera je pripremljen na način da je u jednoj odmjernoj posudi napravljen rastvor 50 mM K_2HPO_4 (odvagano je 0,435 g K_2HPO_4 i dopunjeno sa destilovanom vodom do 50 ml), a u drugoj rastvor 50 mM K_2HPO_4 (odvagano 0,34 g KH_2PO_4 i dopunjeno sa destilovanom vodom takođe do 50 ml), a zatim su ova dva rastvora pomiješana do postizanja pH vrijednosti 7. Dobijeni pufer je do momenta upotrebe čuvan na sobnoj temperaturi.

Mjerjenje aktivnosti CAT je provedeno mjeranjem pada apsorbance na talasnoj dužini od 240 nm svakih 10 sekundi tokom dvije minute, a izračunata je prema sljedećim jednačinama:

$$CAT = \frac{\Delta As.v. \cdot 6 \cdot Vr.s. \cdot F.R.}{Vuz \cdot \epsilon \cdot l} (\mu\text{mol min}^{-1} \text{ ml}^{-1})$$

$$CAT = \frac{\Delta A \mu\text{mol min}^{-1} \text{ ml}^{-1}}{\text{mg(proteina)} \cdot \text{ml}^{-1}} (\mu\text{mol min}^{-1} \text{ mg}^{-1})$$

CAT - aktivnost katalaze

$\Delta As.v.$ - srednja vrijednost promjene apsorbance pri 240 nm u 10 sekundi

6 - faktor korekcije za izražavanje rezultata u minutu

Vr.s. - zapremina reakcione smjese (1 ml)

F.R. - faktor razrijedjenja (1)

Vuz - zapremina uzorka (50 μl)

ϵ - ekstincijski koeficijent $\epsilon = 40 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

l - dužina optičkog puta (1 cm)

Aktivnost katalaze CAT je izražena u $\mu\text{mol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ proteina.

5.3.8. Određivanje aktivnosti superoksid dismutaze (SOD)

Za spektrofotometrijsko određivanje enzimske aktivnosti superoksid dismutaze (SOD) korišćeni su već postojeći ekstrakti u kojima je određena koncentracija proteina.

Aktivnost enzima superoksid dismutaze (SOD) je određena prema metodi opisanoj od strane *McCord i Fridrovicha* (1969) u sistemu citohrom c/ksantin/ksantin oksidaza.

Princip metode se zasniva na tome da superoksid radikal nastao uslijed djelovanja ksantin oksidaze na ksantin, redukuje citohrom c (Fe^{3+} u Fe^{2+}), a što je praćeno porastom apsorbance na spektrofotometru pri talasnoj dužini od 550 nm. Ukoliko je u naknadno dodanom ekstraktu prisutna superoksid dismutaza, ona će svojim djelovanjem uklanjati superoksid radikal iz reakcione smjese (prevešće ga u molekularni kiseonik) uslijed čega će se smanjivati redukcija citohroma c, a što je praćeno smanjenjem apsorbance. Ona količina ekstrakta, odnosno superoksid dismutaze (SOD) koja će umanjiti početnu apsorbancu za 50% u 1 minuti predstavlja jedinicu aktivnosti superoksid dismutaze (U).

Prije početka izvođenja metode pripremljeni su sljedeći reagensi: 50 mM kalijum-fosfatni bufer pH 7,8, ksantin, ksantin oksidaza, cyt c. Postupak pripreme reagensa naveden je u tabeli 6.

Tabela 6. Prikaz pripreme reagensa za određivanje aktivnosti SOD

50 mM rastvor kalijum-fosfatnog pufera pH vrijednosti 7,8 je pripremljen na sljedeći način: Odvagano je 0,435 g K ₂ HPO ₄ u odmjeru posudu i dopunjeno sa destilovanom vodom do 50 ml, a u drugu posudu 0,34 g KH ₂ PO ₄ koja je dopunjena sa destilovanom vodom takođe do 50 ml. Ova dva rastvora su zatim pomiješana do postizanja pH vrijednosti 7,8. Dobijeni pufer je čuvan do momenta upotrebe na sobnoj temperaturi.
Rastvor ksantina: 0,07605 mg ksantina je rastvoreno u 1 ml 1mM NaOH (navедена količina ksantina je rastvorena u 1 M NaOH, a zatim je razblažena sa prethodno navedenom bazom).
Reagens sa ksantin oksidazom je pripremljen na način da je 11 µl kantin oksidaze izmiješano sa 1ml kalijum-fosfatnog pufera.
Cyt C je pripremljen na način da je 2,4 mg Cyt C rastvoreno u 1 ml destilovane vode

Postupak određivanja aktivnosti SOD je bio sljedeći:

Spektrofotometar je podešen na 550 nm, a zatim su u reakcionu posudu (kivetu) dodani sljedeći reagensi: 2350 µl pufera, 150 µl cyt C i 300 µl ksantina. Kiveta je stavljen u spektrofotometar, te je reakcionaloj smjesi očitana apsorbanca, a zatim je u istu kivetu dodano 150 µl ksantin oksidaze i mjerena je promjena apsorbance, odnosno aktivnost ksantin oksidaze tokom tri minute na 550 nm. Promjena apsorbance bi trebala da bude 0,025/min, a ukoliko nije smanji se ili poveća količina ksantin oksidaze zavisno da li je vrijednost promjene apsorbance veća ili manja od 0,025/min. Ovdje treba imati u vidu da smanjenjem ili povećanjem količine ksantin oksidaze treba povećati ili smanjiti zapreminu pufera, tako da u reakcionaloj posudi bude uvijek ista reakcionala zapremina.

Nakon što je vrijednost promjene apsorbance podešena na 0,025/min u istu kivetu je dodan ekstrakt i to količina ekstrakta koja treba da dovede do 50% inhibicije aktivnosti ksantin oksidaze (50% umanjenom vrijednosti apsorbance od početne). Ona količina ekstrakta koja će umanjiti početnu apsorbancu za 50% u 1 min predstavlja jednu enzimsku jedinicu.

Nakon postizanja navedenog efekta izračunato je koliko jedan ml ekstrakta sadrži enzimskih jedinica, a na osnovu podatka koliko 1 ml ekstrakta sadrži proteina, aktivnost SOD je izražena u enzimskim jedinicama na mg proteina (U mg⁻¹).

5.3.9. Određivanje sadržaja fenola u ispitivanom biljnog materijalu

Sadržaj ukupnih fenola u listovima i plodovima šeri paradajza je određen UV/VIS spektrofotometrijskom metodom koja se zasniva na kolornoj reakciji fenola s Folin-Ciocalteau reagensom, te mjeranjem nastalog intenziteta obojenja pri talasnoj dužini od 765 nm (*Ough i Amerine, 1988*).

Ekstrakcija fenolnih jedinjenja iz ispitivanog biljnog materijala (osušeni listovi i plodovi šeri paradajza), provedena je pomoću 30%-tnog vodenog rastvora etanola, uz korišćenje povratnog hladila (refluksa) u vodenom kupatilu pri temperaturi 50 °C u trajanju od sat vremena.

Postupak ekstrakcije fenolnih jedinjenja je izveden na sljedeći način:

- U Erlenmeyerovu tikvicu od 100 ml s ubrušenim grлом je dodano 1 g suve mase biljnog materijala, a zatim 40 ml 30% etanola, te je sadržaj ručno homogenizovan. Tako pripremljene tikvice su stavljene u vodeno kupatilo na 50 °C uz refluks, sat vremena.
- Sadržaj tikvice je zatim profiltriran kroz grubi filter papir u odmjernu tikvicu volumena 50 ml, te je nadopunjeno 30% etanolom do oznake. Do momenta analize ekstrakti su čuvani u frižideru na 4 °C. Osim za određivanje sadržaja ukupnih fenola, ovako dobijeni ekstrakti su korišteni i za određivanje ukupnih flavonoida i ukupnog antioksidacijskog kapaciteta.

Postupak određivanja fenola u dobijenim ekstraktima listova i plodova šeri paradajza je sproveden na sljedeći način:

- U odmjernu tikvicu od 25 ml otpipetirano je 0,25 ml uzorka (ekstrakta), 15 ml destilovane vode, te 1,25 ml Folin - Ciocalte reagensa koji je neposredno prije upotrebe razrijeđen sa destilovanom vodom u omjeru 1:2. Nakon 3 minute, smjesi je dodano 3,75 ml zasićenog rastvora Na₂CO₃, te je tikvica nadopunjena 30% etanolom do oznake. Zasićeni rastvor Na₂CO₃ je pripremljen na način da je 200 g natrijeva karbonata rastvoren u 800 ml vruće destilovane vode u tikvici od 1000 ml, a zatim ohlađeno na sobnoj temperaturi. U tikvicu je zatim dodano nekoliko kristalića Na₂CO₃, te je rastvor nadopunjena destilovanom vodom do oznake. Pripremljeni rastvor je ostavljen da odstoji 24 sata, te je nakon toga profiltriran.

- Istovjetni postupak sa uzorkom je napravljen i sa serijom standarda, a kao standard za određivanje fenola je korišćena galna kiselina (0-500 mg GA l⁻¹).

- Sve tikvice su stavljenе 30 minuta u vodeno kupatilo na 50 °C, a poslije prilagođavanja tikvica sobnoj temperaturi očitana je apsorbanca za seriju standardnih rastvora i za uzorke na 765 nm.

- Na osnovu očitanih vrijednosti apsorbance za seriju standardnih rastvora gdje je koncentracija fenola poznata, napravljena je kalibraciona kriva koja je poslužila za izračunavanje sadržaja ukupnih fenola u uzorcima. Dobijene vrijednosti su zatim preračunate na masu ispitivanog biljnog materijala (mg eq. GA g^{-1}).

5.3.10. Određivanje ukupnih flavonoida u ispitivanom biljnom materijalu

Sadržaj ukupnih flavonoida u listovima i plodovima šeri paradajza je određen UV/VIS spektrofotometrijskom metodom koja se zasniva na kolornoj rekciji flavonoida s AlCl_3 , te mjeranjem nastalog intenziteta obojenja pri talasnoj dužini od 510 nm (*Zhishen i sar.*, 1999).

Postupak određivanja flavonoida u ispitivanim uzorcima biljnog materijala je sproveden na sljedeći način:

- 1 ml uzorka je dodano u odmjernu tikvicu od 10 ml u kojoj je prethodno otpipetirano 4 ml destilovane vode. U odmjernu tikvicu je zatim dodano 0,3 ml 5% NaNO_2 , nakon pet minuta 0,3 ml 10% AlCl_3 , minutu poslije 2 ml 1 M NaOH , te su tikvice nadopunjene destilovanom vodom do oznake. Isti postupak je napravljen i sa serijom standarda, a kao standard za određivanje flavonoida je korišten katehin (0-100 mg C l⁻¹)

- Za tako pripremljene ispitivane uzorke očitana je apsorbanca na 510 nm, a zatim je na osnovu očitanih vrijednosti za seriju standardnih rastvora gdje je koncentracija flavonoida (catehina) poznata napravljena kalibraciona kriva koja je poslužila za izračunavanje sadržaja ukupnih flavonoida u uzorcima. Dobijene vrijednosti su zatim preračunate na masu ispitivanog biljnog materijala (mg eq. C g^{-1}).

5.3.11. Određivanje ukupnog antioksidacijskog kapaciteta u ispitivanom biljnom materijalu FRAP metodom (Ferric Reducing Antioxidant Power Method)

Antioksidacijski kapacitet u ispitivanim uzorcima određen je spektrofotometrijskom metodom koja se zasniva na sposobnosti antioksidansa u ekstraktu da redukuju Fe^{3+} jone u Fe^{2+}

jone u rastvoru 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) pri nižoj pH vrijednosti, što je praćeno mijenjanjem boje reagensa iz svjetlo smeđe u modru. Intenzitet nastalog obojenja je proporcionalan količini antioksidansa u ekstraktu, a određen je na talasnoj dužini od 595 nm (*Benzie i Strain, 1996*).

Postupak određivanja antioksidacijskog kapaciteta u ekstraktu listova i plodova šeri paradajza je sproveden na sljedeći način:

- U odmjernu tikvicu od 10 ml otpipetirano je 240 µl destilovane vode, 80 µl uzoraka te 2080 µl FRAP reagensa. FRAP reagens je pripremljen na način da je pomiješano 50 ml acetatnog pufera, 5 ml TPTZ reagensa i 5 ml rastvora FeCl₃ (omjer 10:1:1).
- Isti postupak je napravljen i za seriju standarda, a kao standard za određivanje ukupnog antioksidacijskog kapaciteta je korišćen FeSO₄ × 7H₂O (0 - 2 mM FeSO₄ × 7H₂O).
- Sadržaj u tikvicama je dobro promiješan, a zatim su tikvice stavljene 30 minuta u vodeno kupatilo na 37 °C, te im je nakon pet minuta očitana apsorbanca na talasnoj dužini od 595 nm.
- Na osnovu očitanih vrijednosti za seriju standardnih rastvora gdje je koncentracija antioksidansa (0 - 2 mM FeSO₄ × 7H₂O) poznata napravljena je kalibraciona kriva koja je poslužila za izračunavanje antioksidacijskog kapaciteta u ispitivanim uzorcima. Dobijene vrijednosti su zatim preračunate na masu ispitivanog biljnog materijala (µmol Fe²⁺ g⁻¹).

5.3.12. Određivanje rastvorljive suve materije u plodovima šeri paradajza

Količina rastvorljive suve materije u plodovima šeri paradajza određivana je refraktometrijskom metodom (*ISO, 2003*) upotrebom ručnog refraktometra Atago PAL-1, a vrijednost je izražena u Brix-ima koji pokazuju koliko masenih dijelova rastvorljive suve materije ima u sto dijelova iscijedenog soka ploda šeri paradajza (%). Ovaj podatak se u plodovima može koristiti i kao mjera za udio šećera, jer šećer predstavlja osnovnu rastvorljivu materiju u uzorku.

Postupak određivanja rastvorljive suve materije u ispitivanim uzorcima plodova šeri paradajza je sproveden na sljedeći način:

- Uz korišćenje ručne prese za voće iscijedeni su dijelovi ploda pri čemu je prvih nekoliko kapi odbačeno, a zatim je jedna kapljica ekstrakta ploda šeri paradajza stavljena na prizmu refraktometra.

- Na displeju je zatim očitana numerička vrijednost u Brix-ima koja pokazuje udio rastvorljive suve materije u plodu šeri paradajza.

5.3.13. Određivanje ukupne kiselosti u plodovima šeri paradajza

Određivanje kiselosti u plodovima šeri paradajza obavljeno je titracijskom metodom uz korišćenje 0,1 M NaOH i fenoftaleina kao indikatora (*AOAC*, 2000).

Postupak određivanja ukupne kiselosti u uzorcima plodova šeri paradajza je sproveden na sljedeći način:

- Plodovi su isječeni nožem na komadiće, a zatim fino usitnjeni u tarioniku pomoću tučka ili uz korišćenje miksera. Iz tako homogenizovanog uzorka izvagano je 20 g ispitivanog materijala i prebačeno u odmjernu tikvicu od 250 ml.
- Tikvica je zatim nadopunjena destilovanom vodom do oko $\frac{3}{4}$ zapremine, sadržaj je dobro promiješan, a zatim zagrijavan uz refluks na vodenom kupatilu na 80°C trideset minuta. Nakon hlađenja, tikvica je nadopunjena do oznake destilovanom vodom.
- Prije početka titracije izvršena je filtracija, a zatim je 25 ml filtrata pipetom preneseno u Erlenmayer tikvicu od 250 ml, dodano je 3-4 kapi indikatora fenoftaleina, a zatim titrirano sa 0,1 M NaOH do pojave ružičaste boje koja je postojana 30 sekundi.
- Vrijednost utrošene zapremine 0,1 M NaOH je zatim uvedena u sljedeću formulu kako bi se izračunao podatak za sadržaj ukupne kiselosti u plodu šeri paradajza izraženo u g 100 g^{-1} ploda.

$$\text{Sadržaj ukupne kiselosti (g } 100\text{ g}^{-1} \text{ ploda)} = A \times k \times 100 / Ok$$

A - ml 0,1 M NaOH utrošenih za titraciju

k - količina kiseline koja odgovara 1 ml 0,1 M NaOH (za jabučnu kiselinu je ta vrijednost 0,0067, za limunsку 0,0063)

Ok - odmjerna količina ispitivanog uzorka

5.3.14. Određivanje vitamina C u plodovima šeri paradajza

Određivanje vitamina C (L-askorbinske kiseline) obavljeno je titrimetrijskom metodom s 2,6-dihlorfenol-indofenolom (*AOAC*, 2006). Ova metoda se zasniva na snažnom redukcijskom

svojstvu L-askorbinske kiseline i njenoj sposobnosti da redukuje 2,6-dihlorfenol-indofenol. Vizualno se to manifestuje prelazom modre boje 2,6-dihlorfenol-indofenola u bezbojni oblik koji u kiseloj sredini prelazi u ružičasto obojenje, pa isti služi i kao indikator reakcije.

Postupak određivanja vitamina C u plodovima šeri paradajza je proveden na sljedeći način:

- U tarioniku je usitnjeno 25 g ploda uz dodatak 20 ml 1% HCl-a, sadržaj je homogenizovan, a zatim filtriran u tikvicu od 100 ml pri čemu je talog ispiran sa 1% oksalnom kiselinom do oznake.

- 10 ml filtrata je otpipetirano u tikvicu od 100 ml, a zatim je izvršena titracija sa 2,6-dihlorfenol-indofenolom do pojave ružičaste boje koja je postojana minimalno 15 sekundi. Rastvor 2,6-dihlorfenol-indofenola je pripremljen tako da je u tirkici od 200 ml otopljeno 50 mg natrijumove soli 2,6-diklorfenol-indofenola u 150 ml vruće vode koja sadrži 42 mg natrijum dikarbonata (NaHCO_3). Smjesa je nakon hlađenja nadopunjena destilovanom vodom do oznake, a zatim filtrirana. Do momenta upotrebe čuvana je u tamnoj posudi na temperaturi od 3 °C.

- Sa ciljem dobijanja sadržaja vitamina C u plodu šeri paradajza, utrošeni ml reagensa su uvedeni u sljedeću jednačinu:

$$C = \frac{V \cdot T \cdot b \cdot 100}{m \cdot V_1}$$

C - sadržaj vitamina C (mg 100 g^{-1} ploda šeri paradajza)

V - ml 2,6-dihlorfenol-indofenola utrošenog za titraciju uzorka

T - titar (utrošak askorbinske kiseline po 1 ml 2,6-dihlorfenol-indofenola - 0.0833 mg/ml)

b - ukupna zapremina rastvora (100 ml)

m - masa uzorka (25 g)

V_1 - zapremina uzorka koja je uzeta za titraciju (10 ml)

5.3.15. Određivanje likopena u plodovima šeri paradajza

Sadržaj likopena u ispitivanim uzorcima je određen spektrofotometrijskom metodom prema *Davis i sar.* (2003), a provedena je na sljedeći način:

- 0,5 g kaše ploda šeri paradajza je u staklenoj epruveti homogenizovano sa 5 ml 0,05% butilovanog hidroksi toluena (BHT) u acetonu, nakon čega je dodano 5 ml etanola i 10 ml heksana.

- Uzorak je zatim stavljen na led i na magnetnoj mješalici (180 rpm) miješan 15 minuta, a zatim je u svaku epruvetu dodano 3 ml dejonizovane vode, te su epruvete još 5 minuta izložene miješanju.

- Uzorci su zatim ostavljeni 5 minuta na sobnoj temperaturi kako bi se omogućilo odvajanje dviju fazi, a zatim je uz korišćenje mikropipete uzorak iz gornjeg heksanskog sloja prebačen u kivetu, te mu je očitana apsorbanca na 503 nm. Slijepa proba je bio čisti heksan. Prethodno su u cilju dobijanja standardne krive određene i apsorbance za seriju standardnog rastvora likopena u heksanu ($0\text{-}3 \text{ mg l}^{-1}$).

- Sadržaj likopena u uzorcima izračunat je iz jednačine standardne krive, a zatim su dobijene vrijednosti preračunate na svježu materiju ploda šeri paradajza (mg kg^{-1} svježeg ploda).

5.3.16. Ekstrakcija fenolnih jedinjenja iz plodova šeri paradajza za HPLC

Postupak ekstrakcije fenolnih jedinjenja iz plodova šeri paradajza je urađen prema metodi Escarpe i Gonzalesa (2000), a izведен je na sljedeći način:

- Plodovi šeri paradajza su homogenizovani pomoću blendera, a zatim je tačno odmjerena masa uzorka ploda (10 g) prebačena u ekstrakcionu posudu u koju je dodano 10 ml rastvarača: metanol + 3% metanska kiselina + 1% m / v 2,6-di-tert-butil-4-metilfenol / BHT (dodata se sa ciljem sprečavanja oksidacije fenolnih komponenti tokom ekstrakcije).

- Nakon jednog sata stajanja u ultrazvučnom kupatilu na ledu, rastvor je centrifugiran (Thermo Scientific SL16 Centrifuge, San Jose, USA) pri 10000 rpm, 7 minuta na temperaturi 0 °C, a zatim je supernatant filtriran u viale uz korištenje Chromafil AO-45/25 filtera (Macherey-Nagel, Düren, Germany).

5.3.17. Identifikacija i kvantifikacija dominantnih fenolnih jedinjenja u ekstraktima HPLC metodom

Za identifikaciju i kvantifikaciju dominantnih fenolnih jedinjenja u ekstraktima plodova šeri paradajza korišćena je tečna hromatografija visoke efikasnosti uz korišćenje Thermo

Scientific Finnigan Surveyor HPLC-DAD sistema kontrolisanog sa ChromQuest 4.0 softverom (Thermo Scientific, San Jose, CA, USA).

Postupak identifikacije i kvantifikacije izведен je na sljedeći način:

- Hromatografsko razdvajanje izvršeno je na koloni Pursuit XRs 3 C-18 termostatiranoj na 25 °C (4.6 × 150 mm, 5 µm; Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) uz sistem rastvarača: A - (97% acetonitril + 3% redestilovana voda + 0.1% metanska kiselina) i B - (97% redestilovana voda + 3% acetonitril + 0.1% metanska kiselina).

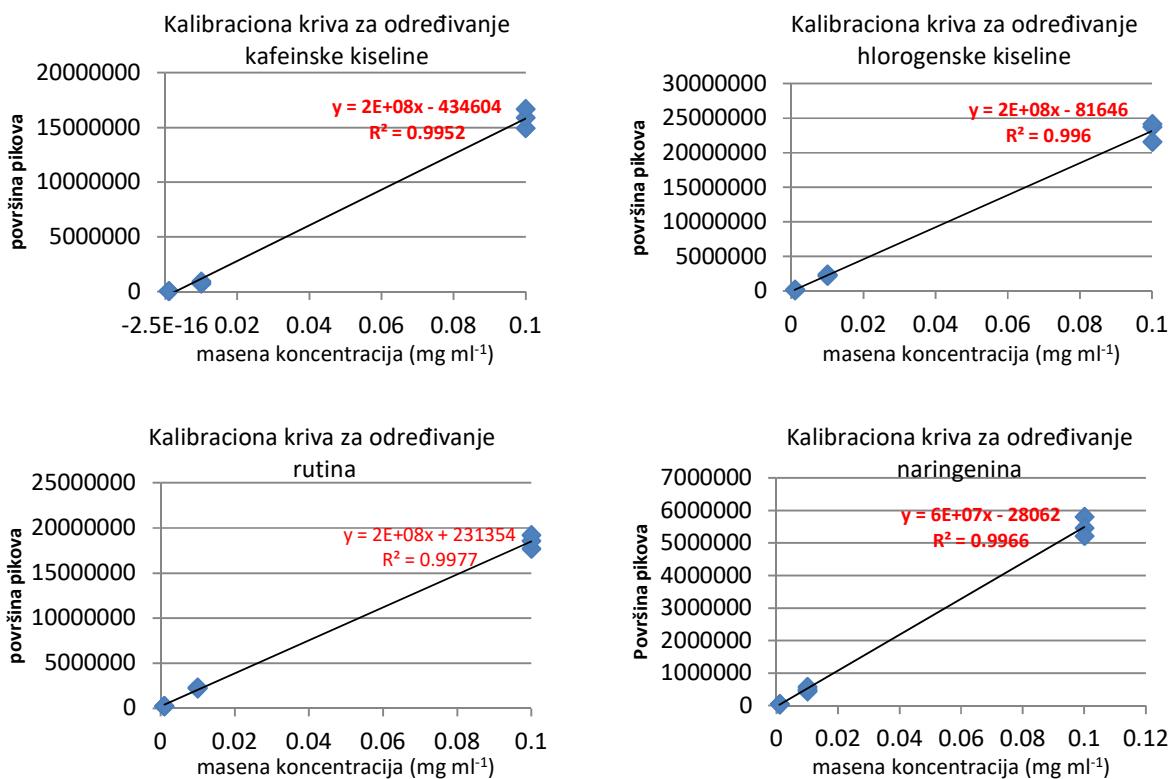
- Zapremina injektiranog uzorka iznosila je 20 µl, a protok mobilne faze 0.6 ml min⁻¹ u trajanju od 45 min.

- Razdvajanje komponenti je izvedeno korišćenjem lineranog gradijenta opisanog u metodi Marksа i sar. (2007).

- Dominantna fenolna jedinjenja u ekstraktima plodova šeri paradajza: hlorogenska i kafeinska kiselina, te rutin i naringenin su detektovana poređenjem njihovih retencionih vremena sa retencionim vremenom standarda za svaku komponentu. Detekcija ispitivanih jedinjenja je obavljena uz korištenje DAD detektora (detektorom sa nizom dioda), a hromatogrami su bilježeni na 280 i 350 nm.

- Kvantifikacija ispitivanih jedinjenja je izvršena metodom vanjskog standarda. Za svaki pojedinačni standard pripremljen je osnovni rastvor standarda masene koncentracije 1 mg ml⁻¹ (kao rastvarač korišten je 10% metanol), a zatim su izvršena odgovarajuća razrijedenja.

- Na osnovu dobijenih površina u zavisnosti od masene koncentracije standarda, za svaki standard napravljena je kalibraciona kriva u četiri tačke, a jednačina dobijenih kriva su poslužile za kvantifikaciju navedenih komponenti u uzorcima (grafikon 1). Dobijene vrijednosti su zatim preračunate na svježu masu ploda šeri paradajza (mg 100 g⁻¹ svježeg ploda). Stepen lineranosti konstruisanih krivi je bio izuzetno visok ($r^2 > 0,995$).



Grafikon 1. Kalibracione krive za kvantifikaciju ispitivanih jedinjenja

5.3.18. Određivanje ukupnog prinosa

Ukupni prinos je određen na osnovu vaganja svakog ubranog ploda (g), te sabiranja njihovih masa, a izražen je u kg po biljci. Plodovi su brani u momentu njihove tehnološke zrelosti (BBCH - 809), pri čemu se nije vodila evidencija sa koje su plodne grane plodovi uzeti.

5.3.19. Statistička obrada podataka

Sve analize su izvršene u tri ponavljanja, a rezultati su prikazani kao prosječna vrijednost \pm standardna devijacija. Dobijeni rezultati su obrađeni primjenom statističke metode analize varijanse i korelace analize uz korišćenje Microsoft Excel softverskog paketa. Signifikantnost razlika između prosječnih vrijednosti ispitivanih varijanti je utvrđena korišćenjem LSD testa pri nivou signifikantnosti $p < 0.05$, a koeficijent korelacijske je određen prema Pearsonu.

6. REZULTATI RADA I DISKUSIJA

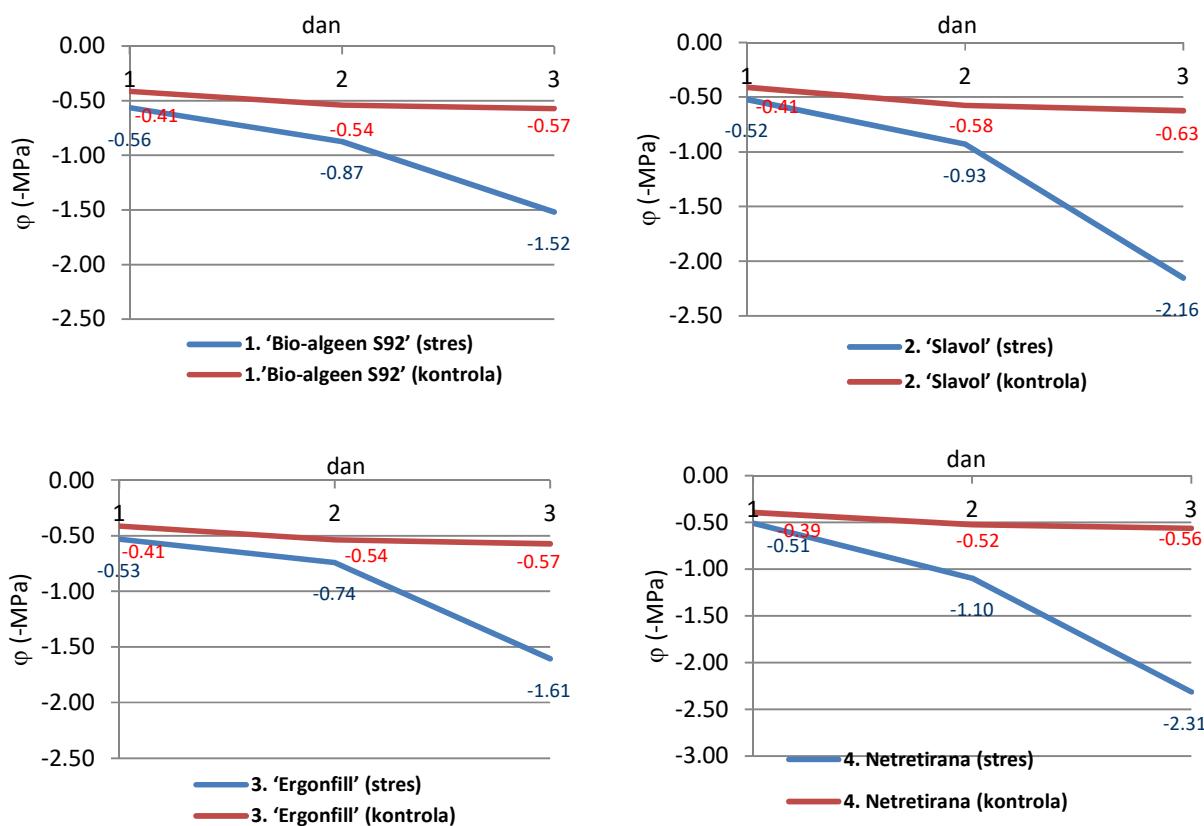
6.1. Vodni potencijal u listovima presadnica šeri paradajza

Rezultati analize vodnog potencijala u svježim listovima presadnica šeri paradajza (*Lycopersicon esculentum* Mill. "Sakura") u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica uslovima stresa prikazani su posebno za svaku godinu istraživanja (tabela 7 i 8; grafikon 2 i 3).

Tabela 7. Vrijednosti vodnog potencijala u listovima presadnica šeri paradajza u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu za ogled proveden 2014. godine

Varijanta	Vodni potencijal (-MPa)		
	1 dan	3 dan	5 dan
1. Bio-algeen S92 (s)	-0,56 ± 0,01 ^a	-0,87 ± 0,02 ^c	-1,52 ± 0,02 ^d
1. Bio-algeen S92 (k)	-0,41 ± 0,03 ^c	-0,54 ± 0,05 ^{ef}	-0,57 ± 0,02 ^c
2. Slavol (s)	-0,52 ± 0,03 ^{bc}	-0,93 ± 0,04 ^b	-2,16 ± 0,06 ^b
2. Slavol (k)	-0,41 ± 0,01 ^c	-0,58 ± 0,09 ^c	-0,63 ± 0,05 ^c
3. Ergonfill (s)	-0,53 ± 0,04 ^b	-0,74 ± 0,03 ^d	-1,61 ± 0,05 ^c
3. Ergonfill (k)	-0,41 ± 0,03 ^c	-0,54 ± 0,03 ^{ef}	-0,57 ± 0,02 ^c
4. Netretirana (s)	-0,51 ± 0,02 ^{bcd}	-1,10 ± 0,05 ^a	-2,31 ± 0,05 ^a
4. Netretirana (k)	-0,39 ± 0,01 ^c	-0,52 ± 0,05 ^f	-0,56 ± 0,01 ^c
F test	s. **	s.	s.
LSD _{0,05}	0,026	0,042	0,036

Vrijednosti u tabeli su izražene kao srednje vrijednosti ispitivanih uzoraka ± standardna devijacija, (s) - stres, (k) - kontrola; ** s. - signifikantan

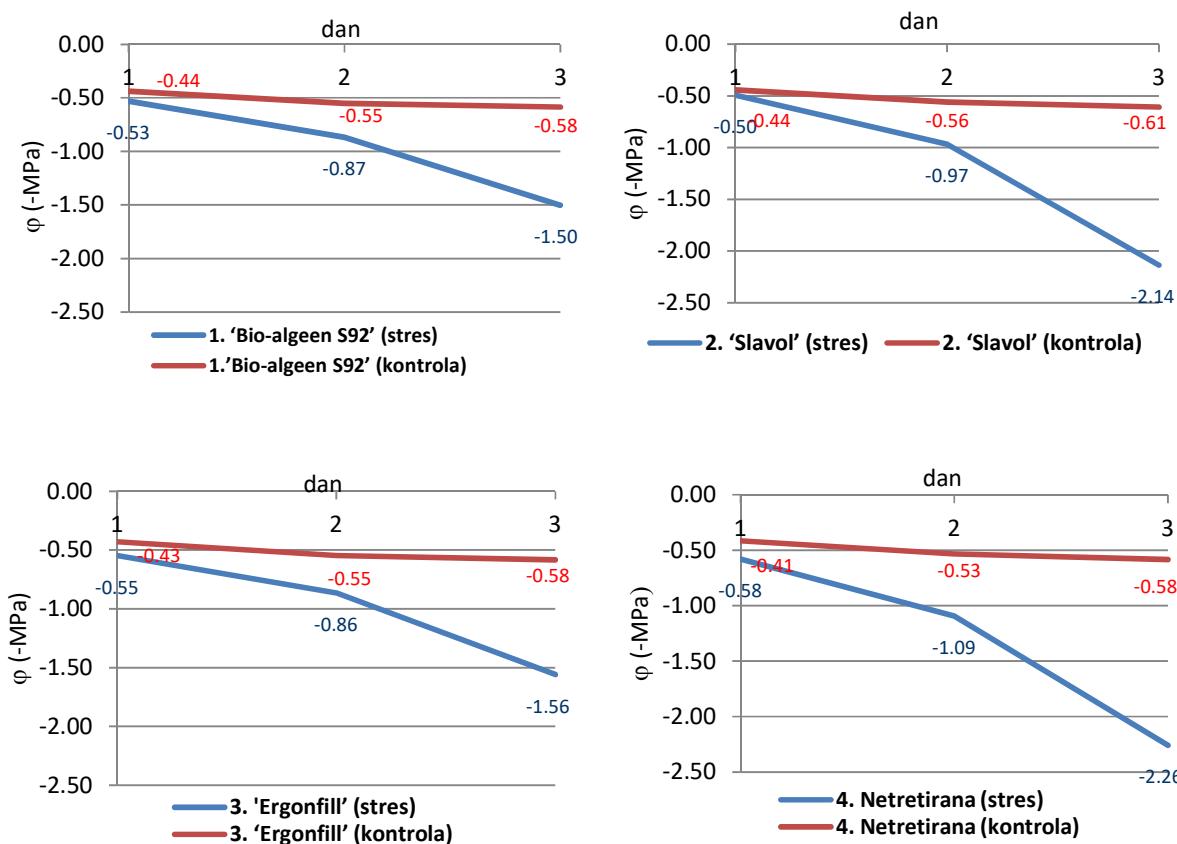


Grafikon 2. Vrijednosti vodnog potencijala u listovima presadnica šeri paradajza u 2014. godini

Tabela 8. Vrijednosti vodnog potencijala u listovima presadnica šeri paradajza u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu za ogled proveden 2015. godine

2015. godina	Vodni potencijal (-MPa)		
	1 dan	3 dan	5 dan
Varijanta			
1. Bio-algeen S92 (s)	-0,53 ± 0,02 ^{b,c}	-0,87 ± 0,04 ^c	-1,50 ± 0,07 ^{c,d}
1. Bio-algeen S92 (k)	-0,43 ± 0,02 ^e	-0,55 ± 0,02 ^e	-0,58 ± 0,03 ^e
2. Slavol (s)	-0,50 ± 0,01 ^{c,d}	-0,97 ± 0,02 ^b	-2,14 ± 0,12 ^b
2. Slavol (k)	-0,44 ± 0,01 ^e	-0,56 ± 0,04 ^e	-0,61 ± 0,05 ^e
3. Ergonfill (s)	-0,55 ± 0,02 ^{a,b}	-0,86 ± 0,06 ^{c,d}	-1,56 ± 0,05 ^c
3. Ergonfill (k)	-0,43 ± 0,05 ^e	-0,55 ± 0,02 ^e	-0,58 ± 0,05 ^e
4. Netretirana (s)	-0,58 ± 0,07 ^a	-1,09 ± 0,04 ^a	-2,26 ± 0,09 ^a
4. Netretirana (k)	-0,41 ± 0,03 ^e	-0,53 ± 0,07 ^e	-0,58 ± 0,05 ^e
F test	S. **	S.	S.
LSD _{0,05}	0,032	0,041	0,062

Vrijednosti u tabeli su izražene kao srednje vrijednosti ispitivanih uzoraka ± standardna devijacija, (s) – stres, (k) - kontrola; ** s. - signifikantan



Grafikon 3. Vrijednosti vodnog potencijala u listovima presadnica šeri paradajza u 2015. godini

Vodni potencijal je vrijednost koja ukazuje na vodni status biljke, a ujedno i na stepen stresa kojem je biljka izložena. Niža vrijednost vodnog potencijala u biljnem tkivu ukazuje na veći stepen izloženosti biljke stresu, odnosno veći stepen dehidratacije biljke.

Iz rezultata sprovedene analize se može vidjeti da su u obje godine istraživanja vrijednosti vodnog potencijala bile niže u presadnicama izloženim stresu, nezavisno od toga da li su prethodno bile tretirane stimulatorom rasta ili ne. Pad vodnog potencijala uslijed izlaganja presadnica paradajza vodnom stresu utvrđen je i u radu *Zgallai i sar.* (2006), a vrijednosti vodnog potencijala u listovima presadnica paradajza u njihovom istraživanju su se kretale između -0,51 MPa i -1,22 MPa u zavisnosti da li su presadnice kraći ili duži period bile izložene uslovima vodnog stresa. Nadalje, u njihovom istraživanju utvrđena je i jaka korelacija između pada vodnog potencijala i sadržaja proteina i hlorofila u listovima iz čega se može zaključiti da dehidratacija biljke utiče na poremećaj metabolizma azota, a samim time i drugih metabolita unutar biljke.

Negativne reperkusije vodnog stresa, te posljedično pada vodnog potencijala na određene segmente metabolizma biljke utvrđen je i u brojnim drugim istraživanjima (*Khan i sar.* 2011; *Yuan i sar.*, 2016).

U obje godine istraživanja u varijantama ogleda gdje su presadnice šeri paradajza takođe bile izložene stresu, ali su prethodno bile tretirane stimulatorima rasta Bio-algeenom S92 i Ergonfillom, vrijednost vodnog potencijala u listovima je bila značajno viša (manje negativna) u odnosu na netretirane biljke, posebno u završnoj fazi izlaganja presadnica vodnom stresu, što upućuje na zaključak da je primjena ovih preparata značajno doprinijela osmotskoj prilagodbi biljke datim uslovima. Iz navedenog se može pretpostaviti da Bio-algeen S92 i Ergonfill svojim sastavom pozitivno utiču na održavanje osmotske homeostaze unutar biljnih ćelija što rezultuje boljom prilagodbom biljke uslovima stresa, a rezultati dobijeni u ovom istraživanju idu u pravcu potvrde te hipoteze. Pretpostavka je da je relativno visok sadržaj osmotski aktivnih materija prolina i glicina u sastavu tih preparata jedan od osnovnih razloga podizanja nivoa prilagodbe presadnica šeri paradajza na uslove vodnog stresa. Pozitivni efekti primjene Bio-algeena S92 i ostalih preparata dobijenih ekstrakcijom iz morske alge *Ascophyllum nodosum* (L) na održavanje homeostaze u biljnim ćelijama, te na parametre kvaliteta poljopivrednih kultura, posebno pri gajenju u stresnim uslovima utvrđen je u brojnim naučnim radovima (*Mancuso i sar.*, 2006; *Rathore i sar.*, 2009; *Craige*, 2011).

Vrijednosti vodnog potencijala u listovima šeri paradajza izloženih stresu, a prethodno tretiranih Slavolom su u obje godine istraživanja bile više (manje negativne) u odnosu na netretiranu varijantu, ali ne značajno, te se iz navedenog može zaključiti da primjena ovog preparata znatno manje doprinosi osmotskoj prilagodbi biljke u uslovima vodnog stresa u odnosu na Bio-algeen S92 i Ergonfill.

U kontrolnim varijantama tj. u varijantama u kojima presadnice šeri paradajza nisu bile izložene stresu već su redovno zalijevane tokom svoga rasta, vrijednosti vodnog potencijala u listovima se nisu značajno razlikovale nezavisno od primjenjenog stimulatora rasta. Isto zapažanje je uočeno u obje godine istraživanja, što upućuje na zaključak da presadnice šeri paradajza ukoliko se ne nalaze u stresnim uslovima ne uključuju dodatni mehanizam osmoregulacije u vidu intenzivnijeg nakupljanja osmotski aktivnih materija u svojim ćelijama.

6.2. Sadržaj prolina u listovima presadnica šeri paradajza

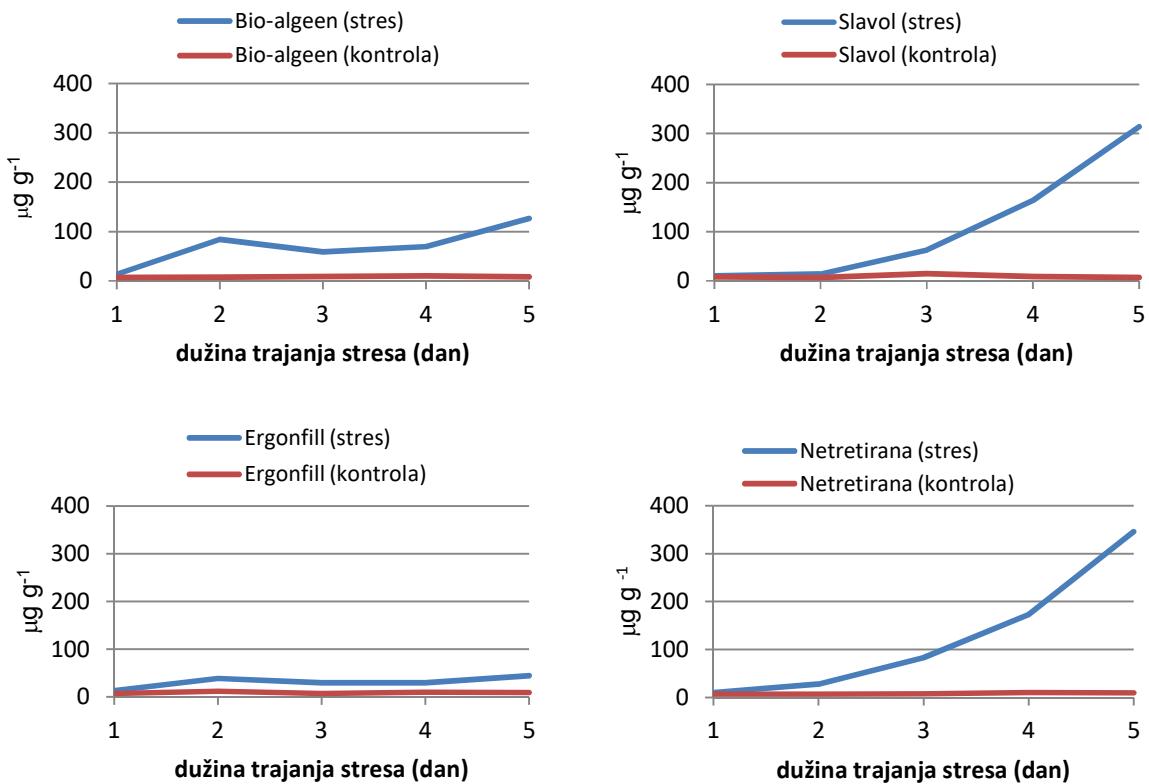
Podaci o sadržaju prolina u svježim listovima presadnica šeri paradajza (*Lycopersicon esculentum* Mill. "Sakura") u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu prikazani su posebno za svaku godinu istraživanja (tabela 9 i 10).

Tabela 9. Sadržaj prolina u svježim listovima presadnica šeri paradajza u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu za ogled proveden 2014. godine

Varijanta	2014. godina				
	Sadržaj prolina ($\mu\text{g g}^{-1}$)				
	Dan 1	Dan 2	Dan 3	Dan 4	Dan 5
1. Bio-algeen S92 (s)	13,56 ± 0,53 ^a	84,36 ± 6,76 ^a	59,04 ± 5,61 ^{b,c}	69,48 ± 5,11 ^c	126,12 ± 8,12 ^c
1. Bio-algeen S92 (k)	6,96 ± 0,29 ^c	7,56 ± 0,44 ^c	8,88 ± 0,55 ^c	9,96 ± 0,67 ^c	8,04 ± 0,66 ^c
2. Slavol (s)	10,20 ± 0,34 ^c	13,92 ± 0,32 ^d	63,12 ± 2,50 ^b	163,68 ± 9,77 ^b	314,16 ± 7,21 ^b
2. Slavol (k)	8,40 ± 0,22 ^{c-e}	6,84 ± 0,45 ^c	14,40 ± 0,71 ^c	8,64 ± 0,55 ^c	6,72 ± 0,32 ^c
3. Ergonfill (s)	13,20 ± 0,44 ^{ab}	38,88 ± 1,09 ^b	29,64 ± 3,44 ^d	29,40 ± 4,11 ^d	44,16 ± 2,43 ^d
3. Ergonfill (k)	7,20 ± 1,01 ^c	11,88 ± 0,66 ^{dc}	7,44 ± 0,44 ^c	9,60 ± 0,98 ^c	9,36 ± 1,02 ^c
4. Netretirana (s)	9,96 ± 0,55 ^{cd}	27,96 ± 1,33 ^c	83,23 ± 7,22 ^a	172,80 ± 9,11 ^a	345,72 ± 7,98 ^a
4. Netretirana (k)	6,84 ± 0,32 ^c	7,08 ± 0,41 ^c	7,32 ± 0,33 ^c	10,32 ± 1,22 ^c	9,84 ± 0,81 ^c
F test	s.**	s.	s.	s.	s.
LSD _{0,05}	1,94	5,26	7,27	5,57	5,88

Vrijednosti u tabeli su izražene kao srednje vrijednosti ispitivanih uzoraka ± standardna devijacija, (s) - stres, (k) - kontrola; ** s. - signifikantan

Da bi se dobio bolji uvid u dinamiku kretanja sadržaja prolina u listovima presadnica šeri paradajza ($\mu\text{g g}^{-1}$ svježeg lista) u zavisnosti od izloženosti presadnica stresu i tretmana stimulatorom rasta za ogled proveden 2014. godine, rezultati ovog dijela istraživanja su prikazani i grafički (grafikon 4).



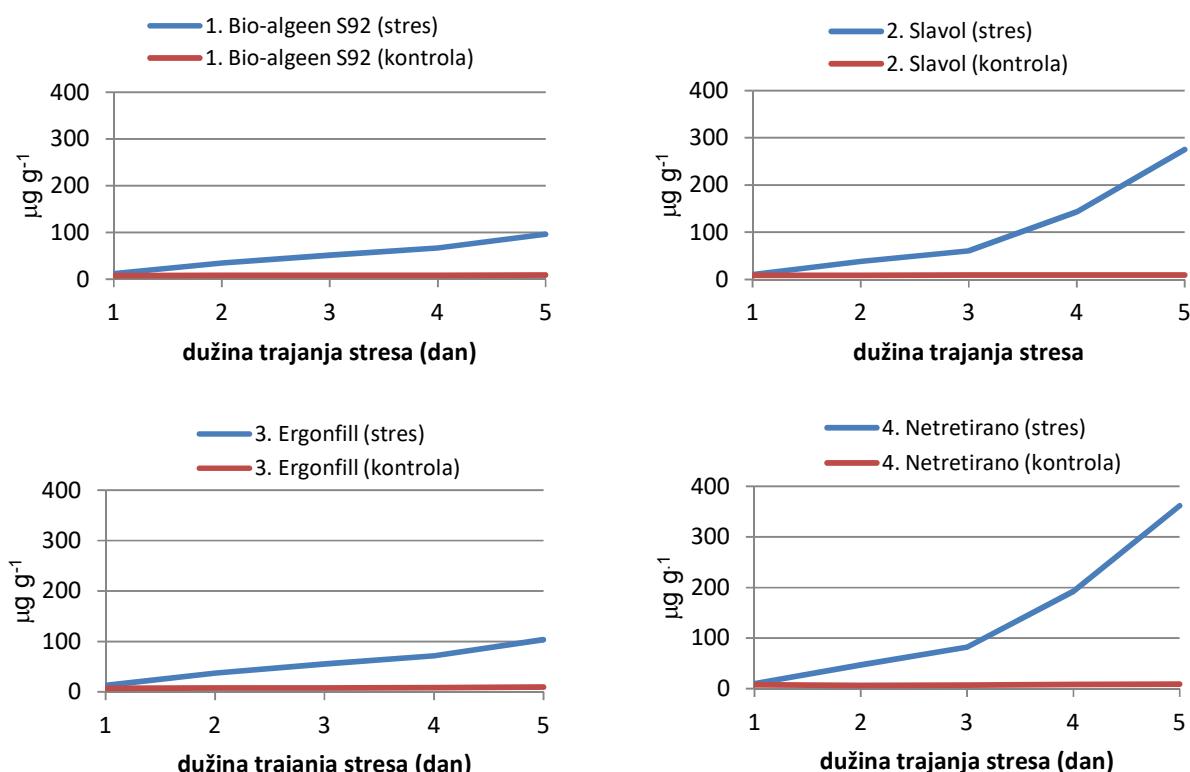
Grafikon 4. Dinamika sadržaja prolina u listovima presadnica šeri paradajza u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu za ogled proveden tokom 2014. godine

Tabela 10. Sadržaj prolina u listovima presadnica šeri paradajza u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti stresu za ogled proveden 2015. godine

Varijanta	2015. godina				
	Sadržaj prolina ($\mu\text{g g}^{-1}$)				
	Dan 1	Dan 2	Dan 3	Dan 4	Dan 5
1. Bio-algeen S92 (s)	11,51 \pm 0,91 ^{ab}	34,21 \pm 3,76 ^d	51,04 \pm 5,22 ^d	66,48 \pm 4,22 ^d	96,11 \pm 7,14 ^d
1. Bio-algeen S92 (k)	7,16 \pm 0,44 ^c	7,51 \pm 0,51 ^c	7,89 \pm 0,51 ^c	8,12 \pm 0,47 ^c	8,44 \pm 0,91 ^c
2. Slavol (s)	10,20 \pm 0,34 ^c	38,12 \pm 1,87 ^b	60,18 \pm 4,11 ^b	143,12 \pm 7,53 ^b	275,11 \pm 9,28 ^b
2. Slavol (k)	8,02 \pm 0,30 ^c	8,51 \pm 1,02 ^c	9,12 \pm 0,55 ^c	9,01 \pm 0,23 ^c	8,79 \pm 0,61 ^c
3. Ergonfill (s)	12,20 \pm 0,71 ^a	37,34 \pm 1,24 ^{bc}	55,22 \pm 5,09 ^c	71,40 \pm 3,22 ^c	103,12 \pm 6,13 ^c
3. Ergonfill (k)	6,97 \pm 1,11 ^c	7,81 \pm 0,82	7,65 \pm 0,54 ^c	8,33 \pm 0,87 ^c	9,16 \pm 0,66 ^c
4. Netretirana (s)	10,11 \pm 0,75 ^{cd}	47,11 \pm 5,33 ^a	82,21 \pm 5,12 ^a	192,46 \pm 7,14 ^a	362,11 \pm 9,22 ^a
4. Netretirana (k)	7,84 \pm 0,46 ^c	6,34 \pm 0,47 ^c	7,12 \pm 0,52 ^c	8,31 \pm 0,66 ^c	9,12 \pm 0,59 ^c
F test	s.*	s.	s.	s.	s.
LSD _{0,05}	1,11	2,24	3,88	4,09	5,52

Vrijednosti u tabeli su izražene kao srednje vrijednosti ispitivanih uzoraka \pm standardna devijacija,
(s) - stres, (k) - kontrola; **s. - signifikantan

Sa ciljem dobijanja boljeg uvida u dinamiku kretanja sadržaja prolina u listovima presadnica šeri paradajza ($\mu\text{g g}^{-1}$ svježeg lista) u zavisnosti od izloženosti presadnica stresu i tretmana stimulatorom rasta za ogled proveden 2015. godine, rezultati ovog dijela istraživanja su prikazani i grafički (grafikon 5).



Grafikon 5. Dinamika sadržaja prolina u listovima presadnica šeri paradajza u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu za ogled proveden tokom 2015. godine

Iz podataka prikazanim u tabelama 9 i 10 je vidljivo da su presadnice šeri paradajza u obje godine istraživanja u uslovima stresa imale statistički značajno veći sadržaj prolina u svojim ćelijama listova u odnosu na presadnice koje nisu izlagane stresu, nezavisno od tretmana stimulatorom rasta. Dobijeni podaci potvrđuju hipotezu da biljke u uslovima vodnog stresa pokreću proces intenzivnog nakupljanja prolina u svojim ćelijama. Objašnjenje nakupljanja prolina u listovima uslijed izlaganja biljki vodnom stresu iznio je u svom radu Heuer (1994), a ono se u osnovi sastoji u tome da je nastajanje prolina prvenstveno rezultat poticanja ekspresije

gena neophodnih za inicijaciju sinteze prolina, a koji se aktiviraju ukoliko se biljka nađe u stresnim uslovima.

Povećanjem sadržaja prolina i osmolita u cjelini, biljka nastoji u uslovima vodnog stresa što duže održati homeostazu, odnosno stabilne fiziološke uslove neophodne za odvijanje metaboličkih procesa. Navedeni efekat, prolin postiže zahvaljujući prvenstveno svome svojstvu da stabilizuje strukturu membranskih proteina čime doprinosi održavanju integriteta samih membrana, a što omogućava biljnoj ćeliji da i u uslovima stresa još neko vrijeme nesmetano provodi hemijske reakcije svoga metabolizma (*Delauney i Verma*, 1993).

Sposobnost biljke da akumuliše i sintetiše prolin u svojim ćelijama se zbog toga smatra vrlo važnim segmentom odbrambenog mehanizma biljke u uslovima stresa, a ujedno i jednim od prvih odgovora biljke na date uslove. Navedena činjenica potvrđena je i u rezultatima ovog istraživanja, ali i mnogih drugih, gdje je takođe utvrđena nagla i visoka akumulacija prolina u uslovima suše (*McCue i Hanson*, 1990; *Mundree i sar.*, 2002).

U rezultatima svog istraživanja *Claussen* (2005) navodi da nagli porast sinteze prolina u listovima presadnica paradajza izloženim vodnom stresu započinje šesnaest sati od momenta izazivanja stresa i da u narednih pet dana njegova akumulacija u listovima ima uzlaznu putanju. Navedeni rezultati su podudarni i sa rezultatima dobijenim u ovom istraživanju s tim što se u ovom istraživanju stepen porasta sadržaja prolina u listovima presadnica šeri paradajza izloženim vodnom stresu značajno razlikovao unutar svakog dana ispitivanja, zavisno od toga kojim su stimulatorom rasta presadnice šeri paradajza prethodno bile tretirane.

Najveći stepen porasta sadržaja prolina u listovima presadnica šeri paradajza izloženim vodnom stresu u obje godine istraživanja utvrđen je u netretiranoj varijanti, kao i u varijanti u kojoj su presadnice šeri paradajza bile tretirane Slavolom.

Najmanji stepen porasta prolina u listovima presadnica šeri paradajza izloženim vodnom stresu u obje godine istraživanja utvrđen je u varijantama u kojima su presadnice bile tretirane Bio-algeenom S92 i Ergonfillom, što ide u prilog tezi da primjena ovih dvaju stimulatora rasta odgađa, a samim time i smanjuje negativne reperkusije vodnog stresa na biljku. Podaci prikazani u tabelama 9 i 10 pokazuju i to da se sadržaj prolina u listovima presadnica šeri paradajza u kontrolnim varijantama tj. u varijantama gdje presadnice nisu izlagane stresu nije značajno mijenja ni u jednom danu mjerjenja, nezavisno od tretmana stimulatorom rasta. Utvrđena posmatranja upućuju na zaključak da presadnice šeri paradajza u optimalnim uslovima rasta neće

uključiti svoj odbrambeni mehanizam na stres okarakterisan pojačanom sintezom proline. Takođe, utvrđene velike razlike u sadržaju prolina između presadnica koje su izložene stresu i onih presadnica koje to nisu jasno pokazuju da se povećani sadržaj prolina u čelijama listova bilje s pravom može smatrati jednim od osnovnih fizioloških parametara koji ukazuju da se biljka nalazi u stresnom stanju.

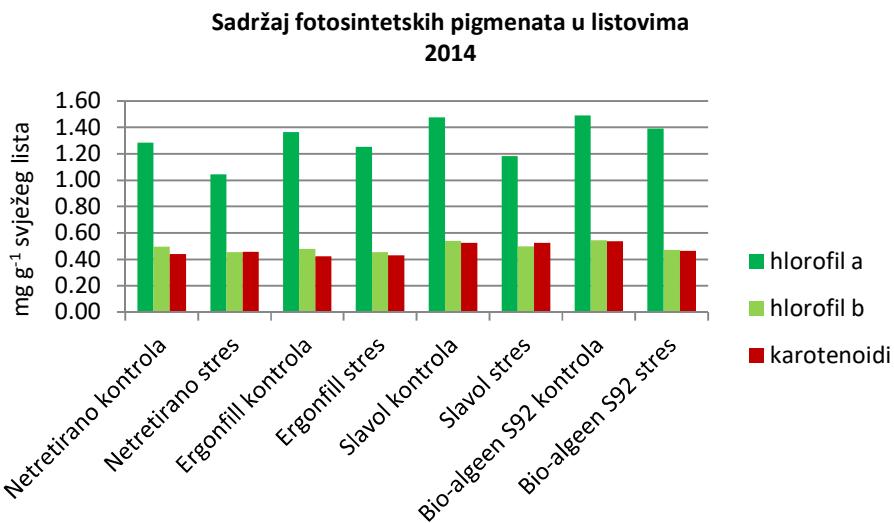
6.3. Sadržaj fotosintetskih pigmenata u listovima presadnica šeri paradajza

Rezultati analize sadržaja fotosintetskih pigmenata u svježim listovima presadnica šeri paradajza (*Lycopersicon esculentum* Mill. "Sakura") u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica uslovima stresa prikazani su posebno za svaku godinu istraživanja (tabela 11 i 12, grafikon 6 i 7).

Tabela 11. Sadržaj fotosintetskih pigmenata u listovima presadnica šeri paradajza u zavisnosti od varijante primjene stimulatora i izloženosti presadnica stresu u 2014. godini

Varijanta	2014. godina			
	Sadržaj fotosintetskih pigmenata u listovima (mg g ⁻¹ svježe materije)			
	hlorofil a	hlorofil b	hlorofil a + hlorofil b	ukupni karotenoidi
1. Bio-algeen S92 (s)	1,39 ± 0,05 ^{abc}	0,47 ± 0,04	1,86 ± 0,08 ^c	0,46 ± 0,07 ^{abcd}
1. Bio-algeen S92 (k)	1,49 ± 0,11 ^a	0,55 ± 0,12	2,04 ± 0,17 ^a	0,54 ± 0,15 ^a
2. Slavol (s)	1,18 ± 0,19 ^{efg}	0,50 ± 0,03	1,68 ± 0,22 ^{efg}	0,49 ± 0,11 ^{abc}
2. Slavol (k)	1,48 ± 0,03 ^{ab}	0,54 ± 0,08	2,02 ± 0,13 ^{ab}	0,52 ± 0,02 ^{ab}
3. Ergonfill (s)	1,25 ± 0,10 ^{ef}	0,46 ± 0,08	1,71 ± 0,15 ^{ef}	0,43 ± 0,07 ^{cd}
3. Ergonfill (k)	1,37 ± 0,14 ^{bcd}	0,48 ± 0,04	1,85 ± 0,16 ^{cd}	0,42 ± 0,04 ^d
4. Netretirana (s)	1,04 ± 0,09 ^h	0,45 ± 0,06	1,50 ± 0,07 ^h	0,43 ± 0,06 ^{cd}
4. Netretirana (k)	1,29 ± 0,20 ^{cde}	0,50 ± 0,06	1,78 ± 0,11 ^{cde}	0,44 ± 0,04 ^{cd}
F test	s. **	n.s.	s.	s.
LSD _{0,05}	0,111	-	0,130	0,073

Vrijednosti u tabeli su izražene kao srednje vrijednosti ispitivanih uzoraka ± standardna devijacija, (s) - stres, (k) - kontrola; ** s. - signifikantan, n.s. - nije signifikantan

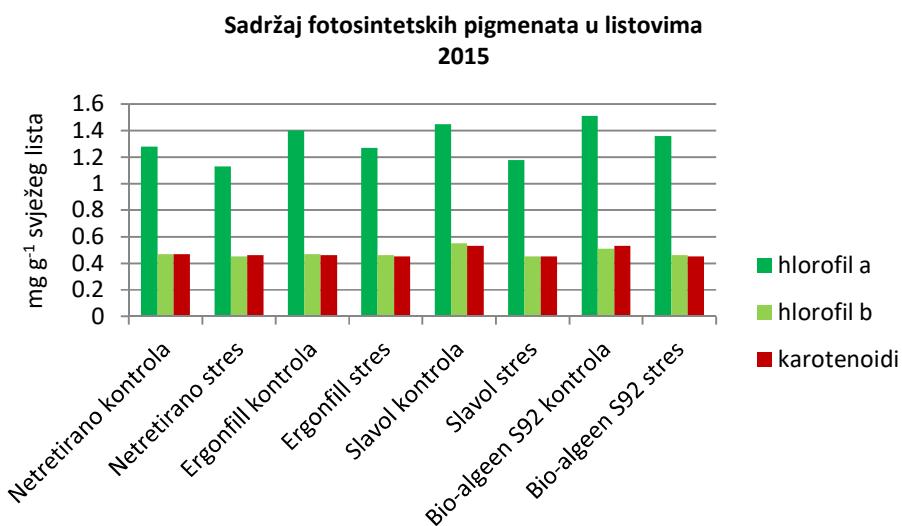


Grafikon 6. Sadržaj fotosintetskih pigmenata u listovima presadnica šeri paradajza u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu u 2014. godini

Tabela 12. Sadržaj fotosintetskih pigmenata u listovima presadnica šeri paradajza u zavisnosti od varijante primjene stimulatora i izloženosti presadnica stresu u 2015. godini

Varijanta	2015. godina			
	Sadržaj fotosintetskih pigmenata u listovima (mg g⁻¹ svježe materije)			
	hlorofil a	hlorofil b	hlorofil a + hlorofil b	ukupni karotenoidi
1. Bio-algeen S92 (s)	1,36 ± 0,12 ^{bcd}	0,46 ± 0,03 ^{bc}	1,83 ± 0,14 ^c	0,45 ± 0,01
1. Bio-algeen S92 (k)	1,51 ± 0,07 ^a	0,51 ± 0,10 ^{ab}	2,03 ± 0,14 ^a	0,53 ± 0,11
2. Slavol (s)	1,18 ± 0,19 ^{fg}	0,45 ± 0,05 ^c	1,63 ± 0,24 ^{fg}	0,45 ± 0,05
2. Slavol (k)	1,45 ± 0,06 ^{ab}	0,55 ± 0,13 ^a	2,00 ± 0,19 ^{ab}	0,53 ± 0,12
3. Ergonfill (s)	1,27 ± 0,14 ^{ef}	0,46 ± 0,03 ^{bc}	1,73 ± 0,12 ^{ef}	0,45 ± 0,02
3. Ergonfill (k)	1,40 ± 0,08 ^{bc}	0,47 ± 0,03 ^{bc}	1,87 ± 0,04 ^{cd}	0,46 ± 0,05
4. Netretirana (s)	1,13 ± 0,11 ^g	0,45 ± 0,05 ^c	1,57 ± 0,10 ^g	0,46 ± 0,05
4. Netretirana (k)	1,28 ± 0,04 ^{de}	0,47 ± 0,05 ^{bc}	1,76 ± 0,05 ^{cde}	0,47 ± 0,05
F test	s.**	s.	s.	n.s.
LSD _{0,05}	0,095	0,058	0,128	-

Vrijednosti u tabeli su izražene kao srednje vrijednosti ispitivanih uzoraka ± standardna devijacija, (s) - stres, (k) - kontrola; ** s. - signifikantan, n.s. - nije signifikantan



Grafikon 7. Sadržaj fotosintetskih pigmenata u listovima u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu u 2015. godini

Rezultati analize su pokazali da je u obje godine istraživanja izloženost presadnica šeri paradajza vodnom stresu uticala na smanjenje sadržaja fotosintetskih pigmenata u listovima. Za sadržaj pigmenta hlorofila *a*, te sumu pigmenata hlorofila *a* i *b*, je navedeno smanjenje bilo i statistički signifikantno nezavisno od toga da li su presadnice prethodno bile tretirane stimulatorima rasta ili ne. Prikazani rezultati su podudarni sa rezultatima istraživanja mnogih naučnika koji su takođe ustanovili da biljka u uslovima stresa naglo smanjuje sintezu fotosintetskih pigmenata u svojim ćelijama (*Mafakheri i sar.*, 2010; *Ghorbanli i sar.* 2013; *Giannakoula i Ilias*, 2013; *Al Hassan i sar.*, 2015). Anjum i sar. (2011) navode da vodni stres ne uzrokuje samo smanjenje sadržaja pigmenta u listovima, već i destrukciju proteinskih dijelova tilakoidnih membrana hloroplasta, a što se negativno reflektuje na kompletan fotosintetski aparat biljke. Razlog navedenome je smanjenje usvajanja azota u biljci uslijed nedostatka vode u zemljištu, što posljedično dovodi i do poremećaja u sintezi proteina, kao i ostalih metabolita u biljnim ćelijama čiji je azot esencijalni konstituent (*Gonzales-Dugo i sar.*, 2010).

Iz rezultata sprovedene analize se takođe može vidjeti da je pri standardnim uslovima rasta (bez stresa), vrijednost sume pigmenata hlorofila *a* i *b* u listovima presadnica šeri paradajza bila viša u varijantama gdje je izvršen tretman presadnica stimulatorima rasta. Pri tome je najveći uticaj na povećanje sadržaja ukupnih hlorofila utvrđen u varijantama gdje su korišćeni stimulatori rasta Bio-algeen S92 i Slavol i on je u obje godine istraživanja statistički bio značajno viši u

odnosu na netretiranu varijantu, ali i na varijantu gdje je korišćen preparat Ergonfill. Veći doprinos Bio-algeena S92 i Slavola sintezi hlorofila u odnosu na Ergonfill je svakako rezultat njihovog sastava, ali i sposobnosti biljke da u datim uslovima gajenja iskoriste prisutne supstance u navedenim preparatima za svoj razvoj. Efekat Slavola je bio i očekivan ako se uzme u obzir činjenica da isti u sebi sadrži bakterije azotofiksatore koje doprinose većem stepenu usvajanja azota od strane korijenovog sistema biljke, a samim time i većoj dostupnosti azota za potrebe sinteze hlorofila u ćelijama listova, dok se efekat Bio-algeena S92 na sintezu hlorofila može pripisati sinergijskom efektu većeg broja komponenti unutar njegovog sastava. Naime, Bio-algeen S92 u svom sastavu posjeduje veliku lepezu različitih azotnih jedinjenja, među kojima i izvjesne količine glutamata, prekursora u sintezi pigmenta hlorofila, čiji sadržaj bi svakako trebao biti u pozitivnoj korelaciji sa sintezom navedenog pigmenta (*Forde i Lea, 2007*), a rezultati ovog istraživanja navedenu opservaciju i potvrđuju.

Zanimljivost ovog dijela istraživanja je činjenica da je u obje godine istraživanja u varijanti gdje je korišćen Slavol, u listovima presadnica šeri paradajza izloženim stresu utvrđen niži sadržaj hlorofila *a* i ukupne sume hlorofila u odnosu na varijante gdje su pri istim uslovima rasta korišćeni drugi stimulatori. Ovaj rezultat nije bio očekivan ako se uzme u obzir sastav Slavola i njegov dokazan pozitivan uticaj na povećanje sadržaja fotosintetskih pigmenata u listovima presadnica gajenim u uslovima bez stresa.

Navedeno zapažanje upućuje na zaključak da primjena Slavola ne može u velikoj mjeri ublažiti negativne reperkusije vodnog stresa na ispitivanu biljku, barem ne sa aspekta sprečavanja smanjenja sadržaja fotosintetskih pigmenata u listovima, premda bi se to sa aspekta njegovog sastava moglo očekivati. Iz priloženog se može konstatovati da je sinteza fotosintetskih pigmenata u listovima biljke gajene u stresnim uslovima u većoj korelaciji sa stepenom stresa biljke, a manje sa sastavom preparata što znači da ako primjena određenog stimulatora ne odgodi ulazak biljke u stresno stanje neće moći bitno uticati ni na sintezu fotosintetskih pigmenata, nezavisno od toga što posjeduje potencijal da potakne njihovu sintezu. Direktna korelacija između stepena sinteze fotosintetskih pigmenata u listovima i stepena stresa biljke potvrđena je i u rezultatima brojnih drugih istraživanja (*Azedo-Silva i sar., 2004; Drecce, 2005; Kovács, 2005*).

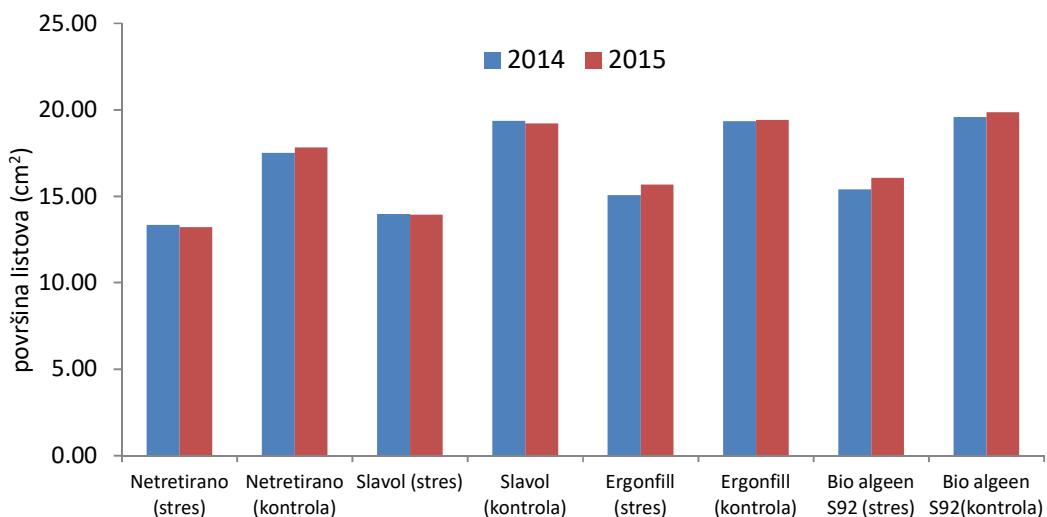
6.4. Površina listova presadnica šeri paradajza

Rezultati analize površine listova presadnica šeri paradajza (*Lycopersicon esculentum* Mill. "Sakura") u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica uslovima stresa prikazani su posebno za svaku godinu istraživanja (tabela 13 i grafikon 8).

Tabela 13. Površina listova presadnica šeri paradajza u zavisnosti od varijante primjene stimulatora i izloženosti presadnica stresu u 2014. i 2015. godini

Varijanta	Površina listova (cm ²)	
	2014	2015
1. Bio-algeen S-92 (s)	15,39 ± 2,63 ^e	16,06 ± 2,12 ^e
1. Bio-algeen S-92 (k)	19,59 ± 6,49 ^a	19,86 ± 2,80 ^a
2. Slavol (s)	13,98 ± 4,57 ^e	13,93 ± 2,83 ^g
2. Slavol (k)	19,36 ± 3,28 ^{ab}	19,22 ± 3,09 ^{abc}
3. Ergonfill (s)	15,08 ± 2,23 ^e	15,69 ± 2,65 ^{ef}
3. Ergonfill (k)	19,35 ± 4,01 ^{abc}	19,41 ± 4,68 ^{ab}
4. Netretirana (s)	13,35 ± 5,17 ^e	13,21 ± 2,95 ^g
4. Netretirana (k)	17,53 ± 3,23 ^{abcd}	17,84 ± 2,54 ^{bcd}
F test	S. **	S.
Lsd _{0,05}	2,186	1,746

Vrijednosti u tabeli su izražene kao srednje vrijednosti ispitivanih uzoraka ± standardna devijacija, (s) - stres, (k) - kontrola; ** s. - signifikantan



Grafikon 8. Površina listova u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu u 2014. i 2015. godini

Iz prikazanih podataka može se vidjeti da presadnice šeri paradajza izložene vodnom stresu imaju znatno manju lisnu površinu u odnosu na one koje nisu izložene, nezavisno od tretmana stimulatorom rasta, što je saglasno sa rezultatima mnogih radova u kojima je takođe utvrđeno smanjenje stope rasta lisne površine u uslovima stresa (*Lei i sar.*, 2006, *Jureková i sar.*, 2011; *Aldana i sar.*, 2014).

Rezultati dobijeni u ovom istraživanju potvrđuju tezu da je smanjenje stope rasta lisne površine jedna od ključnih odbrambenih reakcija biljke u uslovima stresa, a ostvaruje se zahvaljujući usporavanju stope rasta biljnih ćelija do koje dolazi ukoliko je biljka izložena vodnom stresu. Naime, uslijed nedostatka vode u biljci dolazi do dehidratacije biljnih ćelija, što posljedično dovodi i do smanjenja unutrašnjeg sadržaja, a samim time i turgora tj. pritiska protoplasta na ćelijski zid. S obzirom da je rast ćelije direktno proporcionalan rastu turgora (*Taiz i Zeiger*, 2010), jasno je da će se smanjenjem turgorovog pritiska smanjiti i stopa rasta biljnih ćelija. U suštini, smanjenjem stope rasta ćelija, biljka smanjuje i stopu rasta vanjske površine, uslijed čega se smanjuje i gubitak vode iz biljke transpiracijom.

Prema podacima prikazanim u tabeli 13 se može vidjeti da su presadnice šeri paradajza tretirane stimulatorima u stresnim uslovima imale nešto višu lisnu površinu u odnosu na netretirane presadnice izložene istim uslovima rasta. Iz navedenog se može zaključiti da je primjena stimulatora rasta pozitivno uticala na odlaganje ulaska biljke u stanje stresa, pa su se i posljedice stresa u smislu smanjenja lisne površine u tim varijantama manjim intenzitetom ostvarivale.

U obje godine istraživanja najveća površina listova u presadnicama šeri paradajza, posmatrano unutar istih uslova rasta, ostvarena je u varijanti gdje je korišćen preparat Bio-algeen S92. Takođe i najsporije smanjenje površine listova uslijed izlaganja presadnica vodnom stresu ostvarena je u istoj varijanti što ide u prilog tezi da Bio-algeen S92 u odnosu na druge korišćene preparate pokazuje najveći efekat na smanjenje negativnih reperkusija vodnog stresa na biljku. Pozitivni efekti ovog preparata, tačnije ekstrakta alge *Ascophyllum nodosum* (L) Le Jolis na odgađanje ulaska biljke u stresno stanje je dokazan u brojnim naučnim radovima (*Nabati i sar.*, 1994; *Dhargalkar i Pereira*, 2005; *Jayaraman i sar.*, 2011), međutim ni u jednom priloženom radu nije naznačen podatak o tome koji dio sastojka alge je direktno odgovoran za navedeni efekat pa se često pozitivan uticaj primjene ekstrakta morskih algi na ublažavanje posljedica stresa pripisuje ili sinergijskom efektu više sastojaka ili se prepostavlja koji dio sastojka alge bi

mogao najviše doprinijeti odgađanju ulaska biljke u stresno stanje. Realno, takvi zaključci su i jedino mogući jer je teško izdvojiti sastojke iz ekstrakta morske alge i posmatrati ih odvojeno, a osim toga tada se ne bi moglo ni govoriti o uticaju ekstrakta alge na ispitivane parametre već o uticaju izdvojenog sastojka. Isti slučaj je i sa preparatom Ergonfillom koji takođe predstavlja mješavinu različitih sastojaka za koje se prepostavlja da bi mogli doprinijeti jačanju mehanizma odbrane biljke protiv stresa.

Kad je riječ o preparatu Slavol, efekte njegovog uticaja na fiziološke procese u biljci je lakše dokazati i objasniti jer se ovaj preparat praktički sastoji iz tri komponente, pa se njihovim izdvajanjem i testiranjem može utvrditi uticaj svake pojedinačne komponente na biljku. Veća površina listova kod presadnica šeri paradajza tretiranim Slavolom je bila očekivana pri standardnim uslovima rasta jer je dokazano da hormon auksin koji je sastavni dio ovog preparata, može doprinijeti većoj površini korijena, a samim time i većoj apsorpciji vode i hranjiva od strane korijena što pak stvara bolje preduslove za rast ćelija lista. Ako se tome doda podatak da Slavol zbog prisustva bakterija azotofiksatora i fosfomineralizatora može da doprinese većem usvajanju azota i fosfora u biljci, veća površina listova se može smatrati realnim ishodom prethodno navedene uzročno-posljedične veze. Ono što nije bilo očekivano u ovom istraživanju je velik intenzitet smanjenja stope rasta listova kod presadnica šeri paradajza tretiranim Slavolom, a izloženim vodnom stresu. Naime, presadnice šeri paradajza tretirane Slavolom i netretirane presadnice su u uslovima stresa imale statistički značajno manju površinu listova u poređenju sa presadnicama u svim ostalim varijantama, što je za netretirane presadnice bio očekivan podatak, ali ne i za presadnice tretirane Slavolom. Budući da je smanjenje stope rasta lisne površine fiziološki odgovor biljke na stresno stanje, sam po sebi se nameće zaključak da primjena Slavola manje doprinosi odbrambenim mehanizmima presadnica šeri paradajza na vodni stres u odnosu na Bio-algeen S92 i Ergonfill.

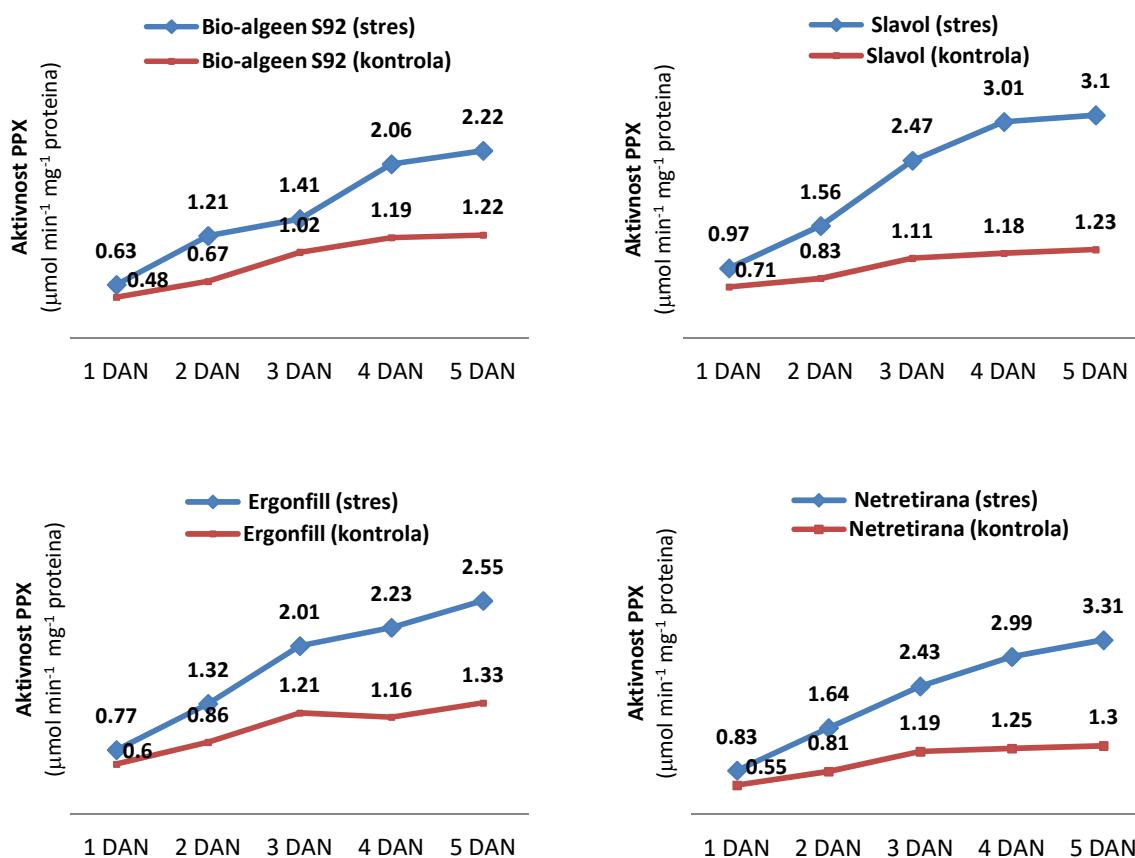
6.5. Aktivnost antioksidacijskih enzima u listovima presadnica šeri paradajza

Aktivnost enzima iz grupe peroksidaza (pirogalol, gvajakol i askorbat peroksidaza) u listovima presadnica šeri paradajza (*Lycopersicon esculentum* Mill. "Sakura") mjerena je tokom pet dana od momenta kada su se na prvim presadnicama u ogledu pojavili vizualno uočljivi efekti suše u vidu padajuće forme listova.

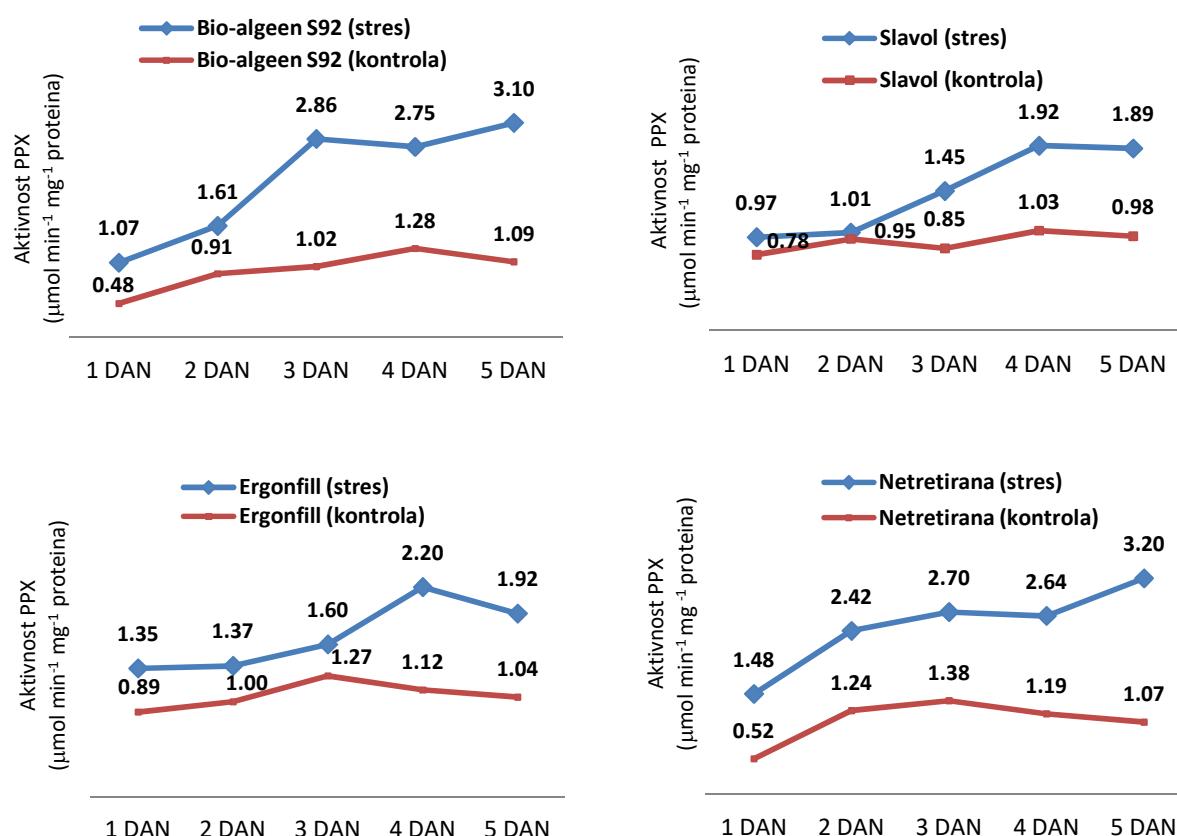
Svako ispitivanje aktivnosti pojedinog enzima unutar jedne varijante je izmjereno u tri ponavljanja, a s obzirom da je ogled istovjetno ponovljen tri puta, konačna srednja vrijednost aktivnosti pojedinog enzima unutar svake varijante je predstavljala prosjek devet mjerena.

6.5.1. Aktivnost pirogalol peroksidaze (PPX)

Srednje vrijednosti aktivnosti enzima pirogalol peroksidaze (PPX) u listovima presadnica šeri paradajza u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica uslovima stresa su prikazane grafikonima posebno za svaku godinu istraživanja (grafikon 9 i 10).



Grafikon 9. Dinamika aktivnosti pirogalol peroksidaze (PPX) u listovima presadnica šeri paradajza u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu u 2014. godini



Grafikon 10. Dinamika aktivnosti pirogalol peroksidaze (PPX) u listovima presadnica šeri paradajza u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu u 2015. godini

Iz priloženih grafikona može se vidjeti da je u obje godine istraživanja aktivnost PPX bila značajno veća u listovima presadnica šeri paradajza izloženim vodnom stresu u odnosu na neizložene, nezavisno od tretmana presadnica ispitivanim preparatima. Iz navedenog se može zaključiti da presadnice šeri paradajza u uslovima stresa intenzivno pokreću svoj enzimski antioksidativni sistem u kojem bitnu ulogu imaju i enzimi iz klase III biljnih peroksidaza. Navedeni enzimi svojom aktivnošću redukuju reaktivno kiseonikovo jedinjenje vodonik peroksid u vodu, pri čemu im pirogalol može služiti kao supstrat za doniranje elektrona.

Porast rasta aktivnosti PPX u svim varijantama izloženim stresu utvrđen je već u prvom danu mjerjenja, a s odmicanjem stresa aktivnost navedenog enzima je u listovima presadnica u pravilu rasla. Prosječna srednja vrijednost aktivnosti PPX je u obje godine istraživanja bila

najviša zadnjeg, petog dana izlaganja biljki stresu i to očekivano u netretiranoj varijanti tj. u varijanti u kojoj presadnice šeri paradajza prije izlaganja stresu nisu bile tretirane stimulatorima rasta, a iznosila je prosječno 3,31 odnosno $3,2 \text{ } \mu\text{mol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ proteina, zavisno od godine istraživanja. Interesantan podatak je da su prosječne srednje vrijednosti aktivnosti PPX u netretiranoj varijanti u zadnjim danima mjerena za približno tri puta bile više u odnosu na vrijednosti dobijene u njenoj kontroli, tj. u netretiranoj varijanti u kojoj presadnice šeri paradajza nisu bile izložene stresu.

Razlike u srednjim vrijednostima aktivnosti PPX između varijanti u kojima su presadnice šeri paradajza prije izlaganja stresa bile tretirane stimulatorima rasta i njihovih kontrola u kojima presadnice tretirane istim stimulatorima rasta nisu izlagane stresu, su bile znatno manje i to nezavisno od dana ispitivanja. Ovi rezultati pokazuju da primjena korišćenih stimulatora rasta ima svoju opravdanost sa aspekta odgađanja ulaska presadnica šeri paradajza u stanje stresa, a samim time i sa aspekta unaprijeđenja proizvodnje šeri paradajza u uslovima suše.

Kod donošenja zaključaka o efikasnosti primjene biostimulatora na antioksidativni sistem odbrane biljke, a samim time i na aktivnost PPX, nužno je imati u vidu njihov hemijski sastav, kao i njihov uticaj na fiziološke procese u biljnim ćelijama. Mnoga istraživanja su pokazala da preparati koji u sebi sadrže široku lepezu osmotski aktivnih materija ili njihovih derivata (prolin, glicin betain), pozitivno utiču na održavanje homeostaze u biljnim ćelijama, što u krajnjem dovodi i do njihove bolje adaptilnosti na stresne uslove (*Zhang i sar.*, 2005; *Canellas i sar.*, 2008; *Calvo i sar.*, 2014). Budući da preparati Ergonfill i Bio-algeen S92 imaju znatno kompleksniji sastav, a koji je obilježen i većom brojnošću osmolita i uopšte fiziološki aktivnih materija, za pretpostaviti je bilo da će se njihova primjena odraziti na bolju adaptaciju biljke na uslove stresa u odnosu na netretiranu varijantu, što su rezultati ovog dijela istraživanja djelomično i potvrdili, barem kad je u pitanju ogled proveden 2014. godine.

Slavol, za razliku od preparata Bio-algeena S92 i Ergonfilla u svom sastavu sadrži manje fiziološki aktivnih materija, posebno onih koji sudjeluju u održavanju homeostaze, te je za pretpostaviti bilo da njegova primjena iskaže slabiji efekat na ublažavanje posljedica stresa kod presadnica šeri paradajza. Ovakva pretpostavka jeste bila potvrđena u 2014. godini, ali ne i u 2015. gdje je primjena Slavola pokazala najveći uticaj na usporavanje aktivnosti PPX, a što se može vidjeti i iz rezultata provedene analize varijanse (tabela 14 i 15). Iz rezultata provedene analize varijanse se takođe može vidjeti da se prosječne vrijednosti aktivnosti PPX u kontrolnim

varijantama tj. u varijantama u kojima presadnice nisu bile izložene stresu međusobno nisu značajno razlikovale, nezavisno da li su i kojim preparatom presadnice šeri paradajza prethodno bile tretirane. Navedeni rezultati upućuju na zaključak da je intenzivni porast aktivnosti PPX prvenstveno rezultanta nivoa stresa u samoj biljci.

Tabela 14. Prosječne srednje vrijednosti aktivnosti PPX u listovima u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu u 2014. godini

Varijanta	2014. godina				
	Aktivnost PPX ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteina)				
	Dan 1	Dan 2	Dan 3	Dan 4	Dan 5
1. Bio-algeen S92 (s)	0,63 ± 0,30 ^{bcd}	1,21 ± 0,29 ^c	1,41 ± 0,20 ^d	2,06 ± 0,39 ^{cd}	2,22 ± 0,55 ^{cd}
1. Bio-algeen S92 (k)	0,48 ± 0,12 ^d	0,67 ± 0,32 ^d	1,02 ± 0,30 ^e	1,19 ± 0,44 ^e	1,22 ± 0,35 ^e
2. Slavol (s)	0,97 ± 0,31 ^a	1,56 ± 0,23 ^{ab}	2,47 ± 0,38 ^a	3,01 ± 0,50 ^a	3,10 ± 0,20 ^{ab}
2. Slavol (k)	0,71 ± 0,10 ^{a-d}	0,83 ± 0,43 ^d	1,11 ± 0,21 ^{de}	1,18 ± 0,46 ^e	1,23 ± 0,41 ^e
3. Ergonfill (s)	0,77 ± 0,30 ^{abc}	1,32 ± 0,20 ^{bc}	2,01 ± 0,39 ^c	2,23 ± 0,47 ^c	2,55 ± 0,70 ^c
3. Ergonfill (k)	0,60 ± 0,50 ^{bcd}	0,86 ± 0,20 ^d	1,21 ± 0,36 ^{de}	1,16 ± 0,26 ^e	1,33 ± 0,16 ^e
4. Netretirano (s)	0,83 ± 0,27 ^{ab}	1,64 ± 0,36 ^a	2,43 ± 0,57 ^{ab}	2,99 ± 0,38 ^{ab}	3,31 ± 1,09 ^a
4. Netretirano (k)	0,55 ± 0,33 ^{cd}	0,81 ± 0,25 ^d	1,19 ± 0,13 ^{de}	1,25 ± 0,30 ^e	1,30 ± 0,40 ^e
F test	S.**	S.	S.	S.	S.
LSD _{0,05}	0,27	0,29	0,33	0,37	0,51

Vrijednosti u tabeli su izražene kao srednje vrijednosti ispitivanih uzoraka ± standardna devijacija, * - signifikantan (s) - stres, (k) - kontrola; ** s. - signifikantan

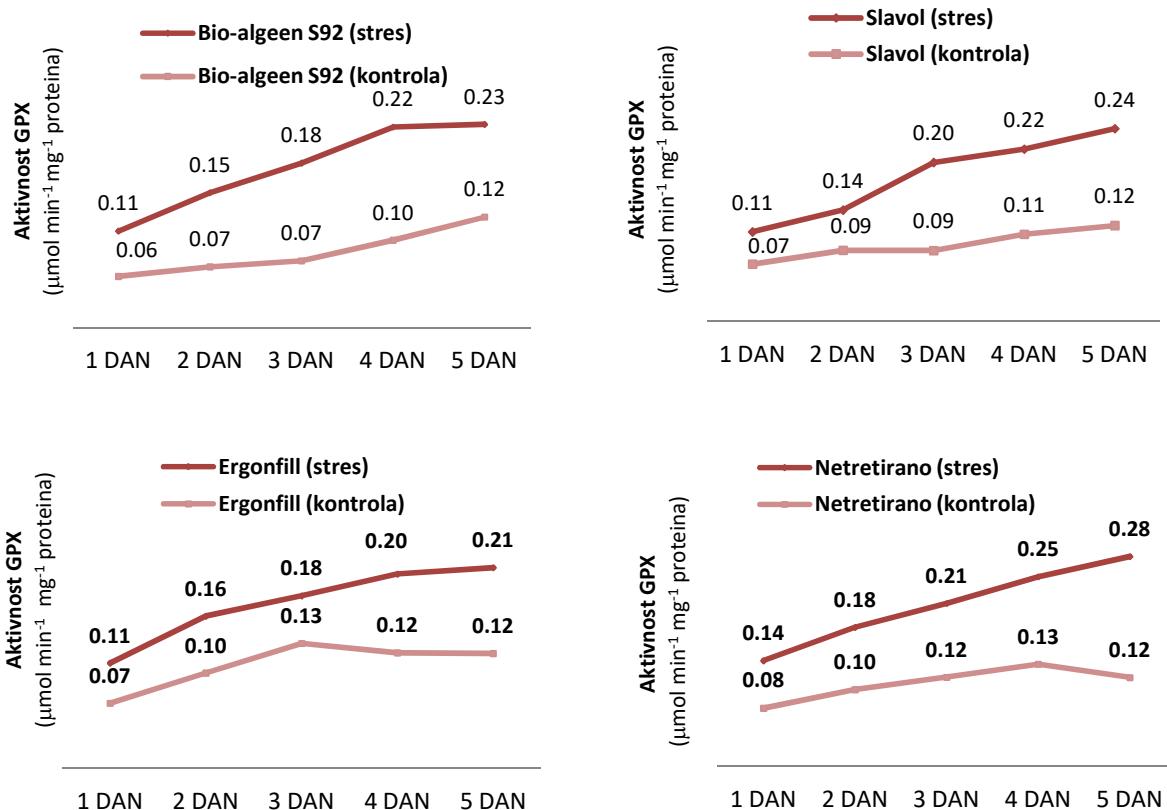
Tabela 15. Prosječne srednje vrijednosti aktivnosti PPX u listovima u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu u 2015. godini

Varijanta	2015. godina				
	Aktivnost PPX ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteina)				
	Dan 1	Dan 2	Dan 3	Dan 4	Dan 5
1. Bio-algeen S92 (s)	1,07 ± 0,24 ^{bc}	1,61 ± 0,29 ^b	2,86 ± 0,51 ^a	2,75 ± 0,53 ^a	3,10 ± 0,71 ^{ab}
1. Bio-algeen S92 (k)	0,48 ± 0,19 ^g	0,91 ± 0,28 ^e	1,02 ± 0,23 ^{def}	1,28 ± 0,29 ^e	1,09 ± 0,55 ^e
2. Slavol (s)	0,97 ± 0,61 ^{cd}	1,01 ± 0,40 ^{de}	1,45 ± 0,24 ^{cd}	1,92 ± 0,46 ^{cd}	1,89 ± 0,55 ^{cd}
2. Slavol (k)	0,78 ± 0,17 ^{def}	0,95 ± 0,23 ^e	0,85 ± 0,36 ^f	1,03 ± 0,25 ^e	0,98 ± 0,31 ^e
3. Ergonfill (s)	1,35 ± 0,39 ^{ab}	1,37 ± 0,18 ^{bc}	1,60 ± 0,56 ^c	2,20 ± 0,50 ^c	1,92 ± 0,46 ^c
3. Ergonfill (k)	0,89 ± 0,26 ^{cde}	1,00 ± 0,26 ^{de}	1,27 ± 0,34 ^{c-f}	1,12 ± 0,52 ^e	1,04 ± 0,54 ^e
4. Netretirano (s)	1,48 ± 0,25 ^a	2,42 ± 0,46 ^a	2,70 ± 0,84 ^{ab}	2,64 ± 0,47 ^{ab}	3,20 ± 0,42 ^a
4. Netretirano (k)	0,52 ± 0,13 ^{fg}	1,24 ± 0,31 ^{cd}	1,38 ± 0,67 ^{cde}	1,19 ± 0,38 ^e	1,07 ± 0,40 ^e
F test	S.**	S.	S.	S.	S.
LSD _{0,05}	0,29	0,29	0,47	0,39	0,46

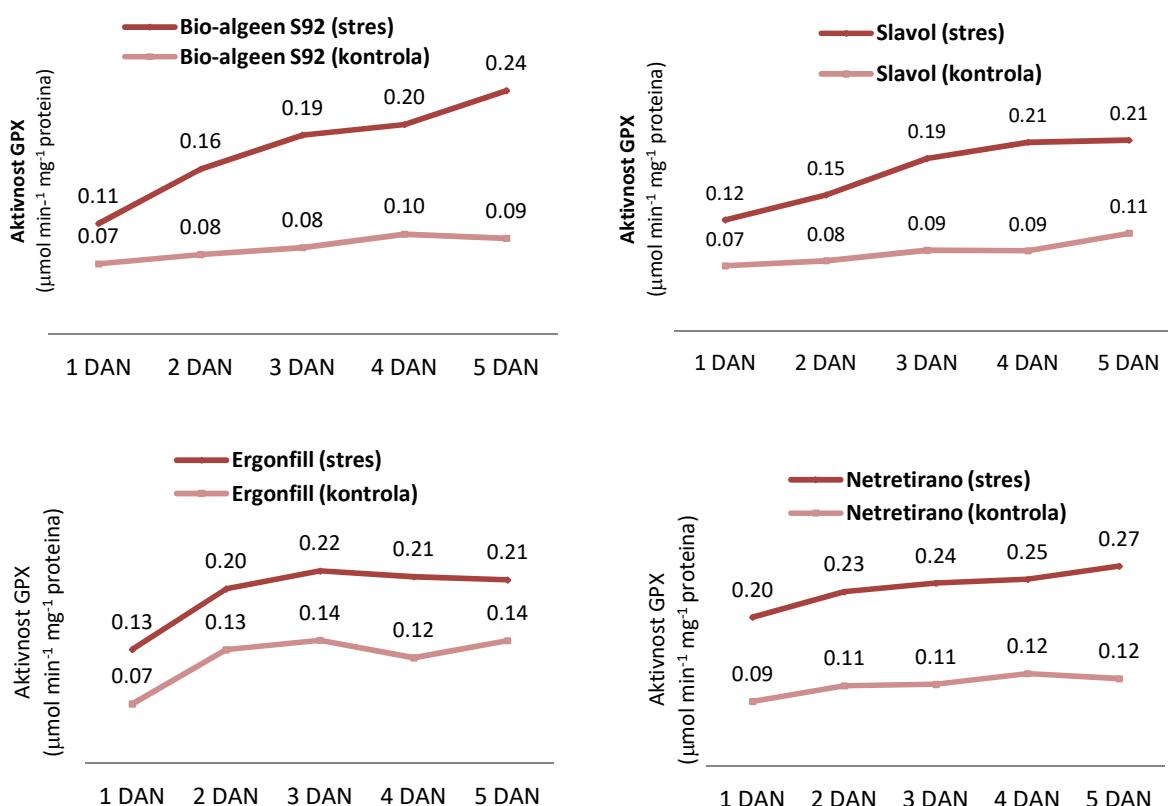
Vrijednosti u tabeli su izražene kao srednje vrijednosti ispitivanih uzoraka ± standardna devijacija, * - signifikantan (s) - stres, (k) - kontrola; ** s. - signifikantan

6.5.2. Aktivnost gvajakol peroksidaze (GPX)

U grafikonima 11 i 12 navedene su prosječne srednje vrijednosti aktivnosti gvajakol peroksidaze (GPX) u listovima šeri paradajza u zavisnosti od tretmana stimulatorom rasta i izloženosti presadnica stresu, posebno za svaku godinu istraživanja.



Grafikon 11. Dinamika aktivnosti gvajakol peroksidaze (GPX) u listovima u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu u 2014. godini



Grafikon 12. Dinamika aktivnosti gvajakol peroksidaze (GPX) u listovima u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu u 2015. godini

Iz prikazanih grafikona se može vidjeti da je aktivnost gvajakol peroksidaze (GPX) u obje godine istraživanja bila značajno veća u listovima presadnica šeri paradajza izloženim vodnom stresu u odnosu na neizložene, nezavisno od toga da li su presadnice prethodno bile tretirane stimulatorom rasta ili ne. Navedena zapažanja ukazuju na činjenicu da biljke u uslovima stresa, tj u uslovima kada se pokrene lanac oksidacijskih oštećenja u biljnim ćelijama, aktiviraju svoj potencijal usmjeren u pravcu veće aktivacije antioksidacijskih enzima, uključujući i GPX, a sa ciljem neutralisanja negativnog djelovanja vodonik peroksida čija je aktivnost u uslovima stresa znatno izražajnija (*Mathe i sar.*, 2010). Kao i ostale peroksidaze i GPX svoju aktivnost u neutralizaciji vodonik peroksida pokazuje ubrzavanjem oksido-reduksijskih reakcija između vodonik peroksida i različitih reduktanata, s tim da za navedeno djelovanje GPX preferira aromatske donora elektrona (*Cosio i Dunand*, 2009).

U obje godine istraživanja, u listovima svih ispitivanih presadnica šeri paradajza izloženim suši, porast aktivnosti GPX je utvrđen već prvog dana od momenta izazivanja stresa. Trend kontinuiranog rasta aktivnosti GPX u listovima presadnica izloženim stresu nastavljen je i u sljedećim danima stresa, sve do petog, završnog dana mjerena, kada je aktivnost GPX porasla i više od dva puta u odnosu na svoje kontrole, tj. u odnosu na presadnice šeri paradajza koje nisu bile izlagane stresu.

Najveća aktivnost GPX je utvrđena u zadnjem, petom danu ispitivanja i to očekivano u netretiranoj varijanti izloženoj stresnim uslovima, a iznosila je 0,28, odnosno $0,27 \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg proteina}$, zavisno od godine istraživanja. U varijantama gdje su presadnice šeri paradajza prije izlaganja stresu bile tretirane stimulatorima rasta, trend rasta aktivnosti GPX je postojao, ali je bio niži u odnosu na netretirane varijante, iz čega se može zaključiti da njihova primjena utiče povoljno na odgađanje stresa, a samim time i na smanjenu hiperprodukciju slobodnih radikala.

Rezultati analize varijanse srednjih vrijednosti između svih varijanti tokom pet dana mjerena (ANOVA) su i statistički potvrdili prethodno navedena zapažanja (tabela 16 i 17). ANOVA je pokazala i da se prosječne srednje vrijednosti aktivnosti GPX u kontrolnim varijantama nisu statistički značajno mijenjale unutar svakog ispitivanog dana, nezavisno da li su i kojim su preparatom presadnice prethodno bile tretirane. Isti obrazac ponašanja za sva spomenuta zapažanja bio je utvrđen u obje godine istraživanja.

Tabela 16. Prosječne srednje vrijednosti aktivnosti GPX u listovima u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu u 2014. godini

Varijanta	2014. godina				
	Aktivnost GPX ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteina)				
	Dan 1	Dan 2	Dan 3	Dan 4	Dan 5
1. Bio-algeen S92 (s)	$0,11 \pm 0,05^{abc}$	$0,15 \pm 0,05^{abc}$	$0,18 \pm 0,06^{a-d}$	$0,22 \pm 0,08^{ab}$	$0,23 \pm 0,08^{abc}$
1. Bio-algeen S92 (k)	$0,06 \pm 0,05^e$	$0,07 \pm 0,05^e$	$0,07 \pm 0,05^e$	$0,10 \pm 0,03^e$	$0,12 \pm 0,06^e$
2. Slavol (s)	$0,11 \pm 0,03^{a-d}$	$0,14 \pm 0,04^{a-d}$	$0,20 \pm 0,09^{ab}$	$0,22 \pm 0,06^{abc}$	$0,24 \pm 0,10^{ab}$
2. Slavol (k)	$0,07 \pm 0,05^{b-e}$	$0,09 \pm 0,05^e$	$0,09 \pm 0,08^e$	$0,11 \pm 0,07^e$	$0,12 \pm 0,08^e$
3. Ergonfill (s)	$0,11 \pm 0,07^{ab}$	$0,16 \pm 0,05^{ab}$	$0,18 \pm 0,05^{abc}$	$0,20 \pm 0,05^{a-d}$	$0,21 \pm 0,07^{a-d}$
3. Ergonfill (k)	$0,07 \pm 0,05^e$	$0,10 \pm 0,04^{cde}$	$0,13 \pm 0,08^{cde}$	$0,12 \pm 0,04^e$	$0,12 \pm 0,06^e$
4. Netretirano (s)	$0,14 \pm 0,05^a$	$0,18 \pm 0,05^a$	$0,21 \pm 0,12^a$	$0,25 \pm 0,11^a$	$0,28 \pm 0,08^a$
4. Netretirano (k)	$0,08 \pm 0,07^{b-e}$	$0,10 \pm 0,05^{cde}$	$0,12 \pm 0,03^{cde}$	$0,13 \pm 0,05^e$	$0,12 \pm 0,03^e$
F test	s.**	s.	s.	s.	s.
LSD _{0,05}	0,048	0,043	0,071	0,059	0,070

Vrijednosti u tabeli su izražene kao srednje vrijednosti ispitivanih uzoraka \pm standardna devijacija, (s) - stres, (k) - kontrola; ** s. - signifikantan

Tabela 17. Prosječne srednje vrijednosti aktivnosti GPX u listovima u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu u 2015. godini

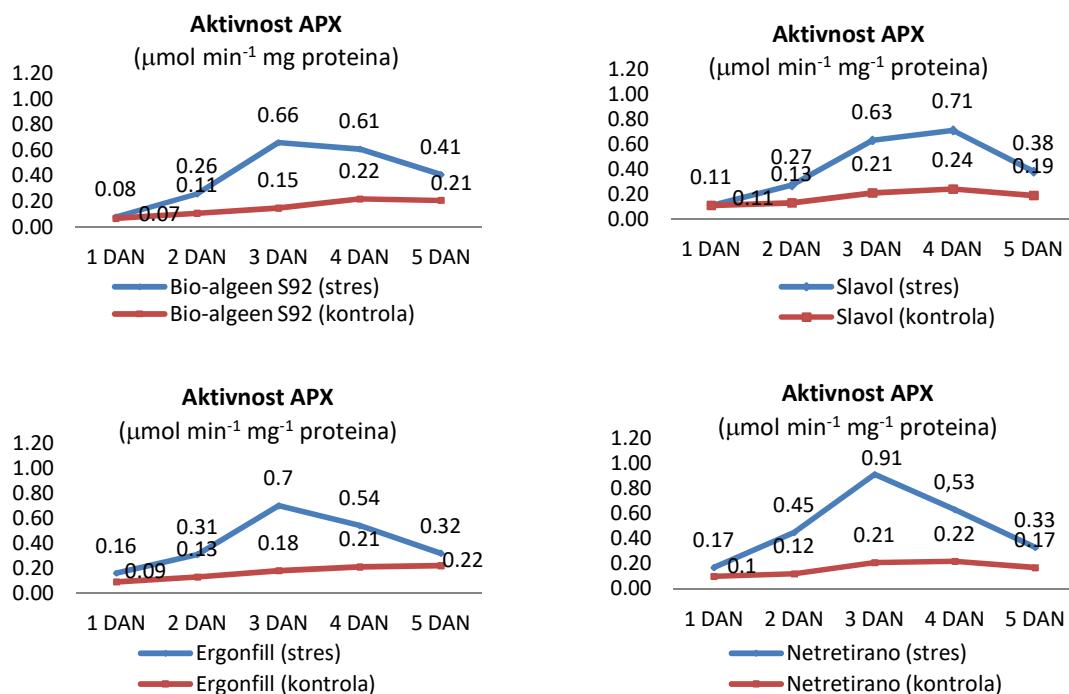
Varijanta	2015. godina				
	Aktivnost GPX ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteina)				
	Dan 1	Dan 2	Dan 3	Dan 4	Dan 5
1. Bio-algeen S92 (s)	0,11 ± 0,03 ^{bcd}	0,16 ± 0,07 ^{bc}	0,19 ± 0,09 ^{abc}	0,20 ± 0,12 ^{a-d}	0,24 ± 0,08 ^{ab}
1. Bio-algeen S92 (k)	0,07 ± 0,03 ^c	0,08 ± 0,05 ^c	0,08 ± 0,04 ^c	0,10 ± 0,07 ^c	0,09 ± 0,05 ^c
2. Slavol (s)	0,12 ± 0,03 ^{bc}	0,15 ± 0,07 ^{bcd}	0,19 ± 0,05 ^{abc}	0,21 ± 0,07 ^{abc}	0,21 ± 0,08 ^{bc}
2. Slavol (k)	0,07 ± 0,05 ^c	0,08 ± 0,02 ^c	0,09 ± 0,03 ^c	0,09 ± 0,05 ^c	0,11 ± 0,07 ^c
3. Ergonfill (s)	0,13 ± 0,06 ^b	0,20 ± 0,07 ^{ab}	0,22 ± 0,09 ^{a-d}	0,21 ± 0,06 ^{ab}	0,21 ± 0,05 ^{bcd}
3. Ergonfill (k)	0,07 ± 0,04 ^c	0,13 ± 0,05 ^{cde}	0,14 ± 0,03 ^{cde}	0,12 ± 0,05 ^c	0,14 ± 0,03 ^c
4. Netretirano (s)	0,20 ± 0,06 ^a	0,23 ± 0,09 ^a	0,24 ± 0,05 ^a	0,25 ± 0,05 ^a	0,27 ± 0,07 ^a
4. Netretirano (k)	0,09 ± 0,06 ^{cde}	0,11 ± 0,05 ^{cde}	0,11 ± 0,04 ^c	0,12 ± 0,05 ^c	0,12 ± 0,04 ^c
F test	*	*	*	*	*
LSD _{0,05}	0,034	0,055	0,048	0,063	0,056

Vrijednosti u tabeli su izražene kao srednje vrijednosti ispitivanih uzoraka ± standardna devijacija, (s) - stres, (k) - kontrola; ** s. - signifikantan

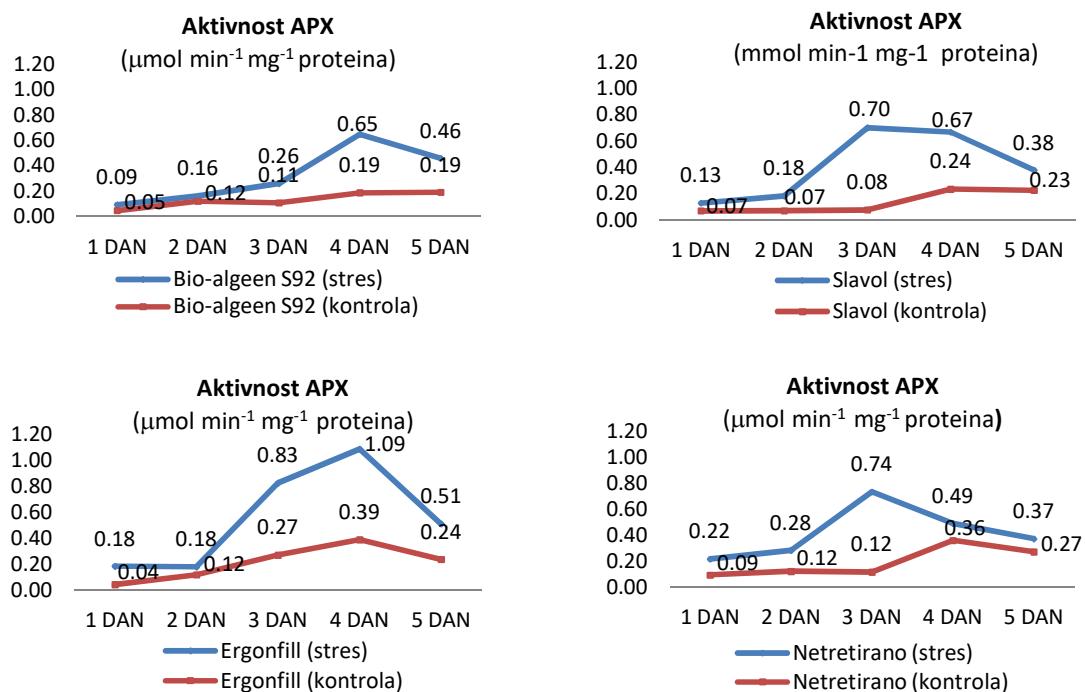
6.5.3. Aktivnost askorbat peroksidaze (APX)

Askorbat peroksidaza (APX) je enzim iz grupe peroksidaza čija je takođe glavna funkcija uklanjanje vodonik peroksida, a s ciljem sprečavanja nastajanja jako reaktivnih radikala koji mogu oksidovati ćelijske komponente i uzrokovati oštećenja ćelije. Aktivnost APX je usmjerena u pravcu prevođenja vodonik peroksida (H_2O_2) u dvije molekule vode pomoću askorbata i smatra se da ovaj enzim ima vrlo visok afinitet za vodonik peroksid.

U grafikonima 13 i 14 navedene su prosječne srednje vrijednosti aktivnosti askorbat peroksidaze (APX) u listovima šeri paradajza mjerene u periodu od pet dana, a u zavisnosti od tretmana stimulatorom rasta i izloženosti presadnica stresu. Rezultati su prikazani posebno za svaku godinu istraživanja.



Grafikon 13. Dinamika aktivnosti askorbat peroksidaze (APX) u listovima u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu u 2014. godini



Grafikon 14. Dinamika aktivnosti askorbat peroksidaze (APX) u listovima u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu u 2015. godini

Dobijeni rezultati pokazuju da je u obje godine istraživanja aktivnost APX bila veća u listovima presadnica šeri paradajza izloženim stresu, nezavisno od toga da li su navedene presadnice prethodno bile tretirane stimulatorom rasta ili ne. I ovi podaci potvrđuju činjenicu da biljke kao odgovor na stres pokreću aktivaciju velikog broja različitih antioksidacijskih enzima, a među njima i aktivnost APX (Arora i sar., 2002). Iz prikazanih grafikona se takođe može vidjeti da je u obje godine istraživanja u svim varijantama u kojima su presadnice šeri paradajza bile izložene stresu, APX postizala maksimum aktivnosti u trećem ili četvrtom danu od momenta izazivanja stresa, te da je u sljedećim danima intenzitet aktivnosti APX pada. Najveća prosječna vrijednost aktivnosti APX u 2014. godini utvrđena je trećeg dana ispitivanja u netretiranoj varijanti i iznosila je $0,91 \mu\text{mol min}^{-1} \text{ mg proteina}$. U 2015. godini aktivnost APX je bila najveća u četvrtom danu ispitivanja i to u varijanti u kojoj su biljke prije izlaganja stresu bile tretirane Ergonfillom. Navedeni rezultat u 2015. godini nije bio očekivan s obzirom na pretpostavku da je za očekivati bilo da njegova primjena više djeluje na ublažavanje stresa, a s tim i na smanjenje potrebe biljke za aktivacijom antioksidacijskih enzima, u ovom slučaju APX.

U kontrolnim varijantama tj. u varijantama gdje presadnice šeri paradajza nisu bile izlagane stresu, intenzitet aktivnosti APX je bio manji, nezavisno od tretmana stimulatorom rasta.

Provadena analiza varijanse srednjih vrijednosti između svih varijanti tokom pet dana mjerena (ANOVA) je i statistički potvrdila prethodno navedenu predpostavku (tabela 18 i 19).

Tabela 18. Prosječne srednje vrijednosti aktivnosti APX u listovima u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu u 2014. godini

Varijanta	2014. godina				
	Aktivnost APX ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ proteina)				
	Dan 1	Dan 2	Dan 3	Dan 4	Dan 5
1. Bio-algeen S92 (s)	$0,08 \pm 0,05^c$	$0,26 \pm 0,13^{bcd}$	$0,66 \pm 0,20^{bc}$	$0,61 \pm 0,18^{ab}$	$0,41 \pm 0,11^a$
1. Bio-algeen S92 (k)	$0,07 \pm 0,03^c$	$0,11 \pm 0,07^e$	$0,15 \pm 0,09^e$	$0,22 \pm 0,08^e$	$0,21 \pm 0,06^e$
2. Slavol (s)	$0,11 \pm 0,03^{bc}$	$0,27 \pm 0,08^{bc}$	$0,63 \pm 0,19^{bcd}$	$0,71 \pm 0,11^a$	$0,38 \pm 0,08^{ab}$
2. Slavol (k)	$0,11 \pm 0,08^{bc}$	$0,13 \pm 0,05^e$	$0,21 \pm 0,05^e$	$0,24 \pm 0,08^e$	$0,19 \pm 0,11^e$
3. Ergonfill (s)	$0,16 \pm 0,08^{ab}$	$0,31 \pm 0,11^b$	$0,70 \pm 0,14^b$	$0,54 \pm 0,10^{bc}$	$0,32 \pm 0,08^{bcd}$
3. Ergonfill (k)	$0,09 \pm 0,04^c$	$0,13 \pm 0,07^e$	$0,18 \pm 0,05^e$	$0,21 \pm 0,07^e$	$0,22 \pm 0,05^e$
4. Netretirano (s)	$0,17 \pm 0,06^a$	$0,45 \pm 0,13^a$	$0,91 \pm 0,15^a$	$0,53 \pm 0,14^{bcd}$	$0,33 \pm 0,06^{bc}$
4. Netretirano (k)	$0,10 \pm 0,07^c$	$0,12 \pm 0,05^e$	$0,21 \pm 0,06^e$	$0,22 \pm 0,06^e$	$0,17 \pm 0,05^e$
F test	S. **	S.	S.	S.	S.
LSD _{0,05}	0,055	0,087	0,117	0,107	0,072

Vrijednosti u tabeli su izražene kao srednje vrijednosti ispitivanih uzoraka \pm standardna devijacija, (s) - stres, (k) - kontrola; ** s. - signifikantan

Tabela 19. Prosječne srednje vrijednosti aktivnosti APX u listovima u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu u 2015. godini

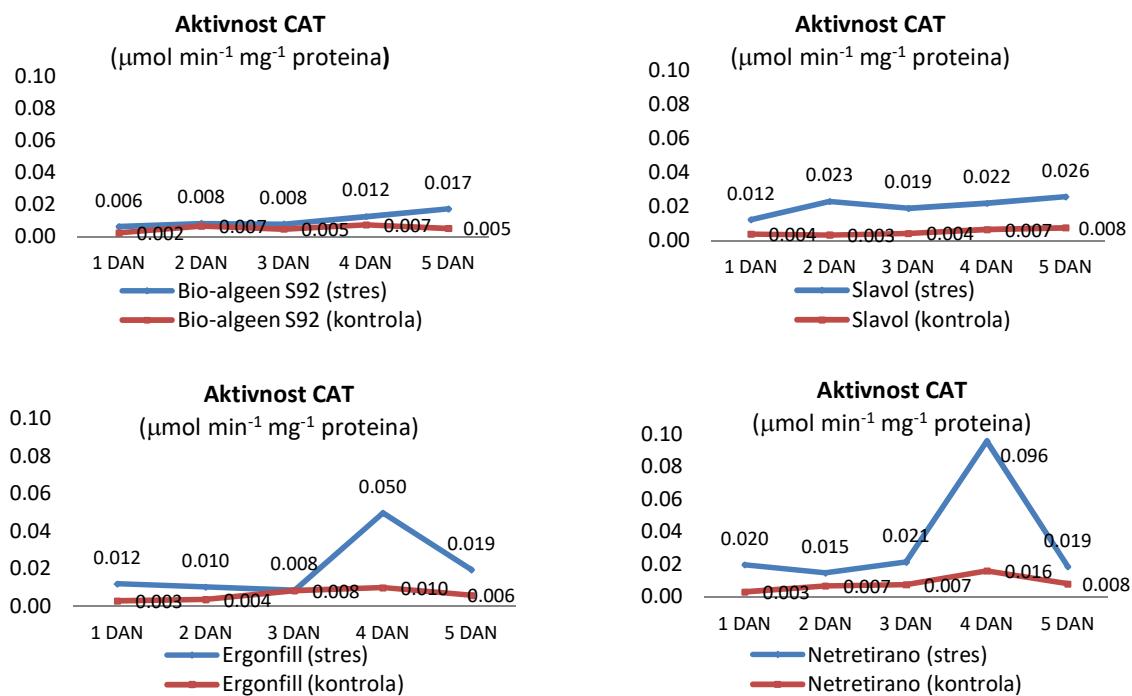
Varijanta	2015. godina				
	Aktivnost APX ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteina)				
	Dan 1	Dan 2	Dan 3	Dan 4	Dan 5
1. Bio-algeen S92 (s)	0,09 \pm 0,04 ^{cd}	0,16 \pm 0,11 ^{bcd}	0,26 \pm 0,08 ^{de}	0,65 \pm 0,18 ^{bc}	0,46 \pm 0,19 ^{ab}
1. Bio-algeen S92 (k)	0,05 \pm 0,03 ^d	0,12 \pm 0,04 ^{b-e}	0,11 \pm 0,05 ^f	0,19 \pm 0,07 ^g	0,19 \pm 0,07 ^e
2. Slavol (s)	0,13 \pm 0,07 ^{bc}	0,18 \pm 0,10 ^b	0,70 \pm 0,12 ^{bc}	0,67 \pm 0,14 ^b	0,38 \pm 0,14 ^{bc}
2. Slavol (k)	0,07 \pm 0,03 ^d	0,07 \pm 0,03 ^e	0,08 \pm 0,04 ^f	0,24 \pm 0,10 ^{efg}	0,23 \pm 0,09 ^e
3. Ergonfill (s)	0,18 \pm 0,09 ^{ab}	0,18 \pm 0,07 ^{bc}	0,83 \pm 0,16 ^a	1,09 \pm 0,37 ^a	0,51 \pm 0,10 ^a
3. Ergonfill (k)	0,04 \pm 0,04 ^d	0,12 \pm 0,05 ^{b-e}	0,27 \pm 0,18 ^d	0,39 \pm 0,12 ^{de}	0,24 \pm 0,10 ^e
4. Netretirano (s)	0,22 \pm 0,05 ^a	0,28 \pm 0,13 ^a	0,74 \pm 0,21 ^b	0,49 \pm 0,11 ^d	0,37 \pm 0,12 ^{bcd}
4. Netretirano (k)	0,09 \pm 0,05 ^{cd}	0,12 \pm 0,05 ^{b-e}	0,12 \pm 0,07 ^f	0,36 \pm 0,12 ^{def}	0,27 \pm 0,08 ^{de}
F test	S. **	S.	S.	S.	S.
LSD _{0,05}	0,052	0,075	0,116	0,157	0,108

Vrijednosti u tabeli su izražene kao srednje vrijednosti ispitivanih uzoraka \pm standardna devijacija, (s) - stres, (k) - kontrola; ** s. - signifikantan

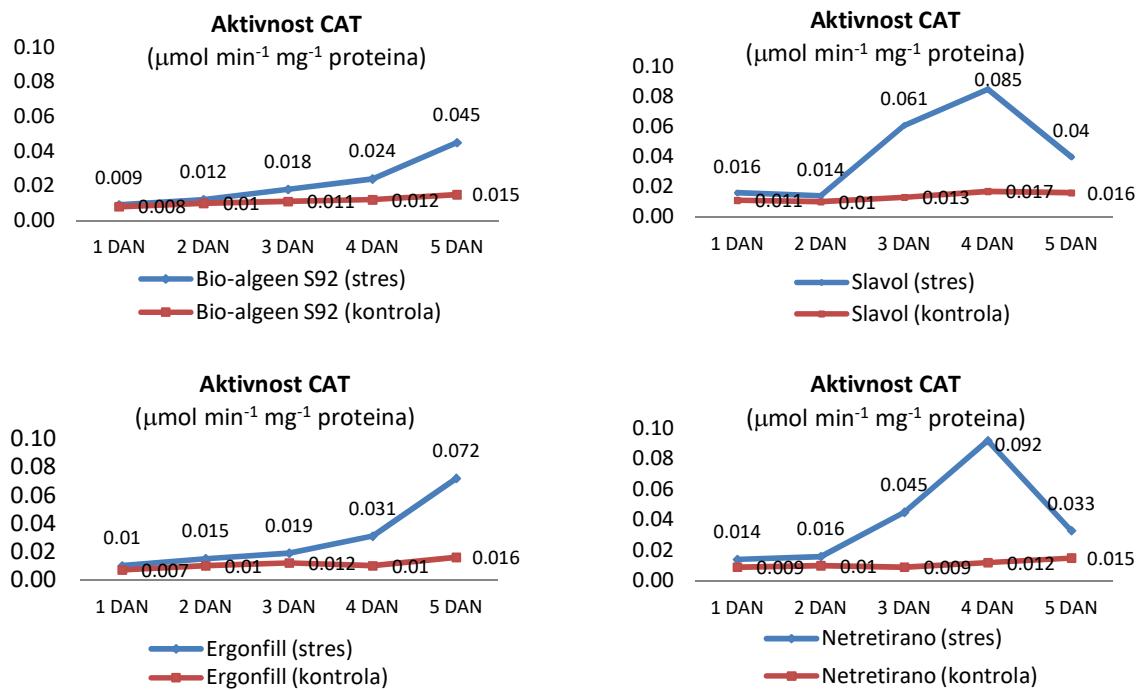
6.5.4. Aktivnost katalaze (CAT)

Katalaza je enzim koji takođe ubrzava neutralizaciju reaktivnog jedinjenja vodonik peroksida (H_2O_2) i to na način da vrši njegovu disproporcionalaciju na kiseonik i vodu. Specifičnost katalaze je u tome što ima nizak afinitet za supstrat jer u reakciji neutralizacije zahtjeva vezanje dviju molekula vodonik-peroksida (H_2O_2) na aktivno mjesto enzima (Scandalios i sar., 1997).

U grafikonima 15 i 16 prikazane su prosječne srednje vrijednosti aktivnosti katalaze (CAT) u listovima šeri paradajza u zavisnosti od tretmana stimulatorom rasta i izloženosti presadnica stresu, posebno za svaku godinu istraživanja.



Grafikon 15. Dinamika aktivnosti katalaze (CAT) u listovima u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu u 2014. godini



Grafikon 16. Dinamika aktivnosti katalaze (CAT) u listovima u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu u 2015. godini

Prema podacima prikazanim u grafikonima 15 i 16 može se konstatovati da je u obje godine istraživanja aktivnost CAT bila veća u listovima presadnica šeri paradajza izloženim stresu, nezavisno od tretmana stimulatorima rasta. Povećana aktivnost CAT u listovima biljaka izloženim stresu utvrđena je i u brojnim drugim istraživanjima (*Bailly i sar.*, 2000; *Tohid-Moghadam i sar.*, 2009; *Zanjani i sar.*, 2012). Iz prikazanih grafikona se takođe može vidjeti da je u obje godine istraživanja porast aktivnosti CAT u svim "stresiranim" biljkama bio manje izražen u prvim danima stresa, te da je tek u trećem ili četvrtom danu izlaganja biljaka stresu aktivnost CAT značajnije dobila na intenzitetu. Izuzetak od navedenog pravila je zabilježen tokom 2014. godine i to u varijantama gdje su presadnice prije izlaganja stresu bile tretirane Slavolom ili Bio-algeenom S92, a u kojima nije došlo do naglog porasta intenziteta aktivnosti CAT, nezavisno od dana mjerena.

Ako se navedeni rezultati porede sa rezultatima analize aktivnosti PPX i GPX dobijenim u ovom istraživanju onda se može uočiti vrlo bitna razlika. PPX i GPX su veći intenzitet aktivnosti u listovima ostvarivale u prvim danima izlaganja presadnica šeri paradajza stresu i sve do prestanka izlaganja biljki stresu aktivnost navedenih enzima je imala uzlaznu putanju. Takva konstatacija se ne može dati za CAT, ne samo iz razloga što je njena veća aktivnost u pravilu zabilježena u trećem danu stresa, već i zbog toga što aktivnost CAT sa odmicanjem stresa nije uvijek imala uzlaznu putanju. Naime, u pojedinim varijantama ogleda u zadnjem (petom), a ponegdje i u četvrtom danu izlaganja presadnica šeri paradajza stresu, aktivnost CAT je naglo padala. Ova konstatacija se u prvom redu odnosi na netretiranu varijantu.

Ako se posmatra uticaj stimulatora rasta na aktivnost CAT, iz dobijenih rezultata se može vidjeti da je u obje godine istraživanja u varijantama gdje su presadnice šeri paradajza prije izlaganja stresu bile tretirane Bio-algeenom S92, aktivnost CAT bila najmanje izražena. Iz navedenog se može zaključiti da su presadnice šeri paradajza tretirane ovim preparatom imale i najveću adaptilnost na stres, a što navodi na zaključak da primjena ovog preparata može u određenoj mjeri ublažiti štetan uticaj vodnog stresa na biljku. U kontrolnim varijantama, odnosno u varijantama gdje presadnice šeri paradajza nisu bile izlagane stresnim uslovima, aktivnost enzima CAT se tokom pet dana mjerena nije statistički značajno mijenjala, što potvrđuju i rezultati provedene analize varijanse (tabela 20 i 21).

Tabela 20. Prosječne srednje vrijednosti aktivnosti CAT u listovima u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu u 2014. godini

Varijanta	2014. godina				
	Aktivnost CAT ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteina)				
	Dan 1	Dan 2	Dan 3	Dan 4	Dan 5
1. Bio-algeen S92 (s)	0,006 \pm 0,004 ^d	0,008 \pm 0,007 ^{cd}	0,008 \pm 0,004 ^c	0,012 \pm 0,007 ^d	0,017 \pm 0,007 ^{bcd}
1. Bio-algeen S92 (k)	0,002 \pm 0,003 ^d	0,007 \pm 0,005 ^{cd}	0,005 \pm 0,005 ^c	0,007 \pm 0,004 ^d	0,005 \pm 0,003 ^c
2. Slavol (s)	0,012 \pm 0,005 ^{bc}	0,023 \pm 0,009 ^a	0,019 \pm 0,011 ^{ab}	0,022 \pm 0,012 ^c	0,026 \pm 0,016 ^a
2. Slavol (k)	0,004 \pm 0,003 ^d	0,003 \pm 0,004 ^d	0,004 \pm 0,005 ^c	0,007 \pm 0,005 ^d	0,008 \pm 0,004 ^c
3. Ergonfill (s)	0,012 \pm 0,004 ^b	0,010 \pm 0,007 ^{bc}	0,008 \pm 0,002 ^c	0,050 \pm 0,018 ^b	0,019 \pm 0,009 ^{ab}
3. Ergonfill (k)	0,003 \pm 0,002 ^d	0,004 \pm 0,005 ^d	0,008 \pm 0,005 ^c	0,010 \pm 0,005 ^d	0,006 \pm 0,002 ^e
4. Netretirano (s)	0,020 \pm 0,006 ^a	0,015 \pm 0,005 ^b	0,021 \pm 0,012 ^a	0,096 \pm 0,012 ^a	0,019 \pm 0,008 ^{abc}
4. Netretirano (k)	0,003 \pm 0,004 ^d	0,007 \pm 0,004 ^{cd}	0,007 \pm 0,005 ^c	0,016 \pm 0,010 ^{cd}	0,008 \pm 0,007 ^c
F test	s.**	s.	s.	s.	s.
LSD _{0,05}	0,0042	0,0057	0,0064	0,0092	0,0074

Vrijednosti u tabeli su izražene kao srednje vrijednosti ispitivanih uzoraka \pm standardna devijacija, (s) - stres, (k) - kontrola; ** s. - signifikantan

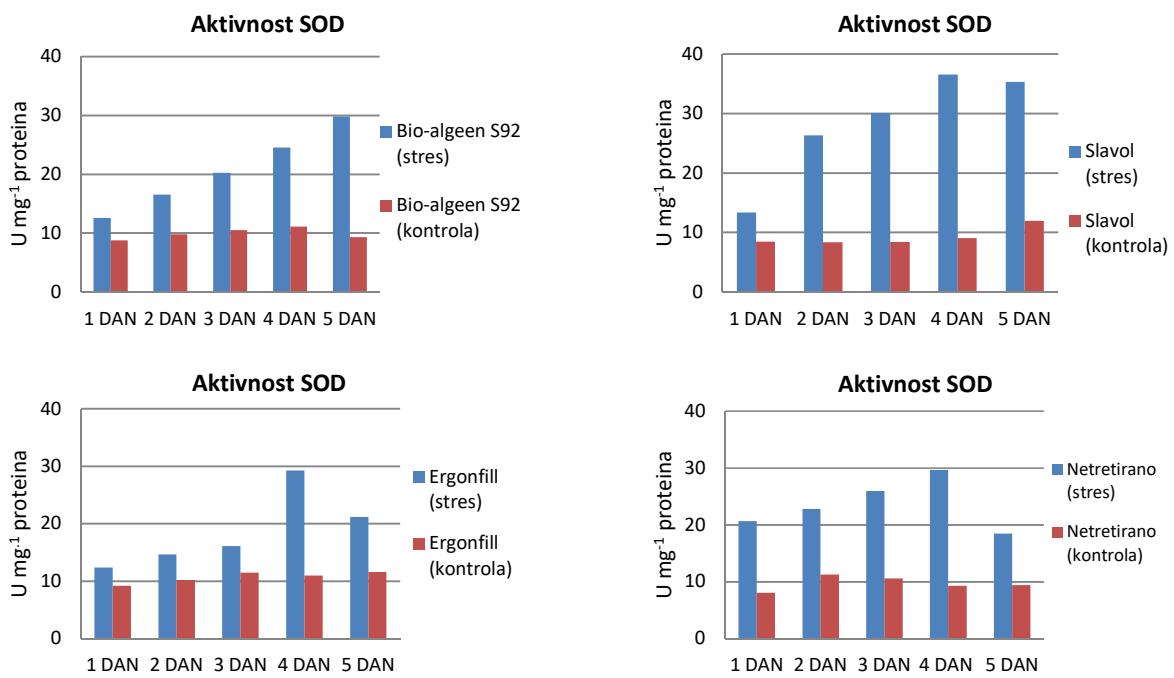
Tabela 21. Prosječne srednje vrijednosti aktivnosti CAT u listovima u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu u 2015. godini

Varijanta	2015. godina				
	Aktivnost CAT ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteina)				
	Dan 1	Dan 2	Dan 3	Dan 4	Dan 5
1. Bio-algeen S92 (s)	0,009 \pm 0,002	0,012 \pm 0,007 ^{a-d}	0,018 \pm 0,008 ^{cd}	0,024 \pm 0,006 ^{cd}	0,045 \pm 0,017 ^b
1. Bio-algeen S92 (k)	0,008 \pm 0,005	0,010 \pm 0,005 ^{cd}	0,011 \pm 0,005 ^{de}	0,012 \pm 0,006 ^c	0,015 \pm 0,010 ^c
2. Slavol (s)	0,016 \pm 0,005	0,014 \pm 0,003 ^{a-c}	0,061 \pm 0,012 ^a	0,085 \pm 0,014 ^{ab}	0,040 \pm 0,010 ^{bc}
2. Slavol (k)	0,011 \pm 0,005	0,010 \pm 0,004 ^{cd}	0,013 \pm 0,006 ^{de}	0,017 \pm 0,005 ^{dc}	0,016 \pm 0,008 ^e
3. Ergonfill (s)	0,010 \pm 0,007	0,015 \pm 0,005 ^{ab}	0,019 \pm 0,007 ^c	0,031 \pm 0,012 ^c	0,072 \pm 0,018 ^a
3. Ergonfill (k)	0,007 \pm 0,004	0,010 \pm 0,003 ^d	0,012 \pm 0,006 ^{de}	0,010 \pm 0,006 ^c	0,016 \pm 0,013 ^e
4. Netretirano (s)	0,014 \pm 0,005	0,016 \pm 0,004 ^a	0,045 \pm 0,011 ^b	0,092 \pm 0,013 ^a	0,033 \pm 0,011 ^{cd}
4. Netretirano (k)	0,009 \pm 0,003	0,010 \pm 0,005 ^d	0,009 \pm 0,002 ^e	0,012 \pm 0,007 ^e	0,015 \pm 0,009 ^e
F test	n.s.**	s.	s.	s.	s.
LSD _{0,05}	-	0,0042	0,0072	0,0085	0,0112

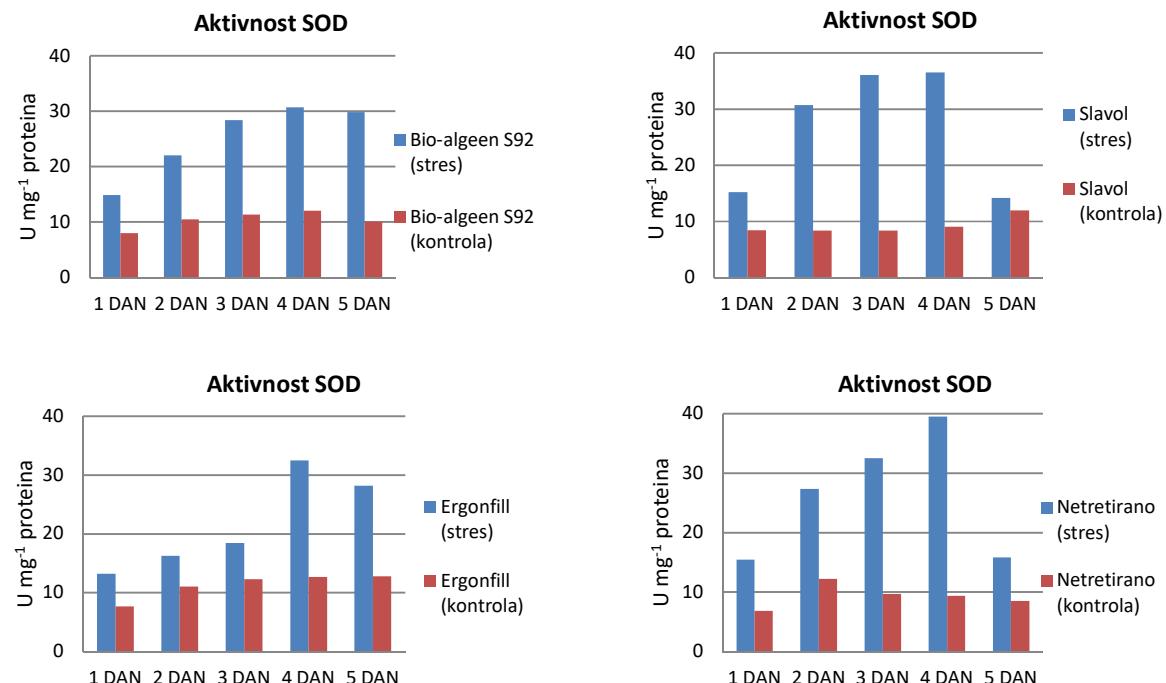
Vrijednosti u tabeli su izražene kao srednje vrijednosti ispitivanih uzoraka \pm standardna devijacija, (s) - stres, (k) - kontrola; ** n.s. - nije signifikantan, s. - signifikantan

6.5.5. Aktivnost superoksid dismutaze (SOD)

U ovom istraživanju aktivnost superoksid dismutaze (SOD) u listovima u zavisnosti od tretmana stimulatorom rasta i izloženosti presadnica šeri paradajza stresu prikazana je posebno za svaku godinu istraživanja (grafikoni 17 i 18).



Grafikon 17. Dinamika aktivnosti superoksid dismutaze (SOD) u listovima u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu u 2014. godini



Grafikon 18. Dinamika aktivnosti superoksid dismutaze (SOD) u listovima u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu u 2015. godini

Superoksid dismutaza (SOD) je enzim koji uklanja vrlo reaktivne i opasne superoksid radikale koji intenzivno nastaju u stresnim uslovima, prvenstveno kao posljedica poremećaja u prenosu elektrona u procesima disanja i fotosinteze. Budući da je superoksid radikal prekursor u nastajanju drugih reaktivnih kiseonikovih radikala (hidroksil radikal, vodonik peroksid), njegovo uklanjanje smatra se prvom linijom odbrane biljne ćelije od oksidacijskih oštećenja (*Salin, 1987; Arora i sar., 2002 Bailey i Mittler, 2010*).

Iz podataka prikazanih u grafikonima 17 i 18 može se vidjeti da je u obje godine istraživanja aktivnost SOD više bila izražena u listovima presadnica šeri paradajza izloženim vodnom stresu u odnosu na neizložene, nezavisno od tretmana presadnica ispitivanim preparatima, što je u kompatibilnosti i sa aktivnoću drugih antioksidacijskih enzima obuhvaćenih ovim istraživanjem. Očito je da nedostatak vode vrlo brzo inicira stresno stanje, te da biljka kao odgovor na navedeno pokreće cijeli lanac odbrambenih mehanizama, a među njima i veću aktivnost SOD (*Mafakheri i sar., 2011*).

U obje godine istraživanja porast aktivnosti SOD u listovima šeri paradajza u svim varijantama izloženim stresu utvrđen je već u prvom danu mjerjenja, a s odmicanjem stresa aktivnost navedenog enzima je sve više rasla, sve do četvrtog dana kada bi aktivnost SOD u pravilu dosegla svoj maksimum. U petom, odnosno zadnjem danu mjerjenja utvrđen je pad aktivnosti SOD i to posebno u netretiranoj varijanti. Izuzetak od navedenog pravila zabilježen je 2014. godine u varijanti gdje su presadnice prije izlaganja stresu bile tretirane Bio-algeenom S92, a u kojoj je aktivnost SOD rasla i u petom danu mjerjenja.

Iz prikazanih grafikona se takođe može vidjeti da je u listovima presadnica šeri paradajza koje su prije izlaganja stresu bile tretirane stimulatorima rasta, rast aktivnosti SOD bio znatno sporiji u odnosu na netretiranu varijantu. Budući da je porast aktivnosti SOD indikator stresnog stanja u biljci navedena konstatacija upućuje na zaključak da primjena stimulatora rasta korišćenih u ovom istraživanju pokazuje značajan efekat sa aspekta odgađanja ulaska presadnica šeri paradajza u stanje stresa, a što potvrđuju i rezultati provedene analize varijanse (tabela 22 i 23). Rezultati analize varijanse (ANOVA) su pokazali i da između varijanti gdje presadnice šeri paradajza nisu bile izlagane stresnim uslovima, nije postojala statistički značajna razlika u aktivnosti SOD, nezavisno od tretmana stimulatorima rasta, iz čega se može zaključiti da navedene presadnice nisu bile u stresu, ali i da efekat primijenjenih stimulatora rasta na aktivnost SOD u takvim uslovima nije bio statistički značajan.

Tabela 22. Prosječne srednje vrijednosti aktivnosti SOD u listovima u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu u 2014. godini

Varijanta	2014. godina				
	Aktivnost SOD (U mg^{-1} proteina)				
	Dan 1	Dan 2	Dan 3	Dan 4	Dan 5
1. Bio-algeen S92 (s)	$12,59 \pm 1,12^{\text{bc}}$	$16,54 \pm 2,11^{\text{c}}$	$20,28 \pm 2,47^{\text{c}}$	$24,54 \pm 4,79^{\text{d}}$	$29,86 \pm 6,08^{\text{b}}$
1. Bio-algeen S92 (k)	$8,73 \pm 0,79^{\text{e}}$	$9,79 \pm 0,93^{\text{e}}$	$10,52 \pm 3,47^{\text{e}}$	$11,08 \pm 4,92^{\text{e}}$	$9,29 \pm 1,02^{\text{e}}$
2. Slavol (s)	$13,31 \pm 2,63^{\text{b}}$	$26,32 \pm 5,76^{\text{a}}$	$30,09 \pm 5,20^{\text{a}}$	$36,52 \pm 4,85^{\text{a}}$	$35,33 \pm 4,44^{\text{a}}$
2. Slavol (k)	$8,46 \pm 3,40^{\text{e}}$	$8,36 \pm 2,85^{\text{e}}$	$8,40 \pm 0,58^{\text{e}}$	$9,04 \pm 2,38^{\text{e}}$	$11,96 \pm 3,21^{\text{e}}$
3. Ergonfill (s)	$12,38 \pm 1,87^{\text{bcd}}$	$14,63 \pm 4,91^{\text{cd}}$	$16,13 \pm 2,47^{\text{d}}$	$29,24 \pm 3,74^{\text{bc}}$	$21,15 \pm 5,43^{\text{c}}$
3. Ergonfill (k)	$9,22 \pm 5,14^{\text{e}}$	$10,22 \pm 2,80^{\text{e}}$	$11,51 \pm 2,62^{\text{e}}$	$10,97 \pm 2,61^{\text{e}}$	$11,62 \pm 4,22^{\text{e}}$
4. Netretirano (s)	$20,65 \pm 2,81^{\text{a}}$	$22,79 \pm 5,20^{\text{ab}}$	$26,00 \pm 6,60^{\text{b}}$	$29,66 \pm 7,34^{\text{b}}$	$18,48 \pm 6,01^{\text{cd}}$
4. Netretirano (k)	$8,08 \pm 2,26^{\text{e}}$	$11,26 \pm 2,66^{\text{de}}$	$10,56 \pm 3,28^{\text{e}}$	$9,33 \pm 3,25^{\text{e}}$	$9,44 \pm 2,86^{\text{e}}$
F test	S.**	S.	S.	S.	S.
LSD _{0,05}	2,54	3,58	3,48	4,12	4,13

Vrijednosti u tabeli su izražene kao srednje vrijednosti ispitivanih uzoraka \pm standardna devijacija, (s) - stres, (k) - kontrola; ** s. - signifikantan

Tabela 23. Prosječne srednje vrijednosti aktivnosti SOD u listovima u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu u 2015. godini

Varijanta	2015. godina				
	Aktivnost SOD (U mg^{-1} proteina)				
	Dan 1	Dan 2	Dan 3	Dan 4	Dan 5
1. Bio-algeen S92 (s)	$14,88 \pm 3,63^{\text{abc}}$	$22,05 \pm 7,84^{\text{c}}$	$28,39 \pm 3,95^{\text{c}}$	$30,67 \pm 3,69^{\text{cd}}$	$29,86 \pm 5,40^{\text{a}}$
1. Bio-algeen S92 (k)	$8,00 \pm 2,61^{\text{e}}$	$10,49 \pm 2,15^{\text{e}}$	$11,33 \pm 2,47^{\text{e}}$	$12,00 \pm 2,92^{\text{e}}$	$10,06 \pm 5,18^{\text{e}}$
2. Slavol (s)	$15,22 \pm 3,05^{\text{ab}}$	$30,71 \pm 8,62^{\text{a}}$	$36,10 \pm 7,99^{\text{a}}$	$36,52 \pm 7,7^{\text{ab}}$	$14,13 \pm 5,44^{\text{cd}}$
2. Slavol (k)	$8,46 \pm 3,11^{\text{e}}$	$8,36 \pm 1,65^{\text{e}}$	$8,40 \pm 1,44^{\text{e}}$	$9,04 \pm 2,36^{\text{e}}$	$11,96 \pm 6,14^{\text{de}}$
3. Ergonfill (s)	$13,21 \pm 2,05^{\text{a-d}}$	$16,26 \pm 2,01^{\text{d}}$	$18,44 \pm 3,30^{\text{d}}$	$32,49 \pm 6,65^{\text{bc}}$	$28,20 \pm 6,84^{\text{ab}}$
3. Ergonfill (k)	$7,68 \pm 2,43^{\text{e}}$	$11,00 \pm 1,60^{\text{e}}$	$12,28 \pm 3,70^{\text{e}}$	$12,66 \pm 6,34^{\text{e}}$	$12,78 \pm 2,82^{\text{cde}}$
4. Netretirano (s)	$15,49 \pm 4,17^{\text{a}}$	$27,35 \pm 4,08^{\text{ab}}$	$32,50 \pm 6,51^{\text{ab}}$	$39,55 \pm 7,32^{\text{a}}$	$15,84 \pm 3,12^{\text{c}}$
4. Netretirano (k)	$6,84 \pm 1,89^{\text{e}}$	$12,19 \pm 2,21^{\text{de}}$	$9,68 \pm 1,74^{\text{e}}$	$9,33 \pm 3,11^{\text{e}}$	$8,49 \pm 1,34^{\text{e}}$
F test	S.**	S.	S.	S.	S.
LSD _{0,05}	2,64	4,21	3,97	5,11	4,48

Vrijednosti u tabeli su izražene kao srednje vrijednosti ispitivanih uzoraka \pm standardna devijacija, (s) - stres, (k) - kontrola; ** s. - signifikantan

6.6. Sadržaj ukupnih fenola u listovima presadnica šeri paradajza

Podaci o sadržaju fenola u listovima presadnica šeri paradajza (*Lycopersicon esculentum* Mill. "Sakura") u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica uslovima stresa prikazani su posebno za svaku godinu istraživanja (tabela 24 i grafikon 19).

Tabela 24. Prosječni sadržaj fenola u listovima presadnica šeri paradajza u zavisnosti od varijante tretiranja stimulatorom rasta i perioda izlaganja biljki vodnom stresu

Varijanta	Sadržaj fenola (mg g^{-1} suvog lista)			
	2014		2015	
	Početna faza stresa	Završna faza stresa	Početna faza stresa	Završna faza stresa
1. Bio-algeen S-92 (s)	$3,38 \pm 0,12^{\text{a}}$	$9,06 \pm 0,21^{\text{a}}$	$5,68 \pm 0,33^{\text{a}}$	$8,06 \pm 0,44^{\text{a}}$
1. Bio-algeen S-92 (k)	$2,90 \pm 0,08^{\text{def}}$	$7,21 \pm 0,37^{\text{de}}$	$4,44 \pm 0,44^{\text{cdef}}$	$7,13 \pm 0,22^{\text{cde}}$
2. Slavol (s)	$2,93 \pm 0,10^{\text{de}}$	$8,51 \pm 0,39^{\text{bc}}$	$4,73 \pm 0,28^{\text{c}}$	$7,14 \pm 0,77^{\text{cd}}$
2. Slavol (k)	$3,24 \pm 0,06^{\text{c}}$	$6,48 \pm 0,43^{\text{g}}$	$3,95 \pm 0,28^{\text{gh}}$	$6,12 \pm 0,49^{\text{g}}$
3. Ergonfill (s)	$2,69 \pm 0,14^{\text{h}}$	$8,65 \pm 0,24^{\text{b}}$	$5,48 \pm 0,22^{\text{ab}}$	$7,89 \pm 0,49^{\text{ab}}$
3. Ergonfill (k)	$2,80 \pm 0,08^{\text{g}}$	$7,28 \pm 0,16^{\text{d}}$	$4,48 \pm 0,27^{\text{cde}}$	$7,22 \pm 0,28^{\text{c}}$
4. Netretirano (s)	$3,04 \pm 0,11^{\text{c}}$	$7,14 \pm 0,29^{\text{def}}$	$4,66 \pm 0,39^{\text{cd}}$	$7,07 \pm 0,06^{\text{cdef}}$
4. Netretirano (k)	$2,97 \pm 0,16^{\text{cd}}$	$6,46 \pm 0,23^{\text{g}}$	$4,00 \pm 0,56^{\text{g}}$	$5,99 \pm 0,22^{\text{g}}$
F test	s.**	s.	s.	s.
Lsd _{0,05}	0,098	0,279	0,324	0,427

Vrijednosti u tabeli su izražene kao srednje vrijednosti ispitivanih uzoraka \pm standardna devijacija, (s) - stres, (k) - kontrola; ** s. - signifikantan

Razvoj biljke u uslovima suše znatno zavisi i od njene sposobnosti da se odupre oksidativnom stresu, tj. negativnom efektu djelovanja slobodnih radikala čije je veće prisustvo jedan od prvih pokazatelja vodnog stresa. Svaka biljna ćelija posjeduje vlastiti sistem odbrane kojim se pokušava odbraniti od slobodnih radikala, no osnov svih tih sistema je postojanje antioksidansa, odnosno supstanci koje su u stanju neutralisati negativno djelovanje slobodnih radikala. Antioksidansi mogu biti enzimske i neenzimske prirode, a jedni od važnijih antioksidansa neenzimske prirode koji se sintetišu u biljnim ćelijama, te čiji sadržaj u velikoj mjeri utiče na antioksidativni mehanizam odbrane biljke u uslovima stresa su jedinjenja fenolne prirode.

Podaci prikazani u tabeli 24 pokazuju da je u obje godine istraživanja sadržaj fenola statistički značajno bio veći u listovima presadnica šeri paradajza izloženim vodnom stresu u

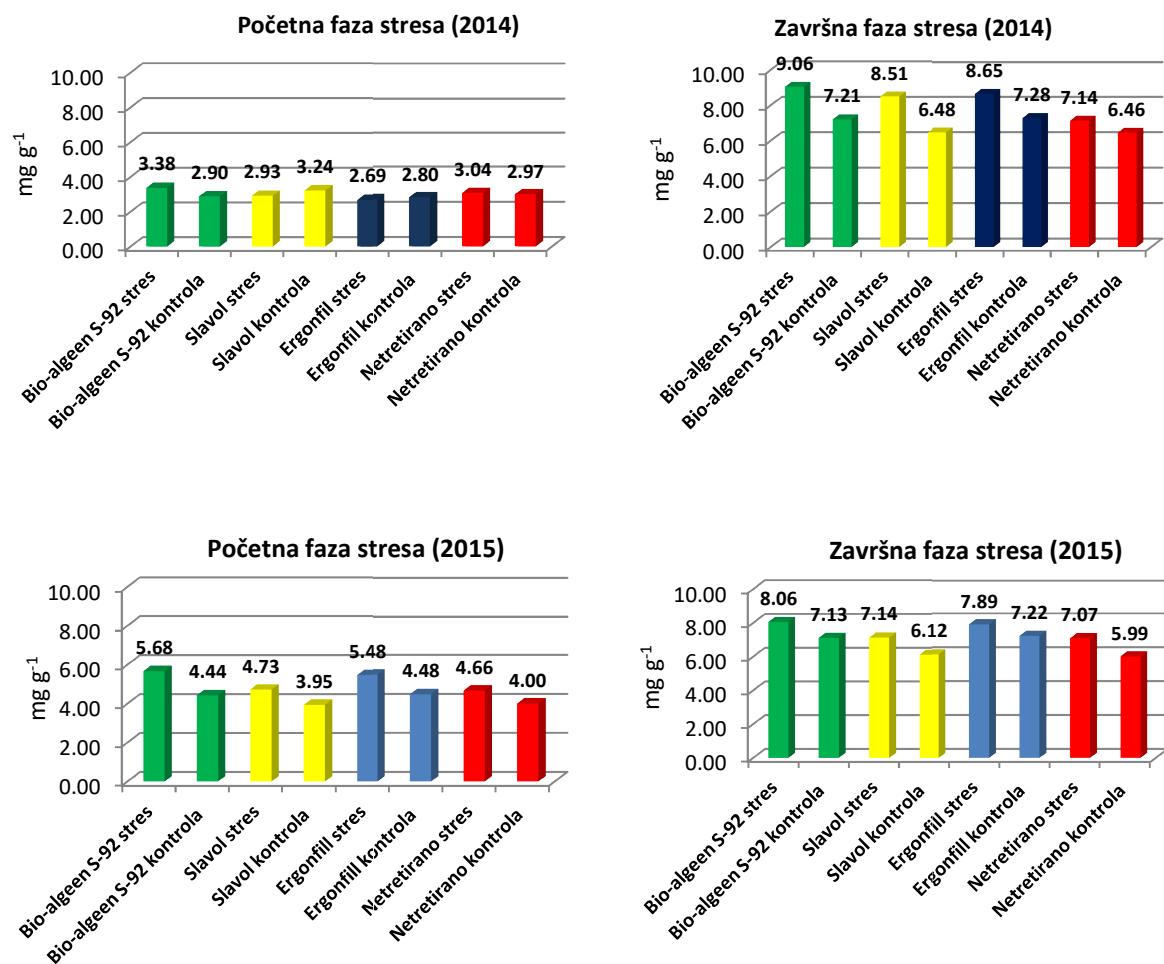
odnosu na neizložene, nezavisno od varijante tretiranja stimulatorom rasta, što ukazuje na činjenicu da biljke u uslovima stresa aktiviraju svoj genetski potencijal u cilju intenzivnije sinteze fenolnih jedinjenja i uopšteno antioksidansa. Navedeni rezultati su podudarni sa rezultatima istraživanja drugih naučnika koji su takođe došli do istih zaključaka (*Bajpai i sar.*, 2005; *Ghasemi i sar.*, 2009; *Mundhe i sar.*, 2011).

Iz podataka prikazanih u tabeli 24 se takođe može vidjeti da je u obje godine ispitivanja sadržaj fenola u listovima presadnica šeri paradajza kod svih ispitivanih varijanti bio znatno veći kod starijih presadnica u odnosu na mlađe, nezavisno od tretmana stimulatorom rasta ili izloženosti presadnica vodnom stresu, što je bilo i očekivano s obzirom da je biljci potrebno neko vrijeme da akumuliše fenolna jedinjenja u svojim celijama.

U obje godine istraživanja najveći uticaj na povećanje sadržaja fenola u listovima presadnica šeri paradajza izloženim vodnom stresu pokazao je stimulator rasta Bio-algeen S92. U 2014. godini je taj uticaj bio statistički značajno veći u odnosu na sve druge varijante ogleda, dok u 2015. godini između Bio-algeena S92 i Ergonfilla nije postojala statistički značajna razlika u pogledu uticaja na povećanje sadržaja ukupnih fenola u listovima presadnica šeri paradajza što ukazuje na činjenicu i da preparat Ergonfill u velikoj mjeri stimulativno utiče na njihovu sintezu. Ovaj zaključak tim više dobija na snazi ukoliko se uzme u obzir činjenica da su u obje godine istraživanja presadnice šeri paradajza tretirane Ergonfillom imale u svojim listovima znatno više flavonoida u odnosu na netretiranu varijantu ili varijantu u kojoj su presadnice bile tretirane Slavolom, nezavisno od uslova rasta u kojima su presadnice bile gajene. Pretpostavka je da je pozitivan učinak Bio-algeena S92 i Ergonfilla na povećanje sadržaja ukupnih fenola u listovima presadnica prvenstveno rezultat visoke zastupljenosti aromatskih aminokiselina (triptofana, tirozina i fenilalanina) u sastavu navedenih preparata, a za koje je poznato da su jedni od važnih prekursora u sintezi fenolnih jedinjenja.

Tokom 2014. godine u završnoj fazi izlaganja presadnica šeri paradajza stresnim uslovima preparat Slavol je u odnosu na netretiranu varijantu takođe pokazao statistički značajan uticaj na povećanje sadržaja fenola u listovima. Navedeno povećanje je utvrđeno i u 2015. godini, ali nije bilo statistički opravdano. Ovi rezultati upućuju na zaključak da je efekat Slavola na povećanje sinteze fenolnih jedinjenja u listovima presadnica šeri paradajza u uslovima stresa znatno manje izražen u odnosu na efekat Bio-algeena S92 i Ergonfilla, ali da ipak doprinosi stvaranju fenolnih jedinjenja. Navedeni doprinos se može obrazložiti prisutnošću hormona auksina i bakterija iz

grupe azotofiksatora i fosfomineralizatora u sastavu Slavola. Naime, auksin utiče na povećanje rasta ćelija, pa samim time i na povećanje apsorpcione površine korijena, a navedene bakterije na veću pristupačnost azota i fosfora u zemljištu što sve zajedno doprinosi boljem usvajaju hranjiva, te posljedično i većim mogućnostima metabolizma biljke da produkuje fenolna jedinjenja i generalno sekundarne metabolite, a rezultati dobijeni u ovom istraživanju idu u pravcu potvrde navedene hipoteze.



Grafikon 19. Sadržaj ukupnih fenola u listovima presadnica šeri paradajza (mg g^{-1} suvog lista) u zavisnosti od izlaganja biljki vodnom stresu i tretmana stimulatorom rasta u 2014. i 2015. godini

Ako se posmatraju samo kontrolne varijante tj. varijante u kojima presadnice šeri paradajza nisu izlagane stresu, iz prikazanih grafikona se može vidjeti da je u obje godine istraživanja

sadržaj ukupnih fenola bio veći u listovima presadnica šeri paradajza tretiranim Bio-algeenom S92 i Ergonfillom u odnosu na presadnice tretirane Slavolom i netretirane presadnice. Navedene opservacije dodatno potvrđuju hipotezu da preparati Bio-algeen S92 i Ergonfill imaju visok potencijal za poticanje metabolizma biljke u pravcu sinteze fenolnih jedinjenja i to nezavisno od uslova u kojima se biljke uzgajaju.

6.7. Sadržaj ukupnih flavonoida u listovima presadnica šeri paradajza

Podaci o sadržaju flavonoida u listovima šeri paradajza (*Lycopersicon esculentum* Mill. "Sakura") u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu prikazani su posebno za svaku godinu istraživanja (tabela 25, grafikon 20 i 21).

Tabela 25. Prosječni sadržaj flavonoida u listovima presadnica šeri paradajza u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i perioda izlaganja biljki vodnom stresu

Varijanta	Sadržaj flavonoida (mg g ⁻¹ suvog lista)			
	2014		2015	
	Početna faza stresa	Završna faza stresa	Početna faza stresa	Završna faza stresa
1. Bio-algeen S-92 (s)	1,30 ± 0,18	3,51 ± 0,15 ^a	3,10 ± 0,17 ^a	4,08 ± 0,23 ^b
1. Bio-algeen S-92 (k)	1,23 ± 0,21	2,47 ± 0,16 ^{de}	2,42 ± 0,05 ^{def}	3,74 ± 0,19 ^{cdef}
2. Slavol (s)	1,13 ± 0,16	3,02 ± 0,17 ^c	2,62 ± 0,11 ^c	3,79 ± 0,11 ^{cd}
2. Slavol (k)	1,14 ± 0,09	2,34 ± 0,09 ^{defg}	2,12 ± 0,14 ^g	3,10 ± 0,11 ^g
3. Ergonfill (s)	1,08 ± 0,28	3,41 ± 0,14 ^{ab}	2,98 ± 0,19 ^{ab}	4,32 ± 0,01 ^a
3. Ergonfill (k)	1,10 ± 0,23	2,45 ± 0,19 ^{def}	2,52 ± 0,14 ^{cde}	3,78 ± 0,10 ^{cde}
4. Netretirano (s)	1,12 ± 0,16	2,53 ± 0,07 ^d	2,52 ± 0,14 ^{cd}	3,86 ± 0,09 ^c
4. Netretirano (k)	1,07 ± 0,28	2,14 ± 0,13 ^g	2,12 ± 0,27 ^g	2,88 ± 0,09 ^g
F test	n.s.**	S.	S.	S.
Lsd _{0,05}	-	0,209	0,133	0,127

Vrijednosti u tabeli su izražene kao srednje vrijednosti ispitivanih uzoraka ± standardna devijacija,

(s) - stres, (k) - kontrola; ** n.s. - nije signifikantan, s. - signifikantan

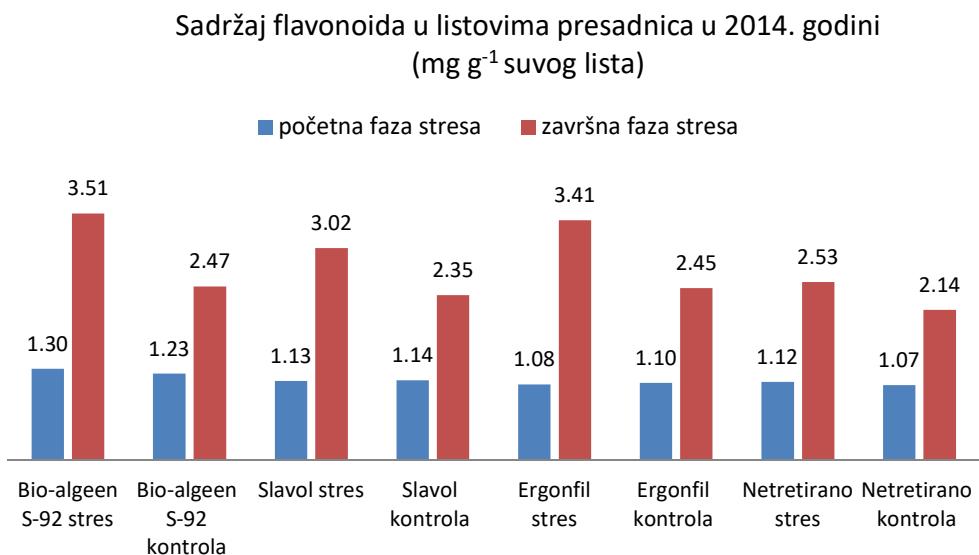
Podaci prikazani u tabeli 25 pokazuju da je sadržaj flavonoida u obje godine istraživanja bio veći u listovima presadnica šeri paradajza izloženim suši u odnosu na presadnice koje su redovno zalijevane, nezavisno od tretmana stimulatorom rasta, što je podudarno sa rezultatima brojnih naučnih radova u kojima je takođe utvrđeno da biljka u uslovima stresa intenzivno kreće u sintezu flavonoida i fenolnih jedinjenja u cijelini (Kubota i sar., 2006; Sanchez-Rodriguez i sar.,

2011; *Srivastava*, 2012). Iz navedenog se može izvući konstatacija da stresni uslovi pokreću mehanizam intenzivnije sinteze flavonoidnih jedinjenja u biljkama.

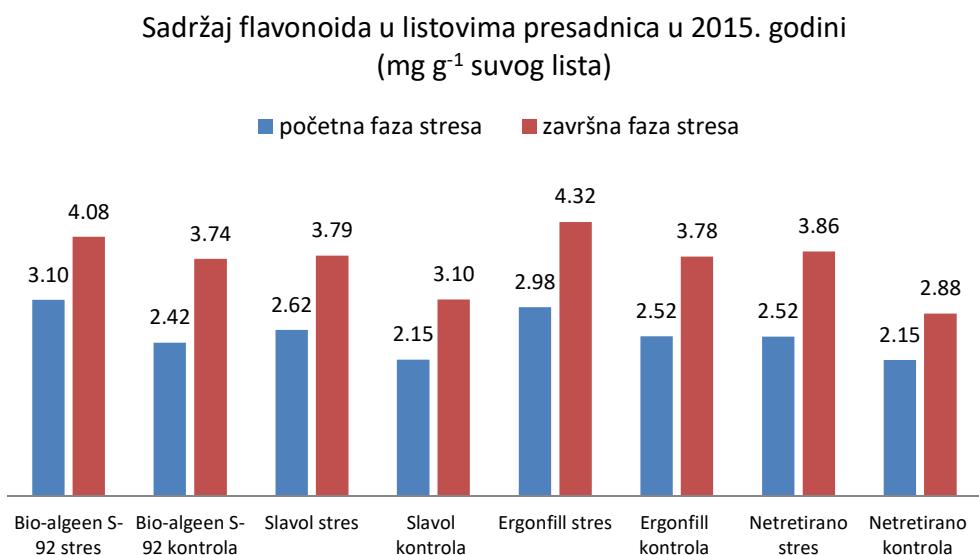
Iz podataka prikazanih u tabeli 28 se takođe može vidjeti da je u završnim fazama izlaganja presadnica stresu najveći sadržaj flavonoida u listovima presadnica paradajza utvrđen u varijantama gdje su presadnice šeri paradajza prethodno bile tretirane Bio-algeenom S92 i Ergonfillom, što je kompatibilno sa dinamikom kretanja ukupnih fenola u zavisnosti od tretmana navedenim stimulatorima rasta.

Preparati Bio-algeen S92 i Ergonfill su i u standardnim uslovima rasta tj. u kontrolnim varijantama gdje presadnice šeri paradajza nisu bile izlagane stresu pokazale najveći efekat na povećanje sadržaja flavonoida u listovima. Ovo zapažanje upućuje na zaključak da preparati Bio-algeen S92 i Ergonfill u uslovima u kojima je provedeno ovo istraživanje pokazuju najveći uticaj na sintezu flavonoida i fenola u cijelini, a pretpostavka je da je razlog tome prvenstveno visok procenat aromatskih aminokiselina (tryptofana, tirozina i fenilalanina) u sastavu navedenih preparata, a za koje je poznato da su važni prekursori u sintezi fenolnih i flavonoidnih jedinjenja.

U obje godine istraživanja preparat Slavol je pokazao znatno manji efekat na povećanje sadržaja flavonoida u listovima presadnica šeri paradajza u odnosu na Bio-algeen S92 i Ergonfill, nezavisno od toga da li su presadnice nakon tretmana bile izlagane stresnim uslovima ili ne. Iz navedenog se može zaključiti da Slavol znatno manje pridonosi povećanju sinteze flavonoidnih jedinjenja u biljci u odnosu na Bio-algeen S92 i Ergonfill, a za pretpostaviti je da je uzrok tome razlika u sastavu navedenih preparata, što za posljedicu ima i drugačiji uticaj na sintezu flavonoidnih jedinjenja.



Grafikon 20. Sadržaj flavonoida u listovima presadnica u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i perioda izlaganja biljki vodnom stresu u 2014. godini



Grafikon 21. Sadržaj flavonoida u listovima presadnica u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i perioda izlaganja biljki vodnom stresu u 2015. godini

6.8. Ukupni antioksidacijski kapacitet u listovima presadnica šeri paradajza

Vrijednosti ukupnog antioksidacijskog kapaciteta u listovima šeri paradajza (*Lycopersicon esculentum* Mill. "Sakura") u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica uslovima stresa prikazani su posebno za svaku godinu istraživanja (tabela 26, grafikon 22 i 23).

Tabela 26. Prosječne vrijednosti za ukupni antioksidacijski kapacitet u listovima u zavisnosti od varijante tretiranja stimulatorom rasta i izloženosti presadnica stresu

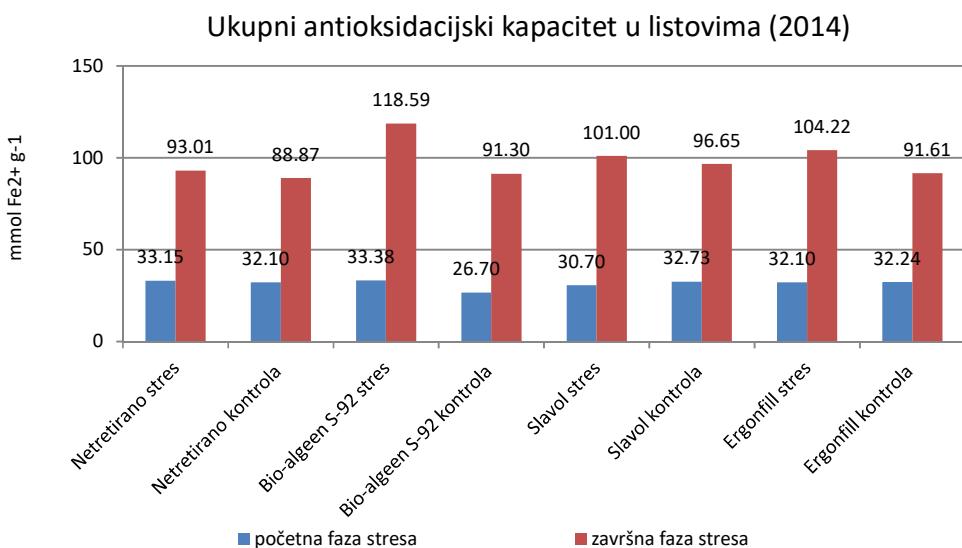
Varijanta	Ukupni antioksidacijski kapacitet FRAP ($\mu\text{mol Fe}^{2+} \text{g}^{-1}$ suvog lista)			
	2014		2015	
	Početna faza stresa	Završna faza stresa	Početna faza stresa	Završna faza stresa
1. Bio-algeen S-92 (s)	33,71 \pm 1,00 ^a	118,59 \pm 1,97 ^a	59,31 \pm 6,25 ^{ab}	140,03 \pm 5,78 ^b
1. Bio-algeen S-92 (k)	26,70 \pm 2,22 ^c	91,30 \pm 2,70 ^{cd}	48,05 \pm 4,88 ^c	123,68 \pm 3,29 ^{ef}
2. Slavol (s)	30,69 \pm 2,15 ^b	101,00 \pm 2,03 ^b	57,23 \pm 7,16 ^{abc}	132,51 \pm 3,18 ^{cd}
2. Slavol (k)	32,73 \pm 3,11 ^{ab}	86,65 \pm 1,74 ^e	47,23 \pm 4,41 ^e	114,19 \pm 6,85 ^g
3. Ergonfill (s)	32,10 \pm 1,22 ^{ab}	104,22 \pm 2,11 ^b	62,87 \pm 18,42 ^a	152,01 \pm 12,13 ^a
3. Ergonfill (k)	32,24 \pm 1,11 ^{ab}	91,61 \pm 1,86 ^{cd}	50,48 \pm 7,92 ^{cde}	127,94 \pm 7,01 ^{de}
4. Netretirano (s)	33,15 \pm 2,12 ^{ab}	93,01 \pm 4,20 ^c	56,22 \pm 11,49 ^{abcd}	133,93 \pm 5,63 ^c
4. Netretirano (k)	32,10 \pm 1,47 ^{ab}	78,87 \pm 2,30 ^f	43,88 \pm 4,17 ^e	102,87 \pm 1,68 ^g
F test	s.**	s.	s.	s.
Lsd _{0,05}	2,89	4,20	7,91	5,70

Vrijednosti u tabeli su izražene kao srednje vrijednosti ispitivanih uzoraka \pm standardna devijacija, (s) - stres, (k) - kontrola; ** s. - signifikantan

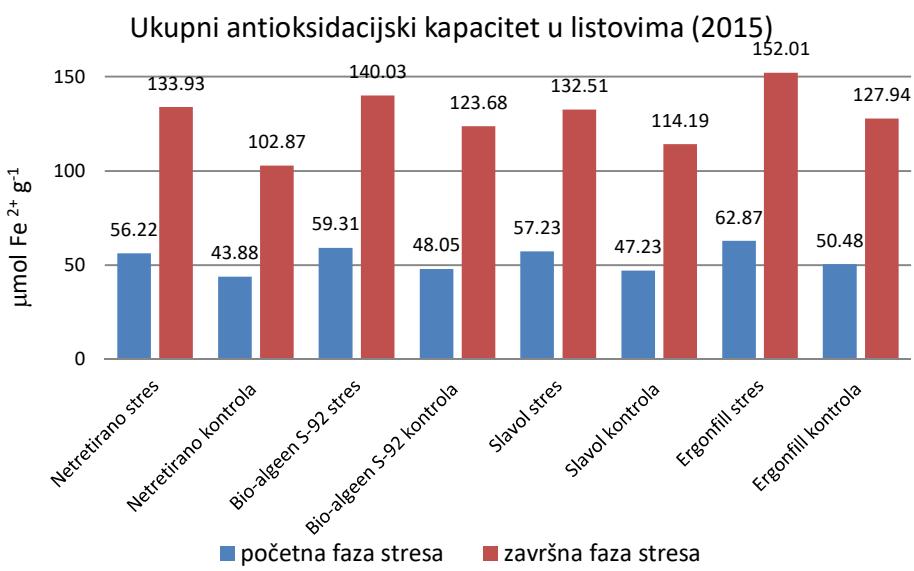
Iz prikazanih podataka se može konstatovati da je u obje godine istraživanja u svim ispitivanim varijantama vrijednost ukupnog antioksidacijskog kapaciteta (FRAP) u završnoj fazi ispitivanja statistički značajno veća bila u listovima presadnica izloženim vodnom stresu u odnosu na njihove kontrole koje su bile redovno zalijevane, nezavisno od korišćenog stimulatora rasta. Navedeni rezultati su saglasni sa rezultatima mnogih naučnika koji su takođe potvrdili hipotezu da biljke u stresnim uslovima u granicama svog genetskog potencijala nastoje pojačati svoj mehanizam odbrane od oksidacijskih oštećenja na način da unutar svog metabolizma pokreću sintezu materija koje imaju antioksidativno djelovanje (Vernieri i sar., 2002; Wojdylo i sar., 2007). Toor i sar. (2005) u zaključcima svoga istraživanja navode da je u antioksidacijski odbrambeni sistem biljke protiv stresa uključen veliki broj enzimskih i neenzimskih antioksidansa, a među njima posebno jedinjenja fenolne prirode. Smatra se da se antioksidacijski

učinak fenolnih jedinjenja zasniva prvenstveno na njihovoj sposobnosti da u direktnoj reakciji sa slobodnim radikalima unište ili neutrališu njihovo negativno djelovanje i to tako da im doniraju nedostajući elektron, a da pri tome sami ostanu stabilni. Fenolna jedinjenja imaju i sposobnost vezanja redukovanih jona prelaznih metala (Fe^{2+} , Cu^+) uslijed čega se sprečava njihovo stupanje u reakciju sa vodonik peroksidom i stvaranje reaktivnih hidroksilnih radikala. Osim navedenog, prisustvo fenola utiče povoljno na aktivnost antioksidacijskih enzima, kao i na inhibiranje oksidaza, što sve djeluje na jačanje antioksidativnog odbrambenog sistema biljke u uslovima stresa (López-Cobo *i sar.*, 2014).

Rezultati ovog dijela istraživanja su takođe pokazali da su u završnoj fazi izlaganja presadnica stresu vrijednosti ukupnog antioksidacijskog kapaciteta u listovima presadnica tretiranim Bio-algeenom S92 i Ergonfillom, bile statistički značajno više u odnosu na vrijednosti dobijene u netretiranim presadnicama te presadnicama tretiranim Slavolom. I ovi rezultati idu u prilog tezi da primjena Bio-algeena S92 i Ergonfilla ima svoju opravdanost u uzgoju šeri paradajza, posebno u uslovima gdje biljci potencijalno prijeti opasnost od suše.



Grafikon 22. Ukupni antioksidacijski kapacitet u listovima u zavisnosti od varijante primjenestimulatora rasta i perioda izlaganja presadnica vodnom stresu u 2014. godini



Grafikon 23. Ukupni antioksidacijski kapacitet u listovima u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i perioda izlaganja presadnica vodnom stresu u 2015. godini

6.9. Rezultati korelace analize između sadržaja fenola/flavonoida i antioksi-dacijskog kapaciteta u listovima presadnica šeri paradajza

Primjenom korelace analize za svaku varijantu eksperimenta ispitana je zavisnost sadržaja ukupnih fenola/flavonoida i ukupnog antioksidacijskog kapaciteta u listovima presadnica šeri paradajza (*Lycopersicon esculentum* Mill. "Sakura"), a dobijene vrijednosti za Pearsonov koeficijent korelacija (r) prikazane su u tabelama 27 i 28.

Tabela 27. Izračunate vrijednosti Pearsonovog koeficijenta korelacije (r) između ispitivanih varijabli za ogled sproveden 2014. godine

Varijanta	Početna faza stresa		Završna faza stresa		2014. godina
	Fenoli	Flavonoidi	Fenoli	Flavonoidi	
1. Bio-algeen S92 (s)	0,88	0,91	0,99	0,99	FRAP
1. Bio-algeen S92 (k)	0,99	0,97	0,93	0,98	
2. Slavol (s)	0,79	0,89	0,96	0,94	
2. Slavol (k)	0,99	0,99	0,99	0,99	
3. Ergonfill (s)	0,98	0,93	0,92	0,96	
3. Ergonfill (k)	0,97	0,92	0,89	0,98	
4. Netretirano (s)	0,94	0,98	0,99	0,99	
4. Netretirano (k)	0,99	0,86	0,93	0,93	

(s) - stres, (k) - kontrola

Tabela 28. Izračunate vrijednosti Pearsonovog koeficijenta korelacije (r) između ispitivanih varijabli za ogled proveden 2015. godine

Varijanta	Početna faza stresa		Završna faza stresa		2015. godina
	Fenoli	Flavonoidi	Fenoli	Flavonoidi	
1. Bio-algeen S92 (s)	0,99	0,98	0,99	0,88	FRAP
1. Bio-algeen S92 (k)	0,99	0,94	0,99	0,86	
2. Slavol (s)	0,86	0,95	0,82	0,91	
2. Slavol (k)	0,98	0,91	0,99	0,89	
3. Ergonfill (s)	0,83	0,81	0,99	0,99	
3. Ergonfill (k)	0,99	0,97	0,96	0,82	
4. Netretirano (s)	0,98	0,93	0,99	0,99	
4. Netretirano (k)	0,99	0,99	0,98	0,89	

(s) - stres, (k) - kontrola

U obje godine istraživanja rezultati provedene korelacione analize su ukazali na postojanje vrlo jake pozitivne korelacije ($r>0,75$) između sadržaja fenola/flavonoida i ukupnog antioksidacijskog kapaciteta u listovima presadnica šeri paradajza nezavisno od tretmana stimulatorom rasta ili izloženosti presadnica vodnom stresu.

Dobijeni rezultati upućuju na zaključak da su fenoli i flavonoidi jedni od glavnih nosilaca antioksidacijskog kapaciteta biljke, a što je saglasno i sa rezultatima brojnih drugih istraživanja u kojima je ispitivana navedena problematika (Cevallos - Casals i Cisneros - Zevallos, 2003; Javanmardi i sar., 2003; Hasna i Afidah, 2009). Takav zaključak je bio i očekivan ako se uzme u obzir činjenica da su antioksidativne osobine fenolnih i flavonoidnih jedinjenja već odavno utvrđene i poznate (Korkina, 2007).

Ako se posmatra korelacija između sadržaja fenola/flavonoida i ukupnog antioksidacijskog kapaciteta u zavisnosti isključivo od izloženosti presadnica stresu, izračunate vrijednosti Pearsenovog koeficijenta korelacije su pokazali da je jačina korelace veze između sadržaja fenola/flavonoida i ukupnog antioksidacijskog kapaciteta nešto viša ukoliko su presadnice šeri paradajza izložene uslovima vodnog stresa.

Iz navedenog se može pretpostaviti da je doprinos fenola/flavonoida ukupnom antioksidacijskom kapacitetu biljke u uslovima stresa viši u odnosu na standardne uslove gajenja, odnosno da biljka u uslovima stresa intenzivnije produkuje fenolna i flavonoidna jedinjenja, a što je podudarno sa rezultatima navedenim u mnogim istraživanjima (*Shao i sar.*, 2008; *Suzuki i sar.*, 2012).

Iz podataka prikazanih u tabelama 27 i 28 takođe se može vidjeti da su u obje godine istraživanja unutar istih uslova gajenja vrijednosti Pearsenovog koeficijenta korelacije bile veće između ukupnih fenola i ukupnog antioksidacijskog kapaciteta (0,81 - 0,87) u poređenju sa vrijednostima Pearsenovog koeficijenta korelacije utvrđenih između ukupnih flavonoida i ukupnog antioksidacijskog kapaciteta (0,75 - 0,83), međutim te razlike nisu uticale na stepen jačine korelace veze.

Generalno posmatrano, rezultati sprovedene korelace analize potvrđuju hipotezu da porast sadržaja fenola i flavonoida u listovima direktno utiče na povećanje vrijednosti antioksidativnog kapaciteta presadnica šeri paradajza, te da ta povezanost posebno izražena u stresnim uslovima gajenja.

6.10. Rastvorljiva suva materija i ukupna kiselost u plodovima šeri paradajza

Rezultati analize rastvorljive suve materije i ukupne kiselosti u plodovima šeri paradajza (*Lycopersicon esculentum* Mill. "Sakura") u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu prikazani su posebno za svaku godinu istraživanja (tabela 29).

Tabela 29. Prosječne vrijednosti za rastvorljivu suvu materiju i ukupnu kiselost u plodovima šeri paradajza u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu

Varijanta	rastvorljiva suva materija (Brix)		ukupna kiselost (%)	
	2014	2015	2014	2015
1. Bio-algeen S92 (s)	6,55 ± 0,13 ^{abc}	6,59 ± 0,13 ^{abcd}	0,64 ± 0,01 ^{bcd}	0,64 ± 0,01 ^{bcd}
1. Bio-algeen S92 (k)	6,49 ± 0,18 ^{bc}	6,54 ± 0,07 ^{cde}	0,62 ± 0,02 ^c	0,61 ± 0,02 ^c
2. Slavol (s)	6,66 ± 0,13 ^{ab}	6,69 ± 0,17 ^a	0,65 ± 0,03 ^{ab}	0,65 ± 0,02 ^{ab}
2. Slavol (k)	6,43 ± 0,20 ^c	6,42 ± 0,15 ^{e fg}	0,62 ± 0,01 ^{cde}	0,62 ± 0,01 ^c
3. Ergonfill (s)	6,58 ± 0,18 ^{abc}	6,59 ± 0,08 ^{abc}	0,64 ± 0,02 ^{bc}	0,64 ± 0,01 ^{bc}
3. Ergonfill (k)	6,47 ± 0,10 ^c	6,50 ± 0,11 ^{c def}	0,62 ± 0,01 ^{de}	0,62 ± 0,02 ^c
4. Netretirano (s)	6,67 ± 0,17 ^a	6,66 ± 0,23 ^{ab}	0,67 ± 0,01 ^a	0,66 ± 0,02 ^a
4. Netretirano (k)	6,41 ± 0,25 ^c	6,34 ± 0,12 ^g	0,63 ± 0,01 ^{cde}	0,62 ± 0,01 ^c
F test	S. **	S.	S.	S.
LSD _{0,05}	0,176	0,12	0,019	0,014

Vrijednosti u tabeli su izražene kao srednje vrijednosti ispitivanih uzoraka ± standardna devijacija, (s) - stres, (k) - kontrola, ** s - signifikantan

Podaci prikazani u tabeli 29 pokazuju da su vrijednosti za sadržaj rastvorljive suve materije u kojoj šećeri čine najveći udio, te ukupne kiselosti u plodovima šeri paradajza bile više u varijantama gdje su presadnice šeri paradajza bile izložene stresnim uslovima, nezavisno od toga da li su presadnice prethodno bile tretirane stimulatorom rasta ili ne. Navedeni podaci slažu se sa rezultatima istraživanja mnogih drugih naučnika koji su takođe utvrdili da biljke u stresnim uslovima akumulišu više šećera i kiselina u svojim plodovima (*Bertin i sar.*, 2000; *Giannakoula i Ilias*, 2013; *Gunawardena i De Silva*, 2015).

Guichard i sar. (2001) smatraju da je viši sadržaj rastvorljive suve materije u plodovima biljaka izloženim vodnom stresu prvenstveno rezultat smanjene mogućnosti usvajanja vode, a samim time i akumulacije vode u plodovima, dok *Beckles i sar.* (2012) navode da je viši sadržaj rastvorljive suve materije, odnosno šećera u plodovima biljaka u uslovima stresa u prvom redu posljedica djelovanja enzima usko vezanih uz transport i metabolizam šećera (enzimi iz grupe šećernih fosfataza), a do čije jače aktivacije dolazi ukoliko se biljka nađe u navedenim uslovima.

Iz podataka prikazanih u tabeli 29 se može vidjeti da je u standardnim uslovima rasta (bez izlaganja stresu), primjena svih stimulatora rasta iskazala pozitivan učinak na povećanje sadržaja rastvorljive suve materije u plodovima šeri paradajza u odnosu na netretiranu varijantu. Navedeni efekat je bio i očekivan, ako se uzme u obzir da korišćeni preparati u sebi sadrže visok udio azotnih jedinjenja, mikroelemenata i drugih bioaktivnih supstanci neophodnih za uspješno

provođenje fotosinteze, što kao rezultat ima stvaranje šećera. Najveći sadržaj šećera, odnosno rastvorljive suve materije pri standardnim uslovima rasta je utvrđen u varijanti gdje je korišćen Slavol i to za obje godine istraživanja, ali to povećanje je bilo statistički opravdano samo u odnosu na netretiranu varijantu, ali ne i na varijante gdje su korišćeni drugi stimulatori rasta.

Rezultati ovog istraživanja su pokazali da u uslovima rasta, gdje presadnice šeri paradajza nisu izlagane stresu, nije postojala statistički značajna razlika u sadržaju ukupne kiselosti u plodovima šeri paradajza nezavisno od ispitivane varijante, premda je u varijantama gdje su korišćeni stimulatori rasta sadržaj ukupnih kiselina bio jednak ili nešto niži u odnosu na netretiranu varijantu. Ako se uzme u obzir činjenica da plodovi sa više šećera u pravilu imaju niži sadržaj kiselina, dobijeni rezultati su bili i očekivani.

6.11. Sadržaj vitamina C u plodovima šeri paradajza

Rezultati analize sadržaja vitamina C u plodovima šeri paradajza (*Lycopersicon esculentum* Mill. "Sakura") u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu prikazani su posebno za svaku godinu istraživanja (tabela 30).

Tabela 30. Prosječni sadržaj vitamina C u plodovima šeri paradajza u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica vodnom stresu

Varijanta	Vitamin C (mg 100 g ⁻¹ svježeg ploda)	
	2014. godina	2015. godina
1. Bio-algeen S92 (s)	13,55 ± 1,00	13,77 ± 1,34
1. Bio-algeen S92 (k)	13,22 ± 0,33	13,33 ± 0,67
2. Slavol (s)	13,66 ± 0,34	13,77 ± 0,67
2. Slavol (k)	13,11 ± 0,66	13,66 ± 1,00
3. Ergonfill (s)	13,33 ± 1,33	13,66 ± 1,00
3. Ergonfill (k)	13,11 ± 0,67	13,22 ± 1,00
4. Netretirano (s)	13,33 ± 0,33	13,66 ± 0,66
4. Netretirano (k)	12,77 ± 0,67	13,22 ± 1,00
F test	n.s.**	n.s.

Vrijednosti u tabeli su izražene kao srednje vrijednosti ispitivanih uzoraka ± standardna devijacija, (s) - stres, (k) - kontrola, **n.s. - nije signifikantan

Podaci prikazani u tabeli 30 pokazuju da je sadržaj vitamina C u plodovima šeri paradajza bio veći u varijantama gdje su presadnice prethodno bile izložene vodnom stresu, nezavisno od

tretmana stimulatorom rasta, ali to povećanje nije bilo statistički opravdano u nijednoj godini istraživanja.

U sprovedenom istraživanju prosječne vrijednosti za sadržaj vitamina C u plodu šeri paaradajza su se kretale od 12,77 do 13,77 mg 100 g⁻¹ svježeg ploda, što je u kompatibilnosti sa rezultatima navedenim u nekim naučnim radovima za ovaj parametar ispitivanja (*Akbudak i sar.*, 2007; *Cotrut i Badulescu*, 2016; *Duma i sar.*, 2017).

U pregledu literature uočeni su radovi u kojima je navedena znatno veća vrijednost za sadržaj vitamina C u plodovima šeri paradajza; od 23 - 35 mg 100 g⁻¹ u radu *Caron i sar.* (2013), ali i iznad 50 mg 100 g⁻¹ svježeg ploda koliko je navedeno u radu *Aguirre i Cabrere* (2012). Iz pregleda literature se takođe moglo vidjeti da sadržaj vitamina C u plodovima šeri paradajza, osim o sortimentu, zavisi i od momenta berbe, te uslova u kojima se plodovi skladište (*Gharezi i sar.*, 2012). Takođe i stresni uslovi mogu uvelike uticati na sintezu vitamina C u biljci, a povećani sadržaj navedenog jedinjenja u plodovima šeri paradajza uslijed izloženosti biljaka stresnim uslovima utvrđen je u radovima mnogih naučnika (*Serio i sar.*, 2004; *Stevens i sar.*, 2008; *Gill i Tuteja*, 2010).

Khan i sar. (2011) u svom radu navode da otpornost biljaka na stresne uslove u velikoj mjeri zavisi od sposobnosti biljke da u svojim ćelijama poveća sintezu vitamina C. Hipoteza navedena u njihovom radu je da stresni uslovi potiču sintezu vitamina C u biljci, te da je spomenuti efekat posljedica aktiviranja gena usko vezanih uz metabolizam vitamina C, a do čije jače aktivacije dolazi u slučaju izloženosti biljke stresnim uslovima.

Povećani sadržaj vitamina C je u svakom slučaju vrlo poželjan u biljci, posebno ako se uzme u obzir činjenica da je navedeno jedinjenje jedan od najefikasnijih antioksidanasa u biljnog organizmu. Naime, vitamin C je u stanju neutralisati slobodne radikale, prvenstveno superoksidni i hidroksilni radikal na način da im preda nedostajući elektron, pri čemu se on sam oksidiše u dehidroaskorbinsku kiselinu. Ovaj efekat inaktivacije postiže zahvaljujući svojoj strukturi, odnosno posjedovanju endiolne grupe koja mu omogućuje snažna redukovana svojstva.

Osim toga, vitamin C je po istom principu sposoban da ukloni i lipidne radikale, odnosno sekundarne produkte lančanih reakcija u terminalnoj fazi lipidne peroksidacije, a takođe je u stanju i da stvara komplekse sa teškim metalima, čime inaktivira njihovo negativno djelovanje (*Gallie*, 2013).

Li i sar. (2012) u svom naučnom radu navode da vitamin C u iznimnim situacijama, konkretno u slučaju visoke zastupljenosti vitamina C i nevezanih metalnih jona (Fe^{3+} , Cu^{2+}) u biljnim ćelijama, može iskazati i pro-oksidativna svojstva, odnosno pospješiti nastajanje novih slobodnih radikala. U takvim uslovima, vitamin C redukuje trovalentne jone željeza (Fe^{3+}) i dvovalentne jone bakra (Cu^{2+}) u redukovane oblike (Fe^{2+} , Cu^{+}) koji zatim mogu stupiti u reakciju sa vodonik peroksidom (Fentonova reakcija) uslijed čega nastaju izuzetno štetni hidroksilni radikali. Imajući u vidu da se metalni joni u biljnoj ćeliji nalaze većinom vezani u kompleksima sa proteinima, te da je u ćeliji koncentracija vitamina C rijetko iznimno visoka, u normalnim fiziološkim uslovima preovladava antioksidativna uloga vitamina C (*Arrigoni i De Tullio, 2000*).

Osim na antioksidativni sistem biljke, vitamin C pozitivno utiče i na antioksidativni sistem čovjeka, te se stoga u poljoprivredi različitim agrotehničkim mjerama pokušava uticati na povećanje njegovog sadržaja u jestivim dijelovima biljke. Izlaganje biljaka kontrolisanim stresnim uslovima svakako može biti jedna od mjera koja ide u navedenom pravcu, što potvrđuju i rezultati ovog istraživanja. Primjena stimulatora rasta je takođe jedna od agrotehničkih mjer sa kojom bi se mogao postići navedeni efekat, ali taj efekat zavisi od sastava preparata, te od sposobnosti biljke da supstance u preparatu iskoristi u pravcu stimulacije metabolizma biljke usko vezanog uz sintezu vitamina C.

U ovom istraživanju, tretman presadnica šeri paradajza preparatima Bio-algeenom S92 i Slavolom u standardnim uslovima rasta je povećao sadržaj vitamina C u plodovima u odnosu na netretiranu varijantu, te na varijantu u kojoj su presadnice bile tretirane Ergonfillom, ali to povećanje nije bilo statistički opravdano ni u jednoj godini istraživanja. Dobijeni rezultati su oprečni sa rezultatima istraživanja drugih naučnika (*Al-Amri, 2013; Jędrzczak i Ambroszczak, 2016*) u kojima je povećanje sadržaja vitamina C u plodovima paradajza uslijed tretmana presadnica stimulatorima rasta bilo statistički opravdano.

Generalno posmatrano, pregled literature o navedenoj tematici ukazuje da je efekat primjene nekog stimulatora rasta na sadržaj vitamina C u plodovima paradajza vrlo kompleksan, te da u velikoj mjeri zavisi od sastava korištenog stimulatora, genotipu biljke, te od agro-ekoloških uslova u kojima se biljka uzgaja.

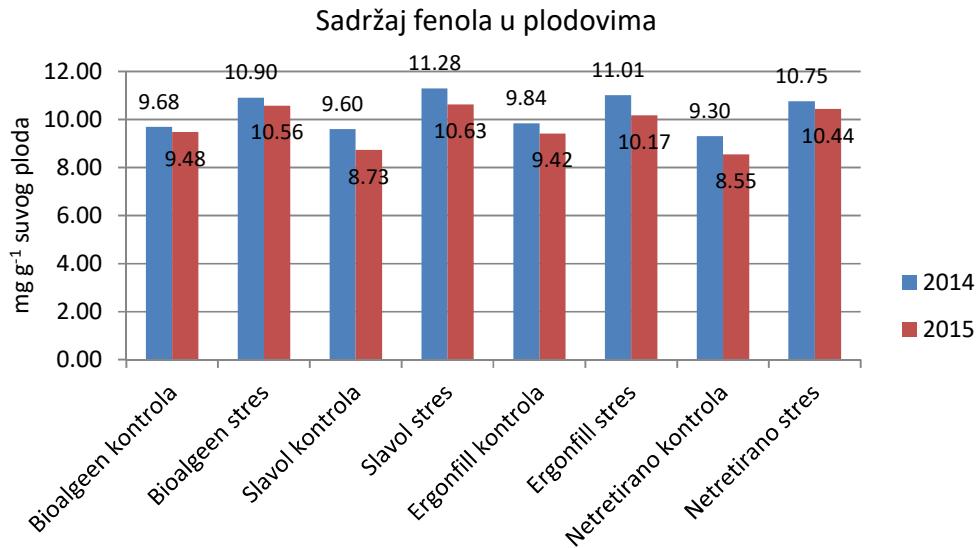
6.12. Sadržaj ukupnih fenola u plodovima šeri paradajza

Podaci o sadržaju fenola u plodovima šeri paradajza (*Lycopersicon esculentum* Mill. "Sakura") u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica vodnom stresu prikazani su posebno za svaku godinu istraživanja (tabela 31 i grafikon 24).

Tabela 31. Prosječni sadržaj fenola u plodovima šeri paradajza u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu

Varijanta	Sadržaj ukupnih fenola (mg g ⁻¹ suvog ploda)	
	2014. godina	2015. godina
1. Bio-algeen S92 (s)	10,90 ± 0,49 ^{abc}	10,56 ± 0,81 ^{ab}
1. Bio-algeen S92 (k)	9,68 ± 0,79 ^e	9,48 ± 0,56 ^e
2. Slavol (s)	11,28 ± 0,49 ^a	10,63 ± 0,57 ^a
2. Slavol (k)	9,60 ± 0,78 ^e	8,73 ± 0,50 ^g
3. Ergonfill (s)	11,01 ± 0,61 ^{ab}	10,17 ± 0,32 ^{abcd}
3. Ergonfill (k)	9,84 ± 0,73 ^e	9,42 ± 1,00 ^{ef}
4. Netretirano (s)	10,75 ± 0,64 ^{abcd}	10,44 ± 0,37 ^{abc}
4. Netretirano (k)	9,30 ± 0,42 ^e	8,55 ± 1,06 ^g
F test	s. **	s.
LSD _{0,05}	0,626	0,617

Vrijednosti u tabeli su izražene kao srednje vrijednosti ispitivanih uzoraka ± standardna devijacija, * - signifikantan (s) - stres, (k) - kontrola, ** s - signifikantan



Grafikon 24. Sadržaj ukupnih fenola u plodovima šeri paradajza u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu u 2014. i 2015. godini

Visina sadržaja fenolnih jedinjenja u plodovima biljke je u velikoj mjeri pod uticajem faktora okoline, posebno ukoliko se biljke uzgajaju u uslovima vodnog stresa (*Petrozza i sar.*, 2014), a što potvrđuju i rezultati ovog dijela istraživanja.

U ovom istraživanju vrijednosti za sadržaj fenolnih jedinjenja u plodovima šeri paradajza su bile statistički značajno više u varijantama gdje su presadnice šeri paradajza bile izložene uslovima vodnog stresa, nezavisno od toga da li su prethodno bile tretirane stimulatorom rasta ili ne. Navedeni rezultati su podudarni sa rezultatima istraživanja mnogih drugih naučnika koji su takođe utvrdili da biljke u stresnim uslovima akumulišu više fenolnih jedinjenja u svojim plodovima (*Murshed i sar.*, 2013; *Okunlola i sar.*, 2015).

Povećana sinteza fenolnih jedinjenja u biljci u uslovima stresa se smatra jednim od ključnih odgovora biljke na vodni stres. Naime, nedostatak vode, osim što utiče na smanjenje rasta i fotosintetske aktivnosti biljke, uveliko utiče i na poremećaj transporta elektrona u procesima fotosinteze i disanja, što za posljedicu ima povećano nakupljanje slobodnih radikala u biljnim ćelijama, u prvom redu reaktivnih kiseonikovih vrsta čijom aktivacijom dolazi do razgradnje stabilnih molekula unutar biljnih ćelija. U cilju sprečavanja negativnog djelovanja slobodnih radikala, biljke intenzivno pokreću procese sekundarnog metabolizma koji kao svoj ishod imaju povećanu sintezu antioksidativnih supstanci, a među njima i fenolnih jedinjenja (*Barbagallo i sar.*, 2013).

Postoje mnoge teorije koje nastoje objasniti razloge za pokretanje nagle sinteze fenolnih jedinjenja u biljci uslijed njene izloženosti stresnim uslovima. *Khan i sar.* (2015) u zaključcima svoga istraživanja navode da nedostatak vode u početnoj fazi vodnog stresa više usporava rast biljke, nego proces fotosinteze, uslijed čega se trenutni višak organskih materija nastalih u procesu fotosinteze usmjerava u procese sekundarnog metabolizma, a što rezultuje većom sintezom organskih antioksidanasa, u prvom redu fenolnih jedinjenja. Slična zapažanja u svom radu iznijeli su *Cramer i sar.* (2011).

Uzevši u obzir činjenicu da fenoli pokazuju pozitivan uticaj i na jačanje imuniteta čovjeka, njihova veća količina u jestivim dijelovima biljke je itekako poželjna, a jedan od načina kojim se to može postići je svakako kontrolisano izlaganje biljaka uslovima vodnog stresa, što potvrđuju i rezultati ovog istraživanja.

Iz podataka prikazanih u tabeli 31 se može konstatovati da tokom 2014. godine primjena stimulatora rasta, u standardnim uslovima rasta, tj. u uslovima u kojima presadnice nisu bile

izlagane stresu, nije pokazala statistički značajan uticaj na povećanje sadržaja fenolnih jedinjenja u plodovima šeri paradajza u odnosu na netretiranu varijantu. Tokom 2015. godine pri istim uslovima rasta primjena Slavola takođe nije statistički značajno uticala na povišenje sadržaja fenolnih jedinjenja u plodovima šeri paradajza u odnosu na netretiranu varijantu, što se ne može konstatovati za preparate Bio-algeen S92 i Ergonfill koji su te godine pokazali statistički značajan uticaj na navedeni parametar ispitivanja u datim uslovima gajenja.

Dobijeni rezultati, posebno u 2014. godini, su bili pomalo neočekivani ako se uzme u obzir činjenica da je primjena svih korišćenih preparata u uslovima rasta (bez stresa) statistički vrlo značajno uticala na povišenje sadržaja fenolnih jedinjenja u listovima presadnica šeri paradajza u odnosu na netretirane presadnice. Jedan od mogućih razloga za objašnjenje slabijeg efekta korišćenih preparata na sadržaj ukupnih fenola u plodovina šeri paradajza je vrijeme njihove primjene. Naime, svi stimulatori rasta u ovom ogledu su primijenjeni u periodu prije zametanja plodova, tako da njihov efekat na sadržaj fenolnih jedinjenja u plodovima šeri paradajza samim time i nije mogao biti u velikoj mjeri izražen.

Razlog slabijem uticaju Slavola na povišenje sadržaja fenolnih jedinjenja u plodovima šeri paradajza u odnosu na preparate Bioalgeen S92 i Ergonfill je najvjerojatnije posljedica razlika u sastavima navedenih preparata. Kao što je u opisu preparata navedeno, Slavol je biološki preparat čiji je sastav koncipiran na bazi korisnih mikroorganizama, bakterija iz grupe azotofiksatora i fosfomineralizatora čija sposobnost preživljavanja i distribucija unutar uzgojnog medija, a samim time i njihova efikasnost nije zagarantovana, već zavisi od mnogo faktora, u prvom redu interakcije u sistemu biljka-mikroorganizmi, te hemijsko-fizičkih osobina uzgojnog supstrata (*Menge i Chazdon, 2016; Hungria i sar., 2013*).

Za razliku od Slavola, preparati Bio-algeen S92 i Ergonfill u sebi sadrže visok udio pristupačnih oblika makroelemenata: azota, fosfora, kalijuma, te mikroelemenata i drugih bioaktivnih materija koji pozitivno utiču na metabolizam biljke, što bi se u krajnjem trebalo odraziti i na veću sintezu fenolnih jedinjenja i uopšteno sekundarnih metabolita, a rezultati ovog istraživanja su u velikoj mjeri navedenu hipotezu i potvrdili. Osim toga preparati Bio-algeen S92 i Ergonfill u sebi sadrže i visok udio aromatskih aminokiselina (triptofan, tirozin i fenilalanin), važnih prekursora u sintezi fenolnih jedinjenja, što dodatno doprinosi njihovoј sintezi u biljnim celijama.

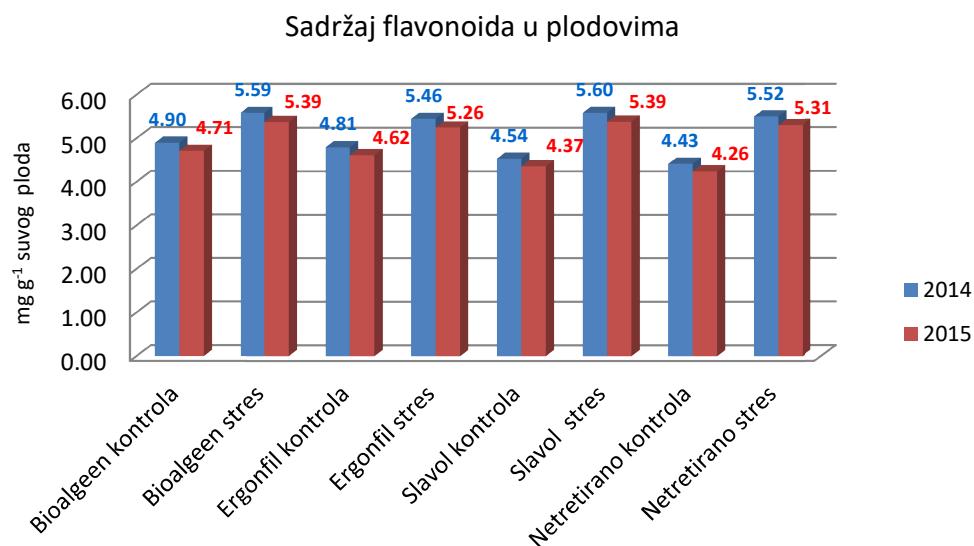
6.13. Sadržaj ukupnih flavonoida u plodovima šeri paradajza

Podaci o sadržaju flavonoida u plodovima šeri paradajza (*Lycopersicon esculentum* Mill. "Sakura") u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica vodnom stresu prikazani su posebno za svaku godinu istraživanja (tabela 32 i grafikon 25).

Tabela 32. Prosječni sadržaj flavonoida u plodovima šeri paradajza u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu

Varijanta	Sadržaj ukupnih flavonoida (mg g^{-1} suvog ploda)	
	2014. godina	2015. godina
1. Bio-algeen S92 (s)	$5,59 \pm 0,50^{\text{ab}}$	$5,39 \pm 0,49^{\text{ab}}$
1. Bio-algeen S92 (k)	$4,90 \pm 0,70^{\text{e}}$	$4,71 \pm 0,44^{\text{e}}$
2. Slavol (s)	$5,60 \pm 0,49^{\text{a}}$	$5,39 \pm 0,46^{\text{a}}$
2. Slavol (k)	$4,54 \pm 0,22^{\text{efg}}$	$4,37 \pm 0,21^{\text{efg}}$
3. Ergonfill (s)	$5,46 \pm 0,24^{\text{abcd}}$	$5,26 \pm 0,24^{\text{abcd}}$
3. Ergonfill (k)	$4,81 \pm 0,21^{\text{ef}}$	$4,62 \pm 0,20^{\text{ef}}$
4. Netretirano (s)	$5,52 \pm 0,35^{\text{abc}}$	$5,31 \pm 0,34^{\text{abc}}$
4. Netretirano (k)	$4,43 \pm 0,12^{\text{g}}$	$4,26 \pm 0,12^{\text{g}}$
F test	s.**	s.
LSD _{0,05}	0,356	0,346

Vrijednosti u tabeli su izražene kao srednje vrijednosti ispitivanih uzoraka \pm standardna devijacija, * - signifikantan (s) - stres, (k) - kontrola, ** s - signifikantan



Grafikon 25. Sadržaj ukupnih flavonoida u plodovima šeri paradajza u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu u 2014. i 2015. godini

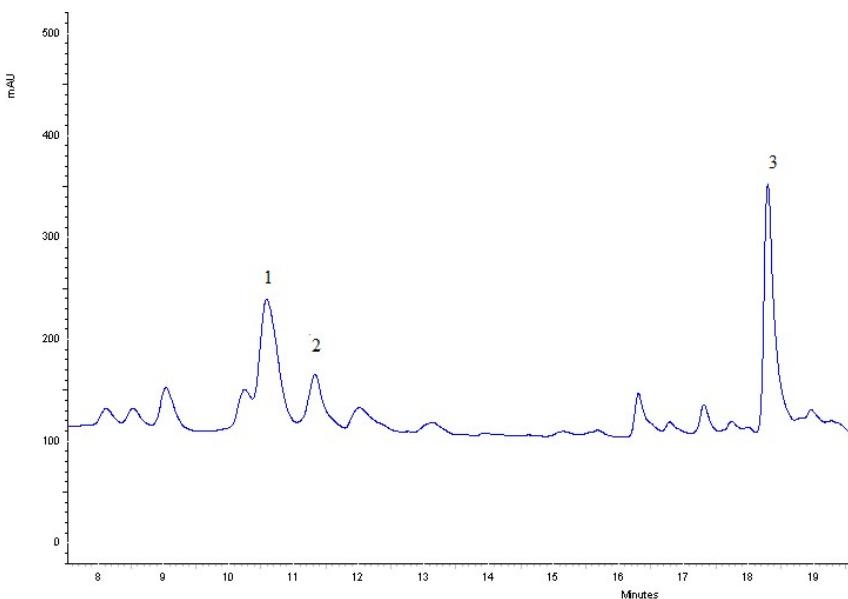
Flavonoidi su najbrojnija grupa unutar fenolnih jedinjenja tako da ih se često posmatra kao zasebnu grupu jedinjenja. Njihova osnovna karakteristika je posjedovanje 2-fenilbenzopirana, strukturne forme izgrađene od petnaest ugljenikovih atoma, a do danas ih je identifikovano preko 6000. Mnoga istraživanja su potvrdila njihov vrlo širok dijapazon antioksidativnog djelovanja, tako da je povećanje njihovog sadržaja u jestivim dijelovima biljke od velikog interesa, kako za proizvođače, tako i za konzumente (*Slimestad i sar.*, 2008).

U obje godine istraživanja sadržaj ukupnih flavonoida u plodovima šeri paradajza je bio statistički značajno viši u varijantama gdje su presadnice šeri paradajza bile izložene vodnom stresu, nezavisno od toga kojim su stimulatorom rasta presadnice prethodno bile tretirane. Isti obrazac ponašanja je utvrđen i kad je parametar ispitivanja bio sadržaj ukupnih fenola, što sve zajedno upućuje na zaključak da kontrolisano izlaganje presadnica šeri paradajza uslovima vodnog stresa može umnogome doprinijeti povećanju sadržaja fenola i flavonoida u plodovima. Navedeni zaključak je podudaran i sa zaključcima drugih naučnih radova u kojima je ispitivana ova problematika (*Dumas i sar.*, 2003; *Sanchez-Rodriguez i sar.*, 2011; *Cheynier i sar.*, 2013).

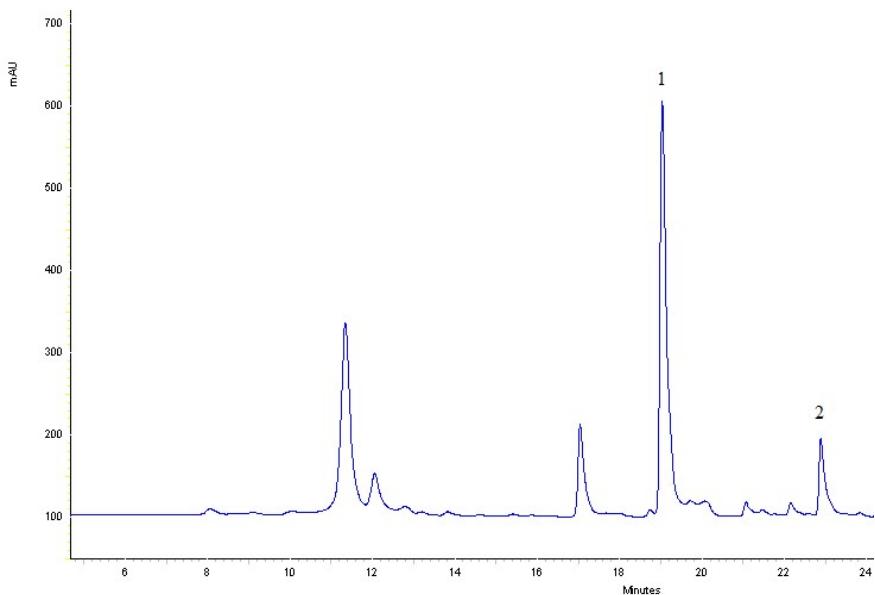
U uslovima rasta, gdje presadnice šeri paradajza nisu bile izložene stresu, primjena preparata Bio-algeena S92 i Ergonfilla je u obje godine istraživanja iskazala statistički značajan utjecaj na povišenje sadržaja ukupnih flavonoida u plodovima, kako u odnosu na varijantu u kojoj su presadnice šeri paradajza bile tretirane Slavolom, tako i u odnosu na netretiranu varijantu. Pretpostavka je da je razlog navedenome isti kao i u slučaju sadržaja ukupnih fenola. Naime, preparati Bio-algeen S92 i Ergonfill u odnosu na preparat Slavol sadrže u sebi sadrže visok udio aromatskih aminokiselina (triptofan, tirozin i fenilalanin), važnih prekursora u sintezi flavonoidnih jedinjenja, te s tog apekta posmatrano njihova primjena bi trebala doprinijeti većoj sintezi fenola i flavonoida u biljnim celijama, a rezultati ovog istraživanja tu tezu i potvrđuju.

6.14. Sadržaj dominantnih fenolnih jedinjenja u plodovima šeri paradajza

U ekstraktima plodova šeri paradajza za svaku ispitivanu varijantu ogleda tehnikom tečne hromatografije visokih performansi (HPLC) izvršena je identifikacija i kvantifikacija dominantnih fenolnih jedinjenja: hlorogenske i kafeinske kiseline, te rutina i naringenina (grafikon 26 i 27).



Grafikon 26. HPLC hromatrogram ekstrakta jednog uzorka ploda šeri paradajza detektovan na 280 nm. Jedinjenja: (1) hlorogenska kiselina, (2) kafeinska kiselina, (3) (rutin)



Grafikon 27. HPLC hromatrogram ekstrakta uzorka ploda šeri paradajza detektovan na 350 nm. Jedinjenja: (1) rutin, (2) naringenin

Podaci o sadržaju identifikovanih fenolnih jedinjenja: hlorogenske i kafeinske kiseline, rutina i naringenina u plodovima šeri paradajza (*Lycopersicon esculentum* Mill. "Sakura") u

zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu tokom 2015. godine prikazani su u tabeli 33.

Tabela 33. Prosječne vrijednosti za sadržaj ispitivanih fenolnih komponenti u plodovima u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu

Varijanta	2015. godina			
	sadržaj ispitivane komponente ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ svježeg ploda)			
	hlorogenska kiselina	kafeinska kiselina	Rutin	Naringenin
1. Bio-algeen S92 (s)	4,09 ± 0,06 ^a	0,96 ± 0,04 ^e	5,86 ± 0,11 ^{ab}	3,72 ± 0,07 ^{ab}
1. Bio-algeen S92 (k)	2,79 ± 0,02 ^e	0,94 ± 0,02 ^e	5,30 ± 0,13 ^{de}	3,09 ± 0,03 ^{ef}
2. Slavol (s)	3,03 ± 0,15 ^c	1,28 ± 0,03 ^c	5,73 ± 0,13 ^{abc}	3,68 ± 0,33 ^{abc}
2. Slavol (k)	2,53 ± 0,05 ^h	1,04 ± 0,02 ^d	4,95 ± 0,20 ^g	3,01 ± 0,06 ^{ef}
3. Ergonfill (s)	2,61 ± 0,06 ^g	0,97 ± 0,02 ^a	5,41 ± 0,15 ^d	3,67 ± 0,08 ^{abcd}
3. Ergonfill (k)	2,71 ± 0,02 ^f	0,97 ± 0,02 ^e	5,07 ± 0,02 ^g	3,14 ± 0,05 ^e
4. Netretirano (s)	3,74 ± 0,08 ^b	1,34 ± 0,02 ^{ab}	5,91 ± 0,58 ^a	3,81 ± 0,04 ^a
4. Netretirano (k)	2,99 ± 0,03 ^{cd}	0,97 ± 0,02 ^e	5,29 ± 0,14 ^{def}	2,91 ± 0,07 ^f
F test	s.**	s.	s.	s.
LSD _{0,05}	0,057	0,058	0,217	0,200

Vrijednosti u tabeli su izražene kao srednje vrijednosti ispitivanih uzoraka ± standardna devijacija, (s) - stres, (k) - kontrola, **s - signifikantan

Utvrđivanje profila i sadržaja postojećih fenolnih jedinjenja u plodovima šeri paradajza je vrlo značajno s aspekta boljeg upoznavanja sastava i kvaliteta plodova šeri paradajza, ali i uloge i značaja identifikovanih fenolnih jedinjenja u antioksidativnom sistemu odbrane biljke.

U ekstraktima plodova šeri paradajza identifikovana su i kvantifikovana četiri jedinjenja: hlorogenska i kafeinska kiselina, te rutin (kvercetin-3-rutinozid) i naringenin. Hlorogenska kiselina je ester kafeinske i hininske kiseline, kafeinska kiselina predstavlja derivat hidroksicimetne kiseline, rutin je glikozid sastavljen od flavonola kvercetina i disaharida rutinoze, dok naringenin spada u flavanone. Od navedenih fenolnih jedinjenja u svim ispitivanim ekstraktima plodova šeri paradajza najviše je bio zastupljen rutin i hlorogenska kiselina, a najmanje kafeinska kiselina, nezavisno od varijante iz koje su plodovi uzeti za analizu. Do podudarnih rezultata su došli *Marti i sar.* (2017). U njihovom istraživanju prosječni sadržaj rutina u ekstraktima plodova šeri paradajza je prosječno iznosio 3,09 mg, a hlorogenske kiseline 2,35 mg 100 g^{-1} svježe materije, što je dosta niže u odnosu na vrijednosti dobijene u ovom istraživanju. Nasuprot tome, u radu *Martínez-Valverde i sar.* (2002) su utvrđene više prosječne vrijednosti za sadržaj hlorogenske kiseline u plodovima šeri paradajza: 3,2 mg 100 g^{-1} , a u radu *Raffo i sar.* (2006) čak

i iznad 5,6 mg 100 g⁻¹ svježeg ploda. Visoka prisutnost rutina i hlorogenske kiseline u ekstraktima plodova šeri paradajza utvrđena je i u rezultatima istraživanja mnogih drugih autora (*Wilkens sar.*, 1996; *Slimestad i sar.*, 2008).

Sadržaj kafeinske kiseline u ekstraktima plodova šeri paradajza u ovom istraživanju se kretao u vrijednostima između 0,97 i 1,28 mg 100 g⁻¹ svježe materije, što je podudarno sa rezultatima istraživanja *Pék-a i sar.* (2014) premda postoje radovi u kojima je prosječni sadržaj kafeinske kiseline u plodovima šeri paradajza bio i desetak puta manji (*Suarez i sar.*, 2014). U literaturi su takođe pronađene velike oscilacije i kada je u pitanju sadržaj naringenina u plodovima šeri paradajza (*Erba i sar.*, 2013; *Marti i sar.*, 2017).

Iz pregleda literature se takođe moglo uočiti da plodovi šeri paradajza u sebi sadrže znatno veće količine fenolnih jedinjenja u odnosu na standardne kultivare paradajza, posebno kad je riječ o rutinu i hlorogenskoj kiselini (*Torres i sar.*, 2005; *Willits i sar.*, 2005).

Podaci prikazani u tabeli 36 pokazuju da je sadržaj identifikovanih fenolnih komponenti u plodovima gotovo uvijek bio veći u varijantama gdje su presadnice šeri paradajza bile izložene uslovima vodnog stresa, nezavisno od toga da li su iste prethodno bile tretirane stimulatorom ili ne. Pozitivan uticaj izlaganja biljaka kontrolisanim stresnim uslovima na povišenje sadržaja ispitivanih fenolnih komponenti u plodovima paradajza potvrđen je u brojnim drugim istraživanjima (*Favati i sar.*, 2009; *Berki i sar.*, 2014; *Helyes i sar.*, 2014). *Toor i sar.* (2005) navode da stresni uslovi posebno potiču aktivaciju enzima fenilalanin-amonij-lijaze (PAL) koji katalizuje konverziju fenil-alanina u amonijak i hidroksicimetnu kiselinu, čiji veći sadržaj implicira i veću sintezu hlorogenske i kafeinske kiseline. Do sličnih zapažanja sa aspekta uticaja stresnih uslova na poticanje aktivacije enzima uključenih u sintezu fenolnih jedinjenja došli su *Bongue-Bartlsman i Phillips* (1995).

U uslovima rasta, gdje presadnice šeri paradajza nisu bile izložene stresu, primjena stimulatora je u pojedinim slučajevima iskazala statistički značajan utjecaj na povišenje sadržaja nekih ispitivanih komponenti u odnosu na netretiranu varijantu (npr. uticaj primjene Slavola na sadržaj kafeinske kiseline i rutina), premda su utvrđeni i oprečni slučajevi u kojima je vrijednost pojedinih ispitivanih komponenti bila najveća u netretiranoj varijanti (hlorogenska kiselina). Interesantan segment ovog dijela istraživanja je i da je sadržaj rutina bio statistički veći u netretiranoj varijanti u odnosu na varijante gdje je korišćen Slavol i Ergonfill. Između netretirane

varijante i varijante u kojoj je korišćen Bio-algeen S92 nije utvrđena statistički značajna razlika u pogledu sadržaja rutina u plodovima.

Rezultati ovog dijela istraživanja ukazuju na činjenicu da je uticaj stimulatora rasta na sintezu pojedinih fenolnih jedinjenja dosta kompleksan, zavisi od bio-aktivnih komponenti sadržanih u preparatu, sposobnosti biljke da ih usvoji i uključi u metaboličke procese, ali i od niza agro-ekoloških faktora koji uvelike mogu promijeniti tok metaboličkih procesa u biljci, a što na kraju dovodi i do razlika u vrsti i sadržaju pojedinih fenolnih jedinjenja u posmatranom dijelu biljke.

6.15. Sadržaj likopena u plodovima šeri paradajza

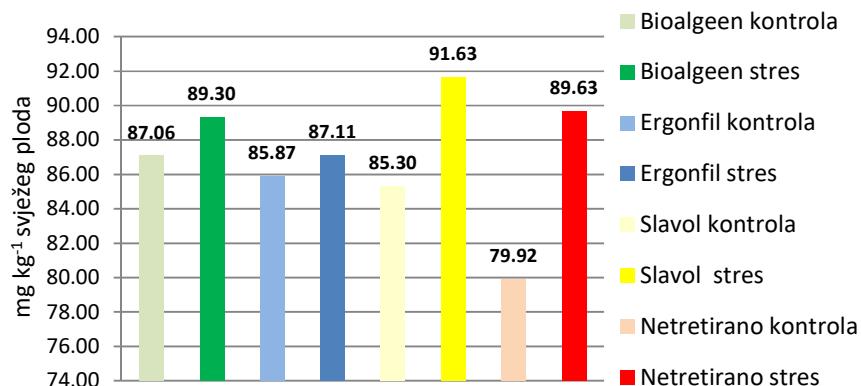
Podaci o sadržaju likopena u plodovima šeri paradajza u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu prikazani su posebno za svaku godinu istraživanja (tabela 34, grafikon 28 i 29).

Tabela 34. Prosječni sadržaj likopena u plodovima šeri paradajza u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu

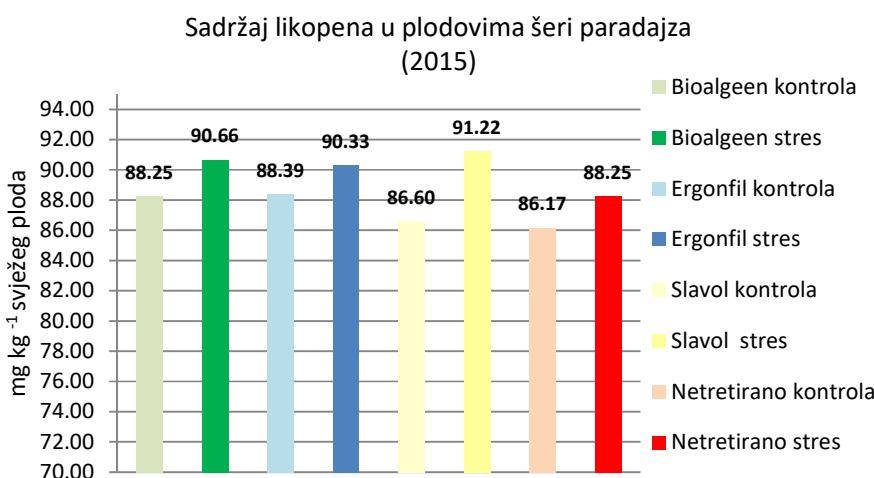
Varijanta	Sadržaj likopena (mg kg^{-1} svježeg ploda)	
	2014. godina	2015. godina
1. Bio-algeen S92 (s)	$89,30 \pm 3,14^{\text{abc}}$	$90,66 \pm 2,69^{\text{ab}}$
1. Bio-algeen S92 (k)	$87,06 \pm 5,00^{\text{a-e}}$	$88,25 \pm 2,97^{\text{bcd}}$
2. Slavol (s)	$91,63 \pm 5,57^{\text{a}}$	$91,22 \pm 2,97^{\text{a}}$
2. Slavol (k)	$85,30 \pm 9,57^{\text{b-g}}$	$86,60 \pm 3,68^{\text{d}}$
3. Ergonfill (s)	$87,11 \pm 3,86^{\text{abcd}}$	$90,33 \pm 2,98^{\text{abc}}$
3. Ergonfill (k)	$85,87 \pm 7,43^{\text{b-f}}$	$88,39 \pm 1,86^{\text{bcd}}$
4. Netretirano (s)	$89,63 \pm 5,43^{\text{ab}}$	$88,25 \pm 2,12^{\text{bcd}}$
4. Netretirano (k)	$79,92 \pm 5,86^{\text{h}}$	$86,17 \pm 3,11^{\text{d}}$
F test	s.**	S.
LSD _{0,05}	5,32	2,47

Vrijednosti u tabeli su izražene kao srednje vrijednosti ispitivanih uzoraka \pm standardna devijacija, (s) - stres, (k) - kontrola, ** s - signifikantan

Sadržaj likopena u plodovima šeri paradajza (2014)



Grafikon 28. Sadržaj likopena u plodovima šeri paradajza u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu u 2014. godini



Grafikon 29. Sadržaj likopena u plodovima šeri paradajza u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu u 2015. godini

Rezultati ovog istraživanja su pokazali da je sadržaj likopena u plodovima šeri paradajza bio veći u varijantama u kojima su presadnice bile izlagane kontrolisanim stresnim uslovima, nezavisno od tretmana stimulatorom rasta.

U obje godine istraživanja najveći sadržaj likopena u plodovima šeri paradajza je utvrđen u varijanti u kojoj su presadnice šeri paradajza prije izlaganja kontrolisanim stresnim uslovima bile

tretirane Slavolom, a najmanji u netretiranoj varijanti gdje biljke tokom svog uzgoja ni u jednom momentu nisu bile izlagane stresnim uslovima. Iz podataka prikazanih u tabeli može se vidjeti da mnoge razlike u sadržaju likopena u plodovima šeri paradajza između ispitivanih varijanti nisu bile statistički opravdane za nivo signifikantnosti $p<0.05$. Tako npr. između varijante u kojoj su presadnice bile tretirane Bia-algeenom S92 i izložene stresu i njene kontrole u kojoj presadnice tretirane istim preparatum nisu bile izlagane stresnim uslovima nije utvrđena statistička razlika u sadržaju likopena u plodovima šeri paradajza, nezavisno od godine istraživanja. Isti obrazac ponašanja utvrđen je i kad je preparat Ergonfill bio predmet istraživanja.

Iz pregleda podataka o ispitivanoj problematici u dostupnoj naučnoj literaturi može se izvući konstatacija da je uticaj suše na sintezu likopena u plodovima paradajza vrlo kompleksan i u nedovoljnoj mjeri razjašnjen. Chaves i sar. (2009) u svom radu navode da je veći stepen produkcije likopena u plodovima paradajza popraćen intenzivnim nakupljanjem hormona apscisinske kiseline (ABA), što je primarni indikator stanja vodnog stresa u biljci. Ovi podaci idu u prilog tezi da paradajz u uslovima stresa više sintetiše likopen u odnosu na uzgoj u optimalnim uslovima rasta, a što potvrđuju rezultati kako ovog, tako i mnogih drugih istraživanja (*Theobald i sar., 2007; Favati i sar., 2009*). Theologis i sar. (1993) takođe navode da je i aktivnost hormona etilena u visokoj korelaciji sa sintezom likopena što je i očekivano, ako se uzme u obzir činjenica da je hormon etilen u većoj mjeri prisutan u fazi dozrijevanja ploda kada se sinteza likopena i dešava. Ovdje treba imati u vidu i činjenicu da je mogućnost nakupljanja likopena u plodovima paradajza genetski ograničen proces shodno genotipu uzgajanog kultivara, ali ukoliko je moguće primjenom određene agrotehničke mjere usmjeriti biljke paradajza u pravcu maksimalnog iskorištavanja svoga genetskog potencijala za stvaranje likopena u plodovima, onda je iste poželjno i koristiti. Rezultati ovog istraživanja su pokazali da je sadržaj likopena u plodovima šeri paradajza bio veći u varijantama u kojima su presadnice bile izlagane kontrolisanim stresnim uslovima, nezavisno od tretmana stimulatorom rasta.

U obje godine istraživanja najveći sadržaj likopena u plodovima šeri paradajza je utvrđen u varijanti u kojoj su presadnice šeri paradajza prije izlaganja kontrolisanim stresnim uslovima bile tretirane Slavolom, a najmanji u netretiranoj varijanti gdje biljke tokom svog uzgoja ni u jednom momentu nisu bile izlagane stresnim uslovima. Iz podataka prikazanih u tabeli može se vidjeti i da mnoge razlike u sadržaju likopena u plodovima šeri paradajza između ispitivanih varijanti nisu bile statistički opravdane za nivo signifikantnosti $p<0.05$. Tako na primjer između varijante u

kojoj su presadnice bile tretirane Bia-algeenom S92 i izložene stresu i njene kontrole u kojoj presadnice tretirane Bio-algeenom nisu bile izlagane stresnim uslovima nije utvrđena statistička razlika u sadržaju likopena u plodovima šeri paradajza, nezavisno od godine istraživanja. Isti obrazac ponašanja utvrđen je i kad je preparat Ergonfill bio predmet istraživanja.

Iz pregleda podataka o ispitivanoj problematici u dostupnoj literaturi može se izvući konstatacija da je uticaj suše na sintezu likopena u plodovima paradajza vrlo kompleksan i u nedovoljnoj mjeri razjašnjen. Chaves i sar. (2009) u svom radu navode da je veći stepen produkcije likopena u plodovima paradajza popraćen intenzivnim nakupljanjem hormona apscisinske kiseline (ABA), što je primarni indikator stanja vodnog stresa u biljci. Ovi podaci idu u prilog tezi da paradajz u uslovima stresa više sintetiše likopen u odnosu na uzgoj u optimalnim uslovima rasta, a što potvrđuju rezultati kako ovog, tako i mnogih drugih istraživanja (*Theobald i sar., 2007; Favati i sar., 2009*). Theologis i sar. (1993) takođe navode da je i aktivnost hormona etilena u visokoj korelaciji sa sintezom likopena što je i očekivano, ako se uzme u obzir činjenica da je hormon etilen u većoj mjeri prisutan u fazi dozrijevanja ploda kada se sinteza likopena i dešava. Ovdje treba imati u vidu i činjenicu da je mogućnost nakupljanja likopena u plodovima paradajza genetski ograničen proces shodno genotipu uzgajanog kultivara, ali ukoliko je moguće primjenom određene agrotehničke mjere usmjeriti biljke paradajza u pravcu maksimalnog iskorištavanja svoga genetskog potencijala za stvaranje likopena u plodovima, onda je iste poželjno i primjenjivati. Kontrolisano izlaganje presadnica šeri paradajza uslovima stresa svakako jeste jedna od takvih agrotehničkih mjera.

Povećani sadržaj likopena u plodovima paradajza je poželjan prvenstveno zbog njegovih antioksidativnih svojstava. Taj efekat likopen postiže zahvaljujući velikom broju dvostrukih veza u svojoj strukturi, te stoga vrlo lako stupa u reakciju sa slobodnim radikalima, čineći ih time manje reaktivnim (*Lenucci i sar., 2006*). Zahvaljujući visokom redoks potencijalu i lipofilnom karakteru likopen je posebno efikasan u inhibiranju peroksi radikala nastalih tokom peroksidacije lipida, što u velikoj mjeri utiče na zaštitu ćelijskih membrana i lipoproteina od oksidacije. S obzirom da iste efekte pokazuje i u organizmu čovjeka, nastojanjima povišenja sadržaja likopena u konzumnim plodovima paradajza se u svijetu poklanja izuzetna pažnja (*Nasir i sar., 2015*). U svom preglednom članku *Giovannucci* (1999) je iznio niz benefita koje donosi konzumacija namirnica bogatih likopenom, a neki od njih su usko vezane uz prevenciju karcinoma prostate, ali i nekih drugih oboljenja.

6.16. Ukupni antioksidacijski kapacitet u plodovima šeri paradajza

Vrijednosti ukupnog antioksidacijskog kapaciteta u plodovima šeri paradajza (*Lycopersicon esculentum* Mill. "Sakura") u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu prikazani su posebno za svaku godinu istraživanja (tabela 35).

Tabela 35. Prosječne vrijednosti za ukupni antioksidacijski kapacitet u plodovima u zavisnosti od varijante tretiranja stimulatorom rasta i izloženosti presadnica stresu

Varijanta	Ukupni antioksidacijski kapacitet ($\mu\text{mol Fe}^{2+} \text{ g}^{-1}$ suvog ploda)	
	2014. godina	2015. godina
1. Bio-algeen S92 (s)	200,50 \pm 16,19 ^{ab}	188,35 \pm 8,37 ^{abcd}
1. Bio-algeen S92 (k)	161,79 \pm 17,38 ^e	155,90 \pm 13,41 ^e
2. Slavol (s)	201,20 \pm 9,36 ^a	196,57 \pm 11,25 ^a
2. Slavol (k)	150,01 \pm 6,66 ^{ef}	151,19 \pm 24,08 ^{efg}
3. Ergonfill (s)	190,95 \pm 24,65 ^{abcd}	190,13 \pm 10,53 ^{abc}
3. Ergonfill (k)	154,47 \pm 6,69 ^{ef}	151,60 \pm 6,49 ^{efg}
4. Netretirano (s)	197,98 \pm 10,55 ^{abc}	194,26 \pm 10,82 ^{ab}
4. Netretirano (k)	145,55 \pm 14,11 ^f	141,43 \pm 4,90 ^g
F test	s. **	s.
LSD _{0,05}	12,91	10,33

Vrijednosti u tabeli su izražene kao srednje vrijednosti ispitivanih uzoraka \pm standardna devijacija, (s) - stres, (k) - kontrola, ** s - signifikantan

Podaci prikazani u tabeli 35 pokazuju da je prosječna vrijednost ukupnog antioksidacijskog kapaciteta u plodovima šeri paradajza (FRAP) bila statistički značajno veća u varijantama u kojima su presadnice bile izlagane stresu, nezavisno od toga da li su prethodno bile tretirane stimulatorom rasta ili ne. Navedeni rezultati su podudarni sa rezultatima istraživanja mnogih drugih naučnika koji su takođe utvrdili da biljke paradajza u stresnim uslovima značajno povećavaju svoj antioksidativni sistem odbrane (Nuruddin i sar., 2003; Barbagallo i sar., 2013; Seng, 2014). To u pravilu čine na način da unutar svog metabolizma pokreću sintezu različitih enzimskih i neenzimskih antioksidansa čije djelovanje je usmjereni ili u pravcu neutralizacije slobodnih radikala ili u pravcu popravljanja štete nastale uslijed negativnog djelovanja slobodnih radikala (Murshed i sar., 2013). Poznato je da su jedni od najznačajnijih antioksidanasa fenolna jedinjenja, a rezultati ovog, ali i niza drugih istraživanja, ukazuju na činjenicu da ih biljka u uslovima stresa intenzivno stvara.

U obje godine istraživanja, ukoliko se posmatra uticaj stimulatora rasta na vrijednost ukupnog antioksidacijskog kapaciteta u plodovima šeri paradajza isključivo između varijanti u kojima su presadnice izlagane stresu, može se uočiti da nijedan tretman stimulatorom rasta nije pokazao statistički značajan uticaj u odnosu na netretiranu varijantu. Navedeni podatak dodatno potkrepljuje činjenicu da je stres primarni pokretač povećane sinteze antioksidanasa u biljci, a da primjena stimulatora može u većoj ili manjoj mjeri doprinijeti njihovoј sintezi, zavisno od sastava stimulatora, sposobnosti biljke da iskoristi bioaktivne supstance u navedenim preparatima za sintezu antioksidanasa, ali i od uslova u kojima se biljke uzgajaju.

Rezultati istraživanja su takođe pokazali da je, u uslovima rasta gdje presadnice šeri paradajza nisu bile izložene vodnom stresu, jedino stimulator Bioalgeen S-92 pokazao statistički značajan učinak na povećanje vrijednosti ukupnog antioksidacijskog kapaciteta u plodovima šeri paradajza i to isključivo u odnosu na netretiranu varijantu.

Utvrđene razlike u vrijednostima antioksidacijskog kapaciteta u plodovima šeri paradajza između drugih varijanti u navedenim uslovima rasta nisu bile statistički opravdane. Ako se uzme u obzir činjenica da je Bio-algeen S92 pokazao i najveći uticaj na povećanje sadržaja fenola i flavonoida u plodovima šeri paradajza, može se konstatovati da njegova primjena u odnosu na druge korišćene stimulatore rasta ima najveću efikasnost sa aspekta jačanja antioksidativnog sistema odbrane biljke.

6.17. Rezultati korelaceione analize između ispitivanih antioksidanasa i ukupnog antioksidacijskog kapaciteta u plodovima šeri paradajza

Koeficijent korelacije zavisnosti između sadržaja ukupnih fenola, flavonoida, likopena i ukzpnog antioksidacijskog kapaciteta (FRAP) u plodovima šeri paradajza (*Lycopersicon esculentum* Mill. "Sakura") prikazan je tabelarno, posebno za svaku godinu istraživanja (tabela 36 i 37).

Tabela 36. Izračunate vrijednosti Paersonovog koeficijenta korelaciije (r) između ispitivanih varijabli za ogled proveden 2014. godine

2014. godina (Pearsen-ov koeficijent korelaciije)						
Varijanta		Vitamin C	Fenoli	Flavonoidi	Likopen	FRAP
Bio-algeen S92 (stres)	Vitamin C	1	0,5422	0,5766	0,9967	0,9988
	Fenoli		1	0,9991	0,6081	0,7826
	Flavonoidi			1	0,6405	0,7158
	Likopen				1	0,9994
	FRAP					1
Bio-algeen S92 (kontrola)	Vitamin C	1	0,9806	0,9538	0,9849	0,9820
	Fenoli		1	0,9942	0,9318	0,9260
	Flavonoidi			1	0,8874	0,8800
	Likopen				1	0,9998
	FRAP					1
Slavol (stres)	Vitamin C	1	0,9990	0,9847	0,9817	0,9359
	Fenoli		1	0,9762	0,9725	0,9503
	Flavonoidi			1	0,9998	0,8604
	Likopen				1	0,8518
	FRAP					1
Slavol (kontrola)	Vitamin C	1	0,7652	0,9646	0,7304	0,9270
	Fenoli		1	0,9079	0,9986	0,9508
	Flavonoidi			1	0,8847	0,9931
	Likopen				1	0,9332
	FRAP					1
Ergonfill (stres)	Vitamin C	1	0,9438	0,9820	0,9890	0,9988
	Fenoli		1	0,8643	0,8845	0,9267
	Flavonoidi			1	0,9991	0,9899
	Likopen				1	0,9950
	FRAP					1
Ergonfill (kontrola)	Vitamin C	1	0,7626	0,9260	0,6635	0,6164
	Fenoli		1	0,9503	0,9899	0,9794
	Flavonoidi			1	0,8967	0,8680
	Likopen				1	0,9981
	FRAP					1
Netretirana (stres)	Vitamin C	1	0,9997	0,9245	0,8880	0,9340
	Fenoli		1	0,9337	0,8993	0,9427
	Flavonoidi			1	0,9962	0,9997
	Likopen				1	0,9937
	FRAP					1
Netretirana (kontrola)	Vitamin C	1	0,6658	0,7559	0,8728	0,6136
	Fenoli		1	0,9917	0,9452	0,9977
	Flavonoidi			1	0,9792	0,9808
	Likopen				1	0,9208
	FRAP					1

Tabela 37. Izračunate vrijednosti Pearsonovog koeficijenta korelaciije (r) između ispitivanih varijabli za ogled sproveden 2015. godine

2015. godina (Paersen-ov koeficijent korelacije)						
Varijanta		Vitamin C	Fenoli	Flavonoidi	Likopen	FRAP
Bio-algeen S92 (stres)	Vitamin C	1	0,8373	0,7572	0,9312	0,9980
	Fenoli		1	0,9911	0,9790	0,8014
	Flavonoidi			1	0,9432	0,7147
	Likopen				1	0,9065
	FRAP					1
Bio-algeen S92 (kontrola)	Vitamin C	1	0,9832	0,9918	0,9239	0,9863
	Fenoli		1	0,9984	0,8386	0,9998
	Flavonoidi			1	0,8677	0,9992
	Likopen				1	0,8480
	FRAP					1
Slavol (stres)	Vitamin C	1	0,6765	0,9475	0,9606	0,7650
	Fenoli		1	0,8764	0,8544	0,9918
	Flavonoidi			1	0,9900	0,9307
	Likopen				1	0,9138
	FRAP					1
Slavol (kontrola)	Vitamin C	1	0,6596	0,7205	0,9405	0,6619
	Fenoli		1	0,9964	0,8757	0,9999
	Flavonoidi			1	0,9133	0,9967
	Likopen				1	0,8771
	FRAP					1
Ergonfill (stres)	Vitamin C	1	0,9781	0,7857	0,7551	0,9305
	Fenoli		1	0,8972	0,8750	0,9863
	Flavonoidi			1	0,9988	0,9577
	Likopen				1	0,9428
	FRAP					1
Ergonfill (kontrola)	Vitamin C	1	0,9820	0,9353	0,9983	0,9844
	Fenoli		1	0,9853	0,9914	0,9999
	Flavonoidi			1	0,9546	0,9830
	Likopen				1	0,9931
	FRAP					1
Netretirana (stres)	Vitamin C	1	0,9725	0,9148	0,9443	0,8999
	Fenoli		1	0,9837	0,9950	0,7735
	Flavonoidi			1	0,9968	0,6472
	Likopen				1	0,7063
	FRAP					1
Netretirana (kontrola)	Vitamin C	1	0,9563	0,9298	0,9846	0,8024
	Fenoli		1	0,9968	0,9927	0,9418
	Flavonoidi			1	0,9797	0,9657
	Likopen				1	0,8943
	FRAP					1

Iz podataka prikazanih u tabelama 36 i 37 može se uočiti da su u obje godine istraživanja u plodovima šeri paradajza utvrđene visoke vrijednosti Pearson-ovog koeficijenta korelaciije za odnos između ispitivanih antioksidanasa i ukupnog antioksidacijskog kapaciteta, nezavisno od

tretmana stimulatorom rasta ili uslova u kojima su biljke bile uzgajane. Navedeni podaci ukazuju na činjenicu da u plodovima šeri paradajza između ispitivanih antioksidanasa i ukupnog antioksidativnog kapaciteta postoji jaka međusobna povezanost, a što je saglasno i sa radovima drugih naučnika koji su takođe utvrdili jaku korelacionu vezu između sadržaja nekih od navedenih antioksidansa i antioksidacijskog kapaciteta u plodovima biljaka (*Vasco i sar.*, 2008; *Gasemi i sar.*, 2009; *Hasna i Afidah*, 2009; *Kaur i Mondal*, 2014).

Najveća vrijednost koeficijenta korelacije između ukupnog antioksidacijskog kapaciteta i ispitivanih antioksidanasa utvrđena je u odnosu sa sadržajem ukupnih fenola (0,7735 - 0,9999), zatim sa likopenom (0,7063 - 0,9981), zatim flavonoidima (0,6472 - 0,9982), te na kraju vitaminom C (0,6136 - 0,9988). Evidentna povezanost između sadržaja ispitivanih antioksidanasa i ukupnog antioksidacijskog kapaciteta u plodovima šeri paradajza upućuju na hipotezu da porast sadržaja fenola, flavonoida, likopena ili vitamina C utiče na povećanje vrijednosti antioksidativnog kapaciteta biljke, što je u mnogim radovima dokazano, a i samo po sebi se nameće kao zaključak budući da su antioksidativna svojstva ispitivanih materija već odavno utvrđena i poznata (*Aguirre i Cabrera*, 2012; *Alaoui i sar.*, 2015; *Nimse i Pal*, 2015).

Ako se posmatra zavisnost između ispitivanih antioksidanasa, utvrđeni koeficijenti korelacije takođe upućuju na činjenicu da i između njih postoji visoka uzajamna povezanost, nezavisno od toga koji su ispitivani antioksidansi stavljeni u odnos. Navedeni obrazac ponašanja utvrđen je u svim varijantama eksperimenta. Dobijeni rezultati nisu iznenadjujući ako se uzme u obzir da biljka tokom svog razvoja nastoji u svojim biljnim dijelovima različitim metaboličkim putevima akumulirati što veću količinu antioksidanasa, te je bilo i za očekivati da porast sadržaja jednog antioksidansa prati i porast drugih. Ovdje treba imati u vidu da visok stepen korelaceione veze između ispitivanih antioksidanasa ne znači automatski i uzročno-posljedičnu vezu, odnosno preciznije rečeno, navedeni pokazatelj ne implicira na zaključak da porast sadržaja jednog ispitivanog antioksidansa direktno utiče na porast sadržaja drugog. Kada su međusobni odnosi između ispitivanih antioksidanasa u plodovima šeri paradajza u pitanju, takvu implikaciju nema osnove ni razmatrati budući da su putevi sinteze fenolnih jedinjenja, likopena i vitamina C u biljci dosta različiti. Naime, sinteza vitamin C u biljkama je usko vezana uz metabolizam ugljenih hidrata, tačnije nastaje iz različitih heksoza direktnom ili indirektnom konverzijom, likopen je spoj izoprenoidne prirode koji nastaje spajanjem izoprenskih jedinica, dok se fenolna jedinjenja sintetišu ili preko ciklusa šikiminske kiseline ili preko acetatno-malonatnog ciklusa, što sve

ukazuje na činjenicu da između navedenih metaboličkih puteva postoje različiti inputi, ali i smjerovi kretanja. Premda sinteza navedenih antioksidanasa nije direktno vezana jedna uz drugu, neosporna je činjenica da ih biljka u uslovima vodnog stresa znatno više sintetiše (*Parvaiz i Satyawati, 2008; Stevens i sar., 2008; Murshed i sar., 2013; Okunlola i sar., 2015*), što potvrđuju i rezultati ovog istraživanja.

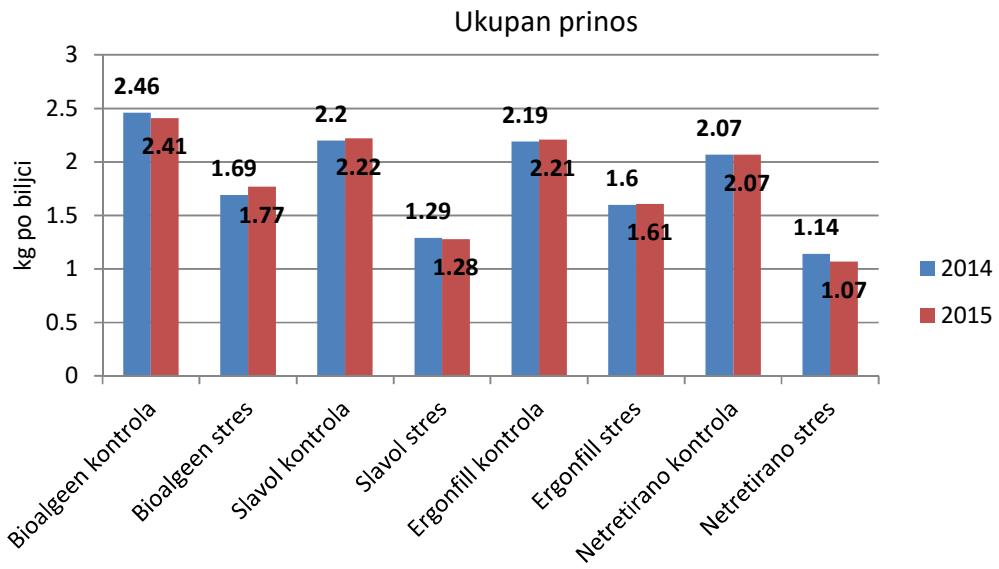
6.18. Ukupni prinos šeri paradajza

Rezultati analize ukupnog prinosa šeri paradajza (*Lycopersicon esculentum* Mill. "Sakura") u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu prikazani su posebno za svaku godinu istraživanja (tabela 38 i grafikon 30).

Tabela 38. Prosječna vrijednost ukupnog prinosa šeri paradajza u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu

Varijanta	Ukupni prinos (izraženo u kg po biljci)	
	2014. godina	2015. godina
1. Bio-algeen S92 (s)	1,69 ± 0,55 ^e	1,77 ± 0,24 ^e
1. Bio-algeen S92 (k)	2,46 ± 0,45 ^a	2,41 ± 0,25 ^a
2. Slavol (s)	1,29 ± 0,35 ^g	1,28 ± 0,45 ^g
2. Slavol (k)	2,20 ± 0,40 ^{ab}	2,22 ± 0,30 ^{ab}
3. Ergonfill (s)	1,60 ± 0,30 ^{ef}	1,61 ± 0,45 ^{ef}
3. Ergonfill (k)	2,19 ± 0,40 ^{abc}	2,21 ± 0,30 ^{abc}
4. Netretirano (s)	1,14 ± 0,50 ^g	1,07 ± 0,80 ^g
4. Netretirano (k)	2,07 ± 0,35 ^{bcd}	2,07 ± 0,44 ^{bcd}
F test	s. **	s.
LSD _{0,05}	0,285	0,295

Vrijednosti u tabeli su izražene kao srednje vrijednosti ispitivanih uzoraka ± standardna devijacija, * - signifikantan (s) - stres, (k) - kontrola, ** s - signifikantan



Grafikon 30. Prinos šeri paradajza u zavisnosti od varijante primjene stimulatora rasta i izloženosti presadnica stresu u 2014. i 2015. godini

Iz prikazanih rezultata se može vidjeti da je prinos šeri paradajza bio statistički značajno niži u varijantama gdje su presadnice šeri paradajza bile izložene uslovima kontrolisanog vodnog stresa, nezavisno od toga da li su presadnice šeri paradajza prethodno bile tretirane stimulatorom rasta ili ne. Dobijeni rezultati su bili i očekivani ako se uzme u obzir činjenica da nedostatak vode negativno utiče na rast i diobu ćelija, ograničava fotosintezu, smanjuje mogućnost zametanja i razvoj ploda, inhibira sintezu primarnih metabolita, a što sve zajedno negativno utiče na ukupni prinos (*Farooq i sar.*, 2009). U mnogim naučnim radovima je takođe utvrđen nizak prinos paradajza ukoliko su biljke prethodno bile izložene uslovima vodnog stresa (*Birhanu i Tilahun 2010; Nahar i sar.*, 2011; *Pék i sar.*, 2014).

Podaci prikazani u tabeli 38 takođe pokazuju da je, posmatrano unutar istih uslova gajenja, primjena svih stimulatora rasta pozitivno uticala na povećanje prinosa šeri paradajza u odnosu na netretiranu varijantu. Ukoliko se uspoređuju samo vrijednosti prinosa šeri paradajza između varijanti u kojima su biljke bile izložene vodnom stresu, može se uočiti da je u obje godine istraživanja u varijantama gdje su korišćeni stimulatori rasta navedeno povećanje prinosa bilo i statistički opravdano. Izuzetak je samo varijanta gdje su presadnice šeri paradajza bile tretirane Slavolom. U toj varijanti povećanje prinosa nije imalo statističku opravdanost, posmatrano u odnosu na netretiranu varijantu, nezavisno od godine istraživanja. Prepostavka je da je slabiji

efekat Slavola na povećanje prinosa u uslovima vodnog stresa posljedica negativnog uticaja nedostatka vode na razvoj mikroorganizama. Naime, Slavol je preparat čiji je sastav baziran na korisnim bakterijama iz grupe azotofiksatora i fosfomineralizatora, a čija sposobnost preživljavanja, te samim time i efekat na razvoj biljke nije zagarantovan već zavisi od mnogo faktora, u prvom redu od sadržaja vode u uzgojnem supstratu, interakcije u sistemu biljka-mikroorganizmi, te hemijskih i fizičkih osobina uzgojnog supstrata (Zahran, 1999; Avis i sar., 2008). Budući da nedostatak vode ne utiče pozitivno na razvoj mikroorganizama, moguće je da benefiti primjenjenih mikroorganizama u uslovima vodnog stresa budu manje izraženi, što rezultati ovog istraživanja, kad je parametar prinosa u pitanju, to i potvrđuju. Za razliku od Slavola, preparati Bio-algeen S92 i Ergonfill u sebi sadrže visok udio makroelemenata te veliki broj drugih bioaktivnih supstanci za koje je dokazan pozitivan uticaj na metabolizam biljke, pa je shodno navedenome bilo i za očekivati da primjena navedenih preparata iskaže veći efekat na povećanje prinosa u odnosu na Slavol.

U uslovima rasta, gdje biljke tokom svog rasta i razvoja nisu bile izložene kontrolisanom vodnom stresu, razlike u prinosu između ispitivanih varijanti su bile dosta manje. Samo u varijanti gdje su biljke bile tretirane preparatom Bio-algeenom S92, prosječna vrijednost prinosu je bila statistički značajno veća u odnosu na netretiranu varijantu. Prinos u varijantama gdje je korišćen Slavol i Ergonfill je takođe bio veći u odnosu na prinos u netretiranoj varijanti, ali to povećanje nije imalo svoju statističku opravdanost. Statistički opravdane razlike u prinosu nisu postojale ni između varijanti gdje su primjenjivani stimulatori rasta, premda je u obje godine istraživanja vrijednost prinosu bila najveća u varijanti gdje je korišćen Bio-algeen S92.

Iz analize svih rezultata koji se odnose na prinos, može se konstatovati da je vodni stres ograničavajući faktor u postizanju većih prinosova šeri paradajza, ali da primjena korištenih stimulatora rasta može umnogome uticati na smanjenje posljedica stresa na uzgajanu biljku, uslijed čega je i prinos u takvim varijantama veći.

7. ZAKLJUČCI

Na osnovu sprovedenog istraživanja i dobijenih rezultata izvedeni su sljedeći zaključci:

- Izlaganje presadnica šeri paradajza uslovima vodnog stresa dovelo je do značajnih promjena u njihovom rastu i metabolizmu, a koje su se između ostalog manifestovale u povećanoj sintezi osmotski aktivne materije prolina u čelijama listova, usporenom povećavanju površine listova, smanjenoj sintezi fotosintetskih pigmenata, te povećanoj sintezi fenolnih i flavonoidnih jedinjenja u listovima.
- Presadnice šeri paradajza tretirane Bio-algeenom S92, Slavolom i Ergonfillom su u stresnim uslovima imale statistički značajno višu vrijednost vodnog potencijala i nižu stopu sinteze prolina u čelijama listova u odnosu na netretirane presadnice iz čega se može zaključiti da je stepen stresa u navedenim presadnicama bio manji, odnosno da je primjena navedenih stimulatora rasta doprinijela boljoj osmotskoj adaptaciji presadnica šeri paradajza stresnim uslovima.
- Primijenjeni stimulatori rasta su značajno uticali i na povećanje sadržaja fotosintetskih pigmenata, ukupnih fenola i flavonoida, te ukupnog antioksidacijskog kapaciteta u listovima šeri paradajza izloženim stresu posmatrano u odnosu na netretiranu varijantu, a što dodatno doprinosi većoj adaptilnosti tretiranih presadnica stresnim uslovima. Na povećanje sadržaja hlorofila u listovima šeri paradajza su statistički najveći uticaj iskazali preparati Slavol i Bio-algeen S92, a na sadržaj fenola i flavonoida, te ukupnog antioksidacijskog kapaciteta preparati Ergonfill i Bio-algeen S92. Efekat Slavola na povećanje sinteze hlorofila u listovima se može objasniti činjenicom da isti u sebi sadrži bakterije azotofiksatore koje doprinose većem stepenu usvajanja azota od strane korijenovog sistema biljke, a samim time i većoj dostupnosti azota za potrebe sinteze pigmenata u čelijama listova, dok se efekat Bio-algeena S92 na sintezu hlorofila može pripisati sinergijskom efektu većeg broja komponenti unutar njegovog sastava, u prvom redu različitim azotnih jedinjenja, među kojima i glutamata, prekursora u sintezi pigmenta hlorofila. Smatra se da je postignuti efekat Bio-algeena S92 i Ergonfilla na povećanje

sadržaja fenola i flavonoida u listovima presadnica šeri paradajza prvenstveno rezultat visoke zastupljenosti aromatskih aminokiselina (triptofana, tirozina i fenilalanina) u sastavu navedenih preparata, a za koje je poznato da su jedni od važnih prekursora u sintezi fenolnih jedinjenja.

- Aktivnost enzima PPX, GPX, APX, CAT i SOD je bila značajno veća u listovima presadnica šeri paradajza izloženih vodnom stresu u odnosu na neizložene, nezavisno od tretmana presadnica ispitivanim preparatima, a iz čega se može zaključiti da presadnice šeri paradajza u uslovima stresa intenzivno pokreću svoj antioksidativni sistem u kojem bitnu ulogu ima aktivnost navedenih enzima. Stepen porasta aktivnosti PPX, GPX, APX, CAT i SOD je bio značajno manji u listovima presadnica šeri paradajza koje su prije izlaganja stresu bile tretirane stimulatorima rasta, što upućuje na zaključak da njihova primjena ima svoju opravdanost sa aspekta odgađanja ulaska presadnica šeri paradajza u stresno stanje.
- Presadnice šeri paradajza izložene kontrolisanim stresnim uslovima su nezavisno od korišćenog stimulatora rasta ostvarile značajno niži prinos u odnosu na presadnice koje su bile redovno zalijevane, što potvrđuje hipotezu da nedostatak vode negativno utiče na rast i diobu ćelija, te smanjuje mogućnost zametanja i razvoja ploda. Primjena stimulatora rasta, u prvom redu Bio-alglena S92, je donekle uspjela smanjiti pad prinosa u "stresiranim" presadnicama, ali ga nije uspjela sprječiti.
- Sadržaj ukupne rastvorljive suve materije, ukupnih kiselina, vitamina C, likopena, ukupnih fenola, flavonoida, te ukupnog antioksidacijskog kapaciteta u plodovima šeri paradajza je bio veći u varijantama gdje su presadnice jedno vrijeme bile izložene stresnim uslovima, nezavisno od korišćenog stimulatora rasta. Iz navedenog se može zaključiti da izlaganje presadnica šeri paradajza kontrolisanom stresu može umnogome doprinijeti povećanju nutritivne i zdravstvene vrijednosti njihovih plodova.
- Generalni zaključak provedene doktorske disertacije je taj da je stres uslovljen nedostatkom vode ograničavajući faktor u uzgoju šeri paradajza, te da primjena Bio-

algeena S92, Slavola i Ergonfilla može u većoj ili manjoj mjeri doprinijeti ublažavanju posljedica stresa na biljku, zavisno od sastava stimulatora rasta, sposobnosti biljke da iskoristi bioaktivne supstance u navedenim preparatima za svoj metabolizam, te uslova u kojima se biljke uzgajaju. U uslovima u kojima je proveden ovaj ogled, Bio-algeen S92 je uopšteno posmatrano pokazao najveću efikasnost u jačanju mehanizma osmotske adaptacije i antioksidativnog sistema odbrane presadnica šeri paradajza na vodni stres, te je sasvim izvjesno da njegova primjena ima svoju opravdanost sa aspekta povećanja tolerantnosti presadnica šeri paradajza prema nedostatku vode, a samim time i sa aspekta poboljšanja produktivnosti šeri paradajza u uslovima vodnog stresa.

8. LITERATURA

1. Abdel-Latif A. M. (1995): Physiological studies on tomato. M.Sc. Thesis, Faculty of Agriculture, Cairo University.
2. Achnine L., Blancaflor E. B., Rasmussen S., Dixon R. A. (2004): Colocalization of L-phenylalanine ammonia-lyase and cinnamate 4-hydroxylase for metabolic channeling in phenylpropanoid biosynthesis. Plant Cell 16, 3098-3109.
3. Aebi M. (1984): Catalase in vitro. Meth. Enzymol. 105, 121-126.
4. Agarwal A., Shen H., Agarwal S., Rao A. (2001): Lycopene content of tomatoproduts: its stability, bioavailability and in vivo antioxidant properties. J. Med. Food 4, 9-15.
5. Aguirre N. C., Cabrera F. A. V. (2012): Evaluating the Fruit Production and Quality of Cherry Tomato (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*). Rev. Fac.Nal. Agr. 65 (2), 6593-6604.
6. Ahmad P., Jaleel C. A., Salem M. A., Nabi G., Sharma S. (2010): Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. Critical Reviews in Biotechnology 30 (3), 161-175.
7. Ahuja I., de Vos R. C., Bones A. M., Hall R. D. (2010): Plant molecular stress responses face climate change. Trends Plant Sci. 15, 664-674.
8. Akbudak B., Akbudak N., Seniz V., Eris A. (2007): Sequential treatments of hot water and modified atmosphere packaging in cherry tomatoes. Journal of Food Quality 30 (6), 896-910.
9. Al Hassan M., Martínez Fuertes M., Ramos Sánchez F. J., Vicente O., Boscaiu M. (2015): Effects of salt and water stress on plant growth and on accumulation of osmolytes and antioxidant compounds in cherry tomato. Not. Bot. Horti. Agrobo. 43, 1-11.
10. Al-Amri S. M. (2013): Improved growth, productivity and quality of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants through application of shikimic acid. Saudi J. Biol. Sci. 20 (4), 339-345.
11. Alaoui S. M., Salghi R., Abouatallah A., Ayoub M. (2015): Impact of Drip Irrigation Scheduling On Fruit Quality Parameters and Water Use Efficiency On Tomato Plant (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Under Unheated Greenhouse. J. Mater. Environ. Sci. 6 (2), 315-321.
12. Alberto M. R., Rinsdahl M., Manca de Nadra M. C. (2006): Antimicrobial effect of polyphenols from apple skins on human bacterial pathogens. Electronic Journal of Biotechnology 9 (3), 206-209.
13. Aldana F., García P. N., Fischer G. (2014): Effect of waterlogging stress on the growth, development and symptomatology of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) plants. Rev. Acad. Colomb. Cienc. 38, 393-400.

14. Alscher R. G., Donahue J. L., Cramer C. L. (1997): Reactive oxygen species and antioxidants: Relationships in green cells. *Physiol Plant.* 100, 224-233.
15. Aman S., Rab A. (2013): Response of tomato to nitrogen levels with or without humic acid. *Sarhad Journal of Agriculture* 29, 181-186.
16. Amorati R., Lucarini M., Mugnaini V., Pedulli G. F. (2003): Antioxidant activity of o-bisphenols: the role of intermolecular hydrogen bonding. *The Journal of organic chemistry* 68 (13), 5198-5204.
17. Anjum S. A., Xie X., Wang L., Saleem M. F., Man C., Lei W. (2011): Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *Afr. J. Agr. Res.* 6, 2026-2032.
18. AOAC (2000): Official method 942.15. Acidity (Titratable) of fruit products, Official Methods of Analysis, 17th ed Washington, DC.
19. AOAC (2006): Official method 967.21. Ascorbic acid in vitamin preparations and juices, 2,6-dichloroindophenol titrimetric method. Official Method of Analysis, 18th ed., Arlington VA.
20. Apel K., Hirt H. (2004): Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55: 373-399.
21. Arora A., Sairam R. K., Srivastava G. C. (2002): Oxidative stress and antioxidative system in plants. *Current Science* 82, 1227-1238.
22. Arreola J., Franco J. A., Vicente M. J., Martínez-Sánchez, J. J. (2006): Effect of nursery irrigation regimes on vegetative growth and root development of *Silene vulgaris* after transplantation into semi-arid conditions. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 81, 583-592.
23. Arrigoni O., De Tullio M. C. (2000): The role of ascorbic acid in cell metabolism: between gene-directed functions and unpredictable chemical reactions. *Journal of Plant Physiology* 157 (5), 481-488.
24. Asri F.O., Demirtas E.I., Ari N. (2015): Changes in fruit yield, quality and nutrient concentrations in response to soil humic acid applications in processing tomato. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 21, 585-591.
25. Athar H. U. R., Khan A., Ashraf M. (2008): Exogenously applied ascorbic acid alleviates salt-induced oxidative stress in wheat. *Environ. Exp. Bot.* 63, 224-231.
26. Atkinson C. J., Harrison-Murray R. S., Taylor J. M. (2008): Rapid-flood induced stomatal closure accompanies xylem sap transportation of root-derived acetaldehyde and ethanol in *Forsythia*. *Environmental and Experimental Botany* 64, 196-205.
27. Avis T. J., Gravel V., Antoun H., Tweddell R. J. (2008): Multifaceted beneficial effects of rhizosphere microorganisms on plant health and productivity. *Soil Biol. Biochem.* 40, 1733-1740.

28. Azedo-Silva J., Osorio J., Fonseca F., Correia M. J. (2004): Effects of soil drying and subsequent re-watering on the activity of nitrate reductase in roots and leaves of *Helianthus annuus*. *Functional Plant Biology* 31, 611-621.
29. Bai T., Yin R., Li C., MaF., Yue Z., Shu H. (2011): Comparative analysis of endogenous hormones in leaves and roots of two contrasting *Malus* species in response to hypoxia stress. *Journal Plant Growth Regulation* 30, 119-127.
30. Bailly C., Benamar A., Corbineau F., Come D. (2000): Antioxidant systems in sunflower seeds as affected by priming. *Seed Science Research* 10 (2), 35-42.
31. Baitley S. J., Mittler R. (2006): The role of reactive oxygen species in plant cells. *Plant Physiol.* 141, 311.
32. Bajpai M., Pande A., Tewari S. K., Prakash D. (2005): Phenolic contents and antioxidant activity of some food and medicinal plants. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 56 (4), 287-291.
33. Barbagallo R. N., Isabella D.S., Patane C. (2013): Yield, physicochemical traits, antioxidant pattern, polyphenol oxidase activity and total visual quality of field-grown processing tomato cv. Brigade as affected by water stress in Mediterranean climate. *J. Agric. Food Chem.* 93, 1449-1457.
34. Bates L. S., Waldren R. P., Teare I. D. (1973): Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil* 39(1), 205-207.
35. Baxter A., Mittler R., Suzuki N. (2014): ROS as key players in plant stress signaling. *J. Exp. Bot.* 65: 1229-1240.
36. Beckles D. M., Hong N., Stamova L., Luengwilai K. (2012): Biochemical factors contributing to tomato fruit sugar content: a review. *Fruits* 67, 49-64.
37. Benzie I. F., Strain J. J. (1996): Ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Anal. Biochem.* 239, 70-76.
38. Berki M., Daood H. G., Helyes L. (2014): The influence of the water supply on the bioactive compounds of different tomato varieties. *Acta Alimentaria* 43, 21-28.
39. Bertin N., Guichard S., Leonardi C., Longuenesse J. J., Langlois J., Navez B. (2000): Seasonal evaluation of the quality of fresh glass house tomatoes under Mediterranean conditions, as affected by air vapour pressure deficit and plant fruit load. *Ann. Bot.* 85, 741-750.
40. Bhattacharyya P. N., Jha D. K. (2012): Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 28 (4), 1327-1350.
41. Bidwell R. G. S. (1979): *Plant Physiology*. 2nd Ed. Macmillan Publishing Co. New York, USA, pp. 557-565.

42. Birhanu K., Tilahun K. (2010): Fruit yield and quality of drip-irrigated tomato under deficit irrigation. *Journal of Food Agriculture Nutrition and Development* 10 (2), 2139-2151
43. Blunden G., Jenkins T., Yan-Wen L. (1996): Enhanced leaf chlorophyll levels in plants treated with seaweed extract. *J. Appl. Phycol.* 8 (6): 535-543.
44. Bongue-Bartlsman M., Phillips, D. A. (1995): Nitrogen stress regulates gene expression of enzymes on the flavonoid biosynthetic pathway of tomato. *Plant Physiology and Biochemistry*, 33, 539-546.
45. Bradford K. J., Yang S. F.(1980): Xylem transport of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, an ethylene precursor, in waterlogged tomato plants. *Plant Physiology* 65, 322-326.
46. Bradford M. M. (1976): A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 72, 248-254.
47. Bramlej P. M. (2000): Is lycopene beneficial to human health? *Phytochemistry* 54 (3), 233-236.
48. Bray E. A. (1997): Plant responses to water deficit. *Trends Plant Sci.* 2 (2), 48-54.
49. Britton G., Liaaen-Jensen S., Pfander H. (2004): Carotenoids. Handbook. Birkhauser Verlag; Basel, Switzerland.
50. Cadena E., Davies K. J. (2000): Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radic Biol Med.* 29 (3-4): 222-230.
51. Calvo P., Nelson L., Kloepper J. W. (2014): Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant Soil* 383, 3-41.
52. Canellas L. P., Teixeira Junior L. R. L., Dobbss L. B., Silva C. A., Medici L. O., Zandonadi D. B., Facahna A. R. (2008): Humic acids crossinteractions with root and organic acids. *Ann. Appl. Biol.* 153, 157-166.
53. Carocho M., Ferreira I. C. (2013): A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food Chem. Toxicol.* 51, 15-25.
54. Caron V. C., Tessmer M. A., Mello S. C. Jacomino A. P. (2013): Quality of mini tomatoes harvested at two maturity stages and kept chilled in threepackages. *Horticultura Brasileira* 31: 279-286.
55. Caverzan A., Passaia G., Rosa S. B., Ribeiro C. W., Lazzarotto F., Margis-Pinheiro M. (2012): Plant responses to stresses: role of ascorbate peroxidase in the antioxidant protection. *Genet. Mol. Biol.* 35, 1011–1019.
56. Cevallos-Casals B. A., Cisneros-Zevallos L. A. (2003): Stoichiometric and kinetic studies of phenolic antioxidants from Andean purple corn and red-fleshed sweet potato. *J. Agric. Food Chem.* 51, 3313-3319.

57. Chabot R, Antoun H, Cescas M. P. (1996): Growth promotion of maize and lettuce by phosphate-solubilizing *Rhizobium leguminosarum* biovar. *Phaseoli*. *Plant Soil* 184, 311–321.
58. Chance B., Maehly A. C. (1955): Assay of catalases and peroxidases. *Meth. Enzymol.* 2, 764-775.
59. Chauhan H., Bagyaraj D. I., Selvakumar G., Sundaram S. P. (2015): Novel plant growth promoting rhizobacteria-prospects and potential. *Applied Soil Ecology* 95, 38-53.
60. Chaves M. M., Flexas J., Pinheiro C. (2009): Photosynthesis under drought and salt stress: Regulation mechanisms from whole plant to cell. *Ann Bot.*, 103, 551-560.
61. Chen Y., De Nobili M., Aviad T. (2004): Stimulatory effects of humic substances on plant growth. In: Magdoff F., Weil R.R. (Eds.), *Soil organic matter in sustainable agriculture*. Boca Raton, CRC Press, pp. 103-130.
62. Cheynier V., Comte G., Davies K. M., Lattanzio V., Martens S. (2013): Plant phenolics: recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. *Plant Physiol. Biochem.* 72, 1-20.
63. Chitarra W., Pagliarani C., Maserti B., Lumini E., Siciliano I., Cascone P., Schubert A., Gambino G., Balestrini R., Guerrieri E. (2016): Insights on the impact of arbuscular mycorrhizal symbiosis on tomato tolerance to water stress. *Plant Physiol.* 171, 1-15.
64. Cimrin K.M., Yilmaz I. (2005): Humic acid applications to lettuce do not improve yield but do improve phosphorus availability. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B – Soil and Plant Science* 55, 58-63
65. Claussen W. (2005): Proline as a measure of stress in tomato plants. *Plant Science* 168, 241-248.
66. Cornell H. V., Hawkins B. A. (2003). Herbivore responses to plant secondary compounds: a test of phytochemical coevolution theory. *Am. Nat.* 161, 507-522.
67. Cosio C., Dunand C. (2009): Specific functions of individual class III peroxidase genes. *J. Exp. Bot.* 60 (2), 391-408.
68. Cotrut R. Badulescu L. (2016): UPLC Rapid Quantification of Ascorbic Acid in Several Fruits and Vegetables Extracted Using Different Solvents. *Agriculture and Agricultural Science Procedia* 10, 160-166.
69. Craigie J. S. (2011): Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. *J. Appl. Phycol.* 23, 371-393.
70. Cramer G. R., Urano K., Delrot S., Pezzotti M., Shinozaki K. (2011): Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective. *BMC Plant Biol.* 11: 163.
71. Cvetkovic D., Fiedor L., Fiedor J., Wiśniewska-Becker A., Markovic D. (2013): Molecular Base for Carotenoids Antioxidant Activity in Model and Biological Systems: The Health-Related

- Effects. In: Yamaguchi M., editor. Carotenoids: Food Sources, Production and Health Benefits. Nova Science Publishers; Hauppauge, NY, USA. pp. 93-126.
72. Cvjetković B., (1997): Control of apple scab and powdery myldew on grape-vine with BAS 490 02 F. Mededelingen Faculteit landbouwkundige en toegepaste biologische wetenschappen. Steurbaut, W. Universiteit Gent, pp. 1129-1134.
 73. Damanik R. I., Maziah M., Ismail M. R., Ahmad S., Zain A. (2010): Responses of the antioxidative enzymes in Malaysian rice (*Oryza sativa L.*) cultivars under submergence condition. *Acta Physiol. Plant.* 32, 739-747.
 74. Das K., Roychoudhury A. (2014): Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. *Front. Environ. Sci.* 2, 53.
 75. Davis A. R., Fish W. W., Perkins-Veazie P. (2003): A rapid spectrophotometric method for analyzing lycopene content in tomato and tomato products. *Postharvest Biol. Technol.* 28, 425-430.
 76. Delauney A. J., Verma D. P. S. (1993): Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *The Plant Journal* 4, 215-223.
 77. Dhargalkar V. K., Pereira N. (2005): Seaweeds: promising plants of the millennium. *Science and Culture* 71, 60-66.
 78. Dobromilska R., Mikiciuk M., Gubarewicz K. (2008): Evalution of cherry tomato yielding and fruit mineral composition after using of Bio-algeen S-90 preparation. *J. Elementol.* 13 (4): 491-499.
 79. Drecer M. F. (2005): Nitrogen use at the leaf and canopy level: a framework to improve crop N use efficiency. *J. Crop Improv.* 15, 97-125.
 80. Duda-Chodak A., Tarko T., Satora P., Sroka P., Tuszyński T. (2010): The profile of polyphenols and antioxidant propertiers of selected apple cultivars grown in Poland. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research* 18 (2), 39-50.
 81. Duma M., Alsina I., Dubova L., Erdberga I. (2017): Quality of tomatoes during storage. Proceedings of 11th Baltic Conference on Food Science and Technology "Food science and technology in a changing world", 130-134.
 82. Dumas Y., Dadomo M., Di Lucca G., Grolier P. (2003): Effects of environmental factors and agricultural techniques on antioxidant content of tomatoes. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 83, 369-382.
 83. Egnér H., Riehm H., Domingo W. R. (1960): Untersuchungen über die chemische Bodenanalyse als Grundlage für die Beurteilung de Nährstoff zustandes der Böden. II. Chemische

- Extraktionsmethoden zur Phosphor - und Kaliumbestimmung. K. Lantbr. Hogska Annl., 26, 199-215.
84. Erba D., Casiraghi M. C., Ribas-Agusti A., Caceres R., Marfa`O., Castellari M. (2013): Nutritional value of tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.) grown in greenhouse by different agronomic techniques. *Journal of Food Composition and Analysis* 31, 245-251.
85. Escarpa A., Gonzalez M. C. (2000): Optimization strategy and validation of one chromatographic method as approach to determine the phenolic compounds from different sources. *J. Chromatogr. A.* 897, 161-170.
86. Estrada B., Aroca R., Barea J. M., Ruiz-Lozano J. M. (2013): Native arbuscular mycorrhizal fungi isolated from a saline habitat improved maize antioxidant systems and plant tolerance to salinity. *Plant Sci.* 201-202, 42-51.
87. Farnia A., Moradi E. 2015: Effect of soil and foliar application of humic acid on growth and yield of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). *International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Sciences* 4 (10), 706-716.
88. Farooq M., Wahid A., Kobayashi N., Fujita D., Basra S. M. A. (2009): Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development* 29 (1), 185-212
89. Favati F., Lovelli S., Galgano F., Miccolis V., Di Tommaso T., Candido V. (2009): Processing tomato quality as affected by irrigation scheduling. *Sci. Hort.* 122, 562-571.
90. Fernandez J. E., Rodriguez-Dominguez C. M., Perez-Martin A., Zimmermann U., Rüger S., Martin-Palomo M. J., Torres-Ruiz J. M., Cuevas M. V., Sann C., Ehrenberger W., Diaz-Espejo A. (2011): Online-monitoring of tree water stress in a hedgerow olive orchard using the leaf patch clamp pressure probe. *Agr Water Manage.* 100: 25-35
91. Fernandez-Garcia E., Carvajal-Lerida I., Jaren-Galan M., Garrido-Fernandez J., Perez-Galvez A., Hornero-Mendez D. (2012): Carotenoids bioavailability from foods: From plant pigments to efficient biological activities. *Food Res. Int.* 46, 438-450.
92. Ferrer J., Austin M., Stewart C. J., Noel J. (2008): Structure and function of enzymes involved in the biosynthesis of phenylpropanoids. *Plant Physiol. Biochem.* 46, 356-370.
93. Forde B. G., Lea P. J. (2007): Glutamate in plants: metabolism, regulation, and signaling. *Journal of Experimental Botany* 58 (9), 2339-2358.
94. Fu J., Huang B. (2001): Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. *Environmental and Experimental Botany* 45: 105-114.
95. Furbank R. T., Badger M. R., Osmond C. B. (1983): Photoreduction of oxygen in methophyll chloroplast of C₄ plants. *Plant Physiol.* 37: 1038-1041.

96. Gallie D. R. (2013): L-Ascorbic Acid: A Multifunctional Molecule Supporting Plant Growth and Development. ScientificaID 795964.
97. Gerster H. (1997): The potential role of lycopene for human health. *J. Am. Coll.Nutr.* 16, 109-26.
98. Ghasemi K., Ghasemi Y., Ebrahimzadeh A. M. (2009): Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 citrus species peels and tissues. *Pak. J. Pharm. Sci.* 22 (3), 277-281.
99. Ghorbanli M., Gafarabad M., Amirkian T., Mamaghani B.A. (2013): Investigation on proline, total protein, chlorophyll, ascorbate and dehydroascorbate changes under drought stress in Akria and Mobil tomato cultivars. *Iran J. Plant Physiol.* 3, 651-658.
100. Giannakoula A. E., Ilias I. F. (2013): The effect of water stress and salinity on growth and physiology of tomato. *Arch. Biol. Sci.* 65 (2), 611-620.
101. Gill S. S., Tuteja N. (2010): Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol. Biochem.* 48, 909-930.
102. Giovannucci E. (1999): Tomatoes, tomato-based products, lycopene, and cancer: Review of the epidemiologic literature. *J. Natl. Cancer Inst.*, 91, 317-331.
103. Gonzales-Dugo V., Durand J. L., Gastal F. (2010): Water deficit and nitrogen nutrition of crops. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 30, 529-544.
104. Grzesiak M. T., Rzepka A., Hura T., Hura K., Skoczowski A. (2007): Changes in response to drought stress of triticale and maize genotypes differing in drought tolerance. *Photosynthetica*. 45: 280-287.
105. Guernouri L., Artur Y., Hrbec B. (1991): Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in blood. *Clin. Chern.* 37, 1932-1937.
106. Guichard S., Bertin N., Leonardi C., Gary C. (2001): Tomato fruit quality in relation to water and carbon fluxes. *Agronomie* 21, 385-392.
107. Gunawardena M. D. M., De Silva C. S. (2015): Impact of induced temperature and water stress on vegetative and reproductive parameters of Tomato (*Lycopersicum esculentum*) variety Rajitha. *OUSL Journal* 8, 19-38.
108. Gupta S., Abu-Ghannam N. (2011): Recent developments in the application of seaweeds or seaweed extracts as a means for enhancing the safety and quality attributes of foods. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 22 (6), 315-326.
109. Hafez M. R. (2001): Impact of some chemical treatments on salinity tolerance of some tomato cultivars. M.Sc. Thesis, Faculty of Agriculture, Ain Shams University.
110. Halliwell B. (2006). Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiol.* 141, 312-322.

111. Halliwell B., Gutteridge J. M. C. (1999): Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford: Oxford University Press.
112. Hasanagic D., Kojic D., Kukavica B. (2017): The role of zeolite in reducing oxidative damage in tomato plants exposed to drought. 2nd International Conference on Enzymology and Molecular Biology, PP. 74.
113. Hasanuzzaman M., Nahar K., Alam M. M., Roychowdhury R., Fujita M. (2013): Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants. *Int. J. Mol. Sci.* 14, 9643-9684.
114. Hasna O., Afidah A. (2009): Antioxidant activity and phenolic content of Paederia foetida and Syzygium aqueum. *Molecules* 14, 970-978.
115. Helyes L., Lugasi A., Daood H. G., Pék Z. (2014): The Simultaneous Effect of Water Supply and Genotype on Yield Quantity, Antioxidants Content and Composition of Processing Tomatoes. *Not. Bot. Horti Agrobo*, 42 (1), 143-149.
116. Herrmann K. M., Weaver L. M. (1999): The shikimate pathway. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50, 473-503.
117. Heuer B. (1994): Osmoregulatory role of proline in water and salt-stressed plants. In: Pessarakli M, editor. *Handbook of plant and crop stress*. New York: Marcel Dekker; pp. 363-381.
118. Hiraga S., Sasaki K., Ito H., Ohoshi Y., Matsui H. (2001): A large family of class III plant peroxidases. *Plant and Cell Physiology* 42, 462-468.
119. Hirayama T., Shinozaki K. (2010): Research on plant abiotic stress responses in the post-genome era: past, present and future. *Plant J.* 61, 1041-1052.
120. Hopkins W. G. (1995): Introduction to plant physiology. The University of Western Ontario. John Wiley & Sons, New York.
121. Horinouchi S. (2009): Combinatorial biosynthesis of plant medicinal polyketides by microorganisms. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 13, 197-204.
122. Hungria M., Nogueira M. A., Araujo R. S. (2013): Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: Strategies to improve sustainability. *Biol. Fertil. Soils* 49 (7), 791-801.
123. Huseynova I. M., Aliyeva D. R., Aliyev J. A. (2014): Subcellular localization and responses of superoxide dismutase isoforms in local wheat varieties subjected to continuous soil drought. *Plant Physiol. Biochem.* 81, 54-60.
124. ISO (1998): Soil Quality, Determination of organic carbon by sulfochromic oxidation. International standard ISO 14235. International Organization for Standardization, Geneve, Switzerland.

125. ISO (2003): Fruit and vegetable products: Determination of soluble solids - Refractometric method. International Standard ISO 2173. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
126. ISO (2005): Soil quality - Determination of pH. International standard ISO 10390. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
127. Janjić V., Elezović I. (2008): Pesticidi u poljoprivredi i šumarstvu u Srbiji. Šesnaesto izmenjeno i dopunjeno izdanje. Društvo za zaštitu biljaka Srbije. "Lex graf" Beograd, 1137 str.
128. Javanmardi J., Stushnoff C., Locke E., Vivanco J. M. (2003): Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian Ocimum accessions. Food Chemistry 83 (4), 547-550.
129. Jayaraman J., Norrie J., Punja Z. K. (2011): Commercial extract from the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* reduces fungal diseases in greenhouse cucumber. J. Appl. Phycol. 23, 353-361.
130. Jędrzczak E., Ambroszczyk A. M. (2016): The influence of NANO-GRO® organic stimulator on the yielding and fruit quality of field tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Folia Hort. 28 (1), 87-94.
131. Johnson E. J. (2002): The role of carotenoids in human health. Nutr. Clin. Care 5 (2), 47-49.
132. Jureková Z., Németh-Molnár K., Paganová V. (2011). Physiological responses of six tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivars to water stress. J. Hortic. For. 3, 294-300.
133. Kamal J. K. A., Behere D. V. (2001): Steady-state and picosecond time-resolved fluorescence studies on native and apo seed coat soybean peroxidase. Biochem. Biophys. Res Commun. 289 (2), 427-433.
134. Kamrun N., Shah M. U., Gretzmacher, R. (2011): Influence of Soil Moisture Stress on Height, Dry Matter and Yield of Seven Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) Cultivars. Canadian Journal on Scientific and Industrial Research 2 (4): 160-163.
135. Kaur G, Reddy M. S. (2014): Influence of P-solubilizing bacteria on crop yield and soil fertility at multilocational sites. Eur. J. Soil Biol. 61, 35-40.
136. Kaur S., Mondal P. (2014): Study of total phenolic and flavonoid content, antioxidant activity and antimicrobial properties of medicinal plants. Journal of Microbiology and Experimentation 1 (1): 1-5.
137. Kazazić S. P. (2004): Antioksidacijska i antiradikalska aktivnost flavonoida. Arhiv za higijenu rada i toksikologiju 55, 279-290.
138. Kazemi M. (2013): Vegetative and reproductive growth of tomato plants affected by calcium and humic acid. Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences 2 (11), 24-29.

139. Kertikov T., Radeva V. (1998): Influence of treatment with the biostimulants Molstim and Ecostim on spring vetch productivity. *Rasteniev”dni nauki* 35 (3), 188-191.
140. Khan M. J., Jan M. T., Khan N. U., Arif M., Perveen S., Alam S., Jan A. U. (2011): The effect of using waste water for tomato. *Pak. J. Bot.* 43 (2), 1033-1044.
141. Khan S. H., Khan A., Litaf U., Shah A. S., Khan M. A. (2015): Effect of drought stress on tomato cv. Bombino. *J. Food Process. Technol.* 6: 465.
142. Khan T., Mazid M., Mohammad F. (2011): A review of ascorbic acid potentialities against oxidative stress induced in plants. *J. Agrobiol.* 28, 97-111.
143. KociraA., Świeca M., Kocira S., Złotek U., Jakubczyk A. (2016): Enhancement of yield, nutritional and nutraceutical properties of two common bean cultivars following the application of seaweed extract (*Ecklonia maxima*). *Saudi Journal of Biological Sciences* 25 (3), 563-571.
144. Korkina L. G. (2007): Phenylpropanoids as naturally occurring antioxidants: from plant defense to human health. *Cell Mol Biol.* 53, 15-25.
145. Kovács G. J. (2005): Modelling of adaptation processes of crops to water and nitrogen stress. *Phys. Chem. Earth* 30, 209-216.
146. Kovalchuk, I. (2010): Multiple roles of radicals in plants. In *Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Higher Plants*, 1st ed.; Gupta, S.D., Ed.; CRC Press: New York, NY, USA, pp. 31-44.
147. Krstić Lj., Sukdolak S., Solujić S. (1998): Značaj i uloga fenolnih jedinjenja. Srpsko hemijsko društvo, Hemijski pregled 3-4, 81-85.
148. Kubota C., Thomson C. A., Wu M., Javanmardi J. (2006): Controlled environments for production of value-added food crops with high phytochemical concentrations: Lycopene in tomato as an example. *Hort. Sci.* 41, 522-525.
149. Leggo P. J. (2000): An investigation of plant growth in an organo-zeolite substrate and its ecological significant. *Journal of Plant and Soil* 219 (7), 135-146.
150. Lei Y., Yin C., Li C. (2006): Differences in some morphological, physiological, and biochemical responses to drought stress in two contrasting populations of *Populus przewalskii*. *Physiol Plant.* 127, 182-191.
151. Lenucci M. S., Cadinu D., Taurino M., Piro G., Dalessandro G. (2006): Antioxidant Composition in Cherry and High-Pigment Tomato Cultivars. *J. Agric. Food Chem.* 54 (7), 2606-2613.
152. Li T., Li H., Zhang Y. X., Liu J. Y. (2011): Identification and analysis of seven H2O2-responsive miRNAs and 32 new miRNAs in the seedlings of rice (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*). *Nucleic Acids Res.* 39: 2821-2833.

153. Li Y., Zhu T., Zhao J., Xu B. (2012): Interactive Enhancements of Ascorbic Acid and Iron in Hydroxyl Radical Generation in Quinone Redox Cycling. *Environ. Sci. Technol.* 46 (18), 10302-10309.
154. Li Z., Wakao S., Fischer B. B., Niyogi K. K. (2009): Sensing and responding to excess light. *Annu. Rev. Plant Biol.* 60, 239-260.
155. Lisjak M., Špoljarević M., Agić D., Andrić L. (2009): Praktikum iz fiziologije biljaka. Sveučilište Josipa Jurja Strossmajera, Osijek, Croatia.
156. López-Cobo A., Gómez-Caravaca A. M., Cerretani L., Segura-Carretero A., Fernández-Gutiérrez A. (2014): Distribution of phenolic compounds and other polar compounds in the tuber of *Solanum tuberosum* L. by HPLC-DAD-q-TOF and study of their antioxidant activity. *Journal of Food Composition and Analysis* 36 (1-2), 1-11.
157. Maeda H., Dudareva N. (2012): The shikimate pathway and aromatic Amino acid biosynthesis in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 63, 73-105.
158. Mafakheri A., Siosemardeh A., Bahramnejad B., Struik P. C., Sohrabi Y. (2010): Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars. *Aust J. Crop. Sci.* 4, 580-585.
159. Mafakheri A., Siosemardeh A., Bahramnejad B., Struik P. C., Sohrabi Y. (2011): Effect of drought stress and subsequent recovery on protein, carbohydrate contents, catalase and peroxidase activities in three chickpea (*Cicer arietinum*) cultivars. *Aust. J. Crop Sci.* 5, 1255-1260.
160. Mancuso S., Azzarello E., Mugnai S., Briand X. (2006): Marine bioactive substances (IPA extract) improve foliar ion uptake and water stress tolerance in potted *Vitis vinifera* plants. *Adv. Hortic. Sci.* 20, 156-161.
161. Mangas J. J., Rodríguez R., Suárez B., Picinelli A., Dapena E. (1999): Study of the phenolic profile of cider apple cultivars at maturity by multivariate techniques. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47 (10), 4046-4052.
162. Mansour M. M. F. (1998): Protection of plasma membrane of onion epidermal cells by glycinebetaine and proline against NaCl stress. *Plant Physiol Biochem.* 36: 767-772.
163. Marks S. C., Mullen W., Croizer A. (2007): Flavonoid and chlorogenic acid profiles of English cider apples. *J. Sci. Food Agric.* 87, 719-728.
164. Martens S., Preuss A., Matern U. (2010): Multifunctional flavonoid dioxygenases: flavonols and anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* L. *Phytochemistry* 71, 1040-1049.

165. Martí R., Valcárcel M., Herrero-Martínez J. M., Cebolla-Cornejo J., Roselló S. (2017): Simultaneous determination of main phenolic acids and flavonoids in tomato by micellar electrokinetic capillary electrophoresis. *Food Chemistry* 221, 439-446.
166. Martínez-Valverde I., Periago M. J., Provan G., Chesson A. (2002): Phenolic compounds, lycopene and antioxidant activity in commercial varieties of tomato (*Lycopersicum esculentum*). *Journal of Science Food Agriculture* 82 (3), 323-330.
167. Mathe C., Barre A., Jourda C., Dunand C. (2010): Evolution and expression of class III peroxidases. *Arch. Biochem. Biophys.* 500, 58-65.
168. Mattila P., Hellström J., Törrönen R. (2006): Phenolic acids in Berries, Fruits, and Beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54 (19), 7193-7199.
169. Mc Cord J. M., Fridovich I. (1969): Superoxide dismutase: an enzymatic function for erythrocuprein (hemocuprein). *J. Biol. Chem.* 244, 6049-6055.
170. Mc Cue K. F., Hanson A. D. (1990): Drought and salt tolerance: towards understanding and application. *Trends in Biotechnology* 8, 358-362.
171. Međedović S., Parić A., Pustahija F., Hindija J. (2006): Uvod u biljnu fiziologiju (laboratorijski priručnik). Šumarski fakultet Univerziteta u Sarajevu, Sarajevo, Bosna i Hercegovina.
172. Menge D. N., Chazdon R. L. (2016): Higher survival drives the success of nitrogen-fixing trees through succession in Costa Rican rainforests. *New Phytol.* 209 (3), 965-977.
173. MhamdiA., QuevalG., ChaouchS., VanderauweraS., VanBreusegemF., Noctor G. (2010): Catalase function in plants: a focus on *Arabidopsis* mutants as stress-mimic models. *J. Exp. Bot.* 61, 4197-4220.
174. Mittler R. (2002): Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.* 7, 405-410.
175. Molina C., Rotter B., Horres R., Udupa S. M., Besser B., Bellarmino L., et al. (2008): Super SAGE: the drought stress-responsive transcriptome of chickpea roots. *BMC Genomics* 9, 553.
176. Møller I. M., Jensen P. E., Hansson A. (2007): Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 58: 459-481.
177. Mueller S., Hilbert B., Dueckershoff K., Roitsch T., Krischke M., Mueller J. M. (2008): General detoxification and stress responses are mediated by oxidized lipids through TGA transcription factors in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 20: 768-785.
178. Mundhe K. S., Kale A. A., Gaikwad S. A., Deshpande N. R., Kashalkar R. V. (2011): Evaluation of phenol, flavonoid contents and antioxidant activity of *Polyalthia longifolia*. *J. Chem. Pharm. Res.* 3 (1), 764-769.

179. Mundree S. G., Baker B., Mowla S., Peters S. (2002): Physiological and molecular insights into drought tolerance. African Journal of Biotechnology 1, 28-38.
180. Muralidharan R., Saravanan A., Muthuvel P. (2000): Influence of biostimulants on yield and quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Madras Agricultural Journal 87 (10/12), 625-628.
181. Murshed R., Lopez-Lauri F., Sallanon H. (2013): Effect of water stress on antioxidant systems and oxidative parameters in fruits of tomato (*Solanum lycopersicum* L. cv. Micro-tom). *Physiol. Mol. Biol. Plants* 19, 363-378.
182. Nabati D. A., Schmidt R. E., Parrish D. J. (1994): Alleviation of salinity stress in kentucky bluegrass by plant growth regulators and iron. *Crop Sci.* 34, 198-202.
183. Nahar K., Ullah S. M., Islam N. (2011): Osmotic Adjustment and Quality Response of Five Tomato Cultivars (*Lycopersicon esculentum* Mill) Following Water Deficit Stress under Subtropical Climate. *Asian Journal of Plant Sciences* 10, 153-157.
184. Nakano Y., Asada K. (1981): Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol.* 22, 867-880.
185. Nasir M. U., Hussain S., Jabbar S. (2015): Tomato processing, lycopene and health benefits: A review. *Science letters* 3 (1), 1-5.
186. Nešković M., Konjević R., Ćulafić Lj. (2003): *Fiziologija biljaka*. NNK-International, Beograd.
187. Nimse S. B., Pal D. (2015): Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Adv.* 5: 27986-28006.
188. Noctor G., Mhamdi A., Foyer C. H. (2014): The roles of reactive oxygen metabolism in drought: not so cut and dried. *Plant Physiol.* 164: 1636-1648.
189. Nuruddin M. M., Madramootoo C. A., Dodds G. T. (2003): Effects of water stress at different growth stages on greenhouse tomato yield and quality. *Hort.Science* 38, 1389-1393.
190. Nyabundi J. O., Hsia T. C. (2009): Effects of water stress on growth and yield of field-grown tomatoes. H. Biomass partitioning between vegetative and productive growth. *E. Afr. Agric. J.* 55 (2): 53-61.
191. Okunlola G. O., Adelusi A. A., Olowolaju E. D., Oseni O. M., Akingboye G. L. (2015): Effect of water stress on the growth and some yield parameters of *Solanum lycopersicum* L. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 9 (4), 1755-1761.
192. Oljača R., Borišev M., Krstić B., Hrkić Ilić Z. (2012): *Fiziologija drvenastih biljaka – praktikum*. Šumarski fakultet Univerzitet u Banjoj Luci, Prirodno-matematički fakultet Univerzitet u Novom Sadu, Grafomark Laktaši.

193. Osakabe Y., Osakabe K., Shinozaki K., Lam-Son P. T. (2014): Response of plant to water stress. *Front. Plant Sci.* 5, 86.
194. Osorio E., Flores M., Hernández D., Ventura J., Rodríguez E., Aguilar C.N. (2010): Biological efficiency of polphenolic extracts from pecan nuts shell (*Carya illinoensis*), pomegranate husk (*Punica granatum*) and creosote bus leaves (*Larrea tridentata* Cov.)against plant pathogenic fungi. *Industrial crops and products* 31, 153-157.
195. Ough C. S., Amerine M. A. (1988): Phenolic compounds. In: Methods for analysis of must and wines, New York, USA: Wiley, pp. 50-70.
196. Parađiković N., Vinković T., Teklić T., Guberac V., Milaković Z. (2008): Primjena biostimulatora u proizvodnji presadnica rajčice. *Zbornik radova 43. hrvatskog i 3. internacionalnog simpozija agronomije - Opatija*, 435-438.
197. Parvaiz A., Satyawati S. (2008): Salt stress and phyto-biochemical responses of plants: a review. *Plant Soil and Environ.* 54 (3), 89-99.
198. Passardi F., Cosio C., Penel C., Dunand C. (2005): Peroxidases have more functions than a Swiss army knife. *Plant Cell Rep.* 24, 255-265.
199. Pedranzani H., Tavecchio N., Gutierrez M., Garbero M., Porcel R., RuizLozano J. M. (2015): Differential effects of cold stress on the antioxidant response of mycorrhizal and non-mycorrhizal *Jatropha curcas* L. plants. *J. Agr. Sci.* 7, 35-43.
200. Pék Z., Szuvandzsiev P., Daood H., Neményi A., Helyes L. (2014): Effect of irrigation on yield parameters and antioxidant profiles of processing cherry tomato. *Central European Journal of Biology* 9 (4), 383-395.
201. Pertuit A.J. (1995): Effects of leonardite and seaweed on tomato, zinnia, and marigold seedlings. *Hort. Sci.* 30: 621-657.
202. Petrozza A., Santaniello A., Summerer S., Di Tommaso G., Di Tommaso D., Paparelli E. (2014): Physiological responses to Megafol treatments in tomato plants under drought stress: a phenomic and molecular approach. *Sci. Hortic.* 174, 185-192.
203. Pevalek Kozlina B. (2011): *Fiziologija bilja*. Profil International. Zagreb.
204. Phaniendra A., Jestadi D. B., Periyasamy L. (2015): Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian J. Clin. Biochem.* 30: 11-26.
205. Pillitteri L. J., Torii K. U. (2012): Mechanisms of stomatal development. *Annu. Rev. Plant Biol.* 63: 591-614.
206. Raffo A., La Malfa G., Fogliano V., Maiani G., Quaglia G. (2006): Seasonal variations in antioxidant components of cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* cv. Naomi F1). *Journal of Food Composition and Analysis* 19 (1), 11-19.

207. Rastija V., Srečnik G., Medić-Šarić M. (2009): Polyphenolic composition of Croatian wines with different geographical origins. *Food Chemistry* 115 (1), 54-60.
208. Rathore S. S., Chaudhary D. R., Boricha G. N., Ghosh A., Bhatt B. P., Zodape S. T., Patolia J. S. (2009): Effect of seaweed extract on the growth, yield and nutrient uptake of soybean (*Glycine max*) under rainfed conditions. *S. Afr. J Bot.* 75, 351-355.
209. Rfaki A., Nassiri L., Ibijbien J. (2015): Isolation and Characterization of Phosphate Solubilizing Bacteria from the Rhizosphere of Faba Bean (*Vicia faba L.*) in Meknes Region, Morocco. *Br. Microbiol. Res. J.* 6 (5), 247-254.
210. Richardson A. E., Barea J. M., McNeill A. M., Prigent-Combaret C. (2009): Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant Soil* 321, 305-339.
211. Ridge I. (1991): *Plant Physiology*. The Open University. Hodder Education, UK.
212. Rigano M. M., Raiola A., Tenore G. C., Monti D. M., Del Giudice R., Frusciante L. (2014): Quantitative trait loci pyramiding can improve the nutritional potential of tomato (*Solanum lycopersicum*) fruits. *J. Agric. Food. Chem.* 62, 11519-11527.
213. Robards K., Prenzler P. D., Tucker G., Swatsitang P., Glover W. (1999): Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry* 66, 401-436.
214. Rolli E., Marasco R., Vigani G., Ettoumi B., Mapelli F., Deangelis M. L. Gandolfi C., Casati E., Previtali F., Gerbino R., Pierotti Cei F., Borin S., Sorlini C., Zocchi G., Daffonchio D. (2015): Improved plant resistance to drought is promoted by the root-associated microbiome as a water stress-dependent trait. *Environ. Microbiol.* 17, 316-331.
215. Salin M. L. (1987): Toxic oxygen species and protective system of chloroplast. *Physiol. Plant.* 72, 681-689.
216. Sanchez-Rodriguez E., Moreno D. A., Ferreres F., Rubio-Wilhelmi M., Ruiz J. M. (2011): Differential responses of five cherry tomato varieties to water stress: changes on phenolic metabolites and related enzymes. *Phytochemistry* 72, 723-729.
217. Scandalios J. G., Guan L., Polidoros A. N. (1997): Catalases in plants: gene structure, properties, regulation and expression. In: Scandalios JG, ed. *Oxidative stress and the molecular biology of antioxidants defenses*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, pp. 343-406.
218. Schroeder J. I., Kwak J. M., Allen G. J. (2001): Guard cell abscisic acid signalling and engineering drought hardiness in plants. *Nature* 410: 327-330.
219. Seng K. H. (2014): The effects of Drought, Waterlogging and Heat Stress on Tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Ph.D. Thesis, Lincoln University, Lincoln, UK.

220. Serio F., De Gara L., Caretto S., Leo L., Santamaria P. (2004): The electrical conductivity of nutrient solution, substrate, yield and antioxidant vitamins of cherry tomato. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, 1855-1890.
221. Shami, A.M., Philip, K., & Muniandy, S. 2013: Synergy or antibacterial and antioxidantactivities from crude extracts and peptides of selected plant mixture. *BMC Complementaryand Alternative Medicine* 13, 360.
222. Shao H. B., Chu L. Y., Shao M. A., Jaleel C. A., Mi H. M. (2008): Higher plant antioxidants and redox signaling under environmental stresses. *C. R. Biol.* 331, 433-441.
223. Sharp R. E. (2002): Interaction with ethylene: changing views on the role of abscisic acid in root and shoot growth responses to water stress. *Plant Cell Environ.* 25: 211-222.
224. Sheikh M., Safi-uddin A., Khan Z., Rizvi R., Mahmood I. (2013): Antibacterial andantifungal potential of some medicinal plants against certain phytopathogenicmicroorganisms. *Archives of phytopathology and plant protection* 46 (9), 1070-1080.
225. Shi J., Kakuda Y., Yeung D. (2004): Antioxidative properties of lycopene and other carotenoids from tomatoes: synergistic effects. *Biofactors*, 21 (1-4), 203-210.
226. Shigeoka, S., Ishikawa, T., Tamoi, M., Miyagawa, Y., Takeda, T., Yabuta, Y. (2002): Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. *J. Exp. Bot.* 53, 1305–1319.
227. Sidhu V., Nandwani D., Wang L., Wu Y. (2017): A Study on Organic Tomatoes: Effect of a Biostimulator on Phytochemical and Antioxidant Activities. *Journal of Food Quality ID* 5020742, 8.
228. Sies H. (1997). Oxidative stress: oxidants, antioxidants. *Exp Physiol.* 82, 291-295.
229. Skirycz A., Inze D. (2010): More from less: plant growth under limited water. *Curr. Opin. Biotechnol.* 21, 197-203.
230. Slimestad R., Fossen T., Verheul T. J. (2008): The flavonoids of tomatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 2436-2441.
231. Smirnoff N. (2000): Ascorbic acid: metabolism and functions of a multi-faceted molecule. *Curr. Opin. Plant Biol.* 3, 229-235.
232. Spann T. M., Little H. A. (2010): Effect of stimplex crop biostimulant on drought tolerance of ‘Hamlin’ sweet orange. *Proc. Fla. State Hortic. Soc.* 123, 100-104.
233. Srivastava T. (2012): Study of composition, activity and phenolic content of herbal products. *International Journal of Engineering Science and Technology* 4, 1412-1420.
234. Stevens R., Page D., Gouble B., Garchery C., Zamir D., Causse M. (2008): Tomato fruit ascorbic acid content is linked with monodehydroascorbate reductase activity and tolerance to chilling stress. *Plant Cell Environ.* 31, 1086-1096.

235. Suárez M. H., Dopazo G. A., López D. L., Espinosa F. (2015): Identification of Relevant Phytochemical Constituents for Characterization and Authentication of Tomatoes by General Linear Model Linked to Automatic Interaction Detection (GLM-AID) and Artificial Neural Network Models (ANNs). *PLOS One* 10 (6), e 0128566.
236. Subbarao G. V., Nam N. H., Chauhan Y. S., Johansen C. (2000): Osmotic adjustment, water relations and carbohydrate remobilization in pigeonpea under water deficits. *J. Plant Physiol.* 157 651-659.
237. Šušković J. (2007): Sekundarni metabolizam u mikroorganizama - prezenzacijia. dostupna na: www.pbf.hr
238. Suzuki N., Koussevitzky S., Mittler R., Miller G. (2012): ROS and redox signalling in the response of plants to abiotic stress. *Plant Cell Environ.* 35, 259-270.
239. Taiz L., Zeiger E. (2010): *Plant Physiology*. 5th Ed. Sinauer Associates, Sunderland, USA.
240. Tantawy A. S., Abdel-Mawgoud A. M. R., El-Nemr M. A., Chamoun Y. G. (2009): Alleviation of salinity effects on tomato plants by application of amino acids and growth regulators. *Eur. J. Scientific Res.* 30: 484-494.
241. Teixeira F. K., Menezes-benavente L., Margis R., Margis-Pinheiro M. (2004): Analysis of the molecular evolutionary history of the ascorbate peroxidase gene family: inferences from the rice genome. *J. Mol. Evol.* 59, 761-770.
242. Theobald J. C., Bacon M. A., Davies W. J. (2007): Delivering enhanced fruit quality to the UK tomato industry through implementation of partial root-zone drying. *Comp. Biochem. Physiol. Part A Mol. Integr. Physiol.*, 146, S 241.
243. Theologis A., Oeller P. W., Wong L. M., Rottmann W. H., Gantz D.M. (1993): Use of a tomato mutant constructed with reverse genetics to study fruit ripening, a complex developmental process. *Developmental Genetics*, 14, 282-295.
244. Tohidi-Moghadam H. R., Shirani-Rad A. H., Nour-Mohammadi G. (2009): Effect of super absorbent application on antioxidant enzyme activities in canola (*Brassica napus L.*) cultivars under water stress conditions. *American Journal of Agricultural and Biological Science* 4 (3), 215-223.
245. Toor R. K., Lister C. E., Savage G. P. (2005): Antioxidant activities of New Zealand-grown tomatoes. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 56 (8), 597–605.
246. Torres C. A., Davies N. M., Yañez J. A., Andrews P. K. (2005): Disposition of selected flavonoids in fruit tissues of various tomato (*Lycopersicon esculentum Mill.*) genotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53 (24), 9536-9543.

247. Triantaphylidès C., Havaux M. (2009): Singlet oxygen in plants: production, detoxification and signaling. *Trends Plant Sci.* 14, 219-228.
248. Valdés R. A., CastilloF. D. H., Cabello J. C. A., Fuentes Y. M. O., Morales G. G., Cantú D. J. , Aguilar C. N. (2017): Review of antibacterial activity of plant extracts and growth-promoting microorganism (GPM) against phytopathogenic bacterial tomato crop. *European Journal of Biotechnology and Genetic Engineering* 4 (1), 11-36.
249. Valpuesta V., Botella M. A. (2004): Biosynthesis of L-ascorbic acid in plants: new pathways for an old antioxidant. *Trends Plant Sci.* 9 (12), 573-577.
250. Vasco C., Ruales J., Kamal-Eldin A. (2008): Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chem.* 111, 816-823.
251. Verma V., Ravindran P., Kumar P. P. (2016): Plant hormone-mediated regulation of stress responses. *BMC Plant Biol.* 16, 86.
252. Vernieri P., Malorgio F., Tognoni F. (2002): Use of biostimulants in production of vegetable seedlings. *Colture-Protette* 31 (1), 75-79.
253. Voss I., Suni B., Scheibe R., Raghavendra S. (2013): Emerging concept for the role of photorespiration as an important part of abiotic stress response. *Plant Biol.* 15, 713-722.
254. Vurukonda S. S. K. P., Vardharajula S., Srivastava M., SkZ A. (2016): Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. *Microbiological Research* 184, 13-24.
255. Walker J. R. L. (1975): The biology of plant phenolics. Edward Arnold Ltd. (Publishers) London, 57.
256. Wettstein, D. (1957): Chlorophyll letale und der submikroskopische Formwechsel der Plastiden. *Exp. Cell. Res.* 12, 427-434.
257. Wilkens R.T., Spoerke J.M., Stamp N.E. (1996): Differential responses of growth and two soluble phenolics of tomato to resource availability. *Ecol.* 77, 247-258.
258. Williams R., Spencer J., Rice-Evans C. (2004): Flavonoids: antioxidants or signalling molecules? free radic. *Biol. Med.* 36, 838-849.
259. Williamson G., Scalbert A. (2000): Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols. *Journal of Nutrition* 130, 2073-2085
260. Willits M. G., Kramer C. M., Prata R. T. N., De Luca V., Potter B. G., Steffens J. C. Graser G. (2005): Utilization of the genetic resources of wild species to create a nontransgenic high flavonoid tomato. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53 (4), 1231-1236.
261. Winkel-Shirley B. (2002): Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. *Curr. Opin. Plant Biol.* 5, 218-223.

262. Wojdylo A., Oszmianski J., Czemerys R. (2007): Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry* 105, 940-949.
263. Wrzaczek M., Brosché M., Kangasjärvi J. (2013): ROS signaling loops - production, perception, regulation. *Curr. Opin. Plant Biol.* 16: 575-582.
264. Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K. (2006): Transcriptional regulatory networks in cellular responses and tolerance to dehydration and cold stresses. *Annu. Rev. Plant Biol.* 57, 781-803.
265. Yazdi M. T., Khaleghparast S., Monsef H. R. (2002): Purification and some partial characterization of peroxidase isoenzyme from *Brassica oleracea capitata* L. *J. Sci. Islam. Repub. Iran.* 13 (2), 107-112.
266. Yoshiyama K. O., Kimura S., Maki H., Britt A. B., Umeda M. (2014): The role of SOG1, a plant-specific transcriptional regulator, in the DNA damage response. *Plant Signal. Behav.* 9: e 28889.
267. Yuan X. K., Yang Z. Q., Li Y. X., Liu Q., Han W. (2016): Effects of different levels of water stress on leaf photosynthetic characteristics and antioxidant enzyme activities of greenhouse tomato. *Photosynthetica* 54, 28-39.
268. Zahran H. H. (1999): Rhizobium-Legume Symbiosis and Nitrogen Fixation under Severe Conditions and in an Arid Climate. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 63 (4), 968-989.
269. Zanjani K. E., Hossein Shirani Rad A., Naeemi M., Moradi Aghdam A., Taherkhani T. (2012): Effects of zeolite and selenium application on some physiological traits and oil yield on Medicinal Pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) under drought stress. *Current Research. Journal of Biological Sciences* 4 (4), 462-470.
270. Zarzecka K., Gugała M., Sikorska A., Mystkowska I., Baranowska A., Nieweglowski M., Dolega H. (2017): The effect of herbicides and biostimulants on polyphenol content of potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers and leaves. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* In press.
271. Zgallai H., Steppe K., Lemeur R. (2006): Effects of different levels of water stress on leaf water potential, stomatal resistance, protein and chlorophyll content and certain anti-oxidative enzymes in tomato plants. *Journal of Integrative Plant Biology* 48 (6), 679-685.
272. Zhang X., Ervin E., Evanylo G., Sherony C., Peot C. (2005): Biosolids impact on tall fescue drought resistance. *J. Residuals Sci. Tech.* 2, 173-180.
273. Zhishen J., Mengcheng T., Jianming W. (1999): The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.* 64, 555-559.
274. Zotarelli L., Scholberg J. M., Dukes M. D., Munoz- Carpene R., Icerman J. (2009): Tomato yield, biomass accumulation, root distribution and irrigation water use efficiency on a sandy soil,

as affected by nitrogen rate and irrigation scheduling. Agricultural water management 9 (6): 23-34.

BIOGRAFIJA

Senad Murtić je rođen 06. 01. 1975. godine u Splitu, gdje je završio osnovnu i srednju zdravstvenu školu. Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisuje školske 1993/94 godine, a na istom 12.02.1999. godine stiče zvanje dipl.ing. agronomije, smjer VVV (voćarstvo-vinogradarstvo-vinarstvo).

Postdiplomski studij iz oblasti bioloških nauka (smjer Fiziologija) upisuje na Prirodno-matematičkom fakultetu Univerziteta u Sarajevu na kojem 13.09.2011. godine nakon odbranjene magistarske teze stiče zvanje magistra bioloških nauka.

Od 2015. godine Senad Murtić je doktorant na Postdiplomskom studiju Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci.

Zapošljava se 01.07.2006. godine na Poljoprivredno-prehrabrenom fakultetu Univerziteta u Sarajevu prvo u zvanju asistenta na predmetima "Botanika" i "Fiziologija biljaka", a od 2012. godine u zvanju višeg asistenta na istim predmetima.

Tokom svog rada na fakultetu sudjeluje u više naučnih projekata, koautor je dva fakultetska udžbenika, te preko 60 naučnih radova, od kojih su mnogi objavljeni u časopisima koje prati relevantna međunarodna baza podataka.

Oženjen je, aktivno se služi engleskim jezikom, te posjeduje visok nivo znanja rada na računarima.



ИЗВЈЕШТАЈ о оцјени урађене докторске дисертације

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ

- 1) Наставно-научно вијеће Пољопривредног факултета Универзитета у Бањој Луци Одлуком број 10/3.815-5-10/18 од 26.03.2018. године именовало је Комисију за оцјену и одбрану урађене докторске дисертације мр Сенада Муртића, под насловом: Ефикасност примјене биостимулатора у регулацији продуктивности шери парадајза (*Lycopersicon esculentum* Mill. "Sakura"), у слиједећем саставу:
- 2) Др Ивана Максимовић, редовни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Новом Саду, на ужој научној области: Физиологија и исхрана биљака, предсједник Комисије.
- Др Родольуб Ољача, редовни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Бањој Луци, на ужој научној области: Исхрана и физиологија биљака, ментор- члан.
- Др Вида Тодоровић, ванредни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Бањој Луци, на ужој научној области: Хортикултура, члан.
- Др Хамдија Чивић, редовни професор Пољопривредно-прехрамбеног факултета Универзитета у Сарајеву, на ужој научној области: Педологија, Агрехемија и мелиорације, члан.
- Др Тијана Џевић Антић, ванредни професор Биолошког факултета Универзитета у Београду, на ужој научној области: Физиологија и молекуларна биологија биљака, члан.
- 1) Навести датум и орган који је именовао комисију;
- 2) Навести састав комисије са назнаком имена и презимена сваког члана, научно-наставног звања, назива у же научне области за коју је изабран у звање и назива универзитета/факултета/института на којем је члан комисије запослен.

II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ

- 1) Сенад (Сенија) Муртић
- 2) Рођен 06.01.1975. у Сплиту, СФРЈ.
- 3) Постдипломске магистарске студије завршио на Универзитету у Сарајеву, Природно-математички факултет, чиме је стекао звање *магистар биолошких наука*.
- 4) и 5) Магистарска теза: "Утицај минералне исхране на садржај пигмената и антиоксидативних супстанци у јабуци (*Malus domestica* Borkh., cv. Idared) на различитим локалитетима одбрањена 13.09.2011. године из научне области Биолошке науке.
- 6) Докторска дисертација пријављена је 2015. године на Пољопривредном факултету Универзитета у Бањој Луци, биљна производња, према одредбама Закона о Универзитету.
- 1) Име, име једног родитеља, презиме;
- 2) Датум рођења, општина, држава;
- 3) Назив универзитета и факултета и назив студијског програма академских студија II циклуса, односно послиједипломских магистарских студија и стечено стручно/научно звање;

- 4) Факултет, назив магистарске тезе, научна област и датум одбране магистарског рада;
 5) Научна област из које је стечено научно звање магистра наука/академско звање мастера;
 6) Година уписа на докторске студије и назив студијског програма.

III УВОДНИ ДИО ОЦЈЕНЕ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

- 1) Ефикасност примјене биостимулатора у регулацији продуктивности шери парадајза (*Lycopersicon esculentum* Mill. "Sakura").
 - 2) Сенат Универзитета у Бањој Луци је одлуком број: 02/04-3.4139-129/15 од 28.12.2015. године је дао сагласност на Извјештај о оцјени подобности теме и кандидата за израду докторске дисертације.
 - 3) Садржај докторске дисертације:
 Корица, подкорица, комисија за одбрану, резиме на српском и енглеском језику, ријечи захвале, садржај, 10 страница означених i - x.
 Увод, стр. 1-4
 Циљ истраживања, стр. 5
 Преглед литературе, стр. 6-31
 Радна хипотеза, стр. 32
 Материјал и методе рада, стр. 33-63
 Резултати рада и дискусија, стр. 64-130
 Закључци, стр. 131-133
 Литература, стр. 134-154
 Биографија, стр. 155.
 - 4) Докторска дисертација написана је на укупно 155 страница, од којих је 133 странице текста дисертације, 20 страница пописа литературе и једна страница биографије. У тексту дисертације дато је 38 табела, 30 графика и 5 појединачних фотографија. Текст дисертације садржи 8 поглавља (Увод, Циљ истраживања, Преглед литературе, Радна хипотеза, Материјал и методе рада, Резултати рада и дискусија, Закључци и Попис литературе). Цитирано је 274 литературна извора.
- 1) Наслов докторске дисертације;
 - 2) Вријеме и орган који је прихватио тему докторске дисертације
 - 3) Садржај докторске дисертације са страничењем;
 - 4) Истаћи основне податке о докторској дисертацији: обим, број табела, слика, шема, графика, број цитиране литературе и навести поглавља.

IV УВОД И ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

- 1) Истраживање је проведено на шери парадајзу првенствено због значаја ове повртне културе у исхрани човјека, али и због чињенице да је иста све више заступљена у узгоју у Босни и Херцеговини, а и шире, те би резултати добијени у овом истраживању требали бити од великог интереса како за производијаче ове повртне културе, тако и за научнике који се баве испитиваном проблематиком.
 Под појмом шери парадајза подразумијева се заједнички назив за већи број сорти парадајза чија је главна карактеристика да су им плодови најчешће величине крупније трешње. Плодови код одређених сорти шери парадајза могу бити и нешто крупнији, али и ситнији у односу на трешњу, но величина плода је свакако основни разлог давања назива шери за наведену групу сортимента парадајза (engl. cherry - трешња).
 Шери парадајз "Sakura F1" се убраја у индетерминатне, високе култиваре шери парадајза, те је за његов узгој неопходан наслон. Даје високи принос и отпоран је на низ оболења међу којима и на вирусно мозаично оболење (ToMV), те фузаријско венуће (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*). Велика предност овог култивара је и висока толеранција на нематоде, али и на температурне осцилације. Стабљика се одликује снажним вегетативним растом и отвореним хабитусом с релативно кратким интернодијима, а током свог раста ствара велики број заперака које је у циљу успјешнијег развоја главних родних грана неопходно уклањати. Плодови су једноличне, црвене боје, округластог облика, просјечне масе од 18 до 22 грама, одличног квалитета и чврстоће, те слаткастог и врло ароматичног okusa. Од садње до појаве

првих зрелих плодова у стандардним климатским условима проје око 70 дана. За овај култивар је такође карактеристично константно и уједначено дозијевање, те је стога врло омиљен како код производијача, тако и код конзумената. Укус плода такође знатно варира, а истраживања кажу да се овај сортимент парадајза одликује великим бројем супстанци корисним за здравље човјека, те је стога на тржишту доста тражен (*Lenucci i sar.*, 2006). Већина сортимента шери парадајза даје плодове у гроздовима, а висина стабљике им доста варира, од 10 см до изнад 1 m.

Основни циљ истраживања у склопу ове докторске дисертације је био испитати утицај примјене стимулатора раста Bio-algeena S92, Ergonfilla i Slavola на физиолошке параметре одбрамбеног механизма пресадница шери парадајза (*Lycopersicon esculentum* Mill. "Sakura F1") у условима суше, те посљедично на принос и квалитет узгајане биљке. Врло важан сегмент овог истраживања је био и утврдiti, те објаснiti повезанost измеđu физиолошки активних компоненти садржаних у коришћеним стимулаторима и испитиваних параметара одбрамбеног механизма биљке у условима водног стреса.

Испитивани параметри одбрамбеног механизма биљке у условима водног стреса били су слједећи: водни потенцијал биљног ткива, садржај осмотски активне материје пролина, садржај фотосинтетских пигмената у листовима, лисна површина, садржај укупних фенола, флавоноида и укупни антиоксидацијски капацитет, те активност ензимских антиоксиданса; супероксид дисмутазе (SOD), каталазе (CAT) i пероксидаза (GPX, PPX i APX) у листовима пресадница шери парадајза.

Ови параметри су одабрани из разлога јер исти у великој мјери указују на способност биљке да се одупре негативном ефекту суше, а испитани су у различitim фазама водног стреса. Прво одређивање испитиваних параметара је извршено у моменту започињања водног стреса, тј. у моменту када су се на пресадницама шери парадајза узгајани у контролисаним условима почели појављивати први визуелно уочљиви ефекти суше у виду падајуће форме листова, а друго у завршној фази излагања пресадница водном стресу.

- 2) У прегледу литературе прво је дат опис досадашњих истраживња о појму стреса на биљкама. У природним стаништима, као и у пољопривредној производњи, биљке су изложене дјеловању фактора околине, који могу утицати и неповољно на развој биљке. Изложеност биљака неповољним еколошким условима узрокује поремећаје у биљци који у крајњем могу резултирати и изазивањем стресног стања (*Gill i Tuteja*, 2010).

Изазивање стресног стања код биљке, дјеловањем неког стресног фактора, може се остварити у различitim временским периодима. Одређени стресни фактор, као што је нпр. недостатак минералних материја или неки други поремећај у исхрани биљака узроковаће стресно стање у биљци тек након дуже изложености биљака наведеним условима, док нагла промјена температуре може узроковати стресно стање код биљке врло брзо, чак у року неколико минута (*Ahuja i sar.*, 2010).

Такође, и недостатак воде у земљишту или немогућност искориштавања присутне воде од стране биљке, као и неефикасност биљке у искоришћавању примљене воде могу изазвати стресно стање код биљака у релативно кратком периоду. При томе се вријеме наступања водног стреса знатно разликује од једне до друге биљне врсте, па чак и унутар једне врсте, што првенствено зависи од одбрамбених реакција биљке и могућности њене прилагодбе новонасталим условима.

Како ће се дефицит воде одразити на развој биљке зависи и од фазе развоја у којој се биљка налази. Потребе биљке за водом током онтогенезе се знатно мијењају, а највеће су у почетним фазама раста, те се недостатак воде у том периоду и највише одражава на развој биљке. Међутим, независно од фазе развоја у којој се биљка налази, у случајевима дуже изложености биљке недостатку воде, наступиће стање стреса у биљци (*Skirycz i Inze*, 2010). За разумијевање понашања биљака у стресним условима треба имати у виду и чињеницу да стресни фактори (суша, висока температура...) не дјелују изоловано биљку већ често у синергији, што увелике може да промијени појединачни ефекат стресних фактора, али и адаптивну реакцију биљке на стрес (*Nešković i sar.*, 2003).

Други дио обухвата преглед литературе у вези ефекта водног стреса и о одбрамбеним механизмима биљке.

Велика потреба биљака за водом и кључна улога воде у физиолошким процесима чине воду основном и незамењивом компонентом у биљци. Вода представља медиј у којем се одвија транспорт метаболита у ћелији и кроз биљку у цјелини, универзални је растворач, непосредни је учесник у многим хемијским реакцијама, штити биљку од прекомјерног загријавања, те омогућава одржавање структурног јединства биљне ћелије (*Osakabe i sar.*, 2014), (*Molina i sar.*, 2008), (*Li i sar.*, 2009) и др.

Од свих физиолошких процеса на недостатак воде је најосјетљивији процес раста ћелије. Наиме, услед недостатка воде у биљци смањује се унутрашњи садржај ћелије, а самим тиме и тургор тј. притисак протопласта на ћелијски зид. Посљедица наведеног је поремећај свих физиолошких процеса зависних од тургора, а то је у првом реду раст ћелија.

Дакле, на механизам затварања стома утиче низ фактора, али су они сви на директан или индиректан начин везани са дјеловањем АВА-е (*Pillitteri i Torii*, 2012).

Врло важна одбрамбена реакција биљке у условима водног стреса је и издуживање коријеновог система, те његово усмјеравање у дубље слојеве земљишта, односно у слојеве земљишта богатије водом (*Zotarelli i sar.*, 2009).

Осим о степену развића коријеновог система, примање воде из земљишта у стресним условима у знатној мјери зависи и од могућности осмотске прилагодбе биљке датим приликама. Наиме, биљка може примати воду из земљишта, без утрошка енергије, само када је водни потенцијал, односно концентрација воде у земљишту виша у односу на концентрацију воде у коријеновим длачицама. Како услед сушења вриједност водног потенцијала у земљишту постаје све нижа, аутоматски се тиме смањује и могућност апсорбирања приступачне воде, што резултује појавом осмотског стреса и дехидратацијом, како на нивоу ћелије тако и на нивоу цијеле биљке (*Kamrun i sar.*, 2011).

Један од штетних ефеката дехидратације је и дисбаланс фитохормона у биљци, што све мијења нормални ток одвијања физиолошких процеса у биљним ћелијама (*Nyabundi i sar.*, 2009, *Fernadez i sar.*, 2011, *Subbarao i sar.*, 2000) и др.

Одговор биљке у условима оксидацијског стреса зависиће од више фактора; генетском потенцијалу биљке, врсти и количини слободних радикалакоји настају у биљним ћелијама, дужини излагања биљних ћелија оксидативном стресу, дјеловању слободних радикала, те од способности биљкида уклоне вишак слободних радикала и уопштено реактивних једињења из својих ћелија.

За функционисање биљног организма није опасно њихово настајање, већ поремећај равнотеже оксидо-редукцијских процеса у правцу оксидације, насталог услед прекомјерног стварања слободних радикала или немогућности биљне ћелије да их својим антиоксидацијским механизмом одбране уклони (*Carocho i Ferreira*, 2013). По својој штетности за организам од реактивних врста кисеоникаиздавају се супероксидни радикал (O_2^-) и хидроксил радикал (OH^+), а од нереактивних врста водоник пероксид. Такође, у слободне радикале убрајају се и радикали азота (N_2O_3 , N_2O_4), који су присутни у биљној ћелији, али у мањој количини (*Phaniendra i sar.*, 2015). Такође, самооксидација мањих молекула (флавини), као и процес оксидације масних киселина у пероксизомима, у значајној мјери приносе појачању количини слободних радикала унутар биљних ћелија (*Cadenas i Davies*, 2000; *Moller i sar.*, 2007).

Начин дјеловања ензимских антиоксиданаса је специфичан и селективан, зависно од врсте ензима и реакције која се катализује, аликрајни резултат свих тих реакција је уништавање слободних радикала или њихова трансформација у нереактивна једињења. Једни од основних ензима антиоксидативног система биљне ћелије су: пероксидазе (пирогалол пероксидаза, гвајакол пероксидаза, аскорбат пероксидаза, глутатион пероксидаза), каталаза и супероксид дисмутаза (*Mittler*, 2002).

Ензими из класе III биљних пероксидаза су већином смјештени у вакуолама, ћелијском зиду и ендоплазматском ретикулуму, а бројна истраживања су показала да наведени ензими имају важну улогу у метаболизму ауксина, биосинтези етилена и лигнина, те у одговору биљке на стрес узрокован загађењем ваздуха (*Kamal i sar.*, 2001; *Yazdi i sar.*, 2002). Многа истраживања су показала да ликопен има врло важну улогу у превенцији многих оболења, као што су разни облици карцинома и кардиоваскуларних болести (*Gerster*, 1997; *Agarwal i*

Велика потреба биљака за водом и кључна улога воде у физиолошким процесима чине воду основном и незамењивом компонентом у биљци. Вода представља медиј у којем се одвија транспорт метаболита у ћелији и кроз биљку у цјелини, универзални је растворач, непосредни је учесник у многим хемијским реакцијама, штити биљку од прекомјерног загријавања, те омогућава одржавање структурног јединства биљне ћелије (*Osakabe i sar.*, 2014), (*Molina i sar.*, 2008), (*Li i sar.*, 2009) и др.

Од свих физиолошких процеса на недостатак воде је најосјетљивији процес раста ћелије. Наиме, услед недостатка воде у биљци смањује се унутрашњи садржај ћелије, а самим тиме и тургор тј. притисак протопласта на ћелијски зид. Посљедица наведеног је поремећај свих физиолошких процеса зависних од тургора, а то је у првом реду раст ћелија.

Дакле, на механизам затварања стома утиче низ фактора, али су они сви на директан или индиректан начин везани са дјеловањем АВА-е (*Pillitteri i Torii*, 2012).

Врло важна одбрамбена реакција биљке у условима водног стреса је и издуживање коријеновог система, те његово усмјеравање у дубље слојеве земљишта, односно у слојеве земљишта богатије водом (*Zotarelli i sar.*, 2009).

Осим о степену развија коријеновог система, примање воде из земљишта у стресним условима у знатној мјери зависи и од могућности осмотске прилагодбе биљке датим приликама. Наиме, биљка може примати воду из земљишта, без утрошка енергије, само када је водни потенцијал, односно концентрација воде у земљишту виша у односу на концентрацију воде у коријеновим длачицама. Како услед сушења вриједност водног потенцијала у земљишту постаје све нижа, аутоматски се тиме смањује и могућност апсорбирања приступачне воде, што резултује појавом осмотског стреса и дехидратацијом, како на нивоу ћелије тако и на нивоу цијеле биљке (*Kamrun i sar.*, 2011).

Један од штетних ефеката дехидратације је и дисбаланс фитохормона у биљци, што све мијења нормални ток одвијања физиолошких процеса у биљним ћелијама (*Nyabundi i sar.*, 2009, *Fernadez i sar.*, 2011, *Subbarao i sar.*, 2000) и др.

Одговор биљке у условима оксидацијског стреса зависиће од више фактора; генетском потенцијалу биљке, врсти и количини слободних радикалакоји настају у биљним ћелијама, дужини излагања биљних ћелија оксидативном стресу, дјеловању слободних радикала, те од способности биљкида уклоне вишак слободних радикала и уопштено реактивних једињења из својих ћелија.

За функционисање биљног организма није опасно њихово настајање, већ поремећај равнотеже оксидо-редукцијских процеса у правцу оксидације, насталог услед прекомјерног стварања слободних радикала или немогућности биљне ћелије да их својим антиоксидацијским механизмом одбране уклони (*Carocho i Ferreira*, 2013). По својој штетности за организам од реактивних врста кисеоникаиздавају се супероксидни радикал (O_2^-) и хидроксил радикал (OH^+), а од нереактивних врста водоник пероксид. Такође, у слободне радикале убрајају се и радикали азота (N_2O_3 , N_2O_4), који су присутни у биљној ћелији, али у мањој количини (*Phaniendra i sar.*, 2015). Такође, самооксидација мањих молекула (флавини), као и процес оксидације масних киселина у пероксизомима, у значајној мјери приносе појачању количини слободних радикала унутар биљних ћелија (*Cadenas i Davies*, 2000; *Moller i sar.*, 2007).

Начин дјеловања ензимских антиоксиданаса је специфичан и селективан, зависно од врсте ензима и реакције која се катализује, аликрајни резултат свих тих реакција је уништавање слободних радикала или њихова трансформација у нереактивна једињења. Једни од основних ензима антиоксидативног система биљне ћелије су: пероксидазе (пирогалол пероксидаза, гвајакол пероксидаза, аскорбат пероксидаза, глутатион пероксидаза), каталаза и супероксид дисмутаза (*Mittler*, 2002).

Ензими из класе III биљних пероксидаза су већином смјештени у вакуолама, ћелијском зиду и ендоплазматском ретикулуму, а бројна истраживања су показала да наведени ензими имају важну улогу у метаболизму ауксина, биосинтези етилена и лигнина, те у одговору биљке на стрес узрокован загађењем ваздуха (*Kamal i sar.*, 2001; *Yazdi i sar.*, 2002). Многа истраживања су показала да ликопен има врло важну улогу у превенцији многих оболења, као што су разни облици карцинома и кардиоваскуларних болести (*Gerster*, 1997; *Agarwal i*

sar., 2001).

Фенолним једињењима се приписују и друга корисна дјеловања: антиупална, антимикробна, антимутагена и антиканцерогена (*Williams i sar.*, 2004; *Alberto i sar.*, 2006; *Parvaiz i Satyawati*, 2008). Резултати истраживања објављени од стране многих научника који се баве медицином и хемијом хране су потврдиле ове наводе и указале на важност фенола у јачању имунолошког система човјека (*Walker i sar.*, 1975; *Mangas i sar.*, 1999; *Mattila i sar.*, 2006; *Duda-Chodak i sar.*, 2010).

Независно од састава, заједничка особина свих стимулатора раста је иста, а то је да позитивно утичу на ток одвијања физиолошких процеса у биљци, те на хормоналну и метаболичку активност унутар биљке. Сходно наведеноме, њихова примјена би требала допринијети побољшању одбрамбеног механизма биљке у условима суше, што је у многим научним радовима и доказано (*Kertikov i Radeva*, 1998; *Muralidharan i sar.*, 2000; *Paradićović i sar.*, 2008).

Код узгоја парадајза и уопштенопољопривредних култура за стимулацију метаболизма биљке врло често се примјењују и препарата бази микроорганизама. Позитиван утицај наведених препарата на раст и развиће биљака утврђен је у бројним научним радовима (*Chabot i sar.*, 1996; *Richardson i sar.*, 2009; *Kaur i Reddy*, 2014).

Chitarra i sar. (2016) у свом раду наводе позитиван утицај примјене микроорганизама *Funneliformis mosseae* и *Rhizophagus intraradices* на одбрамбене механизме парадајза гајеног у условима стреса, а до компатибилних запажања у својим радовима дошли су и други научници, уз напомену да су предмет њиховог истраживања биле друге биљне врсте (*Estrada i sar.*, 2013; *Pedranzani i sar.*, 2015).

Позитиван ефекат примјене стимулатора раста базираног на хуминским киселинама на развиће парадајза у стресним условима утврђен је у раду *Amana i Raba* (2013), али и у радовима других научника (*Kazemi*, 2013; *Asri i sar.*, 2015; *Farnia i Moradi*, 2015).

Списак литературе дат у докторској дисертацији:

1. Abdel-Latif A. M. (1995): Physiological studies on tomato. M.Sc. Thesis, Faculty of Agriculture, Cairo University.
2. Achmire L., Blancaflor E. B., Rasmussen S., Dixon R. A. (2004): Colocalization of L-phenylalanine ammonia-lyase and cinnamate 4-hydroxylase for metabolic channeling in phenylpropanoid biosynthesis. *Plant Cell* 16, 3098-3109.
3. Aebi M. (1984): Catalase in vitro. *Meth. Enzymol.* 105, 121-126.
4. Agarwal A., Shen H., Agarwal S., Rao A. (2001): Lycopene content of tomato products: its stability, bioavailability and in vivo antioxidant properties. *J. Med. Food* 4, 9-15.
5. Aguirre N. C., Cabrera F. A. V. (2012): Evaluating the Fruit Production and Quality of Cherry Tomato (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*). *Rev. Fac.Nal. Agr.* 65 (2), 6593-6604.
6. Ahmad P., Jaleel C. A., Salem M. A., Nabi G., Sharma S. (2010): Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. *Critical Reviews in Biotechnology* 30 (3), 161-175.
7. Ahuja I., de Vos R. C., Bones A. M., Hall R. D. (2010): Plant molecular stress responses face climate change. *Trends Plant Sci.* 15, 664-674.
8. Akbudak B., Akbudak N., Seniz V., Eris A. (2007): Sequential treatments of hot water and modified atmosphere packaging in cherry tomatoes. *Journal of Food Quality* 30 (6), 896-910.
9. Al Hassan M., Martínez Fuertes M., Ramos Sánchez F. J., Vicente O., Boscaiu M. (2015): Effects of salt and water stress on plant growth and on accumulation of osmolytes and antioxidant compounds in cherry tomato. *Not. Bot. Horti. Agrobo.* 43, 1-11.
10. Al-Amri S. M. (2013): Improved growth, productivity and quality of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants through application of shikimic acid. *Saudi J. Biol. Sci.* 20 (4), 339-345.
11. Alaoui S. M., Salghi R., Abouatallah A., Ayoub M. (2015): Impact of Drip Irrigation Scheduling On Fruit Quality Parameters and Water Use Efficiency On Tomato Plant (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Under Unheated Greenhouse. *J. Mater. Environ. Sci.* 6 (2), 315-321.
12. Alberto M. R., Rinsdahl M., Manca de Nadra M. C. (2006): Antimicrobial effect of polyphenols from apple skins on human bacterial pathogens. *Electronic Journal of Biotechnology* 9 (3), 206-209.
13. Aldana F., Garcia P. N., Fischer G. (2014): Effect of waterlogging stress on the growth, development and symptomatology of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) plants. *Rev. Acad. Colomb. Cienc.* 38, 393-400.
14. Alscher R. G., Donahue J. L., Cramer C. L. (1997): Reactive oxygen species and antioxidants: Relationships in green cells. *Physiol Plant.* 100, 224-233.
15. Aman S., Rab A. (2013): Response of tomato to nitrogen levels with or without humic acid. *Sarhad Journal of Agriculture* 29, 181-186.
16. Amorati R., Lucarini M., Mugnaini V., Pedulli G. F. (2003): Antioxidant activity of o-bisphenols: the role of intermolecular hydrogen bonding. *The Journal of organic chemistry* 68 (13), 5198-5204.
17. Anjum S. A., Xie X., Wang L., Saleem M. F., Man C., Lei W. (2011): Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *Afr. J. Agr. Res.* 6, 2026-2032.
18. AOAC (2000): Official method 942.15. Acidity (Titratable) of fruit products, Official Methods of Analysis, 17th ed Washington, DC.
19. AOAC (2006): Official method 967.21. Ascorbic acid in vitamin preparations and juices, 2,6-dichloroindophenol titrimetric method. Official Method of Analysis, 18th ed., Arlington VA.
20. Apel K., Hirt H. (2004): Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55, 373-399.
21. Arora A., Sairam R. K., Srivastava G. C. (2002): Oxidative stress and antioxidative system in plants. *Current Science* 82, 1227-

22. Arreola J., Franco J. A., Vicente M. J., Martínez-Sánchez, J. J. (2006): Effect of nursery irrigation regimes on vegetative growth and root development of *Silene vulgaris* after transplantation into semi-arid conditions. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 81, 583-592.
23. Arrigoni O., De Tullio M. C. (2000): The role of ascorbic acid in cell metabolism: between gene-directed functions and unpredictable chemical reactions. *Journal of Plant Physiology* 157 (5), 481-488.
24. Asri F.O., Demirtas E.I., Ari N. (2015): Changes in fruit yield, quality and nutrient concentrations in response to soil humic acid applications in processing tomato. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 21, 585-591.
25. Athar H. U. R., Khan A., Ashraf M. (2008): Exogenously applied ascorbic acid alleviates salt-induced oxidative stress in wheat. *Environ. Exp. Bot.* 63, 224-231.
26. Atkinson C. J., Harrison-Murray R. S., Taylor J. M. (2008): Rapid-flood induced stomatal closure accompanies xylem sap transportation of root-derived acetaldehyde and ethanol in *Forsythia*. *Environmental and Experimental Botany* 64, 196-205.
27. Avis T. J., Gravel V., Antoun H., Tweddell R. J. (2008): Multifaceted beneficial effects of rhizosphere microorganisms on plant health and productivity. *Soil Biol. Biochem.* 40, 1733-1740.
28. Azedo-Silva J., Osorio J., Fonseca F., Correia M. J. (2004): Effects of soil drying and subsequent re-watering on the activity of nitrate reductase in roots and leaves of *Helianthus annuus*. *Functional Plant Biology* 31, 611-621.
29. Bai T., Yin R., Li C., MaF., Yue Z., Shu H. (2011): Comparative analysis of endogenous hormones in leaves and roots of two contrasting *Malus* species in response to hypoxia stress. *Journal Plant Growth Regulation* 30, 119-127.
30. Bailly C., Benamar A., Corbineau F., Come D. (2000): Antioxidant systems in sunflower seeds as affected by priming. *Seed Science Research* 10 (2), 35-42.
31. Baitley S. J., Mittler R. (2006): The role of reactive oxygen species in plant cells. *Plant Physiol.* 141, 311.
32. Bajpai M., Pande A., Tewari S. K., Prakash D. (2005): Phenolic contents and antioxidant activity of some food and medicinal plants. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 56 (4), 287-291.
33. Barbagallo R. N., Isabella D.S., Patane C. (2013): Yield, physicochemical traits, antioxidant pattern, polyphenol oxidase activity and total visual quality of field-grown processing tomato cv. Brigade as affected by water stress in Mediterranean climate. *J. Agric. Food Chem.* 93, 1449-1457.
34. Bates L. S., Waldren R. P., Teare I. D. (1973): Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil* 39(1), 205-207.
35. Baxter A., Mittler R., Suzuki N. (2014): ROS as key players in plant stress signaling. *J. Exp. Bot.* 65: 1229-1240.
36. Beckles D. M., Hong N., Stamova L., Luengwilai K. (2012): Biochemical factors contributing to tomato fruit sugar content: a review. *Fruits* 67, 49-64.
37. Benzie I. F., Strain J. J. (1996): Ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Anal. Biochem.* 239, 70-76.
38. Berk M., Daood H. G., Helyes L. (2014): The influence of the water supply on the bioactive compounds of different tomato varieties. *Acta Alimentaria* 43, 21-28.
39. Bertin N., Guichard S., Leonardi C., Longuenesse J. J., Langlois J., Navez B. (2000): Seasonal evaluation of the quality of fresh glass house tomatoes under Mediterranean conditions, as affected by air vapour pressure deficit and plant fruit load. *Ann. Bot.* 85, 741-750.
40. Bhattacharyya P. N., Jha D. K. (2012): Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 28 (4), 1327-1350.
41. Bidwell R. G. S. (1979): *Plant Physiology*. 2nd Ed. Macmillan Publishing Co. New York, USA, pp. 557-565.
42. Birhanu K., Tilahun K. (2010): Fruit yield and quality of drip-irrigated tomato under deficit irrigation. *Journal of Food Agriculture Nutrition and Development* 10 (2), 2139-2151.
43. Blunden G., Jenkins T., Yan-Wen L. (1996): Enhanced leaf chlorophyll levels in plants treated with seaweed extract. *J. Appl. Phycol.* 8 (6): 535-543.
44. Bongue-Bartsman M., Phillips, D. A. (1995): Nitrogen stress regulates gene expression of enzymes on the flavonoid biosynthetic pathway of tomato. *Plant Physiology and Biochemistry*, 33, 539-546.
45. Bradford K. J., Yang S. F. (1980): Xylem transport of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, an ethylene precursor, in waterlogged tomato plants. *Plant Physiology* 65, 322-326.
46. Bradford M. M. (1976): A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248-254.
47. Bramlej P. M. (2000): Is lycopene beneficial to human health? *Phytochemistry* 54 (3), 233-236.
48. Bray E. A. (1997): Plant responses to water deficit. *Trends Plant Sci.* 2 (2), 48-54.
49. Britton G., Liaaen-Jensen S., Pfander H. (2004): *Carotenoids. Handbook*. Birkhäuser Verlag, Basel, Switzerland.
50. Cadena E., Davies K. J. (2000): Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radic Biol Med.* 29 (3-4): 222-230.
51. Calvo P., Nelson L., Kloepper J. W. (2014): Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant Soil* 383, 3-41.
52. Canellas L. P., Teixeira Junior L. R. L., Dobbss L. B., Silva C. A., Medici L. O., Zandonadi D. B., Facahna A. R. (2008): Humic acids crossinteractions with root and organic acids. *Ann. Appl. Biol.* 153, 157-166.
53. Carocho M., Ferreira I. C. (2013): A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food Chem. Toxicol.* 51, 15-25.
54. Caron V. C., Tessmer M. A., Mello S. C., Jacomino A. P. (2013): Quality of mini tomatoes harvested at two maturity stages and kept chilled in three packages. *Horticultura Brasileira* 31: 279-286.
55. Caverzan A., Passaia G., Rosa S. B., Ribeiro C. W., Lazzarotto F., Margis-Pinheiro M. (2012): Plant responses to stresses: role of ascorbate peroxidase in the antioxidant protection. *Genet. Mol. Biol.* 35, 1011-1019.
56. Cevallos-Casals B. A., Cisneros-Zevallos L. A. (2003): Stoichiometric and kinetic studies of phenolic antioxidants from Andean purple corn and red-fleshed sweet potato. *J. Agric. Food Chem.* 51, 3313-3319.
57. Chabot R., Antoun H., Cescas M. P. (1996): Growth promotion of maize and lettuce by phosphate-solubilizing *Rhizobium leguminosarum* biovar. *Phaseoli*. *Plant Soil* 184, 311-321.
58. Chance B., Machly A. C. (1955): Assay of catalases and peroxidases. *Meth. Enzymol.* 2, 764-775.
59. Chauhan H., Bagyaraj D. I., Selvakumar G., Sundaram S. P. (2015): Novel plant growth promoting rhizobacteria-prospects and potential. *Applied Soil Ecology* 95, 38-53.
60. Chaves M. M., Flexas J., Pinheiro C. (2009): Photosynthesis under drought and salt stress: Regulation mechanisms from whole plant to cell. *Ann Bot.* 103, 551-560.
61. Chen Y., De Nobili M., Aviad T. (2004): Stimulatory effects of humic substances on plant growth. In: Magdoff F., Weil R.R.

- (Eds.), Soil organic matter in sustainable agriculture. Boca Raton, CRC Press, pp. 103-130.
62. Cheynier V., Comte G., Davies K. M., Lattanzio V., Martens S. (2013): Plant phenolics: recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. *Plant Physiol. Biochem.* 72, 1-20.
 63. Chitarra W., Pagliarani C., Maseri B., Lumini E., Siciliano I., Cascone P., Schubert A., Gambino G., Balestrini R., Guerrieri E. (2016): Insights on the impact of arbuscular mycorrhizal symbiosis on tomato tolerance to water stress. *Plant Physiol.* 171, 1-15.
 64. Cimrin K.M., Yilmaz I. (2005): Humic acid applications to lettuce do not improve yield but do improve phosphorus availability. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B – Soil and Plant Science* 55, 58-63.
 65. Claussen W. (2005): Proline as a measure of stress in tomato plants. *Plant Science* 168, 241-248.
 66. Cornell H. V., Hawkins B. A. (2003). Herbivore responses to plant secondary compounds: a test of phytochemical coevolution theory. *Am. Nat.* 161, 507-522.
 67. Cosio C., Dunand C. (2009): Specific functions of individual class III peroxidase genes. *J. Exp. Bot.* 60 (2), 391-408.
 68. Cotrut R. Badulescu L. (2016): UPLC Rapid Quantification of Ascorbic Acid in Several Fruits and Vegetables Extracted Using Different Solvents. *Agriculture and Agricultural Science Procedia* 10, 160-166.
 69. Craigie J. S. (2011): Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. *J. Appl. Phycol.* 23, 371-393.
 70. Cramer G. R., Urano K., Delrot S., Pezzotti M., Shinozaki K. (2011): Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective. *BMC Plant Biol.* 11: 163.
 71. Cvetkovic D., Fiedor L., Fiedor J., Wiśniewska-Becker A., Markovic D. (2013): Molecular Basis for Carotenoids Antioxidant Activity in Model and Biological Systems: The Health-Related Effects. In: Yamaguchi M., editor. *Carotenoids: Food Sources, Production and Health Benefits*. Nova Science Publishers; Hauppauge, NY, USA. pp. 93-126.
 72. Cvjetković B. (1997): Control of apple scab and powdery mildew on grape-vine with BAS 490 02 F. Mededelingen Faculteit landbouwkundige en toegepaste biologische wetenschappen. Steurbaut, W. Universiteit Gent, pp. 1129-1134.
 73. Damanik R. I., Maziah M., Ismail M. R., Ahmad S., Zain A. (2010): Responses of the antioxidative enzymes in Malaysian rice (*Oryza sativa* L.) cultivars under submergence condition. *Acta Physiol. Plant.* 32, 739-747.
 74. Das K., Roychoudhury A. (2014): Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. *Front. Environ. Sci.* 2, 53.
 75. Davis A. R., Fish W. W., Perkins-Veazie P. (2003): A rapid spectrophotometric method for analyzing lycopene content in tomato and tomato products. *Postharvest Biol. Technol.* 28, 425-430.
 76. Delauney A. J., Verma D. P. S. (1993): Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *The Plant Journal* 4, 215-223.
 77. Dhargalkar V. K., Pereira N. (2005): Seaweeds: promising plants of the millennium. *Science and Culture* 71, 60-66.
 78. Dobromilska R., Mikiciuk M., Gubarewicz K. (2008): Evaluation of cherry tomato yielding and fruit mineral composition after using of Bio-algeen S-90 preparation. *J. Elementol.* 13 (4): 491-499.
 79. Drecer M. F. (2005): Nitrogen use at the leaf and canopy level: a framework to improve crop N use efficiency. *J. Crop Improv.* 15, 97-125.
 80. Duda-Chodak A., Tarko T., Satora P., Sroka P., Tuszyński T. (2010): The profile of polyphenols and antioxidant properties of selected apple cultivars grown in Poland. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research* 18 (2), 39-50.
 81. Duma M., Alsina I., Dubova L., Erdberga I. (2017): Quality of tomatoes during storage. Proceedings of 11th Baltic Conference on Food Science and Technology "Food science and technology in a changing world", 130-134.
 82. Dumas Y., Dadomo M., Di Lucca G., Grolier P. (2003): Effects of environmental factors and agricultural techniques on antioxidant content of tomatoes. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 83, 369-382.
 83. Egnér H., Riehm H., Domingo W. R. (1960): Untersuchungen über die chemische Bodenanalyse als Grundlage für die Beurteilung des Nährstoffzustandes der Böden. II. Chemische Extraktionsmethoden zur Phosphor- und Kaliumbestimmung. K. Lantbr. Hogsks. Annlr., 26, 199-215.
 84. Erba D., Casiraghi M. C., Ribas-Agustí A., Caceres R., Marfa O., Castellari M. (2013): Nutritional value of tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.) grown in greenhouse by different agronomic techniques. *Journal of Food Composition and Analysis* 31, 245-251.
 85. Escarpa A., Gonzalez M. C. (2000): Optimization strategy and validation of one chromatographic method as approach to determine the phenolic compounds from different sources. *J. Chromatogr. A.* 897, 161-170.
 86. Estrada B., Aroca R., Barea J. M., Ruiz-Lozano J. M. (2013): Native arbuscular mycorrhizal fungi isolated from a saline habitat improved maize antioxidant systems and plant tolerance to salinity. *Plant Sci.* 201-202, 42-51.
 87. Farnia A., Moradi E. 2015: Effect of soil and foliar application of humic acid on growth and yield of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). *International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Sciences* 4 (10), 706-716.
 88. Farooq M., Wahid A., Kobayashi N., Fujita D., Basra S. M. A. (2009): Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development* 29 (1), 185-212.
 89. Favati F., Lovelli S., Galgano F., Miccolis V., Di Tommaso T., Candido V. (2009): Processing tomato quality as affected by irrigation scheduling. *Sci. Hort.* 122, 562-571.
 90. Fernandez J. E., Rodriguez-Dominguez C. M., Perez-Martin A., Zimmermann U., Rüger S., Martin-Palomino M. J., Torres-Ruiz J. M., Cuevas M. V., Sann C., Ehrenberger W., Diaz-Espejo A. (2011): Online-monitoring of tree water stress in a hedgerow olive orchard using the leaf patch clamp pressure probe. *Agr Water Manage.* 100: 25-35.
 91. Fernandez-Garcia E., Carvajal-Lerida I., Jaren-Galan M., Garrido-Fernandez J., Perez-Galvez A., Hornero-Mendez D. (2012): Carotenoids bioavailability from foods: From plant pigments to efficient biological activities. *Food Res. Int.* 46, 438-450.
 92. Ferrer J., Austin M., Stewart C. J., Noel J. (2008): Structure and function of enzymes involved in the biosynthesis of phenylpropanoids. *Plant Physiol. Biochem.* 46, 356-370.
 93. Forde B. G., Lea P. J. (2007): Glutamate in plants: metabolism, regulation, and signaling. *Journal of Experimental Botany* 58 (9), 2339-2358.
 94. Fu J., Huang B. (2001): Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. *Environmental and Experimental Botany* 45: 105-114.
 95. Furbank R. T., Badger M. R., Osmond C. B. (1983): Photoreduction of oxygen in mesophyll chloroplast of C4 plants. *Plant Physiol.* 37: 1038-1041.
 96. Gallie D. R. (2013): L-Ascorbic Acid: A Multifunctional Molecule Supporting Plant Growth and Development. *ScientificWorldJ* 795964.
 97. Gerster H. (1997): The potential role of lycopene for human health. *J. Am. Coll.Nutr.* 16, 109-26.
 98. Ghasemi K., Ghasemi Y., Ebrahimzadeh A. M. (2009): Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 citrus species peels and tissues. *Pak. J. Pharm. Sci.* 22 (3), 277-281.
 99. Ghorbanli M., Gafarabad M., Amirkanian T., Mamaghani B.A. (2013): Investigation on proline, total protein, chlorophyll, ascorbate and dehydroascorbate changes under drought stress in Akria and Mobil tomato cultivars. *Iran J. Plant Physiol.* 3, 651-

100. Giannakoula A. E., Ilias I. F. (2013): The effect of water stress and salinity on growth and physiology of tomato. *Arch. Biol. Sci.* 65 (2), 611-620.
101. Gill S. S., Tuteja N. (2010): Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol. Biochem.* 48, 909-930.
102. Giovannucci E. (1999): Tomatoes, tomato-based products, lycopene, and cancer: Review of the epidemiologic literature. *J. Natl. Cancer Inst.*, 91, 317-331.
103. Gonzales-Dugo V., Durand J. L., Gastal F. (2010): Water deficit and nitrogen nutrition of crops. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 30, 529-544.
104. Grzesiak M. T., Rzepka A., Hura T., Hura K., Skoczkowski A. (2007): Changes in response to drought stress of triticale and maize genotypes differing in drought tolerance. *Photosynthetica*. 45: 280-287.
105. Guernouri L., Artur Y., Herbst B. (1991): Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in blood. *Clin. Chern.* 37, 1932-1937.
106. Guichard S., Bertin N., Leonardi C., Gary C. (2001): Tomato fruit quality in relation to water and carbon fluxes. *Agronomie* 21, 385-392.
107. Gunawardena M. D. M., De Silva C. S. (2015): Impact of induced temperature and water stress on vegetative and reproductive parameters of Tomato (*Lycopersicum esculentum*) variety Rajitha. *OUSL Journal* 8, 19-38.
108. Gupta S., Abu-Ghannam N. (2011): Recent developments in the application of seaweeds or seaweed extracts as a means for enhancing the safety and quality attributes of foods. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 22 (6), 315-326.
109. Hafez M. R. (2001): Impact of some chemical treatments on salinity tolerance of some tomato cultivars. M.Sc. Thesis, Faculty of Agriculture, Ain Shams University.
110. Halliwell B. (2006). Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiol.* 141, 312-322.
111. Halliwell B., Gutteridge J. M. C. (1999): Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford: Oxford University Press.
112. Hasanagic D., Kojic D., Kukavica B. (2017): The role of zeolite in reducing oxidative damage in tomato plants exposed to drought. 2nd International Conference on Enzymology and Molecular Biology, PP. 74.
113. Hasanuzzaman M., Nahar K., Alam M. M., Roychowdhury R., Fujita M. (2013): Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants. *Int. J. Mol. Sci.* 14, 9643-9684.
114. Hasna O., Afidah A. (2009): Antioxidant activity and phenolic content of Paederia foetida and Syzygium aqueum. *Molecules* 14, 970-978.
115. Helyes L., Lugasi A., Daood H. G., Pék Z. (2014): The Simultaneous Effect of Water Supply and Genotype on Yield Quantity, Antioxidants Content and Composition of Processing Tomatoes. *Not. Bot. Horti Agrobo.* 42 (1), 143-149.
116. Herrmann K. M., Weaver L. M. (1999): The shikimate pathway. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50, 473-503.
117. Heuer B. (1994): Osmoregulatory role of proline in water and salt-stressed plants. In: Pessarakli M, editor. *Handbook of plant and crop stress*. New York: Marcel Dekker; pp. 363-381.
118. Hiraga S., Sasaki K., Ito H., Ohoshi Y., Matsui H. (2001): A large family of class III plant peroxidases. *Plant and Cell Physiology* 42, 462-468.
119. Hirayama T., Shinozaki K. (2010): Research on plant abiotic stress responses in the post-genome era: past, present and future. *Plant J.* 61, 1041-1052.
120. Hopkins W. G. (1995): Introduction to plant physiology. The University of Western Ontario. John Wiley & Sons, New York.
121. Horinouchi S. (2009): Combinatorial biosynthesis of plant medicinal polyketides by microorganisms. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 13, 197-204.
122. Hungria M., Nogueira M. A., Araujo R. S. (2013): Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: Strategies to improve sustainability. *Biol. Fertil. Soils* 49 (7), 791-801.
123. Huseynova I. M., Aliyeva D. R., Aliyev J. A. (2014): Subcellular localization and responses of superoxide dismutase isoforms in local wheat varieties subjected to continuous soil drought. *Plant Physiol. Biochem.* 81, 54-60.
124. ISO (1998): Soil Quality, Determination of organic carbon by sulfochromic oxidation. International standard ISO 14235. International Organization for Standardization, Geneve, Switzerland.
125. ISO (2003): Fruit and vegetable products: Determination of soluble solids - Refractometric method. International Standard ISO 2173. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
126. ISO (2005): Soil quality - Determination of pH. International standard ISO 10390. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
127. Janjić V., Elezović I. (2008): Pesticiđi u poljoprivredi i šumarstvu u Srbiji. Šesnaesto izmenjeno i dopunjeno izdanje. Društvo za zaštitu biljaka Srbije. "Lex graf" Beograd, 1137 str.
128. Javanmardi J., Stushnoff C., Locke E., Vivanco J. M. (2003): Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian Ocimum accessions. *Food Chemistry* 83 (4), 547-550.
129. Jayaraman J., Norrie J., Punja Z. K. (2011): Commercial extract from the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* reduces fungal diseases in greenhouse cucumber. *J. Appl. Phycol.* 23, 353-361.
130. Jędrzczek E., Ambroszczyk A. M. (2016): The influence of NANO-GRO® organic stimulator on the yielding and fruit quality of field tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Folia Hort.* 28 (1), 87-94.
131. Johnson E. J. (2002): The role of carotenoids in human health. *Nutr. Clin. Care* 5 (2), 47-49.
132. Jureková Z., Németh-Molnár K., Paganová V. (2011). Physiological responses of six tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivars to water stress. *J. Hortic. For.* 3, 294-300.
133. Kamal J. K. A., Behere D. V. (2001): Steady-state and picosecond time-resolved fluorescence studies on native and apo seed coat soybean peroxidase. *Biochem. Biophys. Res Commun.* 289 (2), 427-433.
134. Kamrun N., Shah M. U., Gretzmacher, R. (2011): Influence of Soil Moisture Stress on Height, Dry Matter and Yield of Seven Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) Cultivars. *Canadian Journal on Scientific and Industrial Research* 2 (4): 160-163.
135. Kaur G., Reddy M. S. (2014): Influence of P-solubilizing bacteria on crop yield and soil fertility at multilocational sites. *Eur. J. Soil Biol.* 61, 35-40.
136. Kaur S., Mondal P. (2014): Study of total phenolic and flavonoid content, antioxidant activity and antimicrobial properties of medicinal plants. *Journal of Microbiology and Experimentation* 1 (1): 1-5.
137. Kazazić S. P. (2004): Antioksidacijska i antiradikalna aktivnost flavonoida. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju* 55, 279-290.
138. Kazemi M. (2013): Vegetative and reproductive growth of tomato plants affected by calcium and humic acid. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences* 2 (11), 24-29.
139. Kertikov T., Radeva V. (1998): Influence of treatment with the biostimulants Molstim and Ecostim on spring vetch.

- productivity. *Rasteniev" dni nauki* 35 (3), 188-191.
140. Khan M. J., Jan M. T., Khan N. U., Arif M., Perveen S., Alam S., Jan A. U. (2011): The effect of using waste water for tomato. *Pak. J. Bot.* 43 (2), 1033-1044.
 141. Khan S. H., Khan A., Litaf U., Shah A. S., Khan M. A. (2015): Effect of drought stress on tomato cv. Bombino. *J. Food Process. Technol.* 6: 465.
 142. Khan T., Mazid M., Mohammad F. (2011): A review of ascorbic acid potentialities against oxidative stress induced in plants. *J. Agrobiol.* 28, 97-111.
 143. KociraA., Świeca M., Kocira S., Złotek U., Jakubczyk A. (2016): Enhancement of yield, nutritional and nutraceutical properties of two common bean cultivars following the application of seaweed extract (*Ecklonia maxima*). *Saudi Journal of Biological Sciences* 25 (3), 563-571.
 144. Korkina L. G. (2007): Phenylpropanoids as naturally occurring antioxidants: from plant defense to human health. *Cell Mol Biol.* 53, 15-25.
 145. Kovács G. J. (2005): Modelling of adaptation processes of crops to water and nitrogen stress. *Phys. Chem. Earth* 30, 209-216.
 146. Kovalchuk, I. (2010): Multiple roles of radicals in plants. In *Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Higher Plants*, 1st ed.; Gupta, S.D., Ed.; CRC Press: New York, NY, USA, pp. 31-44.
 147. Krstić I.j., Sukdolak S., Soljić S. (1998): *Značaj i uloga fenolnih jedinjenja*. Srpsko hemijsko društvo, Hemijski pregled 3-4, 81-85.
 148. Kubota C., Thomson C. A., Wu M., Javanmardi J. (2006): Controlled environments for production of value-added food crops with high phytochemical concentrations: Lycopene in tomato as an example. *Hort. Sci.* 41, 522-525.
 149. Leggo P. J. (2000): An investigation of plant growth in an organo-zeolite substrate and its ecological significant. *Journal of Plant and Soil* 219 (7), 135-146.
 150. Lei Y., Yin C., Li C. (2006): Differences in some morphological, physiological, and biochemical responses to drought stress in two contrasting populations of *Populus przewalskii*. *Physiol Plant.* 127, 182-191.
 151. Lenucci M. S., Cadinu D., Taurino M., Piro G., Dalessandro G. (2006): Antioxidant Composition in Cherry and High-Pigment Tomato Cultivars. *J. Agric. Food Chem.* 54 (7), 2606-2613.
 152. Li T., Li H., Zhang Y. X., Liu J. Y. (2011): Identification and analysis of seven H2O2-responsive miRNAs and 32 new miRNAs in the seedlings of rice (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*). *Nucleic Acids Res.* 39: 2821-2833.
 153. Li Y., Zhu T., Zhao J., Xu B. (2012): Interactive Enhancements of Ascorbic Acid and Iron in Hydroxyl Radical Generation in Quinone Redox Cycling. *Environ. Sci. Technol.* 46 (18), 10302-10309.
 154. Li Z., Wakao S., Fischer B. B., Niyogi K. K. (2009): Sensing and responding to excess light. *Annu. Rev. Plant Biol.* 60, 239-260.
 155. Lisjak M., Špoljarević M., Agić D., Andrić L. (2009): *Praktikum iz fiziologije biljaka*. Sveučilište Josipa Jurja Štrosmajera, Osijek, Croatia.
 156. López-Cobo A., Gómez-Caravaca A. M., Cerretani L., Segura-Carretero A., Fernández-Gutiérrez A. (2014): Distribution of phenolic compounds and other polar compounds in the tuber of *Solanum tuberosum* L. by HPLC-DAD-q-TOF and study of their antioxidant activity. *Journal of Food Composition and Analysis* 36 (1-2), 1-11.
 157. Maeda H., Dudareva N. (2012): The shikimate pathway and aromatic Amino acid biosynthesis in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 63, 73-105.
 158. Mafakheri A., Siosemardeh A., Bahramnejad B., Struik P. C., Sohrabi Y. (2010): Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars. *Aust J. Crop. Sci.* 4, 580-585.
 159. Mafakheri A., Siosemardeh A., Bahramnejad B., Struik P. C., Sohrabi Y. (2011): Effect of drought stress and subsequent recovery on protein, carbohydrate contents, catalase and peroxidase activities in three chickpea (*Cicer arietinum*) cultivars. *Aust. J. Crop Sci.* 5, 1255-1260.
 160. Mancuso S., Azzarello E., Mugnai S., Briand X. (2006): Marine bioactive substances (IPA extract) improve foliar ion uptake and water stress tolerance in potted *Vitis vinifera* plants. *Adv. Hortic. Sci.* 20, 156-161.
 161. Mangas J. J., Rodriguez R., Suárez B., Picinelli A., Dapena E. (1999): Study of the phenolic profile of cider apple cultivars at maturity by multivariate techniques. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47 (10), 4046-4052.
 162. Mansour M. M. F. (1998): Protection of plasma membrane of onion epidermal cells by glycinebetaine and proline against NaCl stress. *Plant Physiol Biochem.* 36: 767-772.
 163. Marks S. C., Mullen W., Croizer A. (2007): Flavonoid and chlorogenic acid profiles of English cider apples. *J. Sci. Food Agric.* 87, 719-728.
 164. Martens S., Preuss A., Matern U. (2010): Multifunctional flavonoid dioxygenases: flavonols and anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* L. *Phytochemistry* 71, 1040-1049.
 165. Martí R., Valcárcel M., Herrero-Martínez J. M., Cebolla-Cornejo J., Roselló S. (2017): Simultaneous determination of main phenolic acids and flavonoids in tomato by micellar electrokinetic capillary electrophoresis. *Food Chemistry* 221, 439-446.
 166. Martínez-Valverde I., Periago M. J., Provan G., Chesson A. (2002): Phenolic compounds, lycopene and antioxidant activity in commercial varieties of tomato (*Lycopersicum esculentum*). *Journal of Science Food Agriculture* 82 (3), 323-330.
 167. Mathe C., Barre A., Jourda C., Dunand C. (2010): Evolution and expression of class III peroxidases. *Arch. Biochem. Biophys.* 500, 58-65.
 168. Mattila P., Hellström J., Törrönen R. (2006): Phenolic acids in Berries, Fruits, and Beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54 (19), 7193-7199.
 169. Mc Cord J. M., Fridovich I. (1969): Superoxide dismutase: an enzymatic function for erythrocuprein (hemocuprein). *J. Biol. Chem.* 244, 6049-6055.
 170. Mc Cue K. F., Hanson A. D. (1990): Drought and salt tolerance: towards understanding and application. *Trends in Biotechnology* 8, 358-362.
 171. Mededović S., Parić A., Pustahija F., Hindija J. (2006): *Uvod u biljnu fiziologiju (laboratorijski priručnik)*. Šumarski fakultet Univerziteta u Sarajevu, Sarajevo, Bosna i Hercegovina.
 172. Mengé D. N., Chazdon R. L. (2016): Higher survival drives the success of nitrogen-fixing trees through succession in Costa Rican rainforests. *New Phytol.* 209 (3), 965-977.
 173. MhamdiA., QuevalG., ChaouchS., VanderauweraS., VanBreusegemF., Noctor G. (2010): Catalase function in plants: a focus on *Arabidopsis* mutants as stress-mimic models. *J. Exp. Bot.* 61, 4197-4220.
 174. Mittler R. (2002): Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.* 7, 405-410.
 175. Molina C., Rotter B., Horres R., Udupa S. M., Besser B., Bellarmine L., et al. (2008): Super SAGE: the drought stress-responsive transcriptome of chickpea roots. *BMC Genomics* 9, 553.
 176. Moller I. M., Jensen P. E., Hansson A. (2007): Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annu. Rev. Plant*

- Biol. 58: 459-481.
177. Mueller S., Hilbert B., Dueckershoff K., Roitsch T., Krischke M., Mueller J. M. (2008): General detoxification and stress responses are mediated by oxidized lipids through TGA transcription factors in Arabidopsis. *Plant Cell* 20: 768-785.
 178. Mundhe K. S., Kale A. A., Gaikwad S. A., Deshpande N. R., Kashalkar R. V. (2011): Evaluation of phenol, flavonoid contents and antioxidant activity of *Polyalthia longifolia*. *J. Chem. Pharm. Res.* 3 (1), 764-769.
 179. Mundree S. G., Baker B., Mowla S., Peters S. (2002): Physiological and molecular insights into drought tolerance. *African Journal of Biotechnology* 1, 28-38.
 180. Muralidharan R., Saravanan A., Muthuvel P. (2000): Influence of biostimulants on yield and quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Madras Agricultural Journal* 87 (10/12), 625-628.
 181. Murshed R., Lopez-Lauri F., Sallanon H. (2013): Effect of water stress on antioxidant systems and oxidative parameters in fruits of tomato (*Solanum lycopersicum* L. cv. Micro-tom). *Physiol. Mol. Biol. Plants* 19, 363-378.
 182. Nabati D. A., Schmidt R. E., Parrish D. J. (1994): Alleviation of salinity stress in kentucky bluegrass by plant growth regulators and iron. *Crop Sci.* 34, 198-202.
 183. Nahar K., Ullah S. M., Islam N. (2011): Osmotic Adjustment and Quality Response of Five Tomato Cultivars (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Following Water Deficit Stress under Subtropical Climate. *Asian Journal of Plant Sciences* 10, 153-157.
 184. Nakano Y., Asada K. (1981): Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol.* 22, 867-880.
 185. Nasir M. U., Hussain S., Jabbar S. (2015): Tomato processing, lycopene and health benefits: A review. *Science letters* 3 (1), 1-5.
 186. Nešković M., Konjević R., Ćulačić Lj. (2003): *Fiziologija biljaka*. NNK-International, Beograd.
 187. Nimse S. B., Pal D. (2015): Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Adv.* 5: 27986-28006.
 188. Noctor G., Mhamdi A., Foyer C. H. (2014): The roles of reactive oxygen metabolism in drought: not so cut and dried. *Plant Physiol.* 164: 1636-1648.
 189. Nuruddin M. M., Madramootoo C. A., Dodds G. T. (2003): Effects of water stress at different growth stages on greenhouse tomato yield and quality. *Hort.Science* 38, 1389-1393.
 190. Nyabundi J. O., Hsia T. C. (2009): Effects of water stress on growth and yield of field-grown tomatoes. H. Biomass partitioning between vegetative and productive growth. *E. Afr. Agric. J.* 55 (2): 53-61.
 191. Okunlola G. O., Adelusi A. A., Olowolaju E. D., Oseni O. M., Akingboye G. L. (2015): Effect of water stress on the growth and some yield parameters of *Solanum lycopersicum* L. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 9 (4), 1755-1761.
 192. Oljača R., Borišev M., Krstić B., Hrkić Ilić Z. (2012): *Fiziologija drvenastih biljaka – praktikum*. Šumarski fakultet Univerzitet u Banjoj Luci, Prirodno-matematički fakultet Univerzitet u Novom Sadu, Grafomark Laktaši.
 193. Osakabe Y., Osakabe K., Shinozaki K., Lam-Son P. T. (2014): Response of plant to water stress. *Front. Plant Sci.* 5, 86.
 194. Osorio E., Flores M., Hernández D., Ventura J., Rodriguez E., Aguilar C.N. (2010): Biological efficiency of polypheolic extracts from pecan nuts shell (*Carya illinoensis*), pomegranate husk (*Punica granatum*) and creosote bush leaves (*Larrea tridentata* Cov.) against plant pathogenic fungi. *Industrial crops and products* 31, 153-157.
 195. Ough C. S., Amerine M. A. (1988): Phenolic compounds. In: *Methods for analysis of must and wines*, New York, USA; Wiley, pp. 50-70.
 196. Paradiković N., Vinković T., Teklić T., Guberac V., Milaković Z. (2008): Primjena biostimulatora u proizvodnji presadnica rajčice. *Zbornik radova* 43, hrvatskog i 3. internacionalnog simpozija agronomija - Opatija, 435-438.
 197. Parvaiz A., Satyawati S. (2008): Salt stress and phyto-biochemical responses of plants: a review. *Plant Soil and Environ.* 54 (3), 89-99.
 198. Passardi F., Cosio C., Penel C., Dunand C. (2005): Peroxidases have more functions than a Swiss army knife. *Plant Cell Rep.* 24, 255-265.
 199. Pedranzani H., Tavecchio N., Gutierrez M., Garbero M., Porcel R., RuizLozano J. M. (2015): Differential effects of cold stress on the antioxidant response of mycorrhizal and non-mycorrhizal *Jatropha curcas* L. plants. *J. Agr. Sci.* 7, 35-43.
 200. Pék Z., Szuvandzsiev P., Daood H., Neményi A., Helyes L. (2014): Effect of irrigation on yield parameters and antioxidant profiles of processing cherry tomato. *Central European Journal of Biology* 9 (4), 383-395.
 201. Pertuit A.J. (1995): Effects of leonardite and seaweed on tomato, zinnia, and marigold seedlings. *Hort. Sci.* 30: 621-657.
 202. Petrozza A., Santaniello A., Summerer S., Di Tommaso G., Di Tommaso D., Paparelli E. (2014): Physiological responses to Megafol treatments in tomato plants under drought stress: a phenomic and molecular approach. *Sci. Hortic.* 174, 185-192.
 203. Pevalek Kozlina B. (2011): *Fiziologija bilja*. Profil International, Zagreb.
 204. Phaniendra A., Jestadi D. B., Periyasamy L. (2015): Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian J. Clin. Biochem.* 30: 11-26.
 205. Pillitteri L. J., Torii K. U. (2012): Mechanisms of stomatal development. *Annu. Rev. Plant Biol.* 63: 591-614.
 206. Raffo A., La Malfa G., Fogliano V., Maiani G., Quaglia G. (2006): Seasonal variations in antioxidant components of cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* cv. Naomi F1). *Journal of Food Composition and Analysis* 19 (1), 11-19.
 207. Rastija V., Srećnik G., Medić-Šarić M. (2009): Polyphenolic composition of Croatian wines with different geographical origins. *Food Chemistry* 115 (1), 54-60.
 208. Rathore S. S., Chaudhary D. R., Boricha G. N., Ghosh A., Bhatt B. P., Zodape S. T., Patolia J. S. (2009): Effect of seaweed extract on the growth, yield and nutrient uptake of soybean (*Glycine max*) under rainfed conditions. *S. Afr. J Bot.* 75, 351-355.
 209. Rfaki A., Nassiri L., Ibjibijen J. (2015): Isolation and Characterization of Phosphate Solubilizing Bacteria from the Rhizosphere of Faba Bean (*Vicia faba* L.) in Meknes Region, Morocco. *Br. Microbiol. Res.* J. 6 (5), 247-254.
 210. Richardson A. E., Barea J. M., McNeill A. M., Prigent-Combaret C. (2009): Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant Soil* 321, 305-339.
 211. Ridge I. (1991): *Plant Physiology*. The Open University, Hodder Education, UK.
 212. Rigano M. M., Raiola A., Tenore G. C., Monti D. M., Del Giudice R., Frusciante L. (2014): Quantitative trait loci pyramiding can improve the nutritional potential of tomato (*Solanum lycopersicum*) fruits. *J. Agric. Food. Chem.* 62, 11519-11527.
 213. Robards K., Prenzler P. D., Tucker G., Swatsitang P., Glover W. (1999): Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry* 66, 401-436.
 214. Rolli E., Marasco R., Vigani G., Ettoomi B., Mapelli F., Deangelis M. L., Gandolfi C., Casati E., Previtali F., Gerbino R., Pierotti Cei F., Borin S., Sorlini C., Zocchi G., Daffonchio D. (2015): Improved plant resistance to drought is promoted by the root-associated microbiome as a water stress-dependent trait. *Environ. Microbiol.* 17, 316-331.
 215. Salin M. L. (1987): Toxic oxygen species and protective system of chloroplast. *Physiol. Plant.* 72, 681-689.
 216. Sanchez-Rodriguez E., Moreno D. A., Ferreres F., Rubio-Wilhelmi M., Ruiz J. M. (2011): Differential responses of five cherry

217. tomato varieties to water stress: changes on phenolic metabolites and related enzymes. *Phytochemistry* 72, 7 23-729.
217. Scandalios J. G., Guan L., Polidoros A. N. (1997): Catalases in plants: gene structure, properties, regulation and expression. In: Scandalios JG, ed. *Oxidative stress and the molecular biology of antioxidants defenses*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, pp. 343-406.
218. Schroeder J. I., Kwak J. M., Allen G. J. (2001): Guard cell abscisic acid signalling and engineering drought hardiness in plants. *Nature* 410: 327-330.
219. Seng K. H. (2014): The effects of Drought, Waterlogging and Heat Stress on Tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Ph.D. Thesis, Lincoln University, Lincoln, UK.
220. Serio F., De Gara L., Caretto S., Leo L., Santamaria P. (2004): The electrical conductivity of nutrient solution, substrate, yield and antioxidant vitamins of cherry tomato. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, 1855-1890.
221. Shami, A.M., Philip, K., & Muniandy, S. 2013: Synergy or antibacterial and antioxidantactivities from crude extracts and peptides of selected plant mixture. *BMC Complementaryand Alternative Medicine* 13, 360.
222. Shao H. B., Chu L. Y., Shao M. A., Jaleel C. A., Mi H. M. (2008): Higher plant antioxidants and redox signaling under environmental stresses. *C. R. Biol.* 331, 433-441.
223. Sharp R. E. (2002): Interaction with ethylene: changing views on the role of abscisic acid in root and shoot growth responses to water stress. *Plant Cell Environ.* 25: 211-222.
224. Sheikh M., Safi-uddin A., Khan Z., Rizvi R., Mahmood I. (2013): Antibacterial andantifungal potential of some medicinal plants against certain phytopathogenicmicroorganisms. *Archives of phytopathology and plant protection* 46 (9), 1070-1080.
225. Shi J., Kakuda Y., Yeung D. (2004): Antioxidative properties of lycopene and other carotenoids from tomatoes: synergistic effects. *Biofactors*, 21 (1-4), 203-210.
226. Shigeoka, S., Ishikawa, T., Tamoi, M., Miyagawa, Y., Takeda, T., Yabuta, Y. (2002): Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. *J. Exp. Bot.* 53, 1305-1319.
227. Sidhu V., Nandwani D., Wang L., Wu Y. (2017): A Study on Organic Tomatoes: Effect of a Biostimulator on Phytochemical and Antioxidant Activities. *Journal of Food Quality* ID 5020742, 8.
228. Sies H. (1997): Oxidative stress: oxidants, antioxidants. *Exp Physiol.* 82, 291-295.
229. Skirycz A., Inze D. (2010): More from less: plant growth under limited water. *Curr. Opin. Biotechnol.* 21, 197-203.
230. Slimestad R., Fossen T., Verheul T. J. (2008): The flavonoids of tomatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 2436-2441.
231. Smirnoff N. (2000): Ascorbic acid: metabolism and functions of a multi-faceted molecule. *Curr. Opin. Plant Biol.* 3, 229-235.
232. Spann T. M., Little H. A. (2010): Effect of stimplex crop biostimulant on drought tolerance of 'Hamlin' sweet orange. *Proc. Fla. State Hortic. Soc.* 123, 100-104.
233. Srivastava T. (2012): Study of composition, activity and phenolic content of herbal products. *International Journal of Engineering Science and Technology* 4, 1412-1420.
234. Stevens R., Page D., Gouble B., Garchery C., Zamir D., Causse M. (2008): Tomato fruit ascorbic acid content is linked with monodehydroascorbate reductase activity and tolerance to chilling stress. *Plant Cell Environ.* 31, 1086-1096.
235. Suárez M. H., Dopazo G. A., López D. L., Espinosa F. (2015): Identification of Relevant Phytochemical Constituents for Characterization and Authentication of Tomatoes by General Linear Model Linked to Automatic Interaction Detection (GLM-AID) and Artificial Neural Network Models (ANNs). *PLOS One* 10 (6), e 0128566.
236. Subbarao G. V., Nam N. H., Chauhan Y. S., Johansen C. (2000): Osmotic adjustment, water relations and carbohydrate remobilization in pigconpea under water deficits. *J. Plant Physiol.* 157 651-659.
237. Šušković J. (2007): Sekundarni metabolizam u mikroorganizama - prezenztacija. dostupna na: www.pbf.hr
238. Suzuki N., Koussevitzky S., Mittler R., Miller G. (2012): ROS and redox signalling in the response of plants to abiotic stress. *Plant Cell Environ.* 35, 259-270.
239. Taiz L., Zeiger E. (2010): *Plant Physiology*. 5th Ed. Sinauer Associates, Sunderland, USA.
240. Tantawy A. S., Abdel-Mawgoud A. M. R., El-Nemr M. A., Chamoun Y. G. (2009): Alleviation of salinity effects on tomato plants by application of amino acids and growth regulators. *Eur. J. Scientific Res.* 30: 484-494.
241. Teixeira F. K., Menezes-benavente L., Margis R., Margis-Pinheiro M. (2004): Analysis of the molecular evolutionary history of the ascorbate peroxidase gene family: inferences from the rice genome. *J. Mol. Evol.* 59, 761-770.
242. Theobald J. C., Bacon M. A., Davies W. J. (2007): Delivering enhanced fruit quality to the UK tomato industry through implementation of partial root-zone drying. *Comp. Biochem. Physiol. Part A Mol. Integr. Physiol.*, 146, S 241.
243. Theologis A., Oeller P. W., Wong L. M., Rottmann W. H., Gantz D.M. (1993): Use of a tomato mutant constructed with reverse genetics to study fruit ripening, a complex developmental process. *Developmental Genetics*, 14, 282-295.
244. Tohid-Moghadam H. R., Shirani-Rad A. H., Nour-Mohammadi G. (2009): Effect of super absorbent application on antioxidant enzyme activities in canola (*Brassica napus* L.) cultivars under water stress conditions. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences* 4 (3), 215-223.
245. Toor R. K., Lister C. E., Savage G. P. (2005): Antioxidant activities of New Zealand-grown tomatoes. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 56 (8), 597-605.
246. Torres C. A., Davies N. M., Yañez J. A., Andrews P. K. (2005): Disposition of selected flavonoids in fruit tissues of various tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) genotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53 (24), 9536-9543.
247. Triantaphylidès C., Havaux M. (2009): Singlet oxygen in plants: production, detoxification and signaling. *Trends Plant Sci.* 14, 219-228.
248. Valdés R. A., CastilloF. D. H., Cabello J. C. A., Fuentes Y. M. O., Morales G. G., Cantú D. J. , Aguilar C. N. (2017): Review of antibacterial activity of plant extracts and growth-promoting microorganism (GPM) against phytopathogenic bacterial tomato crop. *European Journal of Biotechnology and Genetic Engineering* 4 (1), 11-36.
249. Valpuesta V., Botella M. A. (2004): Biosynthesis of L-ascorbic acid in plants: new pathways for an old antioxidant. *Trends Plant Sci.* 9 (12), 573-577.
250. Vasco C., Ruales J., Kamal-Eldin A. (2008): Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chem.* 111, 816-823.
251. Verma V., Ravindran P., Kumar P. P. (2016): Plant hormone-mediated regulation of stress responses. *BMC Plant Biol.* 16, 86.
252. Vernieri P., Malorgio F., Tognoni F. (2002): Use of biostimulants in production of vegetable seedlings. *Culture-Protette* 31 (1), 75-79.
253. Voss I., Suni B., Scheibe R., Raghavendra S. (2013): Emerging concept for the role of photorespiration as an important part of abiotic stress response. *Plant Biol.* 15, 713-722.
254. Vurukonda S. S. K. P., Vardharajula S., Shrivastava M., SkZ A. (2016): Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. *Microbiological Research* 184, 13-24.

255. Walker J. R. L. (1975): The biology of plant phenolics. Edward Arnold Ltd. (Publishers) London, 57.
256. Wettstein, D. (1957): Chlorophyll latale und der submikroskopische Formwechsel der Plastiden. *Exp. Cell. Res.* 12, 427-434.
257. Wilkens R.T., Spoerke J.M., Stamp N.E. (1996): Differential responses of growth and two soluble phenolics of tomato to resource availability. *Ecol.* 77, 247-258.
258. Williams R., Spencer J., Rice-Evans C. (2004): Flavonoids: antioxidants or signalling molecules? free radic. *Biol. Med.* 36, 838-849.
259. Williamson G., Scalbert A. (2000): Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols. *Journal of Nutrition* 130, 2073-2085
260. Willits M. G., Kramer C. M., Prata R. T. N., De Luca V., Potter B. G., Steffens J. C. Graser G. (2005): Utilization of the genetic resources of wild species to create a nontransgenic high flavonoid tomato. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53 (4), 1231-1236.
261. Winkel-Shirley B. (2002): Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. *Curr. Opin. Plant Biol.* 5, 218-223.
262. Wojdylo A., Oszmiński J., Czemerys R. (2007): Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry* 105, 940-949.
263. Wrzaczek M., Brosché M., Kangasjärvi J. (2013): ROS signaling loops - production, perception, regulation. *Curr. Opin. Plant Biol.* 16: 575-582.
264. Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K. (2006): Transcriptional regulatory networks in cellular responses and tolerance to dehydration and cold stresses. *Annu. Rev. Plant Biol.* 57, 781-803.
265. Yazdi M. T., Khaleghparast S., Monsef H. R. (2002): Purification and some partial characterization of peroxidase isoenzyme from *Brassica oleracea capitata* L. *J. Sci. Islam. Repub. Iran.* 13 (2), 107-112.
266. Yoshiyama K. O., Kimura S., Maki H., Britt A. B., Umeda M. (2014): The role of SOGI, a plant-specific transcriptional regulator, in the DNA damage response. *Plant Signal. Behav.* 9; e 28889.
267. Yuan X. K., Yang Z. Q., Li Y. X., Liu Q., Han W. (2016): Effects of different levels of water stress on leaf photosynthetic characteristics and antioxidant enzyme activities of greenhouse tomato. *Photosynthetica* 54, 28-39.
268. Zahran H. H. (1999): Rhizobium-Legume Symbiosis and Nitrogen Fixation under Severe Conditions and in an Arid Climate. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 63 (4), 968-989.
269. Zanjani K. E., Hossein Shirani Rad A., Naeemi M., Moradi Aghdam A., Taherkhani T. (2012): Effects of zeolite and selenium application on some physiological traits and oil yield on Medicinal Pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) under drought stress. *Current Research, Journal of Biological Sciences* 4 (4), 462-470.
270. Zarzecka K., Gugała M., Sikorska A., Mystkowska I., Baranowska A., Nieweglowski M., Dolega H. (2017): The effect of herbicides and biostimulants on polyphenol content of potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers and leaves. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* In press.
271. Zgallai H., Steppe K., Lemeur R. (2006): Effects of different levels of water stress on leaf water potential, stomatal resistance, protein and chlorophyll content and certain anti-oxidative enzymes in tomato plants. *Journal of Integrative Plant Biology* 48 (6), 679-685.
272. Zhang X., Ervin E., Evanylo G., Sherony C., Peot C. (2005): Biosolids impact on tall fescue drought resistance. *J. Residuals Sci. Tech.* 2, 173-180.
273. Zhishen J., Mengcheng T., Jianming W. (1999): The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.* 64, 555-559.
274. Zotarelli L., Scholberg J. M., Dukes M. D., Munoz- Carpene R., Icerman J. (2009): Tomato yield, biomass accumulation, root distribution and irrigation water use efficiency on a sandy soil, as affected by nitrogen rate and irrigation scheduling. *Agricultural water management* 9 (6): 23-34.
- 3) Важан сегмент овог истраживања је било и тестирање хипотезе да ли ће пресаднице шери парадајза са већом толерантношћу на недостатак влаге успјети остварити већи принос и квалитет. Наведена теза је тестирана у фази технолошке зрелости плодова када су на плодовима шери парадајза испитани сљедећи параметри: укупни принос по биљци, садржај растворљиве суве материје и укупних киселина, садржај витамина Ц, садржај ликопена, садржај укупних фенола, флавоноида и укупни антиоксидацијски капацитет, те садржај доминантно заступљених фенолних једињења у плодовима шери парадајза: хлорогенске киселине, кафеинске киселине, рутина и нарингенина.
- 4) Основна хипотеза овог истраживања је била да ће се примјена испитиваних стимулатора раста одразити позитивно на испитиване физиолошке параметре одбрамбеног механизма пресадница шери парадајза у условима суше. Оне пресаднице са бољим вриједностима испитиваних физиолошких параметара би у истим условима гајења, требале остварити и већи принос и квалитет плодова, а наведена хипотеза је тестирана у фази технолошке зрелости плодова.
- 1) Укратко истаћи разлог због којих су истраживања предузета и представити проблем, предмет, циљеве и хипотезе;
- 2) На основу прегледа литературе сажето приказати резултате претходних истраживања у вези проблема који је истраживан (водити рачуна да обухвата најновија и најзначајнија сазнања из те области код нас и у свијету);
- 3) Навести допринос тезе у рјешавању изучаваног предмета истраживања;
- 4) Навести очекиване научне и прагматичне доприносе дисертације.

V МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА

- 1) Основни материјал рада у овом истраживању представљале су пресаднице шери парадајза

(*Lycopersicon esculentum* Mill. "Sakura"), стимулатори раста Bio-algeen S92, Ergonfill i Slavol, те хемикалије коришћене у експерименталном дијелу истраживања.

Критеријуми који су узети су следећи: Постоје и други одбрамбени механизми којима се поједине биљке покушавају адаптирати и аклиматизовати у условима водног стреса као што су: усмјеравање појединих дијелова биљке да функционишу дехидрирано, издуживање коријенског система биљке у потрази за водом, прилагођавање фотосинтезе и осталих физиолошких процеса стресним условима, завршавање животног циклуса прије започињања суше, испитивање утицаја истих на биљку парадајза.

- 2) Истраживање у којем је испитиван утицај коришћених стимулатора раста на могућност повећања одбрамбеног механизма пресаднице шери парадајза у условима водног стреса је проведено у контролисаним условима у стакленику КЈП "Парк" у Сарајеву током 2014. и 2015. године.

Оглед је постављен по методи случајног блокног распореда, са четири варијанте третирања у три понављања. Варијанте третирања стимулаторима раста су биле следеће:

1. варијанта: примјена Bio-algeena S92 у конц. 0,2%,
2. варијанта: примјена Slavola у конц. 1%,
3. варијанта: примјена Ergonfilla у конц. 0,1%,
4. варијанта: нетретирана варијанта.

Свака варијанта обухватала је четрдесет биљака, што значи да је овим огледом било обухваћено укупно 480 биљки.

У склопу експерименталног дијела ове докторске дисертације коришћене су следеће методе:

- за одређивање водног потенцијала биљног ткива коришћена је тзв. метода на основу промјене концентрације растворца у којој се налазило биљно ткиво (*Lisjak i sar.*, 2009),
- за одређивање садржаја пролина у листовима коришћена је нинхидринска метода (*Bates i sar.*, 1973),
- ekstrakcija pigmenata iz svježih listova šeri paradajza obavlјена је помоћу acetona, а детерминација пигмената (hlorofila a, hlorofila b и укупних каротеноида) спектрофотометријском методом уз примјену одговарајућих једначина (*Wetstein*, 1957),
- одређивање површине листова обављено је методом контуре листа на папиру (*Međedović i sar.*, 2006),
- екстракција и одређивање концентрације протеина у биљном материјалу је обављено према Брадфордовом методи (*Bradford*, 1976),
- активност пирогалол пероксидазе је одређена спектрофотометријски (*Nakano i Asada*, 1981),
- активност гвајакол пероксидазе је одређена спектрофотометријском методом (*Chance i Maehly*, 1955),
- одређивање активности аскорбат пероксидазе је обављено спектрофотометријском методом (*Nakano i Asada*, 1981),
- активност каталазе је одређена спектрофотометријском методом (*Aebi*, 1984),
- активност супероксид дисмутазе је одређена спектрофотометријском методом (*McCord i Fridrovich*, 1969),
- садржај укупних фенола у испитиваном биљном материјалу је одређен спектрофотометријском методом која се темељи на колорној реакцији фенола с Folin-Ciocalteae реагенсом (*Ough i Amerine*, 1988),
- садржај укупних флавоноида у испитиваном биљном материјалу је одређен спектрофотометријском методом која се темељи на колорној рекцији флавоноида с AlCl_3 (*Zhishen i sar.*, 1999),
- укупни антиоксидацијски капацитет у испитиваном биљном материјалу одређен је FRAP методом - ferric reducing/antioxidant power method (*Benzie i Strain*, 1996),
- садржај растворљиве суве материје у плодовима шери парадајза одређен је рефрактометријском методом (*ISO*, 2003),
- за одређивање укупне киселости у плодовима шери парадајза коришћена је титрацијска метода с раствором NaOH , уз фенофталеин као индикатор (*AOAC*, 2000),
- за одређивање витамина C (L-аскорбинске киселине) коришћена је титриметријска метода

с 2,6-p-dihlorfenolindofenolом (*AOAC*, 2006),
- садржај ликопена у испитиваним узорцима је одређен спектрофотометријском методом уз кориштење хексана као екстракционог средства (*Davis i sar.*, 2003),
- екстракција фенолних компоненти из плодова шери парадајза за HPLC анализу је обављена према методи Escarpe и Gonzalesa (2000) уз коришћење смјесе растворача (metanol + 3% metanska kiselina + 1% m / v 2,6-di-tert-butil-4-metilfenol / BHT),
2.1. Примјењене методе истраживања су адекватне, довољно тачне и савремене што се види из година према ауторима чије методе су кориштене.
2.2. Није било промјена у односу на план истраживања који је предложен приликом пријаве докторске тезе.
2.3. Истраживање ефикасности примјене стимулатора раста у регулацији продуктивности шери парадајза испитивано је у двије године. На основу свих испитиваних параметара могуће је било дати сасвим валидне закључке.
2.4. Статистичка (биометричка) обрада података је коректна а одређена је у складу са предметом и материјалом истраживања.

- 1) Објаснити материјал који је обрађиван, критеријуме који су узети у обзир за избор материјала;
- 2) Дати кратак увид у примјењени метод истраживања при чemu је важно оцијенити слједеће:
 1. Да ли су примјењене методе истраживања адекватне, довољно тачне и савремене, имајући у виду достигнућа на том пољу у свјетским нивоима;
 2. Да ли је дошло до промјене у односу на план истраживања који је дат приликом пријаве докторске тезе, ако јесте зашто;
 3. Да ли испитивани параметри дају довољно елемената или је требало испитивати још неке, за поуздано истраживање;
 4. Да ли је статистичка обрада података адекватна.

VI РЕЗУЛТАТИ И НАУЧНИ ДОПРИНОС ИСТРАЖИВАЊА

- 1) Резултати анализе водног потенцијала у свјежим листовима пресадница шери парадајза (*Lycopersicon esculentum* Mill."Sakura") у зависности од варијанте примјене стимулатора раста и изложености пресадница условима стреса приказани су посебно за сваку годину истраживања.
Кандидат је у поглављу резултати рада систематично приказао резултате истраживања докторске дисертације, те извршио њихову компарацију са резултатима из релевантних литературних извода. Ово поглавље је подијељено на 18 тематских цјелина сходно испитиваним параметрима обухваћеним овим истраживањем.
У првом дијелу овог поглавља (9 цјелина) приказани су резултати који су се односили на физиолошке параметре одбрамбене механизме отпорности пресадница шери парадајза у условима суше.
Резултати овог дијела истраживања су показали да у условима стреса пресаднице шери парадајза третиране стимулаторима раста имају у својим листовима нижи садржај пролина, виши водни потенцијал, већу лисну површину, мањи пораст активности антиоксидацијских ензима или генерално гледано нижи ниво стреса у односу на нетретиране пресаднице, а што указује на позитивне ефекте примјене коришћених стимулатора раста са аспекта одгађања уласка пресадница шери парадајза у стање стреса.
Други дио поглавља "Резултати рада" (9 цјелина) односио се на резултате приноса и параметара квалитета плодова у зависности од коришћених стимулатора раста и услова гајења.
Резултати у склопу овог дијела истраживања су показали да су пресаднице шери парадајза изложене контролисаним стресним условима, оствариле значајно нижи принос у односу на пресаднице које су биле редовно залијеване и то независно од третмана стимулатором раста. Примјена коришћених стимулатора раста, у првом реду Bio-algeena S92, је донекле успјела смањити пад приноса у стресираним пресадницама, али га није успјела спријечити.

Такође и параметри квалитета плодова (садржју укупних фенола и флавоноида, садржју ликопена, укупни антиоксидацијски капацитет) су били већи у варијантама у којима су пресаднице шери парадајза биле једно вријеме излагане стресу, што указује на чињеницу да контролисано излагаше пресадница шери парадајза стресним условима може умногоме допринијети повећању нутритивне и здравствене вриједности њених плодова.

Примјена коришћених стимулатора раста је у нормалним условима гајења, где пресаднице током свог развоја нису биле излагане стресу, исказала позитиван учинак на повећање већине испитиваних параметара квалитета плодова у односу на нетретиране пресаднице, што додатно упућује на закључак закључити да и са тог аспекта истраживања примјена коришћених стимулатора раста има своју оправданост у узгоју шери парадајза.

- 2) Ово истраживање је веома обилно, из угла разноликости материјала (биостимулатори и броја анализа) а резултирало је великим бројем података. Добијени резултати истраживања су јасно приказани, и јасно, правилно и логично тумачени. Извршено је и поређење добијених резултата са резултатима других истраживача из исте области истраживања.
- 3) Ово истраживање је једно од првих фундаменталних истраживања из ове области на подручју Босне и Херцеговине. У истраживањима се дошло до следећих закључака
 - Стрес условљен недостатком воде је са аспекта остваривања одговарајућих приноса један од главних ограничавајућих фактора у узгоју шери парадајза.
 - Контролисано излагаше пресадница шери парадајза водном стресу, премда изразито негативно утиче на принос, може умногоме допринијети повећању садржаја фенола, флавоноида и укупног антиоксидацијског капацитета у плодовима шери парадајза, а самим тиме и подизању нивоа њиховог квалитета и здравствене вриједности.
 - Примјена коришћених стимулатора раста може у великој мјери допринијети бољој адаптацији пресадница шери парадајза условима суше. У условима у којима је проведен овај оглед, коришћени стимулатори раста, а међу њима у првом реду Bio-algeen S92, су исказали позитиван ефекат на јачање механизма осмотске адаптације и антиоксидативног система одбране пресадница шери парадајза, те је сасвим извјесно да њихова примјена има своју оправданост са аспекта смањења негативних ефеката суше на развиће пресадница шери парадајза.
 - Коришћени стимулатори раста су и у нормалним условима гајења исказали позитиван ефекат на повећање већине испитиваних параметара квалитета плодова шери парадајза проматрано у односу на нетретиране пресаднице, што упућује на закључак да њихова примјена позитивно утиче на продуктивност шери парадајза, неовисно о условима гајења. Истраживања имају велики теоретски и практичан значај јер су резултати указали на правилан пут гајења шери парадајза и као се понаша у условима суше. Резултати могу се примјенити и истражити и код других клонова парадајза.
- 1) Укратко навести резултате до којих је кандидат дошао;
- 2) Оцијенити да ли су добијени резултати јасно приказани, правилно, логично и јасно тумачени, упоређујући са резултатима других аутора и да ли је кандидат при томе испољавао довољно критичности;
- 3) Посебно је важно истаћи до којих нових сазнања се дошло у истраживању, који је њихов теоријски и практични допринос, као и који нови истраживачки задаци се на основу њих могу утврдити или назирати.

VII ЗАКЉУЧАК И ПРИЈЕДЛОГ

Докторска дисертација mr Сенада Муртића под насловом: Ефикасност примјене стимулатора раста у регулацији продуктивности шери парадајза (*Lycopersicon esculentum* Mill. "Sakura") представља оригиналан научни рад израђен на основу обимних истраживања уског везаних уз тематику понашања пресадница шери парадајза у условима стреса, те могућностима побољшавања њихове продуктивности примјеном одговарајућих стимулатора раста.

Циљеви истраживања и хипотезе у склопу ове докторске дисертације су јасно и методолошки исправно дефинисани. У склопу експерименталног дијела примијењене су одговарајуће научне методе, а добивени резултати истраживања су статистички адекватно обрађени, те систематично и прегледно изложени. На основу приказаних резултата изведени су закључци који иду у прилог доношењима квалитетних рјешења за унапређење производње шери парадајза у условима водног стреса примјеном одговарајућих стимулатора раста, што је од великог интереса како за произвођаче ове повртне културе, тако и за научнике који се баве испитиваном проблематиком.

Докторска дисертација мр. Сенада Муртића под насловом: Ефикасност примјене стимулатора раста у регулацији продуктивности шери парадајза (*Lycopersicon esculentum* Mill. "Sakura") представља оригиналан научни рад. На основу укупне оцјене урађене дисертације комисија предлаже да се ова докторска дисертација прихвати и кандидату мр Сенаду Муртићу одобри јавна одбрана.

- 1) Навести најзначајније чињенице што тези даје научну вриједност, ако исте постоје дати позитивну вриједност самој тези;
- 2) На основу укупне оцјене дисертације комисија предлаже:
 - да се докторска дисертација прихвати, а кандидату одобри одбрана,
 - да се докторска дисертација враћа кандидату на дораду (да се допуни или измијени) или
 - да се докторска дисертација одбија.

ПОТПИС ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

Датум: 22. 05. 2018.

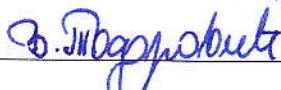
Др Ивана Максимовић, редовни професор
Пољопривредног факултета Универзитета, у Новом Саду на ужој научној области: Физиологија и исхрана биљака, предсједник



Др Родољуб Ољача, редовни професор
Пољопривредног факултета Универзитета у Бањој Луци, на ужој научној области: Исхрана и физиологија биљака, ментор- члан



Др Вида Тодоровић, ванредни професор
Пољопривредног факултета Универзитета у Бањој Луци, на ужој научној области: Хортикултура, члан.



Др Хамдија Чивић, редовни професор
Пољопривредно-прехрамбеног факултета Универзитета у Сарајеву, на ужој научној области: Педологија, Агрехемија и мелиорације, члан.



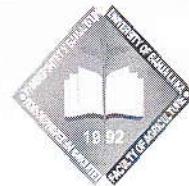
Др Тијана Џевић Антић, ванредни професор
Биолошког факултета Универзитета у Београду, на ужој научној области: Физиологија и молекуларна биологија биљака, члан.



ИЗДВОЈЕНО МИШЉЕЊЕ: Члан комисије који не жeli да потпиše извјештај јer сe не слажe сa мишљењем већине чланова комисије, дужан јe да унесe у извјештај образложение, односно разлог збog коjих ne жeli да потпиše извјештај.



УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊОЈ ЛУЦИ
UNIVERSITY OF BANJA LUKA
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
FACULTY OF AGRICULTURE



Број: 10/1.2151 /18
Дан: 03. јули 2018. године.

ИЗВЛЕШТАЈ

о испуњавању додатних услова за одбрану докторске дисертације на Универзитету у Бањој Луци- кандидат Сенад Муртић

Сенад Муртић, кандидат у процесу пријаве докторске дисертације на Пољопривредном факултету Универзитета у Бањој Луци, доставио је списак од сљедећа четири рада за потребе провјере испуњавања додатних услова за одбрану докторске дисертације прописаних Одлуком Сената број 01/04-3.138-40/17 (напомена: референце су дословно прекопиране у форми како су достављене на увид):

1. Назив рада: **Response of cherry tomato seedlings to liquid fertiliser application under water stress**
Аутори: Сенад Муртић, Родољуб Ољача, Ивана Колешка, Лутвија Карић, Вида Тодоровић
Пуни назив часописа: **Horticultural Science**
2. Назив рада: **Cherry tomato productivity as influenced by liquid organic fertilizer under different growth conditions**
Аутори: Сенад Муртић, Родољуб Ољача, Мирила Смајић Муртић, Амила Вранац, Асима Акагић, Хамдија Чивић
Пуни назив часописа: **Journal of Central European Agriculture**
3. Назив рада: **Effect of microbiological fertilizer for mitigating water stress in cherry tomato**
Аутори: Сенад Муртић, Родољуб Ољача, Мирила Смајић Муртић, Ивана Колешка, Лутвија Карић, Јасна Авдић
Пуни назив часописа: **Bulgarian Journal of Agricultural Science**
4. Назив рада: **Effects of seaweed extract on the growth, yield and quality of cherry tomato under different growth conditions**
Аутори: Сенад Муртић, Родољуб Ољача, Мирила Смајић Муртић, Амила Вранац, Ивана Колешка, Лутвија Карић
Пуни назив часописа: **Acta agriculturae Slovenica**

Часописи у којима је кандитат објавио рад под редним бројем 1. и 2. се налазе у WoS бази података (што је могуће независно проверити претрагом назива часописа путем јавно доступног сервиса: <http://mjl.clarivate.com/>):

1. <http://mjl.clarivate.com/cgi-bin/jrnlist/jlresults.cgi?PC=MASTER&Full=Horticultural%20Science>
2. <http://mjl.clarivate.com/cgi-bin/jrnlist/jlresults.cgi?PC=MASTER&Full=JOURNAL%20OF%20CENTRAL%20EUROPEAN%20AGRICULTURE>

Рад у часопису под редним бројем 3. налази се у следећим базама података: Emerging Sources Citation Index, Scopus, Academic Search Premier, CAB Abstracts, Veterinary Science Database. Рад у часопису под редним бројем 4 налази се у базама података: Scopus (Elsevier), DOAJ (Directory of Open Access Journals), CrossRef, CAB Abstracts, AGRIS, FSTA, Google Scholar, dLib и COBISS чиме су услови прописани под 1.1. и 1.2. задовољени.

Закључно мишљење:

Извршена стручна анализа показује да објављени часописни радови кандидата Сенада Муртића:

- Задовољавају додатне услове који су дефинисани тачком 1.1 и 1.2 Одлуке,

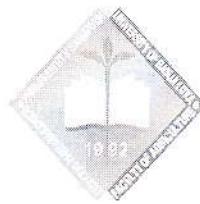
те се констатује да кандидат Сенад Муртић испуњава додатне услове за одбрану докторске дисертације на Универзитету у Бањој Луци.

Продекан за научно-истраживачки рад и међународну сарадњу

Проф. др Гордана Роквић



УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊОЈ ЛУЦИ
UNIVERSITY OF BANJA LUKA
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
FACULTY OF AGRICULTURE



Број: 10/1. 1567-1/18
Дана, 29.05.2018 . године

На основу члана 159. Закона о општем управном поступку ("Службени гласник Републике Српске" бр. 13/02; 87/07 и 50/10) а у вези са чланом 3. Правилника о поступку провере оригиналности завршних радова студената на II и III циклусу студија Универзитета Бањој Луци и увида у евиденцију издаје се *сљедеће*

УВЈЕРЕЊЕ

Потврђује се да је званичним софтвером iTenicate извршена провера оригиналности докторске дисертације кандидата Сенада Муртића под насловом: "Ефикасност примјене биостимулатора у регулацији продуктивности шери парадајза (*Lycopersicon esculentum* Mill "Sakura")" сагласно одредбама члана 3. Правилника о поступку провере оригиналности завршних радова студената на II и III циклусу студија Универзитета у Бањој Луци.

Увјерење се издаје у сврху вођења поступка одбране докторске дисертације и у друге сврхе се не може користити.

Потпис овлашћеног лица

Мр Јелена Марковић

Продекан за
научноистраживачки рад
Доц. др Гордана Роквић

- Достављено:
- Ментору
 - А/А

Изјава 1

ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Изјављујем
да је докторска дисертација

Наслов рада Ефикасност примјене биостимулатора у регулацији продуктивности шери парадајза (*Lycopersicon esculentum* Mill. "Sakura")

Наслов рада на енглеском језику The effectiveness of biostimulator application in productivity regulation sherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill. "Sakura")

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да докторска дисертација, у целини или у дијеловима, није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

У Бањој Луци 02. 07. 2018.

Потпис докторанта



Изјава 2

Изјава којом се овлашћује Универзитет у Бањој Луци да докторску дисертацију учини јавно доступном

Овлашћујем Универзитет у Бањој Луци да моју докторску дисертацију под насловом

Ефикасност примјене биостимулатора у регулацији продуктивности шери парадајза
(*Lycopersicon esculentum* Mill. "Sakura")

која је моје ауторско дјело, учини јавно доступном.

Докторску дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату
погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у дигитални репозиторијум Универзитета у
Бањој Луци могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце
Креативне заједнице (*Creative Commons*) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство – некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – дијелити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – дијелити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци
дат је на полеђини листа).

У Бањој Луци 02. 07. 2018.

Потпис докторанта



Изјава 3

Изјава о идентичности штампане и електронске верзије докторске дисертације

Име и презиме аутора Сенад Муртић

Наслов рада Ефикасност примјене биостимулатора у регулацији продуктивности
шери парадајза (*Lycopersicon esculentum* Mill. "Sakura")

Ментор Проф. др Родољуб Ољача

Изјављујем да је штампана верзија моје докторске дисертације идентична електронској
верзији коју сам предао/ла за дигитални репозиторијум Универзитета у Бањој Луци.

У Бањој Луци 02. 07. 2018.

Потпис докторанта

