



POLJOPRIVREDNI FAKULTET
UNIVERZITET U NOVOM SADU
AGRONOMIJA



**MORFO-FIZIOLOŠKE OSOBINE
PARADAJZA U USLOVIMA
POVEĆANOG SALINITETA**
DOKTORSKA DISERTACIJA

Mentor: Prof. dr Ivana Maksimović

Kandidat: Ivana Kolečka

Novi Sad, 2017

УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ

ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

Redni broj: RBR	
Identifikacioni broj: IBR	
Tip dokumentacije: TD	Monografska dokumentacija
Tip zapisa: TZ	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada (dipl., mag., dokt.): VR	Doktorska disertacija
Ime i prezime autora: AU	Ivana Koleška
Mentor (titula, ime, prezime, zvanje): MN	Prof. dr Ivana Maksimović
Naslov rada: NR	Morfofiziološke osobine paradajza u uslovima povećanog saliniteta
Jezik publikacije: JP	Srpski

Jezik izvoda: JI	srp. / eng.
Zemlja publikovanja: ZP	Srbija
Uže geografsko područje: UGP	Vojvodina
Godina: GO	2017
Izdavač: IZ	autorski reprint
Mesto i adresa: MA	Poljoprivredni fakultet, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad

Fizički opis rada: FO	(broj poglavlja 8/ stranica 97 / slika 34 /tabela 5 /referenci 307 / priloga 39)
Naučna oblast: NO	Agronomija
Naučna disciplina: ND	Fiziologija i ishrana biljaka
Predmetna odrednica, ključne reči: PO	Paradajz, salinitet, enzimski i neenzimski antioksidansi
UDK	582.926.2(043.3)
Čuva se: ČU	Poljoprivredni fakultet, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad
Važna napomena:	Nema

VN	
<p>Izvod:</p> <p>IZ</p> <p>Prilikom proizvodnje paradajza u zaštićenom prostoru često dolazi do pojave stresa usled povećane zaslanjenosti supstrata, što je posledica intenzivnog prihranjivanja, korišćenja neadekvatne vode za navodnjavanje i nemogućnosti prirodnog ispiranja zemljišta. Jedna od najpopularnijih metoda kojom se mogu prevazići problemi gajenja biljaka u ovakvim uslovima, a koja nema nikakvih štetnih posledica za okolinu, je kalemljenje. Stoga je cilj ovog rada bio da se ispita stepen morfoloških, biohemijskih i fizioloških promena koje nastaju kod dva hibrida paradajza (Buran F1 i Berberana F1), gajenih iz kalemljenog i nekalemljenog rasada, u prisustvu različitih koncentracija soli (NaCl) u podlozi (EC 1.7 dS m⁻¹ (kontrola), 3.8 dS m⁻¹ (S1), 6.9 dS m⁻¹ (S2) i 9.1 dS m⁻¹ (S3)). Dvanaest nedelja nakon sadnje, u fenofazi plodonošenja izmereni su intenzitet fotosinteze, transpiracije i protok gasova kroz stome. Uzorkovani su listovi i u njima je ispitana aktivnost antioksidantnih enzima (SOD, askorbat peroksidaza i klasa III peroksidaza). Izmerena je masa potpuno zrelih plodova sa prve plodnosne grane (uzorkovanih u isto vreme kada i listovi) i u njima su izmerene koncentracije likopena, askorbinske kiselina, fenolnih jedinjenja i ukupni antioksidacioni kapacitet. Različiti nivoi zaslanjenosti supstrata u ogleđima doveli su do značajnih promena u rastu i metabolizmu ispitivanih hibrida paradajza. Ustanovljena je razlika u reakciji kalemljenih i nekalemljenih hibrida paradajza na S1, S2 i S3. SOD i askorbat (AA) su imali ključnu ulogu u antioksidativnoj zaštiti biljaka, dok je u dugoročnom odgovoru paradajza na S1, S2 i S3, tokom faze zrenja, uloga peroksidaza bila manje značajna. Konstatovana je interhibridna razlika u aktivnosti SOD i AA. Tokom dvanaest nedelja izloženosti biljaka paradajza sonom stresu biljke su se dobro adaptirale, na šta ukazuje povećan sadržaj AA, kao i odnos AA/DHA, što je verovatno posledica brze regeneracije AA. Takođe, kalemljene biljke su imale niži sadržaj neenzimskih antioksidativnih komponenti u listovima i plodovima kod oba ispitivana hibrida, na svim nivoima povećane zaslanjenosti supstrata. Prosečna masa plodova kalemljenih biljaka je, u zavisnosti od nivoa zaslanjenosti supstrata, bila za 40% do 60% veća u poređenju sa nekalemljenim, što je veoma važno sa tržišnu vrednost proizvodnje. Rezultati ove disertacije su omogućili da se sagleda i kvantifikuje uticaj kalemljenja na tolerantnost paradajza prema povećanoj koncentraciji soli u podlozi, što je veoma značajno za proizvodnju ove vrste povrća.</p>	
Datum prihvatanja teme od strane Senata: DP	12.07.2016.
Datum odbrane:	

DO	
Članovi komisije: (ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status) KO	<hr/> dr Rodoljub Oljača, redovni profesor, Poljoprivredni fakultet, Banja Luka, predsjednik <hr/> dr Ivana Maksimović, redovni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, mentor <hr/> dr Vida Todorović, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Banja Luka, član <hr/> dr Biljana Kukavica, vanredni profesor, Prirodno-matematički fakultet, Banja Luka, član <hr/> dr Marina Putnik-Delić, docent, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, član

University of Novi Sad

Faculty

Key word documentation

Accession number: ANO	
Identification number: INO	

Document type: DT	Monograph documentation
Type of record: TR	Textual printed material
Contents code: CC	PhD thesis
Author: AU	Ivana Koleška
Mentor: MN	Ivana Maksimović, PhD, full professor
Title: TI	Morph physiological features of tomatoes grown in conditions of increased salinity
Language of text: LT	Serbian
Language of abstract: LA	eng. / srp.
Country of publication: CP	Serbia
Locality of publication: LP	Vojvodina
Publication year: PY	2017.
Publisher: PU	Author's reprint
Publication place: PP	Faculty of Agriculture, D. Obradovića 8, 21000 Novi Sad

Physical description: PD	(8 chapters / pages 97 / figures 34/ tables 5/ references 307 / attachments 39)
Scientific field SF	Agronomy
Scientific discipline SD	Plant physiology and nutrition
Subject, Key words SKW	Tomato, salinity, enzymatic and non-enzymatic antioxidants
UC	582.926.2(043.3)
Holding data: HD	
Note: N	
<p>Abstract: AB</p> <p>Stress conditions often occur during the tomato production in greenhouses due to increased substrate salinity, which is the result of intensive fertilization, use of inadequate water for irrigation and impossibility of natural soil rinsing. One of the widely used methods by which the problems of plant cultivation under increased salinity can be overcome, and which has no harmful effects on the environment, is grafting. Therefore, the aim of this research was to examine the level of morphological, biochemical and physiological changes occurring in two tomato hybrids (Buran F1 and Berberana F1) grown from grafted and non-grafted seedlings in the presence of different salt concentrations (EC 1.7 dS m⁻¹ (control), 3.8 dS m⁻¹ (S1), 6.9 dS m⁻¹ (S2) and 9.1 dS m⁻¹ (S3)). Twelve weeks after planting, in fruiting phenophase, intensity of photosynthesis, transpiration and gas exchange through stomata were measured. Leaves were sampled and the activities of antioxidant enzymes (SOD, ascorbate peroxidase and class III peroxidase) in them was assessed. The weight of fully mature fruits from the first fruiting branch (sampled at the same time as the leaves) was measured and the concentrations of lycopene, ascorbic acid, phenolic compounds and total antioxidant capacity were measured in them. Different levels of substrate salinity in experiments led to significant changes in the growth and metabolism of the examined tomato hybrids. The difference in the reaction of grafted and non-grafted tomato hybrids to S1, S2 and S3 was found. SOD and ascorbate (AA)</p>	

played a key role in the antioxidant protection, while in the long-term response of tomatoes to S1, S2 and S3, during the ripening phase, the role of peroxidases was less significant. Inter-hybrid differences in SOD and AA activity was also found. During the twelve weeks of exposure of tomato plants to salt treatments, the plants adapted well, as indicated by the increased AA content, as well as the AA/DHA ratio, which is probably the result of rapid AA regeneration. Moreover, the concentration of non-enzymatic antioxidant components in the leaves and fruits of both examined hybrids, was lower in grafted plants, at all levels of increased substrate salinity. The average weight of fruits of grafted plants, depending on the level of substrate salinity, was 40% to 60% higher compared to the non-grafted, which is very important for the market value of tomato production. The results of this dissertation have made it possible to perceive and quantify the effect of grafting on tomato tolerance towards the increased salt concentration in the substrate, which is very important for the successful production of this vegetable.

Accepted on Senate on: AS	12.07.2016.
Defended: DE	
Thesis Defend Board: DB	<hr/> dr Rodoljub Oljača, Full Professor, Faculty of Agriculture, Banja Luka, president <hr/> dr Ivana Maksimović, Full Professor, Faculty of Agriculture, Novi Sad, mentor <hr/> dr Vida Todorović, Associate professor, Faculty of Agriculture, Banja Luka, member <hr/> dr Biljana Kukavica, Associate professor, Faculty of Science and Mathematics, Banja Luka, member <hr/> dr Marina Putnik-Delić, Docent, Faculty of Agriculture, Novi Sad, member

Zahvalnica

Neizmernu zahvalnost na sveobuhvatnoj pomoći i podršci tokom izrade i pisanja doktorske disertacije dugujem svojoj mentorki prof. dr Ivani Maksimović.

Najsrdalnije se zahvaljujem prof. dr Vidi Todorović na moralnoj podršci, svesrdnoj pomoći, strpljenju i razumevanju.

Prof. dr Biljani Kukavica dugujem ogromnu zahvalnost za pomoć koju mi je pružila prilikom izvođenja eksperimenta, kao i za brojne korisne savete i sugestije.

Želim da uputim veliku zahvalnost doc. dr Marini Putnik-Delić i prof. dr Rodoljubu Oljači na korisnim savetima u analizi doktorske disertacije.

Mojim dragim prijateljima i kolegama, mr Dini Hasanagiću, mr Borutu Bosančiću i mr Senadu Murtiću najsrdačnije se zahvaljujem na svesrdnoj pomoći, podršci i savetima koje su mi pružili.

Najveću zahvalnost dugujem svojoj porodici, mami Veri, tati Željku, bratu Borisu i baki Janji na ljubavi, podršci i razumevanju.

Posebnu zahvalnost želim da uputim voljenom suprugu Dejanu, koji je moja najveća inspiracija i podrška.

Autor

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. CILJ ISTRAŽIVANJA	4
3. PREGLED LITERATURE	5
3.1.Paradajz i kalemljenje paradajza.....	5
3.2.Zaslanjenost supstrata	7
3.3.Antioksidativni metabolizam kod biljaka u uslovima povećanog saliniteta.....	9
3.3.1. Enzimski antioksidansi.....	11
3.3.1.1.Superoksid-dismutaza (SOD, EC 1.15.1.1).....	12
3.3.1.2.Peroksidaze (POD, EC 1.1.1.1.7).....	13
3.3.1.2.1. Askorbat peroksidaza (APX, EC 1.11.1.11).....	16
3.3.2. Neenzimski antioksidansi.....	17
3.3.2.1.Fenolna jedinjenja	17
3.3.2.2.Askorbinska kiselina.....	21
3.3.2.3.Likopen.....	22
3.4. Masa ploda u uslovima sonog stresa.....	23
3.5. Fotosinteza, transpiracija i protok gasova kroz stome.....	24
4. RADNA HIPOTEZA	26
5. MATERIJAL I METODE	27
5.1. Ispitivani hibridi paradajza i tretmani.....	27
5.2. Postavka oglada.....	28
5.3.Uzorkovanje.....	29
5.3.1. Uzorkovanje listova.....	29
5.3.2. Uzorkovanje plodova.....	30
5.4. Ekstrakcija i određivanje ukupnih proteina.....	30
5.5. Spektrofotometrijsko određivanje aktivnosti peroksidaza (POD).....	30
5.6. Određivanje aktivnosti SOD i POD nativnom elektroforezom.....	30
5.7. Određivanje aktivnosti APX.....	31
5.8. Određivanje ukupnog (AA) i oksidovanog (DHA) askorbata.....	31
5.9.Određivanje koncentracije ukupnih fenola.....	31
5.10.Određivanje koncentracije ukupnih flavonoida.....	32

5.11. Određivanje ukupnog antioksidativnog kapaciteta.....	32
5.12. Određivanje koncentracije askorbinske kiseline	33
5.13. Određivanje koncentracije likopena	33
5.14. Određivanje intenziteta fotosinteze, protoka gasova kroz stome i intenziteta transpiracije.....	33
5.15. Određivanje prosečne mase ploda.....	34
5.16. Debljina i visina stabla.....	34
5.17. Statistička obrada podataka.....	34
6. REZULTATI I DISKUSIJA.....	35
6.1. Prva godina istraživanja (preliminarni ogled).....	35
6.2. Druga godina istraživanja.....	38
6.2.1. Enzimski antioksidansi.....	38
6.2.1.1. SOD aktivnost.....	38
6.2.1.2. POD i APX aktivnost.....	43
6.2.1.3. AA i DHA sadržaj.....	48
6.2.2. Neenzimski antioksidansi.....	53
6.2.2.1. Koncentracija fenolnih jedinjenja i ukupni antioskidativni kapacitet u listovima i plodovima.....	53
6.2.2.2. Koncentracija askorbinske kiseline.....	59
6.2.2.3. Koncentracija likopena.....	61
6.2.3. Prosečna masa ploda.....	64
6.2.4. Intenzitet fotosinteze, protok gasova kroz stome i intenzitet transpiracije.....	66
7. ZAKLJUČAK.....	70
8. LITERATURA.....	71

1. UVOD

Paradajz (*Lycopersicon esculentum* Mill.) je jedna od najznačajnijih povrtarskih kultura koja se konzumira širom sveta i visok prinos i kvalitet su veoma bitni za ekonomski uspeh proizvodnje. Prema podacima FAO za 2013 godinu, površine pod paradajzom u svetu iznosile su 4,725.417 hektara sa prosečnim prinosom od 34,7 t h⁻¹ (FAO, 2013). Najveću prosečnu i ukupnu proizvodnju u proteklih 20 godina ostvarile su: Kina, SAD, Indija, Turska i Egipat. Paradajz sadrži u sebi dosta lekovitih materija i ima antioksidativno i antiseptičko dejstvo na ljudski organizam. Jedan je od bogatijih izvora askorbinske kiseline i vitamina B grupe, te sadrži esencijalne mineralne elemente kao što su kalijum, natrijum, magnezijum, kalcijum, bakar i gvožđe. Od svih fitohemikalija prisutnih u paradajzu, najveći deo istraživanja je fokusiran na likopen – dominantan karotenoid i jedan od najsnažnijih antioksidanata u prirodi, sa dva puta većom sposobnošću neutralisanja singletnog kiseonika od β -karotena i 10 puta većom od α -tokoferola (Agarwal i Rao, 2000). Mnoga istraživanja potvrđuju dejstvo likopena kao aktivne komponente u prevenciji raka, kardiovaskularnih bolesti i usporavanja starenja ćelija (Gerster, 1997; Abdel-Monaim, 2012; Di Franco i sar., 2012). Pored likopena, paradajz takođe sadrži i umerene količine β -karotena, koji predstavlja provitamin A, kao i luteina, pri čemu oba karotenoida pokazuju antioksidativnu aktivnost (Capanoglu i sar. 2008; Chanforan i sar. 2012). Plod paradajza sadrži i druge snažne prirodne antioksidanse, kao što su fenolna jedinjenja (Martinez-Valverde i sar., 2002; Willcox i sar., 2003; Canene-Adams i sar., 2005; Adalid i sar., 2010). Za razliku od askorbinske kiseline, koja je veoma osetljiva na povišene temperature, likopen i fenolna jedinjenja su otporniji na toplotne tretmane, tako da predstavljaju glavne antioksidante u proizvodima od paradajza (Navarro-González i sar., 2011). Pored primene u svežem stanju, preko 80% proizvedenog paradajza u svetu konzumira se u obliku prerađenih proizvoda (Gould, 1992). Industrijska prerada paradajza daje veliki broj različitih proizvoda: sok, koncentrisani proizvodi od paradajza, paradajz u prahu, pelat, sos i kečap (Niketić-Aleksić, 1988; Capanoglu i sar., 2008; Celma i sar., 2009; Lenucci i sar., 2013). Njegova potrošnja u svetu je u stalnom porastu zbog toga što je na tržištu dostupan sve veći broj prehrambenih proizvoda čiji je sastojak paradajz, kao i zbog sve veće popularnosti takozvane „mediteranske ishrane“, u kojoj je paradajz jedna od glavnih komponenti, a koja je, prema mnogim istraživanjima, povezana sa smanjenim rizikom od oboljevanja od hroničnih bolesti (Goñi i Hervert-Hernández, 2011; Pinela i sar., 2012; Di Lecce i sar., 2013). Zbog svega navedenog paradajz spada u tzv. funkcionalnu hranu

koja pozitivno utiče na fiziološke i metaboličke funkcije ljudskog organizma, obezbeđuje prevenciju bolesti vezanih za ishranu, kao i unapređenje fizičke sposobnosti i mentalnog zdravlja pojedinca (Stahl i Sies, 1992; Rao i sar., 1998; Rao i Agarwal, 1999; Diplock i sar., 1998; Gibson i Williams, 2000; Hasler, 2002).

Proizvodnja povrća u zaštićenom prostoru svrstava se među najintezivnije u biljnoj proizvodnji. Zaštićeni prostor obezbeđuje smanjenje rizika od uticaja nepovoljnih klimatskih uslova tokom jesenjeg, zimskog i prolećnog perioda, ali i vrlo uspešnu zaštitu od visokih temperatura u letnjim mesecima. Rezultat upravljanja mikroklimatskim uslovima tokom čitave godine, shodno biološkim zahtevima gajene biljke, jeste značajno povećanje prinosa po biljci (Kastori i sar., 2013). U Republici Srpskoj dominira proizvodnja u plastenicima tunelskog tipa bez dodatnog zagrevanja, gde je paradajz kao vrsta najzastupljeniji. Međutim, u plasteničkom uzgoju usled intezivne prihrane i nemogućnosti prirodnog ispiranja zemljišta često dolazi do pojave sonog stresa (Taiz i Zeiger, 2010). Osnovnim razlogom nastale salinizacije smatra se upotreba neadekvatne bunarske vode za navodnjavanje (koja ima veći EC- elektroprovodljivost (engl. electric conductivity) i/ili preterana upotreba đubriva (Kotuby-Amacher i sar., 2000; Munns i sar., 2004). Povišena koncentracija osmolita u zemljištu pokreće lančane promene u ekološkim uslovima koji dalje uslovljavaju metaboličke procese u biljkama. U ovakvim uslovima najveći problem za biljke predstavlja vodni deficit koji se javlja kao posledica osmotskog disbalansa (Bohnert, 2007), te visoka koncentracija Na^+ koja u zemljišnom rastvoru može izmeniti odnos $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ ili Na^+/K^+ (Grattan i Grieve, 1999). Intenzivna prihrana i navodnjavanje bunarskom vodom, pored sonog stresa i nepovoljnog finansijskog učinka predstavlja i ekološko opterećenje. Da bi se posledice stresa uzrokovane povećanom koncentracijom soli eliminisale ili umanjile, u biljkama se aktiviraju antioksidativne adaptivne reakcije.

Paradajz je jedna od povrtarskih kultura kod koje se primenjuju specijalne i specifične agrotehničke mere, a u cilju dobijanja većeg kvaliteta i prinosa. Jedan od načina sprečavanja gubitaka u proizvodnji usled povećane koncentracije soli u zemljištu je kalemljenje (Estan i sar., 2005). Kalemljene biljke imaju jače razvijen koren koji je u mogućnosti da usvoji veću količinu vode i hranjivih materija, što direktno utiče na nutritivni status u plodu (Mišković i sar., 2005).

Većina literaturnih podataka vezanih za antioksidativne strategije, te način tolerancije i adaptacije biljaka paradajza gajenih u uslovima povećane zaslanjenosti bazirana je na hidroponski uzgajanim biljkama i to na nivoima početnog stresa u fenofazi listanja. S toga, od

Morfo-fiziološke osobine paradajza u uslovima povećanog saliniteta

izuzetnog je značaja poznavanje morfo-fizioloških procesa u kasnijim fazama rasta i razvića, uključujući fazu plodonošenja, koji bi mogli ukazati na značaj kalemljenja za prilagođavanje biljaka na povećanu zaslanjenost supstrata.

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj ove disertacije je ispitivanje stepena morfoloških i biohemijsko-fizioloških adaptacija dva hibrida paradajza (Buran F1 i Berberana F1), gajenog iz kalemljenog i nekalemljenog rasada, u fazi plodonošenja, na prisustvo različitih koncentracija NaCl u podlozi- EC 1,7 dS m⁻¹ (kontrola- K), 3,8 dS m⁻¹ (S1), 6,9 dS m⁻¹ (S2) i 9,1 dS m⁻¹ (S3).

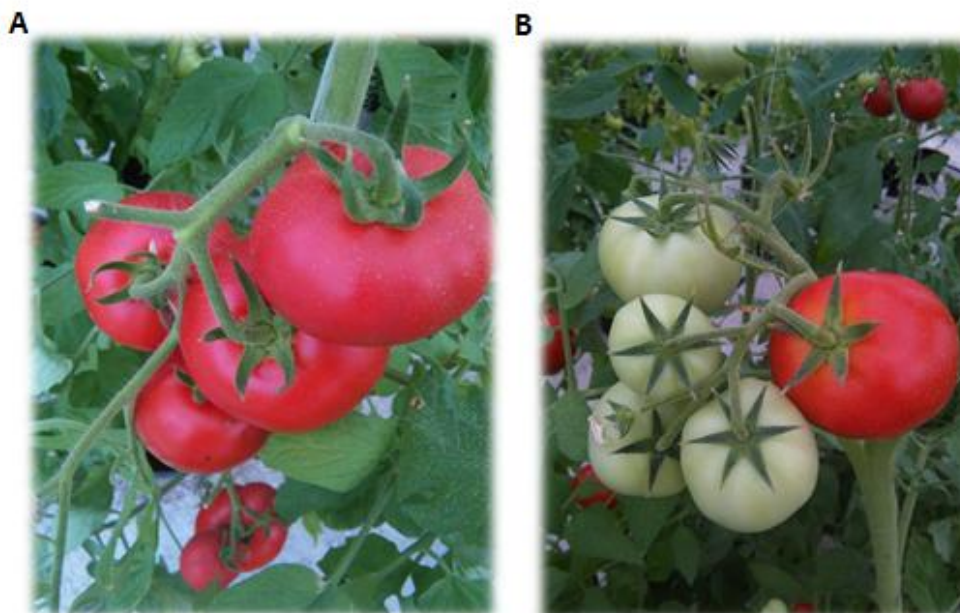
Dobijeni rezultati će omogućiti jasniji uvid u antioksidativni metabolizam i stepen morfo-fizioloških adaptacije biljaka paradajza dvanaest nedelja nakon početne izloženosti abiotičkom stresu zaslanjenog zemljišta. Takođe, ispitaće se značaj kalemljenja, kao agrotehničke mere, za povećanje prinosa i kvaliteta ploda paradajza u ispitivanim uslovima.

3. PREGLED LITERATURE

3.1. Paradajz i kalemljenje paradajza

Paradajz (*Lycopersicon esculentum* Mill.) je samooplodna, vaskularna (podcarstvo Tracheobionta), cvetajuća (razdeo Magnoliophyta), dikotiledona (klasa Magnoliopsida) biljna vrsta koja pripada porodici pomoćnica (Solanaceae). Ova porodica obuhvata više od 3000 vrsta, među kojima se nalaze i brojne ekonomski značajne biljne vrste (paprika, krompir, duvan i plavi patlidžan) poreklom iz Starog i Novog sveta (Knapp, 2002). Taksonomija paradajza se menjala, i trenutno, iako ga većina taksonoma svrstava u rod *Solanum*, naziv *Solanum lycopersicum* još uvek nije u tolikoj meri prihvaćen od strane oplemenjivača (Ji i sar., 2007). Međutim, u naučnoj literaturi u upotrebi su i naziv *Lycopersicon esculentum* Mill. (Hasanuzzamani sar., 2013; Misbaudeeni sar., 2015), ali i naziv *Solanum lycopersicum* (Khairii sar., 2015; Mehari i sar., 2015; Sun i sar., 2015).

Rast, razviće i plodonošenje paradajza zavise od uslova u kojima se nalazi. Za optimalan prinos neophodni su povoljni temperaturni uslovi, dovoljno svetlosti, dobra struktura zemljišta i određena količina hraniva. Prilikom gajenja, veoma je važno izabrati odgovarajuću sortu i hibrid za konkretne agroekološke uslove i odabrani način proizvodnje (Sl. 1).



Slika 1. Hibrid Buran F1 (A) i hibrid Buran F2 (B) (original)

Paradajz je odlična model biljka i za osnovna i primenjena istraživanja iz više razloga, kao što je mogućnost gajenja u različitim uslovima, neosetljivost na fotoperiodizam, relativno kratka vegetacija, visoki stepen samooplodnje i homozigotnosti, veliki reproduktivni potencijal, te lakoća kontrole polinacije i hibridizacije (Ji i sar., 2007). Sem toga, paradajz predstavlja diploidnu vrstu ($2n=24$), relativno malog (900Mb) genoma (International Tomato Genome Sequencing Project- SOL, 2012) pogodnu za aseksualnu propagaciju, duplikaciju gena, kulturu protoplasta, ćelija i tkiva (McCormick i sar., 1986; Peterson i sar., 1998; Arumuganathan i Earle, 1991) i regeneraciju cele biljke (Fillatti i sar., 1987). Pored toga, paradajz je odgovarajuća model biljka za mogućnost razvoja haploida (Zagorska i sar., 1998) i dostupnosti velikog broja mutanata (Menda i sar., 2004). Od 1970-ih godina jak naglasak je na proizvodnji F1 hibrida paradajza (Foolad, 2007). Visoke (indeterminantne) hibride odabrane za ovo istraživanje karakteriše neograničeni visoki rast stabla i bujno grananje. Ovaj tip hibrida može narasti i do 400 cm (Lešić i sar., 2004).

Novija istraživanja u poljoprivredi su trenutno posvećena implementaciji tehnologija, koje ne samo da dovode do povećanja prinosa biljaka u stresnim abiotičkim i biotičkim uslovima, nego i do poboljšanja njihovog nutritivnog kvaliteta sa naglaskom na bioaktivna jedinjenja (Chávez-Mendoza i sar., 2013). Jedna od tih tehnologija je i kalemljenje biljaka (Rouphael i sar., 2010) - dobijanje autonomne jedinke iz dve biljke (Osuna-Avila i sar., 2012). Tehnika kalemljenja se primenjuje u različite svrhe kao što su povećanje otpornost prema različitim patogenima, salinitetu, suši, bolje usvajanje vode i hranjivih materija, poboljšanje vitalnosti biljke, te jače performanse i tolerantnost pod uticajem različitih faktora sredine (Fernandez-García i sar., 2004 a, b; Sivritepe i sar., 2008; Savvas i sar., 2010). Osim toga, kalemljenje smanjuje potrebu za đubrenjem zemljišta i primenom različitih hemikalija (pesticida i insekticida), te kod velikog broja biljaka poboljšava kvalitet ploda i podstiče produkciju specifičnih fitohemijskih jedinjenja (Martinez-Ballesta i sar., 2008). Dosadašnja istraživanja pokazuju da kalemljenje poboljšava adaptaciju biljaka paradajza u uslovima sonog stresa (Santa-Cruz i sar., 2001, 2002). Obzirom da su oštećenja biljke i gubitak prinosa kod paradajza u uslovima povećane zaslanjenosti supstrata povezani sa prekomernom akumulacijom Na^+ i Cl^- jona u listovima (Cuartero i Fernandez-Munoz, 1999), kao podloga za kalemljenje najčešće se bira korenov sistem koji osim što pojačano usvaja vodu i mineralne materije ima sposobnost smanjenog usvajanja i transporta Na^+ i Cl^- jona u biljci (engl. salt exclusion) (Lee, 1994; Oda, 1995; Bersi, 2002). Iako kalemljene biljke imaju veći prinos i veličinu ploda (Flores i sar., 2010) postoji značajna polemika o tome da li kalemljene

biljke imaju i bolji kvalitativni sastav ploda. Istraživanje Turhan i sar. (2011) ukazuje da kalemljenje paradajza na različite podloge dovodi do pogoršanja kvaliteta ploda koje se ogleda npr. u smanjenju koncentracije askorbinske kiseline i ukupnih šećera. Suprotno tome, Fernandez-Garci i sar. (2004) su pokazali da su biljke paradajza gajene u uslovima povećanog saliniteta i kalemljene na različite podloge imale veći prinos i veći sadržaj šećera i u kontrolnim i u stresnim uslovima.

3.2. Zaslanjenost supstrata

Stres usled povećane koncentracije soli u zemljištu dovodi do promena u različitim morfološkim (Jaleel i sar., 2008), fiziološkim, biohemijskim i metaboličkim procesima u biljci, zavisno o težini i trajanju stresa, i na kraju ugrožava proizvodnju useva (Navarro i sar., 2002; Bustan i sar., 2005; Munns, 2005; Rozema i Flowers, 2008; Khan i sar., 2010; Rahnama i sar., 2010; James i sar., 2011). Visoka koncentracija soli u zemljištu utiče na rast i razvoj biljke na nekoliko načina- dovodi do vodnog, osmotskog i oksidativnog stresa, toksičnosti jona, poremećaja u usvajanju hraniva, izmene u metaboličkim procesima, poremećaja u ćelijskoj membrani, diobi i izduživanju ćelija (Hasegawa i sar., 2000; Munns, 2002; Zhu, 2007).

Prema USDA klasifikaciji, zemljišta sa povećanom koncentracijom soli su definisana na osnovu električne provodljivosti rastvora ekstrahovanog iz vodno saturisane paste (ECe, Electrical Conductivity of extract). Kao granična vrednost se koristi električna provodljivost od $4 \text{ dS m}^{-1} = 40 \text{ mM NaCl}$ ili više.

Na osnovu elektroprovodljivosti zemljišta su podeljena na:

- slana zemljišta ($\text{ECe} \geq 4 \text{ dS m}^{-1}$) koja imaju visoku koncentraciju rastvorenih soli koja svojim osmotskim i jonskim efektom inhibiraju rastenje biljke,
- sona zemljišta ($\text{ECe} < 4 \text{ dS m}^{-1}$) koja imaju malu koncentraciju rastvorenih soli, ali visok procenat razmene sa dvovalentnim katjonima ili vezivanja za anjone gline i organske materije.

Što je veća koncentracija soli u vodi, veća je elektroprovodljivost (Taiz i Zeiger, 2010).

Dosadašnja istraživanja efekta povećanog saliniteta na rastenje i razviće biljaka su pokazala da postoji dvofazni odgovor biljke na osmotski i jonski stres. U prvoj fazi, usled pojave osmotskog stresa i povećane koncentracije soli zemljišnog rastvora oko korena dolazi do brzog smanjenja rasta biljaka. Reakcije koje su slične efektima suše se dešavaju za vrlo kratko vreme, nekoliko minuta nakon izlaganja stresu i odgovor biljke nastaje zbog smanjene

sposobnosti biljke da apsorbuje vodu. Rastenje izdanka je mnogo osetljivije od korena, tako da u ovoj fazi dolazi do inhibicije rastenja, pre svega mladih listova (Munns, 2002; Flowers, 2004).

U toku druge faze koja je sporija i odvija se u dužem vremenskom periodu (nedelje ili meseci) redukcija rastenja je rezultat akumulacije soli u listovima, što dovodi do toksičnog efekta jonskog stresa. Efekat se primarno javlja kod starijih listova koji su već završili rastenje i koji imaju smanjenu sposobnost kompartmentacije soli u vakuoli. Kod mladih listova inhibicija rastenja nastaje usled smanjenja pojave listova i fotosintetskog kapaciteta koji je nedovoljan za obezbeđivanje asimilata mladih listova, što dodatno smanjuje rastenje, dok kod starijih listova dolazi do ubrzanog starenja i uginuća, posebno kod osetljivih biljaka (Larcher 1980; Munns i Termaat, 1986; Cramer i Nowak, 1992; Hasegawa i sar., 2000; Munns, 2002). Visoka koncentracija Na^+ i Cl^- toksično deluje na enzimski i membranski sistem biljke (Nazarbeygi i sar., 2011). U uslovima stresa dolazi do smanjenja fluidnosti membrana zbog povećanja nivoa saturisanih zasićenih fosfolipida, kao i denaturacije ili agregacije proteina što vodi promeni propustljivosti i izlasku jona iz ćelije. Pri visokoj koncentraciji Na^+ zamenjuje Ca^{2+} iz ćelijskog zida i plazmaleme dovodeći do promena u ekstenzibilnosti zida i membranskoj propustljivosti, koja se detektuje kao izlaženje K^+ iz ćelije (Stikić i Jovanović, 2015). Visoka koncentracija Na^+ povećava i broj intramembranskih vezikula što ukazuje na dezorganzizaciju membrane i povećanu kompartmentaciju (Stikić i Jovanović, 2015). Pri visokoj koncentraciji soli Na^+ , inhibira se H^+ /ATP-aza i menja se elektrohemijski gradijent i aktivnost antiporta Na^+ , što utiče na ukupan transport jona i održanje jonskog homeostazisa. Negativan efekat Na^+ se ne ispoljava samo na ravnotežu koncentracije jona, nego i na ukupni mineralni status, jer kompeticijom sa K^+ za aktivno mesto na transporteru on može da zameni K^+ i da tako utiče na aktivnost mnogih enzima, kao i na biosintezu proteina za koje je K^+ esencijalan.

Povećana zaslanjenost zemljišta može imati različite efekte na rast i razvoj paradajza. S jedne strane, paradajz spada u grupu biljaka koje dobro podnose zaslanjeno zemljište, ali sa druge strane i kod njega pri EC većoj od 3 dS m^{-1} dolazi do značajnih oštećenja (Sonneveld i Van der Burg, 1991; Jones i sar., 1994; Cuartero i Fernandez-Munoz, 1999). Istraživanja Olympios i sar. (2003) su pokazala da je paradajz osetljiviji na veći salinitet ($8,7 \text{ dS m}^{-1}$) u ranim fazama razvoja nego u kasnijim, što su potvrdila i istraživanja Kütük i sar. (2004). Povećavanjem koncentracije soli preko 3 dS m^{-1} u zoni korena dolazi do ograničenja u rastu ploda (Adams i Ho, 1989; Adams 1991; Willumsen i sar., 1996; Cuartero i Fernandez-Muñoz

1999; Navarro i sar., 2006), a na veoma visokim nivoima saliniteta smanjuje se intenzitet fotosinteze, broj plodova po biljci (Cuartero i Fernandez-Muñoz, 1999), smanjuje se veličina ploda, ukupan prinos, i uzrokuje vršno truljenje ploda (Saito, 2006). Prema Adams i Ho (1989), Van Ieperen i sar. (1996) i Olympios i sar. (2003), broj plodova po biljci je smanjen kada je nivo saliniteta u zoni korena 8 dS m^{-1} ili veći. S druge strane umereno povećana koncentracija soli u zemljištu može poboljšati kvalitet ploda s obzirom da u tom stanju dolazi do povećanja sadržaja karotenoida, šećera, organskih i amino kiselina koje doprinose njegovim boljim senzornim osobinama (De Pascale i sar., 2001; Krauss i sar., 2006; Ali i Ismail, 2014).

Efekti povećane zaslanjenosti supstrata na paradajz su reverzibilni. Prema istraživanju Stanghellini i sar. (2002) kod paradajza izloženog salinitetu od 9 dS m^{-1} dolazi do potpunog oporavka delova koji nisu dostigli brzu fazu rasta nakon ispiranja soli iz zone korenovog sistema.

3.3. Antioksidativni metabolizam biljaka u uslovima povećanog saliniteta

Prekomerna produkcija slobodnih radikala u biološkim sistemima kontrolisana je kompleksnim mehanizmima koji obuhvataju antioksidativni sistem, enzime, proteine i druge biomolekule koje su u stanju da inhibiraju stepen inicijacije, propagacije ili da obnove strukture oštećene dejstvom slobodnih radikala. Usled fiziološke suše i narušene jonske ravnoteže kod povećanog zemljišnog saliniteta u biljnim ćelijama dolazi do hiperprodukcije reaktivnih kiseoničnih vrsta (ROS) (Ahmad i sar., 2011). Prema Fraga i Oteiza (2002) antioksidativne komponente su sve one komponente koje su u stanju da spreče proces oksidacije. Dakle, funkcija antioksidanta ili antioksidativnih sistema je u sprečavanju formiranja ili uklanjanju ROS prije nego što oštete vitalne komponente ćelija (Sies, 1993; Zhang i sar., 2013), odnosno u održavanju nivoa ROS na optimalnom nivou. U uslovima stresa kada je povećana proizvodnja ROS važnu ulogu ima raznolik i kooperativan enzimski i neenzimski antioksidativni sistem koji modulira međućelijsku koncentraciju ROS i određuje redoks status ćelije (Foyer i Noctor, 2000; Apel i Hirt, 2004; Sharma i sar., 2012).

Enzimski antioksidansi imaju primarnu funkciju u uklanjanju slobodnih radikala iz ćelije, a u okviru njih kao indikatori stresa su značajni superoksid dismutaza, peroksidaze i askorbat peroksidaza. Način njihovog delovanja je specifičan i selektivan, zavisno od vrste enzima i reakcije koju katalizuju, ali konačni rezultat svih tih reakcija je uklanjanje slobodnih radikala

ili njihova transformacija u nereaktivna jedinjenja. Kao posledica procesa fotosinteze u biljkama dolazi do stvaranja molekularnog kiseonika i u ovakvom okruženju dolazi do spontanog "isticanja" elektrona iz elektron-transportnog lanca koji onda veoma lako mogu da reaguju sa O₂ što dovodi do nastanka ROS (Halliwell i Gutteridge, 1999). Među reaktivne kiseonične vrste se pored slobodnih radikala ubrajaju i neradikalni oblici koji su, takođe, oksidacioni agensi i lako prelaze u radikale. Jedna od neizbežnih posledica stresa usled povećane koncentracije soli u zemljištu je povećana proizvodnja ROS u različitim ćelijskim kompartmentima, a najviše u hloroplastima, peroksizomima i mitohondrijima (Mittova i sar., 2004). Najčešće se pojačano generišu vodonik peroksid i superoksid (Chawla i sar., 2013), ali je takođe uočeno povećanje koncentracije singlet kiseonika i hidroksi radikala (Apel i Hirt, 2004; Mahajan i Tuteja, 2005; Esfandiari i sar., 2007; Ahmad i sar., 2012). Salinitetom indukovane ROS mogu dovesti do oksidativnih oštećenja na svim ćelijskim nivoima, počevši od DNK do proteina, lipida i drugih biomolekula ugrožavajući na taj način vitalne funkcije biljne ćelije (Arora i sar., 2002; Gill i Tuteja 2010; Ahmad i sar., 2011). Biljke kao sesilni organizmi u slučaju nastanka oksidativnog stresa reaguju intenzivnim metaboličkim prilagođavanjima na molekularnom, biohemijskom te fiziološkom nivou, koja ipak na kraju najčešće rezultiraju smanjenjem prinosa (Munns, 2005; Rozema i Flowers, 2008; Rahnama i sar., 2010; James i sar., 2011).

Neenzimski antioksidansi su jedinjenja različite prirode koja se stvaraju u biljci, a imaju takođe sposobnost da neutralizuju negativno delovanje slobodnih radikala. Jedni od važnijih neenzimskih antioksidansa koji se sintetišu u biljnim ćelijama, a od čijeg sadržaja u velikoj meri zavisi odbrambeni antioksidativni mehanizam biljke su karotenoidi, askorbinska kiselina i fenolna jedinjenja (Kaur i Mondal, 2014).

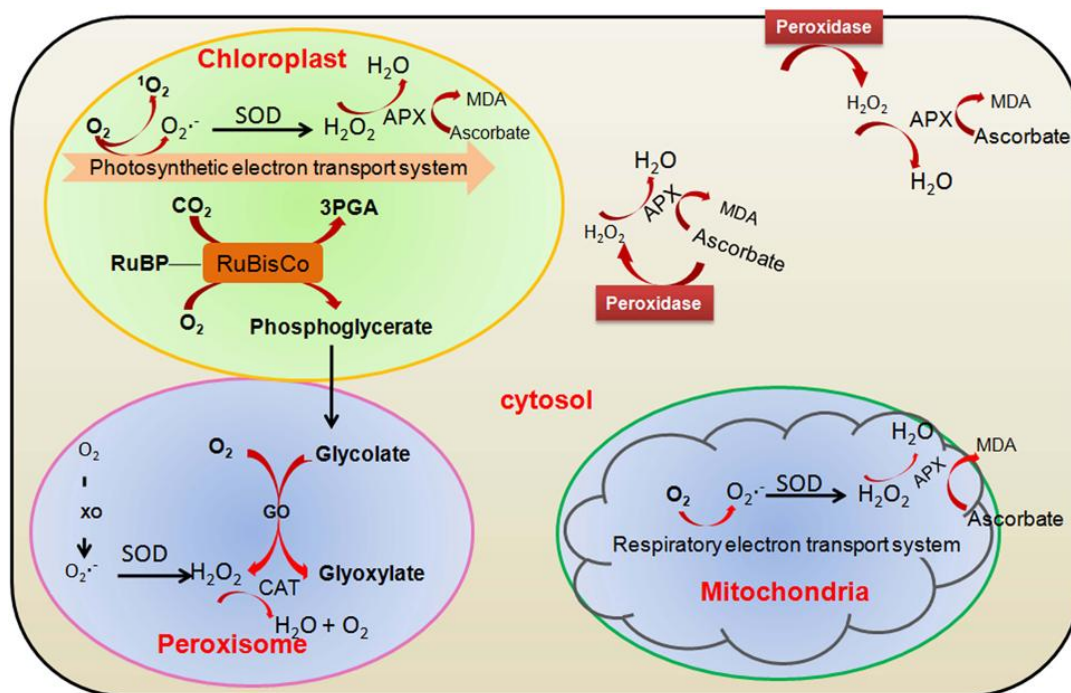
Usled sve većeg i izraženijeg problema sa primarnom i sekundarnom salinizacijom poljoprivrednih površina i velikih ekonomski gubitaka usled toga, istraživanja mnogih naučnika su fokusirana na pronalaženje načina za rešavanje ovog problema. Takođe, mnoga istraživanja usmerena su na povezanost stresa izazvanog povećanom zaslanjenošću supstrata i antioksidativnog sistema zaštite u biljkama (Shalata i Tal, 1998; Dat i sar., 2000; Van Breusegem i sar., 2001; Arora i sar., 2002; Borsani i sar., 2003).

Poslednjih godina uloga biljnog antioksidativnog sistema postaje glavni fokus naučnika koji se bave fiziologijom stresa.

3.3.1. Enzimski antioksidansi

Mnoga istraživanja su pokazala pozitivnu korelaciju između otpornosti na stres izazvan povećanom zaslanjenosti supstrata i enzimske antioksidativne aktivnosti (Mittova i sar., 2004; Misra i Gupta., 2005; Chawla i sar., 2013; Gill i sar., 2013; Manaa i sar., 2013). Povećanje koncentracije ROS-a u uslovima stresa funkcioniše kao alarmni signal koji pokreće aklimatizacijske/odbrambene odgovore od strane posebnih puteva prenosa signala koji uključuju H_2O_2 kao sekundarnog glasnika. Takođe je utvrđeno da je povećana aktivnost peroksidaza u korenu paradajza povezana sa otpornošću biljke na povećanu zaslanjenost supstrata (Mohammad i sar., 1998).

Superoxid-dismutaze (SOD, EC 1.15.1.1), katalaze (CAT, EC 1.11.1.6), askorbat peroksidaze (APX, EC 1.11.1.11), i peroksidaze klase III (POD, EC 1.11.1.7) koje koriste različita fenolna jedinjenja kao supstrat (gvajakol, kafeična, ferulična ili hlorogenska kiselina) predstavljaju primarnu antioksidativnu odbranu (Sl. 2).



Slika 2. Reaktivne vrste kiseonika (ROS) produkovane u fotosintetskim ćelijama i antioksidativni enzimi uključeni u njihovu eliminaciju: GO, glikol oksidaza; 3PGA, 3-fosfoglicerat; RuBisCo, ribuloza 1,5-bifosfat karboksilaze/oksigenaza; RuBP, ribuloza 1,5-bifosfat; SOD, superoksid dismutaza; XO, ksantin oksidaza; CAT, katalaza; APX, askorbat peroksidaza (Das i sar., 2015).

Aktivnost antioksidantnih enzima može da varira u zavisnosti od genotipa same vrste (Ünyayar i sar., 2005). Prema istraživanju Dasgan i sar. (2003) aktivnost enzima koji sadrže Fe je specifična i razlikuje se kod različitih hibrida paradajza.

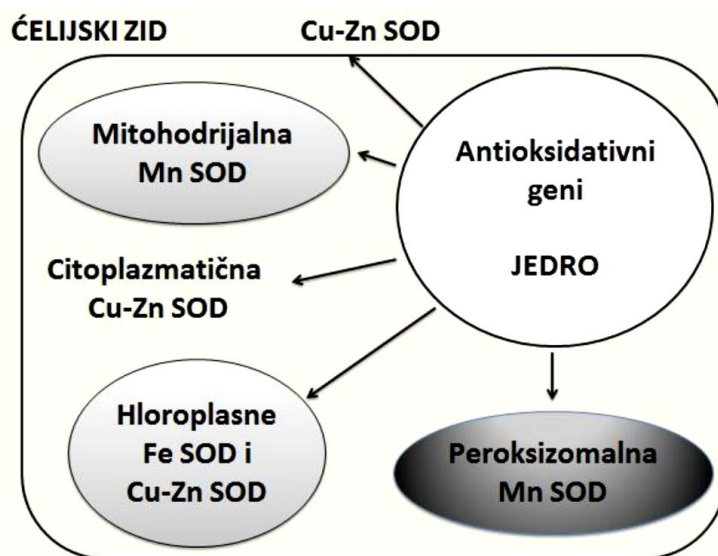
3.3.1.1 . Superoksid- dismutaza (SOD, EC 1.15.1.1)

Superoksid dismutaza je jedan od ključnih enzima koji štite biljnu ćeliju od oksidativnih oštećenja (Fridovich, 1986) smanjujući povećanu koncentraciju superoksid radikala u ćeliji (Slooten i sar., 1998). Unutar ćelije SOD čine prvu liniju odbrane (Alscher i sar., 2002). Superoksid dismutaza je glavni „hvatač“ superoksida O_2^- i ova enzimska reakcija rezultuje formiranjem H_2O_2 i O_2 koji se dalje eliminišu posredstvom drugih enzima (katalaze, peroksidaza) (Bowler i sar., 1992; Meloni i sar., 2003).

SOD je metaloprotein i tokom evolucije je nastalo više klasa enzima, što se povezuje sa dostupnošću različitih metala kroz različite geološke ere (Alscher i sar., 2002). Superoksid-dismutaze su veoma važan dio antioksidativnog metabolizma u gotovo svim ćelijama izloženim kiseoniku (Sigaud-Kutner i sar., 2002). Klasifikuju se prema svojim metalnim kofaktorima u tri poznate grupe:

- Bakar – cink superoksid dismutaza (Cu/Zn-SOD)
- Mangan superoksid dismutaza (Mn-SOD)
- Gvožđe superoksid dismutaza (Fe-SOD)

Superoksid dismutaze su lokalizovane u različitim delovima biljne ćelije. Fe-SOD je lokalizovana u hloroplastu, Mn-SOD u mitohondrijama i peroksizomima, a Cu-Zn SOD u hloroplastu, citoplazmi i ekstracelularnom prostoru (Sl. 3). Istraživanja mnogih naučnika su usmerena na povezanost stresa usled povećane zaslanjenosti supstrata i aktivnosti SOD. Prema istraživanjima Keles i Oncel (2000), povećani salinitet (0,7% NaCl) dovodi do povećanja SOD aktivnosti kod biljaka pšenice.

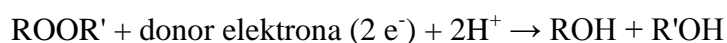


Slika 3. Vrste SOD i njihova subcelularna lokacija (Alscher i sar., 2002)

Povećana aktivnost Mn SOD je detektovana kod biljaka izloženih stresu usled povećane zaslanjenosti supstrata (Hernandez i sar., 1993). U studiji Mittova i sar. (2004) gde su ispitane dve sorte paradajza, dokazano je da SOD, zajedno sa drugim enzimima askorbat-glutation ciklusa ima najvažniju ulogu u detoksifikaciji ROS u uslovima povećanog saliniteta. Autori su pokazali na genotipu tolerantnom na povećanu zaslanjenost supstrata *Lycopersicon pennellii*, da povećana zaslanjenost prati povećanje aktivnosti mitohondrijalne MnSOD i peroksizomalne FeSOD. Takođe, neki hibridi paradajza otporni na povećanu koncentraciju soli u supstratu imaju veoma visoku SOD aktivnost (Alscher i sar., 2002; Chookhampaeng i sar., 2007).

3.3.1.2. Peroksidaze (POD, EC 1.1.1.7)

Peroksidaze su enzimi koji se klasifikuju kao oksidoreduktaze. Katalizuju oksidaciju različitih supstrata kao što su npr. fenoli sa vodonik peroksidom:

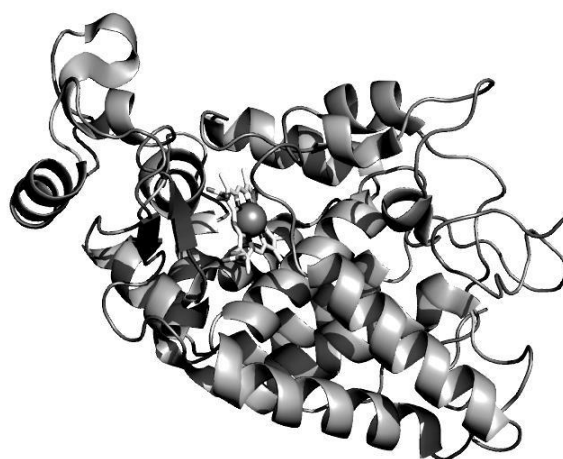


Superfamiliji peroksidaza pripadaju tri klase enzima (Welinder, 1992):

- Klasa I –intracelularne peroksidaze, je grupa koja uključuje peroksidaze kao što su: citohrom C peroksidaze (CcP –E.1.11.1.5) i askorbat peroksidaze (APX –EC 1.11.1.11) (Conesa i sar., 2002; Erman i Vitello, 2002; Caverzan i sar., 2012),
- Klasa II –ekstracelularne peroksidaze, obuhvata lignin peroksidaze (LiP -EC 1.11.1.14), mangan peroksidaze (MnP -EC 1.11.1.13) (Vares i sar., 1995) iz *Phanerochaete chrysosporium* i ostalih gljiva koje razlaganjem obojenog lignina prave belu trulež (Mao i sar., 2010),
- Klasa III –sekretorne biljne peroksidaze (EC 1.11.1.7), je grupa u koju spada i najproučavanija peroksidaza iz rena (HRP–Horseradish Peroxidase), kao i peroksidaze iz soje (SBP), ječma (BP1 –Barley grain peroxidase 1) i kikirikija (PNP – Peanut peroxidase) (Conesa i sar., 2002).

Svaka od pomenutih peroksidaza se može naći u većem broju izoenzimskih formi, koje se razlikuju u zavisnosti od stepena diferencijacije tkiva kao i biljnog organa iz kog potiču (Yazdi i sar., 2002).

Peroksidaze imaju različite funkcije u živim ćelijama i kod biljka su uglavnom lokalizovane u ekstracelularnom prostoru (apoplast i ćelijski zid), ali su prisutne i u vakuolama i citoplazmi. Jedna od uloga im je uključenost u procese strukturnih promena ćelijskog zida kao što su lignifikacija i suberinizacija (Asada, 1992; Passardi i sar., 2005). Sem toga, peroksidaze učestvuju u različitim metaboličkim procesima kao što su metabolizam auksina, oksidacija fenola, povezivanje strukturnih proteina i polisaharida. Peroksidaze učestvuju i u različitim fiziološkim procesima, kao što je ćelijski rast i razvoj, ćelijska diferencijacija, i odgovori na abiotički i biotički stres (Kukavica i sar., 2017). Sve biljne peroksidaze imaju istu strukturu. Peroksidaze se obično sastoje od jednog polipeptidnog lanca sa 300-350 aminokiselinskih ostataka, sa hem-om u obliku protoporfirina IX kao prostetičnom grupom, četiri S-S veze i dva jona kalcijuma (Veitch, 2004) (Sl. 4).

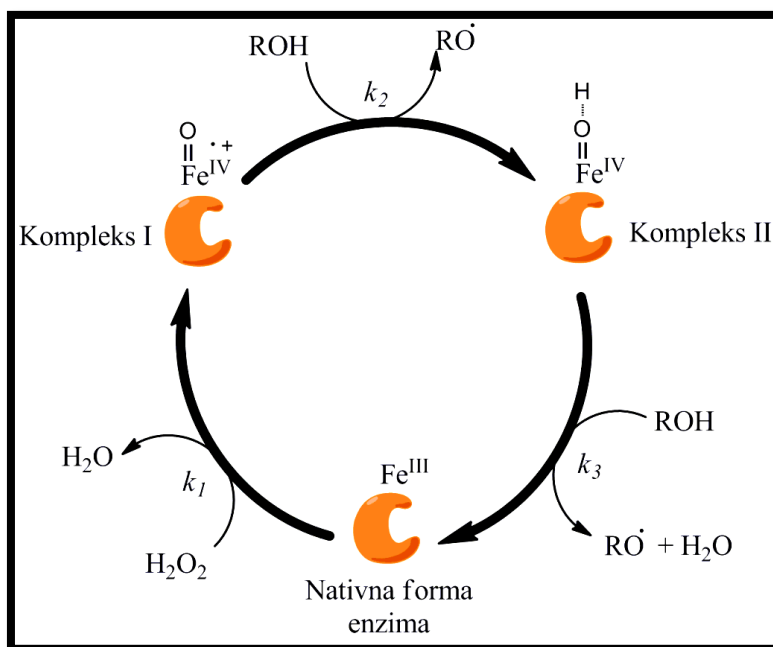


Slika 4. Struktura peroksidaze izolovane iz rena (HRP- *horseradish peroxidase*-peroksidaze iz rena).
(Wikimedia comos: autorA2-33, licencaCC-BY-SA-3.0<http://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/>)

Kao jedan od najvažnijih skupina enzima antioksidativne odbrane protiv raznih abiotičkih i biotičkih agenasa, peroksidaze učestvuju u sintezi fitoaleksina (Passardi i sar., 2007). Klasa III biljnih peroksidaza (EC 1.11.1.1.7. POD) su enzimi uključeni u sekretorne puteve u ćeliji. Peroksidaze ove klase u oksidoredukcijskim reakcijama za supstrate mogu da koriste različita jedinjenja kao što su gvajakol, pirogalol, kafeična, ferulična i hlorogeična kiselina. Osmotski stres se kod mnogih biljnih vrsta dovodi u vezu sa pojačanim generisanjem H_2O_2 što direktno ima za posledicu i povećanje peroksidazne aktivnosti.

Mehanizam reakcije, koji važi za većinu peroksidaza klase III, uključuje dvoelektronsku oksidaciju na hem-u do intermedijera koji je označen kao kompleks I, uz redukciju vodonik peroksida do vode. Naknadna jednoelektronska redukcija vraća enzim u stanje mirovanja

preko drugog intermedijernog stanja (kompleks II) pri čemu dolazi do oksidacije dva molekula supstrata. Ovaj mehanizam omogućava oksidaciju nekoliko različitih neorganskih i organskih supstrata u širokom opsegu pH vrednosti (Ryan i sar., 2006) (Sl. 5)



Slika 5. Mehanizam reakcije koju katalizuje peroksidaza (Ryan i sar., 2006)

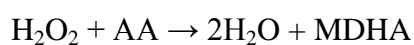
Mnoge vrste i genotipovi biljaka osetljivih na povećanu zaslanjenost supstrata često se odlikuju nepromenjenom ili čak smanjenom POD aktivnošću u stresnim uslovima. U studiji koju su radili Meloni i sar. (2003) ispitivana je peroksidazna aktivnost kod dva hibrida pamuka u uslovima sonog stresa, pri čemu je kod hibrida koji je senzitivn na navedeni stresor uočeno odsustvo promene POD aktivnosti. Ipak, s obzirom na kompleksnost i međusobnu povezanost svih komponenti antioksidativnog sistema zaštite, teško je diskutovati o pojedinačnim enzimskim komponentama bez sveobuhvatne analize.

Najčešće je povećana peroksidazna aktivnost posledica pojačanog stvaranja H_2O_2 usled razgradnje superoksida. Promena aktivnosti peroksidaza indukovana povećanom zaslanjenošću supstrata je potvrđena u literaturi (Xie i sar., 2008; Wang i sar., 2009).

3.3.1.2.1. Askorbat peroksidaza (APX, EC 1.11.1.11)

Ovaj enzim, specifičan za biljke i alge, je neophodan u zaštiti hloroplasta i drugih ćelijskih organela od oštećenja do kojih dovode vodonik peroksid i druge reaktivne vrste kiseonika. Kao važan deo antioksidativnog sistema, APX ima ulogu u održavanju balansa i nesmetanog funkcionisanja biljne ćelije.

Askorbat peroksidaza (APX, EC.1.1.1.11.1) je integralna komponenta askorbat-glutation (ASC-GSH) ciklusa. Ovaj enzim pripada peroksidazama klase I (Asada, 1992) i služi za brzo uklanjanje vodonik peroksida koristeći askorbat kao elektron donor, pri čemu nastaje monodehidro askorbat (MDHA) (Dąbrowska i sar., 2007).



U biljnim ćelijama utvrđeno je nekoliko formi ovog enzima koji se nalaze u različitim ćelijskim kompartmentima: APX u citosoli (cAPX), u stromi (sAPX) i tilakoidnoj membrani (tAPX) hloroplasta, u mikrotelima (glioksizomima i peroksizomima) (mAPX) i mitohondrijama (mitAPX) (Shigeoka i sar., 2002). Ove forme APX u hloroplastima i citosoli pokazuju različite enzimске osobine (Asada, 1992). Potrošnja askorbata kao donora elektrona prouzrokuje naglu inaktivaciju APX u hloroplastima kod viših biljaka, dok je APX u citosoli stabilan u ovim uslovima.

Do povećanja aktivnosti APX može doći u različitim stresnim uslovima, kao što su visoka i niska temperatura (Sato i sar., 2001), povećani salinitet (Xie i sar., 2008; Wang i sar., 2009; Hu i sar., 2012) ili kombinacija različitih stresnih faktora (Koussevitzky i sar., 2008.). Prekomerna ekspresija cAPX kod paradajza povećava otpornost biljke na različite abiotičke stresove kao što su UV zračenje, visoke temperature, hladnoća i povećana zaslanjenost (Gadea i sar., 1999).

Glavnu ulogu u regulisanju aktivnosti APX ima koncentracija vodonik peroksida (Morita i sar., 1999).

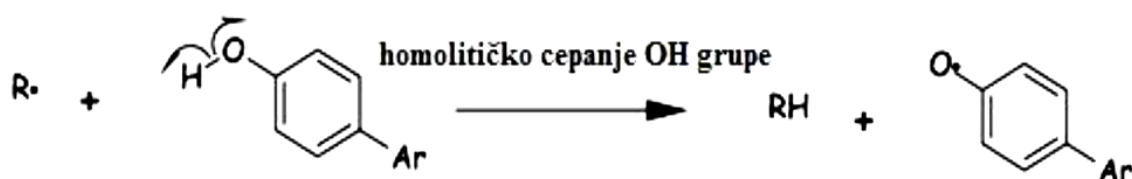
3.3.2. Neenzimski antioksidansi

3.3.2.1. Fenolna jedinjenja

Fenolna jedinjenja predstavljaju veliku grupu jedinjenja koja se karakterišu specifičnom strukturom i načinom sinteze, a među njima se po svom antioksidativnom delovanju posebno izdvajaju flavonoidi. Mnoga fenolna jedinjenja pokazuju antioksidativnu, antimikrobnu, antialergijsku i anti-upalnu aktivnost (Martinez-Valverde i sar., 2002). Sem toga, antioksidativna svojstva polifenolnih jedinjenja u različitim biljnim ekstraktima povezana su sa smanjenjem rizika od kardiovaskularnih obolenja i kancera kod ljudi (Guthrie i sar., 1999; Velioglu i sar., 1998). Biljke koje su sposobne sintetisati više fenolnih jedinjenja i uopšte antioksidanasa, imaju i veći antioksidativni kapacitet, odnosno veću sposobnost da se odupru negativnim efektima oksidativnog stresa (Munde-Wagh i sar., 2012).

Fenolna jedinjenja su veoma rasprostranjeni proizvodi sekundarnog metabolizma biljaka i mnogi od njih imaju esencijalnu ulogu u regulaciji rasta i razvića biljke. Ova grupa jedinjenja obuhvata veliku grupu različitih strukturnih jedinjenja (preko 8000), od najprostijih fenolnih kiselina, do kondenzovanih tanina. U biljnim ćelijama ova jedinjenja se pretežno nalaze u konjugovanom obliku, sa jednim ili više molekula šećera, te pokazuju aktivnost kako u hidrofobnim, tako i u hidrofilnim sistemima (Leucuta i sar., 2005). Antioksidativna aktivnost fenolnih jedinjenja se zasniva na njihovoj direktnoj reakciji sa slobodnim radikalima, a ovaj proces se na molekularnom nivou može odvijati na tri načina (Wright i sar., 2001):

1. Prenos vodonikovog atoma:

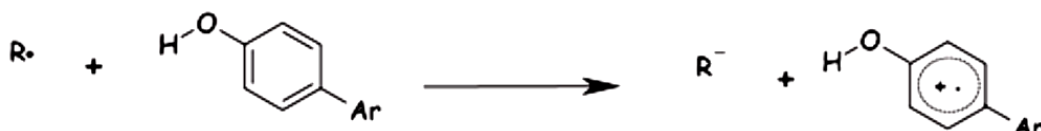


Slika 6 :Mehanizam dejstva fenolnih jedinjenja u reakciji uklanjanju slobodnih radikala (Wright i sar., 2001)

Prvi način uklanjanja slobodnih radikala ($R\cdot$) se zasniva na homolitičkom cepanju O-H grupe i prenosu vodonikovog atoma sa fenolnog jedinjenja ($Ar-OH$) na slobodni radikal. U opisanoj reakciji ponovo nastaje radikal ($ArO\cdot$) koji je manje reaktivan, zbog sposobnosti nastalog fenol radikala da stabilizuje i delokalizuje nespareni elektron (Sl. 6).

2. Prenos elektrona:

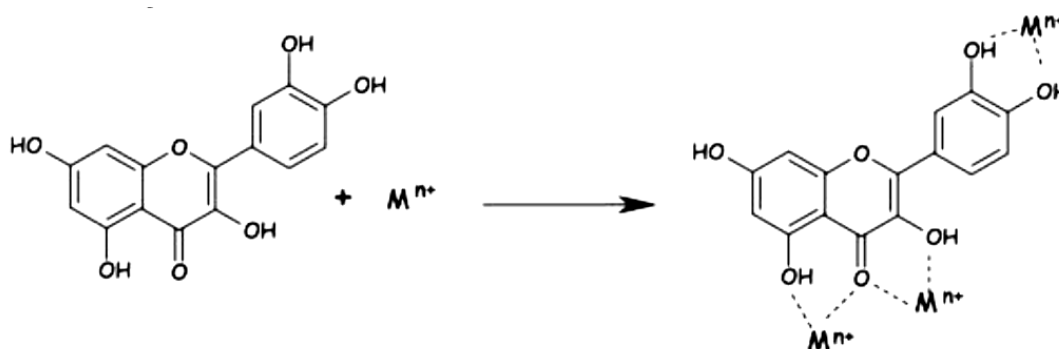
Drugi mehanizam se zasniva na prenosu jednog elektrona sa fenolnog jedinjenja, pri čemu nastaju katjonski radikal (ArOH^+) i anjon (R^-) (Sl. 7). Nastali anjon ima sparn broj elektrona i pri tome je energetski stabilizovan, dok je aromatična struktura sa preostalim elektronom takođe stabilizovana delokalizacijom elektrona i postojanjem više rezonantnih oblika (Wright i sar., 2001).



Slika 7. Mehanizam dejstva fenolnih jedinjenja u reakciji uklanjanja slobodnih radikala. Prenos elektrona sa fenolnog jedinjenja na slobodni radikal (Wright i sar., 2001)

3. Helatizacija metala:

Treći mehanizam se bazira na sposobnosti fenolnih jedinjenja da vezuju za sebe metale, formirajući stabilne komplekse, što sprečava učešće metala u reakcijama u kojima se proizvode slobodni radikali (Sl. 8). Poznato je da neki metali u nižem oksidacionom stanju mogu da učestvuju u Fentonovoj reakciji sa H_2O_2 , pri čemu dolazi do formiranja OH^\bullet radikala koji je veoma reaktivan i jedan od najštetnijih radikala u biljnom tkivu (Nestorović Živković, 2013).

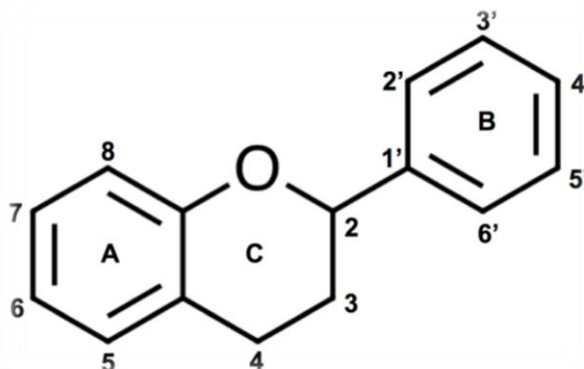


Slika 8. Mehanizam dejstva fenolnih jedinjenja u reakciji uklanjanju slobodnih radikala. Vezivanje metala od strane fenolnog jedinjenja (Wright i sar., 2001)

Povećana sinteza polifenola i njihova akumulacija povezani su sa različitim biotičkim i abiotičkim stresovima (Dixon i Paiva, 1995; Muthukumarasamy i sar., 2000). Antioksidativna aktivnost derivata fenolnih kiselina zavisi od broja hidroksilnih grupa u molekulu. U najvećem broju slučajeva sa povećanjem broja hidroksilnih grupa raste i antioksidativna aktivnost derivata fenolnih kiselina (Kukrić i Samelak., 2017). Ispitivanjem

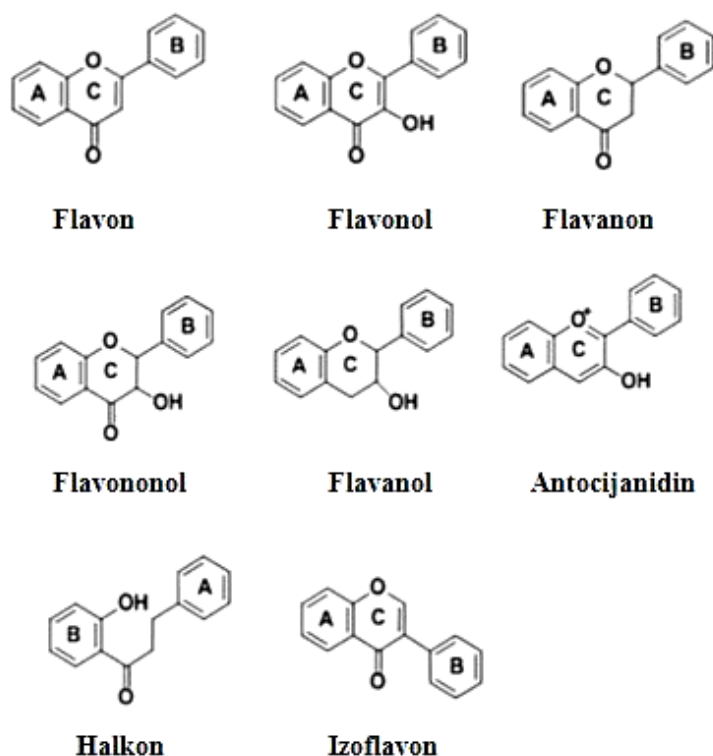
je utvrđeno da je kod različitih biljnih vrsta i u različitim tkivima povećana koncentracija polifenola rezultat povišenog saliniteta (Parida i Das, 2005; Navarro i sar., 2006; Keutgen i Pawelzik, 2008; Ali i Ismail, 2014). To su potvrdila i istraživanja Navarro i sar. (2006) i Keutgen i Pawelzik (2008) koji su dokazali da kod jagode i jabuke povećan sadržaj fenola je rezultat povećane zaslanjenosti zemljišta. Radeći sa listovima artičoke, Razazadeh i sar. (2012) su zaključili da umerena zaslanjenost zemljišta dovodi do aktivacije puteva tolerancije na ovu vrstu abiotičkog stresa povećavajući koncentraciju fenola i flavonoida.

Flavonoidi su ne ketonski polihidroksi polifenolni spojevi. Nalaze se najviše u kori voća i povrća. Poznato je oko 4000 - 5000 raznih vrsta flavonoida (Milić i sar., 2000). Flavonoidi se takođe nazivaju fenilbenzopirinima čija struktura se temelji na flavonoidnom jezgru koje se sastoji od tri fenolna prstena (A, B i C prsten) (Sl. 9). Benzenov prsten A kondenzovan je s tročlanim alifatičnim nizom koji zajedno sa kiseonikom gradi i šestočlani prsten C, a na poziciji 2 prstena C nalazi se benzenov prsten B. Za flavonoide koji imaju vezanu karbonilnu grupu na C-4 atomu prstena C često se koristi izraz 4-okso-flavonoidi.



Slika 9. Osnovni skelet flavonoida (Teixeira i sar., 2013)

Flavonoidi su podeljeni na nekoliko podgrupa: flavoni, flavonoli, flavanoni, izoflavoni, flavanonoli, flavani, flavanoli, halkoni, dihidrohalkoni, flavan-3,4-dioli i antocijani. Ovu raznovrsnost uglavnom kontrolišu geni biljke, ali i zrelost biljke, klima i način uzgajanja. U prirodi se flavonoidi nalaze uglavnom u obliku glikozida, tj. povezani su s različitim molekulima šećera. Ova grupa obuhvata flavanol glikozide, biflavonoide, biflavone, protoantocijanidine i izoflavonoide (Sl. 10).



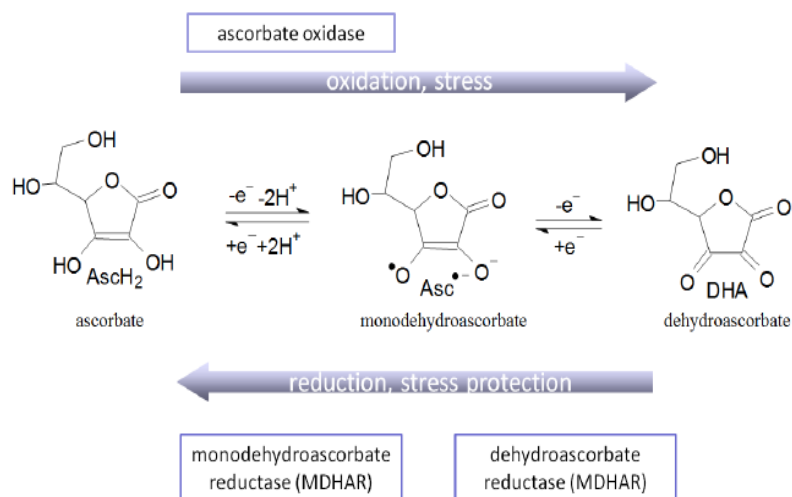
Slika 10. Podela flavonoida (Iwashina, 2000)

Mnoga istraživanja pokazuju da flavonoidi mogu direktno uklanjati ROS, i to superoksidi (O_2^-), peroksid (H_2O_2), hidroksil radikal (OH^\cdot) i singlet kiseonik (1O_2) (Bors i sar., 1990; Yamasaki i sar., 1997). Smatra se da flavonoidi mogu da uklanjaju O_2^- i 1O_2 nastale u hloroplastima, i to na sličan način kao α -tokoferol i karotenoidi. S obzirom da su flavonoidi najvećim dijelom lokalizovani u vakuolama (Charriere-Ladreix i Tissut, 1981), delovanje flavonoida na slobodne radikale u biljnim ćelijama može biti ograničeno na određene ćelijske kompartimente, budući da su i ove vrste ROS u manjoj mogućnosti da difunduju od hloroplasta do vakuola. Za razliku od O_2^- i 1O_2 , peroksid je stabilnija vrsta ROS i može da difunduje kroz membrane. Zbog toga se smatra da flavonoidi, i to najvećim delom flavonoli, najviše mogu da uklanjaju H_2O_2 i to u prisustvu peroksidaza (Miller i Schreier, 1985). Flavonol-peroksidazna reakcija može da se odvija kao „čistač“ H_2O_2 kako *in vitro*, tako i *in vivo* (Takahama, 1989). Ren i saradnici (2013) su iz kukuruzne svile (ženska cvast) izolovali 5 različitih vrsta flavon glikozida koji su veoma snažno uticali na uklanjanje 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikala (DPPH), superoksida i hidroksil radikala.

3.3.2.2. Askorbinska kiselina

Askorbinska kiselina (askorbat, vitamin C) je veoma važan antioksidans kod biljaka koji ima značajnu ulogu u metabolizmu i biljnom odgovoru na abiotički stres i različite patogene. Askorbat može direktno uklanjati reaktivne vrste kiseonika sa ili bez enzimske katalize. Brzo reaguje sa ROS (superoksid anjon radikalom i vodonik peroksidom) i na taj način štiti makromolekule od oksidativnog oštećenja (Kukavica i sar., 2017). Takođe, ima ulogu i kao enzimski kofaktor te učestvuje u različitim fiziološkim procesima. U kombinaciji sa drugim komponentama antioksidativnog sistema štiti biljku od oksidativnog stresa. Glavni prekursori za sintezu askorbinske kiseline su L-galaktoza i L-galaktono-1,4-lakton (Barata-Soares i sar., 2004).

Listovi biljaka sadrže najveću koncentraciju askorbinske kiseline. Sa evolucionog stanovišta, ovo omogućava biljci odbranu od ROS-a direktno prilikom njihovog nastanka u procesu fotosinteze. Visoka koncentracija askorbata se akumulira u hloroplastima, jer oni imaju nedostatak antioksidativnog enzima katalaze (CAT) i glutation peroksidaze (GPX), te vodonik peroksid koji nastaje u fotosistemu I mora biti uklonjen pomoću enzima askorbat-peroksidaze (Yabuta i sar., 2002). Takođe, askorbinska kiselina direktno uklanja superoksidni i hidroksil radikal i singlet kiseonik, te predstavlja kofaktor violaksantin de-epoksidaze, enzima koji učestvuje u rasipanju viška ekscitacijske energije (u ksantofilskom ciklusu) (Smirnoff, 2000). S druge strane, smatra se da askorbinska kiselina prisutna u apoplastu sudeluje u metabolizmu ćelijskog zida, izduživanju ćelije i štiti od oksidativnih oštećenja nastalih delovanjem ozona (Zhang, 2013). Zahvaljujući reaktivnoj endiol skupini askorbinska kiselina ima redukujuću ulogu (Smirnoff, 1996). Ćelijski askorbat redoks sistem je sastavljen od redukovanog askorbata, semiredukovanog (monodehiroaskorbata) i oksidovanog askorbata (dehidroaskorbata) (Sl. 11). Oksidacijom askorbinske kiseline nastaje monodehidroaskorbatni radikal koji prelazi u dehidroaskorbat (DHA). Budući da je DHA vrlo nestabilan pri pH većem od 7, važno je održati rezervu askorbinske kiseline u redukujućem obliku kako bi se sprečio njen gubitak (Smirnoff, 1996). Većina askorbata se sintetise iz glukoze u Smirnoff-Wheeler-om putu u mitohondrijama (Smirnoff, 2000; Barnes i sar., 2002).

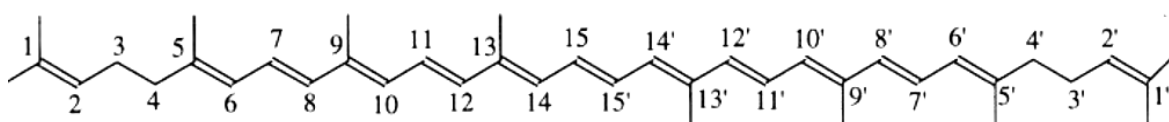


Slika 11. Oksidacija i redukcija askorbata (Sauvage i sar., 2014)

Ljudi ne mogu sintetizirati askorbinsku kiselinu nego je mogu samo absorbovati ishranom koja uključuje sveže voće i povrće, koji predstavljaju njen glavni izvor.

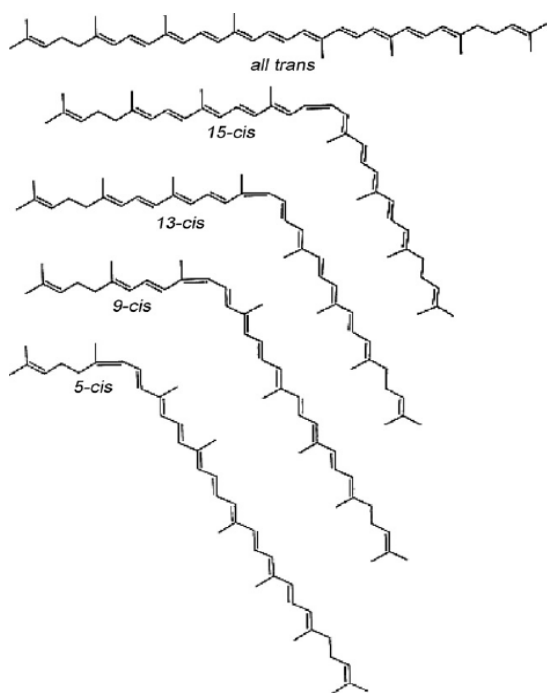
3.3.2.3. Likopen

Likopen ($C_{40}H_{56}$) je prirodni pigment kojeg sintetišu biljke i predstavlja najrasprostranjeniji karotenoid kod paradajza. Udeo likopena u svežem plodu paradajza zavisi od sorte, stepena zrelosti, te ekoloških uslova u kojima plod dozreva i obično se kreće u rasponu od 3 do 15 mg/100 g (Hart i Scott, 1995; Bramley, 2000). Likopen je ugljovodoničar otvorenog lanca koji sadrži 11 konjugovanih i 2 nekonjugovane dvostruke veze smeštene linearno (Rao i Agarwal, 1999) (Sl. 12).



Slika 12. Molekulska struktura likopena (Shi i sar., 2004)

Dvostruke veze podležu izomerizaciji pri čemu nastaje spektar mono ili poli cis-izomera (Sl. 13). Te promene se odvijaju, smatra se, apsorpcijom svetlosti uz izlaganje toplotnoj energiji ili sudelovanjem u specifičnim hemijskim reakcijama (Clinton, 1998).



Slika 13. Izomeri likopena (Rao, 2007)

Kod likopena su dvije centralne metilne grupe u 1,6 položaju dok su preostale metilne grupe u 1,5 položaju. Boja i antioksidativna aktivnost likopena su posledica njegove jedinstvene, konjugovane polienske strukture. U prirodi se likopen najčešće pojavljuje u trans-obliku koji je termodinamički najstabilniji oblik (Clinton, 1998). Sedam od trinaest dvostrukih veza može izomerizirati iz trans-oblika u mono ili poli cis-oblik pod uticajem toplote, svetlosti ili određenih hemijskih reakcija. Likopen je jedan od najmoćnijih antioksidanasa među karotenoidima. Konzumiranje paradajza

i proizvoda od paradajza povezano je sa smanjenjem rizika od hroničnih bolesti, kao što su kancer i kardiovaskularne bolesti (Arab i Steck, 2000; Kim i sar., 2002; Rao, 2006)

Mnoga istraživanja su pokazala da je unos likopena veći iz termički obrađenih proizvoda od paradajza, što se objašnjava povećanom biološkom dostupnošću likopena zbog razgradnje ćelijskih zidova, prisustva masnoće u hrani, kao i izomerizacijom iz *all-trans* u *cis*-konformaciju pod dejstvom toplote (Agarwal i Rao, 2000).

Istraživanja Giuliano i sar. (1993) na paradajzu su pokazala da stres usled povećane zaslanjenosti supstrata dovodi do aktivacije gena odgovornih za sintezu enzima uključenih u biosintezu likopena. Ove rezultate su potvrdila i istraživanja De Pascale i sar. (2001) koji su pokazali da umeren salinitet ($4,4 \text{ dS m}^{-1}$) dovodi do povećanja koncentracije likopena u plodu paradajza.

3.4. Masa ploda u uslovima sonog stresa

Paradajz je biljka koja je umereno osetljiva na povišen salinitet i svako povećanje EC preko 3 dS m^{-1} dovodi do gubitka prosečne mas ploda, a time i prinosa (Cuartero i Fernandez-Munoz, 1999). Obzirom na veliku ekonomsku dobit od proizvodnje paradajza, istraživanja mnogih naučnika usmerena su na prevazilaženje stresnih uslova zaslanjenosti supstrata u kojima dolazi do smanjenja prosečne mase ploda (Shao i sar., 2012; Shao i sar.,

2013; Hou i sar., 2014). Cramer i sar. (2001) su utvrdili da povećan zemljišni salinitet (iznad 4 dS m^{-1}) značajno doprinosi smanjenju mase ploda paradajza i istovremenom povećanju suve materije u njemu. Sem toga, u istraživanjima naučnika Ehret i Ho (1986) i Adams (1986) utvrđeno je da biljke paradajza različito reaguju na povišen salinitet u zavisnosti od intenziteta svetlosti i temperature. Povišen salinitet u supstratu će biljkama gajenim tokom proleća i leta prouzrokovati veće gubitke u prinosu nego biljkama gajenim u toku jesenjeg perioda (Van Ieperen, 1996) obzirom da visoke temperature, jači intenzitet svetlosti i manja relativna vlažnost vazduha tokom letnjeg perioda smanjuju vodni potencijal u biljkama usled većeg intenziteta transpiracije (Johnson i sar., 1992).

Kalemljenje biljaka predstavlja jednu brzu alternativu u prevazilaženju problema gubitka prinosa u uslovima sonog stresa, u poređenju sa znatno sporijom metodom oplemenjivanja (Flores i sar., 2010). Osim pozitivnog efekta kalemljenja na poboljšanje tolerantnosti biljke na povećan zemljišni salinitet, takođe dolazi do povećanja vigora biljke, usvajanja vode i prinosa (Tuzel i Oztekin, 2009). Ovo je dokazano i u najnovijem istraživanju Al-Harbi i sar. (2017) koji dokazuju da kalemljenje paradajza značajno utiče na povećanje prosečne mase ploda paradajza, obzirom da su rezultati istraživanja pokazali da kalemljene biljke imaju znatno veću masu ploda i prinos u poređenju sa nekalemljenim.

3.5. Fotosinteza, transpiracija i protok gasova kroz stome

U uslovima povećane zaslanjenosti supstrata primarni proces u biljci koji je pogođen je fotosinteza (Munns i sar., 2006). Pored fotosinteze, rast i razviće biljaka u uslovima sonog stresa su direktno povezani i sa transpiracijom, stomatalnom regulacijom i usvajanjem jona (Sharma i sar., 2005).

Efekti ove vrste abiotičkog stresa na fotosintezu mogu biti direktni, kao što je manja dostupnost CO_2 usled smanjene difuzije kroz stome ili mezofil (Flexas i sar., 2004, 2007) i promene koje nastaju u fotosintetičkom metabolizmu (Lawlor i Cornic, 2002). Indirektni efekti povezani su sa oksidativnim stresom koji može naneti ozbiljna oštećenja fotosintetskom aparatu u celini (Ort, 2001).

Kod biljaka izloženih sonom stresu, pre svega dolazi do osmotskog prilagođavanja, koje predstavlja važan mehanizam održavanja kontinuiteta usvajanja vode i ćelijskog turgora. Efekti povećanog saliniteta na fotosintezu kreću se od smanjene difuzije CO_2 u hloroplast usled zatvaranja stoma (dejstvo različitih biljnih hormona u korenu i stabljici) i smanjenom

transportu CO₂ kroz mezofil lista usled promena u metabolizmu ugljenika (Chaves i sar., 2009). Intenzitet fotosinteze u uslovima povećane zaslanjenosti supstrata može biti smanjen i usled poremećaja u elektron- transportnom lancu i /ili inhibiciji enzima Kalvinovog ciklusa, kao što su *Rubisco*, fosfoenol piruvat karboksilaza (PECP), ribuloza-5-fosfat kinaza, gliceraldehid-3-fosfat dehidrogenaza ili fruktoza -1,6-bifosfat (Parida i Das, 2005; Chaves i sar., 2009). Smanjen protok gasova kroz stome (gs) može sprečiti odavanje vode putem transpiracije, gde odgovarajuća regulacija fotosintetičkih procesa može smanjiti generisanje ROS u fotosistemu II (¹O₂) i na redukujućoj strani fotosistema I (O₂⁻ i H₂O₂) (Asada, 1999).

Promene koje se javljaju u hloroplastima su važan aspekt uticaja povećane zaslanjenosti supstrata na ćelije lista. Najveća promena javlja se u ultra-strukturi hloroplasta i uključuje promene u sadržaju askroba, poremećaje u tilakoidima grane i strome hloroplasta i povećanom broju plastoglobula (Acosta-Motos i sar., 2017). Takođe, dolazi i do smanjenja sadržaja fotosintetičkih pigmenata. Usled povećanog sadržaja toksičnih katjona (Na⁺) može doći do smanjenog sadržaja hlorofila (Pinheiro i sar., 2008; Li i sar., 2010; Yang i sar., 2011). Smanjen sadržaj hlorofila a i hlorofila b u uslovima sonog stresa zabeležen je kod paradajza (Lapina i Popov, 1970), te u mnogim drugim biljnim vrstama (Winicov i Seemann 1990; Ashraf i Sultana 2000; Arfan i sar., 2007; Perveen i sar., 2010; Akram i Ashraf 2011).

Povećan salinitet uzrokuje smanjenu provodljivost stoma i transpiraciju, te kao rezultat dolazi do smanjenog usvajanja toksičnih jona (Acosta-Motos i sar., 2017). Nedavna istraživanja potvrđuju da zatvaranje stoma u uslovima povećanog saliniteta u supstratu doprinosi smanjenom protoku toksičnih jona zajedno sa transpiracionim tokom (Kerstiens i sar., 2002, Veselov i sar., 2008, Vysotskaya i sar., 2010).

4. RADNA HIPOTEZA

U ovom istraživanju polazi se od sledećih hipoteza:

- Utvrdiće se morfološke razlike između hibrida paradajza u uslovima stresa izazvanog zaslanjenošću supstrata (interhibridna razlika);
- Na osnovu morfoloških pokazatelja utvrdiće se odgovor hibrida na različite nivoe zaslanjenosti supstrata i razlika između biljaka gajenih iz kalemljenog i nekalemljenog rasada;
- Na osnovu enzimskog antioksidativnog odgovora, te koncentracija ukupnog i redukovanog askorbata (AA i DHA) utvrdiće se intenzitet oksidativnog stresa u listovima dva različita hibrida paradajza gajenih iz kalemljenog i nekalemljenog rasada tokom kasne faze rasta na tri različita nivoa saliniteta;
- Na osnovu analiza kvalitativnog sastava ploda (fenola, flavonoida, ukupnog antioksidativnog kapaciteta, askorbinske kiseline, likopena) ustanoviće se u kojoj je meri ovakav abiotički stres prouzrokovao promene u ovim osobinama u zavisnosti od koncentracije soli i od toga da li su biljke kalemljene ili ne;
- Analize lista (intenzitet fotosinteze, protok gasova kroz stome, intenzitet transpiracije) daće nam uvid u fiziološke reakcije ispitivanih hibrida gajenih iz kalemljenog i nekalemljenog rasada na povećanu zaslanjenost zemljišta;
- Podaci o prosečnoj masi plodova kod nekalemljenih i kalemljenih hibrida će omogućiti da se ustanovi da li kalemljenje, kao agrotehnička mera, može da smanji/spreči promene prinosa koje izaziva povećana zaslanjenost supstrata.

5. MATERIJAL I METODE

5.1. Ispitivani hibridi paradajza i tretmani

Za prvu godinu eksperimenta (preliminarna istraživanja) su korištena tri hibrida paradajza indeterminatnog tipa rasta stabla, Bella F1 (Enza Zaden, Holandija), Buran F1 (Enza Zaden, Holandija) i Berberana F1 (Enza Zaden, Holandija), proizvedena iz kalemljenog i nekalemljenog rasada u "Adria Histhil d.o.o company". Za kalemljenje biljaka korištena je podloga Maxifort (De Ruiters Seeds, Bergschenhoek, Holandija). Eksperiment je postavljen u plasteniku Poljoprivrednog instituta u Banjoj Luci (Sl. 14). Morfološke analize biljnog materijala (visina biljke, broj listova i debljina stabla) rađene su u plasteniku .



Slika 14. Prva godina istraživanja- ogled postavljen u plasteniku Poljoprivrednog instituta u Banjoj Luci
(original)

Eksperiment u drugoj godini istraživanja postavljen je u kontrolisanim uslovima u stakleniku Poljoprivrednog fakulteta u Banjoj Luci: prosečna temperatura 28,5 °C, relativna vlažnost vazduha 65% i fotoperiod 12/12 h (Sl. 15). Analize biljnog materijala i plodova rađene su na Prirodno-matematičkom fakultetu u Banjoj Luci i Poljoprivredno-prehrambenom fakultetu u Sarajevu.



Slika 15. Druga godina istraživanja- ogled postavljen u kontrolisanim uslovima u stakleniku Poljoprivrednog fakulteta u Banjoj Luci (original)

5.2. Postavka ogleda

➤ Prva godina istraživanja:

U prvoj godini istraživanja sadnice tri hibrida paradajza indeterminantnog tipa rasta stabla gajenih iz nekalemljenog i kalemljenog rasada (Bella F1, Buran F1 i Berberana F1) su podeljene u osam blokova sa po 10 ponavljanja svake ispitivane varijante u bloku (Randomised block system), i zasađene u plastične posude promjera 26 cm te napunjene sa 12,5 l zemljišnog supstrata (Klasmann- Deilman TS 3, GmbH, Geeste, Germany). Tretmani zaslanjenosti zemljišta predstavljeni su u tabeli 1.

Tabela 1. Ispitivani tretmani saliniteta u prvoj godini istraživanja

	Tretman koncentracija NaCl (mM)	Elektroprovodljivost (dS m ⁻¹)
K- kontrola	0	1,7
S 1	50	1,9
S 2	500	3,8
S 3	1500	9,1

Morfološke analize biljaka (visina stabla, broj listova i debljina stabla) ispitivane su u plasteniku, tri nedelje nakon presađivanja biljaka (šifra: 19 109*)

Na osnovu analiza visine biljke, broja listova i debljine stabla za drugu godinu istraživanja izabrana su dva hibrida paradajza, Buran F1 i Berberana F1, i odgovarajući nivoi saliniteta.

* BBCH (Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt und Chemische Industrie) skala-identifikacija fenološke faze razvijanja biljke.

➤ Druga godina istaživanja:

Sadnice nekalemljenog i kalemljenog rasada hibrida Buran F1 i Berberana F1 su podeljene u četiri bloka, sa po tri ponavljanja svake varijante u bloku, i zasađene u plastične posude promjera 26 cm te napunjene sa 12,5 l zemljišnog supstrata (Klasmann- Deilman TS 3 GmbH, Geeste, Germany). Na osnovu preliminarnog ogleda u prvoj godini istraživanja, za drugu godinu istraživanja izabrani su tretmani zaslanjenosti predstavljeni u tabeli 2.

Tabela 2. Ispitivani tretmani saliniteta u drugoj godini istraživanja

	Tretman koncentracija NaCl (mM)	Elektroprovodljivost (dS m ⁻¹)
K- kontrola	0	1,7
S1	500	3,8
S2	1000	6,9
S3	1500	9,1

5.3. Uzorkovanje

5.3.1. Uzorkovanje listova

Uzorkovanje listova je obavljeno nakon dvanaest nedelja, u fenofazi plodonošenja (šifra: 71 701*). Prvo su izmereni intenzitet fotosinteze, transpiracije i protoka gasova kroz stome (LCi-sd terenskim aparatom) na složenim listovima između 3. i 4. cvetne grane. Analize su rađene u 12 ponavljanja. Zatim su ti listovi uzorkovani (lisne ploče bez drške).

Za ispitivanje enzimskih antioksidanasa listovi su usitnjeni do praha u tečnom azotu nakon čega su isti dan prosleđeni u laboratoriju za daljnu analizu. Ispitivanje aktivnosti enzima rađeno je u seriji od po tri ponavljanja. Za ispitivanje fenola, flavonoida i ukupnog antioksidativnog kapaciteta listovi su osušeni na 40 °C, te su rađene analize u tri ponavljanja.

5.3.2. Uzorkovanje plodova

Plodovi za analizu su uzeti sa prve plodonosne grane, dvanaest nedelja nakon presađivanja biljaka (šifra: 72 702*). Biohemijske analize plodova (sadržaj ukupnih fenola, flavonoida, ukupnog antioksidativnog kapaciteta, askorbinske kiseline i likopena) rađene su u tri ponavljanja, a morfološke (masa ploda) u 12 ponavljanja.

Za analizu askorbinske kiseline i likopena, plodovi su ispitivani odmah nakon branja.

Za analizu ukupnih fenola, flavonoida i antioksidativnog kapaciteta, te sadržaja mikro i makro elemenata plodovi su osušeni na 40 °C.

5.4. Ekstrakcija i određivanje ukupnih proteina

Biljno tkivo (0,5 g) je homogenizovano uz pomoć tučka u avanu sa 4 mL (w/v) ekstrakcionog pufera (0,1 M Na-Pi pH 6,4 koji je sadržavao 1 mM fenilmetilsulfonyl fluorid i 0,2% TWEEN). Homogenat je centrifugiran 10 min na 10000 rpm pri temperaturi 4 °C a dobijeni supernatant je odvojen za dalju analizu ukupnih peroksidaza (POD) i superoksid dismutaza (SOD). Ukupni proteini su određeni metodom Lowry i sar. (1951), a na osnovu dobijenih apsorbanci preračunata je koncentracija proteina (*mg/mL*) iz jednačine kalibracione krive za BSA ($y = 0,617 X + 0,046$; $R^2 = 0,9922$).

5.5. Spektrofotometrijsko određivanje aktivnosti peroksidaza (POD)

Aktivnost peroksidaza određena je modifikovanom metodom po Teisseire i Guy (2000). Peroksidaze katalizuju oksidaciju pirogalola do purpurogalina u prisustvu vodonik peroksida, pri čemu se prati povećanje absorbance na 430 nm ($\epsilon_{430} = 2,47 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Reakciona smjesa je sadržavala 50 μL uzorka, 10 mM pirogalol i 3 mM peroksid u 0,1 M Na-Pi pH 6,4. Specifična aktivnost peroksidaza je izražena kao $\mu\text{mol/mg proteina} \times \text{min}^{-1}$.

5.6. Određivanje aktivnosti SOD i POD nativnom elektroforezom

Nativna elektroforeza je urađena korištenjem 10% poliakrilamidnog gela u puferu koji je sadržavao 0,025 M Tris i 0,192 M glicin (pH 8,3) pri jačini električne struje od 24 mA. Uzorci su pripremljeni miješanjem 100 μL solubilne proteinske frakcije sa 50 μL pufera (50 mM Tris pH 6,8, 10% glicerol i 0,1% bromfenol plavo) te je na gel nanošeno po 15 μg proteina. Za određivanje peroksidazne aktivnosti gelovi su inkubirani 10 min u rastvoru koji

je sadržavao 0,01% 4-chloro-a-naphtol i 0,03% vodonik peroksid u 0,1 M Na-Pi pH 6,4 pri čemu su peroksidazne izoforme detektovane kao ljubičaste trake. Za određivanje SOD aktivnosti gelovi su inkubirani 30 min u mraku u rastvoru koji je 0,02% nitroblue tetrasolium, 0,004% riboflavin, 0,004% TEMED i 2 mM EDTA u 0,1 M Tris puferu pH 7,8. Nakon inkubacije gelovi su osvijetljeni pod UV svjetlom, a SOD izoforme su detektovane kao bijele trake na ljubičastom gelu. Svi gelovi su skenirani, a zatim su određivane Rf vrijednosti izoformi i enzimatske aktivnosti metodom denzitometrije koristeći ImageMaster TotalLab TL 120 software (Nonlinear Dynamics Ltd., Durham, USA).

5.7. Određivanje aktivnosti APX

Biljno tkivo je homogenizovano u 5 mL 90 mM Na-Pi pH 7,8 (w/v) koji se sadržavao 8% glicerol, 1 mM EDTA i 5 mM askorbat a potom je homogenat centrifugiran 10 min na 10000 rpm, pri čemu je odvojen supernatant za dalje analize. Za merenje APX aktivnosti praćeno je smanjenje apsorbance na 290 nm ($\epsilon = 2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) u reakcionoj smjesi koja je sadržavala 0,5 mM askorbat, 0,1 mM peroksid i 50 μL uzorka u 50 mM Na-Pi pH 7. Aktivnost APX je određena modifikovanom metodom Nakano i Asada (1987). Specifična aktivnost askorbat peroksidaze je izražena kao $\mu\text{mol/mg proteina} \times \text{min}^{-1}$.

5.8. Određivanje ukupnog (AA) i oksidovanog askorbata (DHA)

Biljno tkivo (0,5 g) je homogenizovano u 2 mL 5 % perhlorne kiseline (w/v) a homogenat je centrifugiran 15 min na 13000 rpm pri temperaturi 8 °C nakon čega je odvojen supernatant za dalje analize. Ukupni askorbat i dehidroaskorbat određeni su modifikovanom metodom Kukavica i Veljović-Jovanović (2004). U reakcionoj smjesi koja je sadržavala 300 mM Na-Pi, pH 7,6 uz dodatak 1 U askorbat oksidaze i 100 μL uzorka praćeno je smanjenje apsorbance na 262 nm ($\epsilon = 14,3 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) pri čemu je AA izražen kao $\mu\text{mol/gFW}$ biljnog tkiva. Dehidroaskorbat (oksidovani oblik) je određivan u reakcionoj smjesi koja je sadržavala 0,007 mM DTT u 150 mM Na-Pi pH 7,6 uz dodatak 100 μL uzorka pri čemu je praćen porast apsorbance na 262 nm a DHA je izražen kao $\mu\text{mol/gFW}$.

5.9. Određivanje koncentracije ukupnih fenola

Koncentracija ukupnih fenola u ekstraktima listova i plodova paradajza određena je prema modifikovanoj metodi Folin-Ciocalteu (Ough i Amarine, 1988) uz korištenje Folin-

Ciocalteu reagensa. U reakciji za analizu ukupnih fenola korišteno je 20 μl odgovarajućeg ekstrakta paradajza koncentracije 1 mg/mL, 1580 μl destilovane vode, 100 μl Folin-Ciocalteu reagensa, te 300 μl 7,5% vodenog rastvora Na_2CO_3 (w/v). Ovako pripremljen uzorak za analizu se nakon mućkanja inkubirao u mraku 30 min. na sobnoj temperaturi. Nakon inkubacije izvršeno je spektrofotometrijsko očitavanje absorbance razvijenog plavog obojenja na 765 nm, u odnosu na slepu probu na spektrofotometru SHIMADZU UV-1800. Slepa proba je pripremljena na isti način kao i eksperimentalna proba, samo što se umjesto 20 μl ekstrakta koristila ista količina destilovane vode.

Ukupni fenoli su kvantifikovani na osnovu jednačine pravca kalibracione krive za galnu kiselinu ($y = 0,003 X - 0,0226$; $R^2 = 0,9975$) i izražavani kao ekvivalent galne kiseline (GAE) po gramu suve materije. Sve dobijene vrijednosti su izražene u mg fenola po gramu suve mase (mg/g DW).

5.10. Određivanje koncentracije ukupnih flavonoida

Koncentracija ukupnih flavonoida u ekstraktima listova i plodova paradajza je određena prema modifikovanoj metodi Ordonez i sar. (2006) uz spektrofotometrijsko očitavanje absorbance na 415 nm. U reakciji za analizu sadržaja ukupnih flavonoida korišteno je 20 μl ekstrakta koncentracije 1 mg/mL, 105 μl destilovane vode, 25 μl 10% vodenog rastvora AlCl_3 (w/v), 25 μl 1 M natrijum-acetata, 700 μl destilovane vode, 375 μl 96% etanola. Ovako pripremljen uzorak za analizu se inkubirao 60 min na sobnoj temperaturi. Nakon inkubacije izvršeno je spektrofotometrijsko očitavanje absorbance na 420 nm, u odnosu na slepu probu.

Ukupni flavonoidi su kvantifikovani na osnovu jednačine pravca kalibracione krive za kvercetin hidrat ($y = 0,0368 X - 0,135$; $R^2 = 0,996$) i izražavani kao ekvivalent kvercetina po gramu suve materije.

5.11. Određivanje ukupnog antioksidativnog kapaciteta

Antioksidativni kapacitet u ispitivanim uzorcima određen je FRAP (Ferric Reducing/Antioxidant power) metodom (Benzie i Strain, 1996), koja se bazira na sposobnosti ekstrakta da redukuje Fe^{3+} jone u Fe^{2+} jone u rastvoru 2, 4, 6- tripiridil-s-triazin (TPTZ) pri niskoj pH vrednosti, što se manifestuje promenom boje rastvora iz mrko-žute u ljubičastu. Intenzitet obojenja je proporcionalan sposobnosti ekstrakta da redukuje Fe^{3+} u Fe^{2+} jone, a

meren je na talasnoj dužini od 595 nm. U svrhu određivanja antioksidativnog kapaciteta u uzorcima prethodno je napravljena serija standarda sa poznatom koncentracijom antioksidansa (kao antioksidant je korišten $\text{FeSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$), koja je poslužila za izradu kalibracione krive i jednačine na osnovu koje je određivan antioksidativni kapacitet u ispitivanim uzorcima.

5.12. Određivanje koncentracije askorbinske kiseline

Koncentracija askorbinske kiseline određena je metodom titracije prema standardnoj analitičkoj proceduri (AOAC, 1990). Kaša ploda (25 g) homogenizovana je pomoću tučka u avanu sa 20 ml 1% hlorovodonične kiseline. Nakon filtracije, ekstrakt je razblažen u 100 ml oksalne kiseline. Nakon toga, 10 ml uzorka je titrirano sa 2,6-dihlorofenol-indopfenolom (Tillmanov reagens). Krajnja tačka titracije je pojava roze boje koja je postojana najmanje 15 sekundi. Komercijalna L-askorbinska kiselina je korištena kao standard, a rezultati su izraženi kao $\mu\text{g g}^{-1} \text{FW}$.

5.13. Određivanje koncentracije likopena

Koncentracija likopena u plodovima određena je spektrofotometrijskom metodom prema Ravelo- Perez i sar. (2007). Kaša ploda (0,5 g) je homogenizovana u staklenoj epruveti sa 5 ml 0,05% (w/v) BHT u acetonu, nakon čega je dodano 5 ml etanola i 10 ml heksana. Uzorak je potom stavljen na led i na magnetnoj mešalici ostavljen da se homogenizuje 15 min. Nakon mešanja, 3 ml dejonizovane vode stavljeno je u epruvetu i ponovo vraćeno na magnetnu mešalicu još 5 min. Za odvajanje dve faze, uzorci su ostavljeni 5 minuta na sobnoj temperaturi. Absorbanca gornjeg (heksanskog) sloja je merena na talasnoj dužini od 503 nm, gde je kao slepa proba korišten heksan. Rezultati su izraženi kao $\mu\text{g g}^{-1} \text{FW}$.

5.14. Određivanje intenziteta fotosinteze, protoka gasova kroz stome i intenziteta transpiracije

Intenzitet fotosinteze (A) ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), protok gasova kroz stome (gs) ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) i intenzitet transpiracije (E) ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) mereni su pomoću aparata Lci-SD (ADC BioScientific Ltd, London).

5.15. Određivanje prosečne mase ploda

Za određivanje prosečne mase ploda, masa plodova je merena pomoću tehničke vage KERN 440, i rezultati su predstavljeni ka prosečna masa ploda po biljci (g).

5.16. Debljina i visina stabla

Debljina stabla biljke u prvoj godini istraživanja određena je digitalnim šublerom IP54, i rezultati su predstavljeni u mm, a visina stabla biljke određena je uz pomoć metra, i rezultati su predstavljeni u cm.

5.17. Statistička obrada podataka

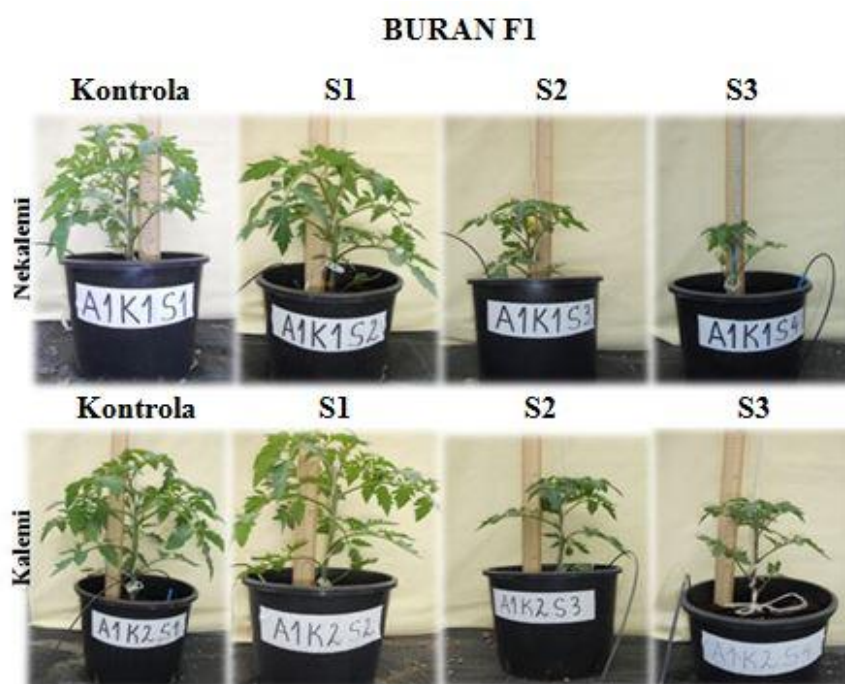
Podaci su statistički obrađeni pomoću programa SPSS Statistics 23 (2013). Urađena je analiza varijanse (ANOVA), a značajnost razlike među tretmanima testirana je korištenjem najmanje značajne razlike (LSD). Razlika je smatrana statistički značajnom kada je $P < 0,05$.

6. REZULTATI I DISKUSIJA

6.1 Prva godina istraživanja (preliminarni ogled)

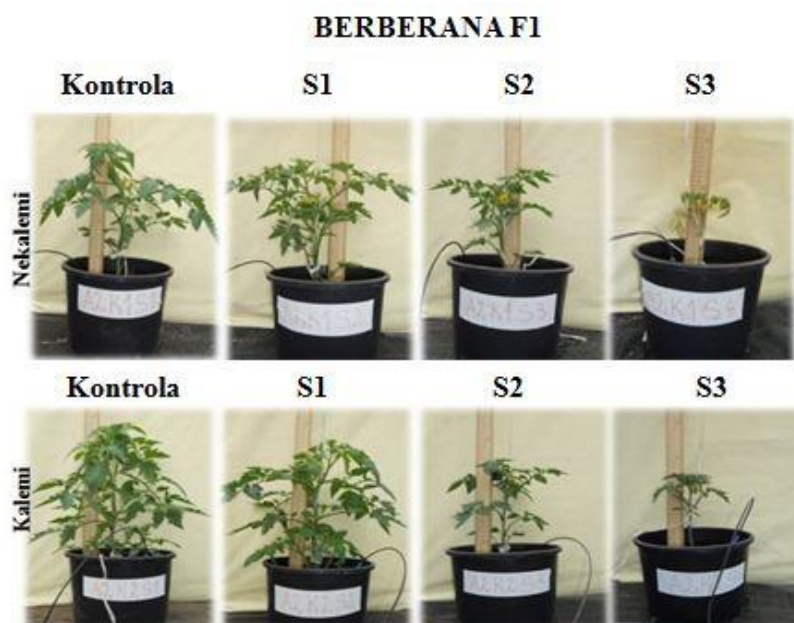
Stres usled povećane zaslanjenosti supstrata znatno utiče na morfološke osobine paradajza (Cuartero i Fernandez-Munoz, 1999; Romero-Aranda i Cuartero, 2001; Maggio i sar., 2007). U rezultatima morfoloških analiza (visina biljke, broj listova i debljina stabla) utvrđeno je da samo treći nivo zaslanjenosti (S3) dovodi do statistički značajnih razlika između nekalemljenih i kalemljenih biljaka kod sva tri ispitivana hibrida (Buran F1, Berberana F1 i Bella F1).

Kod nekalemljenog hibrida Buran F1 S3 dovodi do smanjenja visine biljke za 39% u poređenju sa kontrolom (Sl. 16), broj listova se smanjuje za 40%, a debljina stabla za 46%. I kod kalemljenih biljaka istog hibrida su dobijeni slični rezultati, gde je na S3 u pređenju sa kontrolnim biljkama za 34% manja visina biljke (Sl. 16), za 29% je manji broj listova, a za 30% debljina stabla (Tab. 3).



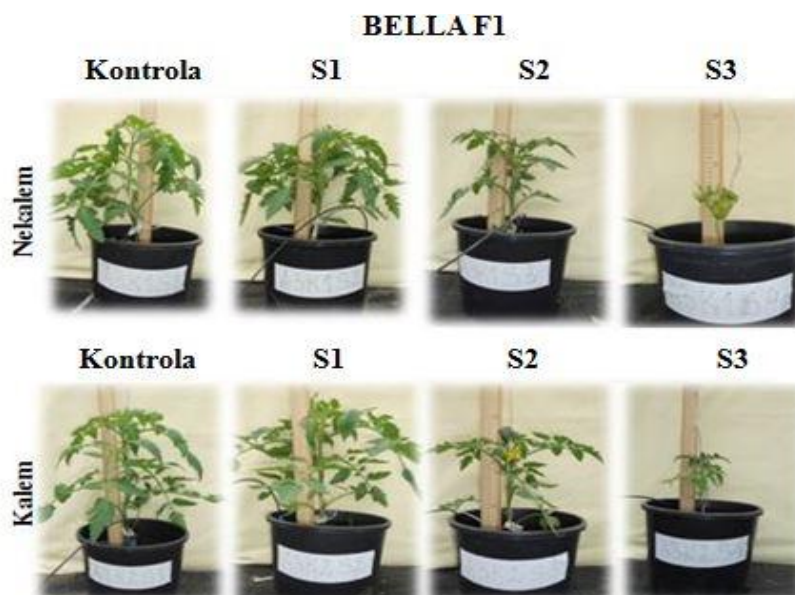
Slika 16. Hibrid Buran F1 gajen iz nekalemljenog i kalemljenog rasada na tri različita nivoa zaslanjenosti zemljišta (original)

Kod drugog ispitivanog nekalemljenog hibrida, Berberana F1, S3 je smanjio visinu biljke za 35% (Sl. 17), broj listova za 53% i debljinu stabla za 47% u poređenju sa kontrolom. Kod kalemljenih biljaka na S3 došlo je do smanjenja od 28% u visini biljke (Sl. 17), 39% u broju listova, te 42% u debljini stabla u poređenju sa kontrolom (Tab. 3).



Slika 17. Hibrid Berberana F1 gajen iz nekalemljenog i kalemljenog rasada na tri različita nivoa zaslanjenosti zemljišta (original)

Nekalemljeni hibrid Bella F1 je pokazao najlošije rezultate, jer je S3 doveo do smanjenja rasta biljke za 49% (Sl. 18), broja listova za 58%, te debljine stabla za 60%. Kalemljene biljke istog hibrida na S3 pokazale su statistički visoko značajno manju visinu biljke (43%)(Sl. 18), broj listova (54%) i debljinu stabla (53%) u poređenju sa kontrolom (Tab. 3).



Slika 18. Hibrid Bella F1 gajen iz nekalemljenog i kalemljenog rasada na tri različita nivoa zaslanjenosti zemljišta (original)

Morfo-fiziološke osobine paradajza u uslovima povećanog saliniteta

Tabela 3. Prosečna vrednost visine stabla, broja listova i debljine stabla (\pm SD) nekalemljenih (NK) i kalemljenih (K) hibrida Buran F, Berberana F1 i Bella F1 izloženih različitim nivoima zaslanjenosti supstrata

* označava statistički značajnu razliku između biljaka na svakom nivou saliniteta u poređenju sa kontrolnim biljkama ($EC\ 1.7\ dS\ m^{-1}$) prema LSD testu ($p < 0.05$)

Hibrid	Salinitet	Visina (cm)	Broj listova	Debljina stabla (mm)
Buran F1 NK	Kontrola	45,26 \pm 3,27	12,10 \pm 1,3	13,14 \pm 1,2
Buran F1 NK	S1	45,89 \pm 4,23	12,40 \pm 1,2	13,20 \pm 1,2
Buran F1 NK	S2	44,81 \pm 3,1	12,90 \pm 1,1	12,75 \pm 1,1
Buran F1 NK	S3	27,30 \pm 1,7*	7,20 \pm ,05*	7,18 \pm 0,4*
Buran F1 K	Kontrola	43,23 \pm 3,95	11,60 \pm 1,5	14,10 \pm 1,22
Buran F1 K	S1	44,30 \pm 3,22	12,40 \pm 1,1	13,80 \pm 1,12
Buran F1 K	S2	45,20 \pm 3,15	11,40 \pm 1,08	14,50 \pm 1,16
Buran F1 K	S3	28,50 \pm 2,51*	8,20 \pm 0,5*	9,79 \pm 0,09*
Berberana F1 NK	Kontrola	43,30 \pm 3,1	13,20 \pm 1,25	14,20 \pm 1,28
Berberana F1 NK	S1	45,20 \pm 4,07	12,40 \pm 1,5	13,10 \pm 1,24
Berberana F1 NK	S2	45,90 \pm 3,37	13,80 \pm 1,96	13,20 \pm 0,99
Berberana F1 NK	S3	28,20 \pm 1,26*	6,20 \pm 0,45*	7,50 \pm 0,05*
Berberana F1 K	Kontrola	41,05 \pm 4,02	13,8 \pm 1,09	15,30 \pm 1,2
Berberana F1 K	S1	42,5 \pm 3,7	13,08 \pm 1,02	15,10 \pm 1,34
Berberana F1 K	S2	43,2 \pm 3,89	13,50 \pm 0,94	15,37 \pm 1,5
Berberana F1 K	S3	29,6 \pm 1,9*	8,40 \pm 0,31*	8,89 \pm 0,8*
Bella F1 NK	Kontrola	39,10 \pm 2,7	12,13 \pm 0,05	12,80 \pm 0,18
Bella F1 NK	S1	40,20 \pm 3,5	12,00 \pm 0,05	13,50 \pm 0,34
Bella F1 NK	S2	40,60 \pm 3,8	12,40 \pm 1,15	13,40 \pm 0,97
Bella F1 NK	S3	20,10 \pm 1,4*	5,10 \pm 0,39*	5,10 \pm 0,35*
Bella F1 K	Kontrola	37,50 \pm 3,8	11,20 \pm 0,9	13,10 \pm 1,2
Bella F1 K	S1	37,41 \pm 3,26	10,80 \pm 0,84	13,96 \pm 1,24
Bella F1 K	S2	36,07 \pm 2,48	10,90 \pm 0,92	12,97 \pm 0,86
Bella F1 K	S3	21,40 \pm 0,93*	5,10 \pm 0,21*	6,19 \pm 0,06*

Povećana zaslanjenost supstrata je u direktnoj korelaciji sa smanjenim usvajanjem vode što dovodi do niza poremećaja u biljnom metabolizmu i morfologiji. Usled smanjenog usvajanja vode dolazi do gubitka turgora u listovima, njihovog slabijeg rasta i samim time smanjenja fotosintetičke površine (Erdei i Taleisnik, 1993; Huang i Redmann, 1995). Sem toga, toksično nakupljanje jona Na^+ i Cl^- dovodi do smanjenja sadržaja hlorofila i zatvaranja stoma, te ograničenja u proizvodnji fotoasimilata (Romero-Aranda i Syvertsen, 1996). Istraživanja Romero-Aranda i Cuartero (2001) na dva kultivara paradajza izloženim zaslanjenosti od 35 mM NaCl i 70 mM NaCl pokazuju da povećana zaslanjenost znatno utiče na visinu stabljike biljke i broj listova. U njihovim istraživanjima biljke izložene zaslanjenosti od 35 mM NaCl imale su u proseku za 20% manju visinu u poređenju sa kontrolom, dok je zaslanjenost od 75 mM NaCl dovela smanjenja visine biljke za preko 30%. Takođe broj listova bio je manji u proseku za 15 % kod oba nivoa saliniteta u poređenju sa kontrolom. U eksperimentu Rivero i sar. (2013) biljke paradajza izložene sonom stresu (120 mM NaCl) imale su manju visinu za 35% u poređenju sa kontrolom, što je u korelaciji sa rezultatima ove disertacije. Autori su smanjeni rast biljaka izloženih ovom abiotičkom stresu povezali sa promenama fotosintetičkih parametara (smanjenom stopom transpiracije i manjom efikasnosti PS II). Slične rezultate dobili su i Babu i sar. (2012), koji su u eksperimentu sa paradajzom izloženom različitim nivoima zaslanjenosti supstrata (25, 50, 100, 150 i 200 mM NaCl) dokazali da povećanjem zaslanjenosti supstrata dolazi do smanjenja vrednosti morfoloških (visine biljke) i fizioloških parametara usled neravnoteže u usvajanju jona i osmotskog stresa koji imaju ključnu ulogu u poremećaju ćelijske funkcije u biljci (Foolad, 2004).

Obzirom na rezultate morfoloških analiza u ovoj disertaciji, za drugu godinu istraživanja izabrani su nekalemljena i kalemljena varijanta hibrida Buran F1 i Berberana F1.

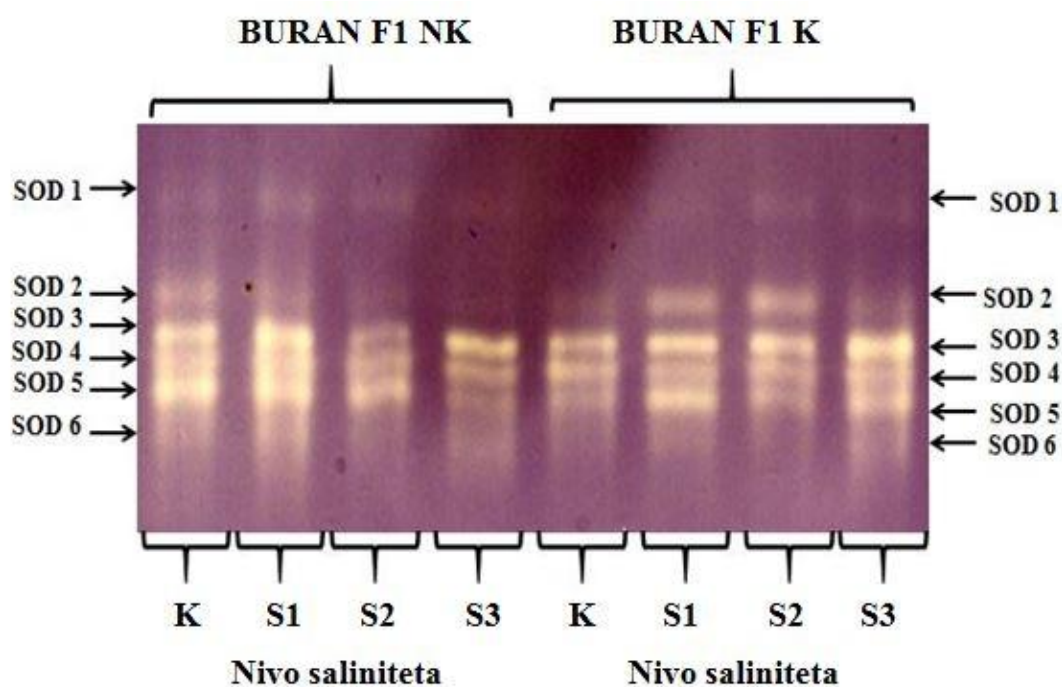
6.2. Druga godina istraživanja

6.2.1 Enzimski antioksidansi

6.2.1.1. SOD aktivnost

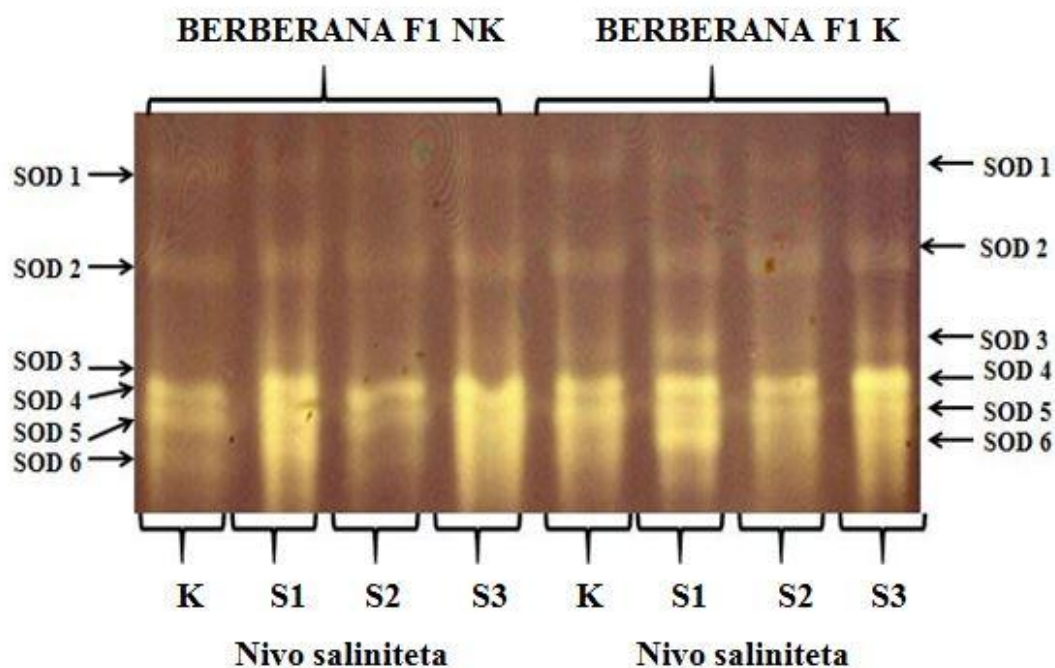
SOD predstavlja prvu liniju odbrane u uslovima oksidativnog stresa u biljkama (Salin, 1987). Uloga ovog enzima u antioksidativnom metabolizmu biljaka paradajza izloženih stresu usled povećane zaslanjenosti supstrata predmet je istraživanja mnogih naučnika (Mittova i sar., 2002; Chookhampaeng i sar., 2007; Tari i sar., 2015).

Zaslanjenost zemljišta je značajno uticala na aktivnost SOD kod oba ispitivana hibrida. Kod svih biljaka hibrida Buran F1 detektovano je 6 izoformi SOD (Rf SOD1= 0,37; Rf SOD 2 = 0,46; Rf SOD 3 = 0,51; Rf SOD 4 = 0,55; Rf SOD5= 0,59; Rf SOD 6 = 0,63) (Sl. 19).



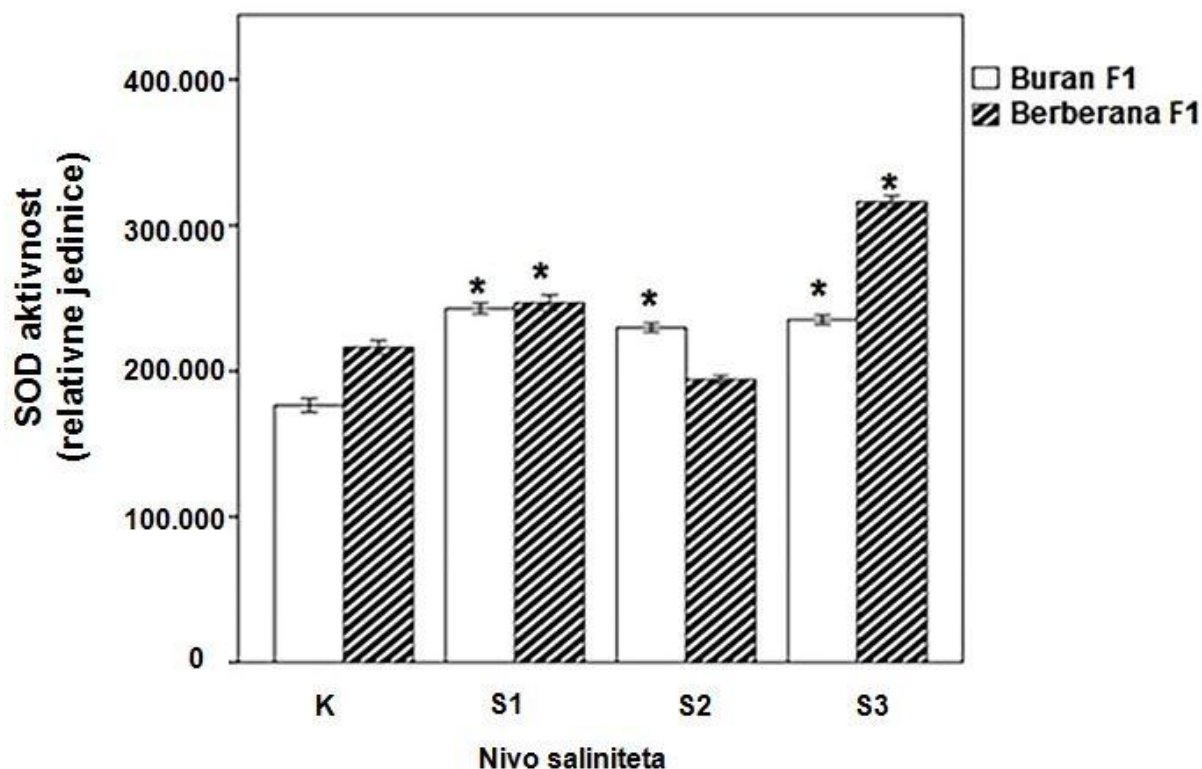
Slika 19. Izoenzimski profil superoksid dismutaza u listovima nekalemljenog (NK) i kalemljenog (K) hibrida paradajza Buran F1 (kontrolnih i tretiranih biljaka). Rf vrednost svih izoformi je izračunata koristeći program Image master Total Lab TL 120.

Sličan rezultat je dobijen i za hibrid Berberana F1. U listovima ovih biljaka takođe se javlja šest SOD izoformi (Rf SOD1= 0,37; Rf SOD 2 = 0,46; Rf SOD 3 = 0,51; Rf SOD 4 = 0,55; Rf SOD5= 0,59; Rf SOD 6 = 0,63) (Sl. 20).



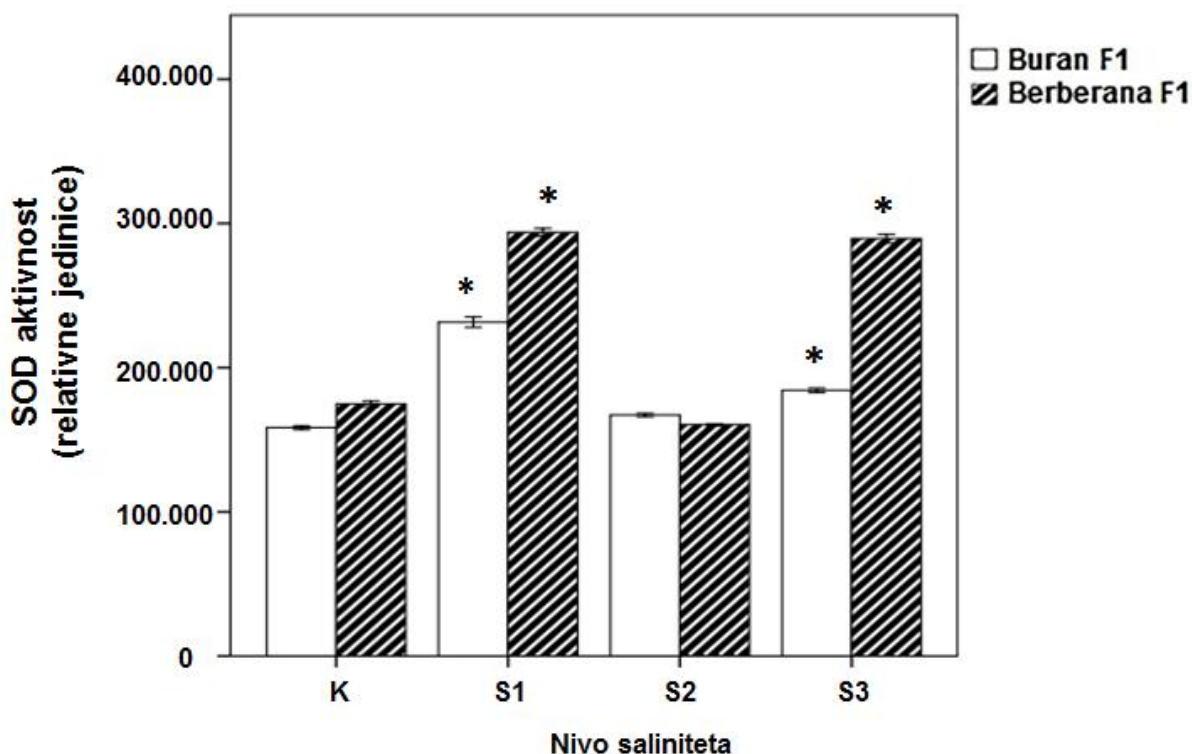
Slika 20. Izoenzimski profil superoksid dismutaza u listovima nekalemljenog (NK) i kalemljenog (K) hibrida paradajza Berberana F1 (kontrolnih i tretiranih biljaka). Rf vrednost svih izoformi je izračunata koristeći program Image master Total Lab TL 120.

U listovima nekalemljenih biljaka Buran F1 svi nivoi zaslanjenosti supstrata izazvali su statistički visoko značajno povećanje aktivnosti SOD. Najviša aktivnost ovog enzima, čak 27% veća u odnosu na kontrolu, izmerena je kod biljaka gajenih na S1. Sem toga, S2 i S3 su za 23% odnosno 25% povećali aktivnost SOD u poređenju sa kontrolom (Slika 21). U listovima nekalemljenih biljaka drugog ispitivanog hibrida, Berberana F1, statistički visoko značajno povećanje SOD aktivnosti izmereno je na S1 (za 10%) i na S3 (za 32%) u poređenju sa kontrolom (Sl. 21).



Slika 21. Aktivnost SOD (relativne jedinice) u listovima nekalemljenih hibrida Buran F1 i Berberana F1 (kontrolnih i tretiranih biljaka). * označava statistički značajnu razliku između biljaka na svakom nivou saliniteta u poređenju sa kontrolnim biljkama ($EC\ 1,7\ dS\ m^{-1}$) prema LSD testu ($p < 0.05$)

Kod kalemljenih biljaka hibrida Buran F1, S1 je doveo do najvećeg statistički visoko značajnog povećanja SOD aktivnosti, gde je za 32% veća SOD aktivnost u odnosu na kontrolu. Takođe, statistički visoko značajno povećanje SOD aktivnosti u poređenju sa kontrolom izmereno je i na S3 (za 14%) (Slika 22). Sličan obrazac javlja se i kod kalemljenih biljaka drugog ispitivanog hibrida Berberane F1, gde je analizom SOD aktivnosti konstatovana statistički visoko značajna razlika na S1 (za 40%) i S3 (za 38%) (Sl. 22).



Slika 22. Aktivnost SOD (relativne jedinice) u listovima kalemljenih hibrida Buran F1 i Berberana (kontrolnih i tertiranih biljaka). * označava statistički značajnu razliku između biljaka na svakom nivou saliniteta u poređenju sa kontrolnim biljkama ($EC\ 1,7\ dS\ m^{-1}$) prema LSD testu ($p < 0.05$)

Istraživanja Murshed i sar. (2014) na aktivnost SOD u različitim stadijumima sazrevanja plodova paradajza i izloženih različitim nivoima zaslanjenosti supstrata (50, 100 i 150 mM NaCl) pokazuju povećanu aktivnost SOD na svim nivoima zaslanjenosti i svim stadijumima sazrevanja, izuzev kada su plodovi potpuno crveni. Ovo povećanje SOD aktivnosti u uslovima stresa povećava mogućnost “hvatanja” O_2^- radikala što može smanjiti štetu u membranama plodova.

Prema rezultatima ove disertacije i kod nekalemljenih i kalemljenih biljaka oba ispitivana hibrida, S1 i S3 dovode do najvećeg povećanja SOD aktivnosti. Do sličnih rezultata došli su i Srinienig i sar. (2015) koji su kod biljaka paradajza gajenih u *in vitro* uslovima i izloženih različitim koncentracijama zaslanjenosti podloge utvrdili da aktivnost SOD zavisi od koncentracije soli kojoj su biljke izložene, te da na najmanjoj (5 mM NaCl) i najvećoj koncentraciji zaslanjenosti podloge (100 mM NaCl) njena aktivnost raste, dok na srednjem nivou zaslanjenosti (10, 25 i 50 mM NaCl) aktivnost SOD opada.

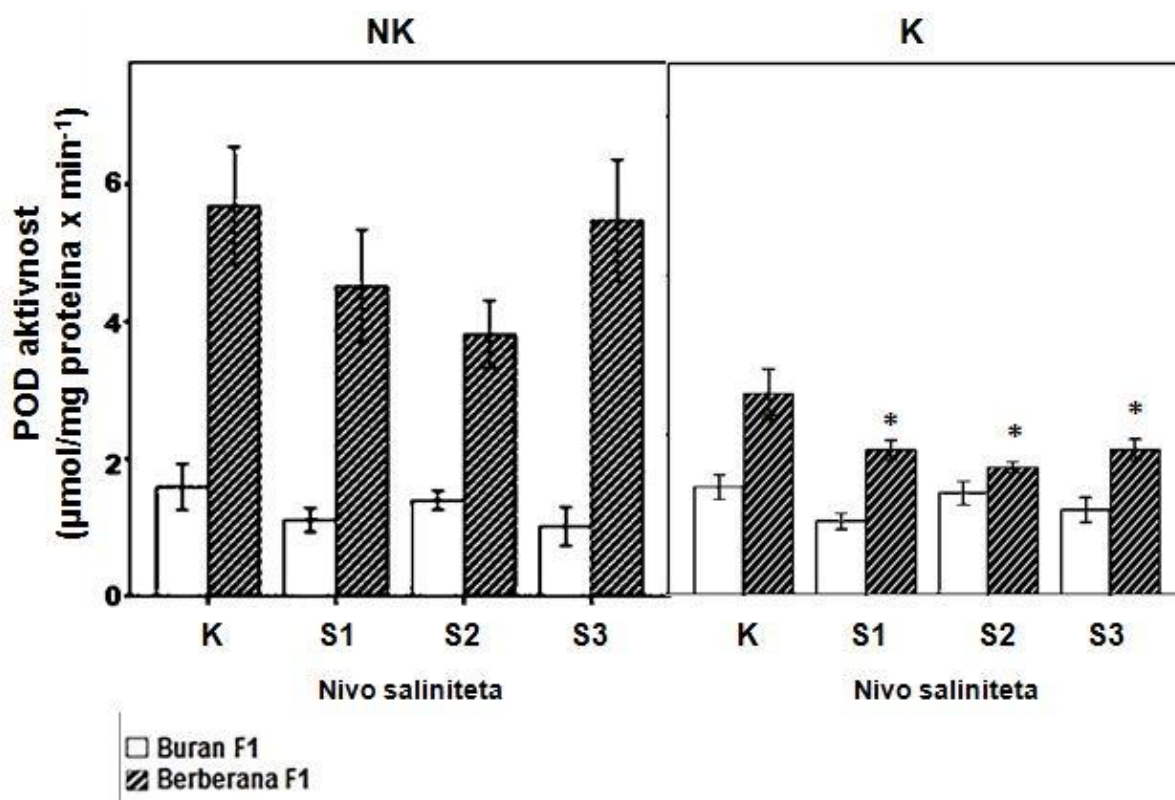
Nepromenjenost SOD aktivnosti na S2 kod nekalemljenog hibrida Berberane F1 i kod kalemljenih biljaka oba hibrida u našem istraživanju može se povezati sa istraživanjem

Khodary (2004) koji je utvrdio da umereno povećani salinitet (3000 ppm) može smanjiti/sprečiti usvajanje azota, fosfora i kalijuma kod leguminoza. Smanjeno usvajanje azota utiče na sintezu peptida i prouzrokuje neizbežno smanjenje sadržaja enzima. Osim toga, smanjenje sadržaja enzima može biti usled viška NaCl na S2 koji remeti produkciju određenih biomolekula (Mittler, 2002) te pogoršava metabolizam superoksid dismutaze. Povećanje aktivnosti SOD na S3 može se objasniti adaptacijom biljnog metabolizma, čime je ponovno uspostavljen visok sadržaj SOD.

6.2.1.2. POD i APX aktivnost

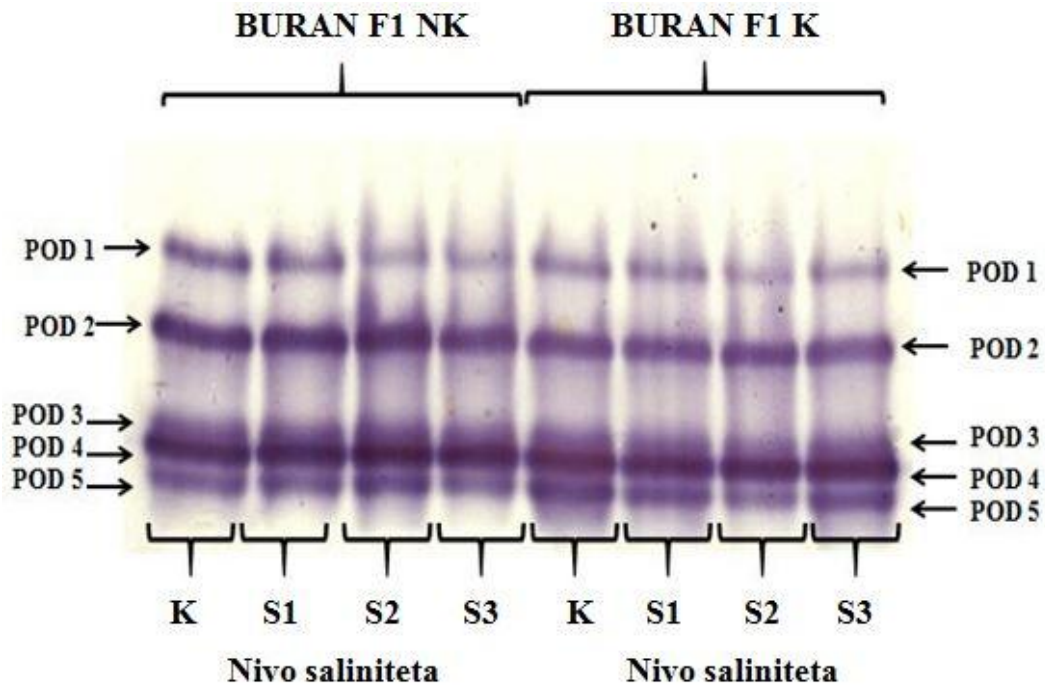
Kad je u pitanju peroksidazna aktivnost, analizom varijanse uočava se statistički visoko značajna razlika dva ispitivana hibrida dobijenih iz nekalemljenog rasada pri čemu je izmerena veća POD aktivnost kod hibrida Berberana F1 u poređenju sa hibridom Buran F1 (Sl. 23). Primećeno je takođe, smanjenje POD aktivnosti kod oba hibrida na svim nivoima zaslanjenosti supstrata u poređenju sa kontrolom. Kod Burana F1 najveći pad POD aktivnosti je izmeren na S1 (37%), dok je kod hibrida Berberana F1 najveći pad POD aktivnosti (33%) izmeren na S2 (Sl. 23).

Kalemljene biljke hibrida Berberana F1 imaju statistički značajno veću aktivnost POD u poređenju sa hibridom Buran F1. Kod hibrida Berberana F1 primećeno je statistički značajno smanjenje POD aktivnosti na svim nivoima zaslanjenosti supstrata u poređenju sa kontrolom. Najveće smanjenje POD aktivnosti detektovano je na S2 (17%) (Sl. 23).



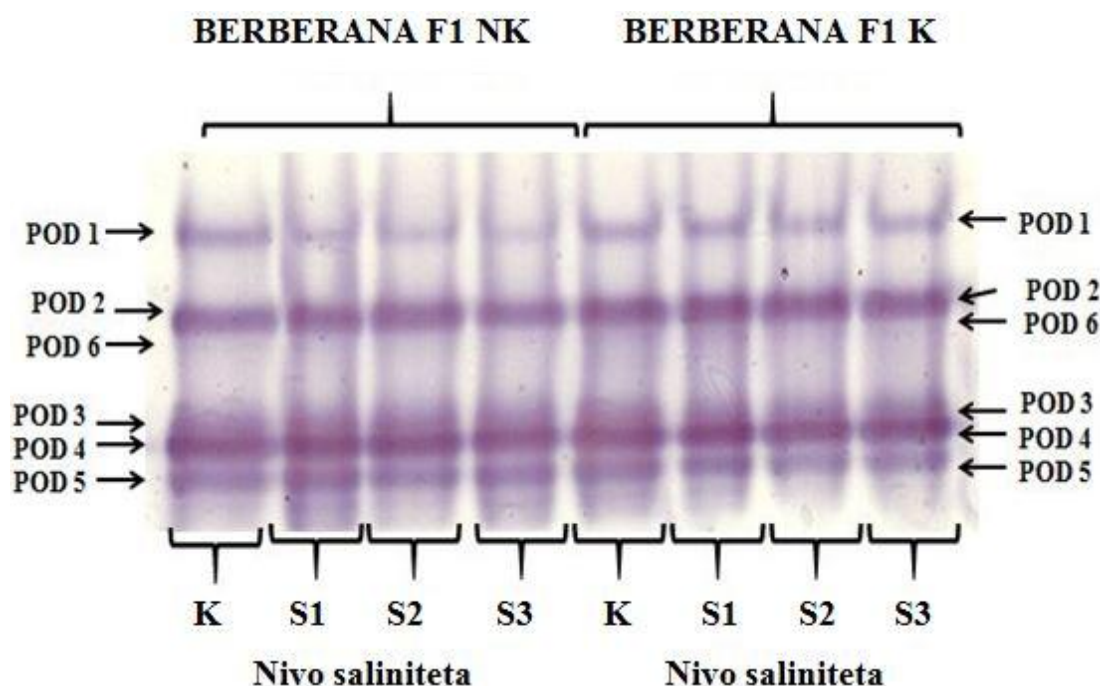
Slika 23. Uticaj sonog stresa na aktivnost POD ($\mu\text{mol/mg proteina} \times \text{min}^{-1}$) u listovima hibrida paradajza Buran F1 i Berberana F1 gajenih iz nekalemljenog (NK) i kalemljenog (K) rasada (kontrolnih i tretiranih biljaka)
 * označava statistički značajnu razliku između biljaka na svakom nivou saliniteta u poređenju sa kontrolnim biljkama ($\text{EC } 1,7 \text{ dS m}^{-1}$) prema LSD testu ($p < 0.05$)

Nativnom elektroforezom detektovano je prisustvo pet POD izoforni kod hibrida Buran F1 gajenog iz nekalemljenog i kalemljenog rasada ($R_f \text{ POD } 1 = 0,56$; $R_f \text{ POD } 2 = 0,62$; $R_f \text{ POD } 3 = 0,70$; $R_f \text{ POD } 4 = 0,72$; $R_f \text{ POD } 5 = 0,75$) u listovima kontrolnih i tretiranih biljaka (Sl. 24).



Slika 24. Nativni gel sa razdvojenim peroksidaznim izoformama u listovima nekalemljenog (NK) i kalemljenog (K) hibrida paradajza Buran F1 (kontrolnih i tretiranih uzoraka). Rf vrednost svih izoformi je izračunata koristeći program Image master Total Lab TL 120.

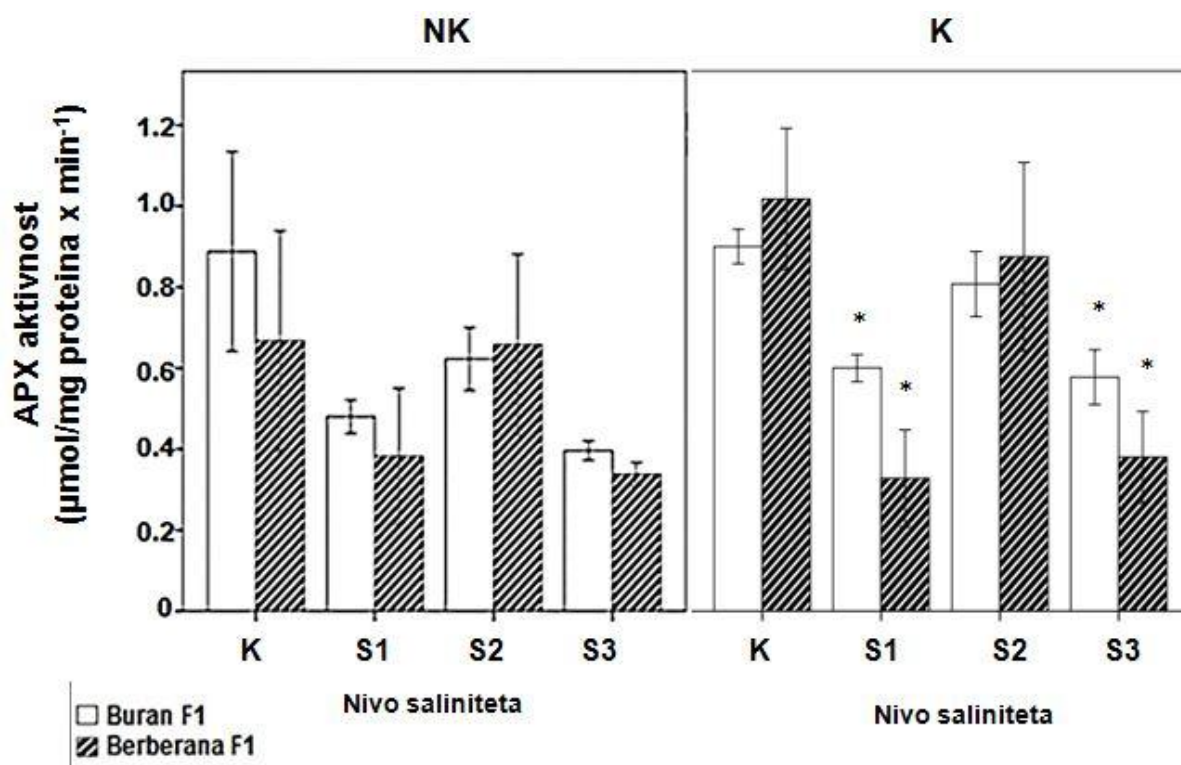
Kod nekalemljenih i kalemljenih bijaka hibrida Bereberana F1 uočeno je šest POD izoformi u kontroli i tretiranim biljkama (Rf POD 1= 0,56; Rf POD 2 = 0,62; Rf POD 3 = 0,65; Rf POD 4 = 0,70; Rf POD 5 = 0,72; RF POD 6 = 0,75) (Sl. 25).



Slika 25. Nativni gel sa razdvojenim peroksidaznim izoformama u listovima nekalemljenog (NK) i kalemljenog (K) hibrida paradajza Berberana F1 (kontrolnih i tretiranih uzoraka). Rf vrednost svih izoformi je izračunata koristeći program Image master Total Lab TL 120.

Aktivnost APX je u kontroli bila veća kod nekalemljenog hibrida Buran F1 u odnosu na nekalemljeni genotip Berberana F1. Kod oba hibrida sa povećanjem saliniteta dolazi do smanjenja APX aktivnosti na svim nivoima povećane zaslanjenosti supstrata u poređenju sa kontrolom. Najveće smanjenje APX aktivnosti kod oba hibrida izmereno je na S3 (kod Burana F1 za 56%, a kod Berberana F1 za 44%) (Sl. 26).

Kod kalemljenih biljaka hibrida Buran F1 konstatovana je statistički visoko značajna razlika u delovanju APX, gde je na S1 i S3 izmerena manja aktivnost APX u poređenju sa kontrolom (na S1 za 12%, a na S3 za 15%) (Sl. 26). Sličan rezultat dobijen je i za hibrid Berberana F1 gde je na S1 statistički značajno manja aktivnost APX za 68%, a na S3 za 63% u poređenju sa kontrolom (Sl. 26).



Slika 26. Uticaj sonog stresa na APX ($\mu\text{mol/mg proteina} \times \text{min}^{-1}$) u listovima hibrida paradajza Buran F1 i Berberana F1 gajenih iz nekalemljenog (NK) i kalemljenog (K) rasada (kontrolnih i tretiranih biljaka)

* označava statistički značajnu razliku između biljaka na svakom nivou saliniteta u poređenju sa kontrolnim biljkama ($\text{EC } 1,7 \text{ dS m}^{-1}$) prema LSD testu ($p < 0.05$)

Kod velikog broja biljaka dokazana je pozitivna korelacija između tolerantnosti na povišen salinitet i povećanu aktivnost POD i APX (Xie i sar., 2008; Wang i sar., 2009). Osmotski stres se kod mnogih biljnih vrsta dovodi u vezu sa pojačanim stvaranjem H_2O_2 što direktno ima za posledicu i povećanje peroksidazne aktivnosti (Hu i sar., 2012). Najčešće je povećana peroksidazna aktivnost posledica pojačanog stvaranja H_2O_2 usled razgradnje superoksida. S druge strane vrste i genotipovi biljaka osetljivih na povišen salinitet najčešće se odlikuju nepromenjenom ili čak smanjenom POD aktivnošću u stresnim uslovima (Safeena i Bandara, 2006; Guerrero i sar., 2015), što je slučaj i o ovom istraživanju gde i kod nekalemljenih i kalemljenih biljaka oba ispitivana hibrida dolazi do smanjenja POD aktivnosti kod biljaka izloženih povećanoj zaslanjenosti supstrata u poređenju sa kontrolom. U studiji koju su radili Meloni i sar. (2003), ispitivana je peroksidazna aktivnost kod dva hibrida pamuka u uslovima sonog stresa, pri čemu je kod hibrida koji je osetljiv na navedeni stresor uočeno odsustvo promene POD aktivnosti. Povećana SOD aktivnost bez pratećeg povećanja POD aktivnosti i mogućnosti uklanjanja nastalog H_2O_2 može dovesti do povećane citotoksičnosti izazvane izuzetno reaktivnim hidroksil radikalom koji nastaje u Haber-Weiss-

ovoj reakciji iz H_2O_2 (Gossett i sar., 1994), ukoliko neki drugi mehanizmi eliminacije peroksida nisu uključeni.

U rezultatima ove disertacije, kod nekalemljenih i kalemljenih biljaka oba ispitivana hibrida dolazi do smanjenja APX aktivnosti kod biljaka izloženih povećanoj zaslanjenosti zemljišta u poređenju sa kontrolom, što se podudara sa istraživanjima Shalata i sar. (2001) kod kojih je ispitivana aktivost APX u korenu kod hibrida paradajza osetljivog na povećanu zaslanjenost supstrata (*Lem*) i njegovog divljeg srodnika otpornog na soni stres (*Lpa*). Utvrđeno je da kod hibrida *Lem* dolazi do smanjenja aktivnosti APX u uslovima sonog stresa. U istraživanjima Mittova i sar. (2002) koji su takođe radili na hibridu *Lem* i njegovom divljem srodniku otpornom na soni stres – *Lpa*, utvrđeno je da je u uslovima povećane zaslanjenosti supstrata (100 mM) aktivnost APX u peroksizomima ostala nepromenjena kod hibrida *Lem*. Takođe, koncentracija H_2O_2 u peroksizomima u uslovima povećanog saliniteta se nije povećala ni kod hibrida *Lem* ni kod *Lpa*, što se može objasniti prisustvom porina u membranama peroksizoma koji olakšavaju transport H_2O_2 iz ovih organela (Reumann i sar., 1997). Neki autori su potvrdili da APX aktivnost takođe može biti nepromenjena u uslovima povećane zaslanjenosti supstrata (Bandeoglu i sar., 2004). Hernández i sar. (2000) su utvrdili da povećan salinitet ne menja APX aktivnost u listovima umereno osetljivog kultivara graška.

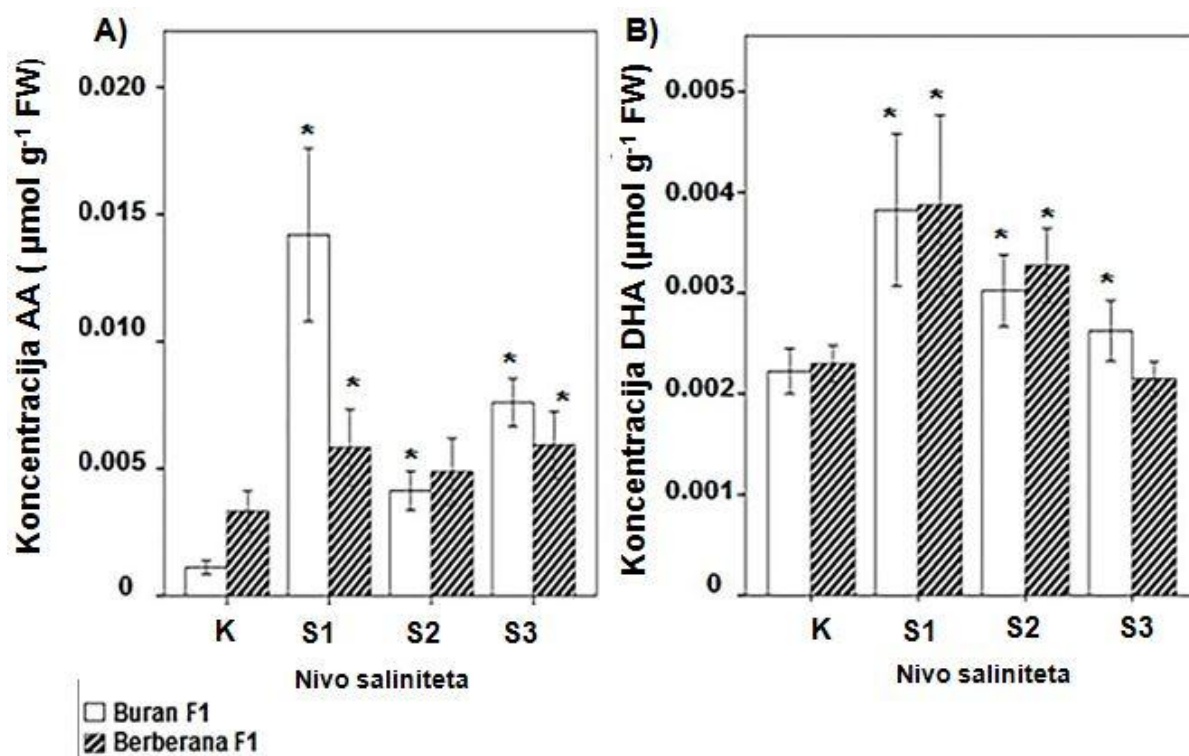
Novija istraživanja pokazuju da stres usled povećane zaslanjenosti supstrata dovodi do povećanja APX aktivnosti kod mlađih listova, dok kod starijih listova SOD i nenezimski antioksidansi, kao npr. askorbinska kiselina, imaju prioritet (Tari i sar., 2015).

6.2.1.3. AA i DHA sadržaj

U istraživanjima ove disertacije utvrđeno je da svi nivoi saliniteta dovode do povećane koncentracije AA kod nekalemljenog hibrida Buran F1, s tim da S1 dovodi do najvećeg povećanja u poređenju sa kontrolom (70%). U listovima nekalemljenog hibrida Berberane F1, S1 i S3 dovode do značajnog povećanja koncentracije AA u poređenju sa kontrolom, a najveće povećanje je izmereno na S3 (64%). Takođe, kod oba hibrida može se primetiti da su promene u sadržaju AA paralelne sa promenama SOD aktivnosti (Sl. 21, Sl. 27).

Kod nekalemljenog hibrida Buran F1 svi nivoi povećane zaslanjenosti supstrata dovode do povećanja sadržaja oksidovanog askorbata (DHA), a najveći sadržaj DHA izmeren

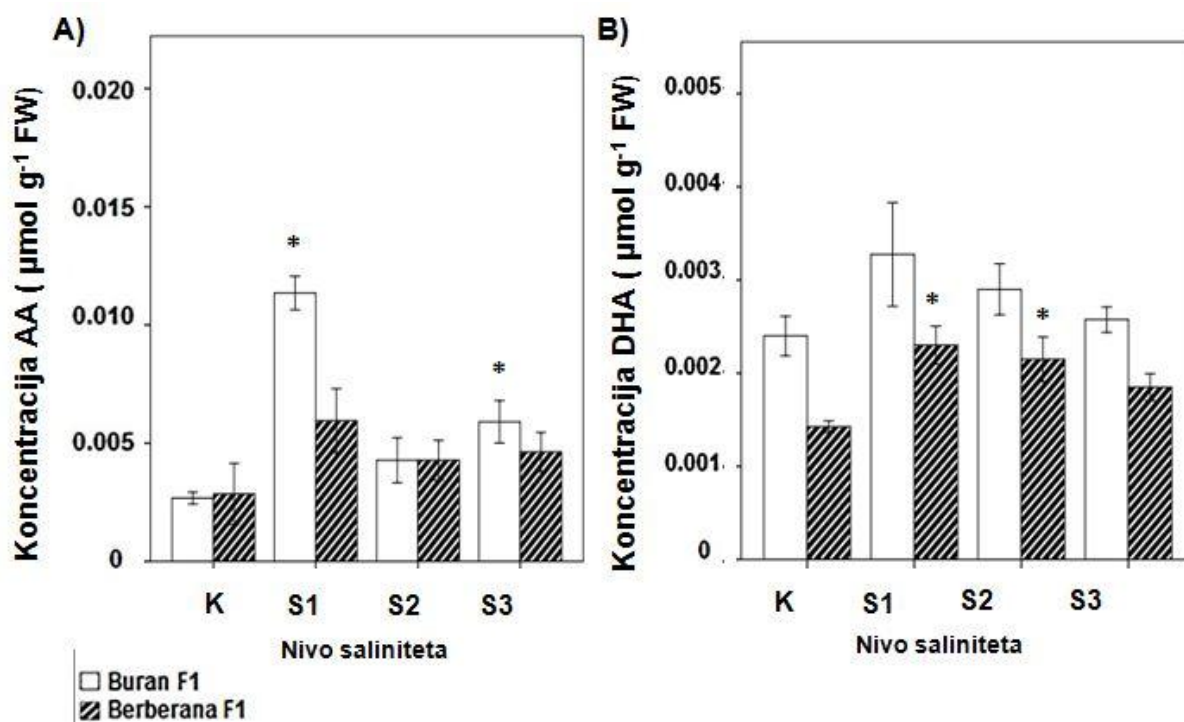
je na S1 (42%). Kod nekalemljenog hibrida Berberana F1, S1 i S2 prouzrokuju povećanje sadržaja DHA, dok kod S3 nije uočena značajna promena (Sl. 27).



Slika 27. Sadržaj ukupnog askorbata - AA (A) i dehidroaskorbata - DHA (B) u listovima hibrida Buran F1 i Berberana F1 gajenih iz nekalemljenog rasada (kontrolnih i tretiranih biljaka). * označava statistički značajnu razliku između biljaka na svakom nivou saliniteta u poređenju sa kontrolnim biljkama (EC 1,7 dS m⁻¹) prema LSD testu (p < 0.05)

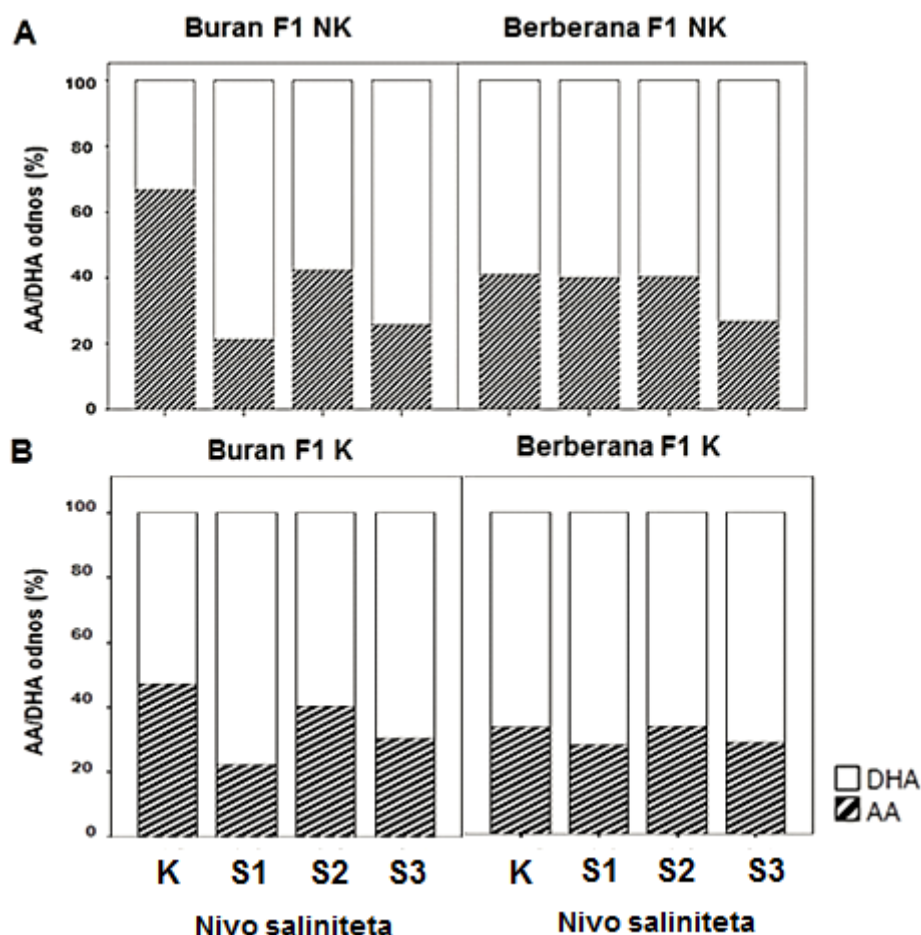
Kod kalemljenog hibrida Buran F1, S1 i S3 dovode do statistički značajno većeg sadržaja AA u poređenju sa kontrolom. Kod S1 za 57% je veća koncentracija AA u poređenju sa kontrolom, a kod S3 za 32% (Sl. 28).

Kod kalemljenog hibrida Buran F1 izmeren je porast koncentracije oksidovanog askorbata (DHA) na svim nivoima povećane zaslanjenosti supstrata u odnosu na kontrolu. Kod kalemljenog hibrida Berberana F1 na S1 i S2 je izmereno statistički značajno veći sadržaj DHA u poređenju sa kontrolom (22% veći sadržaj DHA na S1, i 33% veći sadržaj DHA na S2) (Sl. 28).



Slika 28. Koncentracija AA (µmol/ gFW)(A) i DHA (µmol/ gFW) (B) u listovima hibrida Buran F1 i Berberana F1 gajenih iz kalemljenog rasada (kontrolnih i tretiranih biljaka). * označava statistički značajnu razliku između biljaka na svakom nivou saliniteta u poređenju sa kontrolnim biljkama (EC 1,7 dS m⁻¹) prema LSD testu (p < 0.05)

Takođe je potrebno izdvojiti i naglasiti odnos sadržaja ukupnog i oksidovanog askorbata (AA/DHA). U listovima nekalemljenih i kalemljenih biljaka hibrida Buran F1 na S1 detektovano je najveće povećanje sadržaja AA, a u isto vreme oksidacija je bila najmanja. S druge strane, u listovima nekalemljenih biljaka hibrida Berberana F1, najveći sadržaj AA detektovan je na S3, gde je takođe oksidacija bila na minimumu, dok je kod kalemljenih biljaka istog hibrida najveći sadržaj AA detektovan na S1 i S3 nivou zaslanjenosti supstrata (Sl. 29).



Slika 29. Odnos sadržaja ukupnog i oksidovanog askorbata (AA/DHA) izraženog u % kod nekalemljenih (A) i kalemljenih (B) biljaka hibrida Buran F1 i Berberana F1 (kontrolnih i tretiranih biljaka)

Askorbat je jedna od najvažnijih neenzimskih komponenti antioksidativne odbrane kod biljaka i osim što uklanja H_2O_2 u reakciji katalizovanoj askorbat peroksidazom, može takođe direktno reagovati sa superoksid i hidroksi radikalom (Reddy i sar., 2004; Foyer i Noctor, 2005; Sagi i Fluhr, 2006). Da se koncentracija askorbata povećava u biljnim ćelijama tokom izloženosti stresu usled povećane koncentracije supstratnog saliniteta kod biljaka potvrđeno je u mnogim studijama (Hernandez i sar., 2000; Mittova i sar., 2000).

Poznato je da se askorbat može obnoviti putem DHAR i MDHAR u procesu poznatom kao Hallivel-Asada ciklus (Noctor i Foyer, 1998). Novija istraživanja potvrđuju da promene u rezervama askorbata i antioksidativnih enzima (SOD, POD i APX) kod biljaka paradajza izloženih stresu usled povećane zaslanjenosti supstrata zavise od razvojnog stadijuma ploda (Murshed i sar., 2014). Autori su primetili da tokom ovog vida abiotičkog

stresa, potpuno zreli plodovi paradajza imaju veći sadržaj ukupnog askorbata, ali nižu vrednost dehidroaskorbata i drugih enzima antioksidativne odbrane, u poređenju sa plodovima koji nisu dostigli punu zrelost (zeleni i narandžasti plodovi).

Povećan AA/DHA odnos, tj. povećana koncentracija ukupnog askorbata bez promena sadržaja DHA kod biljaka izloženih stresu usled povećane zaslanjenosti supstrata evidentirana je u studiji Hafsi i sar. (2010). Oni su utvrdili da ovaj vid stresa kod listova ječma dovodi do povećanja koncentracije ukupnog askorbata u poređenju sa oksidovanom formom i objasnili su to brzom regeneracijom u askorbat-glutation ciklusu. Isto objašnjenje se može primeniti i na rezultate koje smo mi dobili. Povećan AA/DHA odnos u listovima hibrida Buran F1 i Berberane F1 kao odgovor na stres zaslanjenosti upućuje na to da je askorbat korišten u antioksidativnoj zaštiti, ali tokom adaptacije biljke on je i obnovljen. Takođe je bitno da se istakne da je povećana zaslanjenost supstrata dovela do promena u askorbat redoks stanju hibrida Burana F1 i Berberane F1, ali je reakcija oba hibrida bila specifična za određen nivo zaslanjenosti.

6.2.2. Neenzimski antioksidansi

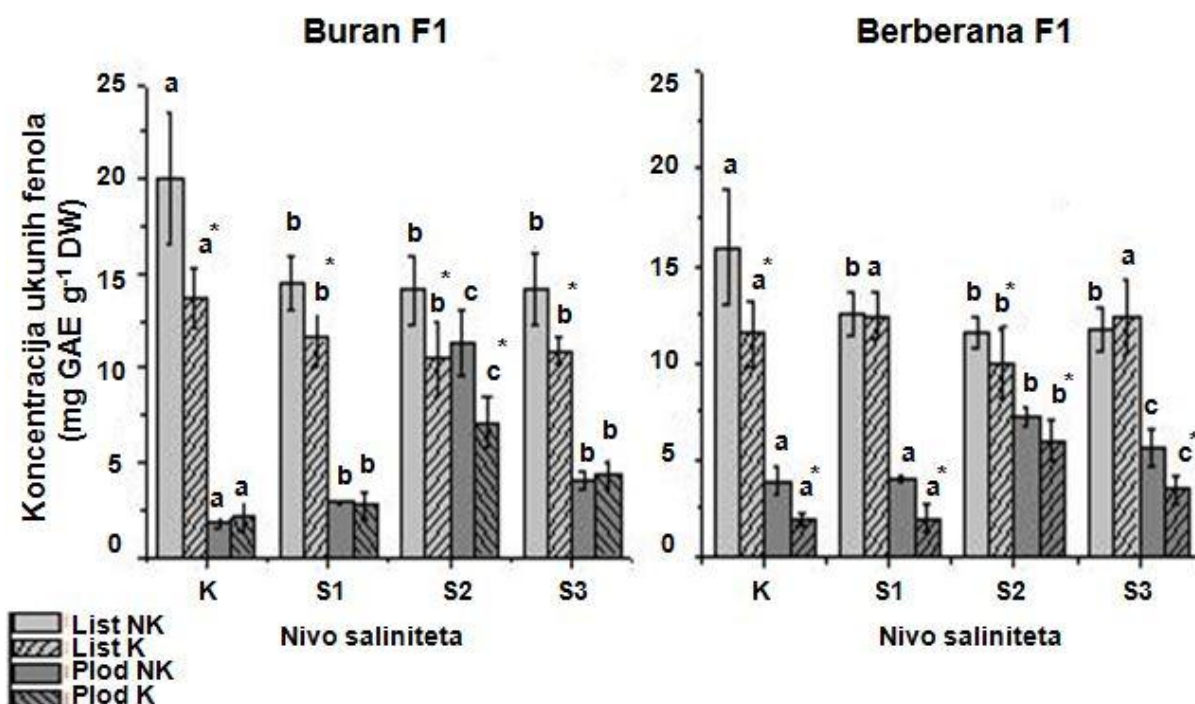
6.2.2.1. Koncentracija fenolnih jedinjenja i ukupni antioskidativni kapacitet u listovima i plodovima

Povećana zaslanjenost supstrata ima veliki uticaj na kvalitativni sastav paradajza (De Pascale i sar., 2001).

U listovima kalemljenih i nekalemljenih biljaka hibrida Buran F1 svi nivoi povišenog saliniteta dovode do statistički značajnog smanjenja sadržaja fenola u odnosu na kontrolu. Kod nekalemljenih biljaka ovog hibrida sadržaj fenola je u odnosu na kontrolu manji za 28% na S1 na S2 za 30%, a na S3 za 29% (Sl. 30). Kod kalemljenih biljaka Burana F1 za 16 % je manji sadržaj fenola na S1 u poređenju sa kontrolom, na S2 za 23%, te na S3 za 20% (Sl. 30). Takođe, kalemljene biljke ovog hibrida imaju statistički značajno manji sadržaj fenola u poređenju sa nekalemljenim biljkama (u kontrolnim je za 31% manji sadržaj fenola kod kalemljenih biljaka, na S1 za 20%, na S2 za 25%, a na S3 za 23%) (Sl. 30). Slično tome, listovi nekalemljenih biljaka hibrida Berberana F1 pokazuju statistički značajno smanjenje sadržaja fenola u odnosu na kontrolu na svim nivoima povišenog saliniteta (na S1 za 21%, na S2 za 28%, te na S3 za 27%), dok je kod kalemljenih biljaka samo na S2 statistički značajno smanjenje sadržaja fenola u odnosu na kontrolu (za 13%) (Sl. 30). Takođe kalemljene biljke Berberana F1 u poređenju sa nekalemljenim biljkama istog hibrida imaju značajno manji sadržaj fenola na kontroli (28%) i S2 (14%) (Sl. 30).

U plodovima kalemljenih i nekalemljenih biljaka hibrida Buran F1 na svim nivoima povišenog saliniteta, sadržaj ukupnih fenola je statistički značajno veći u odnosu na kontrolu, a salinitet S2 dovodi do najvećeg povećanja (Sl. 30). Kod nekalemljenih biljaka ovog ispitivanog hibrida ukupni sadržaj fenola je za 38% veći na S1 u poređenju sa kontrolom, na S2 za 84%, te na S3 za 55%. Ukupni sadržaj fenola kod kalemljenih biljaka je za 22% veći na S1 u poređenju sa kontrolom, na S2 za 70%, te na S3 za 51% (Sl. 30). Sem toga, sadržaj fenola u plodovima kalemljenih biljaka hibrida Buran F1 je je statistički značajno manji u odnosu na nekalemljene biljke istog hibrida samo na S2 (za 37%) (Sl. 30). U plodovima nekalemljenih i kalemljenih biljaka hibrida Berberana F1 na S2 i S3 je statistički značajno veći sadržaj ukupnih fenola u odnosu na kontrolu, gde S2 dovodi do najvećeg povećanja (Sl. 30). Kod nekalemljenih biljaka hibrida Berberana F1 za 46% je veći sadržaj ukupnih fenola na S2 u poređenju sa kontrolom, a na S3 ta razlika iznosi 31%. Kalemljene biljke ovog

hibrida imaju za 69% veći sadržaj ukupnih fenola na S2 u poređenju sa kontrolom, te na S3 za 46% (Sl. 30). Takođe, kalemljene biljke hibrida Berberana F1 imaju statistički značajno manji sadržaj fenola u odnosu na nekalemljene biljke na svim nivoima povišenog saliniteta. Na kontroli ta razlika je najveća i iznosi 52%, na S1 51%, na S2 17%, te na S3 39% (Sl. 30).

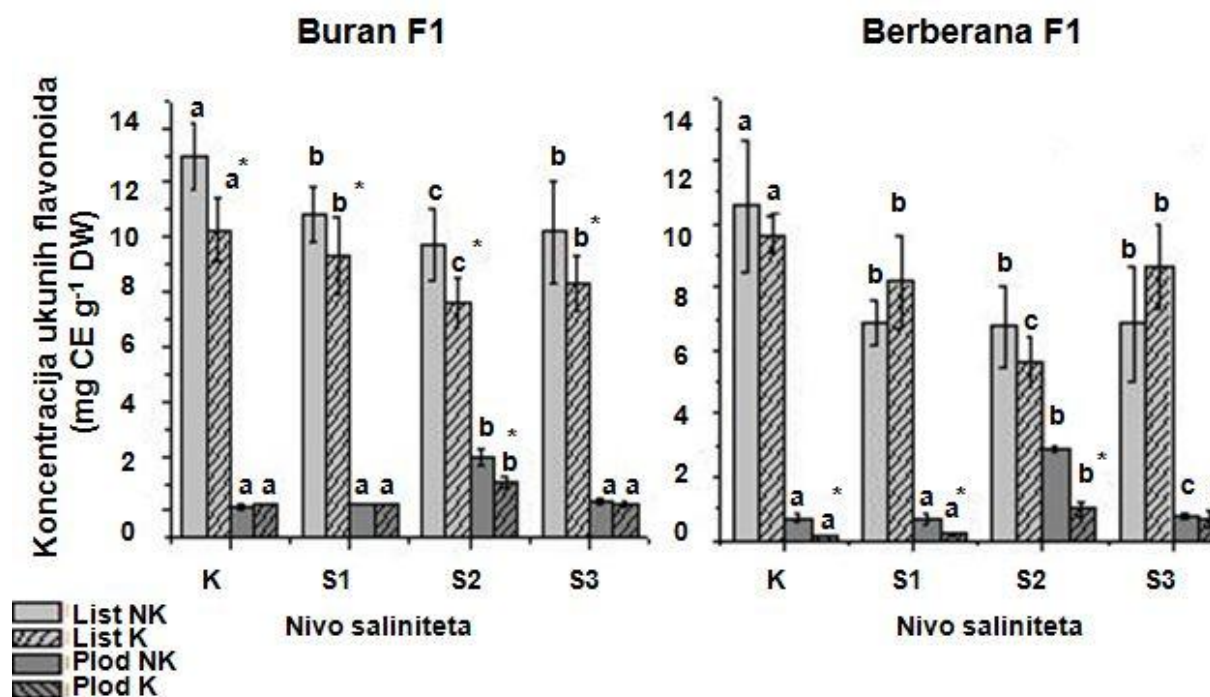


Slika 30. Ukupni sadržaj fenola (mg GAE g⁻¹ DW) u listovima i plodovima Buran F1 (A) i Berberana F1 (B) kalemljenih (K) i nekalemljenih (NK) hibrida paradajza tretiranih sa različitim koncentracijama soli u zemljištu. * označava statistički značajnu razliku između NK i K biljaka oba genotopa prema LSD testu ($p < 0.05$); ^{a,b,c} predstavlja statističku razliku između različitih nivoa saliniteta prema Tuckey's HSD.

Svi nivoi povećane zaslanjenosti supstrata dovode do smanjenja sadržaja fenola u listovima nekalemljenih i kalemljenih biljaka oba ispitivana hibrida. S druge strane, suprotan trend promene je detektovan u njihovim plodovima, gde posebno S2 dovodi do najvećeg porasta ovog parametra. U istraživanjima mnogih autora dokazano je da povećani zemljišni salinitet dovodi do povećanja sadržaja fenola u plodovima paradajza. Krauss i sar. (2006) su u eksperimentu na paradajzu izloženom povećanoj zaslanjenosti supstrata (6,5 dS m⁻¹ i 10 dS m⁻¹) utvrdili da sa povećanjem saliniteta dolazi do povećanja koncentracije fenola u plodovima ispitanog hibrida. Takođe, u istraživanju Ali i Ismail (2014) utvrđeno je da povećan salinitet (100 mM) povećava koncentraciju fenola i flavonoida u plodu paradajza.

U rezultatima ove disertacije ukupni sadržaj flavonoida u listovima nekalemljenih i kalemljenih biljaka hibrida Buran F1 je na svim nivoima povišenog saliniteta statistički značajno manji u poređenju sa kontrolom (Sl. 31). Kod nekalemljenih biljaka na S1 sadržaj flavonoida je manji za 17% u poređenju sa kontrolom, te na S3 za 18%. S2 dovodi do najvećeg smanjenja sadržaja flavonoida u poređenju sa kontrolom (26%) (Sl. 31). Kod kalemljenih biljaka istog hibrida S2 dovodi takođe do najvećeg smanjenja sadržaja flavonoida u poređenju sa kontrolom (27%), dok S1 dovodi do smanjenja od 8%, a S3 od 19% (Sl. 31). Kalemljene biljke hibrida Buran F1 na svim nivoima saliniteta imaju statistički značajno manji sadržaj flavonoida u poređenju sa nekalemljenim biljkama (na kontroli za 22%, na S1 za 13%, na S2 za 23%, te na S3 za 25%) (Sl. 31). U listovima kalemljenih i nekalemljenih biljaka drugog ispitivanog hibrida, Berberana F1, takođe svi nivoi zaslanjenosti dovode do statistički značajno manjeg sadržaja flavonoida u poređenju sa kontrolom (Sl. 31). Kod nekalemljenih biljaka S1 i S3 dovode do smanjenja sadržaja flavonoida za 35%, a S2 smanjuje sadržaj flavonoida za 37% u poređenju sa kontrolom (Sl. 31). Kod kalemljenih biljaka sadržaj flavonoida je na S1 manji za 15% u poređenju sa kontrolom, te na S3 za 10%. S2 dovodi do najvećeg smanjenja sadržaja flavonoida u poređenju sa kontrolom (za 42%) (Sl. 31).

U plodovima nekalemljenih i kalemljenih biljaka hibrida Buran F1, ukupni sadržaj flavonoida je samo na S2 statistički značajno veći u poređenju sa kontrolom (kod nekalemljenih biljaka za 93%, a kod kalemljenih za 87%) (Sl. 31). Takođe, isti nivo saliniteta dovodi do statistički značajne razlike između kalemljenih i nekalemljenih biljaka, gde kalemljene biljke hibrida Buran F1 imaju za 43% manji sadržaj flavonoida (Sl. 31). U plodovima kalemljenih i nekalemljenih biljaka hibrida Berberana F1, S2 i S3 dovode do statistički značajnog povećanja sadržaja flavonoida u poređenju sa kontrolom. Kod nekalemljenih biljaka ovog hibrida S2 dovodi do povećanja od 76%, a S3 do povećanja od 9% u poređenju sa kontrolom (Sl. 31). Kalemljene biljke istog hibrida imaju na S2 veći sadržaj flavonoida za 86%, a na S3 za 78% u poređenju sa kontrolom (Sl. 31). Sem toga, kalemljene biljke imaju statistički značajno manji sadržaj flavonoida u poređenju sa nekalemljenim biljkama na kontroli (79%), na S1 (72%) i S2 (65%) (Sl. 31).



Slika 31. Ukupni sadržaj flavonoida (mg CE g⁻¹ DW) u listovima i plodovima Buran F1 (A) i Berberana F1 (B) kalemljenih (K) i nekalemljenih (NK) hibrida paradajza tretiranih sa različitim koncentracijama soli u zemljištu. * označava statistički značajnu razliku između NK i K biljaka oba genotopa prema LSD testu ($p < 0.05$); ^{a,b,c} predstavlja statističku razliku između različitih nivoa saliniteta prema Tuckey's HSD.

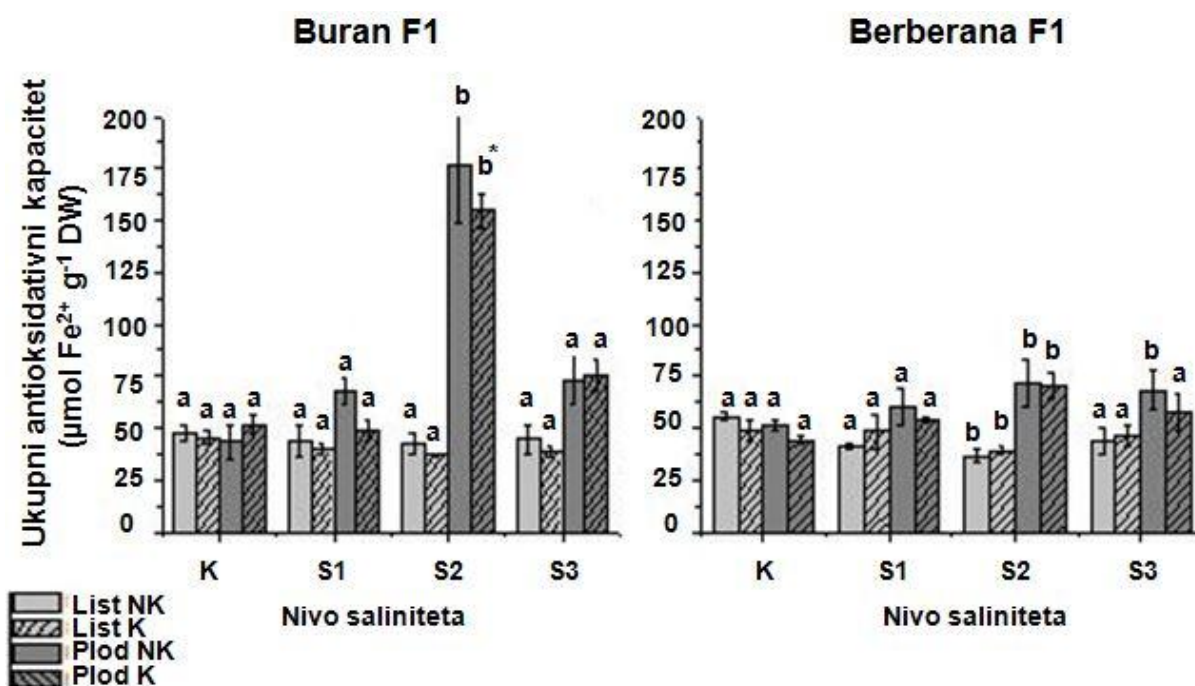
Sadržaj flavonoida u listovima nekalemljenih biljaka hibrida Buran F1 i Berberana F1 prati sadržaj fenola. Ova povezanost trenda promene fenola i flavonoida u listovima oba ispitivana hibrida je očekivana, obzirom da flavonoidi predstavljaju najveću grupu u sklopu fenolnih jedinjenja (D'Introno, 2009). Sem toga, S2 dovodi do najvećeg smanjenja sadržaja ukupnih flavonoida u listovima nekalemljenih biljaka oba hibrida, i istovremeno prouzrokuje njihov najveći porast u plodovima. Razlog za ovaj trend promene može biti transport flavonoida putem floema iz listova u plodove, radi njihove antioksidativne zaštite. Neki istraživači su potvrdili da vodni stres dovodi do nagle ekspresije nosača flavonoida i aktivacije celokupnog flavonoidnog puta biosinteze (Castellarin i sar., 2007; Braidot i sar., 2008). Ovo upućuje da uslovi stresa predstavljaju okidač za transport flavonoida i njihovu akumulaciju u plodovima paradajza. Abdallah i sar. (2016) su u svojim istraživanjima potvrdili da stres usled povećane zaslanjenosti supstrata intenzivira ekspresiju gena uključenih u metabolizam flavonoida kod biljaka *Solanum nigrum* i prepoznali su to kao antioksidativni mehanizam adaptacije u uslovima ovog abiotičkog stresa. Agati i sar. (2011) su dokazali da povećana sinteza flavonoida ima važnu antioksidativnu ulogu u zaštiti biljaka *Ligustrum vulgare* u uslovima sonog stresa. Osim toga, flavonoidi su priznati kao grupa polifenola izuzetno važnih za povećanje antioksidativne moći biljaka (Slimestad i Verheul,

2005; Luthria i sar., 2006), čiji redukcionni potencijal za "hvatanje" ROS zavisi od njihovih hidroksilnih grupa i pristupačnosti radikala (Rice-Evans, 2001).

Ukupni antioksidativni kapacitet voća i povrća je važna osobina koja daje informacije o njihovim kvalitativnim vrednostima (RiceEvans i sar., 1996; Cao i sar., 1995).

U rezultatima ove disertacije, na svim nivoima povišenog saliniteta ukupni antioksidativni kapacitet u listovima kalemljenih i nekalemljenih biljaka hibrida Buran F1 ne pokazuje statistički značajnu razliku u poređenju sa kontrolom. Takođe, statistički značajna razlika nije izmerena ni između kalemljenih i nekalemljenih biljaka ovog hibrida na svim nivoima saliniteta (Sl. 32). U listovima nekalemljenih biljaka hibrida Berberana F1 samo S2 dovodi do statistički značajne razlike, gde je za 34% manji ukupni antioksidativni kapacitet u poređenju sa kontrolom (Sl. 32). Takođe, isti salinitet dovodi i do smanjenja ukupnog antioksidativnog kapaciteta i kod kalemljenih biljaka ovog hibrida za 20% (Sl. 32). Kao i kod hibrida Buran F1, ni kod Berberane F1 nije izmerena statistički značajna razlika između nekalemljenih i kalemljenih biljaka na svim nivoima zaslanjenosti supstrata (Sl. 32).

U plodovima nekalemljenih biljaka hibrida Buran F1 statistički značajna razlika javlja se samo na S2 gde je za 75% veći ukupni antioksidativni kapacitet u poređenju sa kontrolom (Sl. 32). Isti nivo saliniteta dovodi do statistički značajne razlike i kod kalemljenih biljaka gde je za 66% veći ukupni antioksidativni kapacitet u odnosu na kontrolu (Sl. 32). Statistički značajna razlika između nekalemljenih i kalemljenih biljaka hibrida Buran F1 javlja se na S2 gde je za 12% manji ukupni antioksidativni kapacitet kod kalemljenih biljaka (Sl. 32). U plodovima nekalemljenih biljaka hibrida Berberana F1, S2 i S3 uzrokuju statistički veći ukupni antioksidativni kapacitet u poređenju sa kontrolom (kod S2 za 28%, kod S3 za 24%) (Sl. 32). Kod kalemljene varijante istog hibrida samo S2 dovodi do statistički značajne razlike gde je za 37% veći ukupni antioksidativni kapacitet u poređenju sa kontrolom (Sl. 32). Na svim ispitivanim nivoima zaslanjenosti supstrata nije izmerena statistički značajna razlika između kalemljenih i nekalemljenih biljaka hibrida Berberana F1 (Sl. 32).



Slika 32. Ukupni antioksidativni kapacitet ($\mu\text{mol Fe}^{2+} \text{ g}^{-1} \text{ DW}$) u listovima i plodovima Buran F1 (A) i Berberana F1 (B) kalemljenih (K) i nekalemljenih (NK) hibrida paradajza tretiranih sa različitim koncentracijama soli u zemljištu. * označava statistički značajnu razliku između NK i K biljaka oba genotopa prema LSD testu ($p < 0.05$); ^{a,b,c} predstavlja statističku razliku između različitih nivoa saliniteta prema Tuckey's HSD.

Biljke koje su izložene povećanoj zaslanjenosti supstrata prekomerno proizvode ROS-a koji dovodi do različitih oštećenja u ćeliji i metaboličkim nepravilnostima (Rezazadeh i sar., 2012).

Frary i sar. (2010) su potvrdili da fenolna jedinjenja u biljkama paradajza izloženih stresu usled povećane zaslanjenosti supstrata pozitivno doprinose njihovom antioksidativnom kapacitetu, tako što smanjuju nivo slobodnih radikala. Najveći porast ukupnog antioksidativnog kapaciteta u plodovima kod kalemljenih i nekalemljenih biljaka hibrida Buran F1 i Berberana F1 je izmeren kod S2. S druge strane, kalemljene biljke Burana F1 samo na S2 imaju manji ukupni antioksidativni kapacitet u poređenju sa nekalemljenim biljkama, dok razlika između plodova kalemljenih i nekalemljenih biljaka hibrida Berberana F1 nije uočena ni na jednom ispitivanom nivou zemljišnog saliniteta. Ukupni antioksidativni kapacitet plodova paradajza obuhvata uglavnom biološki aktivne komponente kao što su fenolna jedinjenja, askorbinsku kiselinu i likopen (Martinez-Valverde i sar., 2002; Podsedek i sar., 2003). Obzirom da je u istraživanju ukupni antioksidativni kapacitet meren u fenolnom ekstraktu, može se zaključiti da postoji povezanost u njihovoj promeni. Važno je napomenuti da se kod kalemljenih i nekalemljenih biljaka hibrida Buran F1, na svim nivoima povećanog saliniteta, fiziološki odgovor odrazio na sadržaj fenola, flavonoida i ukupnog

antioksidativnog kapaciteta, i te promene su bile paralelne. Donekle sličan trend promena u sadržaju fenola i flavonoida kod kalemljenih i nekalemljenih biljaka javlja se i kod hibrida Berberana F1. Naime, kontrolne kalemljene biljke ovog hibrida imaju značajno manji sadržaj fenola u listovima i plodovima u poređenju sa nekalemljenim. Takođe, kalemljenje sprečava smanjenje sadržaja fenola i flavonoida na S1 i S3, dok je na S2 nivou zaslanjenosti detektovan smanjen sadržaj ovih metabolita u poređenju sa kontrolom.

U plodovima nekalemljenih i kalemljenih biljaka hibrida Berberana F1 javljaju je jednake promene u sadržaju fenola i flavonoida na svim nivoima ispitivane zaslanjenosti. Sanchez-Rodriguez i sar. (2012) su u svojim istraživanjima na plodovima različitih kalemljenih i nekalemljenih hibrida paradajza izloženih uslovima vodnog stresa utvrdili da kalemljenje utiče na sadržaj fenola i flavonoida, kao i ukupni antioksidativni kapacitet, ali da taj uticaj zavisi od genotipa, što je donekle u korelaciji sa rezultatima ove disertacije.

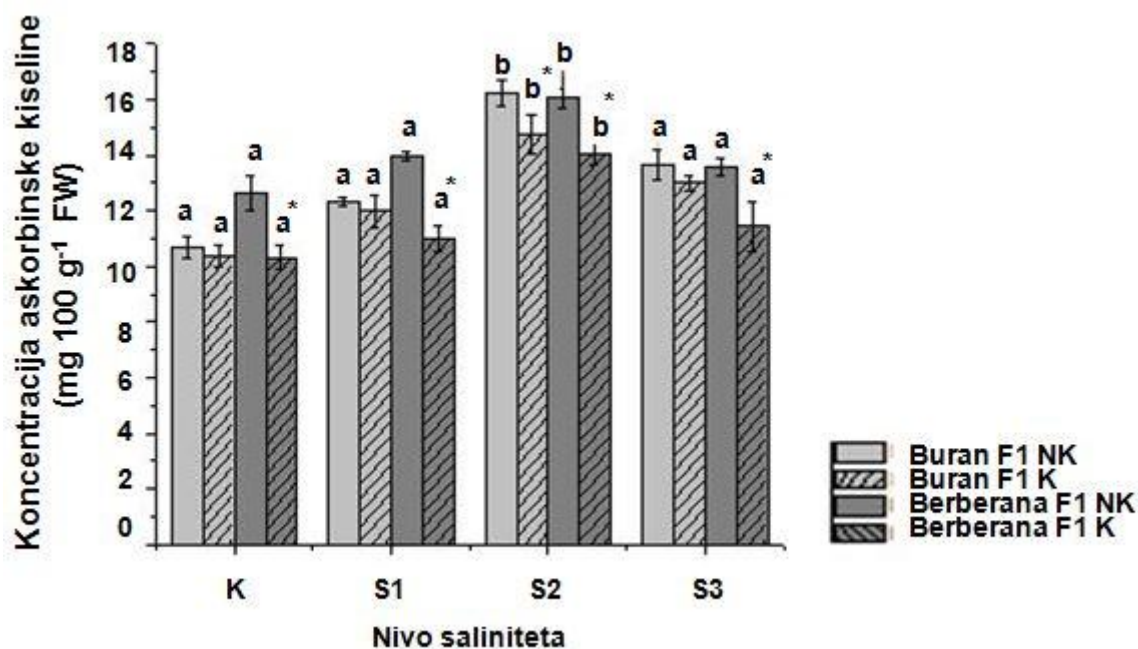
6.2.2.2. Koncentracija askorbinske kiseline

Askorbinska kiselina je mala, u vodi rastvorljiva antioksidativna molekula koja predstavlja primarni substrat u cikličnom putu enzimske detoksifikacije vodonik peroksida (Shalata i Neumann, 2001).

Sadržaj askorbinske kiseline u plodovima nekalemljenih biljaka oba ispitivana hibrida je statistički značajno veći u poređenju sa kontrolom samo na S2 (Sl. 33). Naime, plodovi nekalemljenih biljaka hibrida Buran F1 na S2 imaju za 34% veći sadržaj askorbinske kiseline u poređenju sa kontrolom, dok je na istom salinitetu kog nekalemljenih biljaka hibrida Berberana F1 sadržaj askorbinske kiseline veći za 30% (Sl. 33). Isti trend javlja se i kod kalemljenih biljaka oba hibrida. Kod kalemljenih biljaka Buran F1 za 30% je veći sadržaj askorbinske kiseline na S2 u poređenju sa kontrolom, a kod kalemljenih biljaka Berberane F1 za 27% (Sl. 33).

Takođe, sadržaj askorbinske kiseline kod oba ispitivana hibrida je manji kod kalemljenih biljaka. Kod hibrida Buran F1 samo na S2 je izmeren statistički značajno manji sadržaj askorbinske kiseline kod kalemljenih biljaka u poređenju sa nekalemljenim (za 9%), dok kod hibrida Berberana F1 svi ispitivani nivoi saliniteta uzrokuju statistički manji sadržaj askorbinske kiseline kod kalemljenih biljaka (Sl. 33). Kod ovog hibrida, u kontrolnim

biljkama sadržaj askorbinske kiseline je manji za 18% u poređenju sa nekalemljenim biljkama, na S1 za 21%, na S2 za 12%, te na S3 za 16% (Sl. 33).



Slika 33. Sadržaj askorbinske kiseline (mg/ 100 g FW) u plodovima Buran F1 i Berberana F1 kalemljenih (K) i nekalemljenih (NK) hibrida paradajza tretiranih sa različitim koncentracijama soli u zemljištu. * označava statistički značajnu razliku između NK i K biljaka oba genotopa prema LSD testu ($p < 0.05$); ^{a,b,c} predstavlja statističku razliku između različitih nivoa saliniteta prema Tuckey's HSD.

U mnogim istraživanjima potvrđeno je da stres usled povećane zaslanjenosti supstrata dovodi do povećanja sadržaja askorbinske kiseline u plodovima paradajza. Murshed i sar. (2014) su utvrdili da povećana zaslanjenost substrata (50 mM i 100 mM) dovodi do veće koncentracije askorbata u plodovima ispitivanog kultivara paradajza. De Pascale i sar. (2001) su dokazali u svojim istraživanjima na plodovima paradajza da u uslovima umerene zaslanjenosti supstrata ($EC\ 4,4\ dS\ m^{-1}$) koncentracija askorbinske kiseline raste, što je u skladu sa rezultatima ove disertacije, obzirom da je S2 ($EC\ 6,9\ dS\ m^{-1}$) doveo do statistički značajnog povećanja sadržaja askorbinske kiseline i kod nekalemljenih i kod kalemljenih biljaka oba ispitivana hibrida. S druge strane, utvrdili su da zaslanjenost supstrata od $EC\ 8,5\ dS\ m^{-1}$ i $EC\ 15,7\ dS\ m^{-1}$ dovodi do smanjenja u sadržaju askorbata u plodovima ispitivanog hibrida. Takođe, Maggio i sar. (2002) su utvrdili u svojim istraživanjima na paradajzu da salinitet preko $EC\ 8,5\ dS\ m^{-1}$ dovodi do smanjenja u sadržaju askorbinske kiseline, što je u korelaciji sa našim rezultatima, jer je salinitet od $EC\ 9,1\ dS\ m^{-1}$ (S3) doveo do značajnog smanjenja koncentracije askorbata u nekalemljenim i kalemljenim varijantama oba ispitivana hibrida (Sl. 33).

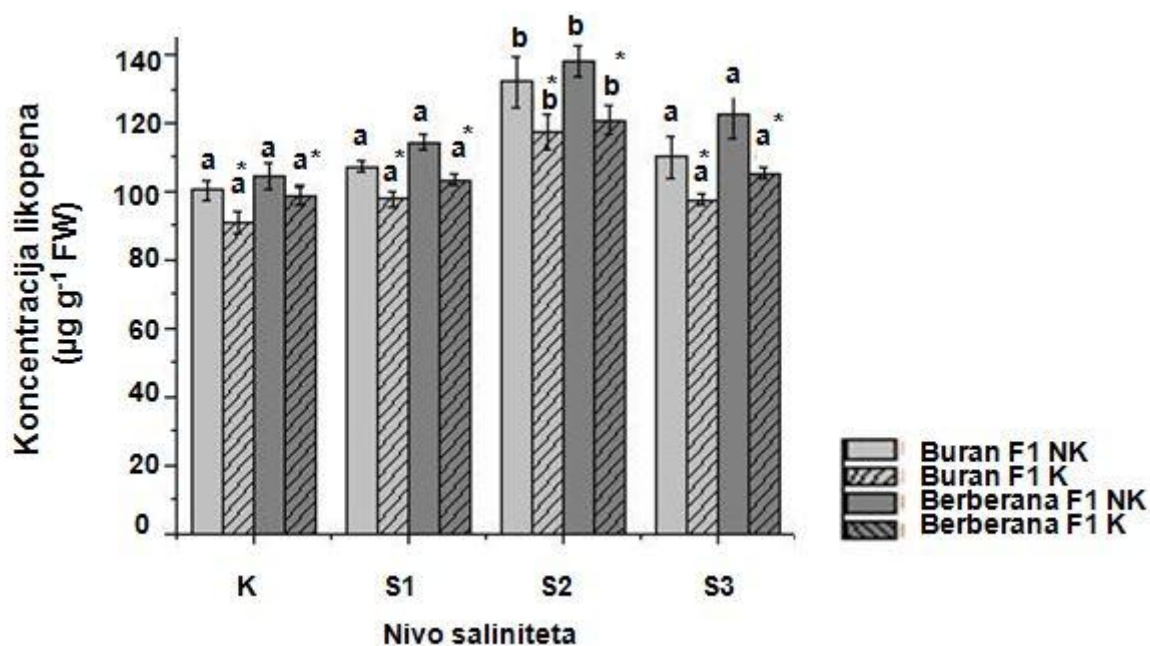
I u drugim istraživanjima je utvrđeno da tehnika kalemljenja smanjuje sadržaj askorbinske kiseline u plodovima paradajza u poređenju sa nekalemljenim biljkama (Vinkovic-Vrcek i sar., 2011) što je donekle u skladu i sa rezultatima ovog eksperimenta, obzirom da je kod kalemljenih biljaka hibrida Berberana sadržaj askorbinske kiseline značajno manji u odnosu na nekalemljene biljke. Fernandez-Garci i sar. (2004) su rezultatima svog istraživanja na plodovima dva kalemljena hibrida paradajza pokazali da u uslovima povećane zaslanjenosti supstrata (30 mM NaCl) raste sadržaj askorbinske kiseline. Oba kalemljena hibrida, Buran F1 i Berberana F1, u uslovima povećane zaslanjenosti supstrata imaju isti trend promena kao i nekalemljene varijante, gde samo S2 uzrokuje statistički značajno povećanje. S druge strane, utvrđeno je prisustvo interhibridne razlike u sadržaju askorbata između nekalemljenih i kalemljenih biljaka.

6.2.2.3. Koncentracija likopena

Likopen je veoma specifična komponenta za plodove paradajza koja svojom intenzivnom antioksidativnom aktivnošću značajno doprinosi njihovom kvalitetu (Stewart i sar., 2000; Beutner i sar., 2001).

Sadržaj likopena u plodovima nekalemljenih biljaka oba ispitivana hibrida statistički značajno raste samo na S2 (Sl. 34). Kod nekalemljenih biljaka hibrida Buran F1 za 24% je veći sadržaj likopena na S2 u poređenju sa kontrolom, dok je kod hibrida Berberana veći sadržaj likopena na istom salinitetu za 25% (Sl. 34). Kalemljenje biljaka nije uticalo na trend promene sadržaja likopena u uslovima stresa kod oba ispitivana hibrida. I kod kalemljenih biljaka S2 dovodi do statistički značajnog povećanja sadržaja likopena u poređenju sa kontrolom (kod hibrida Buran F1 za 25%, a kod hibrida Berberana F1 za 19%) (Sl. 34).

Sem toga, kod oba ispitivana hibrida na svim nivoima zaslanjenosti supstrata, sadržaj likopena je statistički značajno manji kod kalemljenih biljaka u poređenju sa nekalemljenim (Sl. 34). Kod hibrida Buran F1 na kontroli i S1 za 9%, a na S2 i S3 za 11% je manji sadržaj likopena u plodovima kalemljenih biljaka u poređenju sa nekalemljenima (Sl. 34). Kalemljene biljke hibrida Berberana F1 na kontroli imaju za 5% manji sadržaj likopena u poređenju sa nekalemljenim, na S1 za 10%, na S2 za 12%, te na S3 za 14% (Sl. 34).



Slika 34. Sadržaj likopena ($\mu\text{g g}^{-1}\text{ FW}$) u plodovima Buran F1 i Berberana F1 kalemljenih (K) i nekalemljenih (NK) hibrida paradajza tretiranih sa različitim koncentracijama soli u zemljištu. * označava statistički značajnu razliku između NK i K biljaka oba genotopa prema LSD testu ($p < 0.05$); ^{a,b,c} predstavlja statističku razliku između različitih nivoa saliniteta prema Tuckey's HSD.

Mnogi autori su potvrdili da povećana zaslanjenost supstrata intenzivira sintezu likopena u plodovima paradajza (De Pascale i sar., 2001; Navarro i sar., 2006; Wu i Kubota, 2008). Takođe, dokazano je da stres usled povećane zaslanjenosti supstrata intenzivira aktivnost gena odgovornih za produkciju enzima neophodnih za biosintezu likopena (Giuliano i sar., 1993), što može da objasni rezultate dobijene kod kalemljenih i nekalemljenih hibrida Buran F1 i Berberana F1. De Pascale i sar. (2001) su u svojim istraživanjima utvrdili da salinitet od $8,5\text{ dS m}^{-1}$ može da inhibira biosintezu likopena, što je takođe u skladu sa našim rezultatima obzirom da na S3 ($9,12\text{ dS m}^{-1}$) dolazi do smanjenja u sadržaju likopena i kod kalemljenih i nekalemljenih biljaka oba ispitivana hibrida. S druge strane, dokazano je da kalemljenje paradajza dovodi do smanjenja sadržaja likopena u njegovim plodovima (Vinkovic-Vreck i sar., 2011), što je u skladu sa rezultatima ove disertacije obzirom da oba kalemljena hibrida imaju statistički značajno manji sadržaj likopena u poređenju sa nekalemljenim genotipovima na kontroli i svim ispitivanim nivoima saliniteta. Fernandez-Garcia i sar. (2004) su u svojim istraživanjima na plodovima dva hibrida paradajza pokazali da povećan salinitet (30 mM i 60 mM) dovodi do smanjenja koncentracije likopena i kod kalemljenih i kod nekalemljenih biljaka oba ispitivana hibrida. S druge strane, Sanchez-Rodriguez i sar. (2012) su dokazali da postoji interhibridna razlika u ponašanju biljaka paradajza u uslovima osmotskog stresa, gde je sadržaj likopena bio manji

Morfo-fiziološke osobine paradajza u uslovima povećanog saliniteta

kod kalemljenih biljaka jednog hibrida nego kod nekalemljenih biljaka u istim uslovima stresa, dok je kod drugog hibrida taj trend promene bio suprotan.

6.2.3. Prosečna masa ploda

Uticao stresa usled povećane zaslanjenosti zemljišta na prinos i kvalitet paradajza bio je predmet mnogih istraživanja (Campos i sar., 2006; Magan i sar., 2008; Boamah i sar., 2011; Zhai i sar., 2015). Na osnovu dobijenih rezultata, paradajz je biljka koja je klasifikovana kao „umereno osetljiva“ na povećan salinitet, što znači da može da podnese zaslanjenost supstrata do EC 2.5 dS m⁻¹ bez gubitka prinosa (Maas, 1986).

U rezultatima ove disertacije, drugi i treći nivo zaslanjenosti supstrata (S2 i S3) statistički značajno smanjuju prosečnu masu ploda oba ispitivana hibrida u poređenju sa kontrolom. Nekalemljene biljke hibrida Buran F1 imaju za 64% manju prosečnu masu ploda na S2, a na S3 za 79% (Tab. 4). I kod kalemljenih biljaka ovog ispitivanog hibrida S2 i S3 dovode do statistički značajnog smanjenja ploda u poređenju sa kontrolom (na S2 za 34%, a na S3 za 45%).

Rezultati pokazuju da i nekalemljene biljke hibrida Berberane F1 izložene drugom i trećem nivou povećanog zemljišnog saliniteta takođe imaju statistički značajan pad prosečne mase ploda u poređenju sa kontrolom, gde S2 dovodi do smanjenja za 62%, a S3 za 69%. Kalemljene biljke hibrida Berberane F1 na S2 gube prosečnu masu ploda za 41% u poređenju sa kontrolom, a na S3 za 49%.

Kalemljenje biljaka statistički značajno povećava masu ploda u poređenju sa nekalemljenim biljkama na S2 i S3. Kalemljene biljke Burana F1 imaju veću masu ploda u poređenju sa nekalemljenima za 40% na S2 i 60% na S3, dok je kod hibrida Berberana F1 na S2 za 45% veća prosečna masa ploda kod kalemljenih biljaka u poređenju sa nekalemljenom varijantom, a na S3 za 48% (Tab. 4).

Tabela 4. Prosečna masa ploda po biljci (g ± SD) nekalemljenih (NK) i kalemljenih (K) hibrida Buran F1 i Berberana F1 izloženih različitim nivoima zaslanjenosti supstrata (S1, EC 3.9 dS m⁻¹; S2, EC 6.9 dS m⁻¹; S3, EC 9,1 dS m⁻¹). * označava statistički značajnu razliku između NK i K biljaka oba genotopa prema LSD testu (p < 0.05)

Salinitet	Buran F1 NK	Buran F1 K	Berberana F1 NK	Berberana F1 K
Kontrola	226.50 ± 23.44	200.24 ± 28.20	179.22 ± 13.37	208.81 ± 22.10
S1	221.23 ± 25.36	171.79 ± 8.36	165.58 ± 19.28	204.50 ± 28.97
S2	80.34 ± 15.21*	133.39 ± 8.56*	68.20 ± 11.16*	123.49 ± 20.33*
S3	47.67 ± 15.07*	110.03 ± 3.38*	55.79 ± 11.78*	107.95 ± 18.38*

Povećana zaslanjenost zemljišta dovodi do smanjenja vodnog potencijala u zoni korena što dovodi do nedostatka vode. Takođe, povećana zaslanjenost zemljišta je povezana

sa neravnotežom u usvajanju jona i fito-toksičnosti jona Na^+ i Cl^- čime dolazi do poremećaja u translokaciji fotosintetičkih produkata prema korenu, do zatvaranja stoma i negativnog efekta na procese asimilacije (Zhang i sar., 2016). Iz tih razloga, soni stres uvek dovodi do smanjenja mase ploda (Del Amour i sar., 2001). Qaryouti i sar. (2007) su u svojim istraživanjima na paradajzu utvrdili da zaslanjenost preko 5 dS m^{-1} dovodi do značajnog gubitka prinosa, što su povezali sa značajno manjim WUE (engl. water use efficiency) biljaka u uslovima povećanog saliniteta. U istraživanjima Hajiboland i sar. (2010) smanjenje rasta i prinosa paradajza u uslovima povećanog saliniteta (5 dS m^{-1} i 10 dS m^{-1}) objašnjeno je smanjenom translokacijom fotosintetičkih produkata, gubitkom lisne površine, delimičnim ili totalnim zatvaranjem stoma i jonskim disbalansom. Bustomi i sar. (2014) su utvrdili da salinitet veći od 4 dS m^{-1} dovodi do značajnog smanjenja prinosa paradajza, usled značajnog smanjenja broja i veličine plodova, što je u korelaciji sa rezultatima ove disertacije, obzirom da je salinitet preko 6 dS m^{-1} doveo do značajnog smanjenja mase ploda. Zhai i sar. (2015) su u eksperimentu rađenom na jednom kultivaru paradajza izloženom različitim nivoima zaslanjenosti supstrata (3 dS m^{-1} , 4 dS m^{-1} , 4.5 dS m^{-1} , 5 dS m^{-1} , 5.5 dS m^{-1}) utvrdili je da povećani salinitet (iznad 4 dS m^{-1}) značajno smanjuje veličinu i masu ploda. Utvrdili su da zaslanjenost supstrata ima poguban uticaj na masu ploda, a time i na ukupan prinos, usled smanjenog turgorovog pritiska, smanjene brzine ćelijskog rasta i štete prouzrokovane na hloroplastima, što dovodi do smanjenog intenziteta fotosinteze. Sve ove promene utiču na nakupljanje suve materije u plodu i na prinos.

Kalemljenje biljaka je jedna od najpopularnijih agrotehničkih metoda koja nema nikakvih štetnih posledica za okolinu (engl. environmentally friendly) i kojom se mogu prevazići problemi gajenja biljaka u uslovima povećane zaslanjenosti supstrata. Obzirom da su glavni uzroci smanjenja prinosa paradajza u uslovima povećanog saliniteta osmotski i jonski disbalans, kao i smanjenje vodnog potencijala u zoni korena (Del Amour i sar., 2001), primena ove metode može poboljšati usvajanje vode i povećati toleranciju povrća gajenih u uslovima navedenog stresa (Oztekin i sar., 2013). U skladu sa rezultatima ove disertacije u kojoj kalemljene biljke paradajza Buran F1 i Berberana F1 imaju manji gubitak mase ploda u poređenju sa nekalemljenim biljkama na EC većem od $3,8 \text{ dS m}^{-1}$, u istraživanjima Al-Harbi i sar. (2017) utvrđeno je da na EC većem od $3,5 \text{ dS m}^{-1}$ kalemljenje biljaka kao agrotehnička metoda je izuzetno efikasna, obzirom da sprečava gubitak prinosa na tom nivou zaslanjenosti.

6.2.4. Intenzitet fotosinteze, protok gasova kroz stome i intenzitet transpiracije

Rast i razviće biljaka su rezultat integrisanih i regulisanih fizioloških procesa, gde je najdominantniji fiziološki proces fotosinteza. Rast biljaka i produkcija biomase se meri neto fotosintezom, a stres usled povećane zaslanjenosti supstrata značajno utiče na ovaj parametar (Munns i sar., 2006).

Kod nekalemljenih biljaka hibrida Buran F1, uočava se statistički značajno manji intenzitet fotosinteze na svim nivoima zaslanjenosti supstrata (na S1 za 16%, na S2 za 29% i na S3 za 62%) u odnosu na kontrolu (Tab. 5). Kod kalemljene varijante istog hibrida postoji statistički značajno manji intenzitet fotosinteze takođe na svim nivoima zaslanjenosti supstrata u poređenju sa kontrolom (na S1 za 12%, na S2 za 23%, te na S3 za 40%) (Tab. 5). Kod hibrida Berberana F1 nekalemljene biljke imaju statistički visoko značajno manji intenzitet fotosinteze na S1 (25%), S2 (44%) i S3 (74%) u poređenju sa kontrolom. Kod kalemljenih biljaka istog hibrida povećani zemljišni salinitet takođe dovodi do statistički značajnog pada intenziteta fotosinteze i to za 24% na S1, 33% na S2 i 43% na S3 (Tab. 5).

Efekti povećane zaslanjenosti supstrata mogu biti direktni usled smanjenog usvajanja CO₂ (Flexas i sar., 2004, 2007) i promena u fotosintetičkom metabolizmu (Lawlor i Cornic, 2002) ili indirektni, povezani sa oksidativnim stresom. Mnogobrojna istraživanja ukazuju na redukciju intenziteta fotosinteze usled sonog stresa (Chaudhuri i Choudhuri, 1997; Soussi i sar., 1998; Romero-Aranda i sar., 2001; Da Silva 2011). Stres usled povećane zaslanjenosti supstrata dovodi do akumulacije NaCl u hloroplastima viših biljaka što utiče na njihov rast i često je povezan sa smanjenjem aktivnosti u fotosintetskom transportu elektrona (Boyer, 1976; Kirst, 1989; Munns i sar., 2006). Ovaj vid abiotičkog stresa inhibira aktivnost fotosistema 2 (PS2) (Mishra i sar., 1991; Masojídek i Hall, 1992; Belkhodja i sar., 1994; Everard i sar., 1994; Singh i Dubey, 1995; Tiwari i sar., 1997; Kao i sar., 2003; Parida i sar., 2003). U nekim istraživanjima aktivnost PS2 je smanjena usled disocijacije polipeptida od 23 kDa vezanog za ovaj sistem (Kuwabara i Murat, 1982; Miyao i Murata, 1983; Murata i sar., 1992). Khan (2000) je utvrdio da stres soli usporava produkciju fotosintetičkih pigmenta, dok je u istraživanjima Sharma i Hall (1991) naglašeno da ovaj vid stresa dovodi do degradacije β-karotena, što smanjuje sadržaj karotenoida koji su integrisani u tilakoidnu membranu i imaju ulogu u apsorpciji i transferu svetla do hlorofila i štite ga od fotooksidacije

(Taiz i Zeiger, 2009). S toga, degradacija u sintezi karotenoida svakako dovodi do degradacije hlorofila. U uslovima povećane zaslanjenosti supstrata pristupačnost atmosferskog CO₂ je redukovana usled zatvaranja stoma (He i sar., 2009). S druge strane, promene u elektron-transportnom sistemu vezane za smanjenu aktivnosti ferodoksina uslovljavaju transfer elektrona od PSI na kiseonik i favorizuju stvaranje uslova za nastanak ROS formi koje dalje dovode do niza oštećenja (Stikić i Jovanović, 2015). Takođe, obzirom da stres usled povećane zaslanjenosti supstrata ograničava fotosintetičku fiksaciju CO₂, apsorpcija svetlosne energije od strane fotosintetičkih pigmenata prevazilazi stopu potrošnje u hloroplastima (Foyer i Noctor, 2005). Ovaj višak energije može ubrzati oštećenje PS2 putem stvaranja ROS (Melis, 1999; Yang i sar., 2007).

Protok gasova kroz stome (gs) prati trend intenziteta fotosinteze, gde sa povećanjem zemljišnog saliniteta dolazi do pada protoka gasova kroz stome. Nekalemljene biljke hibrida Buran F1 imaju u poređenju sa kontrolom, za 38% manji protok gasova kroz stome na S1, te za 43% na S2 i za 65% na S3 (Tab. 5). Kod kalemljenih biljaka istog hibrida trend je isti, te ove biljke takođe imaju manji protok gasova na svim nivoima saliniteta (na S1 za 29%, na S2 za 53%, te na S3 za 62%) (Tab. 5). Kod nekalemljenih biljaka hibrida Berberana F1 protok gasova kroz stome je statistički značajno manji u odnosu na kontrolu (na S1 za 23%, na S2 za 68% i na S3 za 91%). Kalemljene biljke istog hibrida dovode do statistički značajno manjeg protoka gasova samo na S2 (36%) i S3 (66%) nivou zaslanjenosti supstrata u poređenju sa kontrolom (Tab. 5).

U rezultatima ove disertacije, smanjenje intenziteta fotosinteze zajedno sa smanjenom provodljivošću stoma i kod kalemljenih i nekalemljenih biljaka oba ispitivana hibrida izloženih uslovima povećane zaslanjenosti supstrata u skladu je sa rezultatima Meloni i sar. (2003) kod kojeg je takođe izmereno smanjenje intenziteta fotosinteze i provodljivosti stoma u kultivarima pamuka izloženim 50 i 100 mmol L⁻¹ NaCl. U istraživanjima Romero-Aranda i sar. (2001) povećani salinitet (35 mM i 70 mM) doveo je do značajnog smanjenja intenziteta fotosinteze, provodljivosti stoma i intenziteta transpiracije kod dva kultivara paradajza. Smanjene intenziteta transpiracije sa povećanjem saliniteta objasnili su smanjenom gustinom stoma i njihovom manjom provodljivošću gasova. Do sličnih rezultata došli su i Stoeva i Kaymakanova (2008) radeći sa pasuljem gajenim na zaslanjenom supstratu (50 mM i 100 mM), gde je sa povećanjem saliniteta došlo do značajnog smanjenja provodljivosti stoma i

Morfo-fiziološke osobine paradajza u uslovima povećanog saliniteta

intenziteta transpiracije. Ove rezultate su objasnili kao efikasno prilagođavanje stresnim uslovima, odnosno ekonomičnijim usvajanjem vode i smanjenim usvajanjem jona Na^+ i Cl^- .

I u rezultatima ove disertacije stres usled povećane zaslanjenosti supstrata doveo je do značajnog smanjenja intenziteta transpiracije. Kod nekalemljenih biljaka hibrida Buran F1 sa povećanjem saliniteta dolazi do statistički značajnog smanjenja intenziteta transpiracije u poređenju sa kontrolom (na S1 za 11%, na S2 za 31%, te na S3 za 62%). Kod kalemljenih biljaka hibrida Buran F1 samo S2 i S3 dovode do statistički značajnog pada intenziteta transpiracije (S2 za 25% i S3 za 34%) (Tab. 5). I kod kalemljenih i kod nekalemljenih biljaka hibrida Berberana F1 samo S2 i S3 dovode do statistički značajnog opadanja intenziteta transpiracije. Kod nekalemljenih biljaka S2 dovodi do opadanja intenziteta transpiracije za 21%, a S3 za 67%. Kod kalemljenih biljaka istog hibrida taj pad je blaži i iznosi 10% na S2, te 40% na S3 (Tab. 5).

Tabela 5. Prosečna vrednost intenziteta fotosinteze (A), provodljivost stoma (gs) i intenziteta transpiracije (E) (\pm SD) nekalemljenih i kalemljenih hibrida Buran F1 i Berberana F1 izloženih različitim nivoima zaslanjenosti supstrata (S1, EC 3.9 dS m^{-1} ; S2, EC 6.9 dS m^{-1} ; S3, EC 9,1 dS m^{-1}). * označava statistički značajnu razliku između NK i K biljaka oba genotopa prema LSD testu ($p < 0.05$)

Hibrid	Salinitet	A ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	gs ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	E ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
Buran F1 NK	Kontrola	13,80 \pm 0,27	0,49 \pm 0,03	5,30 \pm 0,07
Buran F1 NK	S1	11,60 \pm 0,23*	0,30 \pm 0,02*	4,71 \pm 0,05*
Buran F1 NK	S2	9,80 \pm 0,1*	0,20 \pm 0,01*	3,66 \pm 0,1*
Buran F1 NK	S3	5,30 \pm 0,1*	0,17 \pm 0,01*	2,02 \pm 0,14*
Buran F1 K	Kontrola	16,30 \pm 0,5	0,45 \pm 0,05	5,48 \pm 0,22
Buran F1 K	S1	14,00 \pm 0,42*	0,32 \pm 0,01*	5,29 \pm 0,32
Buran F1 K	S2	12,50 \pm 0,64*	0,21 \pm 0,02*	4,10 \pm 0,06*
Buran F1 K	S3	9,0 \pm 0,11*	0,17 \pm 0,005*	3,59 \pm 0,05*
Berberana F1 NK	Kontrola	13,30 \pm 0,1	0,44 \pm 0,05	4,71 \pm 0,08
Berberana F1 NK	S1	10,02 \pm 0,07*	0,34 \pm 0,05*	4,59 \pm 0,4
Berberana F1 NK	S2	7,39 \pm 0,37*	0,14 \pm 0,01*	3,73 \pm 0,04*
Berberana F1 NK	S3	3,44 \pm 0,56*	0,04 \pm 0,009*	1,56 \pm 0,15*

Morfo-fiziološke osobine paradajza u uslovima povećanog saliniteta

Berberana F1 K	Kontrola	15,05 ± 0,08	0,30 ± 0,009	5,30 ± 0,02
Berberana F1 K	S1	11,45 ± 0,26*	0,28 ± 0,02	5,16 ± 0,24
Berberana F1 K	S2	10,07 ± 0,48*	0,19 ± 0,009*	4,77 ± 0,06*
Berberana F1 K	S3	8,64 ± 0,23*	0,10 ± 0,01*	3,19 ± 0,08*

Različita istraživanja pokazuju da kod biljaka paradajza kalemljenje utiče na njihovu bolju adaptaciju u uslovima sonog stresa (Santa-Cruz i sar., 2001, 2002). Rezultati ovog istraživanja pokazuju da kalemljene biljke oba ispitivana hibrida imaju veću stopu fotosinteze i transpiracije u odnosu na nekalemljene biljke na svim nivoima saliniteta. Ovi rezultati u skladu su sa istraživanjima He i sar. (2009) kod kojih kalemljen kultivar paradajza ima veću stopu A, gs i E nego nekalemljene biljke istog kultivara na salinitetu od 100 mM i 150 mM. Objašnjenje za to je da kalemljene biljke imaju veći WUE (engl. Water Use Efficiency) u uslovima povećanog saliniteta nego nekalemljene biljke. Veći WUE je veoma značajan za toleranciju biljaka na povećani salinitet, obzirom da visok WUE može smanjiti usvajanje soli i ublažiti nedostatak vode (Moya i sar., 1999; Karaba i sar., 2007). Takođe i istraživanja drugih naučnika ukazuju da tehnika kalemljenja poboljšava fotosintezu kod biljaka u uslovima sonog stresa (Moya i sar., 2002; Massai i sar., 2004).

7. ZAKLJUČAK

Na osnovu istraživanja i dobijenih rezultata mogu se izvesti sledeći zaključci:

- Različiti nivoi zaslanjenosti supstrata u ogledima doveli su do značajnih promena u rastu i metabolizmu ispitivanih hibrida paradajza;
- Ustanovljena je razlika u reakciji kalemljenih i nekalemljenih hibrida paradajza na ispitivane nivoe zaslanjenosti supstrata;
- Ustanovljeno je da su antioksidansi SOD i askorbat (AA) imali ključnu ulogu u antioksidativnoj zaštiti u uslovima povećane zaslanjenosti supstrata;
- Ustanovljena je interhibridna razlika u aktivnosti SOD i AA, obzirom da je kod hibrida Buran F1 najveća aktivnost zabeležena na S1, a kod hibrida Berberana F1 na S3;
- Utvrđena je manje značajna uloga peroksidaza u dugoročnom odgovoru biljaka paradajza na povećanu zaslanjenost supstrata tokom faze zrenja;
- Tokom dvanaest nedelja izloženosti biljaka paradajza sonom stresu biljke su se dobro adaptirale, na šta ukazuje povećan sadržaj AA, kao i odnos AA/DHA, što je verovatno posledica brze regeneracije AA;
- Kalemljene biljke imaju manju potrebu za antioksidativnom zaštitom u poređenju sa nekalemljenim što dovodi do manjeg sadržaja neenzimskih antioksidativnih komponenti u listovima i plodovima kod oba ispitivana hibrida na svim nivoima povećane zaslanjenosti supstrata;
- Kalemljene biljke su bolje adaptirane na uslove sonog stresa u poređenju sa nekalemljenim, bolje usvajaju vodu i nutrijente, usled čega dolazi do manjeg gubitka prosečne mase ploda, što je sa ekonomskog aspekta od izuzetne važnosti;
- Rezultati ovog istraživanja pokazuju da bi se upotrebom kalemljenog rasada smanjile posledice povećane zaslanjenosti supstrata pri proizvodnji paradajza u zaštićenom prostoru, što svakako ima i svoju veliku praktičnu i ekonomsku opravdanost.

8. LITERATURA

- Abdallah S.B., Aung B., Amyot L., Lalin I., Lachâal M., Karray-Bouraoui N., Hannoufa, A. (2016). Salt stress (NaCl) affects plant growth and branch pathways of carotenoid and flavonoid biosyntheses in *Solanum nigrum*. *Acta Physiologiae Plantarum* 38,1-13.
- Abdel-Monaim, M. F. (2012): Induced systemic resistance in tomato plants against *Fusarium* wilt disease. *Int. Res. J. Microbiol*, 3, 14-23.
- Acosta-Motos, J. R., Ortuño, M. F., Bernal-Vicente, A., Diaz-Vivancos, P., Sanchez-Blanco, M. J., Hernandez, J. A. (2017): Plant Responses to Salt Stress: Adaptive Mechanisms. *Agronomy*, 7(1), 18.
- Adalid, A. M., Rosello, S., Nuez F. (2010): Evaluation and selection of tomato accessions (*Solanum* section *Lycopersicon*) for content of lycopene, β -carotene and ascorbic acid, *Journal of Food Composition and Analysis*, 23, 613-618.
- Adams, P. (1986): Mineral nutrition. In *The tomato crop* (pp. 281-334). Springer Netherlands.
- Adams, P. (1991): Effects of increasing the salinity of the nutrient solution with major nutrients or sodium chloride on the yield, quality and composition of tomatoes grown in rockwool. *Journal of Horticultural Science*, 66(2), 201-207.
- Adams, P., Ho, L. C. (1989): Effects of constant and fluctuating salinity on the yield, quality and calcium status of tomatoes. *Journal of Horticultural Science*, 64(6), 725-732.
- Agarwal, S., Rao, A. V. (2000). Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases. *Canadian Medical Association Journal*, 163, 739-744.
- Agati, G., Biricolti, S., Guidi, L., Ferrini, F., Fini, A., Tattini, M. (2011): The biosynthesis of flavonoids is enhanced similarly by UV radiation and root zone salinity in *L. vulgare* leaves. *Journal of Plant Physiology* 168, 204–212.
- Ahmad, M., Munir, M., Shahzad, A., Masood, M.S. and Iqbal, M. (2011): Evaluation of bread wheat genotypes for salinity tolerance under saline field conditions. *Afr. J. Biotechnol.*, 10, 4086-4092.
- Ahmad, P., Azooz, M. M., Prasad, M. N. V. (Eds.). (2012): *Ecophysiology and responses of plants under salt stress*. Springer Science & Business Media.

- Akram, N.A., Ashraf, M. (2011): Improvement in growth, chlorophyll pigments and photosynthetic performance in salt-stressed plants of sunflower (*Helianthus annuus* L.) by foliar application of 5-aminolevulinic acid. – *Agrochimica* 55, 94-104.
- Al-Harbi, A., Hejazi, A., Al-Omran, A. (2017): Responses of grafted tomato (*Solanum lycopersicon* L.) to abiotic stresses in Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(6), 1274-1280.
- Ali H., Ismail G. (2014): Tomato fruit quality as influenced by salinity and nitric oxide. *Turkish Journal of Biology*, 38, 122-129.
- Alscher, R. G., Erturk, N., Heath, L. S (2002): Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *J. Exp. Bot.* 53, 1331-1341.
- AOAC (1990). Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists 15th ed., Association of Official Analytical Chemists, Arlington VA, pp. 1058-1059.
- Apel, K., Hirt, H. (2004): Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55, 373-399 .
- Arab, L., Steck, S.(2000): Lycopene and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 71, 1691S–5S.
- Arfan, M., Athar, H. R., Ashraf, M. (2007): Does exogenous application of salicylic acid through the rooting medium modulate growth and photosynthetic capacity in differently adapted spring wheat cultivars under salt stress? – *J. Plant Physiol.* 6, 685-694.
- Arora, A., Sairam, R. K., Srivastava, G.C. (2002): Oxidative stress and antioxidative systems in plants. *Curr Sci.* 82,1227–1238.
- Arumuganathan, K., Earle, E. D. (1991): Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant molecular biology reporter*, 9(3), 208-218.
- Asada, K. (1992): Ascorbate peroxidase—a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. *Physiol Plantarum* 85, 235–241.
- Asada, K. (1999): The water–water cycle in chloroplasts: Scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 50, 601–639.
- Ashraf, M., Sultana, R. (2000): Combination effect of NaCl salinity and N-form on mineral composition of sunflower plants. – *Biol. Plant.* 43: 615-619.

- Babu, M. A., Singh, D., Gothandam, K. M. (2012): The effect of salinity on growth, hormones and mineral elements in leaf and fruit of tomato cultivar PKM1. *J Anim Plant Sci*, 22(1), 159-164.
- Bandoğlu, E., Eyidoga, F., Yücel, M., Öktem, H.A. (2004): Antioxidant responses of shoots and roots of lentil to NaCl-salinity stress. *J. Plant Growth Regul.* 42, 69-77.
- Barata-Soares, A. D., Gomez, M. L., Mesquita, C. H. D., Lajolo, F. M. (2004): Ascorbic acid biosynthesis: a precursor study on plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 16(3), 147-154.
- Barnes, J., Zheng, Y., Lyons, T. (2002): Plant resistance to ozone: the role of ascorbate. In *Air pollution and plant biotechnology* (pp. 235-252). Springer Japan.
- Belkhodja, R., Morales, F., Abadia, A., Gomez-Aparisi, J., Abadia, J.: Chlorophyll fluorescence as a possible tool for salinity tolerance screening in barley (*Hordeum vulgare* L.). – *Plant Physiol.* **104**: 667-673, 1994.
- Benzie, I.F., Strain, J.J. (1996): The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem.* 239, 70-76.
- Bersi, M. (2002): Tomato grafting as an alternative to methyl bromide in Morocco. Institut Agronomie et Veterinaire Hasan II. Morocco.
- Beutner, S., Bloedorn, B., Frixel, S., Blanco, I. H., Hoffmann, T., Martin, H. D., Mayer, B., Noach, P., Ruck, C., Schmidt, M., Schulke, I., Seli, S., Ernst, H., Haremza, S., Seybold, G., Sies, H., Stahl, W., Walsh, R. (2001): Quantitative assessment of antioxidant properties of natural colorants and phytochemicals: carotenoids, flavonoids, phenols and indigoids. The role of b-carotene in antioxidant functions. *J Sci Food Agric.* 81, 559–568.
- Boamah, P.O., Sam-Amoah, L.K., Onumah, J.(2011): Effect of salinity level of irrigation water on the yield of the tomato. *ARPN J. Ag. & Bio. Sci.* 6, 49-53.
- Bohnert H. J. (2007): *Abiotic Stress*: John Wiley & Sons, Ltd.
- Bors, W. et al. (1990): Flavonoids as antioxidants: determination of radical scavenging efficiencies, *Methods Enzymol.* 186, 343-355
- Borsani, O., Valpuesta, V., Botella, M.A.(2003): Developing salt tolerant plants in a new century: a molecular biology approach. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 73, 101–115.
- Bowler, C., Van Montagu, M., Inzé, D. (1992): Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol.* 1992;43:83–116.

- Boyer, J.S.(1976): Water deficits and photosynthesis. In: Kozlowski TT, ed. Water deficits and plant growth, Vol. 4 New York: Academic Press, 153–190.
- Braidot E., Zancani M., Petrusa E., Peresson C., Bertolini A., Patui S., Macrì F., Vianello A. (2008). Transport and accumulation of flavonoids in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Plant Signaling and Behavior* 3, 626-632.
- Bramley, P. M. (2000): Is lycopene beneficial to human health?. *Phytochemistry*, 54(3), 233-236.
- Bustan, A., Pasternak, D., Pirogova, I., Durikov, M., Devries, T. T., El- Meccawi, S., Degen, A. A. (2005): Evaluation of saltgrass as a fodder crop for livestock. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(12), 2077-2084.
- Bustomi, R.A., Senge, M.S.T.R., Suhand, D., Tusi, A. (2014): The Effect of EC Levels of Nutrient Solution on the Growth, Yield, and Quality of Tomatoes (*Solanum Lycopersicum*) under the Hydroponic System. *J. Agric Eng. Biotechnol.* 2, 7-12.
- Campos, C. A. B., Fernandes, P. D., Gheyi, H. R., Blanco, F. F., Goncalves, C. B., Campos, S. A. F. (2006): Yield and fruit quality of industrial tomato under saline irrigation. *Sci. Agric.* 63, 146–152.
- Canene -Adams, K., Campbell, J. K., Zaripheh, S., Jeffery, E. H., Erdman, J. W. (2005): The tomato as a functional food. *Journal of Nutrition*, 135,1226-1230.
- Capanoglu, E., Beekwilder, J., Boyacioglu, D., Hall, R., De Vos, R. (2008). Changes in antioxidant and metabolite profiles during production of tomato paste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 964-973.
- Castellarin, S. Matthews, M.A., Gaspero, G.D., Gambetta, G.A. (2007): Water deficits accelerate ripening and induce changes in gene expression regulating flavonoid biosynthesis in grape berries. *Planta* 227 , 101 -112.
- 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.
- Celma, A. R., Cuadros, F., López-Rodríguez, F. (2009): Characterisation of industrial tomato by-products from infrared drying process. *Food and Bioproducts Processing*, 87, 282-291.
- Chanforan, C., Loonis, M., Mora, N., Caris-Veyrat, C., Dufour, C. (2012). The impact of industrial processing on health-beneficial tomato microconstituents. *Food Chemistry*, 134, 1786-1795.

- Charriere-Ladreix, Y., Tissut, M. (1981): Foliar flavonoid distribution during *Spinacia chloroplast isolation*. *Planta*, 151(4), 309-313.
- Chaudhuri, K., Choudhuri, M.(1997): Effects of short-term NaCl stress on water relations and gas exchange of two jute species. *Biologia Plantarum* 40: 373.
- 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.
- Chávez-Mendoza, C., Sánchez, E., Carvajal-Millán, E., Muñoz-Márquez, E., Guevara-Aguilar, A. (2013): Characterization of the Nutraceutical Quality and Antioxidant Activity in Bell Pepper in Response to Grafting . *Molecules* 18, 15689-15703.
- Chawla, S., Jain. S., Jain, V. (2013): Salinity induced oxidative stress and antioxidant system in salt-tolerant and salt-sensitive cultivars of rice (*Oryza sativa* L.). *J. Plant Biochem Biot* 22, 27-34.
- Chookhampaeng, S., Pattanagul, W., Theerakulpist, P. (2007): Screening some tomato commercial cultivars from Thailand for salinity. *Asian J Plant Sci.* 6, 788–794.
- Clinton, S.K. (1998): Lycopene: chemistry, biology, and implications for human health and disease. *Nutr Rev* 1, 35–51.
- Conesa, A., Punt, P. J., Van Den Hondel, C.A.M.J.J.(2002): Fungal peroxidases: Molecular aspects and applications. *J Biotechnol.*93,143-158.
- Cramer, G.R., Nowak, R.S. (1992): Supplemental manganese improves the relative growth, net assimilation and photosynthetic rates of salt-stressed barley.-*Physiol. Plant.* 84: 600-605.
- Cramer, M.D., Oberholzer, J.A., Combrink, N.J.J. (2001): The effect of supplementation of root zone dissolved inorganic carbon on fruit yield and quality of tomatoes (cv ‘Daniella’) grown with salinity. *Scientia Horticulturae* 89: 269–289.
- Cuartero, J., Fernandez-Munaoz, R. (1999): Tomato and salinity. *Scientia Hortic.* 78, 83-125.

- Da Silva, Evandro Nascimento, Ribeiro, Rafael Vasconcelos, Ferreira-Silva, Sérgio Luiz, Viégas, Ricardo Almeida, ilveira, Joaquim Albenisio Gomes (2011): Salt stress induced damages on the photosynthesis of physic nut young plants. *Scientia Agricola*, 68(1), 62-68.
- Dąbrowska, G., Kata, A., Goc, A., Szechyńska-Hebda, M., Skrzypek, E. (2007): Characteristics of the plant ascorbate peroxidase family. *Acta Biol Cracow Ser Bot*, 49, 7-17.
- Das, P., Nutan, K. K., Singla-Pareek, S. L., Pareek, A. (2016): Oxidative environment and redox homeostasis in plants: dissecting out significant contribution of major cellular organelles. *Redox Homeostasis Managers in Plants under Environmental Stresses*, 9.
- Das, P., Nutan, K.K., Singla-Pareek, S.L., Pareek, A. (2015): Oxidative environment and redox homeostasis in plants: dissecting out significant contribution of major cellular organelles. *Frontiers in Environmental Science* 2, 70.
- Dasgan, H.Y, Ozdurk, L., Abak, K. ,Cakmak, I., (2003): Activities of Iron- containing enzymes in leaves of two tomato genotypes differing in their resistance to Fe-chlorosis. *J. Plant Nutr.* 26, 1997-2007.
- Dat, J., Vandenabeele, S., Vranová, E., Van Montagu, M., Inzé, D., Van Breusegem, F. (2000): Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cell Mol Life Sci.* 57 , 779- 795.
- De Pascale S., Maggio, A., Fogliano, V., Ambrosino, P., Ritieni, A. (2001): Irrigation with saline water improves carotenoids content and antioxidant activity of tomato. *J. Hortic. Sci. Biotechnol* 76, 447-453.
- Del Amour, F.M., Martinez, V., Cerd, A. (2001): Salt Tolerance of Tomato Plants as Affected by Stage of Plant Development. *Hort. Sci.* 36, 1187-1193.
- Di Franco, R., Calvanese, M., Murino, P., Manzo, R., Guida, C., Di Gennaro, D., Ravo, V. (2012): Skin toxicity from external beam radiation therapy in breast cancer patients: protective effects of Resveratrol, Lycopene, Vitamin C and anthocianin (Ixor®). *Radiation Oncology* 7, 12.
- Di Lecce, G., Martínez- Huélamo, M., Tulipani, S., Vallverdú-Queralt, A., Lamuela-Raventós, R. M. (2013): Setup of a UHPLC-QqQ-MS Method for the Analysis of Phenolic Compounds in Cherry Tomatoes, Tomato Sauce, and Tomato Juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 8373-8380.

- D'Introno A., Paradiso, A., Scoditti E., D'Amico L., de Paolis A., Carluccio M.A., Nicoletti I., DeGara L., Santino A., Giovinazzo G. (2009): Antioxidant and anti-inflammatory properties of tomato fruits synthesizing different amounts of stilbenes. *Plant Biotechnology Journal* 7, 1-8.
- Diplock, A. T., Charleux, J.-L., Crozier-Willi, G., Kok, F. J., Rice-Evans, C., Roberfroid, M., Stahl W., Vina-Ribes, J. (1998). Functional food science and defence against reactive oxidative species. *British Journal of Nutrition*, 80, Suppl. 1, S77-S112.
- Dixon, R.A., Paiva, N. (1995): Stressed induced phenyl propanoid metabolism. *Plant Cell*. 7, 1085–1097.
- Ehret, D. L., Ho, L. C. (1986): Effects of osmotic potential in nutrient solution on diurnal growth of tomato fruit. *Journal of Experimental Botany*, 37(9), 1294-1302.
- Erman, J. E., Vitello, L.B. (2002): Yeast cytochrome c peroxidase: mechanistic studies via protein engineering. *Biochim Biophys Acta*. 1597,193-220.
- Erdei, L., Taleisnik, E. (1993): Changes in water relation parameters under osmotic and salt stresses in maize and sorghum. *Physiologia plantarum*, 89 (2), 381-387.
- Esfandiari, E., Shekari, F., Shekari, F., Esfandiari, M. (2007): The effect of salt stress on antioxidant enzymes activity and lipid peroxidation on the wheat seedling. *Not Bot Horti Agrobi* 35, 48-56.
- Estan, M.T., Martinez-Rodriguez, M.M., Perez-Alfoce, F., Flowers, T.J., Bolarin, M.C. (2005): Grafting raises the salt tolerance of tomato through limiting the transport of sodium and chloride to the shoot. *Journal of Experimental Botany*, 56, 703-71.
- Everard, J.D., Gucci, R., Kann, S.C., Flore, J.A., Loescher, W.H. (1994): Gas exchange and carbon partitioning in the leaves of celery (*Apium graveolens* L.). at various levels of root zone salinity. – *Plant Physiol*. 106: 281-292.
- Fernandez-García, N., Martínez, V., Carvajal, M. (2004): Fruit quality of grafted tomato plants grown under salinity conditions. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 79, 995–1001.
- Fernandez-García, N., Martínez, V., Carvajal M. (2004a): Effect of salinity on growth, mineral composition, and water relations of grafted tomato plants. *J. Plant Nutr. Soil Sci*. 167, 612–622.

- Fernandez-Garcia, N., Martinez, V., Carvajal, M. (2004b): Fruit quality of grafted tomato plants grown under salinity conditions. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 79, 995–1001.
- Fillatti, J. J., Kiser, J., Rose, R., Comai, L. (1987): Efficient transfer of a glyphosate tolerance gene into tomato using a binary *Agrobacterium tumefaciens* vector. *Nature Biotechnology*, 5(7), 726-730.
- Flexas J, Diaz-Espejo A, Galmés J, Kaldenhoff R, Medrano H, Ribas-Carbo M. (2007): Rapid variations of mesophyll conductance in response to changes in CO₂ concentration around leaves. *Plant, Cell & Environment*. 30, 1284–1298.
- Flexas, J., Bota, J., Loreto, F., Cornic, G., Sharkey, T.D. (2004): Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C₃ plants, *Plant Biology* 6, 269-279,
- Flores, B.F., Sanchez-Bel, P., Estan, M.T., Martinez-Rodriguez, M.M., Moyano, E., Morales, B., Campo, J.F., Garcia-Abellan, J.O., Egea, M.I., Fernandez-Garcia, N., Romojaro, F., Bolarin, M.C. (2010): The effectiveness of grafting to improve tomato fruit quality. *Scientia Horticulturae*, 126, 211-217.
- Flowers, T. J. (2004): Improving crop salt tolerance. *Journal of Experimental botany*, 55(396), 307-319.
- Foolad, M.R. (2007): Genome mapping and molecular breeding of tomato. *Int J Plant Genomics* 2007, 64358.
- Foyer, C. H., Noctor, G. (2000): Tansley Review No. 112 Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signalling. *The New Phytologist*, 146(3), 359-388.
- Foyer, C.H., Noctor, G.(2005): Redox homeostis and antioxidant signaling: A metabolic interface between stress perception and physiological responses. *Plant Cell*. 17, 1866-1875.
- Fraga, C. G., Oteiza, P. I. (2002): Iron toxicity and antioxidant nutrients. *Toxicology*, 180(1), 23-32.
- Frary A., Göl D., Keles D., Ökmen B., Pinar H., Sigva H.Ö., Yemenicioglu A., Doganlar S. (2010). Salt tolerance in *Solanum pennellii*: antioxidant response and related QTL. *BMC Plant Biology* 10, 58.
- Fridovich, I. (1986): Superoxide dismutases. *J. Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.* 58, 61–79.

- Gadea, J., Conejero, V., Vera, P. (1999): Developmental regulation of a cytosolic ascorbate
- Gerster, H. (1997): The potential role of lycopene for human health. *Journal of the American College of Nutrition* 16, 109-126.
- Gibson, G. R., Williams C. M. (2000): *Functional foods: concept to product*. Woodhead Publishing, Abington Hall, Abington, Cambridge CB1 6AH, England.
- Gill, S. S., Tajrishi, M., Madan, M., Tuteja, N. (2013): A DESD-box helicase functions in salinity stress tolerance by improving photosynthesis and antioxidant machinery in rice (*Oryza sativa* L. cv. PB1). *J Plant Mol Biol* 82, 1–22.
- 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.
- Giuliano, G., Bartley, G.E., Scolnik, P. (1993): Regulation of carotenoid biosynthesis during tomato development. *Plant Cell*, 5, 379 387.
- Goñi, I., Hervert-Hernández, D. (2011). By Products from Plant Foods are Sources of Dietary Fibre and Antioxidants. In: *Phytochemicals Bioactivities and Impact on Health*, Prof. Iraj Rasooli (Editor), ISBN: 978-953-307-424-5, InTech.
- Gossett, D.R., Millhollon, E.P., Lucas, M.C., (1994): Antiox- idant response to NaCl stress in salt-tolerant and salt-sensitive cultivars of cotton. *Crop Sci.* 34, 706-714.
- Gould, W. V. (1992): *Tomato Production, Processing and Technology*. CTI Publications, Baltimore.
- Grattan S.R , Grieve, C.M. (1999). Salinity-mineral nutrient relations in horticultural crops. *Scientia Horticulturae* 78,127-157.
- Guerrero, Y. R., Gonzales, L. M., Dell Amico, J., Nunez, M., Pieters, A. J. (2015): Reversion of deleterious effects of salt stress by activation of ROS detoxifying enzymes via foliar application of 24-epibrassinolide in rice seedlings. *Theor. Exp. Plant Physiol.* 27, 31-40.
- Guthrie, J. F., Derby, B. M., Levy, A. S. (1999): What people know and do not know about nutrition. *America's eating habits: Changes and consequences*, 243-290.
- Hafsi, C., Romero-Puertas, M. C., del Rio, L. A., Sandalio, L. M., Abdelly, C. (2010): Differential antioxidative response in barley leaves subjected to the interactive effects of salinity and potassium deprivation. *Plant Soil*, 334, 449-460.

- Hajiboland R., Aliasgharzadeh A., Laiegh S.F., Poschenrieder C. (2010): Colonization with arbuscular mycorrhizal fungi improves salinity tolerance of tomato (*Solanum lycopersicum L.*) plants. *Plant Soil* 331, 313-327.
- Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C. (1999): Oxidative stress and antioxidant protection: some special cases. *Free radicals in biology and medicine*, 485-543.
- Hart, D. J., Scott, K. J. (1995): Development and evaluation of an HPLC method for the analysis of carotenoids in foods, and the measurement of the carotenoid content of vegetables and fruits commonly consumed in the UK. *Food Chemistry*, 54(1), 101-111.
- Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Fujita, M. (2013): Plant Response to Salt Stress and Role of Exogenous Protectants to Mitigate Salt-Induced Damages, in Ahmad, P., Azooz, M. M., Prasad, M.N.V. : *Ecophysiology and Responses of Plants under Salt Stress*, Springer, pp 27-87.
- Hasegawa, P. M., Bressan, R. A., Zhu, J. K., Bohnert, H. J. (2000): Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual review of plant biology*, 51(1), 463-499.
- Hasler, C. (2002): Functional foods: benefits, concerns and challenges- a position paper from the American Council on Science and Health. *The Journal of Nutrition*, 132, 3772-3781.
- He, Y., Zhu, Z., Yang, J., Ni, X., Zhu, B. (2009): Grafting increases the salt tolerance of tomato by improvement of photosynthesis and enhancement of antioxidant enzymes activity. *Environmental and Experimental Botany* 66, 270–278.
- Hernandez, J. A., Corpas, F. J., Gomez, M., Río, L. A., Sevilla, F. (1993): Salt- induced oxidative stress mediated by activated oxygen species in pea leaf mitochondria. *Physiologia Plantarum*, 89(1), 103-110.
- Hernandez, J.A., Jimenez, A., Mullineaux, P.M., Sevilla, F. (2000): Tolerance of pea (*Pisum sativum L.*) to longterm salt stress is associated to induction of antioxidant defences. *Plant Cell Environ.* 23, 853-862.
- Hou, M, Shao, X., Zhai, Y. (2014): Effects of Different Regulatory Methods on Improvement of Greenhouse Saline Soils, Tomato Quality, and Yield. *Scientific World Journal* Volume 2014: Article ID 953675.
- Hu, L., Li, H., Pang, H., Fu, J. (2012): Responses of antioxidant gene, protein and enzymes to salinity stress in two genotypes of perennial ryegrass (*Lolium perenne*) differing in salt tolerance. *J. Plant Physiol.* 169, 146–156.

- Huang, J., Redmann, R. E. (1995): Solute adjustment to salinity and calcium supply in cultivated and wild barley. *Journal of Plant Nutrition*, 18(7), 1371-1389.
- International Tomato Genome Sequencing Project- SOL, https://solgenomics.net/organism/Solanum_lycopersicum/genome
- Iwashina, T. (2000): The structure and distribution of the flavonoids in plants. *Journal of Plant Research*, 113(3), 287-299.
- Jaleel C.A., Gopi R., Gomathinayagam M., Vam, R.P. (2008): Effects of calcium chloride on metabolism of salt-stressed *Dioscorea rotundata*. *Acta Biologica Cracoviensia s. Botanica* 50, 63-67.
- James, R. A., Blake, C., Byrt, C.S., Munns R. (2011): Major genes for Na⁺ exclusion, Nax1 and Nax2 (wheat HKT1;4 and HKT1;5), decrease Na⁺ accumulation in bread wheat leaves under saline and waterlogged conditions. *J. Exp. Bot.* 62 , 2939–2947.
- Ji, Y., Schuster, D. J., Scott, J. W. (2007): Ty-3, a begomovirus resistance locus near the Tomato yellow leaf curl virus resistance locus Ty-1 on chromosome 6 of tomato. *Molecular Breeding*, 20, 271-284.
- Johnson, D. W., Smith, S. E., Dobrenz, A. K. (1992): Genetic and phenotypic relationships in response to NaCl at different developmental stages in alfalfa. *TAG Theoretical and Applied Genetics*, 83(6), 833-838.
- Jones, D. A., Thomas, C.M., Hammond-Kosack, K.E., Balint-Kurti, P.J., Jones, J.D.G. (1994): Isolation of the tomato Cf-9 gene for resistance to *Cladosporium fulvum* by transposon tagging. *Science* 266, 789–793.
- Kao, W.-Y., Tsai, T.-T., Shih, C.-N. (2003): Photosynthetic gas exchange and chlorophyll *a* fluorescence of three wild soybean species in response to NaCl treatments. – *Photosynthetica* 41, 415-419.
- Karaba, A., Dixit, S., Greco, R., Aharoni, A., Trijatmiko, K.R., Marsch-Martinez, N., Krishnan, A., Nataraja, K.N., Udayakumar, M., Pereira, A. (2007): Improvement of water use efficiency in rice by expression of HARDY, an Arabidopsis drought and salt tolerance gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 104, 15270–15275.
- Kastori, R., Ilin, Ž. Maksimović, I., Putnik-Delić, M., 2013. Potassium in Plant Nutrition. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- Kaur, S., Mondal, P. (2014): Study of total phenolic and flavonoid content, antioxidant activity and antimicrobial properties of medicinal plants. *J Microbiol Exp*, 1(1), 1-6.

- Keles, Y., Oncel, L. (2000): Change of superoxide dismutase activity in wheat seedling exposed to natural environmental stresses. *Commun. Fac. Sci. Univ. Ank. Series C*, 18, 1-8.
- Kerstiens, G.; Tych, W.; Robinson, M.F.; Mansfield, T.A. (2002): Sodium-related partial stomatal closure and salt tolerance of *Aster tripolium*. *New Phytol.* 153, 509–515.
- Keutgen, A. J., Pawelzik, E. (2008): Quality and nutritional value of strawberry fruit under long term salt stress. *Food Chemistry*, 107(4), 1413-1420.
- Khairi, A.N., Falah, M. A. F., Suyantohadi, A., Takahashi, N., Nishina, H. (2015): Effect of Storage Temperatures on Color of Tomato Fruit (*Solanum Lycopersicum* Mill.) Cultivated under Moderate Water Stress Treatment. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*.3, 178–183.
- Khan M.A, Ungar I.A, Showalter A.M. (2000). The effect of salinity on the growth, water status, and ion content of a leaf succulent perennial halophyte, *Suaeda fruticosa* (L.) Forssk. *Journal of Arid Environments* 45,73-84.
- Khan, N. A., Syeed, S., Masood, A., Nazar, R., Iqbal, N. (2010): Application of salicylic acid increases contents of nutrients and antioxidative metabolism in mungbean and alleviates adverse effects of salinity stress. *International Journal of Plant Biology*, 1(1).
- Khodary, S.E.A. (2004): Effect of NaCl salinity on improvement of nitrogen metabolism and some ions uptake in lupine plants subjected to gamma irradiation. *Int. J. Agri. Biol.* 6, 1-4.
- Kim, L., Rao, A.V., Rao, L.G. (2002): Effect of lycopene on Prostate LNCaP cancer cells in culture. *J Med Food* 5, 181–187.
- Kirst, G. (1989): Salinity tolerance of eukaryotic marine algae. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol.*, 40, 21–53.
- Knapp, S. (2002): Tobacco to tomatoes: a phylogenetic perspective on fruit diversity in the Solanaceae. *Journal of Experimental Botany*, 53, 2001-2022.
- Kotuby-Amacher J., K. Koenig, B. Kitchen (2000): Salinity and plant tolerance. Utah State University. University Extension, Logan, AG-SO-03.
- Koussevitzky, S., Suzuki, N., Huntington, S., Armijo, L., Sha, W., Cortes, D., Shulaev, V., Mittler, R. (2008): Ascorbate peroxidase 1 plays a key role in the

response of *Arabidopsis thaliana* to stress combination. *Journal of Biological Chemistry* 283, 34197–34203

- Krauss S., Schnitzler W., Grassmann J., Woltike M. (2006): The influence of different electrical conductivity values in a simplified recirculating soilless system on inner and outer fruit characteristics of tomato. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54, 441-448.
- Kukavica, B., Topalić-Trivunović, Lj., Šuškalović, N., Hasanagić, D., Kukrić, Z., Janjić, N., Savić, A., Samelak, I. (2017): Matabolički odgovor drvenastig biljaka na ekološke uslove u urbanim sredinama. Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Banjoj Luci. Banja Luka.
- Kukavica, B., Veljović-Jovanović, S., (2004): Senescence-related changes in the antioxidant status of ginkgo and birch leaves during autumn yellowing. *Physiol. Plant.* 122, 321-327.
- Kukrić i Samelak. Neenzimski antioksidativni metabolizam. U knjizi: Kukavica, B., Topalić-Trivunović, Lj., Šuškalović, N., Hasanagić, D., Kukrić, Z., Janjić, N., Savić, A., Samelak, I. (2017): Matabolički odgovor drvenastig biljaka na ekološke uslove u urbanim sredinama. Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Banjoj Luci. Banja Luka
- Kütük, C., Çaycı, G., Heng, L. K. (2004): Effects of increasing salinity and ¹⁵N-labelled urea levels on growth, N uptake, and water use efficiency of young tomato plants. *Soil Research*, 42(3), 345-351.
- Kuwabara, T., Murata, N. (1982): Inactivation of photosynthetic oxygen evolution and concomitant release of three polypeptides in the photosystem II particles of spinach chloroplasts. – *Plant Cell Physiol.* 23, 533-539.
- Lapina, L.P., Popov, B.A. (1970): [Effect of sodium chloride on photosynthetic apparatus of tomatoes.] – *Fiziol. Rast.* 17: 580-584.
- Larcher, W. (1980): *Physiological Plant Ecology*, 2nd edn., 190, Springer, Berlin.
- Lawlor DW, Cornic G. (2002): Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, Cell & Environment.* 25, 275–294.
- Lee, J. M. (1994): Cultivation of grafted vegetables I. Current status, grafting methods, and benefits. *HortScience*, 29(4), 235-239.

- Lenucci, M. S., Durante, M., Anna, M., Dalessandro, G., Piro, G. (2013). Possible Use of the Carbohydrates Present in Tomato Pomace and in Byproducts of the Supercritical Carbon Dioxide Lycopene Extraction Process as Biomass for Bioethanol Production. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61, 3683-92.
- Lešić, R., Borošić, J., Buturac, I., Ćustić-Herak, M., Poljak, M., Romić, D. (2004). Povrćarstvo. Zrinski, Čakovec.
- Leucuta, S., Vlase, L., Gocan, S., Radu, L., Fodorea, C. (2005): Determination of phenolic compounds from *Geranium sanguineum* by HPLC. *Journal of liquid chromatography & related technologies*, 28(19), 3109-3117.
- Li, T. Y., Zhang, Y., Liu, H., Wu, Y., Li, W., Zhang, H. (2010): Stable expression of Arabidopsis vacuolar Na⁺/H⁺ antiporter gene AtNHX1, and salt tolerance in transgenic soybean for over six generations. *Chinese Science Bulletin*, 55(12), 1127-1134.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., Randall, R. J. (1951): Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265-275.
- Luthria, D.L., Mukhopadhyay, S., Krizek, D. (2006): Content of total phenolics and phenolic acids in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruits as influenced by cultivar and solar UV radiation. *J Food Com Anal* 19, 771-777.
- Maas, E.V. (1986): Salt tolerance of plants. *Applied Agriculture Research*, 1, 12-26.
- Magan, J.J., Gallardo, M., Thompson, R.B, Lorenzo P. (2008): Effects of salinity on fruit yield and quality of tomato grown in soil-less culture in greenhouses in Mediterranean climatic conditions. *Agric. Water Manage.*, 95, 1041-1055.
- Maggio, A., Mc Cully, L.G., Kerdnaimongkol, K., Bressan, R.A., Hasegawa, P.M., Joly, R.J. (2002): The ascorbic acid cycle mediates signal transduction leading to stress-induced stomatal closure. *Functional Plant Biology* 29, 845 – 852.
- Maggio, A., Raimondi, G., Martino, A., De Pascale, S. (2007): Salt stress response in tomato beyond the salinity tolerance threshold. *Environmental and Experimental Botany*, 59(3), 276-282.
- Mahajan, S., Tuteja, N. (2005): Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Arch. Biochem. Biophys.* 444, 139-158.
- Manaa, A., Faurobert, M., Valot, B., Bouchet, J.P. , Grasselly, D., Causse, M., Ben Ahmed, H. (2013): Effect of Salinity and Calcium on Tomato Fruit Proteome. *OMICS* 17, 338-352.

- Mao L, Huang Q, Luo Q, Lu J, Yang X, Gao S. (2010): Ligninase-mediated removal of 17 β -estradiol from water in the presence of natural organic matter: Efficiency and pathways. *Chemosphere*.80, 469-473.
- Martinez-Ballesta, M.C., Lopez-Perez, L., Hernández, M., Lopez-Berenguer, C., Fernandez-Garcia, N., Carvajal, M. (2008): Agricultural practices for enhanced human health. *Phytochem. Rev.* 7, 251–260.
- 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 the Science of Food and Agriculture*, 82(3), 323-330.
- Masojídek, J., Hall, D.O. (1992): Salinity and drought stress are amplified by high irradiance in sorghum. – *Photosynthetica* 27:159-171.
- Massai, R., Remorini, D., Tattini, M., (2004): Gas exchange, water relations and osmotic adjustment in two scion/rootstock combinations of *Prunus* under various salinity concentrations. *Plant Soil* 259, 153–162.
- McCormick, S., Niedermeyer, J., Fry, J., Barnason, A., Horsch, R., Fraley, R. (1986): Leaf disc transformation of cultivated tomato (*L. esculentum*) using *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Cell Reports*, 5(2), 81-84.
- Mehari, Z.H., Elad, Y., Rav-David, D., Graber, E.R., Harel, Y.M. (2015): Induced systemic resistance in tomato (*Solanum lycopersicum*) against *Botrytis cinerea* by biochar amendment involves jasmonic acid signaling. *Plant and Soil*. Vol 395,31-44.
- Melis, A. (1999): Photosystem-II damage and repair cycle in chloroplasts: what modulates the rate of photodamage in vivo? *Trends Plant Sci.* 4, 130–135.
- Meloni, D. A, Oliva, M. A., Martineza, C. A., Cambraia, J. (2003): Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. *Environ. Exp. Bot.* 49, 69–76.
- Menda, N., Semel, Y., Peled, D., Eshed, Y., Zamir, D. (2004): In silico screening of a saturated mutation library of tomato. *The Plant Journal*, 38(5), 861-872.
- Milić B., Đilas S., Čanadanović-Brunet J., Sakač M. (2000): Biljni polifenoli, Univerzitet u Novom Sadu, 2000.
- Miller, E., Schreier, P. (1985): Studies on flavonol degradation by peroxidase (donor: H₂O₂-oxidoreductase, EC 1.11. 1.7): Part 1—Kaempferol. *Food chemistry*, 17(2), 143-154.

- Misbaudeen, A.H., Olugbenga, S.B., Musibau, A. A, Nafisat, O. A (2015): Bioinformation of carotenoids in tomatoes (*Lycopersicon esculentum*) under two ripening conditions: A Kinetic study. International Journal of Scientific & Engineering Research, Vol 6, 293-301.
- Mishra, S.K., Subrahmanyam, D., Singhal, G.S. (1991): Inter-relationship between salt and light stress on the primary processes of photosynthesis. – J. Plant Physiol. 138: 92-96.
- Misra, N., Gupta, A. K. (2005): Effect of salt stress on proline metabolism in two high yielding genotypes of green gram. Plant Science, 169(2), 331-339.
- Mišković, A., Vujasinović, V., Vukosavljević, V., Ilin, Ž. (2005): Uticaj vrste podloge za kalemljenje na kvalitet i prinos ploda paradajza, VI Smotra radova mladih naučnih radnika iz oblasti biotehnike, Zbornik rezimea, Rimski Šančevi, 116.
- Mittler, R. (2002): Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends Plant Sci. 7, 405-410.
- Mittova V., Tal M., Volokita M., Guy M. (2002): Salt stress induces up-regulation of an efficient chloroplast antioxidant system in the salt-tolerant wild tomato species *Lycopersicon pennellii* but not in the cultivated species. *Physiol. Plant.*, 115, 393–400.
- Mittova, V., Guy, M., Tal, M., Volokita, M. (2004): Salinity upregulates the antioxidative system in root mitochondria and peroxisomes of the wild salt-tolerant tomato species *Lycopersicon pennellii*. *J Exp Bot.* 55, 1105–1113.
- Mittova, V., Volokita, M., Gu,y M, Ta,l M. (2000): Activities of SOD and the ascorbate–glutathione cycle enzymes in subcellular compartments in leaves and roots of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii*. *Physiol. Plant.* 110,42–51.
- Mohammad, M., Shibli I. R., Ajlouni, M., Nimrib, L. (1998): Tomato Root and Shoot Responses to Salt Stress Under Different levels of Phosphorus Nutrition. *J. Plant Nutr.* 21, 1667-1680.
- Morita, S., Kaminaka, H., Masumura, T., Tanaka, K. (1999): Induction of rice cytosolic ascorbate peroxidase mRNA by oxidative stress; the involvement of hydrogen peroxide in oxidative stress signalling. *Plant and Cell Physiology*, 40(4), 417-422.

- Moya, J.L., Primo-Millo, E., Talon, M. (1999): Morphological factors determining salt tolerance in citrus seedlings: the shoot to root ratio modulates passive root uptake of chloride ions and their accumulation in leaves. *Plant Cell Environ.* 22, 1425–1433.
- Moya, J.L., Tadeo, F.R., Gomez-Cadenas, A., Primo-Millo, E., Talon, M., (2002): Transmissible salt tolerance traits identified through reciprocal grafts between sensitive Carrizo and tolerant Cleopatra citrus genotypes. *J. Plant Physiol.* 159, 991–998.
- Munde-Wagh, K.B., Wagh, V.D., Toshniwal, S.S., Sonawane, B.R., (2012): Phytochemical, antimicrobial evaluation and determination of total phenolic and flavonoid contents of *Sesbania grandiflora* flower extract. *Int J Pharm Pharm Sci.* 4, 229-232.
- Munns R, James RA, Läuchli A. (2006): Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *Journal of Experimental Botany.* 57, 1025–1043.
- Munns R., S. Goyal, J. Passioura (2004): Salinity stress and its mitigation. *Plant Stress Website.* Blum A. (ed)
- Munns, R. (2002): Salinity, growth and phytohormones. *Salinity: environment—plants—molecules.* Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 271-290.
- Munns, R. (2005): Genes and salt tolerance: bringing them together. *New phytologist*, 167(3), 645-663.
- Munns, R., Termaat, A. (1986): Whole-plant responses to salinity. *Functional Plant Biology*, 13(1), 143-160.
- Murata, N., Mohanty, P.S., Hayashi, H., Papageorgiou, G.C. (1992): Glycinebetaine stabilizes the association of extrinsic proteins with the photosynthetic oxygen evolving complex. – *FEBS Lett.* 296, 187-189.
- Murshed, R., Lopez-Lauri, F., Sallanon, H. (2014): Effect of salt stress on tomato fruit antioxidant systems depends on fruit development stage. *Physiol Mol Biol Plants* 20, 15-29.
- Muthukumarasamy, M., Gupta, S.D., Pannerselvam, R. (2000): Enhancement of peroxidase, polyphenol oxidase and superoxide dismutase activities by tridimefon in NaCl stressed *Raphanus sativus* L. *Biol Plant.* 43, 317–320.
- Nakano, Y., Asada, K. (1987): Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts; its inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. *Plant and Cell Physiology* 28: 131–140.

- Navarro, J. M., Flores, P., Garrido, C., Martinez, V. (2006): Changes in the contents of antioxidant compounds in pepper fruits at different ripening stages, as affected by salinity. *Food Chemistry*, 96(1), 66-73.
- Navarro, J. M., Garrido, C., Carvajal, M., Martinez, V. (2002): Yield and fruit quality of pepper plants under sulphate and chloride salinity. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 77(1), 52-57.
- Navarro-González, I., García-Valverde, V., García-Alonso, H., Periago, M. J. (2011). Chemical profile, functional and antioxidant properties of tomato peel fiber. *Food Research International*, 44, 1528-1535.
- Nazarbeygi, E., Yazdi, H. L., Naseri, R., Soleimani, R. (2011): The effects of different levels of salinity on proline and A-, B-chlorophylls in canola. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science*, 10, 70-74.
- Nestorović Živković J. (2013): Antioksidativno, antimikrobno i alelopatsko dejstvo tri endemične vrste roda *Nepeta* (*Lamiaceae*), doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet, Beograd.
- Niketić-Aleksić, G. (1988). Tehnologija voća i povrća. Naučna knjiga, Poljoprivredni fakultet, Beograd.
- Noctor, G., Foyer C.H. (1998): Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 49, 249–279.
- Oda, M. (1995): New grafting methods for fruit-bearing vegetables in Japan. *JARQ* (Japan).
- Olympios, C. M., Karapanos, I. C., Lionoudakis, K., Apidianakis, I. (2003): The growth, yield and quality of greenhouse tomatoes in relation to salinity applied at different stages of plant growth. *Acta horticultruae*, 313-320.
- Ordonez, A.A.L., Gomez, J.D., Vattuone, M.A., Isla, M.I. (2006): Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq.) Swart extracts. *Food Chemistry* 97, 452–458.
- Ort, D. R. (2001): When there is too much light. *Plant Physiology*. 125, 29–32.
- Osuna-Avila, P., Aguilar-Solís, J. Fernández-Pavia, S., Godoy-Hernández, H., Corral-Diaz, B., Flores-Margez, J.P., Borrego, A., Olivas, P.E. (2012): Injertos en chile tipo Cayene, Jalapeño y Chilaca en el noroeste de Chihuahua, México. *Rev. Mex. Cienc. Agrícola*. 3, 739–750.
- Ough, C.S., Amerine, M.A. (1988): *Methods for analysis of musts and wines*, 2nd ed., John Wiley & sons, New York, USA.

- Oztekin, G.B., Tuzel, Y., Tuze, I.H. (2013): Does mycorrhiza improve salinity tolerance in grafted plants? *Sci Hort* 149:55–60
- Parida, A.K., Das, A.B. (2005): Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 60, 324–349.
- Parida, A.K., Das, A.B., Mitra, B. (2003): Effects of NaCl stress on the structure, pigment complex composition, and photosynthetic activity of mangrove *Bruguiera parviflora* chloroplasts. *Photosynthetica* 41, 191-200.
- Passardi, F., Cosio, C., Penel, C., Dunand, C. (2005): Peroxidases have more functions than a Swiss army knife. *Plant Cell Reports*, 24, 255-265.
- Passardi, F., Theiler, G., Zamocky, M., Cosio, C., Rouhier, N., Teixeira, F., Dunand, C. (2007): PeroxiBase: the peroxidase database. *Phytochemistry*, 68(12), 1605-1611.
- Perveen, S., Shahbaz, M., Ashraf, M. (2010): Regulation in gas exchange and quantum yield of photosystem II (PSII) in saltstressed and non-stressed wheat plants raised from seed treated with triacontanol. – *Pak. J. Bot.* 42: 3073-3081.
- Peterson, D. G., Pearson, W. R., Stack, S. M. (1998): Characterization of the tomato (*Lycopersicon esculentum*) genome using in vitro and in situ DNA reassociation. *Genome*, 41(3), 346-356.
- Pinela, J., Barros, L., Carvalho, A. M., Ferreira, I. C. (2012). Nutritional composition and antioxidant activity of four tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) farmer' varieties in Northeastern Portugal homegardens. *Food and Chemical Toxicology*, 50,829-834.
- Pinheiro, H.A., Silva, J.V., Endres, L. et al. (2008): Leaf gas exchange, chloroplastic pigments and dry matter accumulation in castor bean (*Ricinus communis* L.) seedlings subjected to salt stress conditions. – *Ind. Crop. Prod.* 27: 385-392.
- Podsdek A., Sosnowska D., Anders B. (2003): Antioxidative capacity of tomato products. *European Food Research and Technology* 217, 296-300.
- Qaryouti, M.M., Qawasmi, W., Hamdan, H., Edwan, M. (2007): Influence of NaCl Salinity Stress on Yield, Plant Water Uptake and Drainage Water of Tomato Grown in Soilless Culture. *Acta Horticulturae* 747, 539-544.
- Rahnama, A., James, R. A., Poustini, K., Munns, R. (2010): Stomatal conductance as a screen for osmotic stress tolerance in durum wheat growing in saline soil. *Functional Plant Biology*, 37(3), 255-263.

- Rao, A. V., Agarwal, S. (1999): Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases: a review. *Nutrition research*, 19, 305-323.
- Rao, A. V., Waseem, Z., Agarwal, S. (1998): Lycopene content of tomatoes and tomato products and their contribution to dietary lycopene. *Food Research International*, 31, 737-741.
- Rao, L.G. (2006): Tomato lycopene and bone health: Preventing osteoporosis. In: Rao AV, editor, *Tomatoes, lycopene and human health*. Scotland: Caledonian Science Press; 2006. p. 153–168.
- Ravelo-Pérez, M., Hernández-Borges, J., Rodríguez-Delgado, M.A., Borges-Miquel, T. (2008): Spectrophotometric Analysis of Lycopene in Tomatoes and Watermelons: A Practical Class. *Chem. Educator* 13, 11–13.
- Reddy, A. R., Chaitanya, K. V., Vivekanandan, M. (2004): Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *J. Plant Physiol.* 161, 1189-1202.
- Ren, S.C., Qiao, Q.Q., Ding, X.L. (2013): Antioxidative activity of five flavones glycosides from Corn silk (*Stigma maydis*). *Czech J. Food Sci.*, 31, 148–155.
- Reumann, S., Bettermann, M., Benz, R., Heldt H.W. (1997): Evidence for the presence of a porin in the membrane of glyoxysomes of castor bean. *Plant Physiology* 115, 891–899.
- Rezazadeh, A., Ghasemnezhad, A., Barani, M., Telmadarrehei, T. (2012): Effect of salinity on phenolic composition and antioxidant activity of artichoke (*Cynara scolymus* L.) leaves. *Res J Med Plant*, 6, 245-252.
- Rice-Evans, C. (2001): Flavonoid antioxidants. *Current Medical Chemistry* 8, 797-807.
- Romero-Aranda, R., Syvertsen, J. P. (1996): The influence of foliar-applied urea nitrogen and saline solutions on net gas exchange of Citrus leaves. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 121(3), 501-506.
- Romero-Aranda, R., Soria, T., Cuartero, S. (2001): Tomato plant-water uptake and plant-water relationships under saline growth conditions. *PlantSci.*, 160, 265-272 .
- Rouphael, Y., Schwarz, D., Krumbein, A., Colla, G. (2010): Impacting of grafting on product quality of fruit vegetables. *Rev. Sci. Hort.* 127, 172–179.
- Rozema, J., Flowers, T. (2008): Crops for a salinized world. *Science*, 322(5907), 1478-1480.

- Ryan, B.J., Carolan, N., Ó'Fágáin, C. (2006): Horseradish and soybean peroxidases: comparable tools for alternative niches? *Trends Biotechnol.* 24, 355-363.
- Safeena, M. I. S., Bandara, D. C. (2006): Antioxidant Response of Rice (*Oryza sativa* L.) Varieties to Salt Stress at Different Growth Stages. *Tropical Agricultural Research* 18, 1-12.
- Sagi, M., Fluhr, R. (2006): Production of reactive oxygen species by plant NADPH oxidases. *Plant Physiol.* 141, 336–340.
- Saito T., Fukuda N., Nishimura S. (2006): Effects of salinity treatment duration and planting density on size and sugar content of hydroponically grown tomato fruits. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* 75, 392-398.
- Salin, M.L. (1987): Toxic oxygen species and protective systems of the chloroplast. *Physiol Plant.* 1987;72:681–689.
- Sanchez-Rodriguez E., Ruiz J.M., Ferreres F., Moreno D.A.(2012): Phenolic profiles of cherry tomatoes as influenced by hydric stress and rootstock technique. *Food Chemistry*, 134, 775-782.
- Santa-Cruz, A., Martínez-Rodríguez, M.M., Cuartero, J., Bolarin, M.C. (2001): Response of plant yield and ion contents to salinity in grafted tomato plants. *Acta Horticulturae* 559, 413–417.
- Santa-Cruz, A., Martínez-Rodríguez, M.M., Perez-Alfocea, F., Romero-Aranda, R., Bolarin, M.C. (2002): The rootstock effect on the tomato salinity response depends on the shoot genotype. *Plant Science* 162, 825–831.
- Sato, Y., T. Murakami, H. Funatsuki, S. Matsuba, H. Saruyama, M. Tanida. (2001): Heat shock-mediated APX gene expression and protection against chilling injury in rice seedlings. *J. Exp. Bot.* 52: 145-151.
- Sauvage, C., Segura, V., Bauchet, G., Stevens, R., Thi Do, P., Nikoloski, Z., Fernie, A.R., Causse, M. (2014): Genome wide association in tomato reveals 44 candidate loci for fruit metabolic traits. *Plant Physiol.* 4, 165 (3): 1120-1132.
- Savvas, D., Colla, G., Roupael, Y., Schwarz, D. (2010): Amelioration of heavy metal and nutrient stress in fruit vegetables by grafting. *Sci. Hort.* 127, 156–161.
- Shalata A., Neumann P.M. (2001). Exogenous ascorbic acid (vitamin C) increases resistance to salt stress and reduces lipid peroxidation. *Journal of Experimental Botany* 52, 2207-2211.

- Shalata, A., Mittovab, V., Volokitab, M., Guyb, M., Talb, T. (2001): Response of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii* to salt-dependent oxidative stress: The root antioxidative system. *Physiologia Plantarum* 112: 487–494.
- Shalata, A., Tal, M. (1998): The effects of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in the leaf of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii*. *Physiol Plant.* 104, 169–174.
- Shao, X., Hou, M., Chen, J. (2013): Effects of EM-calcium spray on Ca uptake, blossom-end rot incidence and yield of greenhouse tomatoes (*Lycopersicon esculentum*). *Research on Crops* 14: 1159–1166.
- Shao, X.H., Hou, M.M., Chen, L.H., Chang, T.T., Wang, W.N. (2012): Evaluation of Subsurface Drainage Design Based on Projection Pursuit. *Energy Procedia* 16, Part B: 747–752.
- Sharma, N., Gupta, N. K., Gupta, S., Hasegawa, H. (2005): Effect of NaCl salinity on photosynthetic rate, transpiration rate, and oxidative stress tolerance in contrasting wheat genotypes. *Photosynthetica*, 43(4), 609-613.
- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., Pessarakli, M. (2012): Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. A Review. *J. Bot.* , 1-26.
- Sharma, P.K., Hall, D.O. (1991): Interaction of salt stress and photoinhibition on photosynthesis in barley and sorghum. *Journal of Plant Physiology*, vol. 138, no. 5, p. 614-619.
- Shi, J., Kakuda, Y., Yeung, D. (2004): Antioxidative properties of lycopene and other carotenoids from tomatoes: synergistic effects. *Biofactors*, 21(1-4), 203-210.
- Shigeoka, S., Ishikawa, T., Tamoi, M., Miyagawa, Y., Takeda, T., Yabuta, Y., Yoshimura, K. (2002): Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. *J Exp Bot* 53, 1305–1319.
- Sies, H. (1993): Strategies of antioxidant defense. *The FEBS Journal*, 215(2), 213-219.
- Sigaud-Kutner, T.C.S., Pinto, E., Okamoto, O.K., Latorre, L.R., Colepicolo, P. (2002): Changes in superoxide dismutase activity and photosynthetic pigment content during growth of marine phytoplankters in batch-cultures. *J. Physiol. Plant.* 114, 566–571.

- Singh, A.K., Dubey, R.S. (1995): Changes in chlorophyll *a* and *b* contents and activities of photosystems 1 and 2 in rice seedlings induced by NaCl. – *Photosynthetica* 31, 489-499,
- Sivritepe, N., Erturk, U., Yerlikaya, C., Turkan, I., Bor, M., Ozdemir, F. (2008): Response of the cherry rootstock to water stress induced *in vitro*. *Biol. Plant.* 52, 573–576.
- Slimestad, R., Verheul, M.J. (2005): Content of chalconaringenin and chlorogenic acid in cherry tomatoes is strongly reduced during post-harvest ripening. *J Agric Food Chem* 53, 7251-7256.
- Slooten, L., Van Montagu, M., Inzé, D. (1998): Manipulation of Oxidative Stress 1 5 Tolerance in Transgenic Plants.
- Smirnoff, N. (1996): Botanical briefing: the function and metabolism of ascorbic acid in plants. *Annals of botany*, 78(6), 661-669.
- Smirnoff, N. (2000): Ascorbic acid: metabolism and functions of a multi-faceted molecule. *Current opinion in plant biology*, 3(3), 229-235.
- Sonneveld, C., Van Der Burg A.M.M. (1991): Sodium chloride salinity in fruit vegetable crops in soilless culture. *Neth. J. Agr. Sci.* 39, 115– 122.
- Soussi, M. A., Ocaña, C. Lluch (1998): Effects of salt stress on growth, photosynthesis and nitrogen fixation in chick-pea (*Cicer arietinum* L.) *Exp Bot* (1998) 49 (325): 1329-1337.
- Sriniegn, K., Saisavoey, T., Karnchanatat, A. (2015): Effect of salinity stress on antioxidative enzyme activities in tomato cultured *in vitro*. *Pak J Bot.* 47, 1-10.
- Stahl, W., Sies, H. (1992): Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater from heat-processed than from unprocessed tomato juice in humans. *The Journal of nutrition*, 122, 2161-2166.
- Stanghellini, C., Kempkes, F., Heuvelink, E., Bonasia, A., Karas, A. (2002): Water and nutrient uptake of sweet pepper and tomato as (un) affected by watering regime and salinity. In VI International Symposium on Protected Cultivation in Mild Winter Climate: Product and Process Innovation 614 (pp. 591-597).
- Stewart, A. J., Bozonnet, S., Mullen, W., Jenkins, G. I., Lean, M. E. J, Crozier, A. (2000): Occurrence of flavonols in tomatoes and tomato-based products. *J. Agric. Food Chem*, 48, 2663–2669.

- Stikić R., Jovanović Z. (2015): Fiziologija biljaka, Izd. Naučna KMD, str. 441. ISBN 978-86-6021-088-5
- Stoeva, M., Kaymakanova, M. (2008): Effect of salt stress on the growth and photosynthesis rate of bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). *J Cent Eur Agric* 9:385–392.
- Sun, Y.D., Luo, W.R., Sun, S.Y., Ni, L. (2015): Agrobacterium-mediated transformation of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) using the expansin 10 (CsEXP10) gene. *Genet. Mol. Res.* 14 (4): 16215-16221.
- Taiz L, Zaiger E. 2010. *Plant physiology*. Fifth edition. Sinauer associates.
- Takahama, U. (1989): A role of hydrogen peroxide in the metabolism of phenolics in mesophyll cells of *Vicia faba* L. *Plant Cell Physiol* 30: 295-301.
- Tari, I., Csiszar, J., Horvath, E., Poor, P., Takacs Z., Szepesi, A.(2015): The alleviation of the adverse effects of salt stress in the tomato plant by salicylic acid shows a time and organ-specific antioxidant response. *Acta Biol. Cracoviensia Ser. Bot.* 57, 21-30.
- Teisseire, H., Guy, V. (2000): Copper-induced changes in antioxidant enzyme activities in fronds of duckweed (*Lemna minor*). *Plant Sci* 153, 65–72.
- Tiwari, B.S., Bose, A., Ghosh, B.(1997): Photosynthesis in rice under a salt stress. – *Photosynthetica* 34, 303-306.
- Turhan, A., Ozmen, N., Serbeci, M.S., Seniz, V. (2011): Effects of grafting on different rootstocks on tomato fruit yield and quality. *Horticultural Science*, 38, 142-149.
- Tuzel, Y., Oztekin, G. B. (2009): *Determination of salinity responses and root characteristics of some tomato rootstocks* (No. 2007-ZRF, p. 028). Project Report.
- Ünyayar, S., Keleş, Y., Çekiç, F.Ö. (2005): The antioxidative response of two tomato species with different drought tolerances as a result of drought and cadmium stress combinations. *Plant Soil Environ.* 51, 57–64.
- Van Breusegem, F., Vranova, E., Dat, J.F., Inzé, D. (2001): The role of active oxygen species in plant signal transduction. *Plant Sci.* 161, 405–414.
- Van Ieperen, W. (1996): Effects of different day and night salinity levels on vegetative growth, yield and quality of tomato. *Journal of Horticultural Science*, 71(1), 99-111.

- Vares, T., Kalsi, M., Hatakka, A. (1995): Lignin peroxidases, manganese peroxidases, and other ligninolytic enzymes produced by *Phlebia radiata* during solid-state fermentation of wheat straw. *Appl Environ Microbiol.* 61, 3515-3520.
- Veitch, N. C. (2004): Horseradish peroxidase: a modern view of a classic enzyme. *Phytochemistry*, 65(3), 249-259.
- Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., Oomah, B. D. (1998): Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(10), 4113-4117.
- Veselov, D.S.; Sharipova, G.V.; Veselov, S.U.; Kudoyarova, G.R. (2008): The Effects of NaCl Treatment on Water Relations, Growth, and ABA Content in Barley Cultivars Differing in Drought Tolerance. *J. Plant Growth Regul.* , 27, 380.
- Vinkovic Vreck I., Samobor V., Bojic M., Medic-Saric M., Vukobratovic M., Erhatic R., Horvat D., Matotan Z. (2011): The effect of grafting on the antioxidant properties of tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Spanish Journal of Agricultural Research*, 9, 844- 851.
- Vysotskaya, L.; Hedley, P.E.; Sharipova, G.; Veselov, D.; Kudoyarova, G.; Morris, J.; Jones, H.G. (2010): Effect of salinity on water relations of wild barley plants differing in salt tolerance. *AoB Plants*.
- Wang, W. B., Kim, Y. H., Lee, H. S., Kim, K. Y., Deng, X. P., Kwak, S. S. (2009): Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. *Plant Physiol. Biochem.* 47, 570–577.
- Welinder, K. G., Mauro, J. M., Nørskov-Lauritsen, L. (1992): Structure of plant and fungal peroxidases.
- Willcox, J. K., Catignani, G. L., Lazarus, S. (2003): Tomatoes and cardiovascular health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43, 1-18.
- Willumsen, J., Petersen, K. K., Kaack, K. (1996): Yield and blossom-end rot of tomato as affected by salinity and cation activity ratios in the root zone. *Journal of Horticultural Science*, 71(1), 81-98.
- Winicov, I., Seemann, J.R. (1990): Expression of genes for photosynthesis and the relationship to salt tolerance of alfalfa (*Medicago sativa*) cells. – *Plant Cell Physiol.* 31: 1155-1161.
- Wright J.S., Johnson E.R., DiLabio G.A. (2001): Predicting the activity of phenolic antioxidants: Theoretical method, analysis of substituent effects, and application to

major families of antioxidants, *Journal of the American Chemical Society* (2001), 1173-1183.

- Wu, M., Kubota C. (2008): Effects of high electrical conductivity of nutrient solution and its application timing on lycopene, chlorophyll and sugar concentrations of hydroponic tomatoes during ripening. *Scientia Horticulturae* 116, 122-129.
- www.faostat.org
- Xie, Z., Duan, L., Tian, X., Wang, B., Eneji, A. E., Li, Z. (2008): Coronatine alleviates salinity stress in cotton by improving the antioxidative defense system and radical-scavenging activity. *J. Plant Physiol.* 158, 737–745.
- Yabuta, Y., Motoki, T., Yoshimura, K., Takeda, T., Ishikawa, T., Shigeoka, S. (2002): Thylakoid membrane-bound ascorbate peroxidase is a limiting factor of antioxidative systems under photo-oxidative stress. *Plant J* 32, 915–925.
- Yamasaki, H., Sakihama, Y., Ikehara, N. (1997): Flavonoid-peroxidase reaction as a detoxification mechanism of plant cells against H₂O₂. *Plant Physiology*, 115(4), 1405-1412.
- Yang, J. Y., Zheng, W., Tian, Y., Wu, Y., Zhou, D. W. (2011): Effects of various mixed salt-alkaline stresses on growth, photosynthesis, and photosynthetic pigment concentrations of *Medicago ruthenica* seedlings. *Photosynthetica*, 49 (2), 275-284.
- Yang, Y., Yan, C.Q., Cao, B.H., Xu, H.X., Chen, J.P., Jiang, D.A. (2007): Some photosynthetic responses to salinity resistance are transferred into the somatic hybrid descendants from the wild soybean *Glycine cyrtoloba* ACC547. *Physiol. Plant* 129, 658–669.
- Yazdi, M.T., Khaleghparast, S., Monsef, H.R. (2002): Purification and some partial characterization of peroxidase isoenzyme from *Brassicaoleracea capitata* L. *J Sci Islam Repub Iran.* 13, 107-112.
- Zagorska, N. A., Shtereva, A., Dimitrov, B. D., Kruleva, M. M. (1998): Induced androgenesis in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) I. Influence of genotype on androgenetic ability. *Plant cell reports*, 17(12), 968-973.
- Zhai, Y., Yan, Q., Hou, M. (2015): The Effects of Saline Water Drip Irrigation on Tomato Yield, Quality, and Blossom-End Rot Incidence --- A 3a Case Study in the South of China. *PLoS ONE* 10(11): e0142204.

- Zhang, P., Senge, M., Dai, Y. (2016): Effects of salinity stress on growth, yield, fruit quality and water use efficiency of tomato under hydroponics system. *Reviews in Agricultural Science*, 4: 46- 55.
- Zhang, X., Shen, L., Li, F., Meng, D., Sheng, J. (2013): Arginase induction by heat treatment contributes to amelioration of chilling injury and activation of antioxidant enzymes in tomato fruit. *Postharvest biology and technology*, 79, 1-8.
- Zhu, J. K. (2007): *Plant salt stress*. eLS.

BIOGRAFIJA

Ivana Kolečka (rođ. Đukić) rođena je 09.04.1982. godine u Banjoj Luci, Republika Srpska, BiH.

Prirodno-matematički fakultet u Novom Sadu, Departman za biologiju i ekologiju, smer diplomirani biolog upisala je školske 2003/04. godine. Diplomirala je 2008. godine sa prosečnom ocenom 8,82. Diplomski rad pod naslovom „Komparativna analiza LHS metode verzije 2006 i 2008 na Petničkom jezeru“ odbranila je sa ocenom 10. Diplomске akademske - master studije na Poljoprivrednom fakultetu, smer- Genetika, oplemenjivanje biljaka i semenarstvo, upisala je 2008/09. godine, i završila 2010. godine sa prosečnom ocenom 9,93. Master rad „Introgresija strane germplazme u evoluciji roda *Triticum*“ odbranila je sa ocenom 10.

Doktorske studije upisala je 2011/'12. godine na Poljoprivrednom fakultetu, Univerziteta u Novom Sadu, modul: Agronomija.

U periodu 2010- do 2012 radi u Institutu za genetičke resurse u Banjoj Luci kao istraživač viši saradnik. Član je radne grupe za informisanje i dokumentaciju u Programu očuvanja biljnih genetičkih resursa RS i ECPGR National Focal Point za BiH za *in situ* konzervaciju.

2012. godine prelazi da radi na Poljoprivredni fakultet, Univerziteta u Banjoj Luci, na Katedri za zemljište, fiziologiju i ishranu biljaka, na predmetima I i II ciklusa studija: Fiziologija biljaka, Ishrana ratarskih i povrtarskih biljaka, Ishrana hortikulturnih biljaka, Fiziološke bolesti biljaka, Rastenje i razviće povrtarskih biljaka i Fiziologija mineralne ishrane biljaka.

Autorka i koautorka je na više naučnih radova.