

**UNIVERZITET U BEOGRADU**  
**POLJOPRIVREDNI FAKULTET**

Ivana P. Petrović

**„EFEKAT SUŠE NA FIZIOLOŠKE I  
BIOHEMIJSKE POKAZATELJE  
KVALITETA PLODOVA PARADAJZA  
(*Lycopersicon esculentum* L.)“**

Doktorska disertacija

Beograd, 2019.

**UNIVERSITY OF BELGRADE  
FACULTY OF AGRICULTURE**

Ivana P. Petrović

**„THE EFFECT OF DROUGHT ON  
PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL  
INDICATORS OF TOMATO  
(*Lycopersicon esculentum* L.) FRUIT  
QUALITY”**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2019.

Komisija za ocenu i odbranu:

Mentor:

dr Zorica Jovanović, redovni profesor

Univerzitet u Beogradu – Poljoprivredni fakultet

Članovi komisije:

dr Biljana Vucelić-Radović, redovni profesor

Univerzitet u Beogradu – Poljoprivredni fakultet

dr Jasmina Zdravković, naučni savetnik

Institut za povrtarstvo Smederevska Palanka

dr Ljiljana Prokić, vanredni profesor

Univerzitet u Beogradu – Poljoprivredni fakultet

dr Đorđe Moravčević, vanredni profesor

Univerzitet u Beogradu – Poljoprivredni fakultet

Datum odbrane doktorske disertacije

---

## **Zahvalnica**

*Ova disertacija je rađena na Katedri za agrohemiju i fiziologiju biljaka na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Beogradu i francuskom Nacionalnom institutu za poljoprivredna istraživanja – INRA u Avinjonu. Zahvaljujem se članovima ovih institucija na pomoći u izradi ove disertacije. Disertacija je realizovana u sklopu nacionalnog projekta TR31005 i REGPOT FP7 projekta AREA.*

*Posebno se zahvaljujem prof. dr Zorici Jovanović na izuzetnom mentorstvu, kao i za nesebičnu pomoć i ogromnu podršku kako prilikom izrade disertacije, tako i tokom čitavog trajanja doktorskih studija.*

*Zahvaljujem se članovima komisije, prof. dr Biljani Vucelić-Radović, dr Jasmini Zdravković, dr Ljiljani Prokić i dr Đorđu Moravčeviću na savetima i sugestijama u toku pisanja disertacije.*

*Veliku zahvalnost dugujem profesorki Radmili Stikić na ogromnom zalaganju za uspešnu realizaciju ove teze i na mogućnosti za usavršavanje koje su pružene mladim istraživačima preko projekta AREA.*

*Veoma sam zahvalna dr Slađani Savić i dr Mileni Marjanović na kolegijalnosti, velikoj podršci i pomoći prilikom izrade ove teze.*

*Zahvaljujem se istraživačima Nadia Bertin, Beatrice Brunel i Justine Gricourt, članovima institucije INRA, koji su me uputili u nove metode biohemijske analize kvaliteta i pomogle da realizujem oglede u Francuskoj.*

*Veliko hvala mojim strpljivim i predanim prijateljima. Bezgranično sam zahvalna majci, ocu i sestri jer bez njihove podrške i ljubavi ne bih uspela realizovati ovaj veliki zadatak.*

# EFEKAT SUŠE NA FIZIOLOŠKE I BIOHEMIJSKE POKAZATELJE KVALITETA PLODOVA PARADAJZA (*Lycopersicon esculentum* L.)

## Rezime

Cilj ove disertacije je bio da se detaljnije prouči efekat suše na neke od najvažnijih fizioloških i biohemijskih pokazatelja kvaliteta plodova paradajza (jedinjenja primarnog i sekundarnog metabolizma), a od kojih zavise njihova nutritivna i lekovita svojstva. Za istraživanja su odabrana 4 genotipa paradajza iz programa MAGIC TOM populacije, koja predstavlja veliki izvor genetičkog diverziteta paradajza i koristi se u savremenim selekcionim programima. Odabrana su 2 genotipa sa krupnim plodovima (LA0147 i Levovil) i 2 sa čeri (koktel) plodovima (LA1420 i Plovdiv). Kako u reakcijama biljaka na sušu, uključujući paradajz, u velikoj meri utiče hormon abscisinska kiselina (ABA), cilj ove disertacije je bio i da se ispita kako se ABA-mutacija (smanjena sinteza ovog hormona) odražava na plodove paradajza. Zato su za istraživanja odabrani ABA-mutant (*flacca*) i divlji tip (Ailsa Craig). Biljke su u fazi antezisa druge cvetne grane izlagane dejstvu umerene suše (MAGIC TOM genotipovi, Ailsa Craig i *flacca*) i jake suše (Ailsa Craig i *flacca*), dok su kao kontrola praćene reakcije biljaka u optimalnim uslovima vodnog režima. Efekat suše je, uporedo sa plodovima, ispitivan i kod listova. Ova ispitivanja su obuhvatila efekte suše na: parametre vodnog režima biljaka i brojne fiziološke i biohemijske pokazatelje, uključujući i koncentraciju ABA i antioksidativnu aktivnost u listovima. Efekat suše na plodove je, pored uticaja na njihove morfološke karakteristike, uključio ispitivanja komponenti primarnog metabolizma (šećera i organskih kiselina) i sekundarnog metabolizma (karotenoida i vitamina C), kao i koncentraciju ABA i antioksidativnu aktivnost.

Poređenja efekata suše na listove MAGIC TOM genotipova su pokazala da su se razlike ispoljile na nivou vodnog režima biljaka i fizioloških procesa, a nešto manje na nivou biohemijskih i antioksidativnih procesa. Genotipske razlike su se ispoljile i kod efekta suše na plodove MAGIC TOM genotipova i to tako da je kod čeri plodova došlo do veće redukcije morfologije plodova i određenih komponenti primarnog metabolizma (organske kiseline) u odnosu na krupne plodove. Sušom indukovana veća akumulacija komponenti sekundarnog metabolizma kod čeri plodova, kao i njihov veći

antioksidativni kapacitet, mogu u određenom stepenu da kompenzuju manju veličinu ovih plodova u odnosu na krupne plodove. Tu treba posebno izdvojiti čeri genotip LA1420 koji je imao povećan kvalitet plodova u suši, a koji je sa aspekta genetičkog diverziteta značajan za selekzione programe tolerancije paradajza na sušu.

Efekti umerene i jake suše na listove divljeg tipa i mutanta *flacca* su zavisili od stepena stresa suše kome su biljke bile izložene. Generalno, oni su pokazali da su, kao rezultat ABA-mutacije i smanjene koncentracije ABA, *flacca* biljke bile izložene većem stepenu stresa od listova divljeg tipa što se negativno odrazilo na ispitivane fiziološke i biohemijske pokazatelje, i antioksidativni kapacitet. Suša je u zavisnosti od intenziteta značajno uticala i na plodove. Jaka suša je kod plodova divljeg tipa i mutanta onemogućila završetak sazrevanja plodova, i u odnosu na umerenu sušu u znatno većoj meri redukovala njihove morfološke karakteristike i metaboličke komponente. Poređenja efekata jake i umerene suše na ispitivane genotipove su pokazala da se ABA-mutacija kod *flacca* plodova, u poređenju sa plodovima divljeg tipa, negativno odrazila na njihovu morfologiju, komponente primarnog i sekundarnog metabolizma i antioksidativni kapacitet.

Generalno, dobijeni rezultati ukazuju da je akumulacija ABA od značaja ne samo za reakcije listova paradajza izloženih suši, već i za očuvanje kvaliteta plodova. Od posebnog značaja su osobine plodova koje doprinose ne samo njegovoj nutritivnoj vrednosti (šećeri, organske kiseline), već i kvalitetu sa aspekta lekovitih osobina (karotenoidi, vitamin C i antioksidativna aktivnost).

**Ključne reči:** paradajz, suša, plodovi, MAGIC TOM, *flacca*, Ailsa Craig

Naučna oblast: Biotehničke nauke

Uža naučna oblast: Fiziologija gajenih biljaka

UDK broj: 635.64:632.112(043.3)

# THE EFFECT OF DROUGHT ON PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL INDICATORS OF TOMATO (*Lycopersicon esculentum* L.) FRUIT QUALITY

## Abstract

The aim of this dissertation was to study in more detail the effect of drought on some of the most important physiological and biochemical indicators of the quality of fruit tomatoes (compounds of primary and secondary metabolism), and of which their nutritional and health benefit properties depend. For the research, 4 tomato genotypes were selected from the MAGIC TOM population program, which is a great source of tomato genetic diversity and therefore is used in modern selection programs. The genotypes selected were two tomatoes with large fruits (LA0147 and Levovil) and two cherry (cocktail) tomatoes (LA1420 and Plovdiv). As the reactions of plants to drought, including tomato, are largely affected by the hormone abscisic acid (ABA), the aim of this dissertation was also to examine how the ABA mutation (reduced synthesis of this hormone) is reflected on the tomato fruits. Therefore, the ABA-mutant (*flacca*) and the wild-type (Ailsa Craig) were selected for research. At the stage of 2<sup>nd</sup> flower truss anthesis, plants were exposed to moderate water deficit (MAGIC TOM genotypes, Ailsa Craig and *flacca*) and severe water deficit (Ailsa Craig and *flacca*), while the reactions of plants under the optimal water regime were used as control. In addition to fruits, the effect of drought was investigated in the leaves. These studies included the effects of drought on: parameters of the water regime of plants and numerous physiological and biochemical indicators, as well as the concentration of ABA and antioxidant activity. The effect of drought on the fruits, in addition to influencing their morphological characteristics, included assessments of the primary metabolism components (sugar and organic acids) and secondary metabolism (carotenoids and vitamin C), as well as the concentration of ABA and antioxidant activity.

Comparison of drought effects on MAGIC TOM genotypes showed that differences were observed at the level of the water regime of plants and physiological processes, and somewhat less at the level of biochemical and antioxidant processes. Genotypic differences were expressed also at the effect of drought on the fruits of

MAGIC TOM genotypes, and in such a way that there was a greater reduction in cherry fruit morphology and certain components of primary metabolism (organic acids) in comparison to the large fruits. The drought-induced higher accumulation of secondary metabolism components in the cherry fruits, as well as their higher antioxidant capacity, can compensate for a certain degree the smaller size of these fruits in relation to large fruits. In this context, it should be highlighted the cherry genotype LA1420, whose fruits had increased quality in drought conditions, and which are significant from the aspects of genetic variability for tomato tolerance to drought breeding programs.

The effects of moderate and severe drought on leaves of wild-type and *flacca* mutant depended on the degree of stress of drought to which the plants were exposed. In general, they showed that, as a result of ABA mutations and reduced ABA concentrations, *flacca* plants were exposed to a greater degree of stress than wild-type leaves, which had a negative impact on the examined physiological and biochemical indicators, and antioxidant capacity. Depending on the intensity, the drought significantly influenced the fruits. The severe drought in the wild-type and mutant fruits prevented their maturation, and in comparison to moderate drought significantly reduced their morphological characteristics and metabolic components. Comparison of the effects of severe and moderate droughts on the investigated genotypes has shown that the ABA mutation in the *flacca* fruits, in comparison with wild-type fruits, has negatively affected their morphology, the primary and secondary metabolism components and antioxidant activity.

Generally, the results obtained indicate that the accumulation of ABA is of significance not only for the reaction of tomato leaves to drought, but also for the maintenance of the fruit quality. Of particular importance are the fruits properties that contribute not only to its nutritive value (sugars, organic acids), but also quality from the aspect of health properties (carotenoids, vitamin C and antioxidant activity).

**Key words:** tomato, drought, fruits, MAGIC TOM, *flacca*, Ailsa Craig

Scientific field: Biotechnical sciences

Specific scientific field: Crop Physiology

UDC number: 635.64:632.112(043.3)



## SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b>	1
<b>2. PREGLED LITERATURE</b>	6
2.1. Paradajz - opšte karakteristike	6
2.1.1. Poreklo i klasifikacija paradajza	6
2.1.2. Opšte botaničke osobine	7
2.1.3. Optimalni agro-ekološki uslovi za gajenja paradajza	10
2.1.4. Osobine, kvalitet i nutritivni značaj plodova	10
2.1.4.1. Oblik, veličina, tekstura i organoleptička svojstva	10
2.1.4.2. Kvalitet, nutritivne i lekovite komponente	11
2.2. Rastenje i razviće plodova paradajza	13
2.2.1. Model i faze rasteња i razvića	13
2.2.2. Fiziološki procesi i procesi primarnog i sekundarnog metabolizma u toku sazrevanja plodova	15
2.2.2.1. Primarni metabolizam	16
2.2.2.2. Sekundarni metabolizam	19
2.2.3. Uloga fitohormona u rasteњу i razviću plodova	23
2.3. Efekti stresa suše na vegetativnu i reproduktivnu fazu paradajza	26
2.3.1. Suša u toku vegetativne faze	26
2.3.2. Suša u toku reproduktivne faze	29
2.4. Efekti suše na kvalitet i organoleptička svojstva plodova paradajza	30
2.4.1. Efekti na primarni metabolizam	30
2.4.2. Efekti na sekundarni metabolizam	32
2.5. Uloga stres hormona ABA u reakcijama biljaka na stres suše	33
2.5.1. Biosinteza ABA i mehanizmi njene regulacije	33
2.5.2. ABA-mutanti kod paradajza	34
2.6. Primena genetičkog diverziteta paradajza u savremenim selekcionim programima	36
<b>3. CILJ RADA</b>	39
<b>4. MATERIJAL I METODE</b>	40
4.1. Biljni materijal	40

4.2. Eksperiment u stakleniku sa genotipovima MAGIC TOM populacije	40
4.2.1. Ispitivani parametri i metode	41
4.2.2. Vodni režim supstrata i biljaka	42
4.2.3. Rastenje i razviće biljaka - morfološki i fiziološki parametri	43
4.2.4. Merenje fluorescencije hlorofila	43
4.2.5. Biohemijski parametri u listovima i kvalitet plodova	44
4.2.5.1. Određivanje koncentracije rastvorljivih šećera i organskih kiselina	45
4.2.5.2. Određivanje koncentracije karotenoida	46
4.2.5.2. Određivanje ukupne antioksidativne aktivnosti	48
4.2.5.4. Određivanje koncentracije askorbinske kiseline (vitamina C)	49
4.2.5.5. Određivanje koncentracije abscisinske kiseline (ABA)	51
4.3. Eksperimenti u fitotronsnoj komori sa genotipovima Ailsa Craig i <i>flacca</i> mutantom	54
4.3.1. Ispitivani parametri i metode	55
4.3.2. Vodni režim supstrata i biljaka	56
4.3.3. Rastenje i razviće biljaka - morfološki i fiziološki parametri	56
4.3.4. Merenje sadržaja hlorofila	57
4.3.5. Biohemijski parametri u listovima i kvalitet plodova	58
4.3.5.1. Određivanje koncentracije ukupnih rastvorljivih materija i organskih kiselina	59
4.3.5.2. Određivanje koncentracije likopena	60
4.3.5.3. Određivanje koncentracije askorbinske kiseline (vitamina C)	60
4.3.5.4. Određivanje ukupne antioksidativne aktivnosti	60
4.3.5.5. Određivanje koncentracije abscisinske kiseline	60
4.4. Statističke analize	60
<b>5. REZULTATI</b>	61
5.1. Oglad sa MAGIC TOM populacijom	61
5.1.1. Vodni režim biljaka	61
5.1.2. Specifična lisna površina i sadržaj suve materije u listovima	62
5.1.3. Fluorescencija hlorofila	63
5.1.4. Biohemijski sastav listova	63

5.1.4.1. Rastvorljivi šećeri	63
5.1.4.2. Organske kiseline	65
5.1.4.3. Antioksidativni kapacitet i sadržaj askorbinske kiseline	65
5.1.4.4. Abscisinska kiselina	66
5.1.5. Sveža masa, sadržaj suve materije i prečnik plodova	67
5.1.6. Biohemijski sastav plodova	68
5.1.6.1. Rastvorljivi šećeri	68
5.1.6.2. Organske kiseline	72
5.1.6.3. Karotenoidi	75
5.1.6.4. Antioksidativni kapacitet i sadržaj askorbinske kiseline	79
5.1.6.5. Abscisinska kiselina (ABA)	81
5.2. Ogled umerene suše sa Ailsa Craig i <i>flacca</i> genotipovima	83
5.2.1. Provodljivost stoma i ukupni vodni potencijal listova	83
5.2.2. Specifična lisna površina i sadržaj suve materije lista	84
5.2.3. Sadržaj hlorofila u listovima	84
5.2.4. Vitamin C i ukupni antioksidativni kapacitet u listovima	85
5.2.5. Sadržaj ABA u listovima i korenovima	86
5.2.6. Sveža masa, prečnik ploda i procenat suve materije u plodovima	87
5.2.7. Biohemijski sastav plodova	88
5.2.7.1. Sadržaj rastvorljivih materija i organskih kiselina u plodovima	88
5.2.7.2. Sadržaj likopena, vitamina C i antioksidativni kapacitet plodova	89
5.2.7.3. Sadržaj ABA u perikarpu plodovima	91
5.2.7.4. Relativne razlike u biohemijskim parametrima plodova između kontrole i tretmana	91
5.3. Ogled jake suše sa Ailsa Craig i <i>flacca</i> genotipovima	93
5.3.1. Provodljivost stoma i ukupni vodni potencijal listova	93
5.3.2. Specifična lisna površina i sadržaj suve materije u listovima	94
5.3.3. Sadržaj hlorofila u listovima	95
5.3.4. Vitamin C i ukupni antioksidativni kapacitet u listovima	96
5.3.5. Sadržaj ABA u listovima i korenovima	97

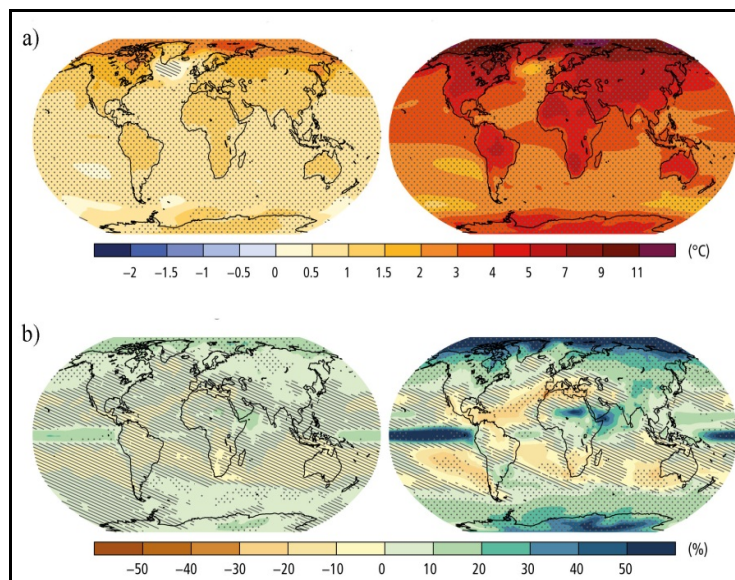
5.3.6. Sveža masa, prečnik ploda i procenat suve materije u plodovima	97
5.3.7. Biohemijski sastav plodova	98
5.3.7.1. Sadržaj rastvorljivih materija i organskih kiselina u plodovima	98
5.3.7.2. Sadržaj likopena, vitamina C i ukupan antioksidativni kapacitet plodova	100
5.3.7.3. Sadržaj ABA u perikarpu plodovima	102
5.3.7.4. Relativne razlike u biohemijskim parametrima plodova između kontrole i tretmana	102
<b>6. DISKUSIJA</b>	104
6.1. Ogled sa MAGIC TOM populacijom	104
6.1.1. Efekat suše na listove	104
6.1.1.1. Fiziološki procesi	104
6.1.1.2. Biohemijski i metabolički procesi	108
6.1.2. Efekat suše na plodove	112
6.1.2.1. Fiziološki procesi i primarni metaboliti	112
6.1.2.2. Sekundarni metaboliti i nutritivna vrednost plodova	117
6.2. Ogledi sa Ailsa Craig i <i>flacca</i> mutantom	122
6.2.1. Efekat suše na listove	122
6.2.1.1. Fiziološki procesi	122
6.2.1.2. Biohemijski i metabolički procesi - sekundarni metaboliti	129
6.2.2. Efekat suše na plodove	134
6.2.2.1. Fiziološki procesi	134
6.2.2.2. Biohemijski i metabolički procesi - primarni metaboliti	137
6.2.2.3. Sekundarni metaboliti i nutritivna vrednost plodova	140
<b>7. ZAKLJUČAK</b>	146
<b>8. LITERATURA</b>	153
<b>BIOGRAFIJA</b>	171
<b>IZJAVE</b>	172

## 1. UVOD

Suša je za biljke jedan od najviše zastupljenih abiotičkih stresnih faktora koji u značajnoj meri limitira njihovo rastenje i razviće. To se posebno negativno odražava na poljoprivrednu proizvodnju, jer stres suše u zavisnosti od trajanja, intenziteta i učestalosti, može u velikoj meri redukovati prinos i produktivnost poljoprivrednih kultura. Rezultati poslednjih godina pokazuju da je pojava suše kao posledica smanjenja količine padavina i ostalih klimatskih promena, sve više prisutan problem u savremenom svetu (Lobell et al., 2011).

Klimatske promene i zagrevanje naše planete su prvenstveno posledica efekta staklene bašte, odnosno nagomilavanja gasova u atmosferi (ugljen-dioksida, oksida azota, metana). Ispitivanja Međunarodnog panela za klimatske promene (IPCC, 2014) su ukazala na porast nivoa gasova u atmosferi koji iznosi oko 430 ppm ekvivalenata CO<sub>2</sub>, dok je u vreme pre industrijske revolucije on iznosio svega 280 ppm ekvivalenata CO<sub>2</sub>. Do kraja 21. veka se može očekivati trostruko veća emisija gasova, što može dovesti do porasta temperature u proseku za 4,8 °C, povećanja količine padavina posebno izraženim na višim geografskim širinama, dok će se u predelima srednjih geografskih širina padavine značajno smanjiti (Sl. 1). Prognoze do 2050. godine predviđaju nagle metereološke promene, uz pojavu ekstremnih vremenskih uslova: poplava, jakih uraganskih vetrova, ali i sve izraženije suše praćene visokim temperaturama (Gornall et al., 2010).

Efekat suše će biti sve izraženiji na srednjim geografskim širinama i u polusušnim predelima na manjim geografskim širinama. Na svetskom nivou, sušom će do 2030. godine najviše biti ugroženi predeli Novog Zelanda i Australije, zapadne Afrike, istočne Azije, zapadni delovi SAD-a i Kanade. Na teritoriji Evrope, posledice klimatskih promena su najizraženije u regionu Mediterana, koji će i u budućnosti biti najviše izložen stresu suše (IPCC, 2014).



**Slika 1.** Promene u prosečnim temperaturama (a) i padavinama (b) na globalnom nivou za periode 1986-2005 i 2081-2100 (modifikovano prema IPCC, 2014)

U našoj zemlji su takođe primetni sve veći efekti klimatskih promena, pa su tako analize padavina i temperature tokom letnjih perioda od 1963. do 2009. godine ukazale na trend opadanja količine padavina i porasta temperature (Jovanović i Stikić, 2012). Prognoze za region Balkana ukazuju da će do 2065. godine to povećanje iznositi 2,0-3,0 °C, a povećanje količine padavina se očekuje jedino na severu Srbije, dok će ostali delovi biti izloženi jakim sušama u toku toplih i suvih letnjih meseci (Vuković i Vujadinović Mandić, 2018). Ovakve promene predstavljaju izazov za poljoprivrednu proizvodnju, posebno kada je u pitanju aspekt otpornosti biljaka na sušu.

Stres suše utiče na poljoprivredne kulture na morfološkom, fiziološkom i molekularnom nivou, izazivajući redukciju prinosa i kvaliteta. Biljke su razvile više strategija za prevazilaženje problema izazvanih vodnim deficitom. Jedna od strategija jeste izbegavanje suše skraćivanjem životnog ciklusa (u odnosu na njegovo trajanje u optimalnim uslovima sredine), dok u najintezivnijim periodima suše kod biljaka nastupa period mirovanja. Druga strategija se zasniva na osobinama plastičnosti čitavog razvojnog procesa koji se odvija u uslovima stresa. Biljke izbegavaju i/ili tolerišu sušu tako što: redukuju količinu odate vode, povećavaju usvajanje vode, osmotski se

prilagođavaju, povećavaju antioksidativnu aktivnost i toleranciju na desikaciju (Fang i Xioang, 2015).

Procenjeno je da će suša izazvati redukciju prinosa poljoprivrednih kultura za 50% do 2050. godine (Li et al., 2009). Da bi se umanjili negativni efekti koje stres suše ima na kvalitet i kvantitet prinosa, primenjuju se različite agrotehničke mere, kojima se optimizuje korišćenje raspoloživih zemljišnih i vodnih resursa. Takođe se se obavlja i selekcija genotipova koji su otporni na sušu (Jovanović i Stikić, 2012). Kako bi se dobili otporni genotipovi na sušu, neophodno je dobro poznavati reakcije biljaka na stres, kao i mehanizme adaptacije na vodni deficit. Za što precizniju analizu ovih reakcija, je takođe potrebno unaprediti fenotipsku karakterizaciju biljaka, jer je njihov odgovor na sušu složen i zavisi od više faktora uključujući: vrstu biljke/ genotip, karakteristike suše (intenzitet, dužinu trajanja i učestalost), kao i fenološku fazu u kojoj stres suše deluje na biljke. Od posebnog značaja je i to što za većinu poljoprivrednih kultura, stres primenjen u generativnoj fazi ima izraženiji efekat nego primena stresa u vegetativnoj fazi (Chaves et al., 2003).

U poljoprivredne kulture ugrožene sušom spada i paradajz. To je od posebnog značaja jer je paradajz prema podacima FAOSTAT-a, druga povrtarska kultura po potrošnji u svetu, odmah posle krompira. Gaji se u 164 zemlje sveta, a u 2016. godini je proizvodnja dostigla 177 miliona tona, pri čemu je 106 miliona proizvedeno u Aziji. Evropska proizvodnja je iste godine iznosila 24 miliona tona, pri čemu je 40% proizvedenog paradajza konzumirano u svežem obliku, dok je 60% procesuirano za potrebe prehrambene industrije (FAOSTAT, 2016). Najveći proizvođač paradajza na svetu je Kina, a zatim slede Indija, USA, Turska, Egipat, Iran, Italija, Brazil, Španija i Uzbekistan. Analiza potrošnje ukazuje da su najveći potrošači mediteranske i arapske zemlje, sa prosečnom potrošnjom od 40-100 kg paradajza po glavi stanovnika.

Prema podacima FAO, u 2016. godini paradajz je u Srbiji gajen na površini od 10.065 hektara, sa ukupnim prinosom od 160.466 tona, pa je stoga Srbija na četvrtom mestu prema produkciji paradajza u jugoistočnoj Evropi, posle Grčke, Rumunije i Albanije. Prosečni prinos po hektaru nije visok, što je posledica primene neadekvatne tehnologije gajenja, neprimenjivanja agrotehničkih mera, loše ekonomske situacije u sektoru poljoprivrede i slabe dostupnosti kvalitetnog sadnog materijala. Najčešće se gaji na otvorenom polju, oko 80%, dok se manji deo gaji u tunelima (15%) i plastenicima

(5%). U 2016. godini ukupan uvoz paradajza u Srbiju je iznosio 28.647, a izvoz 11.534 tona (FAOSTAT, 2016).

Za optimalnu proizvodnju paradajza je neophodna određena količina vode (400-600 mm/ha) i optimalna temperatura (25/20 °C) i to je posebno značajno jer je većina kultivara koji se gaje u komercijalne svrhe osetljiva na visoke temperature i sušu (Hanson i May, 2004). Povrtarske kulture su tokom rastenja često izložene kombinaciji više stresnih faktora, a efekti kombinovnog stresa su izraženiji nego kada se radi o pojedinačnom dejstvu stresnog faktora. U letnjim mesecima se najčešće javlja kombinacija visokih temperatura, visokog intenziteta zračenja i suše, što utiče na rasteenje, prinos i kvalitet plodova (Katsoulas i Kittas, 2008). Iako suša obično ima negativan uticaj na rasteenje ploda i prinos paradajza, novija istraživanja pokazuju da stres suše može imati i pozitivan uticaj na kvalitet (koncentraciju rastvornih šećera, sadržaj organskih kiselina i vitamina C) uz minimalnu ili bez redukcije prinosa (Zheng et al., 2013). Međutim, kao što je prethodno napomenuto, pozitivne reakcije biljaka na stres zavise od genotipa, faze razvića biljke i razvića ploda kada je stres uticao na biljke (Ripoll et al., 2014).

Plodovi paradajza su značajni ne samo kao sveže povrće, nego i kao bitna komponenta prerađivačke industrije. Pored značaja u ishrani zbog velike potrošnje, paradajz je posebno bitna povrtarska kultura i to ne samo sa nutritivnog aspekta, već i sa zdravstveno-bezbedonosnog aspekta jer fitonutritijenti u plodovima mogu imati pozitivno dejstvo na zdravlje ljudi (Rao i Rao, 2007; Habauzit i Morand, 2012). U plodovima paradajza se nalazi veći broj nutrijenata nego u većini drugih povrtarskih kultura, a posebno se izdvaja zbog visoke antioksidativne aktivnosti usled prisustva antioksidativnih jedinjenja (posebno likopena i polifenola), vitamina C i A, minerala (posebno kalijuma), folne kiseline i drugih metabolita (Ray et al., 2011). Ukus plodova paradajza je baziran na sadržaju šećera, organskih kiselina i sekundarnih metabolita. Poslednjih godina sve veći značaj imaju čeri genotipovi (*Solanum lycopersicum* L. var. *cerasiforme*), koji se karakterišu slatkim i aromatičnim plodovima koji su takođe dobar izvor vitamina C i A (Prema et al., 2011).

Pored svog nutritivnog značaja, paradajz je postao i značajna model vrsta koja se zbog niza svojih karakteristika koristi u različitim agronomskim i fundamentalnim istraživanjima (Klee i Giovannoni, 2011). On se pokazao kao veoma pogodan u



procesima ukrštanja divljih i domestifikovanih varijeteta paradajza različitih veličina i oblika, što je omogućilo da se proširi znanje o mehanizmima genetičke kontrole razvića plodova (Causse et al., 2007). Genom paradajza je dobro proučen (Tomato Genome Consortium, 2012), a postoji i veliki broj mutanata, koji se primenjuju za proučavanje različitih procesa uključujući i one povezane sa mehanizmima rastenja i razvića plodova.

Važnost paradajza kao povrtarske kulture je rezultirala u značajnim naporima selekcionera da stvore kultivare koji imaju visoke prinose i kvalitet, ali je pri tome manje pažnje posvećeno toleranciji na sušu. Osnovni izazov jeste stvoriti genotipove koje ne samo da mogu da prežive stres, već i da održe prinos i produkciju biomase u uslovima stresa i tako prevaziđu negativne efekte suše na osobine kvaliteta i produktivnosti (Chaves i Oliveira, 2004). U novim selekcionim programima se zbog toga sve više koriste multiparentalne populacije sa visokom alelskom varijabilnošću (Ranc, 2010), u kojima se željene osobine dobijaju na osnovu ukrštanja većeg broja linija koje učestvuju u rekombinaciji (Pascual et al., 2015). Tako je nastala i MAGIC TOM populacija (The Multi-Parent Advanced Generation Inter-Cross population) paradajza koja se koristi u savremenim istraživanjima, koja uključuju interakciju genotipa i uslova sredine, posebno stresa suše (Diouf et al., 2018). Zbog toga su i odabrani genotipovi iz ove populacije paradajza za istraživanja u ovoj disertaciji.

Kako u reakcijama biljaka na sušu ključnu ulogu imaju hormoni, posebno abscisinska kiselina (ABA), od posebnog značaja su i ispitivanja kako se deficit ovog hormona odražava na plodove paradajza i njihov kvalitet u uslovima suše. Usled smanjenja količine ovog hormona kod ABA deficitarnih mutanata paradajza, moguće je posmatrati izmenjene reakcije biljaka na sušu u odnosu na divlji tip i tako doći do zaključaka o mehanizmima kojima ABA utiče na povećanu otpornost na sušu (Muñoz-Espinoza et al., 2015). Takav pristup istraživanjima uticaja suše na kvalitet plodova paradajza je takođe zastupljen u ovoj disertaciji.

## 2. PREGLED LITERATURE

### 2.1. Paradajz - opšte karakteristike

#### 2.1.1. Poreklo i klasifikacija paradajza

Paradajz vodi poreklo iz Južne Amerike, gde se divlje vrste ove biljke mogu naći u regionu Anda u Čileu, Boliviji, Ekvadoru, Kolumbiji i Peruu, od nivoa mora do 3300 metara nadmorske visine. Pretpostavlja se da je centar kultivacije paradajza Peru, odakle se dalje preneo kroz Meksiko do južnih delova Severne Amerike, mada postoje podaci koji ukazuju da je paradajz kultivisan istovremeno u oba regiona. Veliki diverzitet vrsta divljeg tipa paradajza uslovljen je specifičnim geografskim karakteristikama Anda, kao i varijabilnim klimatskim uslovima, tako da se on može naći kako na aridnim, tako i na humidnim staništima (Bergougnoux, 2013).

Prvi Evropljanin koji se susreo sa paradajzom je bio španski osvajač Korteza, kome je ponuđeno da proba žute plodove ove biljke 1521. godine u glavnom gradu carstva Asteka, Tenočtitlanu (današnji Meksiko Siti). On je paradajz preneo u Španiju u 16. veku, a vek kasnije u španskim kuvarima pojavljuju se prvi recepti u kojima se opisuje njegova upotreba. Za prvi pisani opis paradajza iz 1544. godine je zaslužan italijanski botaničar Petrus Matiolus. U Italiji i Francuskoj je korišćen kao dekorativna vrsta sve do ranog 18. veka, prvenstveno zbog straha da je otrovan, kao i njegov srodnik iz iste familije - velebilje (*Atropa belladonna* L.). U Engleskoj paradajz počinje da se gaji kao povrtarska kultura sredinom 18. veka (Sl. 2) i odatle se izvozi na Bliski istok i azijsko tržište. Selekcija paradajza je započeta tokom 19. veka, pa se 1820. godine navode četiri crvene i dve žute sorte paradajza koje se gaje u domaćinstvima. Za pionirske korake u selekciji paradajza je posebno značajan rad Aleksandra Livingstona, koji je 1870. godine predstavio javnosti prvi kultivar pod nazivom Paragon, koji se i danas gaji u SAD. U 20. veku je napravljen prvi hibrid paradajza (Bergougnoux, 2013).



**Slika 2.** Šematski crtež paradajza iz 18. veka  
 (modifikovano prema Herbarium Blackwellianum emendatum et auctum, izvor:  
<https://www.biodiversitylibrary.org/bibliography/567#/summary> )

### **2.1.2. Opšte botaničke osobine**

Paradajz pripada familiji Solanaceae, koju čini preko 3000 vrsta. Kada je paradajz introdukovan u Evropi, dat mu je naziv *Solanum pomiferum*, da bi Line 1753. godine imenovao biljku *Solanum lycopersicum*. Sistematika paradajza je duže od 200 godina bila predmet debata u naučnim krugovima, a 1940. godine Müller je na osnovu morfoloških karakteristika identifikovao šest vrsta paradajza podeljenih u dve sekcije: podrod *eulycopersicon*, koji se karakteriše crvenim i narandžastim plodovima (sa vrstom *Lycopersicon esculentum*) i podrod *eriopersicon*, u kome su grupisane vrste sa zelenim plodovima. Dalja ispitivanja vezana za molekularne markere su upotpunila postojeću sistematiku paradajza koja je bila bazirana na morfologiji. Tako su na osnovu filogenetske studije, analizom sekvence gena koji kodira enzim skrobnu sintetazu, izdvojene tri osnovne grupe u okviru roda *Lycopersicon*: *Lycopersicon*, *Eriopersicon* i

*Neolypersicon* (Peralta i Spooner, 2001). Važeća klasifikacija paradajza prepoznaje kultivisani paradajz (*Solanum lycopersicum* L.) i njegovih 12 bliskih srodnika (Knapp i Peralta, 2016).

Paradajz je jednogodišnja biljka čije je *stablo* zeljasto, na poprečnom preseku uglasto, odnosno okruglasto pri vrhu, zelene boje sa nijansama ljubičaste i prekriveno dlačicama. Stablo je sklono poleganju zbog nedovoljno razvijenog sklerenhimskog tkiva, iako u toku razvoja odrvenjava u delu koji je u blizini korenovog vrata. Visina stabljike je 40-120 cm, ali kod pojedinih genotipova može dostići i više od 200 cm. Genotipovi paradajza se na osnovu tipa rastenja stabla mogu podeliti na determinantne i indeterminantne. Razvoj stabla determinantnih genotipova (niski kultivari) je pod kontrolom recesivnog gena i vrh izdanka se zavšava cvetnom granom. Kako su biljke determinantnog tipa niske (visina do 100 cm), za gajenje ovih sorti nije potreban oslonac. U ovu grupu sorti paradajza spadaju i patuljaste forme. Razvoj indeterminantnih sorti je pod kontrolom dominantnog gena i ove sorte su visine preko jednog metra, pa je za njihovo gajenje potreban oslonac. Rast primarnog stabla se zaustavlja nakon formiranja prve cvetne grane, dok bočne grane nastavljaju raste. Iznad cvetnih grana se pojavljuju novi listovi, tako da je vegetacioni vrh aktivan, a rast neograničen. Pored ova dva, postoji i prelazni tip, koji se naziva poludeterminantni ili poluisvisoki. Genotipovi ovog tipa imaju ograničeni porast, ali glavno stablo ima veći broj cvetnih grana (Moravčević et al., 2017).

*Koren* je vretenast i razgranat, može dostići dubinu i do 1,5 m, sa čestom pojavom adventivnih korenova u donjim delovima stabla, što je posebno izraženo u slučaju poleganja paradajza.

*Listovi* su prekriveni dlačicama, krupni, dugi do 50 cm, sa 5-9 lisnih ploča dužine do 8 cm, zeleno-žute do tamnozeleno boje. Većina kultivara ima neparno peraste listove koji su spiralno raspoređeni, dok pojedini genotipovi imaju kompaktni list koji nalikuju listu krompira ili trorežnjeviti. Lisne ploče su na kratkim drškama ili sedeće, izdužene, perasto usečene, asimetrične, ravne ili naborane površine, dok ivica lisnih ploča može biti cela ili nazubljena. Položaj lista u odnosu na stablo može biti horizontalan, poluoboren ili poluspravan. Nervatura lista je mrežasta i jače je izražena na naličju lista. Tokom sezone gajenja sporovodi se mera zakidanja listova. Zakidanje doprinosi boljoj kontroli rastenja biljaka, dovodi do povoljnije distribucije fotoasimilata i

pozitivno se odražava na prinos i kvalitet plodova paradajza. Za snadbjevanje cvetne grane hranljivim materijama i vodom su ključna dva lista iznad i jedan list ispod cvetne grane, tako da se stariji listovi mogu uklanjati (Moravčević et al., 2017).

*Cvetovi* su organizovani u vidu štitolikih, cimoznih cvasti. Hermafroditni su i samooplodni, žute boje, aktinomorfni, sa šest čašičnih i šest kruničnih listova kod većine genotipova. Krunica je žuta, prečnika do 2,5 cm, po obodu sa spoljašnje strane obrasla sitnim dlakama, kao i čašica. Broj prašnika varira od 5-8, a plodnik je nadcvetan.

*Plod* paradajza je bobica. Nakon oplodnje od zida plodnika nastaje perikarp. Spoljašnji sloj perikarpa se naziva egzokarp i on se sastoji od nekoliko slojeva kolenhimskih ćelija i jednog sloja epidermalnih ćelija koje su prekrivene voštanom kutikulom. Ovaj zaštitni omotač okružuje srednji, sočni sloj perikarpa koji se naziva mezokarp i koji ima krupne parenhimske ćelije. Upravo se u mezokarpu nalazi najveći sadržaj šećera, organskih kiselina, vitamina i minerala. Pored ova dva sloja, postoji i unutrašnji, jednoslojni endokarp, koji okružuje lokularni region, u kome su u želatinoznoj masi smeštena semena. Na osnovu veličine ploda razlikuju se nekoliko tipova paradajza: krupni (prečnik veći od 88 mm), veliki (67-88 mm), srednji (47-67 mm), sitni (25-47 mm) i kategorija čeri paradajza, prečnika manjeg od 25 mm (Costa i Heuvelink, 2005).

*Seme* je beličasto-žute boje, spljošteno, do 2 mm debljine i prečnika oko 5 mm, sa debelom semenjačom koja je prekrivena dlakama. U semenu je smešten embrion okružen malom količinom endosperma. U semenu se nalaze masne kiseline (prvenstveno linoleinska), vlakna, proteini, kao i mali procenat ugljenih hidrata. Semena paradajza nisu zrela i vijabilna dok plod paradajza u potpunosti ne sazre, a prosečno vreme vijabilnosti iznosi 4 godine (Benton Jones, 2007).

### **2.1.3. Optimalni agro-ekološki uslovi za gajenje paradajza**

Paradajz može da uspeva u širokom arealu, ali pošto je to biljka poreklom iz tropa, ima vrlo izražene zahteve u pogledu toplote, svetlosti i vlage. Optimalne temperature za gajenje paradajza se kreću u rangu od 18,3 do 32,2 °C, pri čemu je najoptimalnija temperatura za rastenje ploda od 22-25 °C. *Vlažnost vazduha* između 65 i 75% je optimalna za rastenje, proces cvetanja i zametanje i rastenje plodova. *Svetlost* je značajan faktor za proizvodnju paradajza, posebno u kombinaciji sa temperaturom, tako da su optimalni uslovi za rastenje i proizvodnju paradajza u staklenicima (eksperimentalnim i komercijalnim) oni gde je prosečna temperatura 19-20°C, fotoperiod 12-16 časova i fotosintetski aktivna radijacija (PAR) od 300  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Schwartz et al., 2014).

Paradajz se može gajiti na različitim tipovima *zemljišta*, pri čemu su zemljišta rastresitije strukture pogodnija jer kompaktan supstrat otežava protok vode i razvoj korena. Iako je paradajz biljka tolerantna na kiselost zemljišta, najpogodnije pH vrednosti za gajenje paradajza su od 5,5 do 6,8. Optimalna *vlažnost supstrata* ili *zemljišta* se kreće oko 70% i pri tim vrednostima se dobija najviši prinos i maksimalna veličina ploda. Za pravilno rastenje i razviće paradajza, biljke moraju biti optimalno snadbevene nutrijentima, jer se neadekvatna mineralna ishrana odražava na prinos i kvalitet plodova (Heuvelink, 2005).

### **2.1.4. Osobine, kvalitet i nutritivni značaj plodova**

#### **2.1.4.1. Oblik, veličina, tekstura i organoleptička svojstva**

Oblik i veličina ploda su kvalitativne osobine koje najviše privlače pažnju potrošača. Pored njih i tekstura ploda je značajna osobina, kako za upotrebu paradajza u svežem stanju, tako i za prerađivačku industriju i obuhvata više parametara, kao što su čvrstoća, sočnost i otpornost na pritisak (Causse et al., 2010). Na teksturu ploda paradajza utiču hemijske i mehaničke osobine ćelijskog zida, struktura kutikule i debljina tkiva, kao i sadržaj šećera i procenat suve materije. Sama tekstura utiče na odabir plodova od strane potrošača, na percepciju mirisa i ukusa, kao i na svežinu plodova (Causse et al., 2003).

#### **2.1.4.2. Kvalitet, nutritivne i lekovite komponente**

Kvalitet plodova je uslovljen mnogobrojnim fiziološkim procesima biljke i iako je u određenoj meri genetski uslovljen, znatno zavisi i od faktora spoljašnje sredine. Komercijalni kvalitet plodova paradajza se bazira na izgledu i atraktivnosti plodova (boja, oblik, veličina), organoleptičkom kvalitetu koji zavisi od fizičkih osobina (tekstura i čvrstoća) i biohemijskih parametara, prvenstveno koncentracije jedinjenja koja doprinose percepciji ukusa, kao što su šećeri, organske kiseline i aromatična jedinjenja, kao i mogućnosti dužeg skladištenja plodova nakon branja (Bertin i Genard, 2018).

Veoma bitna komponenta kvaliteta su i jedinjenja koja povoljno utiču na zdravlje ljudi kao što su: minerali (kalijum, kalcijum, fosfor, magnezijum), vitamini (A i C) i fitonutrijenti (likopen,  $\beta$ -karoten i polifenoli). Dodatna komponenta se odnosi na zdravstveno-bezbedonosni aspekt plodova, odnosno odsustvo ostataka pesticida, mikotoksina, antibiotika i dugih nepoželjnih jedinjenja u plodovima, kao i odsustvo patogenih mikroorganizama. Savremeni selekcion programi se zbog potreba tržišta sve više usmeravaju ka unapređenju kvaliteta, a u tom pogledu posebno se izdvajaju plodovi čeri varijeteta paradajza koji imaju visoke koncentracije antioksidanasa, i to likopena,  $\beta$ -karotena, flavonoida i vitamina C (Adalid et al., 2010).

#### *Šećeri i organske kiseline*

Glavne osmotske komponente u plodovima paradajza, a koje istovremeno utiču i na njihov ukus i nutritivna svojstva, su rastvorljivi šećeri (glukoza, fruktoza i saharoza) i organske kiseline (uglavnom jabučna i limunska kiselina). Plodovi paradajza sadrže 90-95% vode i 5-10% suve materije. Oko 50% suve materije čine šećeri, dok 15% čine organske kiseline i aminokiseline (glutaminska i asparaginska kiselina, glutamin,  $\gamma$ -aminobuterna kiselina - GABA, prolin, serin, fenilalanin i dr.) (Baldwin et al., 2008). Visok stepen akumulacije heksoznih šećera je tipičan za kultivisani paradajz (*Solanum lycopersicum*), dok njegovi divlji srodnici kao što je *S. chmielewskii*, akumuliraju uglavnom saharozu u plodovima (Yelle et al., 1991). Jabučna i limunska kiselina su glavne organske kiseline koje se akumuliraju u plodovima paradajza, pri čemu percepcija kiselosti ploda zavisi prvenstveno od koncentracije limunske kiseline. Za ukus samih plodova je ključan odnos šećera i organskih kiselina, pa je poželjno da oni

imaju visok sadržaj šećera praćen sa relativno visokim sadržajem kiselina (Grierson i Kader, 1986).

#### *Karotenoidi*

Karotenoidi daju karakterističnu boju zrelim plodovima paradajza i primarno su najvažniji kvalitativni atribut plodova. Ova grupa izoprenoida, pored svoje fundamentalne biološke uloge u procesu fotosinteze, veoma je značajna u ljudskoj ishrani zbog svoje antioksidativne funkcije (Dorais et al., 2008). Hemijska raznovrsnost karotenoida je dobijena ciklizacijom, izomerizacijom, hidrogenizacijom i oksigenizacijom prekursora, a njihova akumulacija rezultat je balansa sinteze i katabolizma. Najčešći karotenoid u plodovima paradajza je likopen i on čini 80-90% ukupnih karotenoida zrelog ploda. Takođe su zastupljeni i fitoen, fitofluen, zeta-karoten, gama-karoten,  $\beta$ -karoten (prekursor vitamina A), neurosporen i lutein (Fraser et al., 1994).

#### *Askorbinska kiselina - vitamin C*

Askorbinska kiselina ima veoma bitnu ulogu u biljkama, kao značajan antioksidans u borbi protiv slobodnih radikala, posebno u toku abiotskog i biotskog stresa (Gest et al., 2013), ali je takođe veoma važan fitonutrijent u ljudskoj ishrani u regulaciji metaboličkih funkcija, kao i održanju energetskeg statusa ćelije. U plodovima paradajza, vitamin C postoji u dve forme i to u redukovanoj (askorbat) i oksidovanoj (dehidroaskorbinska kiselina) koje su prisutne u svim ćelijskim kompartmentima. Zahvaljujući visokoj antioksidativnoj aktivnosti ima i bitnu ulogu u jačanju imunog sistema, prevenciji kancerogenih oboljenja i ublažavanju simptoma hroničnih upalnih procesa, kao što je arteroskleroza (Frei et al., 2012).

#### *Polifenoli*

Polifenoli su velika grupa jedinjenja sa raznovrsnim funkcijama u biljkama, a posebno su bitni u odgovoru biljaka na biotički i abiotički stres. Značajne su i lekovite bioaktivne komponente, poznate po svojoj antioksidativnoj aktivnosti, hepatoprotektivnoj i hipoglikemijskoj ulozi, kao i antivirusnoj i kardiovaskularnoj zaštiti (Habauzit i Morand, 2012). Ovi sekundarni metaboliti sintetišu se u biljkama od aminokiseline

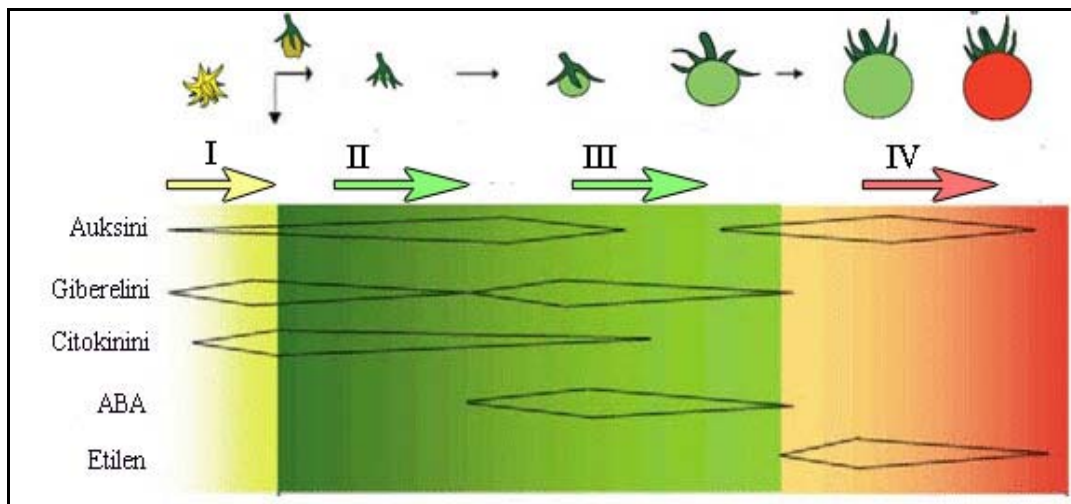


fenilalanina kroz metabolički put šikiminske kiseline. Paradajz je važan izvor fenolnih jedinjenja, a najveći broj je koncentrisan u perikarpu (98%) i tkivu placentе. Poznato je više od 100 ovih jedinjenja kod paradajza, među kojima su najpoznatiji fenolna kiselina, fenilpropanoidi, kumarin i flavonoidi (Slimestad i Verheul, 2009).

## 2.2. Rastenje i razviće plodova paradajza

### 2.2.1. Model i faze rasteња i razvića

Opšte prihvaćen model rasteња i razvića plodova paradajza predložen je od strane Gillaspay et al. (1993) i on obuhvata 4 glavne faze (Sl. 3).



**Slika 3.** Faze rasteња i razvića plodova paradajza (modifikovano prema Srivastava i Handa, 2005)

#### *Faza 1: Razvoj plodnika, proces oplodnje i obrazovanje plodova*

U toku ove faze dolazi do formiranja plodnika koje se obavlja tokom 17-20 ciklusa ćelijskih deoba koje se dešavaju pre perioda cvetanja (antezisa). Broj nastalih ćelija tokom deoba u plodniku nalazi se u pozitivnoj korelaciji sa finalnom veličinom ploda. Nakon obrazovanja plodnika dolazi do polinacije, koja je neophodna za zametanje (obrazovanje) plodova i tako se plodnik transformiše u mladi plod. Polen predstavlja prvi stimulus za rast plodnika, ali je oplodnja neophodna da bi došlo do trajnog rasteња

plodova. Kod paradajza veličina ploda se nalazi u pozitivnoj korelaciji sa brojem semena koji se u plodu razvijaju (Bertin et al., 2003).

*Faza 2: Intenzivna ćelijska deoba, formiranje semena i rano razviće embriona*

U ovoj fazi dolazi do intenzivnih deoba ćelija koje mogu da traju u zavisnosti od genotipa od 10 dana (plodovi male veličine) do 25 dana (krupni plodovi) nakon antezisa, posle čega deobe prestaju i sledi rastenje koje se zasniva na ekspanziji postojećih ćelija. Ćelijske deobe se odvijaju u slojevima, pa tako u subepidermalnim slojevima perikarpa dolazi do periklinalnih deoba, koje vode povećanju broja slojeva ćelija, dok se u epidermalnim slojevima dešavaju antiklinalne deobe koje vode povećanju zapremine ploda (Cheniclet et al., 2005). Ova faza jako utiče na finalnu veličinu plodova paradajza, kako preko broja ćelija, tako i preko formiranja semena koja u ovoj fazi predstavljaju tzv. sink organe (organe primaoce asimilata) koji se razvijaju (Prudent et al., 2010).

*Faza 3: Rastenje ćelija procesom ekspanzije, endoreduplikacija i sazrevanje embriona*

Faza rasteња, ekspanzije ćelija počinje nekoliko dana nakon formiranja, odnosno zametanja plodova, skoro istovremeno kada počinje i deoba ćelija. Ovo je najduža faza razvoja ploda i traje od 5 do 8 nedelja, zavisno od genotipa. Ćelijska ekspanzija se dešava usled povećanja zapremine citoplazme i vakuole, i u ovoj fazi ćelije placente, mezokarpa i lokularnog tkiva mogu značajno povećati svoju zapreminu. Glavnu ulogu u povećanju veličine ćelija u toku razvoja ploda paradajza ima endopoliploidizacija ili endoreduplikacija koja se dešava unutar mezokarpa i lokularnog tkiva. Endoreduplikacija predstavlja višestruke cikluse sinteze DNK koji nisu praćeni mitotičkim deobama, a koji dovodi do povećanja nivoa DNK ploidijske do 256C-512C (Chevalier et al., 2011). Ispitivanja su pokazala da postoji pozitivna korelacija između veličine ćelija perikarpa, nivoa ploidijske i finalne veličine ploda kod paradajza (Chevalier et al., 2011).

*Faza 4: Sazrevanje plodova i metaboličke transformacije*

Nakon završetka rasteња plodova, započinje faza sazrevanja u kojoj se dešavaju promene na biohemijskom i molekularnom nivou i koje rezultuju u promeni boje,

teksture i ukusa plodova. Prva vidljiva manifestacija sazrevanja paradajza je promena njegove boje iz zelene u crvenu i uporedo sa time kod paradajza kao klimakteričnog ploda, dolazi i do intenzivnijeg disanja i sinteze etilena koji podstiče sazrevanje plodova. Dolazi do transformacije složenih ugljenih hidrata u heksozne šećere, uz istovremeno smanjenje sinteze organskih kiselina, što doprinosi optimalnijem odnosu šećera i kiselina i boljem ukusu plodova. Plodovi postaju mekši usled strukturnih promena u perikarpu i pojačane rastvorljivosti pektina, dolazi do sinteze supstanci koje daju karakterističan ukus, kao i nakupljanja aromatičnih isparljivih mirisnih jedinjenja koji poboljšavaju aromu ploda (Carrari i Fernie, 2006).

### ***2.2.2. Fiziološki procesi i procesi primarnog i sekundarnog metabolizma u toku sazrevanja plodova***

Za sazrevanje plodova neophodni su asimilati koji su rezultat i primarnog i sekundarnog metabolizma. U toku procesa sazrevanja plodova dolazi do intenzivnog transporta asimilata koji se sintetišu u listovima koji su najbliži plodovima, iako i zeleni plodovi mogu svojom sopstvenom fotosintetskom aktivnošću da obezbede i do 10-15% ugljenika. Fotoasimilati se floemom transportuju iz listova kao organa sinteze (eng. source) u plodove kao primaoce asimilata (eng. sink). To se ostvaruje zahvaljujući osmotskom gradijentu koji nastaje kao posledica akumulacije saharoze i drugih formi šećera u vakuoli, ali i procesa disanja. Saharoza dopremljena apoplastom u zrele plodove se hidrolizuje, što rezultuje u povećanju koncentracije heksoza, koje se potom aktivnim transportom unose u citoplazmu ćelija ploda (Osorio et al., 2014).

Pored asimilata, plodovima koji sazrevaju je neophodan dotok vode i mineralnih materija. Pored transporta vode i mineralnih materija u plod putem ksilema, deo transporta se odvija i floemom, posebno u kasnijim fazama sazrevanja ploda. Zahvaljujući transpiraciji ploda, koja je ključna za snižavanje ukupnog vodnog potencijala, u plodu se stvara gradijent na osnovu koga se voda sa rastvorenim materijama iz listova usmerava ka plodovima (Kawabata et al., 2005).

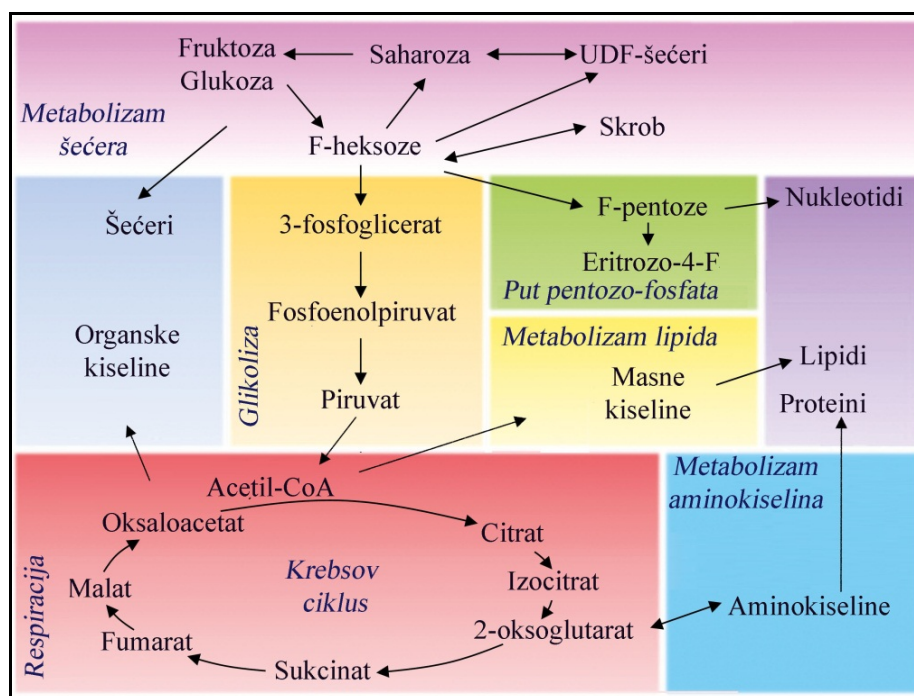
U toku sazrevanja plodova dolazi i do promena u strukturi plodova i opadanja njegove čvrstine, kao rezultat razlaganja srednje lamele i depolimerizacije hemiceluloze i ostalih polisaharida ćelijskog zida. Povećava se rastvorljivost pektina usled aktivacije enzima, kao što su lijaze, hidrolaze i transglukozidaze, koji vrše degradaciju i

omekšavanje ćelijskih zidova perikarpa, dok mezokarp dobija želatinoznu strukturu (Brummell, 2006).

Tokom sazrevanja paradajza dešavaju se različiti procesi na nivou primarnog i sekundarnog metabolizma, koji rezultuju u promeni boje, teksture i ukusa, kao i u sadržaju brojnih komponenti koje su značajne za kvalitet ploda.

### 2.2.2.1. Primarni metabolizam

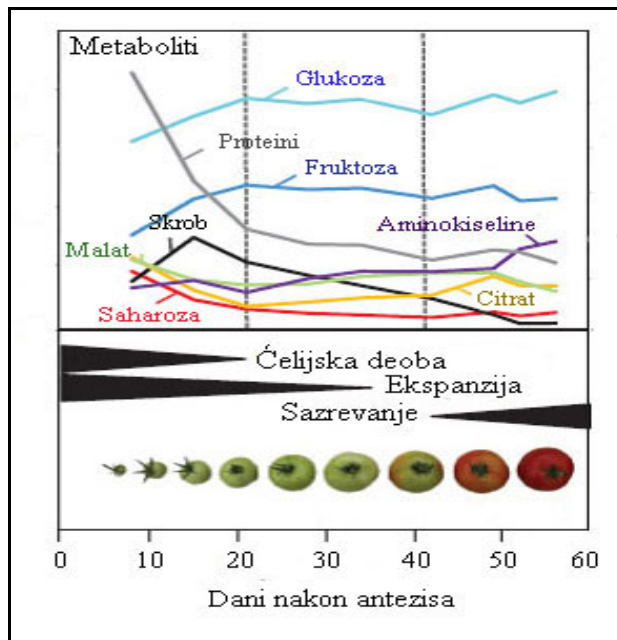
Primarni metaboliti su jedinjenja koja su esencijalna za rastenje i razviće biljaka i obuhvataju ugljene hidrate, organske kiseline, masne kiseline, aminokiseline i nukleinske kiseline (Sl. 4), a koji se proizvode istim ili sličnim metaboličkim putevima u svim biljkama (Hounsome i Hounsome, 2011).



**Slika 4.** Proces primarnog metabolizma (modifikovano prema Beauvoit et al., 2018)

U toku razvića plodova dolazi do promena u metabolizmu ugljenih hidrata i organskih kiselina (Sl. 5). Tokom ranih faza razvića plodova dolazi do sinteze skroba kao najznačajnijeg polisaharida u kolumeli, placenti i perikarpu, a njegova količina je u

korelaciji sa koncentracijom saharoze i aktivnošću enzima saharozo-sintetaze (N'tchobo et al., 1999). U fazi intezivnog rastezja ploda proces razgradnje skroba u heksozne šećere dostiže svoj maksimum od 10. do 16. dana nakon antezisa. Tokom faze sazrevanja plodova, koncentracija heksoza raste u zrelim plodovima, pa se tako glukoza i fruktoza nalaze u približno istim koncentracijama, dok je saharoza zastupljena sa manje od 5% kod većine kultivara paradajza (Colombié et al., 2015).



**Slika 5.** Promene sadržaja primarnih metabolita tokom rastezja i razvića plodova paradajza (modifikovano prema Beauvoit et al., 2018)

Metabolizam ugljenih hidrata tokom sazrevanja plodova je dinamičan proces koji je regulisan aktivnošću niza enzima. Skrob se sintetiše zahvaljujući enzimu ADP-glukoza pirofosforilazi (AGPaza) i povećana aktivnost ovog enzima utiče ne samo na veću akumulaciju skroba, nego se pozitivno odražava i na sadržaj rastvorljivih šećera i veličinu ploda paradajza (Petreikov et al., 2006). Promene u koncentraciji saharoze tokom sazrevanja plodova su posledica aktivnosti dva enzima - invertaze i saharozne sintetaze. Invertaza je ključan enzim koji reguliše hidrolizu saharoze na glukoza i fruktozu, dok saharozna sintetaza (SuSy) razlaže saharozu na UDP-glukoza i fruktozu koja se dalje konvertuje u glukoza-1-fosfat (Steinhauser et al., 2010). S druge strane,

saharoza se sintetiše u plodovima zahvaljujući saharozo-fosfat-sintetazi (SPS). Istraživanja Micallef et al. (1995) na transgenim biljkama paradajza su pokazala da povećana ekspresija gena koji kodira enzim saharozo-fosfat-sintetazu utiče na akumulaciju saharoze u plodovima, što rezultuje u povećanju broja i veličine plodova.

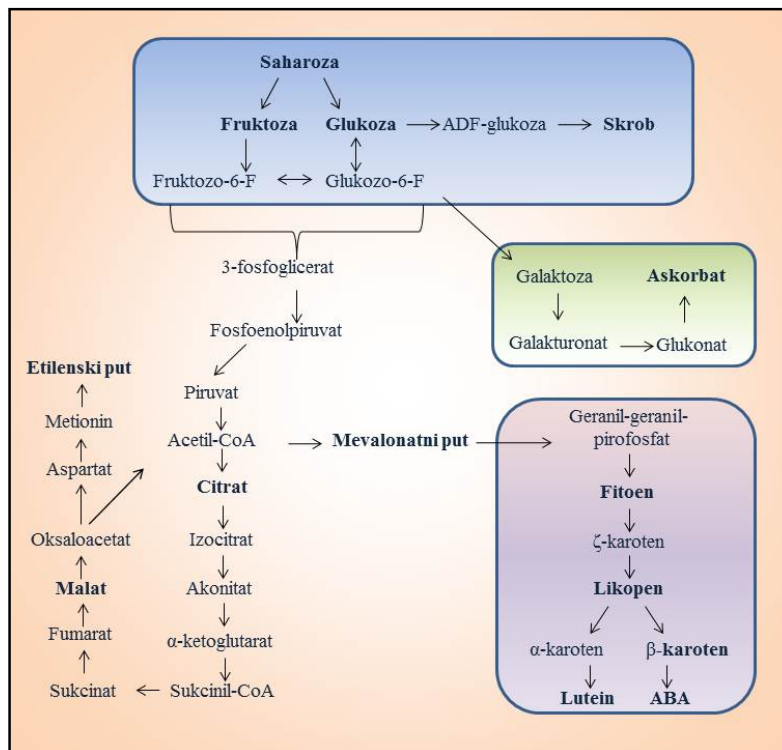
Pored šećera, za percepciju ukusa ploda je značajna i koncentracija organskih kiselina, jabučne (malata), limunske (citrata) i ostalih kiselina kao što su hininska, oksalna, tartarična, sukcijska, glikolna (Baldwin et al., 2008). Prvi korak u sintezi organskih kiselina (sinteza malata i oksalacetata) odvija se u citoplazmi, a zatim se malat transformiše u citrat ili druge kiseline kroz niz metaboličkih puteva što vodi do promena u kiselosti ploda. Metabolizam organskih kiselina u plodu je složen usled ukrštanja i različitih metaboličkih puteva (Krebsov ciklus i glioksilatni ciklus) u koje su uključeni i citrat i malat (Etienne et al., 2013). U prvim fazama razvića ploda dolazi do pojačane sinteze jabučne i limunske kiseline i njihovog intenzivnog skladištenja u vakuoli, dok u kasnijim fazama sazrevanja ploda dolazi postepeno do degradacije organskih kiselina. Rezultati istraživanja ukazuju na ulogu jabučne kiseline u regulaciji metabolizma skroba i sadržaja šećera u plodu. Tako je utvrđeno da genotipovi paradajza koji imaju povećanu koncentraciju malata u plodovima imaju i manji sadržaj skroba i solubilnih šećera, a što je rezultat njegove uloge u aktivaciji enzima AGPaze (Centeno et al., 2011).

Odnos šećera i kiselina se menja tokom procesa sazrevanja plodova. Najviša koncentracija solubilnih šećera je prisutna u fazi pune zrelosti ploda, kada je najviši odnos šećera i organskih kiselina, dok su najniže vrednosti odnosa šećera i kiselina prisutne u fazi kada zeleni plod dostigne maksimalnu veličinu (Moneruzzaman et al., 2008). Odnos šećera i kiselina je negativno korelisan sa prečnikom i masom ploda, dok su koncentracije šećera pozitivno korelisane sa koncentracijom organskih kiselina, odnosno, plodovi sa više šećera imaju i više kiselina.

Pored ugljenih hidrata i organskih kiselina, značajne komponente koje utiču na kvalitet plodova su i aminokiseline. Tokom sazrevanja plodova paradajza dolazi do akumulacije aromatičnih aminokiselina (fenilalanina, tirozina i triptofana), kao i glutaminske i asparaginske kiseline koje povoljno utiču na njihov ukus (Beauvoit et al., 2018).

### 2.2.2.2. Sekundarni metabolizam

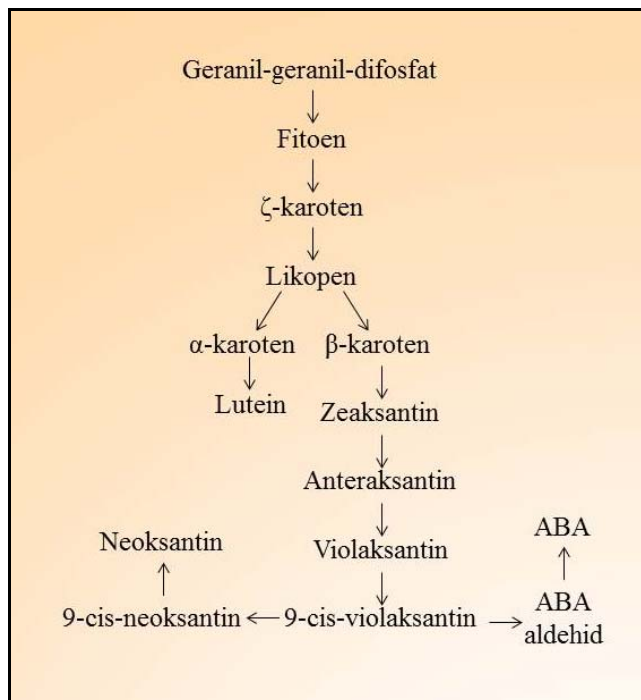
Tokom sazrevanja plodova, dolazi do nakupljanja sekundarnih metabolita koji su ključni za ukus, miris, kvalitet plodova, pri čemu su putevi primarnog i sekundarnog metabolizma međusobno povezani (Sl. 6).



**Slika 6.** Povezanost procesa primarnog i sekundarnog metabolizma (modifikovano prema Ripoll, 2015)

Najkarakterističnija promena koja je vizuelno uočljiva, a dešava se u procesu sazrevanja plodova paradajza, je promena njegove boje koja je uslovljena povećanom sintezom pigmenta karotenoida. Primarni mehanizam kontrole sinteze karotenoida je baziran na regulaciji ekspresije gena koji kodiraju enzime biosintetskog puta, kao što su fitoen sintetaza i fitoen desaturaza. Prvi korak u sintezi karotenoida predstavlja kondenzacija dva molekula geranil-geranil-difosfata uz pomoć enzima fitoen sintetaze (PSY) i nastanak fitoena (Sl. 7). Fitoen se dalje konvertuje u likopen preko intermedijera ζ-karotena, uz učešće enzima fitoen desaturaze i ζ-karoten desaturaze. Ciklizacija likopena je tačka grananja metaboličkog puta, koji može biti usmeren ka sintezi ksantofila i β-karotena zahvaljujući enzimu β-ciklazi, odnosno luteina i δ-karotena/α-

karotena putem dejstva likopen  $\epsilon$ -ciklaze (Hirschberg, 2001). S druge strane metabolizam  $\beta$ -karotena je blisko povezan sa biosintezom hormona abscisinske kiseline (Riggi et al., 2008).



**Slika 7.** Biosinteza karotenoida i abscisinske kiseline (ABA)

Tokom sazrevanja plodova koncentracija karotenoida se povećava 10-50 puta, pri čemu dolazi do degradacije hlorofila, a metabolizam se usmerava sa sinteze ksantofila (luteina i neoksantina) na sintezu karotena i to likopena, fitoena i  $\beta$ -karotena.  $\beta$ -karoten se akumulira tokom celokupnog perioda sazrevanja ploda, dok se najveći procenat likopena akumulira u poslednjoj fazi sazrevanja, usled čega plodovi postaju intenzivno crvene boje (Nour et al., 2014).

U toku sazrevanja plodova primarni i sekundarni metabolički putevi su međusobno povezani i dovode do biosinteze isparljivih aroma, hormona, pigmenata i vitamina značajnih za njihov kvalitet (Carrari et al., 2007). Ispitivanja metaboličkih promena koje se javljaju pri transformaciji zelenog u zreo plod paradajza su pokazala da dolazi do izrazitog povećanja sadržaja heksoznih šećera (glukoze i fruktoze), aminokiselina (glutaminske kiseline, aspartata, lizina, metionina i cisteina), kao i svih



pigmenata izuzev hlorofila. Nasuprot tome, sadržaj skoro svih intermedijera TCA ciklusa se smanjuje kod zrelog ploda, kao i sadržaj saharoze i većine šećernih alkohola, a istovremeno se razgrađuje toksični alkaloid tomatin koji je karakterističan za zelene plodove paradajza (Tohge et al., 2014).

Uporedo sa promenom boje kod paradajza kao klimakteričnog ploda, dolazi i do intenzivnijeg disanja koji podstiče sam proces sazrevanja. Tokom sazrevanja plodova dolazi do produkcije reaktivnih kiseoničnih formi (ROS) i pojave oksidativnog stresa kao rezultat povećanog intenziteta disanja plodova, kao i promene njihove boje usled transformacije hloroplasta u hromoplaste (Muñoz i Munné-Bosch, 2018). Dolazi do formiranja reaktivnih formi kiseonika (ROS) kao što su singleti kiseonika ( $^1\text{O}_2$ ), superoksid anjon ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ), vodonik peroksid ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) i hidroksil radikal ( $^{\bullet}\text{OH}$ ). Tako je povećanje koncentracije vodonik-peroksida, kao i drugih oblika ROS-a utvrđeno tokom sazrevanja plodova paradajza, odnosno prilikom promene boje perikarpa plodova (Jimenez et al., 2002). Pojava oksidativnog stresa ima važnu ulogu u regulaciji metabolizma tokom sazrevanja plodova, s obzirom da se biosintetski putevi karotenoida i fenolnih komponenti nalaze upravo pod kontrolom ROS, odnosno redoks stanja ćelije. Iako pojava ROS-a ima i veoma značajnu signalnu ulogu u ćelijama (Xia et al., 2015) oni dovode do oštećenja strukture DNK molekula i proteina, kao i do lipidne peroksidacije koja izaziva značajne promene u strukturi i funkciji bioloških membrana.

Uklanjanje reaktivnih kiseoničnih formi se vrši od strane antioksidativnog sistema. Enzimatski antioksidativni sistem čine enzimi koji uklanjaju ROS: superoksid dismutaze, katalaze i peroksidaze, kao i enzimi askorbat-glutation ciklusa (glutation reduktaze, dehidroaskorbat reduktaze i askorbat peroksidaze). Slobodne kiseonične radikale mogu uklanjati i komponente neenzimatskog antioksidativnog sistema, kao što su vitamin C, glutation, flavonoidi, karotenoidi i tokoferoli (Foyer et al., 1994).

Tokom početnih faza sazrevanja plodova antioksidativni sistem efikasno uklanja ROS i time sprečava negativne efekte oksidativnog stresa. Međutim, tokom kasnijih faza sazrevanja opada aktivnost antioksidativnih enzima i dolazi do pojačane produkcije lipidnih hidroperoksida usled čega nastaju oštećenja membranskih sistema kao posledica oksidativnog stresa (Mondal et al., 2004).

Antioksidativnoj aktivnosti plodova doprinosi askorbinska kiselina (vitamin C), koja se akumulira u zrelih plodovima. Put biosinteze askorbinske kiseline počinje sa D-

glukozom i deo je L-galaktoznog biosintetičkog puta (Sl. 6). Nakon sinteze, askorbinska kiselina se brzo oksiduje, što je posledica njene antioksidativne aktivnosti, ali se zatim redukcijom oksidovanih formi održava njen nivo, kao i redoks stanje ćelije (Massot et al., 2012). Iako postoji korelacija između sadržaja solubilnih šećera i vitamina C u plodovima u optimalnim uslovima gajenja paradajza (Gautier et al., 2009), neka istraživanja ukazuju da sinteza ovog vitamina ipak nije ograničena sadržajem šećera i da je glavni izvor askorbinske kiseline sinteza u samim plodovima, a ne njen transport iz listova (Massot et al., 2010).

Ispitivanja biosinteze i akumulacije vitamina C kod genotipova paradajza, koji se razlikuju po stepenu akumulacije, su pokazala da u prvim fazama razvića plodovi imaju visok kapacitet za biosintezu askorbinske kiseline koji dovodi do njene akumulacije u kasnijim fazama, sa pikom u tzv. breaker stadijumu - stadijum prelaska boje ploda iz zelene u žutu. U toj fazi uočena je i povećana akumulacija vodonik-peroksida, kao i porast u aktivnosti enzima dehidroaskorbat-reduktaze koji reguliše koncentraciju vitamina C, kao i pojačana ekspresija gena koji kodira ovaj enzim. Ova ispitivanja su pokazala da su koncentracije vitamina C u plodovima rezultat ili smanjenja njegove razgradnje ili povećane redukcije oksidovanih formi, što zavisi od samog genotipa, ali i od faze razvića ploda.

Tokom sazrevanja plodova paradajza se akumuliraju polifenoli, u početnim fazama usled pojave oksidativnog stresa (Rafoo et al., 2002), pri čemu je najveća koncentracija prisutna u pink stadijumu, nakon čega lagano opada (Nour et al., 2014). Finalna koncentracija fenola tokom sazrevanja ploda je visoko genotipski specifična, kao i sadržaj pojedinačnih polifenola (Ilahy et al., 2011). Ispitivanja sadržaja polifenola kao antioksidativnih komponenti su pokazala da se sadržaj ukupnih polifenola povećava tokom sazrevanja ploda paradajza kod svih ispitivanih genotipova, ali i ukazuje na veliku varijabilnost u pogledu puteva akumulacije i razgradnje pojedinačnih oblika polifenola (Anton et al., 2017).

Paradajz sadrži i dosta aromatičnih jedinjenja koja su odgovorna za miris ploda, kao i percepciju ukusa paradajza. Isparljiva aromatična jedinjenja se sintetišu tokom sazrevanja ploda i to su uglavnom aciklični, ciklični i heretociklični ugljovodonici, alkoholi, fenoli, etri, aldehidi i ketoni (Baldwin et al., 2008).

### 2.2.3. Uloga fitohormona u rasteњу i razviću plodova

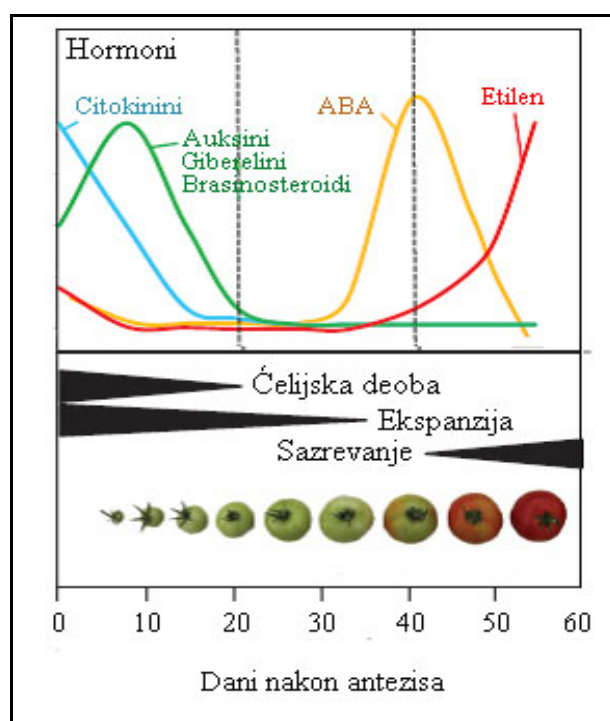
Celokupan proces rasteņa i razvića plodova nalazi se pod kontrolom gena, koji ne samo da kontrolišu procese ćelijske deobe i elongacije ćelija, nego i aktivaciju hormona (Sl. 8) koji imaju ključnu ulogu u regulaciji svih faza razvića plodova (Giovanonni, 2004; Kumar et al., 2014; Azzi et al., 2015).

U prvoj fazi nakon oplodnje, zajedno sa drugim hormonima **auksini** imaju važnu ulogu, što je dokazano njihovom egzogenom primenom koja dovodi do inicijacije razvoja ploda (de Jong et al., 2009). Oni su neophodni za inicijaciju ćelijskih deoba, kao i u fazi rasteņa ćelija ploda gde imaju ulogu u aktivaciji protonskih pumpi koje snižavaju pH ćelijskog zida i na taj način regulišu aktivnost enzima za relaksaciju i elongaciju ćelijskog zida. Auksini su ključni i za aktivaciju sinteze drugih hormona, pa tako povećanje njihove koncentracije odmah nakon oprašivanja utiče na porast koncentracije citokinina i giberelina (Mariotti et al., 2011).

**Citokinini** stimulišu ćelijske deobe i zajedno sa auksinima i giberelinima determinišu zametanje plodova. Endogena koncentracija citokinina je u pozitivnoj korelaciji sa veličinom ploda, prvenstveno usled stimulacije ćelijskih deoba. Iako je sam proces rasteņa plodova primarno zavisao od koncentracije auksina i citokinina i **giberelini** imaju ulogu u ovoj fazi. Akumulacija giberelina se poklapa sa periodom u kome dolazi do ćelijske deobe, kao i sa fazom ekspanzije ćelija (Srivastava i Handa, 2005). Tada dolazi do značajnog povećanja njihove koncentracije, i njihov efekat se ostvaruje preko regulacije aktivnosti enzima koji utiču na povećanje elastičnosti ćelijskog zida, kao što su ekspanzini, endoksiloglukan transferaze i pektat lijaze (De Jong et al., 2009).

Značajnu ulogu u razviću ploda imaju i semena čiji razvoj je pod kontrolom hormona, pre svega **abscisinske kiseline** (ABA), koja reguliše proces desikacije, odnosno dormancije semena. U toku razvoja plodova paradajza dolazi do značajnog povećanja koncentracije ovog hormona u semenima i u perikarpu ploda sa karakterističnim pikom u fazi ekspanzije ćelije (Srivastava i Handa, 2005). Za razliku od auksina kao stimulatora, ABA ima inhibitorno dejstvo na rasteње koje se ostvaruje supresijom aktivnosti protonske pumpe, a deluje inhibitorno i na sintezu hemiceluloze i celuloze (Stikić i Jovanović, 2015). Iako je u nezrelim plodovima količina ABA na niskom nivou, tokom procesa sazrevanja dolazi do njene postepene akumulacije (Setha,

2012). Maksimalna koncentracija ABA se postiže tokom tzv. breaker stadijuma, da bi u kasnijim fazama sazrevanja ploda došlo do opadanja njene koncentracije i etilen preuzima ulogu ključnog hormona koji kontroliše sazrevanje plodova (Leng et al., 2014). Pretpostavlja se da ABA indukuje sintezu etilena preko regulacije gena za ACC sintazu i ACC oksidazu koji su ključni za metabolizam prekursora etilena, 1-aminociklopropan-1-karboksilne kiseline. Povećanje nivoa ABA pozitivno utiče na produkciju etilena preko efekta na ekspresiju gena uključenih u njihovu sintezu, ali i sam etilen može indukovati akumulaciju ABA (Mou et al., 2016).



**Slika 8.** Promene sadržaja fitohormona tokom rastezanja i razvića plodova paradajza (modifikovano prema Beauvoit et al., 2018)

U odnosu na intenzitet disanja i dinamiku sadržaja *etilena* u toku sazrevanja, plodovi se dele u 2 kategorije: *klimakterične* i *neklimakterične plodove*. Kod *klimakteričnih plodova*, kao što je paradajz, tokom sazrevanja dolazi do naglog povećanja koncentracije etilena zajedno sa procesom disanja koji utiče na ubrzano sazrevanje nezrelih plodova. Porast u koncentraciji etilena je regulisan porastom ekspresije gena koji učestvuju u njegovoj biosintezi, kao i komponentama signalnog puta. Za razliku od

klimakteričnih plodova, kod *neklimakteričnih* ne dolazi do promena u sadržaju etilena (njegova koncentracija ostaje niska tokom procesa sazrevanja), kao ni do povećanja intenziteta disanja (Bapat et al., 2010; Tripathi et al., 2016).

Tokom sazrevanja plodova dolazi do niza specifičnih promena na molekularnom nivou koje su regulisane hormonima, a koje dovode do pojave niza kvalitativnih karakteristika kod plodova paradajza (Osorio et al., 2013; Pesaresi et al., 2014). Za sazrevanje plodova paradajza je karakteristična promena boje plodova koja je uslovljena pojačanom sintezom karotenoida, a koja se nalazi pod uticajem hormona etilena. Ekspresija gena koji su ključni za sintezu karotenoida može biti indukovana etilenom ili njegovim prekursorom - amilociklopropan karboksilnom kiselinom (ACC). Tako je utvrđeno da egzogena aplikacija prekursora etilena (ACC), ubrzava promenu boje plodova tako što indukuje akumulaciju likopena,  $\alpha$ -,  $\beta$ - i  $\delta$ -karotena i smanjuje koncentraciju  $\beta$ -ksantofila i hlorofila b. S druge strane primena IAA odlaže promenu boje i akumulaciju likopena i smanjuje sadržaj hlorofila a (Su et al., 2015).

Etilen je ključan i za proces omekšavanja ćelijskih zidova tokom sazrevanja plodova, a noviji podaci ukazuju da u ovom procesu kod paradajza učestvuje i indol-sirćetna kiselina (McAtee et al., 2013). Ispitivanja su pokazala da pored etilena i ABA utiče na pigmentaciju ploda, pa tako zreli plodovi ABA-deficitarnih mutanata paradajza, uključujući i mutant *flacca*, sadrže veću količinu karotenoida u odnosu na plodove kontrolnih biljaka (Galpaz et al., 2008). Egzogena primena ABA dovodi do povećane ekspresije niza gena koji su uključeni u akumulaciju karotenoida i razgradnju hlorofila, što inicira promenu boje plodova pri sazrevanju (Mou et al., 2015). U prilog tome su i rezultati koji pokazuju da transgene biljke paradajza kod kojih je došlo do smanjene ekspresije *SINCE1* gena koji učestvuje u sintezi ABA imaju visok sadržaj likopena i  $\beta$ -karotena (Sun et al., 2012). Pozitivan efekat na boju plodova paradajza imaju i druge grupe hormona, kao što su brasionosteroidi i jasmonska kiselina (Liu et al., 2012).

Pored ove uloge ABA utiče i na kvalitet plodova, pre svega na akumulaciju šećera i organskih kiselina tokom njihovog sazrevanja. Egzogena primena ABA utiče na poboljšanje kvaliteta plodova paradajza ne samo svojim efektom na povećan sadržaj karotenoida, nego i na koncentraciju rastvornih šećera i organskih kiselina (Barickman et al., 2016). Kao faktor koji kontroliše sazrevanje, ABA utiče na akumulaciju šećera u plodovima paradajza povećanjem ekspresije gena koji kodiraju enzime vakuolarnu

invertazu i saharozo-sintetazu (Bastias et al., 2011). Ispitivanja su pokazala da ABA utiče i na povećanu ekspresiju gena koji su u vezi sa antioksidativnim kapacitetom biljke, kao i gena koji su uključeni u biosintezu flavonoida, što ukazuje na njenu ulogu u stimulaciji mehanizama odbrane od stresa produkcijom veće količine antioksidativnih komponenti i sekundarnih metabolita u plodovima paradajza (Mou et al., 2015).

### **2.3. Efekti stresa suše na vegetativnu i reproduktivnu fazu paradajza**

Suša kao stresni faktor utiče na skoro sve fiziološke procese u biljci, uključujući ćelijsku deobu i rastenje ćelija, aktivaciju enzima i hormona, reakcije stoma i metaboličke procese. Najosetljiviji od svih tih procesa na pojavu vodnog deficita je proces rastenja listova (Bradford i Hsiao, 1982).

Poznato je da smanjenje sadržaja vode u zemljištu dovodi do opadanja vodnog i potencijala turgora, koji izazivaju reakcije zatvaranja stoma kao i redukciju rastenja ćelija i listova. Međutim, dalja ispitivanja su pokazala da pored pada turgora kao "*hidrauličnog signala*", inhibicija rastenja može nastati i u uslovima kada nema vidljivih promena u vodnom režimu biljaka (Mingo et al., 2003; Davies et al., 2005). To je ukazalo na postojanje "*nehidrauličnih (hemijskih) signala*" kao signala "*ranog upozoravanja*". Sinteza ovih signala je indukovana sušom na nivou korena i oni kontrolišu reakcije stoma i proces rastenja biljaka u uslovima vodnog deficita u zemljištu (Schachtman i Goodger, 2008). Najznačajniji hemijski signal koji je hormonske prirode je abscisinska kiselina (ABA), ali signali mogu biti i pH ksilema i apoplasta, kao i jonski sastav ksilemskog soka (Dodd, 2005). Istraživanja reakcija biljaka u uslovima suše su ukazala na postojanje interakcija obe vrste signala, hemijskog i hidrauličnog signala, u reakcijama stoma i kontroli rastenja biljaka (Jia i Zhang, 2008; Prokić, 2009).

#### **2.3.1. Suša u toku vegetativne faze**

Uticao suše na rastenje i razviće paradajza u velikoj meri zavisi od faze ontogeneze tokom koje je biljka izložena vodnom deficitu (Kuşçu et al., 2014). U tom pogledu vegetativna faza paradajza je posebno osetljiva, pa stres suše primenjen u ovoj fazi može uticati i na kasniji reproduktivni period, kao i na prinos i kvalitet plodova (Chen et al., 2015).

Stres suše inhibitorno utiče na proces rastenja delujući na ćelijske deobe i proces elongacije ćelija, što za posledicu ima redukciju lisne površine. Smanjenje veličine ćelija nastaje usled promena na biofizičkom i biohemijskom nivou, redukcije turgora koji je neophodan za ekspanziju ćelija, ali i zbog smanjene aktivnosti enzima ćelijskog zida, kao i proteina ekspanzina koji su odgovorni za relaksaciju ćelijskog zida (Litvin et al., 2016).

U uslovima vodnog deficita kod paradajza dolazi do redukcije rastenja listova, koje se ogleda u smanjenju dužine i ukupne lisne površine, ali i broja listova na biljakama (Al Hassan et al., 2015; Zhou et al., 2017). Jedan od parametara rastenja listova je i specifična lisna površina koja predstavlja odnos lisne površine i mase lista, a koji može da bude potencijalni indikator stepena stresa. Ispitivanja su pokazala da u uslovima umerenog, ali i jakog stresa suše dolazi do redukcije specifične lisne površine kod paradajza (Calcagno et al., 2011; Patanè i Saita, 2015; Ripoll et al., 2016a,b). Smanjenje specifične lisne površine može nastati usled redukcije ćelijske ekspanzije koja dovodi do pojave listova manje površine, ali i do akumulacije ligninskih i fenolnih komponenti ćelijskih zidova koje utiču na masu lista (Poorter et al., 2011). U uslovima suše primetno je i povećanje sadržaja suve materije u listovima paradajza (Moles et al., 2018), ali postoje podaci gde se taj procenat smanjuje istovremeno uz smanjenje visine biljaka i prečnika stabla (Wahb-Allah et al., 2011).

Stres suše dovodi do redukcije rastenja stabla, odnosno smanjenja visine biljka skraćivanjem dužine internodija (Litvin et al., 2016; Zhou et al., 2017). Biljke paradajza izložene stresu suše imaju i manju suhu masu nadzemnog dela, lista i stabla, pri čemu efekat suše može biti više izražen na redukciju suve mase lista u poređenju sa stablom (Patanè i Saita, 2015), a smanjenje biomase je izraženije kod osetljivih u odnosu na genotipove tolerantne na sušu (Rigano et al., 2016).

Paradajz u uslovima stresa suše intenzivnije razvija korenove, pa je često uočeno povećanje suve mase, kao i promene u morfologiji korena što predstavlja jednu od adaptivnih reakcija u uslovima smanjenog snabdevanja vodom. Uporedo sa promenama u rastu korena paradajza u uslovima stresa suše dolazi i do povećanja njegove hidraulične provodljivosti koja je pod kontrolom abscisinske kiseline koja reguliše aktivnost kanala akvaporina u korenu (Astacio et al., 2011). Povećanje suve mase korena praćeno smanjenjem suve mase nadzemnog dela dovodi do promene odnosa

suve mase korena i nadzemnog dela (R/S odnos). Iako postoje podaci koji pokazuju da u uslovima suše kod paradajza dolazi do smanjenja odnosa mase nadzemnog dela i korena (Mingo et al., 2004), pojedina istraživanja su ukazala da se taj odnos može povećati ili ostati nepromenjen, u zavisnosti od genotipa (Torrecillas et al., 1995; Moles et al., 2018).

Suša utiče na niz fizioloških procesa kao što su vodni režim i fotosinteza prvenstveno redukcijom otvorenosti stoma, smanjenjem turgora u ćelijama, ali i transporta asimilata (Chaves et al., 2009). U uslovima vodnog deficita dolazi do redukcije provodljivosti stoma i snižavanja vodnog i osmotskog potencijala, a listovi paradajza izloženi stresu suše imaju manji sadržaj vode (Calcagno et al., 2011; Moles et al., 2018).

Međutim, kod nekih genotipova može doći do povećanja količine saharoze i skroba u listovima u uslovima suše zbog smanjene aktivnosti sink organa i njihove potrebe za saharozom, što sistemom povratne sprege može inihibirati fotosintezu da bi se uspostavio source-sink balans. Promene u sadržaju ugljenih hidrata u uslovima suše mogu biti i genotipski specifične, pa tako primena jakog stresa suše povećava sadržaj skroba i saharoze u listovima kod genotipa tolerantnijeg na sušu u odnosu na kontrolu, dok kod manje tolerantnih genotipova dolazi do opadanja sadržaja saharoze usled redukcije neto fotosinteze (Zhou et al., 2017).

Efekat suše na fotosintetsku aktivnost posredno dovodi do pojave i povećanja rizika za fotooksidativni stres koji utiče na rastenje biljaka (Muños et al., 2018). Parametri koji mogu da ukažu na postojanje fotooksidativnog stresa, ali i toleranciju biljaka na sušu, su sadržaj hlorofila i fluorescencija hlorofila u listovima. Literaturni podaci pokazuju da kod biljaka paradajza izloženih umerenom i dugotrajnom stresu suše dolazi do opadanja sadržaja hlorofila a i b usled fotoinhibicije i fotooksidacije ovih pigmenata, dok primena jakog i kratkotrajnog stresa ne dovodi do promene u sadržaju hlorofila (Zgalai et al., 2006; Al Hassan et al., 2015). Ispitivanja genotipova paradajza različite tolerantnosti na sušu su pokazala da tolerantiji genotip ima veći sadržaj hlorofila a, hlorofila b i karotenoida u kontrolnim uslovima, kao i u uslovima dugotrajnog i intenzivnog stresa za razliku od netolerantnog genotipa gde je utvrđena redukcija količine pigmenata u uslovima stresa (Rigano et al., 2016). Povećanje sadržaja



hlorofila indirektno ukazuje na nizak stepen fotoinhibicije u listovima, što doprinosi održanju neto fotosinteze i procesa rastenja.

Fluorescencija hlorofila je jedan od pokazatelja koji može da ukaže i na stepen osetljivosti, odnosno tolerantnosti na stres. Među nizom parametara koji se odnose na fluorescenciju posebno se izdaje odnos  $F_v/F_m$ , odnosno odnos varijabilne i maksimalne fluorescencije koji ukazuje na maksimalnu fotohemijsku efikasnost fotosistema PSII. Smanjenje vrednosti ovog parametra u uslovima suše kod paradajza (Mishra et al., 2012; Ripoll et al., 2016a) ukazuje na osetljivost fotosistema II na uslove vodnog deficita.

### ***2.3.2. Suša u toku reproduktivne faze***

Primena stresa suše u reproduktivnoj fazi razvića paradajza odražava se na pojavu cvetova, zametanje i rastenje plodova, što ima krajnji efekat na redukciju prinosa biljaka. Pojava umerenog stresa suše kod paradajza dovodi do pojačane abortivnosti cvetova, kao i do toga da biljke koje su izložene stresu cvetaju ranije u odnosu na kontrolu (Sivakumar i Srividhya, 2016). Za razliku od umerenog stresa, jak stres suše kratkog trajanja ima veći efekat na abortivnost cvetova (Showemimo et al., 2007). Takođe je utvrđeno da genotipovi paradajza koji su manje tolerantni na sušu imaju veći stepen abortivnosti cvetova u odnosu na otpornije kultivare (Bhatt et al., 2009).

Efekat suše u toku reproduktivnog perioda zavisi i od faze razvića ploda u kojoj je primenjen. Tako se primena vodnog deficita u toku ćelijskih deoba negativno odražava na razvoj tkiva ploda paradajza (Baldet et al., 2006), dok suša u fazi ekspanzije ćelija ima najveći uticaj na rastenje ploda, dovodeći do promena u vodnom režimu koji utiče na fluks vode u ćeliju i odnos sink/ source organa (Bertin et al., 2000). Primena vodnog deficita u toku sazrevanja ploda, kao i interakcija sa hormonima, posebno sintezom etilena, dovodi do specifičnih metaboličkih promena vezanih za kvalitet samih plodova (Barry i Giovannoni, 2007).

Suša izaziva smanjenje prinosa usled smanjenje veličine ploda (Zheng et al., 2013), što zavisi i od intenziteta suše. Pojava umerenog stresa suše kod paradajza od cvetanja do faze zametanja ploda utiče na broj reproduktivnih organa i potencijalno vodi ka povećanju veličine i poboljšanju kvaliteta preostalih plodova, povećavajući im dostupnost asimilata (Patanè i Cosentino, 2010; Wang et al., 2011). Ukoliko se vodni

deficit primeni tokom celog perioda rastenja biljke, dolazi do značajne redukcije mase plodova i prinosa (Nuruddin et al., 2003).

Suša inhibira rastenje plodova i usled promena u source/sink odnosu i transportu asimilata u plodove (Muller et al., 2011), koje nastaju usled smanjene količine vode neophodne za održanje turgora i ograničenog priliva materija u plodove. Regulacija transporta ugljenika između biljnih organa je blisko povezana sa metabolizmom šećera, i to prvenstveno saharoze i heksoza između listova i plodova (Osorio et al., 2014). Stres suše utiče na fluks floemskog soka (Ho et al., 1987), pa usled redukovano snabdevanja vodom, dolazi do povećanja sadržaja šećera i kiselina u plodu kao rezultat koncentracionog efekta (Guichard et al., 2001). Sa druge strane, smanjena aktivnost enzima apoplastične invertaze koji kontrolišu metabolizam saharoze u uslovima stresa suše vodi pojačanoj abortivnosti plodova (Zanor et al., 2009).

#### **2.4. Efekti suše na kvalitet i organoleptička svojstva plodova paradajza**

Stresni faktori utiču na kvalitet plodova paradajza, a stepen i pravac uticaja zavise od niza faktora uključujući genotip i fazu razvika u kojoj se biljka nalazi u trenutku delovanja stresnog faktora, intenzitet i trajanje stresa, kao i uzajamnu interakciju više stresnih faktora (Ripoll et al., 2014). Iako se u uslovima stresa suše smanjuje prinos, pri umerenom stresu može doći i do povećanja kvaliteta plodova, usled povećanja koncentracije šećera, organskih kiselina, poboljšanja čvrstoće i boje ploda (Patanè i Cosentino, 2010). Međutim, postoje i podaci koji ukazuju na negativne korelacije, odnosno smanjenje sadržaja jedinjenja primarnog (šećera, organskih kiselina) i sekundarnog metabolizma (karotenoida, askorbinske kiseline, polifenola) (Chen et al., 2013).

##### **2.4.1. Efekti na primarni metabolizam**

Sa aspekta kvaliteta plodova paradajza najznačajniji primarni metaboliti su šećeri i organske kiseline. Njihov sadržaj menja se pod uticajem više faktora spoljašnje sredine, uključujući i stres suše. Stres suše utiče na akumulaciju šećera u plodu paradajza zavisno od genotipa, faze u kojoj je biljka izložena stresu, ali i stepena i dužine trajanja stresa (Bertin et al., 2000). Umeren i dugotrajan stres suše može izazvati akumulaciju heksoznih šećera glukoze i fruktoze, ali i akumulaciju šećera saharoze kod pojedinih

genotipova paradajza (Ripoll et al., 2016a,b), koja koja najviše doprinosi percepciji slatkog ukusa ploda. Pojačana akumulacija saharoze je posebno primećena kod krupnijih plodova paradajza, što može da ukaže na njegovu ulogu u osmotskom prilagođavanju koje je neophodno za održavanje rasteanja ploda u uslovima vodnog deficita (Ripoll et al., 2016b).

Variranja u sadržaju šećera u uslovima vodnog deficita izražena na svežu/suvu masu plodova mogu biti rezultat više efekata uključujući efekat razblaženja/dehidratacije ili aktivne akumulacije osmotikuma (Etienne et al., 2013). Povećanje koncentracije šećera može biti rezultat njihove pojačane biosinteze ili degradacije skroba. Istraživanja su pokazala da njihov sadržaj u velikoj meri zavisi od aktivnosti enzima uključenih u metabolizam ugljenih hidrata (Beckles et al., 2012). Tako je variranje u sadržaju saharoze i heksoze blisko povezano sa enzimima metabolizma saharoze - invertazom i saharoznom sintetazom (Carrari et al., 2007).

Stres suše može dovesti do povećanja sadržaja organskih kiselina, ali i do smanjenja njihove koncentracije (Bertin et al., 2000). Suša može da utiče i na povećanje koncentracije organskih kiselina putem efekta razblaženja ili pojačanom akumulacijom u listovima što se odražava na njihovo povećanje u plodovima, i to prvenstveno jabučne i limunske kiseline (Nahar i Gretzmacher, 2002). Akumulacija samih organskih kiselina se negativno odražava na ukus ploda. Međutim, povećanje koncentracije organskih kiselina može biti praćeno povećanjem koncentracije heksoza i saharoze, usled čega se ukus ploda poboljšava u uslovima vodnog deficita (Nahar et al., 2011). Pojačana akumulacija organskih kiselina može biti rezultat promene aktivnosti enzima bitnih za njihov metabolizam. Utvrđeno je da se aktivnost ovih enzima znatno povećava u fazi sazrevanja ploda (Biais et al., 2014), kao i u uslovima povišenih temperatura, uporedo sa promenama brzine glikolize i Krebsovog ciklusa (Araujo et al., 2012).

U odgovoru biljaka na stres suše posebno je značajna aktivacija transkripcionih faktora koji se nalaze pod kontrolom hormona, kao što je ABA. Ispitivanja transgenih linija paradajza su pokazala da ABA-regulisani transkripcioni faktor SIAREB1 utiče na ekspresiju gena značajnih za primarni metabolizam, što utiče na formiranje krajnjeg metaboličkog profila plodova paradajza. Pojačana ekspresija ovog faktora dovodi do povećanja koncentracije organskih kiselina, heksoza, aminokiselina u plodovima

paradajza, prvenstveno putem dejstva na gene koji kodiraju enzime bitne za sintezu ugljenih hidrata i metabolizam aminokiselina (Bastias et al., 2014).

#### ***2.4.2. Efekti na sekundarni metabolizam***

Produkti sekundarnog metabolizma imaju značajnu nutritivnu ulogu kao komponente kvaliteta, arome, ukusa i mirisa plodova. Posebno značajni fitonutrijenti su oni koji imaju važnu ulogu u održanju zdravlja ljudi, kao što su različiti antioksidanti (karotenoidi, vitamin C, tokoferoli, polifenoli itd.). Paradajz se karakteriše visokom antioksidativnom aktivnošću, koja je u korelaciji sa koncentracijom karotenoida, askorbinske kiseline, tokoferola i fenola. Ispitivanja su pokazala da je koncentracija različitih vrsta karotenoida koje doprinose ukupnoj antioksidativnoj aktivnosti u velikoj meri genotipski određena (Nour et al., 2014), kao i da su u borbi protiv reaktivnih kiseoničnih formi posebno značajni likopen i  $\beta$ -karoten (Sánchez-Rodríguez et al., 2010). Vodni deficit može uticati pozitivno (Favati et al., 2009), ali i negativno na sadržaj karotenoida (De Pascale et al., 2007), što zavisi kako od genotipa, tako i od intenziteta stresa (Ripoll et al., 2016a).

Suša može da utiče na metabolizam sekundarnih metabolita preko najmanje dva interaktivna mehanizma. U uslovima vodnog stresa dolazi do promena u fotosintezi koje se odražavaju na smanjenu sintezu i transport primarnih metabolita koji su osnovni izvor za biosintezu fenolnih komponenti, karotenoida i vitamina (Nora et al., 2012). S druge strane suša može dovesti do pojave sekundarnog, oksidativnog stresa, koji utiče direktno ili indirektno na biosintetske puteve antioksidativnih komponenti (Fanciullino et al., 2014). Tako smanjena koncentracija saharoze može da odloži ili redukuje akumulaciju karotenoida (likopena i fitoena) u perikarpu ploda paradajza (Telef et al., 2006).

Bitnu ulogu u antioksidativnom sistemu odbrane ima askorbinska kiselina, koja je posebno značajna za reakcije biljaka na abiotički stres (Venkatesh i Park, 2014). Stres suše je uglavnom u pozitivnoj korelaciji sa koncentracijom askorbata (Favati, 2009; Murshed et al., 2013), ali povećana akumulacija askorbinske kiseline može biti posledica i pojave sekundarnog, oksidativnog stresa (Sánchez-Rodríguez et al., 2010).

Ispitivanja korelacije sadržaja askorbinske kiseline i sadržaja šećera su pokazala različite rezultate. Poznato je da šećeri kao signalni molekuli promovišu ekspresiju gena

bitnih za sintezu askorbata, kao i da visoke koncentracije šećera u uslovima vodnog deficita stimulišu sintezu vitamina C (Veit-Köhler et al., 1999). Pojedina istraživanja su pokazala korelaciju sadržaja vitamina C i šećera (Stevens et al., 2007), koja se bazira na činjenici da su šećeri supstrat za sintezu vitamina, dok su druga pokazala odsustvo korelacije, što ukazuje da akumulacija vitamina C nije ograničena fotosintezom i količinom šećera (Gautier et al., 2009; Massot et al., 2010). Ispitivanja su pokazala i da je sadržaj askorbinske kiseline u korelaciji sa tolerantnošću biljaka na stres suše (Zhang et al., 2011). Ova uloga askorbata je potvrđena proučavanjem mutanata paradajza sa redukovanom ekspresijom enzima askorbat oksidaze čije su biljke imale za 30% više vitamina C i pokazale su viši stepen tolerancije na sušu održavajući visok nivo provodljivosti stoma i procesa fotosinteze (Garchery et al., 2013).

## **2.5. Uloga stres hormona ABA u reakcijama biljaka na stres suše**

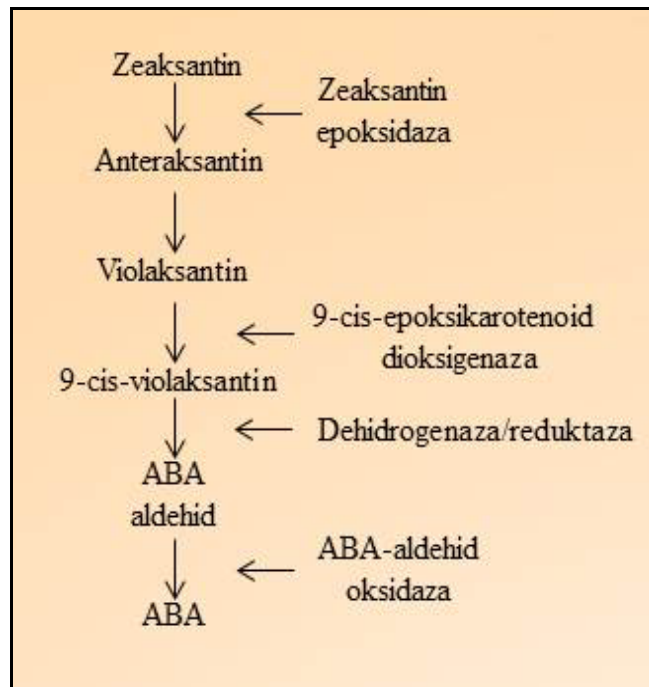
ABA pored svoje značajne uloge kao jedan od ključnih faktora za kontrolu sazrevanja i senescencije plodova (Zhang et al., 2009), ima uloge i u drugim fiziološkim procesima, kao što su klijanje semena, vegetativno rasteenje, procesi dormancije i abscisije i dr. (Stikić i Jovanović, 2015). S druge strane ABA je poznata kao “stres” hormon čija se koncentracija značajno povećava u uslovima abiotičkog stresa: stresa visokih ili niskih temperatura, suše, kao i stresa soli ili teških metala (Sah et al., 2016). Posebno je istražena uloga ABA u adaptivnim reakcijama biljaka na stres suše, kada povećana koncentracija ovog hormona utiče na regulaciju vodnog režima, reakcije stoma i proces fotosinteze, inhibiciju rasteenja listova i stimulaciju rasteenja korenovog sistema, kao i promene u ekspresiji gena koji kontrolišu adaptivni odgovor biljke (Vishwakarma et al., 2017).

### **2.5.1. Biosinteza ABA i mehanizmi njene regulacije**

Abcisinska kiselina po svojoj hemijskoj prirodi predstavlja seskviterpenoid koji nastaje od C40 karotenoidnog prekursora preko C15 intermedijera. Prvi korak u biosintezi ABA predstavlja epoksidacija zeaksantina i anteraksantina u violaksantin (Sl. 9). Ovaj proces se odvija u plastidima i u njemu učestvuje enzim zeaksantin epoksidaza (kodirana kod paradajza *LeZEP1* genom). Nakon serije strukturnih modifikacija, violaksantin se konvertuje u 9-cis-epoksikarotenoid (9-cis-violaksantin i/ili 9-cis-neoksantin), koji se

oksiduje u ksantoksin pomoću enzima 9-cis-epoksikarotenoid dioksigenaza (kodirana kod paradajza *LeNCED1* genom). Ovi procesi se smatraju prvom etapom biosinteze abscisinske kiseline u biljnom tkivu. Dobijeni ksantoksin se transportuje u citoplazmu i pomoću dehidrogenaze/reduktaze (SDR) prelazi u ABA-aldehid. Poslednji korak u biosintezi je oksidacija ABA-aldehida pomoću ABA-aldehid oksidaze, za čiju aktivnost je bitan molibdenski kofaktor (MoCo) (Xiong i Zhu, 2003).

U uslovima abiotskog stresa stimulisana je *de novo* sinteza ABA, dok je njena razgradnja smanjena (Roychoudhury et al., 2013). Stimulacija sinteze u uslovima stresa bazirana je na povećanoj ekspresiji gena koji su uključeni u njenu biosintezu, pa tako stres suše kod paradajza može indukovati porast nivoa ekspresije *NCED* gena (Burbidge et al., 1999), kao i *ZEP* gena na nivou korena (Thompson et al., 2002).



**Slika 9.** Biosinteza abscisinske kiseline (ABA)

### 2.5.2. ABA-mutanti kod paradajza

U proučavanju uloge i mehanizama delovanja biljnih hormona na reakcije biljaka najčešće su zastupljena dva pristupa: egzogena aplikacija hormona ili primena mutanata

koji imaju smanjenu sintezu hormona. Kod paradajza su identifikovana tri ABA-deficitarna mutanta koji imaju recesivne mutacije na tri različita lokusa, i to su: *notabilis*, *sitiens* i *flacca*. Kod mutanta *notabilis* biosinteza abscisinske kiseline je redukovana usled mutacije *NCED* gena (Burbidge et al., 1999), dok je kod *sitiens* blokiran poslednji korak sinteze ABA, prevođenje ABA aldehyda u abscisinsku kiselinu (Taylor et al., 1988. Mutant *flacca* sadrži smanjenu količinu ABA zbog neaktivnosti molibden-kofaktor sulfuraze, koja je neophodna za pravilno funkcionisanje enzima ABA-aldehid oksidaze (Sagi et al., 1999).

Generalno gledano, ABA - deficitarni mutanti paradajza pokazuju niz zajedničkih karakteristika kao što su promene u vodnom režimu koje se odnose na veću provodljivost stoma i brzinu transpiracije, niži vodni potencijal i relativni sadržaj vode u listovima, ali i smanjenje lisne površine i rastežnja cele biljke (Nagel et al., 1994; Sharp et al., 2000) u poređenju sa divljim tipovima. Kada je reč o fenotipskoj karakterizaciji mutant *flacca* je manje visine i ima redukovanu površinu listova u odnosu na divlji tip, ne samo usled manjeg rasta, već i pojave kovrdžavih listova (Nitsch et al., 2012; Pećinar, 2015). Mutant *flacca* ima veću provodljivost stoma i viši nivo transpiracije, niži vodni potencijal listova i relativni sadržaj vode u tkivu u odnosu na divlji tip Ailsa Craig. Kod ovog genotipa dolazi i do česte pojave adventivnih korenova, a javlja se i smanjena hidraulična provodljivost korena i nadzemnog dela biljaka (Dodd et al., 2009).

Zbog smanjene sposobnosti sinteze ABA, mutant *flacca* ima manji sadržaj ovog hormona u pojedinim biljnim organima. Različita istraživanja su pokazala da taj sadržaj varira, pa se kod *flacca* genotipa na nivou listova sintetiše od 20 do 50% ABA (Sagi et al., 1999; Sharp et al., 2000; Nitsch et al., 2012), a u korenu do 67% u odnosu na divlji tip (Sagi et al., 1999). Mutant *flacca* se pored smanjene koncentracije ABA karakteriše i visokom koncentracijom etilena. Ispitivanja su pokazala da nadzemni delovi biljke, izdanci proizvode 1,6 - 2,3 puta više etilena u odnosu na divlji tip (Hussain et al., 2000; Arve i Torre, 2015).

Fenotipske karakteristike ABA mutanata dovode u pitanje klasičnu klasifikaciju hormona po kojoj ABA pripada grupi inhibitora rastežnja, jer je na osnovu te podele za očekivati da su mutanti veći i imaju veću površinu vegetativnih organa u odnosu na divlji tip. To se može objasniti interakcijskim odnosima ABA i drugih hormona. Kako su etilen i abscisinska kiselina u antagonističkom odnosu, ABA ima ulogu da spreči

preveliku sintezu etilena, koja može dovesti do redukcije nadzemnog dela biljke (Sharp et al., 2000), dok povećanje etilena u odnosu na smanjen sadržaj ABA u korenu dovodi do inhibicije rasteња korena (Chen et al., 2003).

Ispitivanja ekspresije gena uključenih u biosintezu ABA i etilen-signalni put kod *flacca* su pokazala da u uslovima suše dolazi do smanjene ekspresije *NCED* gena i značajnog povećanja ekspresije *EIL1* koja se može odraziti na povećanu produkciju etilena, koji utiče na signale i biosintezu ABA (Milosavljević et al., 2012). Noviji rezultati istraživanja sa divljim tipom i *flacca* mutantom ukazuju da u toku ranih faza suše salicilna kiselina ima važnu ulogu u ranom odgovoru biljaka na stres, kao i da interakcija ABA sa jasmonskom kiselinom utiče na sadržaj oba hormona u listovima i korenovima paradajza i reakcije biljaka (Muñoz-Espinoza et al., 2015).

Mali broj istraživanja se odnosi na ulogu ABA kod *flacca* mutanta u reproduktivnoj fazi, i u to u procesu rasteња plodova. Nedostatak ABA kod ABA-deficitarnih mutanata rezultuje plodove manje veličine (Nitsch et al., 2012). Kako je kod *flacca* mutanta smanjena aktivnost aldehyd-oksidade koja je bitna i za sintezu auksina (Sagi et al., 2002), promene u veličini ploda mutanata mogle bi biti vezane i za metabolizam auksina. Međutim, rezultati su pokazali da niži nivo ABA u plodovima mutanata nije bio u korelaciji sa promenama sadržaja auksina, ali je bio povezan sa visokom produkcijom etilena (Nitsch et al., 2012). S druge strane formiranje plodova normalne veličine kod divljeg tipa ukazuje da ABA stimuliše ekspanziju ćelija i rasteње plodova negativnim efektom na sintezu etilena.

## **2.6. Primena genetičkog diverziteta paradajza u savremenim selekcionim programima**

Kako bi se umanjili efekti suše na biljke, u savremenoj poljoprivredi se primenjuju određene agrotehničke mere kojima se povećava dostupnost vode u zemljištu (navodnjavanje i poboljšanje fizičko-hemijskih karakteristika zemljišta), ali se uporedo selekcionim programima stvaraju i genotipovi otporni na sušu (Jovanovic i Stikic, 2012). Za stvaranje ovih otpornih genotipova je neophodno poznavanje reakcija biljaka na stres suše, unapređenje fenotipske karakterizacije genotipova, kao i selekcija gena koji su ključni za otpornost biljaka na sušu.



Analiza genetičkog diverziteta između kultivisanog paradajza i njegovih divljih srodnika primenom molekularnih metoda ukazala je na značajne genetičke razlike između njih, pa se stoga divlji srodnici mogu koristiti kao izvor novih genetičkih varijacija. Divlji srodnici paradajza poseduju veliki genetički diverzitet, posebno kada su u pitanju vrste *Solanum chilense* i *Solanum peruvianum*, što je značajno sa aspekta selekcije. U poređenju sa divljim srodnicima, domestifikovani paradajz je genetski siromašan i procena je da genom kultivara paradajza sadrži oko 5% genetske varijabilnosti svojih divljih srodnika, što je potvrđeno analizom polimorfizama kultivara paradajza (Miller i Tanksley, 1990). Svi divlji srodnici mogu biti ukršteni sa kultivisanim paradajzom, sa manjom ili većom uspešnošću.

Ciljevi selekcije kod paradajza odnosili su se na nastanak novih kultivara paradajza koji pokazuju unapređene osobine u skladu sa zahtevima potrošača i promenama u uslovima životne sredine. U tom smislu već su korišćena ukrštanja sa *L. hirsutum* za unapređenje reakcija biljaka na hladnoću, *L. chilense* za otpornost na sušu (Hobson i Grierson, 1993) i *L. peruvianum* za sadržaj šećera i prinos (Fridman et al., 2000). Tokom procesa kultivacije paradajza, velike promene su se desile pre svega u pogledu veličine ploda, uzimajući u obzir da sve divlje vrste paradajza imaju veoma male plodove. Diverzitet kultivisanog paradajza u pogledu veličine ploda je daleko veći i on varira od čeri plodova mase desetak grama do genotipova krupnih plodova mase veće od 500 g (Bai i Lindhout, 2007). Međutim, kultivacija je izmenila i sadržaj solubilnih materija, pa je kod kultivisanog paradajza on manji od 4%, dok je kod divljih srodnika paradajza *Solanum pimpinellifolium* i *Solanum chmielewskii* 6-10% sveže mase ploda (Rick, 1974).

Savremena istraživanja koja se odnose na proučavanje molekularnih osnova osobina plodova paradajza dovela su do identifikacije kvalitativnih gena i QTL (eng. quantitative trait loci) (Bergougnoux, 2013). U tom pogledu je posebno značajna detekcija QTL za osobine značajne za kvalitet plodova, kao što su sadržaj likopena, solubilnih materija, askorbinske kiseline, polifenola i aromatičnih isparljivih jedinjenja (Causse et al., 2002). Sve više se istraživanja fokusiraju na detekciju QTL bitnih za kvalitet plodova i kod divljih srodnika paradajza, kao što je *S. pimpinellifolium* (Capel et al., 2015) koji putem ukrštanja sa kultivisanim paradajzom mogu unaprediti kvalitet plodova novonastalih linija.

Iako je akcenat novih selekcionih programa na kvalitetu, podjednako je bitan i prinos kao selekcionni kriterijum, posebno njegovo održanje u uslovima dejstva različitih oblika abiotičkog i biotičkog stresa. Razumevanje genetičke varijabilnosti, ali i kompleksnih interakcija genotipa i uslova sredine koje utiču na kvalitet i prinos plodova su ključni i za razumevanje mehanizama tolerancije biljaka na uslove stresa suše (Panthee et al., 2012). U savremenim selekcionim programima se sve više koriste multiparentalne populacije koje su izvor genetičkog diverziteta upravo zbog svoje velike alelske varijabilnosti (Cavanagh et al., 2008). Jedna od takvih je i MAGIC TOM populacija paradajza (eng. The Multi-Parent Advanced Generation Inter-Cross population) koju čine osam roditeljskih genotipova od kojih su dobijene prve rekombinantne linije nastale multiparentalnim ukrštanjem, čime je postignut veći stepen varijabilnosti u poređenju sa klasičnim selekcionim programima baziranim na dva roditeljska genotipa (Ranc, 2010; Pacsual et al., 2015). Genotipovi ove populacije paradajza koriste se u savremenim istraživanjima koja uključuju i interakciju genotipa i stresa suše (Diouf et al., 2018).

### 3. CILJ RADA

Cilj ove disertacije je da se detaljnije prouči efekat suše na neke od najvažnijih fizioloških pokazatelja i jedinjenja primarnog metabolizma (šećere, organske kiseline) i sekundarnog metabolizma (karotenoide, vitamin C) u plodovima paradajza, a od kojih zavisi ne samo kvalitet, već i njihova nutritivna i lekovita svojstva. Ove osobine plodova zavise od fenološke faze u kojoj suša deluje, kao i od stepena stresa i od ispitivanih genotipova, tako da je i cilj da se utvrde da li se ispitivane osobine biljaka i njihovih plodova mogu koristiti za testiranje otpornih genotipova paradajza, a što bi moglo da ima svoju praktičnu primenu za potrebe selekcije paradajza. Da bi se taj cilj ostvario kao objekat istraživanja korišćena su četiri genotipa paradajza iz programa MAGIC TOM populacije, koja predstavlja veliki izvor genetičkog diverziteta paradajza i koristi se u savremenim selekcionim programima.

Kako su reakcije biljaka na sušu i kvalitet plodova u velikoj meri regulisani hormonalnim statusom biljaka, posebno stres hormonom abscisinskom kiselinom (ABA), cilj ove disertacije je bio i da se u istraživanja uključi mutant *flacca* (sa smanjenom sposobnošću sinteze ABA) i da se upoređi efekat suše na kvalitet plodova ovih biljaka sa kvalitetom plodova divljeg tipa paradajza (Ailsa Craig). Takvi podaci nedostaju u literaturi, a mogu da doprinesu potpunijem razumevanju ne samo efekata suše na kvalitet plodova, već i uloge ABA u sintezi nekih od najznačajnijih primarnih i sekundarnih metabolita od značaja za kvalitet plodova paradajza, njegovu nutritivnu vrednost i lekovita svojstva.

Odabir linija MAGIC TOM populacije, ABA deficitarnog mutanta i divljeg tipa paradajza kao objekata istraživanja, doprineće boljem razumevanju genotipskih razlika u reakcijama biljaka paradajza na sušu i posebno, identifikaciji reakcija fitonutrijenata značajnih za kvalitet njegovih plodova. To je od posebnog značaja za buduće selekcionne programe koji, u uslovima sve više izraženih efekata suše treba da rezultiraju stvaranjem genotipova paradajza čiji je prinos, ali i kvalitet, sa nutritivnog i zdravstveno-bezbedonosnog aspekta očuvan u tim stresnim uslovima.

## 4. MATERIJAL I METODE

### 4.1. Biljni materijal

Za istraživanja su korišćena četiri genotipa paradajza (*Lycopersicon esculentum* L.) koji pripadaju MAGIC TOM (Multi-parent Advanced Generation Inter-cross) roditeljskoj populaciji. Genotipovi koji čine MAGIC TOM populaciju su odabrani na osnovu najveće alelske varijabilnosti uočene prilikom ispitivanja više stotina različitih genotipova paradajza (Ranc, 2010). Prema preporuci istraživača iz Instituta za istraživanja u poljoprivredi (INRA) u Avinjonu (Francuska), odabrani su indeterminantni genotipovi paradajza koji se u optimalnim uslovima vodnog režima razlikuju po veličini i kvalitetu plodova, i to: Levovil i LA0147 sa krupnim plodovima i Plovdiv i LA1420 sa sitnim (čeri) plodovima. Semena LA1420 su obezbeđena iz Tomato Genetics Resource Centre, Davis (CA, USA), Levovila iz Vilmorin Seed Company (Francuska), a ostalih genotipova iz Tomato Genetic Resource Centre (INRA, Avinjon, Francuska).

Pored ovih genotipova za istraživanja su korišćeni i Ailsa Craig - divlji tip (WT) i mutant paradajza *flacca* kod koga je redukovana biosinteza abscisinske kiseline (ABA) i zbog toga ima smanjenu koncentraciju ABA u odnosu na divlji tip (Taylor et al., 1988; Sagi et al., 1999). Semena ovih genotipova paradajza su dobijena od Genebank - IPK Gatersleben (Nemačka).

### 4.2. Eksperiment u stakleniku sa genotipovima MAGIC TOM populacije

Ogled u kontrolisanim uslovima gajenja biljaka sa odabranim genotipovima paradajza (Levovil, Plovdiv, LA0147 i LA1420) koja pripadaju MAGIC TOM populaciji obavljen je u stakleniku Instituta za istraživanja u poljoprivredi (INRA) u Avinjonu u Francuskoj u toku 2014. godine (Sl. 10). Semena ovih genotipova paradajza su naklijavana u supstratu (Klasmann, No. 460, Champety, Francuska), a nakon klijanja biljke su presađene u posude zapremine 4 l, sa mešavinom supstrata: 60% crnog treseta, 30% vlaknastog treseta, 10% belog treseta i dodatkom gline, pH=6. Biljke su gajene u stakleniku u kome su bili sledeći uslovi: fotosintetička aktivna radijacija (PAR) 5-11 mol m<sup>-2</sup> dan<sup>-1</sup>, dnevna temperatura vazduha između 24 i 28°C i relativna vlažnost (dnevna 51-56% i noćna 69-73%), praćeni preko automatskog senzora.



*Slika 10.* Ogled u stakleniku instituta INRA

U okviru ogleada u stakleniku ispitivan je efekat umerene suše koja je primenjena u fazi antezisa (cvetanja) druge cvetne grane, u skladu sa protokolom koji je korišćen za ispitivanja stresa suše kod genotipova MAGIC TOM populacije od strane istraživača iz INRA (Ripoll, 2015; Ripoll et al., 2016 a,b). Ogled je postavljen u dve varijante:

1. optimalno zalivanje biljaka - održanje optimalne vlažnosti supstrata (70% od maksimalnog vodnog retencionog kapaciteta supstrata)
2. umerena suša - vlažnost supstrata 25% od maksimalnog vodnog retencionog kapaciteta supstrata, koja se održavala do kraja eksperimenta, odnosno do faze pune zrelosti plodova.

#### ***4.2.1. Ispitivani parametri i metode***

U ogledu u stakleniku su praćeni sledeći parametri:

- Vodni režim supstrata i biljaka
- Rastenje i razviće biljaka - morfološki i fiziološki parametri
- Biohemijski parametri u listovima i kvalitet plodova
- Koncentracija abscisinske kiseline u listovima i plodovima

#### 4.2.2. Vodni režim supstrata i biljaka

Tokom trajanja oglada je kontrolisan vodni retencioni kapacitet supstrata u kome su gajene biljke. U okviru ispitivanja vodnog režima biljaka merena je provodljivost stominih ćelija i ukupni vodni potencijal listova.

Vodni retencioni kapacitet supstrata je kontrolisan na svaka dva dana pomoću WCM Grodan senzora (Grodan Group, Netherlands) i na osnovu tih vrednosti je određivana količina vode za zalivanje biljaka u oba tretmana. Zalivanje i prihrana su regulisani automatskim sistemom za zalivanje po sistemu „kap po kap“ sa ugrađenim sensorima vlažnosti supstrata. Tečno đubrivo je rastvarano u vodi za zalivanje (Liquoplant Rose, Plantin, Courthézon, Francuska) i primenjivano na dnevnom nivou u koncentraciji između 0,4‰ i 0,8‰, zavisno od starosti biljke.

*Provodljivost stoma* je merena na kraju oglada na potpuno razvijenim, mladim listovima pomoću porometra (AP4 Leaf Porometer, Delta-T Device, Ltd, UK). Ovim porometrom je merena difuzna provodljivost vodene pare koja se oslobađa kroz stomine ćelije u toku procesa transpiracije, odnosno mereno je vreme potrebno za postizanje ravnotežnog stanja između komore koja je zakačena na list i komore sa senzorom za relativnu vlažnost (Sl. 11). Aparatom je direktno očitavana vrednost provodljivosti stoma izražena u  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .



**Slika 11.** Porometar AP4 (Delta-T Device, Ltd, UK)

*Vodni potencijal listova* je određivan na kraju oglada u cilju provere stepena stresa suše kod biljaka metodom po Scholander-u et al. (1965). Za merenje potencijala vode

korišćena je komora pod pritiskom (Soil Moisture Equipment Corp., Santa Barbara, CA, USA). Princip metode se bazira na istiskivanju ksilemskog soka iz listova postavljenih u komoru pomoću pritiska gasa azota ili vazduha. Pritisak koji dovodi do pojave prvih kapi ksilemskog soka na presečenoj površini lisne drške odgovara vrednosti ukupnog vodnog potencijala listova i izražava se u -MPa.

#### ***4.2.3. Rastenje i razviće biljaka - morfološki i fiziološki parametri***

Kao pokazatelj rastenja i razvića listova praćena je specifična lisna površina (SLA). Površina pojedinačnih, najmlađih potpuno razvijenih listova izmerena je na kraju ogleada pomoću LI-3100 areametra (LI-COR, USA). Nakon sušenja na temperaturi od 70 °C je izmerena njihova suva masa i izračunata specifična lisna površina prema formuli Hunt-a (1982):

$$SLA = A_l/W_l$$

gde je:

$A_l$  - površina lista ( $cm^2$ )

$W_l$  - suva masa lista (g).

Na kraju ogleada je izmeren prečnik i sveža masa plodova, a nakon sušenja listova i plodova na 70 °C, izmerena je suva masa na osnovu koje je izračunat i procenat suve materije prema formuli:

$$\% \text{ suve materije} = (\text{suva masa/sveža masa}) \times 100$$

#### ***4.2.4. Merenje fluorescencije hlorofila***

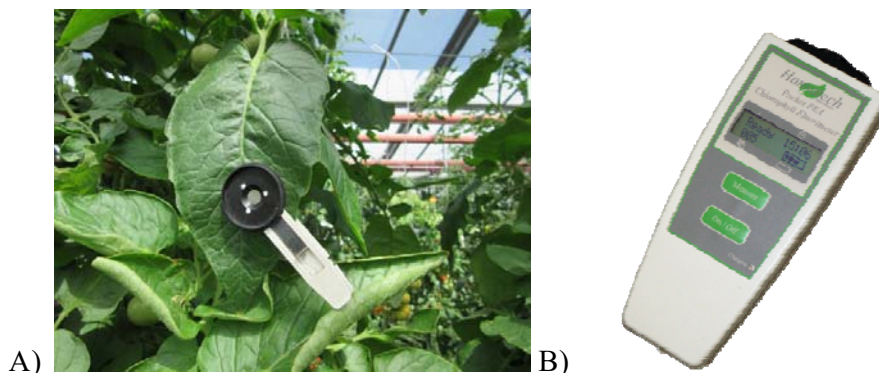
Fluorescencija hlorofila je jedan od parametara koji ima primenu u kvantifikaciji efekta suše na proces fotosinteze. Ona je merena pomoću fluorimetra (HANDY-Pocket PEA, Hansatech, King's Lynn, UK) na kraju ogleada. Merenja su obavljena na prethodno zatamnjenim listovima (15-20 minuta) kako bi se omogućilo da se u mraku otvore svi reakcioni centri PSII (Sl. 12). Uređaj detektuje minimalnu fluorescenciju ( $F_0$ ) koja predstavlja emisiju ekscitovanog hlorofila iz antena kompleksa fotosistema II, kada je prvi stabilni akceptor elektrona fotosistema II potpuno oksidovan. U uslovima pune osvetljenosti, kada je prvi stabilni akceptor

elektrona fotosistema II redukovan, detektuje se maksimalna fluorescencija ( $F_m$ ). Na osnovu ovih parametara određivana je maksimalna fotohemijska efikasnost fotosistema II preko odnosa:

$$F_v / F_m$$

$F_v$  - razlika između maksimalne i minimalne fluorescencije

$F_m$  - maksimalna fluorescencija hlorofila



**Slika 12.** Zatamnjenje površine lista pre merenja (A), i uređaj HANDY Pocket PEA (B) (<http://www.hansatech-instruments.com>)

#### **4.2.5. Biohemijski parametri u listovima i kvalitet plodova**

Listovi i plodovi su za biohemijske analize uzeti u fazi pune zrelosti plodova i listova druge cvetne grane. Uzorci su usitnjeni u prah pomoću tečnog azota i čuvani na  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  do analiza.

U listovima je analiziran:

- sadržaj šećera,
- sadržaj organskih kiselina,
- sadržaj vitamina C i
- ukupna antioksidativna aktivnost.

U plodovima su analizirani parametri koji se odnose na kvalitet plodova i to:

- sadržaj šećera,
- sadržaj organskih kiselina,
- sadržaj karotenoida,



- sadržaj vitamina C i
- ukupna antioksidativna aktivnost.

#### ***4.2.5.1. Određivanje koncentracije rastvorljivih šećera i organskih kiselina***

Koncentracije solubilnih šećera (glukoze, fruktoze i saharoze), kao i organskih kiselina (limunske i jabučne kiseline) u listovima i plodovima paradajza određene su metodom tečne hromatografije visoke efikasnosti (High-Performance Liquid Chromatography - HPLC), prema protokolu Gomez-a et al. (2002).

##### ***Ekstrakcija solubilnih šećera i organskih kiselina***

Ekstrakcija je započeta tako što je odmereno 10 mg usitnjenog uzorka i dodat je 1 ml rastvora metanola/miliQ vode u odnosu 1:1 i 300 µl hloroforma. Tako pripremljen uzorak je mućkan na vorteksu 20 min na 4 °C i 40 rpm (vorteks Rotateur Stuart SB3) i zatim centrifugiran (5 min, 4 °C, 13000 rpm). Uzorak od 800 µl dobijenog supernatanta je liofiliziran pomoću vakumskog aparata SpeedVac-a (Savant™, SC200, ThermoScientific), a zatim je dodato 2\*800 µl miliQ vode i sadržaj je mućkan na vorteksu 10 min na 4 °C. Nakon dodavanja 10 mg PVP (polivinilpirolidona), uzorak je kratko promešan na vorteksu i zatim je sledilo centrifugiranje (5 min, 4 °C, 13200 rpm). Supernatant je prečišćen pomoću C18 mikrokolone i filtriran kroz 0,2 µm filter direktno u mikrotube za HPLC.

##### ***Tečna hromatografija solubilnih šećera***

Sadržaj solubilnih šećera je određen na HPLC Waters sistemu (Waters, USA). Separacija je obavljena korišćenjem predkolone Waters (ref. WAT015209) i kolone Sugar- Pac I (300\*6.5 mm, Waters, ref. WAT088141), koja je termostatirana na 85 °C. Mobilna faza se sastojala od Na<sub>2</sub>Ca-EDTA (50 mg/l), a brzina protoka je podešena na 0.6 ml/min. Snimanje je vršeno refrakcionim detektorom. Kolona je regenerisana sa Na<sub>2</sub>Ca-EDTA (500 mg/l). Naneto je 50 µl uzorka. Kalibracija je izvedena pomoću standarda glukoze, fruktoze i saharoze, a rezultati su iskazani u vidu g solubilnog šećera na 100 g liofilizovanog materijala.

### ***Tečna hromatografija organskih kiselina***

Sadržaj organskih kiselina je takođe određen HPLC metodom pomoću Waters sistema (Waters, USA), koji je bio opremljen sa UV detektorom (210 nm). Separacija je izvedena korišćenjem predkolone RSpac KC-G (50\*6 mm, Shodex) i kolone RSpac KC-811 (300\*8mm, Shodex) koja je termostatirana na 80 °C. Mobilna faza je bila 1% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, a kretanje mobilne faze je podešeno na 1 ml/min i praćeno UV-vidljivim detektorom na 210 nm. Kolone su regenerisane sa 25 mM H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Naneto je 50 µl uzorka. Za kalibraciju su korišćeni standardi limunske i jabučne kiseline, a rezultati su izraženi u vidu g analizirane organske kiseline na 100 g liofilizovanog materijala.

### ***4.2.5.2. Određivanje koncentracije karotenoida***

Koncentracija karotenoida (fitoena, likopena, β-karotena i luteina) u plodovima određena je tečnom hromatografijom visoke efikasnosti (High-Performance Liquid Chromatography - HPLC) prema protokolu Serino et al. (2009).

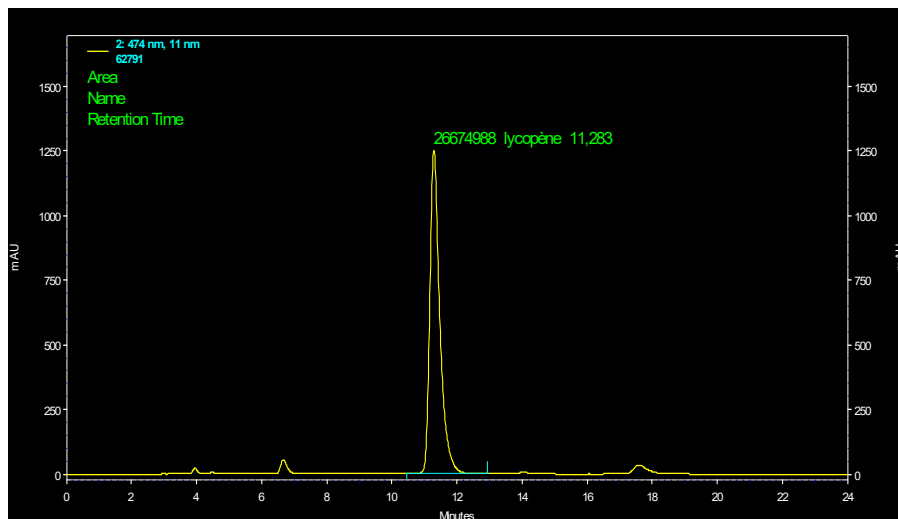
### ***Ekstrakcija karotenoida***

Za ekstrakciju je odmereno 400-600 mg zaleđenog praha plodova koji je sa 100 µl zasićenog rastvora NaCl-a i 50 µl n-heksana homogenizovan mešanjem na vorteksu. Nakon centrifugiranja (2 min, 4 °C, 13200 rpm), supernatantu je dodato 200 µl dihlormetana, sadržaj je promućkan na vorteksu 30 s i zatim centrifugiran (2 min, 4 °C, 13200 rpm). U supernatant je dodat 1 ml etilacetata. Nakon mešanja na vorteksu i centrifugiranja (5 min, 4 °C, 13200 rpm), supernatant je filtriran direktno u HPLC tube od 1.5 ml kroz mikrofilter 0.45 µm. Ekstrakt karotenoida je čuvan za analizu do daljeg na -20 °C.

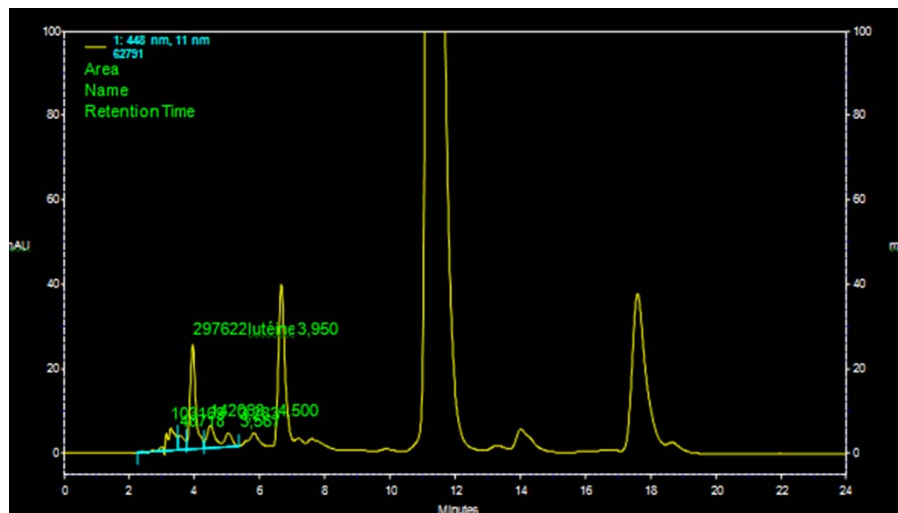
### ***Tečna hromatografija visoke efikasnosti***

Tečna hromatografija je realizovana pomoću DAD sistema (Agilent Technologies, USA). Separacija je izvedena pomoću jedne predkolone (VWR Merck, ref. 1.51452.0001, 10\*4.6 mm) i dve kolone (VWR Merck, ref. 1.02129.0001, Chromolith Performance RP-18e; 100\*4.6 mm). Temperatura kolona je bila podešena na 28 °C, a naneto je 10 µl uzorka. Eluiranje je vršeno linearnim gradijentom rastvarača A (acetonitril:etil-acetat:ultračista voda = 53:40:7) i B (acetonitril:etil-acetat:ultračista

voda = 20:80:2). Kretanje mobilne faze je podešeno na 1 mL/min i praćeno je linearnim gradijentom rastvora etil-acetata, dihlormetana i heksana u odnosu 80:16:4. UV/vidljivi detektor (oblast 200-750 nm) je podešen na 448 nm (lutein), 454 nm ( $\beta$ -karoten), 286 nm (fitoen) i 474 nm (likopen) i na osnovu toga je dobijen hromatogram analiziranih karotenoida, likopena (Sl. 13) i luteina (Sl. 14).



*Slika 13.* Hromatogram pojedinačnog uzorka (likopen – 474 nm)



*Slika 14.* Hromatogram pojedinačnog uzorka (lutein – 448 nm)

Visoko prečišćeni standardi analiziranih karotenoida (Sigma Aldrich) su razblaženi u čistom dihlormetanu i tako je dobijen osnovni rastvor. Zatim je koncentracija preciznije podešena dodavanjem *n*-heksana i finalna koncentracija standarda luteina je iznosila 71 µg/ml, likopena 45 µg/ml, β-karotena 100 µg/ml i fitoena 40 µg/ml. Rezultati su izraženi kao mg analiziranog karotenoida po kg sveže mase uzorka.

#### ***4.2.5.3. Određivanje ukupne antioksidativne aktivnosti***

Ukupna antioksidativna aktivnost listova i plodova je određena prema modifikovanom protokolu Re et al. (1996).

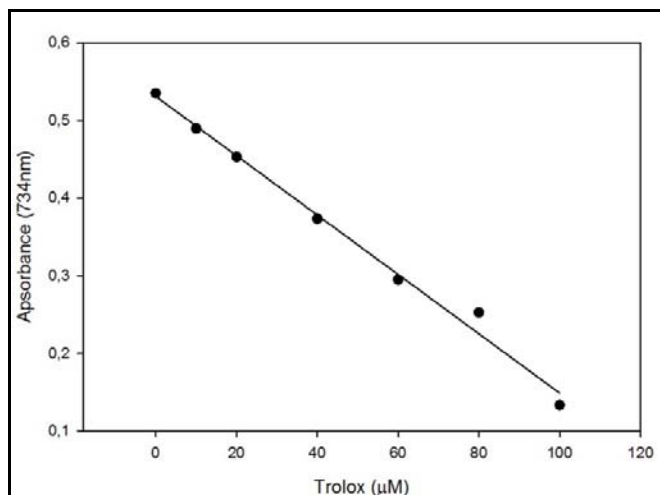
#### ***Ekstrakcija antioksidativnih komponenti***

Ekstrakcija je započeta tako što je 1 g uzorka listova ili plodova homogenizovan u avanu sa 10 ml 80% etanola. Nakon centrifugiranja 10 min na 9000 rpm na sobnoj temperaturi, gornji sloj je profiltriran i etanolni ekstrakt je korišćen za analizu.

#### ***Merenje ukupne antioksidativne aktivnosti***

Za analizu antioksidativne aktivnosti neophodno je bilo dan ranije napraviti rastvore: rastvor ABTS<sup>+</sup> katjona i Trolox. Rastvor ABTS<sup>+</sup> katjona je dobijen rastvaranjem 1 g ABTS-a (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotijazolin-6-sulfonska kiselina) u fosfatnom puferu (0,165 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,575 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> i 8,75 g NaCl, pH =7,4), uz dodatak MnO<sub>2</sub>. Nakon filtracije je rastvor razblažen da bi se dobila apsorbanca 0,7 na 734 nm. Za dobijanje Trolox rastvora rastvoreno je 0,6 grama Trolox-a u 100 ml fosfatnog pufera. Za samu analizu je od osnovnog Trolox rastvora napravljena serija standardnih rastvora koncentracija 10, 20, 40, 60, 80 i 100 µM.

U kivete je odmeren 1 ml pripremljenog ABTS<sup>+</sup> radikal katjona i 200 µl etanolnog ekstrakta. Nakon mućkanja na vorteksu u trajanju od 15 sekundi i centrifugiranja 1 min na 9000 rpm, merena je apsorbanca na 734 nm (UV-VIS spektrofotometar, 1166, Lamboled, Inc.USA). Rezultati su nakon preračuna u odnosu na standardnu krivu (Sl. 15) predstavljeni u vidu Trolox ekvivalentne jedinice po gramu sveže mase uzorka.



*Slika 15.* Kalibraciona kriva formirana na osnovu Trolox standarda

#### ***4.2.5.4. Određivanje koncentracije askorbinske kiseline (vitamina C)***

Sadržaj askorbinske kiseline (vitamina C) u listovima i plodovima je određen prema protokolu Stevens et al. (2006) i to tako što je metodom spektrofotometrije izmerena koncentracija ukupnog vitamina C uz pomoć redukujućeg reagensa DDT (ditiotreitola). Bojena reakcija se zasniva na redukciji  $\text{Fe}^{3+}$  iz  $\text{FeCl}_3$  do  $\text{Fe}^{2+}$  čiji je produkt direktno proporcionalan koncentraciji vitamina C, a koji je redukovan sa DDT. Redukcija vitamina C je neophodna da bi se spektrofotometrijski odredila njegova koncentracija, jer oksidovana forma ne apsorbuje svetlost na talasnoj dužini 550 nm.

#### ***Ekstrakcija askorbinske kiseline***

Ekstrakcija je započeta tako što je oko 500 mg uzorka izmereno i homogenizovano sa 600 μl 6% trihlorsirćetne kiseline (TCA). TCA se koristi da bi se sprečila oksidacija askorbinske kiseline. Uzorak je zatim usitnjen u mlinu 1 min (Retsch MM301) i mućkan na vorteksu 20 s. Nakon centrifugiranja (15 min, 4 °C, 13200 rpm), odvojen je supernatant koji je korišćen za analizu.

#### ***Pravljenje fosfatnog pufera i standarda***

Analizi je prethodilo pravljenje fosfatnog pufera i to tako što je rastvoreno 44,75 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  u 250 ml vode, kao i 6,90 g  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  u 100 ml vode. Rastvor

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  je postavljen na magnetnu mešalicu i pH rastvora je podešen na 7.5 sa rastvorom  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ . Standardi su pripremljeni neposredno pre upotrebe rastvaranjem čiste askorbinske kiseline u 6% TCA (0-0,4 mg/mL). Ovi standardni rastvori su korišćeni za formiranje kalibracione krive.

### ***Merenje koncentracije***

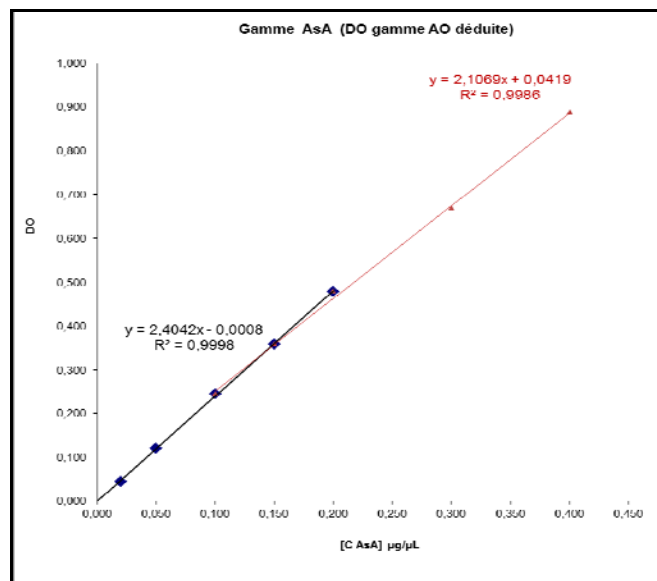
Postupak je započeo tako što je u prve tri kolone mikrotitar ploče (koje predstavljaju standard) dodato po 20  $\mu\text{l}$  standarda askorbinske kiseline, a u ostale kolone po 20  $\mu\text{l}$  uzorka. Potom je u kolone sa uzorcima, a koje su se koristile za određivanje koncentracije ukupnog vitamina C, kao i u standardne rastvore, dodato 20  $\mu\text{l}$  rastvora ditiotreitola (DTT) koji ima redukujuću aktivnost. Rastvor DTT je dobijen rastvaranjem 84 mg DTT u 105 ml fosfatnog pufera koji se potom čuva na  $-80\text{ }^\circ\text{C}$  do upotrebe.

Posebne kolone su se koristile za detektovanje tzv. „parazitske” apsorbanca, odnosno apsorbanca drugih molekula koje ne oksiduje askorbat-oksidaza. To je urađeno tako što je u te kolone, kao i u jednu od kolona koja je imala standardni rastvor, dodato po 20  $\mu\text{l}$  askorbat-oksidaze. Enzim je dodat da bi oksidovao prisutnu askorbinsku kiselinu. Rastvor enzima je napravljen tako što je prvo rastvoren liofilizovani prah askorbat-oksidaze u 1 ml fosfatnog pufera. Dobijeni rastvor je mućkan na vorteksu  $3 \times 10$  s kako bi se rastvorio enzim.

Posle dodavanja prethodno navedenih rastvora, sadržaj mikrotitar ploča je mućkan 1 min, a zatim je inkubiran 20 min na  $38\text{ }^\circ\text{C}$ . Potom je u kolone u koje je prethodno dodat DTT dodato po 10  $\mu\text{l}$  NEM (N-etilmaleimid), koji inhibira redukujuću aktivnost DTT. NEM je pripremljen rastvaranjem 250 mg NEM-a u 50 ml vode. U komore za određivanje „parazitske” apsorbanca je dodato po 10  $\mu\text{l}$  fosfatnog pufera. Nakon dodavanja pufera i NEM rastvora, u svaku komoru na ploči je dodato i po 80  $\mu\text{l}$  bojenog agensa napravljenog neposredno pre upotrebe od 6,6 ml reagensa A i 2,4 ml reagensa B. Reagens A se dobija mešanjem 18,5 ml 85% ortofosforne kiseline, 31,5 ml vode, 2,3 g TCA i 0,3 g  $\text{FeCl}_3$ . Reagens B se dobija rastvaranjem 1 g 2,2'-dipiridila u 25 ml 70% etanola.

Mikrotitar ploča je inkubirana sat vremena na  $38\text{ }^\circ\text{C}$  i zatim je merena apsorbanca na 550 nm pomoću spektrofotometra (Tecan Sunrise Spectrofotometer, Tecan Group, Švajcarska). Apсорbanca je uneta u poseban Excel dokument prilagođen preračunu

askorbinske kiseline. Za svaki set uzoraka je formirana posebna kalibraciona kriva bazirana na merenju apsorbance standarda i izračunata je jednačina kalibracione krive (Sl. 16). Rezultati su predstavljeni kao mg askorbinske kiseline na 100 g sveže i suve mase.



**Slika 16.** Kalibraciona kriva formirana na osnovu standarda askorbinske kiseline

#### 4.2.5.5. Određivanje koncentracije abscisinske kiseline (ABA)

Sadržaj abscisinske kiseline u listovima i plodovima je određen ELISA testom prema protokolu Asch-a (2000). Ovaj test se zasniva na bojenoj imunološkoj reakciji između ABA i monoklonskog antitela MAC252, a intenzitet obojenja se meri pomoću ELISA čitača. Zidovi komora unutar mikrotitar ploče se moraju obložiti sa ABA konjugatom koji predstavlja antigen sa proteinskim nosačem. U procesu vezivanja sa primarnim antitelom ABA konjugat je u kompeticiji sa ABA iz uzorka. Primarno antitelo se vezuje za ABA konjugat i to tako da je njegova količina obrnuto proporcionalna količini ABA u uzorku. Da bi se dobila bojena imunološka reakcija, neophodno je da se primarno antitelo MAC252 veže za enzimom obeleženim sekundarnim antitelom AntiRat IgG (kozje antitelo prema albuminu pacova obeleženo sa alkalnom fosfatazom). Dodavanjem p-nitro-fenil fosfata dolazi do razvoja boje, čiji se intenzitet meri kao

apsorbanca na 405 nm pomoću ELISA čitača. Očitana vrednost je obrnuto proporcionalna koncentraciji ABA. Za izračunavanje koncentracije ABA pravi se standardna kalibraciona kriva na osnovu merenja serije rastvora poznate koncentracije ABA.

### ***Ekstrakcija abscisinke kiseline***

Listovi i plodovi su samleveni u tečnom azotu i odmereno je 1 g uzorka. Uzorak je homogenizovan sa 1,5 ml miliQ vode i 0,01 g polivinilpirolidona (PVP-a), na kratko izložen visokim temperaturama u vodenom kupatilu i prebačen u termomućkalicu na 450 rpm-a na 24 časa na temperaturu od 4 °C. U termošejkeru je ostavljen do narednog dana, kada je nakon centrifugiranja (15 min, 4 °C, 13200 rpm) odvojen supernatant i napravljena su odgovarajuća razblaženja.

### ***ELISA test***

Pre analize, testom ukrštene reakcije, potvrđeno je da ekstrakt ne sadrži druge supstance koje bi mogle da reaguju sa antitelima, a da nisu abscisinska kiselina.

Pre testa je napravljen fosfatni pufer od 6,05 TRIZME (hidroksimetilaminometana), 0,2 g magnezijum-hlorid heksahidrata, 8,8 g NaCL-a, 1 g albumin seruma govečeta i 0,5 ml Tween 20. Nakon rastvaranja svih supstanci pH se podešava na 7,8 pomoću razblažene hlorovodonične kiseline. Dan pre analiza je u otvore mikrotitar ploče dodato po 200 µL ABA konjugata i ploča je inkubirana na 4 °C do narednog dana. Ovaj konjugat se kao antigen sa proteinskim nosačem tokom procesa oblaganja vezuje za zidove komora na mikrotitar ploči. Naredni dan je nevezani konjugat ispiran fosfatnim puferom tri puta, dok je treći put fosfatni pufer ostavljen u komorama mikrotitar ploče, koja je zatim inkubirana na 37 °C u termostatu. Nakon 20 minuta inkubacije, pufer je prosut i ploča je prosušena na upijajućem papiru. U prve tri kolone mikrotitar ploče je zatim dodato po 100 µl standarda ABA (4000, 2000, 1000, 500, 250 i 125 pg ABA/100µl). Kao negativna kontrola je korišćena miliQ voda, a kao pozitivna kontrola rastvor 80000 pg ABA/100µl. U ostale kolone je dodato po 100 µl uzorka. U ostale kolone je dodato po 100 µl uzorka. U sve otvore mikrotitar ploče je dodato i 100 µl primarnog antitela (MAC 525). Primarno antitelo je prethodno pripremljeno rastvaranjem 4 ml MAC 252 koncentracije 1:8000 u 8 ml PBS pufera. Zatim



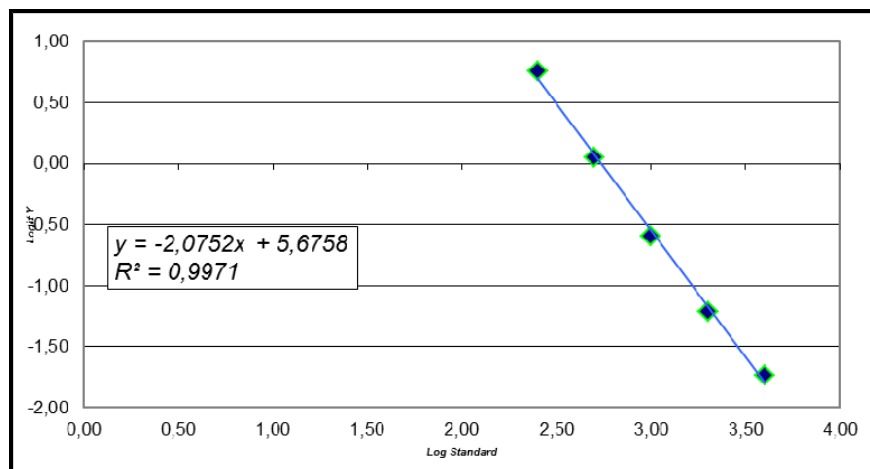
je mikrotitar ploča je inkubirana 3 sata na 4 °C i za to vreme se antigen iz uzorka vezao za primarno antitelo. Nakon 3 sata ploča je isprana fosfatnim puferom, prosušena na upijajućem papiru i u svaku komoru na ploči je dodato po 200 µl sekundarnog antitela (AntiRat IgG) koje se vezuje za primarno antitelo tokom inkubacije (1 sat na 37 °C). Sekundarno antitelo je pripremljeno razblaživanjem 21 µl sekundarnog antitela sa 21 ml pufera 1 (6,05 g TRIZME, 0,2 g magnezijum-hlorid heksahidrata, 8,8 g natrijum-hlorida i pH =7,8). Ploča je nakon inkubacije isprana 5 puta fosfatnim puferom i osušena sa upijajućim papirom.

U svaku komoru na ploči je dodato 200 µl supstrata (p-nitrofenil fosfat), prethodno rastvorenog u vidu tablete od 20 mg supstrata u 21 ml 0,05 M NaHCO<sub>3</sub>. Enzim povezan za sekundarno antitelo reagovao je sa supstratom, usled čega se razvilo specifično obojenje u roku od nekoliko minuta. Merena je apsorbancija na ELISA čitaču (Tecan Sunrise Spectrofotometer – Sl. 17) na 405 nm.



**Slika 17.** Tecan Sunrise spektrofotometar

Na osnovu rezultata prethodno očitane kalibracione krive, obavljen je obračun koncentracije ABA. Za pravljenje krive su korišćene sledeće koncentracije ABA: 4000, 2000, 1000, 500, 250 i 125 pg ABA/100µl (Sl. 18). Rezultati su predstavljeni u vidu ng ABA po g sveže mase uzorka.



**Slika 18.** Kalibraciona kriva formirana na osnovu standarda abscisinske kiseline

#### 4.3. Eksperimenti u fitotronskoj komori sa genotipovima Ailsa Craig i *flacca* mutantom

Ogledi u fitotronskoj komori obavljani su sa genotipovima Ailsa Craig i *flacca* mutantom u toku 2015. i 2016. godine na Katedri za agrohemiju i fiziologiju biljaka, na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Beogradu. Semena paradajza su naklijavana u kontejnerima u supstratu (Potgrond H-Klasmann, Nemačka), a u fazi potpuno razvijenog petog lista biljke su presađene u plastične posude zapremine 200 ml. Nakon potpunog razvika osmog lista biljke su prebačene u ogledne saksije zapremine 20 l, napravljene za potrebe ovog eksperimenta (Sl. 19). Posude su napunjene sa po 19 l supstrata koji je napravljen kombinovanjem 14 l Terracult 4 i 3 l Terracult 8 (Terracult „Blue line“, Nemačka), uz dodatak 2 l perlita po oglednoj posudi. Perlit je obezbedio stabilnije održavanje i lakšu kontrolu vlažnosti supstrata. Prihrana je vršena svakih 14 dana kombinacijom tečnih đubriva FitoFert Tomato i Fitofert Cristal (FitoFert, Srbija) u koncentraciji 0,3%. Nakon presađivanja u ogledne posude, supstrat je navodnjavan do 70% poljskog vodnog kapaciteta do pojave antezisa druge cvetne grane. Uslovi gajenja biljaka u fitotronskoj komori tokom ogleda su bili: fotosintetička aktivna radijacija (PAR)  $250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , fotoperiod  $16^{\text{h}}/8^{\text{h}}$ , temperatura u toku dana 25-28 °C, u toku noći 16-19 °C i relativna vlažnost vazduha 55%.



**Slika 19.** Ogled u fitokomori

U fitotronske komori su realizovana dva tipa ogleda u kojima su na genotipovima Ailsa Craig i i *flacca* mutanta ispitivani sledeći efekti:

1) Efekat suše umerenog intenziteta koji je primenjen u fazi antezisa (cvetanja) druge cvetne grane. U kontrolnoj grupi biljaka je održavana vlažnost od 70% poljskog vodnog kapaciteta (volumetrijski sadržaj vode u supstratu od 36%), dok je u tretiranoj grupi biljaka supstrat isušivan za 20% u odnosu na kontrolu i vlažnost održavana na tom nivou (volumetrijski sadržaj vode u supstratu od 25-26%).

2) Efekat suše jakog intenziteta koji je primenjen u fazi antezisa (cvetanja) druge cvetne grane. Pri tome je kontrolnim biljkama održavana vlažnost od 70% poljskog vodnog kapaciteta (volumetrijski sadržaj vode u supstratu od 36%), dok je tretiranoj grupi biljaka isušivan supstrat za 50% u odnosu na kontrolu i vlažnost održavana na tom nivou (volumetrijski sadržaj vode u supstratu od 10-11%).

#### **4.3.1. Ispitivani parametri i metode**

U ogledima su praćeni sledeći parametri:

- Vodni režim supstrata i biljaka
- Rastenje i razviće biljaka - morfološki i fiziološki parametri

- Biohemijski parametri u listovima i kvalitet plodova
- Koncentracija abscisinske kiseline u listovima, korenovima i plodovima.

#### **4.3.2. Vodni režim supstrata i biljaka**

U okviru ovih ispitivanja mereni su sledeći parametri: sadržaj vode u supstratu, potencijal vode u listovima i provodljivost stominih ćelija.

*Sadržaj vode u supstratu* kod kontrolnih i biljaka izloženih suši je praćen svakog dana pomoću ML3 ThetaProbe Soil Moisture senzora (Delta-T Device, Ltd, UK) i na osnovu tih vrednosti je određivana količina vode za zalivanje biljaka u oba tretmana.

Parametri vodnog režima biljaka mereni su na kraju oglada. *Provodljivost stoma* je merena pomoću porometra (AP4 Leaf Porometer, Delta-T Device, Ltd, UK), dok je *ukupni vodni potencijal* meren korišćenjem komore pod pritiskom (Scholander et al., 1965). Principi rada porometra i komore su opisani u prethodnim poglavljima.

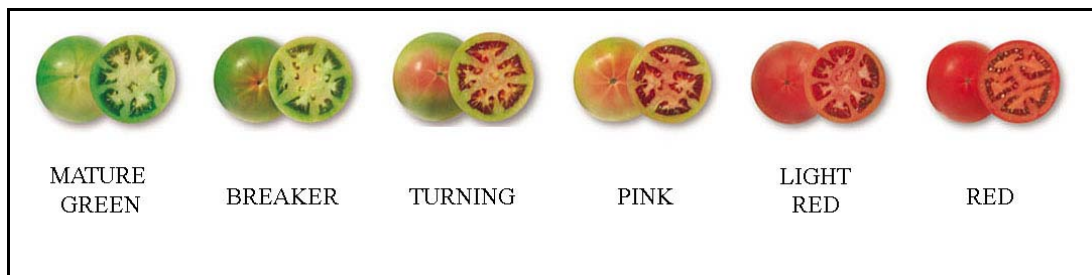


**Slika 20.** Komora pod pritiskom za merenje vodnog potencijala listova

#### **4.3.3. Rastenje i razviće biljaka - morfološki i fiziološki parametri**

Kao pokazatelji rastenja i razvića praćeni su: specifična lisna površina, prečnik plodova i sveža i suva masa plodova. Na kraju oglada izmerena je sveža masa listova i plodova, a nakon sušenja na temperaturi od 70 °C, izmerena je suva masa na osnovu koje je izračunat i procenat suve materije prema prethodno objašnjenjnoj formuli. Ukupna lisna površina je određena na kraju oglada pomoću LI-3100 areametra (LI-COR, USA) i izračunata je specifična lisna površina (SLA) prema prethodno navedenoj formuli.

Na osnovu BBCH fenološke skale za familiju *Solanaceae* (Meier, 2001) praćena je pojava antezisa, prvih plodova na drugoj cvetnoj grani i faze njihovog sazrevanja. Same faze sazrevanja ploda praćene su i na osnovu promena boje plodova (Sl. 21). Nakon završenog rastenja zelenog ploda (tzv. mature green), poćinje sazrevanje plodova koje se odvija kroz nekoliko faza. Prva u nizu je tzv. breaker (promena boje od zelene ka žutoj sa nijansama narandžaste boje koja pokriva do 10% površine ploda) preko tzv. turning faze (pojava narandžaste ili ružičaste boje plodova koja je zastupljena na 10 - 30% površine ploda) pa sve do tzv. red/deep red faze kada je 90 - 100% površine ploda crvene boje.



**Slika 21.** Faze sazrevanja ploda (modifikovano prema Cantwell, 2010)

#### **4.3.4. Merenje sadržaja hlorofila**

Ova merenja su izvršena Dualex Force-A aparatom (Force-A, Orsay-France) koji na osnovu apsorbance epidermisa lista u UV, crvenom i NIR (bliskom infracrvenom delu spektra) određuje sadržaj hlorofila (Sl. 22). Merenja ovog parametra su obavljena na mladim listovima u određenim fazama razvoja ploda. U ogledu umerene suše, merenja su izvršena u fazi antezisa druge cvetne grane, fazi zelenog i fazi zrelog, crvenog ploda. U ogledu jake suše, sadržaj hlorofila je meren u fazi antezisa druge cvetne grane, fazi zelenog ploda (tzv. mature green) i tzv. turning fazi. Merenja u fazi crvenog, odnosno zrelog ploda nisu bila moguća usled pojave znakova venjenja koji su bili uočeni kod biljaka izloženih jakoj suši. Rezultati sadržaja hlorofila u listovima su predstavljani kao  $\mu\text{g}$  hlorofila/ $\text{cm}^2$ .



*Slika 22.* Dualex Force-A (<http://www.force-a.com/>)

#### **4.3.5. Biohemijski parametri u listovima i kvalitet plodova**

Plodovi i listovi za biohemijske analize iz oba ogleđa uzimani su sa druge cvetne grane. Uzorci su usitnjeni u prah pomoću tečnog azota i čuvani na  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  do analiza. U listovima je analiziran:

- sadržaj vitamina C,
- ukupna antioksidativna aktivnost i
- sadržaj abscisinske kiseline.

U ogleđu sa sušom umerenog intenziteta analizirani su sledeći parametri kvaliteta plodova:

- sadržaj ukupnih solubilnih materija (Brix $^{\circ}$ ),
- sadržaj organskih kiselina,
- količina likopena,
- sadržaj vitamina C,
- ukupna antioksidativna aktivnost i
- sadržaj abscisinske kiseline.

U ogleđu suše jakog intenziteta nije došlo do faze potpunog sazrevanja plodova zbog venjenja biljaka, pa su stoga parametri kvaliteta plodova ispitivani kada je plod bio u tzv. turning fazi.

#### ***4.3.5.1. Određivanje koncentracije ukupnih rastvorljivih materija i organskih kiselina***

Određivanje koncentracije ukupnih solubilnih materija i organskih kiselina obavljeno je metodom po OIV (1992). Prvo je napravljen zajednički ekstrakt, a zatim je koncentracija solubilnih materija (Brix°) određena refraktometrijski, dok je sadržaj organskih kiselina određen titracijom sa NaOH.

#### ***Ekstrakcija***

Izmereno je 50 g ploda u prahu i pomešano sa 45 ml 70 % etanola. Nakon inkubacije od 30 min na 70 °C u vodenom kupatilu, uzorak je filtriran G-3 filterom i dodata je kašičica aktivnog uglja. Ponovljena je inkubacija (30 min na 70 °C) i uzorak je opet filtriran. Filtrat je prebačen u normalni sud zapremine 100 ml i dopunjeno je destilovanom vodom do crte.

#### ***Merenje koncentracije ukupnih solubilnih materija***

Ukupne solubilne materije su direktno merene iz rastvora refraktrometrom (Brix/Specific Gravity Refractometer w/ATC, Vee Gee Scientific, USA). Ukupne solubilne materije predstavljaju uglavnom šećere i najčešće se njihova količina izražava kao Brix°, koji je ekvivalent % solubilnih materija u uzorku, odnosno g/100 g sveže mase uzorka.

#### ***Određivanje koncentracije organskih kiselina***

Određivanje koncentracije kiselina je obavljeno metodom titracije i to tako što je 10 ml ekstrakta prebačeno u čašicu, zatim je dodato 1-2 kapi fenoftaleina i urađena je titracija sa 0,1 M NaOH do obezbojenja. Na osnovu utroška baze za titraciju određena je koncentracija kiselina prema sledećoj formuli:

$$\% \text{ kiseline} = \text{ml utrošene NaOH} \times 0,1 \text{ M NaOH} \times \text{mili ekvivalent faktor} \times \text{gram uzorka}$$

S obzirom da je u plodovima paradajza dominantna limunska kiselina, korišćen je mili ekvivalent 0,064 i dobijena koncentracija kiselina je izražena kao % limunske kiseline, odnosno g kiseline/100 g sveže mase uzorka.

#### ***4.3.5.2. Određivanje koncentracije likopena***

Koncentracija likopena u plodovima paradajza određena je spektrofotometrijskom metodom prema protokolu Kuti i Konuru (2005). Odmereno je 3 g ploda u prahu i pomešano sa 10 ml smeše heksana, metanola i acetona u odnosu 2:1:1, uz dodatak 25 g/l butilhidroksitoluena (BHT - Merck). Nakon centrifugiranja (15 min, 4 °C, 9000 rpm), odvojen je 1 ml heksanskog sloja koji se izdvojio na vrhu smeše i razblažen sa heksanom u odnosu 1:10. Nakon toga je spektrofotometrijskom metodom merena apsorbanca na 505 nm (UV-VIS spektrofotometar, 1166, Lamboled, Inc.USA). Heksan je predstavljao slepu probu. Dobijeni rezultati su preračunati u miligrame likopena po kilogramu sveže mase ploda.

#### ***4.3.5.3. Određivanje ukupne antioksidativne aktivnosti***

Ukupna antioksidativna aktivnost u listovima i plodovima je određena prema protokolu Re et al. (1999), koji je objašnjen u poglavlju 4.2.5.3.

#### ***4.3.5.4. Određivanje koncentracije askorbinske kiseline***

Koncentracija askorbinske kiseline u listovima i plodovima je određena prema protokolu Stevens et al. (2006), koji je objašnjen u poglavlju 4.2.5.4.

#### ***4.3.5.5. Određivanje koncentracije abscisinske kiseline***

Sadržaj abscisinske kiseline u listovima, korenovima i perikarpu plodova je određen ELISA testom prema protokolu Asch-a (2000), koji je objašnjen u poglavlju 4.2.5.5.

### **4.4. Statističke analize**

Postavka ogleđa je podrazumevala gajenje devet biljaka po tretmanu i po genotipu. Statističke analize su realizovane u SigmaPlot 11.0 i Statistica for Windows softverima. Za svaki set podataka je urađena deskriptivna statistika i izračunate su statističke greške, srednje vrednosti i procenat odstupanja. Razlike između tretmana detektovane su Studentovim t-testom na nivou značajnosti od 0,05.



## 5. REZULTATI

### 5.1. Oglad sa MAGIC TOM populacijom

#### 5.1.1. Vodni režim biljaka

Merenja provodljivosti stoma kao parametra vodnog režima pokazala su da su se ispitivani genotipovi paradajza razlikovali u otvorenosti stoma u uslovima kontrole (optimalnog navodnjavanja). Najveća provodljivost stoma utvrđena je kod genotipa sa krupnim plodovima Levovil (952,89 mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), a najmanja kod čeri genotipa Plovdiv (453,22 mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>). Umerena suša je redukovala provodljivost stoma kod svih analiziranih genotipova (Tab. 1), pri čemu je stepen redukcije više bio izražen kod genotipova sa krupnim plodovima, i to kod genotipa Levovil za 68% (sa 952,89 na 300,83 mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), a kod genotipa LA0147 za 62% (sa 882,33 na 339,05 mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), dok je kod čeri genotipa LA1420 ta redukcija iznosila 40% (sa 866,33 na 522 mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), a kod Plovdiva 48% (sa 453,22 na 235,24 mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>). Pored provodljivosti stoma, kao parametar vodnog režima koji ukazuje na stepen stresa suše praćene su i promene potencijala vode. Ovi rezultati nisu pokazali značajne genotipske razlike između ispitivanih genotipova jer se kod kontrolnih biljaka (optimalno obezbeđenih vodom) potencijal vode održavao od -0,20 do -0,24 MPa, dok je kod biljaka izloženih suši vodni potencijal imao vrednosti od -0,96 do -1,08 MPa. Promena u vrednostima potencijala vode od *cca* 0,80 MPa ukazuje da su ispitivane biljke bile izložene umerenom stresu suše.

**Tabela 1.** Uticaj suše na provodljivost stoma kod ispitivanih genotipova paradajza (\*\*\*) označavaju statistički značajnu razliku od  $p \leq 0.001$ ).

Genotip	Provodljivost stoma (mmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	
	Kontrola	Suša
Levovil	952,89±1,47	300,83±8,59***
LA0147	882,33±11,78	339,05±10,75***
Plovdiv	453,22±18,88	235,24±8,67***
LA1420	866,33±8,57	522,00±6,11***

### 5.1.2. Specifična lisna površina i sadržaj suve materije u listovima

Specifična lisna površina (SLA) je jedan od indirektnih pokazatelja koji ukazuje na stepen stresa suše kome su biljke bile izložene. Rezultati su pokazali da je umerena suša izazvala statistički značajnu redukciju specifične lisne površine kod svih analiziranih genotipova, pri čemu su utvrđene razlike u stepenu redukcije između krupnih i čeri genotipova (Tab. 2). Redukcija specifične lisne površine je bila izraženija kod čeri genotipova, a stepen redukcije je bio 36% kod Plovdiva (sa 264,14 na 168,43 cm<sup>2</sup>/g), odnosno 33% kod LA1420 (sa 177,93 na 118,32 cm<sup>2</sup>/g). Kod genotipova sa krupnim plodovima došlo je do manje redukcije, i to kod Levovila za 11% (sa 220,78 na 196,57 cm<sup>2</sup>/g) i kod LA0147 za 14% (sa 236,55 na 202,96 cm<sup>2</sup>/g).

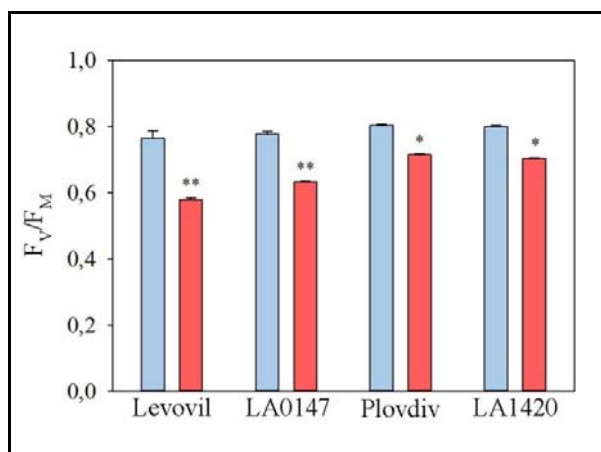
Iako je izlaganje biljaka umerenom stresu suše dovelo do značajnog povećanja sadržaja suve materije u listovima kod svih ispitivanih genotipova (Tab.2), genotipske razlike nisu bile toliko izražene kao u slučaju SLA. Najveći stepen povećanja suve materije je uočen kod čeri genotipa LA1420 (od 12,08 do 14,72% - 22% povećanja). Kod genotipova LA0147 i Plovdiv je uočeno prosečno povećanje od 19% (LA0147 - od 11,81 do 14,03% i Plovdiv - od 12,15 do 14,40% suve materije). Najmanji stepen promene, ali ipak statistički značajan od 15%, uočen je kod genotipa Levovil (od 12,66 do 14,53% suve materije).

**Tabela 2.** Uticaj suše na specifičnu lisnu površinu i sadržaj suve materije u listovima ispitivanih genotipova paradajza (\*\*\*, \*\*, \* označavaju statistički značajne razlike od  $p \leq 0.001$ ,  $p < 0.01$  i  $p < 0.05$ ).

Genotip	Specifična lisna površina - SLA (cm <sup>2</sup> /g)		Sadržaj suve materije u listovima (%)	
	Kontrola	Suša	Kontrola	Suša
Levovil	220,78±9,77	196,57±5,4**	12,66±0,11	14,53±0,06**
LA0147	236,55±14,89	202,96±13,88**	11,81±0,67	14,03±0,15*
Plovdiv	264,14±16,44	168,43±7,79***	12,15±0,29	14,40±0,11**
LA1420	177,93±6,95	118,32±7,65***	12,08±0,17	14,72±0,13***

### 5.1.3. Fluorescencija hlorofila

Parametri fluorescencije hlorofila često se koriste u kvantifikaciji stepena stresa suše i njegovog efekta na proces fotosinteze, a jedan od njih je i maksimalna fotohemijska efikasnost fotosistema II ( $F_V/F_M$ ). Stres suše je izazvao redukciju odnosa  $F_V/F_M$  kod svih ispitivanih genotipova, pri čemu je redukcija bila manje izražena kod čeri genotipova, koji su imali i više vrednosti ovog parametra u kontrolnim uslovima (Graf. 1). Kod ovih genotipova je došlo do smanjenja  $F_V/F_M$  za oko 12%, i to kod Plovdiva sa 0,81 na 0,72 i kod LA1420 sa 0,80 na 0,70. Za razliku od njih, kod genotipova sa krupnim plodovima stepen redukcije je bio veći, i to kod Levovila za 25% (sa 0,77 na 0,58), a kod LA0147 za 19% (sa 0,78 na 0,63).



**Grafik 1.** Uticaj suše na maksimalnu fotohemijsku efikasnost fotosistema II ( $F_V/F_M$ ) u listovima ispitivanih genotipova paradajza (plavi barovi – kontrola, crveni barovi – suša; \*\*, \* označavaju statistički značajne razlike od  $p < 0.01$  i  $p < 0.05$ ).

### 5.1.4. Biohemijski sastav listova

#### 5.1.4.1. Rastvorljivi šećeri

Ispitivanja sadržaja rastvorljivih šećera (heksoza i saharoze) u listovima odabranih genotipova su ukazala na karakteristične genotipske razlike u pogledu akumulacije pojedinih šećera u uslovima optimalnog navodnjavanja i u uslovima suše. U oba tretmana je kod čeri genotipova utvrđen veći sadržaj glukoze i fruktoze u odnosu na

genotipove sa krupnim plodovima. U uslovima umerenog stresa suše došlo je do povećanja sadržaja šećera, posebno glukoze (Tab. 3). Statistički značajno povećanje sadržaja glukoze je primećeno kod svih genotipova, pri čemu je stepen povećanja bio izraženiji kod čeri genotipova, i to kod genotipa Plovdiv povećanje od 67% (od 3,27 do 5,47 g/100 g suve mase), a kod genotipa LA1420 od 161% (od 2,36 do 6,16 g/100 g suve mase), dok je kod genotipa Levovil zapaženo povećanje od 55% (od 1,65 do 2,56 g/100 g suve mase).

Sadržaj fruktoze se povećao u listovima svih analiziranih genotipova, ali je povećanje bilo statistički značajno samo kod genotipa Levovil, i to za 23% (od 3,29 do 4,05 g/100 g suve mase). Čeri genotipovi su takođe imali viši sadržaj fruktoze u listovima u kontrolnim uslovima u odnosu na genotipove sa krupnim plodovima za prosečno 30%, odnosno 24% u uslovima stresa.

U kontrolnom tretmanu je sadržaj saharoze bio genotipski specifičan, pri čemu je najveći sadržaj izmeren u listovima čeri genotipa LA1420 (0,84 g/100 g suve mase). U uslovima stresa suše je došlo do povećanja sadržaja saharoze kod svih genotipova, ali je to povećanje jedino kod genotipa Plovdiv bilo statistički značajno (za 48%). Poređenja rezultata za koncentraciju heksoza (glukoza + fruktoza) i rezultata za koncentraciju saharoze su pokazala da su heksoze bili preovlađujući šećeri u listovima svih genotipova, jer je njihova koncentracija bila značajno veća (u proseku 9 do 10 puta) od koncentracije saharoze u oba tretmana.

**Tabela 3.** Uticaj suše na sadržaj šećera u listovima ispitivanih genotipova paradajza (\* označava statistički značajnu razliku od  $p < 0.05$ ).

Genotip	Glukoza (g/100 g suve mase)		Fruktoza (g/100 g suve mase)		Saharoza (g/100 g suve mase)	
	Kontrola	Suša	Kontrola	Suša	Kontrola	Suša
Levovil	1,65±0,12	2,56±0,08*	3,29±0,09	4,05 ± 0,25*	0,63 ± 0,01	0,68 ± 0,05
LA0147	1,04±0,04	1,15±0,02*	3,27±0,13	3,44 ± 0,15	0,42 ± 0,01	0,50 ± 0,01
Plovdiv	3,27±0,37	5,47±0,03*	4,49±0,16	4,68 ± 0,07	0,58 ± 0,05	0,86 ± 0,3*
LA1420	2,36±0,38	6,16±0,38*	4,01±0,37	4,64 ± 0,21	0,84 ± 0,02	1,01 ± 0,05

#### 5.1.4.2. Organske kiseline

Ispitivanja sadržaja organskih kiselina u listovima u uslovima kontrole su ukazala na karakteristične genotipske razlike u pogledu akumulacije pojedinih kiselina. Tako je u kontrolnim uslovima kod genotipova srodnih divljim rođacima paradajza (LA1420 i LA0147) utvrđen veći sadržaj limunske kiseline u odnosu na ostale genotipove, dok takav trend nije uočen sa jabučnom kiselinom. Primena umerenog stresa suše je izazvala povećanje sadržaja organskih kiselina (limunske i jabučne kiseline) u listovima kod svih genotipova paradajza (Tab. 4). Sadržaj limunske kiseline je bio statistički značajno povećan samo kod genotipova sa krupnim plodovima, i to kod Levovila za 90% (od 1,32 do 2,51 g/100 g suve mase), a kod LA0147 za 26% (od 2,50 do 3,15 g/100 g suve mase). Sadržaj jabučne kiseline je bio povećan kod svih analiziranih genotipova u uslovima stresa. Najveći procenat povećanja jabučne kiseline utvrđen je kod genotipa sa krupnim plodovima, Levovila za 164% (od 1,16 do 3,07 g/100 g suve mase), a najmanji kod čeri genotipa Plovdiv za 37% (od 1,71 do 2,34 g/100 g suve mase).

**Tabela 4.** Uticaj suše na sadržaj organskih kiselina u listovima ispitivanih genotipova paradajza (\*\*\*, \* označavaju statistički značajne razlike od  $p \leq 0.001$  i  $p < 0.05$ ).

Genotip	Limunska kiselina (g/100 g suve mase)		Jabučna kiselina (g/100 g suve mase)	
	Kontrola	Suša	Kontrola	Suša
Levovil	1,32 ± 0,19	2,51 ± 0,07*	1,16 ± 0,01	3,07 ± 0,07***
LA0147	2,50 ± 0,19	3,15 ± 0,28*	1,89 ± 0,02	3,40 ± 0,16***
Plovdiv	1,45 ± 0,17	1,62 ± 0,09	1,71 ± 0,19	2,34 ± 0,12***
LA1420	2,44 ± 0,09	2,86 ± 0,28	1,39 ± 0,05	3,07 ± 0,45***

#### 5.1.4.3. Antioksidativni kapacitet i sadržaj askorbinske kiseline

Kao jedna od najznačajnijih komponenti antioksidativnog sistema biljaka je i askorbinska kiselina ili vitamin C. Umereni stres suše je izazvao povećanje sadržaja vitamina C kod svih genotipova (Tab.5), ali je statistički značajno povećanje utvrđeno samo kod čeri genotipova, i to kod Plovdiva za 11% (od 57,15 do 63,70 mg/100g sveže mase) i kod LA1420 za 63% (od 52,54 do 85,89 mg/100g sveže mase).

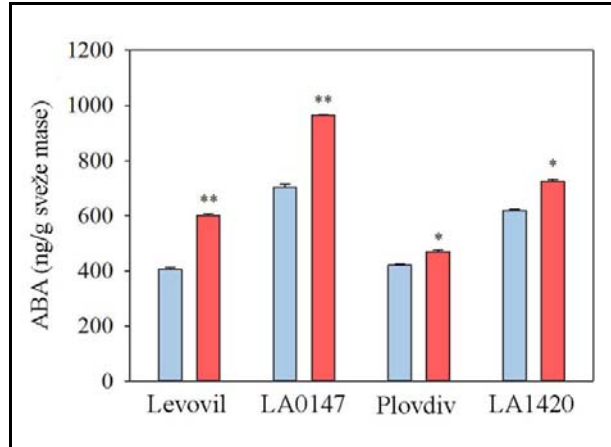
Ukupni antioksidativni kapacitet listova u uslovima umerene suše je bio statistički značajno povećan kod svih analiziranih genotipova (Tab. 5). Stepen promene je bio izraženiji kod čeri genotipova, koji su nakon izlaganja stresu suše imali viši antioksidativni kapacitet od listova genotipova sa krupnim plodovima. Tako je kod genotipa Plovdiv utvrđeno povećanje od 66% (od 89,75 do 148,6  $\mu\text{mol TEAC}/100\text{ g}$  sveže mase), a kod LA1420 za 63% (od 88,63 do 144,42  $\mu\text{mol TEAC}/100\text{ g}$  sveže mase). Manji stepen povećanja uočen je kod genotipova Levovil, i to za 35% (od 77,22 do 103,99  $\mu\text{mol TEAC}/100\text{ g}$  sveže mase) i LA0147 za 25% (od 96,34 do 120,11  $\mu\text{mol TEAC}/100\text{ g}$  sveže mase).

**Tabela 5.** Uticaj suše na sadržaj vitamina C i antioksidativni kapacitet u listovima ispitivanih genotipova paradajza (\*\*\*, \* označavaju statistički značajne razlike od  $p \leq 0.001$  i  $p < 0.05$ ).

Genotip	Vitamin C (mg/100g sveže mase)		Antioksidativni kapacitet ( $\mu\text{mol TEAC}/100\text{ g}$ sveže mase)	
	Kontrola	Suša	Kontrola	Suša
Levovil	50,41 $\pm$ 1,45	53,82 $\pm$ 2,48	77,22 $\pm$ 1,23	103,99 $\pm$ 4,93*
LA0147	51,97 $\pm$ 1,95	56,65 $\pm$ 0,84	96,34 $\pm$ 2,71	120,11 $\pm$ 5,76*
Plovdiv	57,15 $\pm$ 2,19	63,70 $\pm$ 1,43*	89,75 $\pm$ 2,46	148,6 $\pm$ 2,60***
LA1420	52,54 $\pm$ 3,2	85,89 $\pm$ 2,74***	88,63 $\pm$ 2,11	144,42 $\pm$ 2,33***

#### 5.1.4.4. Abscisinska kiselina

Analiza sadržaja abscisinske kiseline u listovima je pokazala da je stres suše indukovao akumulaciju hormona stresa u listovima svih analiziranih genotipova (Graf. 2). U kontrolnim uslovima je uočena genotipska specifičnost u sadržaju ABA, pa su tako genotipovi srodniji divljim rođacima paradajza (LA1420 i LA0147) imali veći sadržaj ABA u odnosu na komercijalne sorte. Najveći stepen akumulacije ABA je uočen kod genotipova sa krupnim plodovima, i to kod Levovil za 48% (od 404,81 do 600,23 ng/g sveže mase) i LA0147 za 37% (od 703 do 964,75 ng/g sveže mase). Promena sadržaja ABA manje je izražena u uslovima stresa u listovima čeri genotipova, Plovdiv (od 420,62 do 469,98 ng/g sveže mase - 12%) i LA1420 (od 619,17 do 725,26 ng/g sveže mase - 17%).



**Grafik 2.** Uticaj suše na sadržaj ABA u listovima ispitivanih genotipova paradajza (plavi barovi – kontrola, crveni barovi – suša; \*\*, \* označavaju statistički značajne razlike od  $p < 0.01$  i  $p < 0.05$ ).

#### 5.1.5. Sveža masa, sadržaj suve materije i prečnik plodova

Ispitivanja su, pored efekta umerene suše na listove genotipova MAGIC TOM populacije, obuhvatila i efekte suše na MAGIC TOM plodove, i to kako na njihove morfološke parametre, tako i na njihov sastav i kvalitet. Ovi rezultati su pokazali da su se u optimalnim uslovima navodnjavanja ispoljile razlike u ispitivanim morfološkim parametrima između genotipova paradajza (Tab. 6). Kao što se i očekivalo, čeri plodovi su u odnosu na krupne, bili manjeg prečnika (prosečno za 24%), manje sveže mase (prosečno za 48%) i većeg procenta suve materije (prosečno za 26%). Izlaganje biljaka umerenom stresu suše je izazvalo redukciju sveže mase ploda i ovaj efekat je bio izraženiji kod čeri genotipova (Plovdiv - redukcija od 45,20 g do 19,33 g i LA1420 - redukcija od 64,04 g do 25,31 g). Kod genotipova sa krupnim plodovima stepen redukcije sveže mase ploda je bio manji, posebno kod Levovila (od 104,05 g do 88,29 g), dok je kod LA0147 bio veći (od 107,84 g do 57,30 g). Suša je takođe indukovala povećanje sadržaja suve materije u plodovima kod svih analiziranih genotipova, bez statistički značajnih razlika između krupnih i čeri plodova. Iako je suša indukovala smanjenje prečnika plodova kod svih genotipova, ova redukcija je statistički bila značajna samo kod čeri genotipova - Plovdiva (za 25%) i LA1420 (za 28%).

**Tabela 6.** Uticaj suše na svežu masu plodova, sadržaj suve materije i prečnik plodova kod ispitivanih genotipova paradajza (\*\*\*, \*\* označavaju statistički značajne razlike od  $p \leq 0.001$  i  $p < 0.01$ ).

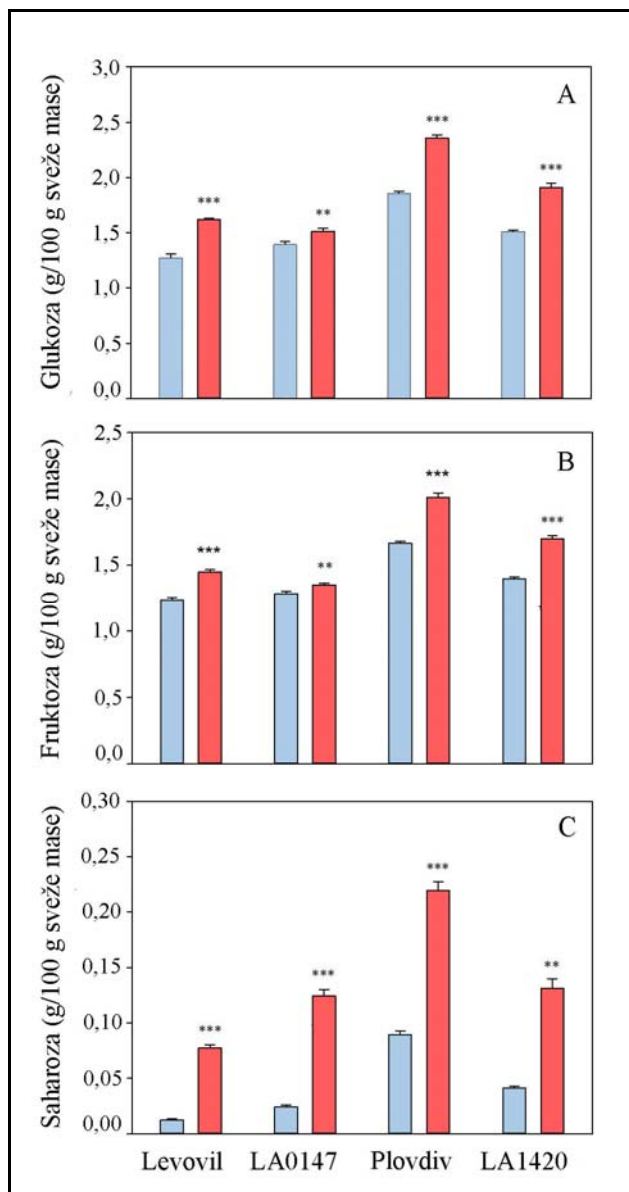
Genotip	Sveža masa ploda (g)		Sadržaj suve materije u plodovima (%)		Prečnik ploda (mm)	
	Kontrola	Suša	Kontrola	Suša	Kontrola	Suša
Levovil	104,05±9,08	88,29±9,36	5,26±0,32	6,49±0,38***	65,57±4,33	57,05±2,28
LA0147	107,84±12,71	57,30±6,26***	5,94±0,18	7,69±0,47***	60,79±3,16	52,37±3,03
Plovdiv	45,20±1,95	19,33±0,70***	7,52±0,13	9,59±0,14***	41,87±0,76	31,41±0,54***
LA1420	64,04±7,11	25,31±5,14***	6,61±0,10	8,83±0,44***	53,83±2,14	38,66±3,36**

### **5.1.6. Biohemijski sastav plodova**

#### **5.1.6.1. Rastvorljivi šećeri**

Profil rastvorljivih šećera u plodovima je, kao i u listovima, dobijen na osnovu merenja koncentracije heksoza (glukoza i fruktoze) i saharoze (Graf. 3 i 4). Količina šećera, kao i druge komponente kvaliteta plodova (sem antioksidativnog kapaciteta), predstavljeni su u odnosu na svežu i suhu masu ploda da bi se razdvojili koncentracioni i metabolički efekti suše na ispitivane osobine. Koncentracioni efekti nastaju zbog toga što se kao rezultat smanjene količine vode u ćelijama koncentracija neke supstance povećava, dok su metabolički efekti rezultat dejstva dehidracije na metaboličke reakcije (prvenstveno enzimsku aktivnost ili akumulaciju - skladištenje metabolita). Prema Ripoll et al. (2016a), povećanje koncentracije i u svežoj i u suvoj masi ukazuje na prisustvo i metaboličkog i koncentracionog efekta, dok značajno povećanje u odnosu na svežu masu ukazuje na isključivo koncentracioni efekat stresa suše.



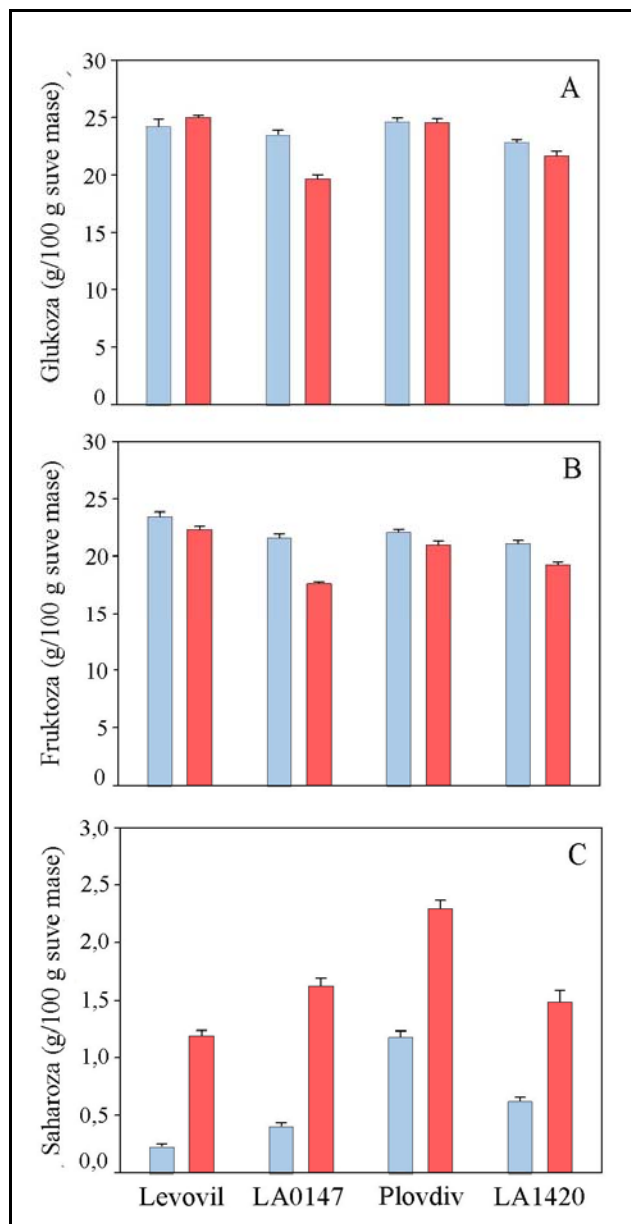


**Grafik 3.** Uticaj suše na sadržaj šećera glukoze (A), fruktoze (B) i saharoze (C) izražen na svežu masu plodova ispitivanih genotipova paradajza (plavi barovi – kontrola, crveni barovi – suša; \*\*\*, \*\* označavaju statistički značajne razlike od  $p \leq 0.001$  i  $p < 0.01$ ).

Sadržaj glukoze izražene na svežu masu ploda se povećao kod svih analiziranih genotipova (Graf. 3A). Povećanje je izraženije kod čeri genotipova (Plovdiv - od 1,86 do 2,35 g/100 g sveže mase i LA1420 - od 1,51 do 1,91 g/100 g sveže mase) u odnosu na genotipove sa krupnim plodovima (Levovil - od 1,28 do 1,62 g/100 g sveže

mase i LA0147 - od 1,34 do 1,51 g/100 g sveže mase). Takođe je došlo do povećanja sadržaja fruktoze na bazi sveže mase ploda (Graf. 3B), pri čemu su u oba primenjena tretmana koncentracije fruktoze bile više kod čeri genotipova (Plovdiv - od 1,67 do 2 g/100 g sveže mase i LA1420 - od 1,40 do 1,70 g/100 g sveže mase) u odnosu na genotipove sa krupnim plodovima (Levovil - od 1,23 do 1,45 g/100 g sveže mase i LA0147 - od 1,28 do 1,35 g/100 g sveže mase). Sadržaj saharoze izražen na svežu masu (Graf. 3C) se povećao kod svih genotipova, pri čemu je povećanje najviše bilo izraženo kod krupnih plodova (Levovil - od 0,01 do 0,08 g/100 g sveže mase i LA0147 - od 0,02 do 0,12 g/100 g sveže mase).

Za razliku od sadržaja glukoze izraženog na svežu masu ploda, rezultati izraženi na suhu masu su ukazali da se u suši, u odnosu na uslove optimalne vlažnosti, ispoljio trend opadanja sadržaja glukoze (Graf. 4A). Ova promena je statistički bila značajna kod genotipa LA1420 (sa 22,93 na 21,62 g/100 g suve mase) i LA0147 (sa 23,53 na 19,65 g/100 g suve mase), dok je u plodovima genotipa Levovil došlo do blagog porasta (od 24,28 do 24,98 g/100g suve mase). Sadržaj fruktoze izražen na suhu masu je takođe opao u uslovima stresa suše (Graf. 4B), i ta redukcija je bila najmanja u krupnim plodovima genotipa Levovil (sa 23,53 na 22,32 g/100 g suve mase), a najveća u plodovima genotipa LA0147 (sa 21,64 na 17,57 g/100 g suve mase). Koncentracija saharoze je bila povećana u uslovima stresa suše kod svih analiziranih genotipova (Graf. 4C) i ovaj trend je posebno bio izražen kod genotipova sa krupnim plodovima - Levovil (od 0,23 do 1,19 g/100 g suve mase) i LA0147 (od 0,41 do 1,62 g/100 g suve mase).



**Grafik 4.** Uticaj suše na sadržaj šećera glukoze (A), fruktoze (B) i saharoze (C) izraženih na suhu masu ploda ispitivanih genotipova paradajza (plavi barovi – kontrola, crveni barovi – suša).

Poređenjem dobijenih rezultata izraženih na svežu i suhu masu plodova može se utvrditi da li je dobijena promena u sadržaju šećera izazvana sušom rezultat koncentracionog ili metaboličkog efekta (Tab. 7). Kada su rezultati predstavljeni na bazi sveže mase

plodova primetan je bio porast sadržaja glukoze u svim analiziranim genotipovima što ukazuje da je do ove promene došlo usled koncentracionog efekta. Sadržaj fruktoze je takođe rastao u uslovima suše, ali je efekat bio izraženiji kod čeri genotipova (Plovdiv - povećanje od 21%; LA1420 - povećanje od 22%), nego kod krupnih plodova (Levovil - 17% i LA0147 - 5%). Tendencija povećanja sadržaja saharoze u uslovima suše na bazi sveže i suve mase kod svih analiziranih genotipova (posebno kod genotipova Levovil - 528% i LA0147 - 419%) ukazuje da je suša izazvala oba efekta, i koncentracioni i metabolički. Međutim, udeo saharoze u ukupnom sadržaju šećera u ispitivanim plodovima je veoma mali, tako da su ukupni šećeri u uslovima suše prvenstveno povećani na bazi sveže mase, dok su na bazi suve mase smanjeni. To ukazuje da je suša indukovala, pre svega, koncentracioni efekat.

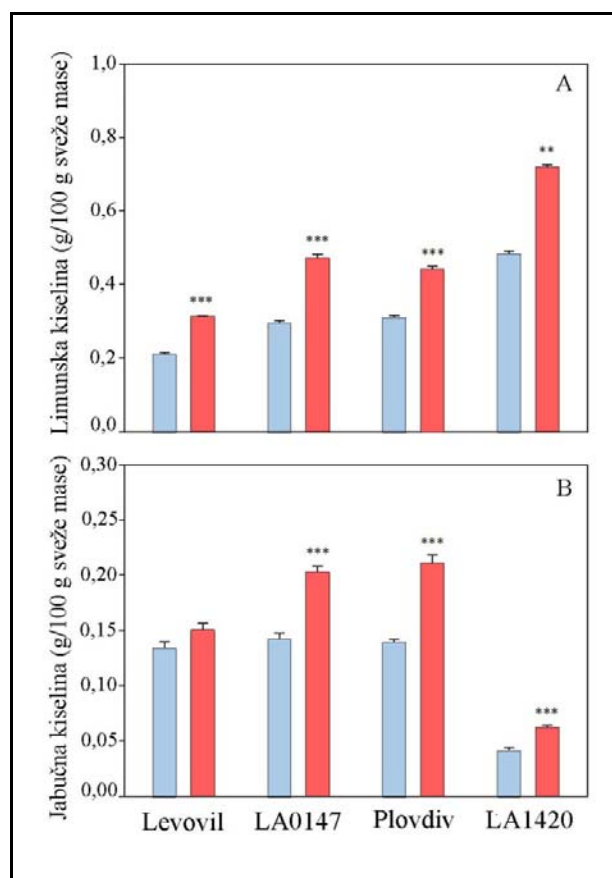
**Tabela 7.** Relativne razlike u sadržaju šećera u uslovima suše izražene na bazi sveže i suve mase plodova predstavljene u procentima. Statistički značajne razlike na nivou  $p < 0.05$  su boldirane.

	Relativne razlike na bazi sveže mase				Relativne razlike na bazi suve mase			
	Levovil	LA0147	Plovdiv	LA1420	Levovil	LA0147	Plovdiv	LA1420
Glukoza	<b>+26,9</b>	<b>+8,1</b>	<b>+26,6</b>	<b>+26</b>	+2,9	<b>-16,5</b>	-0,7	<b>-5,7</b>
Fruktoza	<b>+17,1</b>	<b>+5,2</b>	<b>+20,6</b>	<b>+21,6</b>	<b>-5,1</b>	<b>-18,8</b>	<b>-5,4</b>	<b>-9</b>
Saharoza	<b>+527,6</b>	<b>+418,7</b>	<b>+146,4</b>	<b>+216,4</b>	<b>+408,1</b>	<b>+298,7</b>	<b>+92,7</b>	<b>+137,1</b>
Ukupni šećeri	<b>+24,6</b>	<b>+10,4</b>	<b>+26,5</b>	<b>+25,9</b>	+1,0	<b>-18,4</b>	-0,6	<b>-5,3</b>

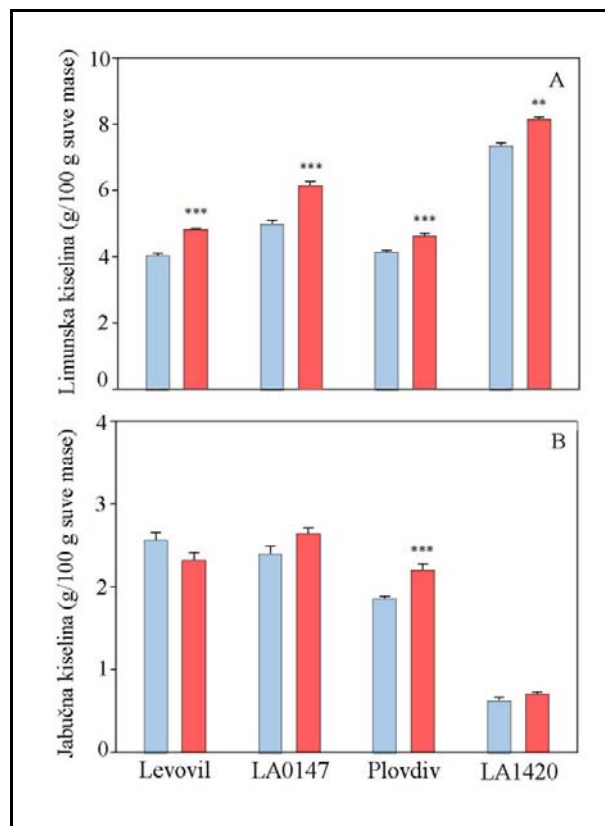
### 5.1.6.2. Organske kiseline

Od organskih kiselina u plodovima je, kao i u listovima, analizirana koncentracija jabučne i limunske kiseline (Graf. 5 i 6). U plodovima je suša indukovala statistički značajno povećanje količine limunske kiseline na bazi sveže, kao i suve mase kod svih genotipova (Graf. 5A i 6A). Ovaj efekat bio je više izražen kod krupnijih plodova, Levovila (od 4,05 do 4,81 g/100 g suve mase) i LA0147 (od 5,01 do 6,14 g /100 g suve

mase), u odnosu na čeri plodove, Plovdiv (od 4,16 do 4,60 g suve mase) i LA1420 (od 7,35 do 8,35 g/100 g suve mase). Rezultati jabučne kiseline izraženi na svežu masu plodova (Graf. 5B) pokazuju da je taj trend prisutan kod oba čeri genotipa, Plovdiva (od 0,14 do 0,21 g/100 g sveže mase) i LA1420 (od 0,04 do 0,06 g/100 g sveže mase), ali se pojavljuje i kod genotipa sa krupnim plodovima LA0147 (od 0,14 do 0,23 g/100 g sveže mase). Sadržaj jabučne kiseline izražen na suhu masu (Graf. 6B) je takođe povećan u uslovima stresa, ali je ta promena statistički značajna samo kod genotipa Plovdiv (18%, odnosno od 1,86 do 2,20 g/100 g suve mase).



**Grafik 5.** Uticaj suše na sadržaj limunske (A) i jabučne kiseline (B) izražen na svežu masu plodova ispitivanih genotipova paradajza (plavi barovi – kontrola, crveni barovi – suša; \*\*\*, \*\* označavaju statistički značajne razlike od  $p \leq 0.001$  i  $p < 0.01$ ).



**Grafik 6.** Uticaj suše na sadržaj limunske (A) i jabučne kiseline (B) izražen na suhu masu plodova ispitivanih genotipova paradajza (plavi barovi – kontrola, crveni barovi – suša; \*\*\*, \*\* označavaju statistički značajne razlike od  $p \leq 0.001$  i  $p < 0.01$ ).

Rezultati analize efekata suše na sadržaj organskih kiselina izraženih na svežu i suhu masu plodova su predstavljeni u Tab. 8. Značajno veće koncentracije limunske kiseline na bazi sveže mase su evidentirane kod svih analiziranih genotipova u uslovima suše, ali je efekat više izražen kod krupnijih plodova. Ovi rezultati ukazuju na prisustvo i koncentracionog i metaboličkog efekta suše na akumulaciju limunske kiseline. Koncentracija jabučne kiseline izražena na svežu masu ukazuje na povećanje kod većine genotipova, pri čemu je akumulacija posebno izražena kod čeri genotipova (51% povećanja kod Plovdiva i 47% povećanja kod LA1420). Ukupan sadržaj kiselina se povećao u plodovima svih analiziranih genotipova u uslovima vodnog deficita, prvenstveno usled pojačane akumulacije limunske kiseline i to usled i metaboličkog i koncentracionog efekta.

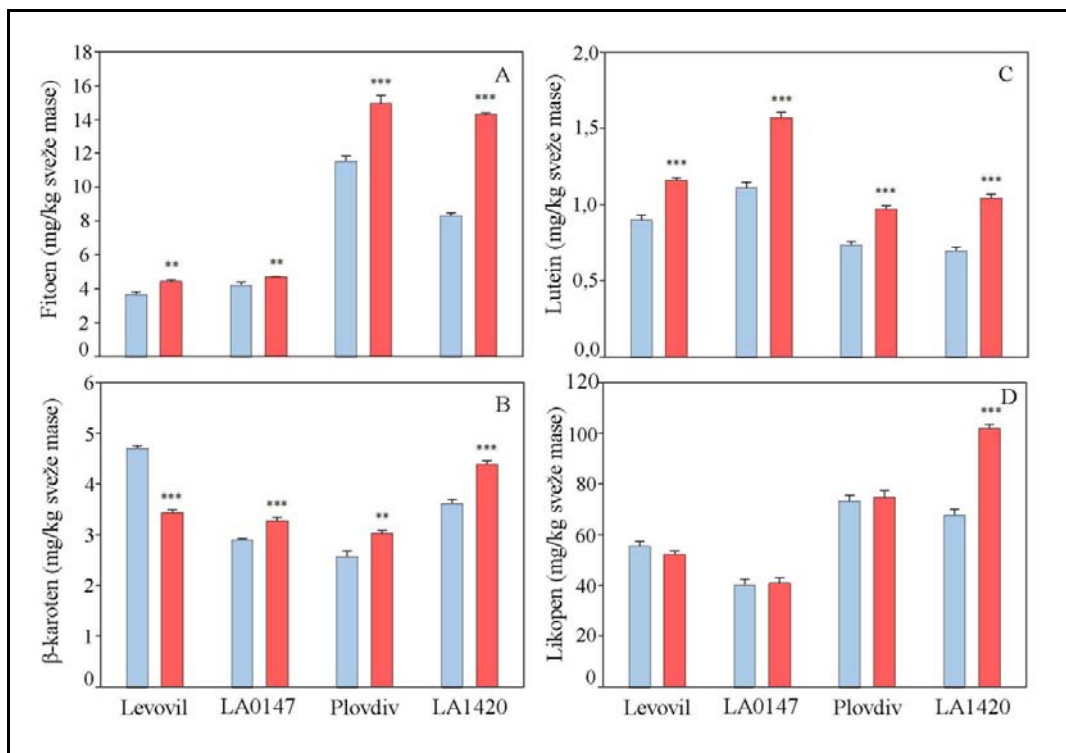
**Tabela 8.** Relativne razlike u sadržaju organskih kiselina u uslovima suše na bazi sveže i suve mase plodova izražene u procentima. Statistički značajne razlike na nivou  $p < 0.05$  su boldirane.

	Relativne razlike na bazi sveže mase				Relativne razlike na bazi suve mase			
	Levovil	LA0147	Plovdiv	LA1420	Levovil	LA0147	Plovdiv	LA1420
Limunska kiselina	<b>+46,5</b>	<b>+58,9</b>	<b>+40,9</b>	<b>+47,7</b>	<b>+18,7</b>	<b>+22,6</b>	<b>+10,7</b>	<b>+10,5</b>
Jabučna kiselina	+11,1	<b>+42</b>	<b>+50,7</b>	<b>+47</b>	-9,9	+9,7	<b>+17,9</b>	+10
Ukupne kiseline	<b>+32,8</b>	<b>+53,4</b>	<b>+43,9</b>	<b>+47,7</b>	<b>+7,7</b>	<b>+18</b>	<b>+13</b>	<b>+11,6</b>

### 5.1.6.3. Karotenoidi

Koncentracija karotenoida (fitoena, likopena,  $\beta$ -karotena i luteina) je izražena na bazi sveže i suve mase plodova. Rezultati na bazi sveže mase su predstavljeni na Graf. 7, dok su rezultati na bazi suve mase predstavljeni na Graf. 8.

Poređenje ukupnog sadržaja karotenoida kod genotipova u optimalnim uslovima je pokazalo da je ukupan sadržaj karotenoida bio viši kod čeri genotipova (Plovdiv - 88,43 mg/kg sveže mase i LA1420 - 80,72 mg/kg sveže mase) u odnosu na genotipove sa krupnijim plodovima (Levovil - 65,13 mg/kg sveže mase i LA0147 - 48,92 mg/kg sveže mase). Ove razlike su bile primetne i u uslovima vodnog deficita, gde je sadržaj karotenoida u odnosu na kontrolu povećan kod čeri genotipova (posebno kod plodova LA1420 - 51%), dok je kod genotipova sa krupnim plodovima došlo do smanjenja sadržaja za prosečno 6%. Kao što je očekivano, najzastupljeniji karotenoidi u plodovima su bili likopen i  $\beta$ -karoten.

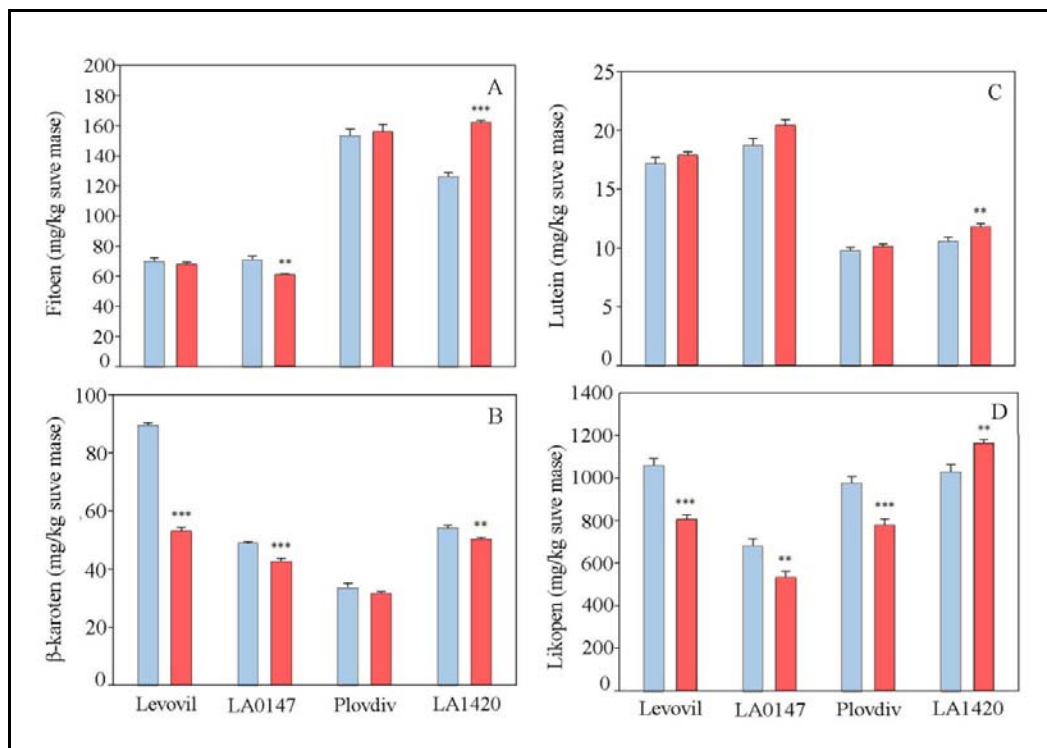


**Grafik 7.** Sadržaj karotenoida (fitoena - A, β-karotena - B, luteina - C i likopena - D) izražen na svežu masu plodova ispitivanih genotipova paradajza (plavi barovi – kontrola, crveni barovi – suša; \*\*\*, \*\* označavaju statistički značajne razlike od  $p \leq 0.001$  i  $p < 0.01$ ).

Razlike u sadržaju karotenoida izraženih na svežu masu kod krupnih i čeri plodova u kontroli i uslovima stresa su bile uzrokovane prvenstveno visokim koncentracijama fitoena (prekursora za sintezu drugih karotenoida) i likopena u čeri plodovima (Graf. 7A i D). U poređenju sa genotipovima sa krupnim plodovima, čeri genotipovi su imali više koncentracije fitoena u kontrolnim uslovima (Plovdiv - 11,57 mg/kg, LA1420 - 8,36 mg/kg) i u uslovima stresa (Plovdiv - 14,94 mg/kg, LA1420 - 14,30 mg/kg) u odnosu na genotipove sa krupnim plodovima. U uslovima vodnog deficita, najveće povećanje koncentracije fitoena u poređenju sa kontrolom je detektovano kod čeri genotipa LA1420, i to za 71%. Koncentracija likopena je bila genotipski specifična i viša kod čeri genotipova u kontrolnim uslovima (Plovdiv - 73,54 mg/kg, i LA1420 - 68,03 mg/kg sveže mase), kao i u uslovima stresa (Plovdiv - 74,65 mg/kg i LA1420 - 101,95 mg/kg sveže mase) u odnosu na genotipove sa krupnim plodovima. Najviša koncentracija



likopena u kontroli i uslovima vodnog deficita je bila prisutna kod genotipa LA1420 (Graf.7D). Kod plodova genotipa Levovil izloženih stresu suše došlo je do opadanja koncentracije likopena izraženih na svežu masu u odnosu na kontrolu (od 55,81 do 52,19 mg/kg sveže mase).



**Grafik 8.** Sadržaj karotenoida (fitoena - A,  $\beta$ -karotena - B, luteina - C i likopena - D) izražen na suhu masu plodova ispitivanih genotipova paradajza (plavi barovi – kontrola, crveni barovi – suša; \*\*\*, \*\* označavaju statistički značajne razlike od  $p \leq 0.001$  i  $p < 0.01$ ).

Kada se rezultati iskažu na suhu masu (Graf. 8), koncentracija fitoena je takođe niža kod krupnih (Levovil – 70,28 mg/kg suve mase i LA0147 – 71,33 mg/kg suve mase) u odnosu na čeri genotipove (Plovdiv – 153,82 mg/kg suve mase i LA1420 – 126,47 mg/kg suve mase). Statistički značajna promena koncentracije fitoena u uslovima suše u odnosu na suhu masu je prisutna kod genotipova LA0147 (smanjenje na 60,92 mg/kg suve mase) i LA1420 (povećanje na 161,97 mg/kg suve mase). Na bazi suve mase došlo je i do statistički značajnog smanjenja koncentracije likopena u uslovima vodnog

deficita kod svih ispitivanih genotipova (Plovdiv - sa 977,89 na 778,41 mg/kg, LA0147 - sa 683,65 na 531,07 mg/kg, Levovil - sa 1061,08 na 804,18 mg/kg suve mase) izuzev kod LA1420 (Graf. 8D). U uslovima stresa došlo je takođe do smanjenja koncentracije  $\beta$ -karotena izražene na suhu masu kod svih ispitivanih genotipova (Plovdiv - sa 33,81 na 31,1 mg/kg, LA1420 - sa 54,32 na 50,1mg/kg, Levovil - sa 89,75 na 52,9 mg/kg, LA0147 - sa 49,16 na 42,5 mg/kg suve mase). Na bazi suve mase je došlo do povećanja koncentracije luteina, najviše izraženo kod čeri genotipova, i to za 11% kod Plovdiva i 8,7% kod LA1420, što je niže nego kada se rezultati izraze na svežu masu.

**Tabela 9.** Relativne razlike u sadržaju karotenoida (fitoena, likopena,  $\beta$ -karotena i luteina) u uslovima suše obračunate na bazi sveže i suve mase plodova. Statistički značajne razlike na nivou  $p < 0.05$  su boldirane.

	Relativne razlike na bazi sveže mase				Relativne razlike na bazi suve mase			
	Levovil	LA0147	Plovdiv	LA1420	Levovil	LA0147	Plovdiv	LA1420
Fitoen	<b>+19</b>	<b>+10.5</b>	<b>+29.1</b>	<b>+71.1</b>	-3.6	<b>-14.6</b>	+1.3	<b>+28.1</b>
Likopen	-6.5	+0.6	+1.5	<b>+49.9</b>	<b>-24.2</b>	<b>-22.3</b>	<b>-20.4</b>	<b>+12.8</b>
$\beta$ -karoten	<b>-27.4</b>	<b>+12.2</b>	<b>+16.9</b>	<b>+20.7</b>	<b>-41.1</b>	<b>-13.5</b>	-6.8	<b>-7.8</b>
Lutein	<b>+28.2</b>	<b>+40.7</b>	<b>+31.1</b>	<b>+48.4</b>	+3.9	+8.7	+2.8	<b>+11.1</b>
Ukupni karotenoidi	<b>-6.1</b>	<b>+5.9</b>	<b>+5.8</b>	<b>+50.7</b>	<b>-23.9</b>	<b>-20.4</b>	<b>-17</b>	<b>+13.5</b>

Povećanje koncentracije fitoena u uslovima suše kod čeri genotipa LA1420, i to za 71% na bazi sveže i 28% na bazi suve mase ukazuje na aktivaciju metaboličkog odgovora (Tab. 9). Povećanje sadržaja fitoena na bazi sveže mase je kod drugih genotipova bilo praćeno malim smanjenjem na bazi suve mase što ukazuje na dejstvo koncentracionog efekta. Najveći procenat smanjenja na bazi suve mase je bio prisutan kod genotipa LA0147 i iznosio je 15%.

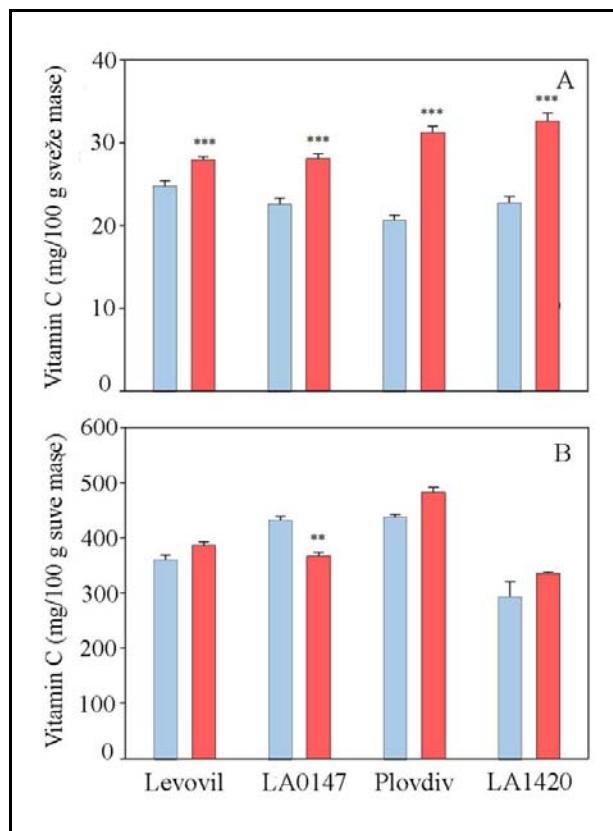
Sličan trend genotipske reakcije u uslovima vodnog deficita je bio prisutan i kada se posmatra sadržaj  $\beta$ -karotena izražen na svežu masu (povećanje u plodovima

LA1420 od 3,64 do 4,39 mg/kg). Istovremeno je koncentracija smanjena u plodovima genotipa Levovil (od 4,72 do 3,43 mg/kg). U uslovima suše je došlo do opadanja koncentracija  $\beta$ -karotena i likopena izraženih na suhu masu kod svih analiziranih genotipova sem kod LA1420 (Graf. 8B i D). Analiza ovih rezultata ukazuje na to da je redukcija skladištenja/metabolizma ovih karotenoida bila kompenzovana koncentracionim efektom. Povećana koncentracija likopena u plodovima LA1420 na bazi suve mase (13%) i sveže mase (49%) ukazuje na udruženo dejstvo koncentracionog i metaboličkog efekta.

#### ***5.1.6.4. Antioksidativni kapacitet i sadržaj askorbinske kiseline***

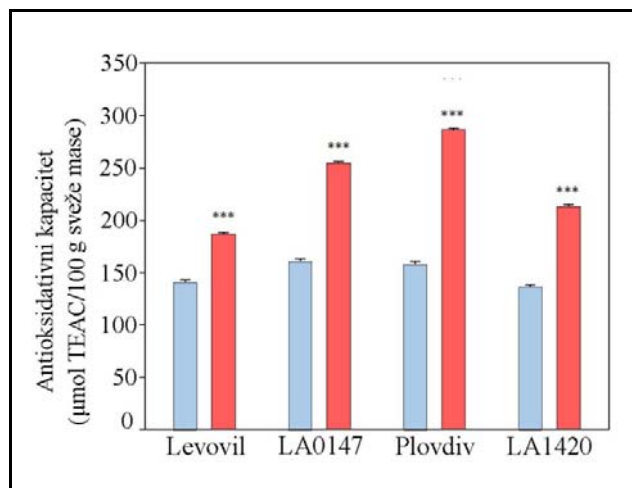
Biohemijska analiza plodova je, kao i u slučaju listova (Tab.5), obuhvatila i određivanje antioksidativnog kapaciteta plodova i sadržaja vitamina C. Askorbinska kiselina (vitamin C) je takođe analizirana kao bitna komponenta antioksidativnog sistema. Sadržaj vitamina C izražen na svežu masu se nije statistički značajno razlikovao u kontrolnim uslovima između genotipova (prosečno 22,79 mg/100 g sveže mase). Stres suše je izazvao povećanje koncentracije askorbinske kiseline na bazi sveže mase u svim analiziranim plodovima (Graf. 9A). Procenat povećanja sadržaja vitamina C u uslovima stresa je bio viši kod čeri genotipova, i to kod Plovdiva za 50% (od 20,78 do 31,26 mg/100 g sveže mase) i kod LA1420 za 43% (od 22,84 do 32,58 mg/100 g sveže mase) u odnosu na krupne plodove (Levovila za 12% - od 24,88 do 27,91 mg/100 g sveže mase; LA0147 za 24% - od 22,68 do 28,07 mg/100 g sveže mase).

Rezultati izraženi na suhu masu plodova takođe pokazuju trend povećanja sadržaja vitamina C kod većine analiziranih genotipova (Graf. 9B), međutim, povećanje nije statistički značajno. Kod genotipa LA0147 je došlo do statistički značajnog smanjenja sadržaja vitamina C u uslovima stresa (sa 432,7 na 366,88 mg/100 g suve mase).



**Grafik 9.** Sadržaj askorbinske kiseline u uslovima suše izražen na svežu (A) i suhu (B) masu plodova ispitivanih genotipova paradajza (plavi barovi – kontrola, crveni barovi – suša; \*\*\*, \*\* označavaju statistički značajne razlike od  $p \leq 0.001$  i  $p < 0.01$ ).

Rezultati za plodove su pokazali da je stres suše indukovao porast ukupnog antioksidativnog kapaciteta u svim analiziranim genotipovima u poređenju sa kontrolom (Graf.10), ali je ovaj efekat bio više izražen kod čeri plodova (Plovdiv - od 158,27 do 286,36  $\mu\text{mol TEAC}/100$  g sveže mase; LA1420 - od 137 do 212,40  $\mu\text{mol TEAC}/100$  g sveže mase) nego kod genotipova sa krupnim plodovima (Levovil - od 141,15 do 186,63  $\mu\text{mol TEAC}/100$  g sveže mase; LA0147 - od 161,32 do 254,68  $\mu\text{mol TEAC}/100$  g sveže mase).



**Grafik 10.** Antioksidativni kapacitet plodova ispitivanih genotipova paradajza (plavi barovi – kontrola, crveni barovi – suša; \*\*\* označavaju statistički značajnu razliku od  $p \leq 0.001$ ).

Efekti suše na sadržaj antioksidanata su analizirani i sa aspekta mogućih koncentracionih i metaboličkih efekata. Veće povećanje ukupne koncentracije askorbinske kiseline obračunate na svežu masu u odnosu na koncentraciju u suvoj masi, ukazuje na koncentracioni efekat. Razlike u odgovoru na stres suše su bile više izražene kod čeri genotipova na bazi sveže mase, i to povećanje koncentracije askorbinske kiseline od 50% za Plovdiv i 43% za LA1420 u poređenju sa genotipovima sa krupnim plodovima (povećanje od 12% kod Levovila, odnosno 24% kod LA0147). Kada su rezultati izraženi na suhu masu, utvrđena je statistički značajna promena samo za genotip LA0147, i to smanjenje sadržaja vitamina C za 14%.

#### **5.1.6.5. Abscisinska kiselina (ABA)**

Koncentracija stres hormona ABA je merena pored listova (Graf. 2) i u plodovima. Kod plodova svih ispitivanih genotipova je došlo do povećanja sadržaja ABA u uslovima stresa, izraženih i na svežu i suhu masu (Tab. 10). Veći stepen promene u sadržaju ABA izražene na svežu masu utvrđen je kod genotipova sa čeri plodovima, i to kod Plovdiva za 65% (od 355,25 do 585,57 ng/g sveže mase) i kod LA1420 za 55% (od 450,28 do 696,09 ng/g sveže mase) u odnosu na genotipove sa krupnim plodovima (Levovil - od

544,46 do 789,32 ng/g sveže mase, LA0147 - od 619,33 do 860,59 ng/g sveže mase). Kada se rezultati izraze na suhu masu, procenat povećanja ABA u uslovima stresa kod čeri genotipova (Plovdiv - 39% i LA1420 - 27%) je nešto veći u odnosu na povećanje prisutno kod genotipova sa krupnim plodovima. Povećanje koncentracije abscisinske kiseline obračunate na svežu masu u odnosu na koncentraciju u suvoj masi kod genotipova sa krupnim plodovima ukazuje na koncentracioni efekat, za razliku od čeri genotipova gde je pored koncentracionog prisutan i metabolički efekat.

**Tabela 10.** Uticaj suše na sadržaj ABA u plodovima ispitivanih genotipova paradajza (\*\*\*, \*\* označavaju statistički značajne razlike od  $p \leq 0.001$  i  $p < 0.01$ ).

Genotip	ABA (ng/g sveže mase)		ABA (ng/g suve mase)	
	Kontrola	Suša	Kontrola	Suša
Levovil	544,46±67,18	789,32±32,16**	4300,62±202,36	5432,33±220,57**
LA0147	619,33±56,59	860,59±63,73**	5244,10±250,67	6133,93±204,87***
Plovdiv	355,25±26,68	585,57±28,95***	2923,91±110,94	4066,43±101,37***
LA1420	450,28±31,79	696,09±57,04***	3727,45±197,36	4728,89±155,72***

## 5.2. Ogled umerene suše sa Ailsa Craig i *flacca* genotipovima

### 5.2.1. Provodljivost stoma i ukupni vodni potencijal listova

Rezultati merenja provodljivosti stoma u kontrolnim uslovima su pokazali da su kod oba analizirana genotipa utvrđene približno slične vrednosti, dok su u uslovima stresa ispoljene karakteristične razlike (Tab. 11). Primena umerenog stresa suše je izazvala kod oba analizirana genotipa statistički značajno opadanje provodljivosti stoma. Opadanje provodljivosti stoma je bilo uočljivije kod genotipa Ailsa Craig (divljeg tipa) i to za 52% (sa 996,67 na 475,02 mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) u odnosu na mutanta *flacca*, kod koga je došlo do redukcije provodljivosti za 33% (smanjenje sa 1008,33 na 673,33 mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>). Poređenjem vrednosti otvorenosti stoma u uslovima suše uočeno je da je kod genotipa *flacca* provodljivost bila viša za 42% u odnosu na divlji tip.

Pored promena provodljivosti stoma kao parametra vodnog režima biljaka praćena je promena ukupnog vodnog potencijala (Tab. 11). U uslovima optimalnog navodnjavanja nije bilo razlika u vodnom potencijalu ispitivanih genotipova i on se održavao oko vrednosti -0,33 MPa. Kod oba analizirana genotipa u uslovima stresa došlo je do opadanja vrednosti potencijala vode, i to kod genotipa *flacca* od -0,33 do -1,05 MPa, a kod Ailsa Craig od -0,34 do -0,81 MPa. U uslovima suše kod mutanta *flacca* utvrđena je veća promena potencijala vode (od 0,72 MPa) u odnosu na Ailsa Craig, kod koje je ta promena bila niža i iznosila je 0,47 MPa.

**Tabela 11.** Uticaj suše na provodljivost stoma i ukupni vodni potencijal listova kod ispitivanih genotipova paradajza (\*\*\*) označavaju statistički značajne razlike od p≤0.001).

Genotip	Provodljivost stoma (mmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )		Ukupan vodni potencijal (-MPa)	
	Kontrola	Suša	Kontrola	Suša
Ailsa Craig	996,67±9,88	475,02±15,22***	-0,34±0,03	-0,81±0,07***
<i>flacca</i>	1008,33±9,46	673,33±5,57***	-0,33±0,03	-1,05±0,11***

### 5.2.2. Specifična lisna površina i sadržaj suve materije lista

Specifična lisna površina i procenat suve materije su parametri koji ukazuju na rastenje listova i akumulaciju suve materije, ali mogu indirektno da ukažu i na stepen stresa suše kome su bile izložene biljke. Vrednosti specifične lisne površine u uslovima optimalnog snabdevanja biljaka vodom su ukazale na karakteristične genotipske razlike, pa je tako kod divljeg tipa (Ailsa Craig) specifična lisna površina bila značajno veća u odnosu na mutanta (Tab.12). U uslovima umerene suše došlo je do redukcije SLA i to kod Ailsa Craig za 26% (sa 189,65 na 140,17 cm<sup>2</sup>/g), dok je kod mutanta *flacca* ta promena iznosila 16% (sa 155,95 na 130,27 cm<sup>2</sup>/g). U uslovima umerenog stresa sadržaj suve materije u listovima je bio povećan u poređenju sa kontrolom kod oba analizirana genotipa. Tako je kod divljeg tipa utvrđeno povećanje od 22% (sa 10,25 na 12,46%), a kod mutanta *flacca* sa 12,61 na 14,06%, (povećanje od 11%).

**Tabela 12.** Uticaj suše na specifičnu lisnu površinu i sadržaj suve materije u listovima kod ispitivanih genotipova paradajza (\*\*\*, \* označavaju statistički značajne razlike od p<0.001 i p<0.05).

Genotip	Specifična lisna površina - SLA (cm <sup>2</sup> /g)		Sadržaj suve materije u listovima (%)	
	Kontrola	Suša	Kontrola	Suša
Ailsa Craig	189,65±6,52	140,17±2,98*	10,25±0,11	12,46±0,16***
<i>flacca</i>	155,95±8,02	130,27±7,23*	12,61±0,17	14,06±0,50*

### 5.2.3. Sadržaj hlorofila u listovima

Sadržaj hlorofila u listovima je takođe parametar koji može da ukaže na izloženost biljaka određenom stepenu stresa suše. Ispitivanja sadržaja hlorofila u različitim fazama razvića ploda su ukazala da se sadržaj hlorofila u listovima u kontrolnim uslovima povećava kod oba genotipa, počev od faze antezisa druge cvetne grane (Tab. 13). Umerena suša dovodi do redukcije sadržaja hlorofila u fazi zelenog ploda kod oba genotipa, pri čemu je stepen redukcije veći kod *flacca* mutanta i iznosi 6% (od 43,98 µg/cm<sup>2</sup> do 41,27 µg/cm<sup>2</sup>), u odnosu na divlji tip kod koga je stepen redukcije manji i



iznosi oko 4% (od 44,49 do 42,90  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ). U fazi zrelog ploda dolazi do daljeg, statistički značajnog opadanja sadržaja hlorofila, i to kod mutanta za 9% (od 50,01 do 45,48  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), dok je kod divljeg tipa ta promena bila manje izražena (od 48,93 do 46,21  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) i iznosila je oko 6%.

**Tabela 13.** Uticaj suše na sadržaj hlorofila u listovima u fazi antezisa druge cvetne grane, fazi zelenog i zrelog ploda kod genotipova Ailsa Craig i *flacca* (\*\*, \* označavaju statistički značajne razlike od  $p \leq 0.01$  i  $p < 0.05$ ).

Genotipovi	Faza razvića ploda	Sadržaj hlorofila ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	
		Kontrola	Suša
Ailsa Craig	Antezis	40,03±0,94	
	Zeleni plod	44,49±0,83	42,90±0,92*
	Zreo plod	48,93±0,75	46,21±0,84*
<i>flacca</i>	Antezis	39,78±0,67	
	Zeleni plod	43,98±0,74	41,27±0,63*
	Zreo plod	50,01±0,61	45,48±0,79**

#### 5.2.4. Vitamin C i ukupni antioksidativni kapacitet u listovima

Askorbinska kiselina (vitamin C) i antioksidativni kapacitet su komponente antioksidativnog sistema koje imaju važnu ulogu u odbrani biljaka od stresa suše. U kontrolnim uslovima nije bilo statistički značajne razlike u antioksidativnom kapacitetu listova između genotipova, ali su bile izražene razlike u sadržaju vitamina C, pa je tako divlji tip imao za 29% više vitamina C u listovima u odnosu na mutant *flacca*. Stres suše je izazvao povećanje sadržaja vitamina C u listovima oba genotipa (Tab. 14). Promena je bila izraženija u listovima divljeg tipa gde je došlo do povećanja sadržaja vitamina C sa 66,36 na 77,90 mg/100 g sveže mase (17%), dok je kod genotipa *flacca* stepen promene bio manji, ali takođe statistički značajan (povećanje sadržaja vitamina C sa 47,30 na 52,69 mg/100 g sveže mase – 11%). Umerena suša dovela je do statistički značajnog povećanja ukupnog antioksidativnog kapaciteta kod oba genotipa (Tab. 14),

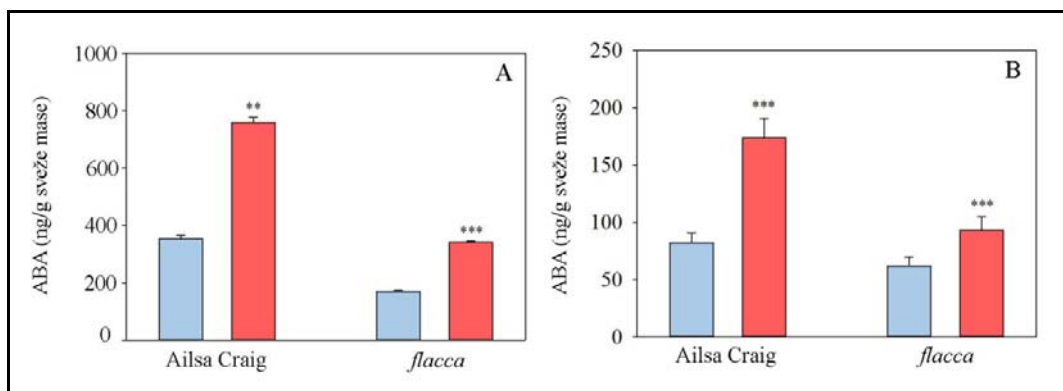
pri čemu je povećanje bilo izraženije kod divljeg tipa (od 85,45 do 114,37  $\mu\text{mol TEAC}/100\text{ g}$  sveže mase – 34%), u odnosu na *flacca* mutant gde je zabeleženo povećanje od 14% (sa 80,25 na 91,25  $\mu\text{mol TEAC}/100\text{ g}$  sveže mase).

**Tabela 14.** Uticaj suše na sadržaj vitamina C i antioksidativni kapacitet u listovima ispitivanih genotipova paradajza (\*\*, \* označavaju statistički značajne razlike od  $p < 0.01$  i  $p < 0.05$ ).

Genotip	Vitamin C (mg/100 g sveže mase)		Antioksidativni kapacitet ( $\mu\text{mol TEAC}/100\text{ g}$ sveže mase)	
	Kontrola	Suša	Kontrola	Suša
Ailsa Craig	66,36 $\pm$ 2,37	77,90 $\pm$ 0,93**	85,45 $\pm$ 4,69	114,37 $\pm$ 6,93**
<i>flacca</i>	47,30 $\pm$ 2,03	52,69 $\pm$ 0,83*	80,25 $\pm$ 6,20	91,25 $\pm$ 7,76*

### 5.2.5. Sadržaj ABA u listovima i korenovima

Ispitivanje sadržaja ABA u listovima i korenovima odabranih genotipova paradajza ukazalo je na karakteristične genotipske razlike (Graf. 11). Kao što je i očekivano, mutant *flacca* je u kontrolnim uslovima imao za 52% manji sadržaj ABA u listovima, i za 25% manji sadržaj u korenovima u odnosu na divlji tip. Izlaganje biljaka umerenom stresu suše je izazvalo akumulaciju ABA u listovima i korenovima kod oba analizirana genotipa.



**Grafik 11.** Uticaj suše na sadržaj ABA u listovima (A) i korenovima (B) ispitivanih genotipova paradajza (plavi barovi – kontrola, crveni barovi – suša; \*\*\*, \*\* označavaju statistički značajne razlike od  $p \leq 0.001$  i  $p < 0.01$ ).

Umereni stres suše je indukovao povećanje ABA u listovima kod oba genotipa (Graf. 11A), i to kod divljeg tipa za 115% (od 352,80 do 759,30 ng/g sveže mase lista), a kod genotipa *flacca* povećanje je iznosilo 79% (od 190,72 do 342,37 ng/g sveže mase lista). Sadržaj ABA u korenu je bio povećan u uslovima stresa (Graf. 11B), i to za 112% kod divljeg tipa (od 82,02 do 173,87 ng/g sveže mase), odnosno za 51% kod genotipa *flacca* (od 61,82 do 93,13 ng/g sveže mase).

### 5.2.6. Sveža masa, prečnik ploda i procenat suve materije u plodovima

Ispitivanja kvantitativnih parametara plodova (mase i veličine) su pokazala da su u uslovima optimalnog snabdevanja vodom ispoljene karakteristične razlike između genotipova, pa su tako plodovi divljeg tipa (Ailsa Craig) bili krupniji i teži u odnosu na plodove mutanta *flacca*. Stres suše je negativno uticao na svežu masu ploda kod oba ispitivana genotipa (Tab. 15). Vodni deficit je posebno redukovao svežu masu plodova mutanta *flacca* (sa 15,89 na 10,72 g – smanjenje od 32%), dok je kod divljeg tipa redukcija bila manje izražena (sa 38,10 na 32,60 g – smanjenje od 14%). Paralelno sa smanjenjem sveže mase ploda procenat suve materije u plodovima je bio povećan kod oba analizirana genotipa, pri čemu je procenat promene bio veći kod divljeg tipa i iznosio je 53% (sa 8,07 na 12,35%) nego kod mutanta *flacca* kod koga je ta promena bila 36% (sa 9,88 na 13,45%). Suša je uticala i na smanjenje prečnika ploda u uslovima stresa (Tab. 15), koje je kod divljeg tipa iznosilo 12% (sa 37,50 na 33,00 mm), a kod mutanta *flacca* 17% (sa 28,50 na 23,50 mm).

**Tabela 15.** Uticaj suše na svežu masu plodova, sadržaj suve materije i prečnik plodova kod ispitivanih genotipova paradajza (\*\*\*, \*\*, \* označavaju statistički značajne razlike od  $p \leq 0.001$ ,  $p < 0.01$  i  $p < 0.05$ ).

Genotip	Sveža masa ploda (g)		Sadržaj suve materije u plodovima (%)		Prečnik ploda (mm)	
	Kontrola	Suša	Kontrola	Suša	Kontrola	Suša
Ailsa Craig	38,10±0,83	32,60±0,03*	8,07±0,32	12,35±0,55**	37,50±1,00	33,00±0,80*
<i>flacca</i>	15,89±0,52	10,72±0,76***	9,88±0,63	13,45±0,74***	28,50±0,80	23,50±1,00**

## 5.2.7. Biohemijski sastav plodova

### 5.2.7.1. Sadržaj rastvorljivih materija i organskih kiselina u plodovima

Ugljeni hidrati i organske kiseline su značajne komponente kvaliteta plodova. Ukupan sadržaj rastvorljivih materija koji je predstavljen kao °Brix korišćen je kao pokazatelj koncentracije ukupnih (rastvorljivih) šećera u plodovima paradajza (Magwaza i Opara, 2015). Umereni stres suše je indukovao povećanje sadržaja ukupnih šećera kod oba analizirana genotipa (Tab. 16).

**Tabela 16.** Uticaj suše na sadržaj ukupnih šećera (°Brix) izražen na svežu i suhu masu u plodovima ispitivanih genotipova paradajza (\*\*\*) označavaju statistički značajne razlike od  $p \leq 0.001$ ).

Genotip	Sadržaj ukupnih šećera (°Brix) izražen na svežu masu		Sadržaj ukupnih šećera (°Brix) izražen na suhu masu	
	Kontrola	Suša	Kontrola	Suša
Ailsa Craig	8,69±0,11	11,02±0,41***	107,83±1,38	89,22±3,33***
<i>flacca</i>	7,90±0,07	8,67±0,20***	79,96±0,76	64,49±1,46***

Rezultati sadržaja šećera izraženi na svežu masu ploda pokazuju da je u uslovima suše kod plodova divljeg tipa došlo do povećanja sadržaja za 27% (od 8,69 do 11,02 °Brix), dok je povećanje kod plodova mutanta *flacca* bilo značajno manje i iznosilo je 10% (od 7,90 do 8,67 °Brix). Rezultati sadržaja ukupnih šećera (°Brix) izraženi na suhu masu (Tab. 16) su pokazali da je °Brix bio snižen kod divljeg tipa za 17% (od 107,83 do 89,22 °Brix), odnosno za 19% kod mutanta (od 79,96 do 64,49 °Brix).

U kontrolnim uslovima utvrđene su i genotipske razlike u sadržaju ukupnih organskih kiselina koje su predstavljene kao procenat limunske kiseline koja je najzastupljenija u zrelom plodu paradajza. Tako su plodovi genotipa *flacca* imali za 36% više kiselina od plodova divljeg tipa (Tab. 17). Sadržaj organskih kiselina je bio povećan usled primene umerenog stresa kod oba genotipa, pri čemu je kod divljeg tipa utvrđeno povećanje od 50% (sa 0,14 na 0,21% ekvivalenta limunske kiseline), a kod mutanta *flacca* 47% (sa 0,19 na 0,28% ekvivalenta limunske kiseline na svežu masu). Kada je reč o sadržaju organskih kiselina izraženih na suhu masu, došlo je do povećanja

kod genotipa *flacca* za 8% (od 1,92 do 2,08% ekvivalenta limunske kiseline), dok kod divljeg tipa nije primećena statistički značajna promena (Tab. 17).

**Tabela 17.** Uticaj suše na sadržaj organskih kiselina izražen na svežu i suhu masu u plodovima ispitivanih genotipova paradajza (\*\*\*, \* označavaju statistički značajne razlike od  $p \leq 0.001$  i  $p < 0.05$ ).

Genotip	Organske kiseline (% ekvivalenta limunske kiseline na svežu masu)		Organske kiseline (% ekvivalenta limunske kiseline na suhu masu)	
	Kontrola	Suša	Kontrola	Suša
Ailsa Craig	0,14±0,004	0,21±0,005***	1,73±0,05	1,70±0,04
<i>flacca</i>	0,19±0,004	0,28±0,008***	1,92±0,04	2,08±0,06*

#### 5.2.7.2. Sadržaj likopena, vitamina C i antioksidativni kapacitet plodova

Sadržaj likopena kao kvalitativne komponente plodova paradajza se razlikovao kod genotipova u uslovima optimalnog navodnjavanja, pa se tako plodovi genotipa *flacca* odlikuju višim sadržajem likopena za 27% u odnosu na divlji tip (Tab. 18). U uslovima umerenog stresa suše došlo je do povećanja sadržaja likopena kod divljeg tipa za 23% (od 40,52 do 49,99 mg/kg sveže mase), za razliku od mutanta *flacca* kod koga je došlo do redukcije za 18% (od 51,47 do 41,99 mg/kg sveže mase). Ukoliko se podaci izraze na suhu masu, rezultati pokazuju da je u uslovima umerenog stresa suše došlo do redukcije sadržaja likopena. Kod divljeg tipa je došlo do smanjenja od 19% (od 502,79 do 404,77 mg/kg suve mase), a kod mutanta je stepen redukcije bio znatno veći i iznosio je 40% (od 520,97 do 312,18 mg/kg suve mase).

**Tabela 18.** Uticaj suše na sadržaj likopena u plodovima ispitivanih genotipova paradajza (\*\*\*, \*\* označavaju statistički značajne razlike od  $p \leq 0.001$  i  $p < 0.01$ ).

Genotip	Likopen (mg/kg sveže mase)		Likopen (mg/kg suve mase)	
	Kontrola	Suša	Kontrola	Suša
Ailsa Craig	40,52±1,49	49,99±1,17***	502,79±18,48	404,77±9,47**
<i>flacca</i>	51,47±1,94	41,99±0,79***	520,97±19,62	312,18±5,88**

Ispitivanja komponenti antioksidativnog sistema kao što je vitamin C su pokazala da su se ispitivani genotipovi neznatno razlikovali u kontrolnim uslovima, po vrednostima ovog pokazatelja u plodovima. U uslovima kontrole sadržaj vitamina C kod divljeg tipa (Ailsa Craig) je iznosio 22,85 mg/100 g sveže mase, a kod *flacca* mutanta 20,10 mg/100 g sveže mase (Tab. 19). Stres suše je izazvao povećanu akumulaciju vitamina C kod oba genotipa, i to kod divljeg tipa sa 22,85 na 41,98 mg/100 g sveže mase (za 84%), a kod mutanta *flacca* sa 20,01 na 30,98 mg/100 g sveže mase (55%). Kada se rezultati izraze na suhu masu procenat povećanja vitamina C za Ailsa Craig je 20% (od 283,14 do 339,94 mg/100 g sveže mase), dok je procenat kod mutanta *flacca* iznosio 13% (od 203,45 do 230,33 mg/100 g sveže mase).

**Tabela 19.** Uticaj suše na sadržaj vitamina C u plodovima ispitivanih genotipova paradajza (\*\*\*, \*\* označavaju statistički značajne razlike od  $p \leq 0.001$  i  $p < 0.01$ ).

Genotip	Vitamin C (mg/100 g sveže mase)		Vitamin C (mg/100 g suve mase)	
	Kontrola	Suša	Kontrola	Suša
Ailsa Craig	22,85±1,01	41,98±1,31***	283,14±12,50	339,94±10,58***
<i>flacca</i>	20,10±1,27	30,98±1,3**	203,45±12,85	230,33±9,67**

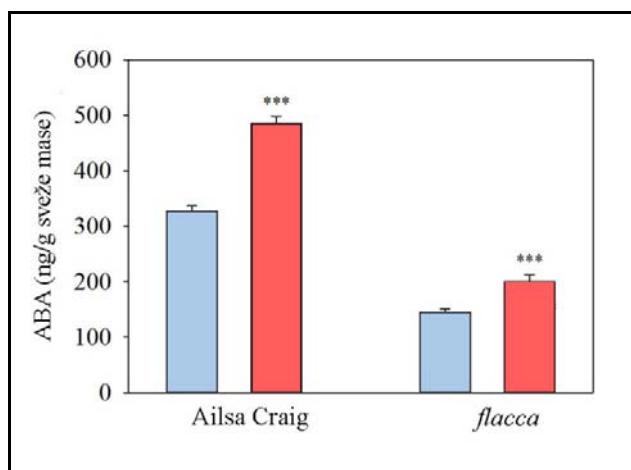
Antioksidativni kapacitet plodova bio je niži u kontrolnim uslovima kod *flacca* mutanta, u odnosu na divlji tip Ailsa Craig za 21% (Tab. 20). U uslovima stresa došlo je do povećanja koje je kod divljeg tipa iznosilo 52% (od 155,98 do 236,43  $\mu\text{mol TEAC}/100$  g sveže mase), a kod genotipa *flacca* 42% (od 122,67 do 173,99  $\mu\text{mol TEAC}/100$  g sveže mase).

**Tabela 20.** Uticaj suše na antioksidativni kapacitet plodova ispitivanih genotipova paradajza (\*\*\*, \*\* označavaju statistički značajne razlike od  $p \leq 0.001$  i  $p < 0.01$ ).

Genotip	Antioksidativni kapacitet ( $\mu\text{mol TEAC}/100$ g sveže mase)	
	Kontrola	Suša
Ailsa Craig	155,98±8,31	236,43±13,28***
<i>flacca</i>	122,67±10,20	173,99±15,47**

### 5.2.7.3. Sadržaj ABA u perikarpu plodovima

Izlaganje biljaka umerenom stresu suše je izazvalo akumulaciju ABA u perikarpu plodova oba analizirana genotipa (Graf. 12). U plodu je pod uticajem umerenog stresa suše došlo do povećanja sadržaja ABA kod divljeg tipa za 49% (od 327,03 do 486 ng/g sveže mase ploda), dok je kod mutanta *flacca* povećanje iznosilo 38% (od 145,04 do 200,57 ng/g sveže mase ploda).



**Grafik 12.** Uticaj suše na sadržaj ABA u perikarpu plodova ispitivanih genotipova paradajza (plavi barovi – kontrola, crveni barovi – suša; \*\*\* označavaju statistički značajne razlike od  $p \leq 0.001$ ).

### 5.2.7.4. Relativne razlike u biohemijskim parametrima plodova između kontrole i tretmana

Analiza relativnih razlika analiziranih biohemijskih parametara izraženih na svežu i suhu masu imala je za cilj da ukaže da li je do promene u uslovima stresa došlo kao rezultat koncentracionog efekta, nastalog usled dehidracije ili je u pitanju metabolička akumulacija jedinjenja (Tab. 21). U uslovima umerenog stresa suše povećan sadržaj ukupnih šećera ( $^{\circ}$ Brix) rezultat je uglavnom koncentracionog efekta kod oba genotipa, pri čemu kod mutanta *flacca* to ne isključuje mogućnost da je došlo i do promena u metabolizmu. Izraženije promene sadržaja organskih kiselina kod oba genotipa na bazi sveže mase pokazuju da je njihov povećan sadržaj u uslovima umerene suše nastao

usled dehidracije, kao rezultat koncentracionog efekta. Kada je reč o likopenu, povećan sadržaj ovog karotenoida kod Ailsa Craig je rezultat koncentracionog efekta (+23,4), dok smanjen sadržaj likopena kod *flacca* mutanta u uslovima suše izražen na svežu (-18,4) i suhu masu (-40,1) ukazuje na više izražen metabolički efekat. Povećanje sadržaja vitamina C u plodovima oba ispitivana genotipa na bazi sveže i suve mase ukazuje na oba efekta, koncentracioni i metabolički efekat, pri čemu je koncentracioni efekat izraženiji (+83,7 za Ailsa Craig i +54,1% za *flacca* mutant).

**Tabela 21.** Relativne razlike između kontrole i tretmana u biohemijskim parametrima plodova u uslovima suše (Relativne razlike = ((Srednja vrednost u suši - Srednja vrednost u kontroli)/Srednja vrednost u kontroli)\*100)). Boldovane vrednosti označavaju statistički značajnu promenu u odnosu na kontrolu.

	Relativne razlike na bazi sveže mase		Relativne razlike na bazi suve mase	
	Ailsa Craig	<i>flacca</i>	Ailsa Craig	<i>flacca</i>
Ukupni šećeri (°Brix)	<b>+26,8</b>	<b>+9,7</b>	<b>-17,3</b>	<b>-19,3</b>
Organske kiseline	<b>+50</b>	<b>+47,4</b>	-0,59	<b>+8,3</b>
Likopen	<b>+23,4</b>	<b>-18,4</b>	<b>-19,5</b>	<b>-40,1</b>
Vitamin C	<b>+83,7</b>	<b>+54,1</b>	<b>+20,1</b>	<b>+13,2</b>



### 5.3. Ogled jake suše sa Ailsa Craig i *flacca* genotipovima

#### 5.3.1. Provodljivost stoma i ukupni vodni potencijal listova

Provodljivost stoma i ukupan vodni potencijal listova su značajni pokazatelji vodnog režima biljaka. U našem ogledu nisu primećene značajne statističke razlike u provodljivosti stoma i ukupnom vodnom potencijalu listova u kontrolnim uslovima između genotipova, dok su u uslovima stresa uočene genotipske razlike u reakcijama biljaka (Tab. 22). Jak stres suše je izazvao opadanje provodljivosti stoma kod oba genotipa, a veći stepen promene od 83% je uočen kod divljeg tipa (sa 961,25 na 160,37 mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) nego kod mutanta *flacca*, kod koga je stepen redukcije iznosio 62% (sa 1038,75 na 396,87 mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>).

U uslovima optimalnog navodnjavanja nisu primećene razlike u vrednostima ukupnog vodnog potencijala između divljeg tipa i mutanta *flacca* (Tab. 22). Prosečna vrednost ukupnog vodnog potencijala je iznosila -0,32 MPa u kontrolnim uslovima. Jak stres suše je kod oba genotipa izazvao smanjenje potencijala u listovima, pri čemu je ta promena bila izraženija kod mutanta *flacca* (sa -0,33 na -1,55 MPa) u odnosu na divlji tip (sa -0,31 na -1,22 MPa). Kod mutanta *flacca* je promena potencijala pod dejstvom stresa suše iznosila 1,22 MPa, dok je kod divljeg tipa zabeležena manja promena, od 0,91 MPa.

**Tabela 22.** Uticaj suše na provodljivost stoma i ukupni vodni potencijal listova kod ispitivanih genotipova paradajza (\*\*\*) označavaju statistički značajne razlike od p≤0.001).

Genotip	Provodljivost stoma (mmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )		Ukupan vodni potencijal (-MPa)	
	Kontrola	Suša	Kontrola	Suša
Ailsa Craig	961,25±7,66	160,37±2,05***	-0,31±0,01	-1,22±0,04***
<i>flacca</i>	1038,75±7,66	396,87±7,84***	-0,33±0,01	-1,55±0,06***

### 5.3.2. Specifična lisna površina i sadržaj suve materije u listovima

Ispitivanje specifične lisne površine je ukazalo na genotipske razlike u vrednostima ovog parametra u kontrolnim uslovima, kao i pod dejstvom jake suše (Tab. 23). Mutant *flacca* je u kontrolnim uslovima imao nižu specifičnu površinu za 32% u odnosu na divlji tip. Jak stepen stresa je izazvao redukciju specifične lisne površine kod oba ispitivana genotipa. Kod mutanta *flacca* stepen redukcije je iznosio 27% (sa 108,54 na 78,84 cm<sup>2</sup>/g), dok je kod divljeg tipa zabeležen manji stepen promene od 15% (sa 158,83 na 135,58 cm<sup>2</sup>/g). U uslovima stresa specifična lisna površina je bila niža kod mutanta *flacca* za 42% u odnosu na divlji tip.

Pored specifične lisne površine, praćene su u ogledu i promene u sadržaju suve materije u listovima (Tab. 23). U uslovima optimalne snabdevenosti vodom nisu zabeležene genotipske razlike u pogledu sadržaja suve materije u listovima, ali su se razlike ispoljile u reakcijama genotipova na jaku sušu. Jak stres suše je izazvao povećanje sadržaja suve materije u listovima kod genotipa *flacca* za 49% (sa 10,39 na 15,53%), dok je kod Ailsa Craig stepen promene iznosio 36% (sa 9,93 na 13,51%). U uslovima stresa listovi mutanta *flacca* su imali za 15% viši sadržaj suve materije u odnosu na divlji tip.

**Tabela 23.** Uticaj suše na specifičnu lisnu površinu i sadržaj suve materije u listovima kod ispitivanih genotipova paradajza (\*\*\*) označavaju statistički značajne razlike od  $p \leq 0.001$ ).

Genotip	Specifična lisna površina - SLA (cm <sup>2</sup> /g)		Sadržaj suve materije u listovima (%)	
	Kontrola	Suša	Kontrola	Suša
Ailsa Craig	158,83±9,66	135,58±10,12***	9,93±0,17	13,51±0,33***
<i>flacca</i>	108,54±3,71	78,84±2,76***	10,39±0,19	15,53±0,30***

### 5.3.3. Sadržaj hlorofila u listovima

Analiza sadržaja hlorofila u listovima u različitim fazama razvića ploda je pokazala da je u fazi antezisa količina hlorofila po jedinici površine bila približno jednaka kod oba ispitivana genotipa i iznosila je prosečno 32,88  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Sa napredovanjem razvića ploda, u kontrolnim uslovima je došlo do akumulacije hlorofila u listovima, sa tim što je stepen akumulacije bio izraženiji kod genotipa *flacca* (Tab. 24). Tako je u kontrolnim uslovima u tzv. turning fazi sazrevanja ploda kod genotipa *flacca* akumulirano 23% više hlorofila u listovima nego kod divljeg tipa. Pod uticajem stresa suše, došlo je do opadanja sadržaja hlorofila kod oba ispitivana genotipa. U fazi zelenog ploda, sadržaj hlorofila je bio redukovano kod genotipa Ailsa Craig za 6% (sa 36,15 na 33,90  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), a kod genotipa *flacca* za 15% (sa 41,23 na 35,14  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ). Sa daljim sazrevanjem ploda (u tzv. turning fazi) stepen redukcije sadržaja hlorofila je bio još izraženiji i kod divljeg tipa je iznosio 12% (sa 39,70 na 34,88  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), a kod mutanta *flacca* 19% (sa 48,88 na 39,49  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ).

**Tabela 24.** Uticaj suše na sadržaj hlorofila u listovima u fazi antezisa druge cvetne grane, fazi zelenog ploda i tzv. turning fazi kod genotipova Ailsa Craig i *flacca* (\*\*\*,\*\*, \* označavaju statistički značajne razlike od  $p \leq 0.001$ ,  $p \leq 0.01$  i  $p < 0.05$ ).

Genotipovi	Faza razvića ploda	Sadržaj hlorofila ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	
		Kontrola	Suša
Ailsa Craig	Antezis	32,58±0,87	
	Zeleni plod	36,15±0,92	33,90±0,81*
	Turning faza	39,70±0,84	34,88±0,71*
<i>flacca</i>	Antezis	33,18±0,70	
	Zeleni plod	41,23±0,93	35,14±0,87**
	Turning faza	48,88±0,63	39,49±0,95***

### 5.3.4. Vitamin C i ukupni antioksidativni kapacitet u listovima

Ispitivanja sadržaja vitamina C u listovima su pokazala da postoje razlike između genotipova u pogledu sadržaja ove bitne komponente antioksidativne odbrane u listovima (Tab. 25). U uslovima optimalnog navodnjavanja količina vitamina C je bila za 21% viša u listovima divljeg tipa nego u listovima mutanta *flacca*. Genotipske razlike su se ispoljile i u uslovima suše. Pod dejstvom jakog stresa suše došlo je do povećane akumulacije vitamina C u listovima divljeg tipa za 21% (sa 70,53 na 85,47 mg/100 g sveže mase), dok je kod genotipa *flacca* detektovano povećanje od 9% (sa 55,39 na 60,61 mg/100 g sveže mase). U uslovima stresa koncentracija vitamina C je bila viša za 29% u listovima Ailsa Craig u odnosu na mutant *flacca*.

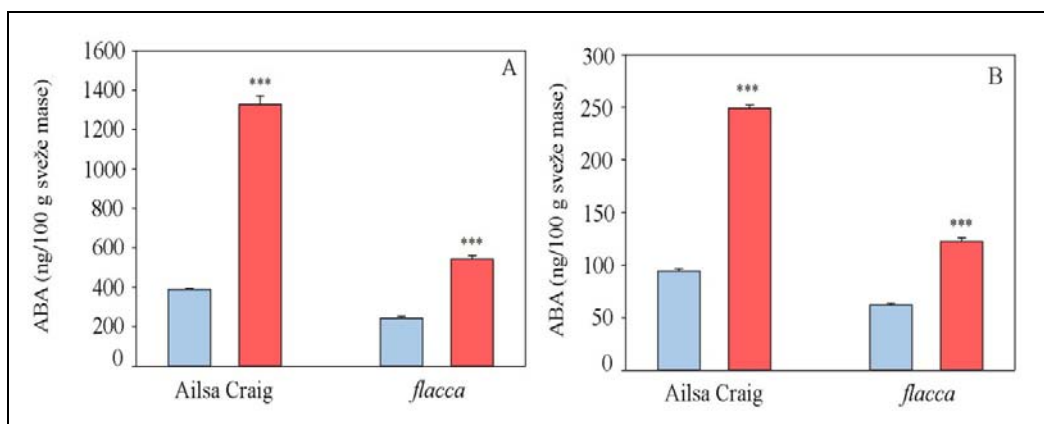
Pored vitamina C, meren je i ukupan antioksidativni kapacitet u listovima (Tab. 25). Za razliku od sadržaja vitamina C, u kontrolnim uslovima nisu uočene genotipske razlike u antioksidativnom kapacitetu. Primena jake suše je izazvala povećanje ovog parametra. Antioksidativni kapacitet je bio povećan u listovima Ailsa Craig pod dejstvom jake suše za 51% (sa 79,66 na 120,45  $\mu\text{mol TEAC}/100$  g sveže mase), a kod mutanta *flacca* je stepen povećanja iznosio 30% (sa 81,96 na 106,70  $\mu\text{mol TEAC}/100$  g sveže mase). Primena jake suše je rezultovala višim antioksidativnim kapacitetom listova divljeg tipa za 11% u odnosu na listove *flacca*.

**Tabela 25.** Uticaj suše na sadržaj vitamina C i antioksidativni kapacitet u listovima ispitivanih genotipova paradajza (\*\*\*) označavaju statistički značajne razlike od  $p < 0.001$ ).

Genotip	Vitamin C (mg/100 g sveže mase)		Antioksidativni kapacitet ( $\mu\text{mol TEAC}/100$ g sveže mase)	
	Kontrola	Suša	Kontrola	Suša
Ailsa Craig	70,53 $\pm$ 2,35	85,47 $\pm$ 2,30***	79,66 $\pm$ 1,93	120,45 $\pm$ 1,60***
<i>flacca</i>	55,39 $\pm$ 1,35	60,61 $\pm$ 1,57	81,96 $\pm$ 1,56	106,70 $\pm$ 2,11***

### 5.3.5. Sadržaj ABA u listovima i korenovima

Ispitivanja koncentracije ABA u listovima i korenovima su pokazala da postoje karakteristične genotipske razlike u sadržaju abscisinske kiseline (Graf. 13). ABA-deficitarni mutant *flacca* je imao u kontrolnim uslovima za 37% manji sadržaj ABA u listovima i 34% manje ABA u korenovima u poređenju sa genotipom Ailsa Craig. Jak stres suše je izazvao povećanje sadržaja ABA u listovima divljeg tipa za 242% (sa 387,93 na 1326,99 ng/g sveže mase), a u listovima mutanta *flacca* je stepen povećanja iznosio 123% (sa 243,36 na 541,70 ng/g sveže mase). U korenovima je usled dejstva jakog stepena stresa došlo do porasta sadržaja ABA kod Ailsa Craig za 164% (sa 94,3 na 248,96 ng/g sveže mase), dok je kod mutanta *flacca* koncentracija ABA povećana za 89% (sa 64,91 na 122,72 ng/g sveže mase).



**Grafik 13.** Uticaj suše na sadržaj ABA u listovima (A) i korenovima (B) ispitivanih genotipova paradajza (plavi barovi – kontrola, crveni barovi – suša; \*\*\* označavaju statistički značajne razlike od  $p \leq 0.001$ ).

### 5.3.6. Sveža masa, prečnik ploda i procenat suve materije u plodovima

Ispitivani genotipovi su se razlikovali u pogledu veličine (prečnika) plodova, sveže mase i sadržaja suve materije u plodovima, kako u kontrolnim uslovima, tako i u uslovima stresa suše (Tab. 26). Plodovi divljeg tipa Ailsa Craig su u uslovima optimalne snabdevenosti vodom imali za 44% veću svežu masu ploda i za 23% veći prečnik plodova u odnosu na *flacca* mutant. Sveža masa ploda je kod genotipa Ailsa Craig

redukovana pod dejstvom jake suše za 50% (sa 22,47 na 11,22 g), dok je kod genotipa *flacca* zabeležen stepen redukcije od 40% (sa 12,62 na 7,62 g). Jak stres suše je izazvao porast sadržaja suve materije u plodovima Ailsa Craig za 55% (sa 8,37 na 12,99%), odnosno 45% kod mutanta *flacca* (sa 9,12 na 13,20%). Prečnik ploda je u uslovima stresa suše bio redukovano za 35% kod divljeg tipa (sa 31,70 na 20,70 mm), a kod mutanta *flacca* je stepen redukcije iznosio 14% (sa 24,40 na 21,00 mm).

**Tabela 26.** Uticaj suše na svežu masu plodova, sadržaj suve materije i prečnik plodova kod ispitivanih genotipova paradajza (\*\*\*, \* označavaju statistički značajne razlike od  $p \leq 0.001$  i  $p < 0.05$ ).

Genotip	Sveža masa ploda (g)		Sadržaj suve materije u plodovima (%)		Prečnik ploda (mm)	
	Kontrola	Suša	Kontrola	Suša	Kontrola	Suša
Ailsa Craig	22,47±0,36	11,22±0,23***	8,37±0,14	12,99±0,31***	31,70±0,31	20,70±0,60***
<i>flacca</i>	12,62±0,35	7,62±0,39***	9,12±0,17	13,20±0,20***	24,40±0,33	21,00±0,62*

### 5.3.7. Biohemijski sastav plodova

#### 5.3.7.1. Sadržaj rastvorljivih materija i organskih kiselina u plodovima

U ogledu suše jakog intenziteta nije došlo do faze potpunog sazrevanja plodova zbog pojave venjenja biljaka, pa su stoga parametri kvaliteta plodova određivani kada je plod bio u tzv. turning fazi. Ispitivanja sadržaja rastvorljivih materija koja se odnose na ukupan sadržaj šećera predstavljenih u obliku °Brix vrednosti nisu pokazala da postoje značajne genotipske razlike u kontrolnim uslovima (Tab. 27). Jak stres suše je uticao na povećanje ukupnog sadržaja šećera izraženih na svežu masu kod oba ispitivana genotipa. Kod divljeg tipa je uticaj suše bio izraženiji, pa je ukupan sadržaj šećera povećan za 41% u odnosu na kontrolu (sa 6,50 na 9,15 °Brix), dok je kod mutanta *flacca* stepen povećanja iznosio 25% (sa 5,75 na 7,20 °Brix). Ukupan sadržaj šećera kod mutanta *flacca* je u uslovima suše bio za 21% niži nego u plodovima divljeg tipa. Međutim, kada su rezultati izraženi na suhu masu, jaka suša je uticala negativno na

ukupan sadržaj šećera. Kod divljeg tipa došlo je do redukcije za 9% (sa 77,66 na 70,44 °Brix), a kod mutanta *flacca* za 13% (sa 63,05 na 54,55 °Brix).

**Tabela 27.** Uticaj suše na sadržaj ukupnih šećera (°Brix) u plodovima ispitivanih genotipova paradajza izražen na svežu i suhu masu (\*\*\*, \*\*, \* označavaju statistički značajne razlike od  $p \leq 0.001$ ,  $p < 0.01$  i  $p < 0.05$ ).

Genotip	Sadržaj ukupnih šećera (°Brix) izražen na svežu masu		Sadržaj ukupnih šećera (°Brix) izražen na suhu masu	
	Kontrola	Suša	Kontrola	Suša
Ailsa Craig	6,50±0,14	9,15±0,22***	77,66±0,87	70,44±1,25*
<i>flacca</i>	5,75±0,15	7,20±0,21**	63,05±0,88	54,55±0,79**

**Tabela 28.** Uticaj suše na sadržaj organskih kiselina izražen na svežu i suhu masu u plodovima ispitivanih genotipova paradajza (\*\*\*, \* označavaju statistički značajne razlike od  $p \leq 0.001$  i  $p < 0.05$ ).

Genotip	Organske kiseline (% ekvivalenta limunske kiseline na svežu masu)		Organske kiseline (% ekvivalenta limunske kiseline na suhu masu)	
	Kontrola	Suša	Kontrola	Suša
Ailsa Craig	0,13±0,005	0,20±0,006***	1,55±0,06	1,54±0,05
<i>flacca</i>	0,15±0,006	0,24±0,007***	1,64±0,04	1,82±0,05*

Analiza sadržaja organskih kiselina u plodovima na bazi sveže mase je pokazala da ne postoje velike razlike u sadržaju ovih jedinjenja između genotipova, kako u kontrolnim, tako i u uslovima stresa. Sadržaj organskih kiselina u plodovima predstavljen je kao % ekvivalenta limunske kiseline. Ukoliko se organske kiseline izraze na svežu masu, evidentno je da je jak stres izazvao porast sadržaja kiselina u plodovima kod oba ispitivana genotipa. Kod divljeg tipa sadržaj kiselina je bio povećan za 54% (sa 0,13 na 0,20% ekvivalenta limunske kiseline na svežu masu), dok je kod mutanta *flacca* stepen povećanja iznosio 60% (sa 0,15 na 0,24% ekvivalenta limunske kiseline na svežu masu). Kada se rezultati izraze na bazi suve mase, kod genotipa Ailsa Craig nije primećena statistički značajna promena sadržaja organskih kiselina, dok je u plodovima

genotipa *flacca* zabeležen procenat promene od 11% (sa 1,64 na 1,82 % ekvivalenta limunske kiseline na suhu masu).

### 5.3.7.2. Sadržaj likopena, vitamina C i ukupan antioksidativni kapacitet plodova

Ispitivanja ukupnog antioksidativnog kapaciteta, kao i vitamina C i likopena su pokazala da postoje specifične reakcije ispitivanih genotipova paradajza u uslovima jakog stresa suše (Tab. 29, 30, 21). U kontrolnim uslovima sadržaj likopena je bio za 28% veći u plodovima mutanta *flacca* nego u plodovima divljeg tipa. Jak stepen stresa suše je na različite načine uticao na ispitivane genotipove (Tab. 29). U plodovima genotipa Ailsa Craig stres je izazvao povećanje sadržaja likopena za 37% (sa 27,74 na 38,12 mg/kg sveže mase), dok je kod genotipa *flacca* sadržaj likopena bio redukovana za 27% (sa 35,60 na 26,05 mg/kg sveže mase). Ukoliko se uporede rezultati izraženi na suhu masu plodova, sadržaj likopena je redukovana kod oba analizirana genotipa usled dejstva jakog stresa suše. U plodovima Ailsa Craig likopen izražen na suhu masu je redukovana za 11% (sa 331,42 na 293,46 mg/kg suve mase), dok je kod mutanta *flacca* stepen redukcije iznosio 49% (sa 390,35 na 197,35 mg/kg suve mase).

**Tabela 29.** Uticaj suše na sadržaj likopena u plodovima ispitivanih genotipova paradajza (\*\*\*, \*\* označavaju statistički značajne razlike od  $p \leq 0.001$  i  $p < 0.01$ ).

Genotip	Likopen (mg/kg sveže mase)		Likopen (mg/kg suve mase)	
	Kontrola	Suša	Kontrola	Suša
Ailsa Craig	27,74±0,94	38,12±1,39***	331,42±11,29	293,46±10,56**
<i>flacca</i>	35,60±1,18	26,05±0,50**	390,35±8,92	197,35±3,77***

Analiza sadržaja vitamina C u plodovima nije pokazala da postoje značajne genotipske razlike u kontrolnim uslovima. Kod oba analizirana genotipa su uočene velike promene u sadržaju vitamina C pod dejstvom jake suše (Tab. 30). Stres suše je izazvao povećanje sadržaja vitamina C u plodovima divljeg tipa za 245% (sa 15,78 na 54,42 mg/100 g sveže mase), dok je kod genotipa *flacca* povećanje iznosilo 178% (sa 17,28 na 48,07 mg/100 g sveže mase). Ukoliko se rezultati izraze na suhu masu, povećanje u uslovima suše je bilo više izraženo u plodovima divljeg tipa i iznosilo je 122% (sa 188,54 na



418,42 mg/100 g suve mase), dok je u plodovima *flacca* utvrđeno povećanje od 92% (sa 189,47 na 364,15 mg/100 g suve mase).

**Tabela 30.** Uticaj suše na sadržaj vitamina C u plodovima ispitivanih genotipova paradajza (\*\*\*, \*\* označavaju statistički značajne razlike od  $p \leq 0.001$  i  $p < 0.01$ ).

Genotip	Vitamin C (mg/100 g sveže mase)		Vitamin C (mg/100 g suve mase)	
	Kontrola	Suša	Kontrola	Suša
Ailsa Craig	15,78±0,24	54,42±1,41***	188,54±2,86	418,94±11,37***
<i>flacca</i>	17,28±1,43	48,07±0,96***	189,47±8,75	364,16±7,29**

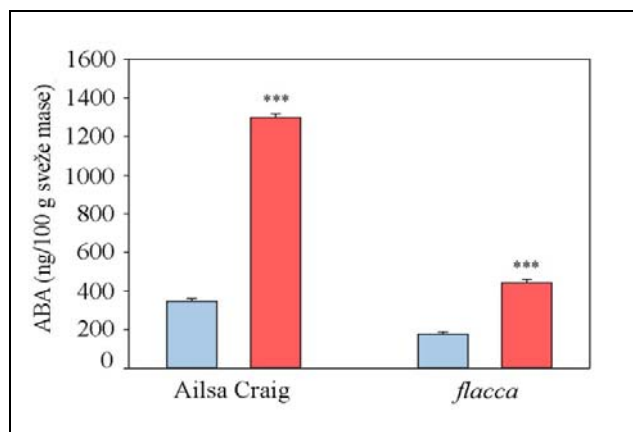
Ukupan antioksidativni kapacitet plodova u uslovima optimalne snabdevenosti vodom je statistički značajano bio različit između genotipova i kod mutanta *flacca* je bio niži za 22% u odnosu na plodove Ailsa Craig. Jaka suša je, kao i u slučaju vitamina C, izazvala povećanje antioksidativnog kapaciteta kod oba ispitivana genotipa (Tab. 31). Efekat suše je bio izraženiji kod plodova divljeg tipa, gde je povećanje iznosilo 109% (sa 132,78 na 277,85  $\mu\text{mol TEAC}/100$  g sveže mase), dok je kod *flacca* plodova došlo do promene za 65% (sa 102,96 na 170,37  $\mu\text{mol TEAC}/100$  g sveže mase). Ukupan antioksidativni kapacitet je u uslovima jakog stresa suše bio za 37% niži kod mutanta *flacca* nego kod divljeg tipa.

**Tabela 31.** Uticaj suše na antioksidativni kapacitet plodova ispitivanih genotipova paradajza (\*\*\*, \*\* označavaju statistički značajne razlike od  $p \leq 0.001$  i  $p < 0.01$ ).

Genotip	Antioksidativni kapacitet ( $\mu\text{mol TEAC}/100$ g sveže mase)	
	Kontrola	Suša
Ailsa Craig	132,78±10,32	277,85±12,28***
<i>flacca</i>	102,96±8,75	170,37±13,69**

### 5.3.7.3. Sadržaj ABA u perikarpu plodovima

Ispitivanja sadržaja ABA u perikarpu plodova su pokazala da postoje karakteristične genotipske razlike u sadržaju ovog biljnog hormona (Graf. 14). ABA-deficitaran mutant *flacca* je imao u kontrolnim uslovima 48% manje ABA u perikarpu ploda u poređenju sa divljim tipom. Jaka suša je uticala na povećanje sadržaja ABA u perikarpu oba ispitivana genotipa. U plodovima Ailsa Craig došlo je do povećanja od 276% u uslovima suše (sa 344,95 na 1296,21 ng/g sveže mase ploda), dok je kod mutanta *flacca* sadržaj ABA povećan za 150% (sa 177,91 na 444,03 ng/g sveže mase ploda). I pored značajnog povećanja sadržaja ABA u perikarpu u uslovima suše, plodovi mutanta *flacca* su i u uslovima stresa imali za 66% manje ABA nego plodovi Ailsa Craig.



**Grafik 14.** Uticaj suše na sadržaj ABA u perikarpu plodova ispitivanih genotipova paradajza (plavi barovi – kontrola, crveni barovi – suša; \*\*\* označavaju statistički značajne razlike od  $p \leq 0.001$ ).

### 5.3.7.4. Relativne razlike u biohemijskim parametrima plodova između kontrole i tretmana

Analiza relativnih razlika u promeni ispitivanih parametara u plodovima u uslovima suše omogućava određivanje koncentracionog i metaboličkog efekta na akumulaciju šećera, kiselina, likopena i vitamina C u plodovima (Tab. 32). Relativne razlike u promeni ukupnih šećera u uslovima jakog stresa suše predstavljene na bazi sveže mase ukazuju na izražen koncentracioni efekat u plodovima kod oba genotipa (Ailsa Craig

+40,8 i *flacca* +25,2). Koncentracioni efekat je i glavni uzrok porasta sadržaja organskih kiselina u plodovima. Sadržaj likopena u plodovima Ailsa Craig u uslovima suše je povećan usled koncentracionog efekta (+37,4). Za razliku od divljeg tipa, kod mutanta *flacca* smanjenje sadržaja likopena na bazi sveže (-26,8) i suve mase (-49,4) ukazuje na metaboličke promene u sintezi likopena. U uslovima jakog stresa suše vitamin C se pojačano akumulirao u plodovima i na bazi sveže i suve mase, kod oba ispitivana genotipa. Ovako veliko povećanje sadržaja vitamina C u plodovima je posledica i koncentracionog i metaboličkog efekta.

**Tabela 32.** Relativne razlike između kontrole i tretmana u biohemijskim parametrima plodova u uslovima suše (Relativne razlike = ((Srednja vrednost u suši - Srednja vrednost u kontroli)/Srednja vrednost u kontroli)\*100)). Boldovane vrednosti označavaju statistički značajnu promenu u odnosu na kontrolu.

	Relativne razlike na bazi sveže mase		Relativne razlike na bazi suve mase	
	Ailsa Craig	<i>flacca</i>	Ailsa Craig	<i>flacca</i>
Ukupni šećeri (°Brix)	<b>+40,8</b>	<b>+25,2</b>	<b>-9,3</b>	<b>-13,5</b>
Organske kislone	<b>+53,8</b>	<b>+60</b>	-0,6	<b>+10,9</b>
Likopen	<b>+37,4</b>	<b>-26,8</b>	<b>-11,4</b>	<b>-49,4</b>
Vitamin C	<b>+244,9</b>	<b>+178,2</b>	<b>+122,2</b>	<b>+92,2</b>

## 6. DISKUSIJA

### 6.1. Oglad sa MAGIC TOM populacijom

#### 6.1.1. Efekat suše na listove

##### 6.1.1.1. Fiziološki procesi

Suša kao stresni faktor utiče na različite fiziološke procese i u vegetativnim i u reproduktivnim organima biljaka (posebno plodovima). Kod listova kao vegetativnih organa suša utiče na njihovo rastenje (ćelijsku deobu i rastenje ćelija), aktivaciju enzima i hormona, reakcije stoma i fotosintezu, kao i druge metaboličke procese. Smanjenje sadržaja vode u zemljištu, koje nastaje u uslovima suše, dovodi do opadanja vodnog potencijala biljaka i turgora, koji kao hidraulički signali izazivaju reakcije zatvaranja stoma koje se odražavaju na fotosintezu, a što za posledicu ima redukciju rastjenja listova. Pored pada turgora, kao "hidrauličnog signala" suše, inhibicija rastjenja može nastati i u uslovima kada nema promena u parametrima vodnog režima biljaka (Mingo et al., 2003; Davies et al., 2005), odnosno kao rezultat postojanja tzv. "nehidrauličnih" (hemijskih) signala. Hemijski signali se često označavaju i kao signali "ranog upozoravanja". Njihova sinteza je indukovana sušom na nivou korenovog sistema i oni se transportuju ksilemskim putem do nadzemnih organa gde kontrolišu procese rastjenja biljaka u uslovima nedostatka vode u zemljištu (Schachtman i Goodger, 2008). Najznačajniji hemijski signal je fitohormon abscisinska kiselina (ABA) čije su reakcije na nivou biljaka dobro proučene, ali to mogu biti i citokinini, prekursor u sintezi etilena, jonski sastav i promena pH ksilema i apoplasta, kao i sadržaj šećera u ksilemskom soku (Pe' rez-Alfocea et al., 2011). Istraživanja reakcija biljaka u uslovima suše pokazuju da se često javlja i interakcija hemijskog i hidrauličnog signala, u reakcijama stoma i regulaciji rastjenja listova (Jia i Zhang, 2008; Tardieu et al., 2011).

Ispitivanja provodljivosti stoma i vodnog potencijala biljaka kao parametara vodnog režima u ovoj disertaciji ukazala su na specifične genotipske reakcije biljaka paradajza. Rezultati merenja provodljivosti stoma su pokazali da su se ispitivani genotipovi paradajza razlikovali u otvorenosti stoma i u uslovima kontrole (optimalnog navodnjavanja), pa je najveća provodljivost stoma utvrđena kod genotipa sa krupnim

plodovima Levovil, a najmanja kod čeri genotipa Plovdiv. U uslovima umerenog stresa suše došlo je do redukcije provodljivosti stoma kod svih analiziranih genotipova paradajza (Tab. 1), pri čemu je stepen redukcije bio više izražen kod genotipova sa krupnim plodovima i to prosečno za 65% (Levovil i LA0147), što ukazuje na njihov veći stepen osetljivosti u odnosu na čeri genotipove, kod kojih je promena bila manja i iznosila je prosečno 44% (Plovdiv i LA1420).

Ispitivanja efekata umerene suše i rehidracije na čeri genotipove MAGIC TOM populacije (Plovdiv i LA1420), u različitim fazama razvića njihovih plodova (Ripoll et al., 2016b) su pokazala da se najveće promene provodljivosti stoma javljaju u fazi sazrevanja ploda. Takođe, ovi rezultati su pokazali i da su ispitivani tretmani suše i rehidracije imali veći efekat na reakcije stoma (redukciju njihove provodljivosti) nego na promene vodnog potencijala.

Promene potencijala vode koje su utvrđene tokom našeg eksperimenta nisu ukazale na značajne genotipske razlike, a sama promena u vrednostima potencijala vode od *cca* 0,80 MPa u odnosu na kontrolu, ukazuje da su ispitivane biljke bile izložene umerenom stresu suše (Hsiao, 1973). Odsustvo razlika između ispitivanih genotipova u vrednostima vodnog potencijala listova indirektno ukazuje i na to da se razlike u reakcijama stoma koje su se ispoljile ne mogu objasniti hidrauličnim, već hemijskim signalima. Literaturni podaci pokazuju da je povećana akumulacija ABA u ksilemu i listovima u korelaciji sa zatvaranjem stoma kod mnogih biljnih vrsta, uključujući i paradajz (Dodd, 2007; Thompson et al., 2007), kao i da je provodljivost stoma mnogo osetljivija na promene koncentracije ksilemske ABA u odnosu na akumulaciju ABA u listovima (Tardieu et al., 2015). Iako u našem ogledu nisu merene koncentracije ksilemske ABA, redukcija provodljivosti stoma kod ispitivanih genotipova se može povezati sa promenama u sadržaju abscisinske kiseline u listovima, a na to indirektno ukazuje i veća akumulacija ABA koja je utvrđena kod genotipova sa krupnim plodovima (Levovil i LA0147).

Među najosetljivijim procesima na dejstvo stresa suše je proces rastenja listova. Efekat suše na rasteenje ostvaruje se inhibicijom ćelijskih deoba i/ili elongacije ćelija što kasnije za posledicu ima smanjenje lisne površine. U uslovima suše dolazi i do promena i drugih parametara koji reflektuju odnos lisne površine i suve mase, kao što je specifična lisna površina (Rigano et al., 2016). Specifična lisna površina (SLA) je jedan

od indirektnih pokazatelja koji može da ukaže na izloženost biljaka stresu suše. Smanjenje specifične lisne površine, koje nastaje u uslovima stresa suše, može biti rezultat smanjenja površine lista, ali i promena u suvoj masi listova, što je posledica različite osetljivosti rastenja listova i procesa fotosinteze na vodni deficit. Rastenje listova je osetljivije na vodni deficit u odnosu na proces fotosinteze (Tardieu et al., 2011), pa su niže vrednosti SLA obično povezane sa redukcijom brzine rastenja listova. Redukcija veličine ćelija i površine listova može biti praćena povećanjem suve materije listova, tako da deblji listovi obično imaju i veću gustinu hlorofila i proteina po jedinici lisne površine, a što može da ukaže i na potencijalno veći kapacitet ovih listova za fotosintezu (Poorter et al., 2009).

Rezultati našeg oglada su pokazali da je dugotrajna umerena suša izazvala statistički značajnu redukciju specifične lisne površine kod svih analiziranih genotipova, pri čemu su utvrđene razlike u stepenu redukcije između genotipova sa krupnim i sitnim (čeri) plodovima (Tab. 2). Redukcija specifične lisne površine je bila izraženija kod čeri genotipova, prosečno za 34% (Plovdiva i LA1420), dok je procenat redukcije kod genotipova sa krupnim plodovima (Levovil i LA0147) bio znatno manji i iznosio je prosečno 12%. Iako genotipske razlike u sadržaju suve materije nisu bile u tolikoj meri izražene, kao u slučaju SLA, smanjenje specifične lisne površine je bilo povezano sa povećanim sadržajem suve materije u listovima svih ispitivanih genotipova, koji se kretao od 15 do 22% (Tab. 2). Povećanje sadržaja suve materije listova ukazuje na manji procenat vode u tkivima lista, a što može biti posledica gubitka vode, dehidracije koje nastaje usled promena u gradijentu vodnog potencijala i provodljivosti stoma. Takođe može biti i rezultat procesa osmotskog prilagođavanja i promena biohemijskog sastava listova, koje nastaju kao rezultat akumulacije šećera i organskih kiselina.

Rezultati Ripoll et al. (2016b) su pokazali da su reakcije čeri genotipova MAGIC TOM populacije na umereni vodni deficit praćen periodima rehidracije u različitim fazama razvića plodova paradajza, bile genotipski specifične. Takođe, primena stresa suše u fazi ćelijske deobe je imala najveći efekat na redukciju specifične lisne površine. Do tog efekta je došlo usled povećanja suve mase listova, odnosno sadržaja suve materije listova. Ripoll et al. (2016a) su pokazali da su promene sadržaja suve materije listova kod istih genotipova bile manje izražene u uslovima kada se intenzitet stresa

suše, koji je bio praćen sukcesivnim periodima rehidracije, postepeno povećavao tokom razvića plodova. Ovi rezultati ukazuju i da ova promena suve mase može biti i rezultat prilagođavanja biljaka uslovima stresa nakon perioda oporavka.

Fluorescencija hlorofila i njeni parametri se najčešće koriste kao indikatori stepena stresa suše i njenog efekta na proces fotosinteze, sa aspekta efikasnosti fotosistema (Kautz et al., 2014). Stres suše može izazvati oštećenja fotosintetskog aparata i promene u sadržaju fotosintetskih pigmenata. Ova oštećenja se mogu najefikasnije meriti preko  $F_v/F_m$  odnosa, koji reflektuje promene u maksimalnoj fotohemijskoj efikasnosti fotosistema II koje se odražavaju i na asimilaciju  $CO_2$ , pa su zbog toga bitne i sa aspekta produktivnosti biljaka (Farooq et al., 2009). Smanjenje  $F_v/F_m$  u uslovima suše je rezultat osetljivosti fotosistema II na uslove vodnog deficita. Niske vrednosti ovog parametra ukazuju na oštećenja u elektron-transportnom sistemu koje vode promenama u efikasnosti fotosistema II i produkciji NADPH koji se koristi u metaboličkim procesima fotosinteze (Sivakumar et al., 2017).

Rezultati naših ispitivanja su pokazali da je stres suše izazvao smanjenje maksimalne fotohemijske efikasnosti fotosistema II, odnosno redukciju odnosa  $F_v/F_m$  kod svih ispitivanih genotipova (Graf. 1). Redukcija je bila manje izražena kod čeri genotipova, prosečno za 12%, dok je kod genotipova sa krupnim plodovima stepen redukcije bio veći, i to kod Levovila 25%, a kod genotipa LA0147 19%. Literaturni podaci pokazuju da u uslovima stresa suše dolazi do opadanja vrednosti  $F_v/F_m$  kod paradajza (Mishra et al., 2012; Nankishore i Farrell, 2016; Sivakumar et al., 2017). Promena  $F_v/F_m$  odnosa može zavistiti od genotipa, faze razvića biljke, kao i stepena stresa kojem su biljke izložene. Rezultati Yuan et al. (2016) su pokazali da je kod primene različitog stepena stresa suše (blag, umeren i jak stres) i u različitim fazama razvića paradajza (od klijanja do sazrevanja plodova) stepen redukcije  $F_v/F_m$  odnosa bio izraženiji sa povećanjem stepena stresa, usled pojave fotoinhibicije i produkcije reaktivnih oblika kiseonika. Drugi autori su pokazali i specifične genotipske razlike u reakcijama biljaka u uslovima stresa (Rigano et al., 2016; Ripoll et al., 2016a). U ogledima kombinovanih efekata različitog stepena stresa suše i rehidracije biljaka, Ripoll et al. (2016a) su pokazali da je u listovima ispitivanih genotipova MAGIC TOM populacije došlo do opadanja maksimalne fotohemijske efikasnosti fotosistema II ( $F_v/F_m$ ), pri čemu je reakcija bila manje izražena kod čeri genotipova. Ti rezultati

indirektno ukazuju i na manju osetljivost fotosintetskog aparata i fotosistema II na sušu čeri genotipova u odnosu na genotipove sa krupnim plodovima. Manja redukcija  $F_v/F_m$  parametra, koja je uočena kod čeri genotipova i u našem ogledu, može indirektno da ukaže i na aktivaciju antioksidativnog sistema u listovima, odnosno povećani sadržaj antioksidanata koji sa svoje strane mogu da učestvuju u detoksikaciji ROS formi. To je od posebnog značaja jer se ROS forme pojavljuju u procesu fotoinhibicije. Prisustvo fotoprotektivnih mehanizama omogućava da se u uslovima stresa očuva efikasnost primarnih fotohemijskih procesa, kao i da se omogući nastavak metaboličkih reakcija u fotosintezi koje vode kontinualnom obezbeđenju asimilata i održanju “source-sink” odnosa (Osorio et al., 2014).

U našem ogledu biljke su gajene u uslovima staklenika gde je tokom letnjih meseci pored efekta suše mogao biti i zastupljen prolazni efekat povišenih temperatura, koji je mogao dodatno dovesti do redukcije ovog parametra fluorescencije. Ispitivanja efekata kombinovane primene stresa suše i visoke temperature kod različitih genotipova paradajza su pokazala da je stres suše imao dominantan efekat na reakcije rasteња i proces fotosinteze u odnosu na temperaturni stres (Zhou et al., 2017). To ukazuje da su fiziološki odgovori paradajza na kombinovani stres visoke temperature i suše prevashodno pod kontrolom ograničenog snabdevanja biljaka vodom.

#### ***6.1.1.2. Biohemijski i metabolički procesi***

Rastvorljivi šećeri (heksoze i saharoza), kao i organske kiseline su značajna osmotska jedinjenja koja svojom akumulacijom učestvuju u adaptivnim odgovorima biljaka na stres suše. Brojna istraživanja efekata vodnog deficita na metabolizam ugljenih hidrata pokazuju da u tim uslovima dolazi do promene nivoa ugljenih hidrata u listovima, gde se količina saharoze i heksoze povećava, dok se nivo skroba obično smanjuje. To ukazuje na indukciju hidrolize skroba i sintezu saharoze. U literaturi postoje podaci koji pokazuju da stres suše izaziva akumulaciju šećera i organskih kiselina u listovima paradajza (Torrecillas et al., 1995), ali i da jak stres suše može u listovima izazvati i opadanje sadržaja šećera (Al Hassan et al., 2015). Naši rezultati su pokazali da je u uslovima dugotrajnog, umerenog stresa suše došlo do povećanja sadržaja heksoza (glukoze i fruktoze), i to posebno izraženog kod čeri genotipova, koji su i u kontroli imali više vrednosti u odnosu na genotipove sa krupnim plodovima (Tab. 3). Stres suše



doveo je i do povećanja sadržaja saharoze kod svih genotipova, pri čemu su čeri genotipovi imali viši sadržaj u odnosu na genotipove sa krupnim plodovima, a posebno genotip Plovdiv kod koga je došlo do povećanja za 48%.

Poređenja rezultata za koncentraciju heksoza (glukoza + fruktoza) i rezultata za koncentraciju saharoze su pokazala da su heksoze bili preovlađujući šećeri u listovima kod svih genotipova. Njihova koncentracija je bila značajno veća (u proseku 9 do 10 puta) u odnosu na koncentracije saharoze koje su utvrđene u oba tretmana (Tab. 3). Trend povećanja sadržaja šećera heksoza u listovima je utvrđen i u ogledu Ripoll et al. (2016a), u kome je primenjen različit stepen stresa suše praćen periodima rehidracije, ali je procenat povećanja sadržaja glukoze bio znatno niži od promena koje su utvrđene u našem ogledu. Za razliku od ogleda Ripoll et al. (2016a) efekat stresa suše je duže trajao u našem ogledu i nije bio praćen sa rehidracijom biljaka izloženih suši. Povećan sadržaj saharoze može biti rezultat ne samo efekta dehidracije, nego i aktivne metaboličke akumulacije, a koja je uslovljena promenom aktivnosti enzima uključenih u njen metabolizam, kao što su saharozna sintetaza i invertaza. Tako je povećanje sadržaja saharoze kod paradajza u uslovima suše bilo uslovljeno izraženom inhibicijom aktivnosti enzima invertaze (Albacete et al., 2015). Analiza sadržaja šećera u listovima i korenovima paradajza izloženog suši pokazala je da je došlo do značajnog povećanja sadržaja saharoze u listovima, uz istovremeno opadanje sadržaja skroba (Moles et al., 2018), koje omogućava obezbeđivanje prostih ugljenih hidrata kao osnovnih komponenti u procesu osmotskog prilagođavanja. Pored toga povećan sadržaj saharoze u listovima paradajza u uslovima stresa suše može da bude i rezultat i smanjene potrebe “sink” organa (organa primaoca asimilata) za saharozom (Zhou et al., 2017).

Manji sadržaj heksoza i saharoze u listovima koji je utvrđen kod genotipova sa krupnim plodovima (Levovil i LA0147) može se indirektno povezati i sa reakcijama stoma i procesom fotosinteze. Poznato je da redukcija provodljivosti stoma dovodi do ograničene difuzije CO<sub>2</sub> u listu i smanjenja neto fotosinteze, što utiče na produkciju asimilata i kasnije na njihov transport u plodove (Chaves et al., 2003). Veći stepen redukcije provodljivosti stoma, kao i značajne promene u aktivnosti fotosistema indirektno mogu da ukažu da je efekat suše kod ovih genotipova bio izraženiji na proces fotosinteze u odnosu na čeri genotipove. Veća akumulacija heksoza, a posebno glukoze koja je utvrđena kod čeri genotipova Plovdiv (67%) i LA1420 (161%) u uslovima

stresa, kao i manji procenat promene provodljivosti stoma u odnosu na krupne plodove, indirektno ukazuju na sposobnost čeri genotipova da i u uslovima stresa omoguće fiksaciju ugljenika i proces fotosinteze, koji je neophodan za održanje gradijenta “source-sink” organa (davaoca-primaoca asimilata) i za rastenje ćelija plodova.

Ispitivanja sadržaja organskih kiselina u listovima u kontrolnim uslovima su pokazala da genotipovi paradajza koji su srodni divljim rođacima (LA1420 i LA0147) imaju veći sadržaj limunske kiseline u odnosu na ostale genotipove (Tab. 4). U uslovima umerenog stresa suše došlo je do povećanja sadržaja limunske i jabučne kiseline u listovima kod svih genotipova paradajza, pri čemu je povećanje sadržaja limunske kiseline statistički bilo značajno samo kod genotipova sa krupnim plodovima (Levovila - za 90% i LA0147 - za 26%). Sadržaj jabučne kiseline je najviše bio povećan kod genotipa sa krupnim plodovima za 164% (Levovil), a najmanje kod čeri genotipa Plovdiv za 37% (Tab.4). Rezultati Ripoll et al. (2016a) su pokazali da je smena perioda rehidratacije i različitog stepena suše kod genotipova paradajza MAGIC TOM populacije dovela do smanjenja sadržaja limunske kiseline, ali i do povećanja sadržaja jabučne kiseline kod većine ispitivanih genotipova. U istom ogledu je utvrđena i pojačana akumulacija skroba u listovima kod svih genotipova, što je prema Chaves et al. (2009) takođe jedan od potencijalnih indikatora koji ukazuje da su biljke bile izložene stresu suše.

Pored šećera i akumulacija organskih kiselina u listovima može imati ulogu u osmotskom prilagođavanju koje omogućava održanje procesa fotosinteze i rastenje biljaka u uslovima nedostatka vode (Farooq et al., 2009). Iako naša istraživanja nisu uključila merenja osmotskog potencijala i turgora, koja bi ukazala na postojanje osmoregulacije, akumulacija ovih komponenti indirektno pokazuje da povećan sadržaj heksoza, kao i saharoze kao osmotski aktivnih jedinjenja ima primarnu ulogu kod čeri genotipova, dok je u slučaju genotipova sa krupnim plodovima primarna akumulacija organskih kiselina. Ove značajne komponente primarnog metabolizma i njihova akumulacija na nivou lista imaju važnu ulogu u obezbeđivanju kontinuiranog toka asimilata između listova kao “source” i plodova kao “sink” organa (Lemoine et al., 2013).

U uslovima abiotskog stresa, uključujući i stres suše često dolazi do produkcije reaktivnih kiseoničkih formi (ROS), odnosno pojave oksidativnog stresa. Ovaj stres

može da se javi i tokom različitih faza razvića listova, pa tako u mladim listovima on može biti posledica formiranja fotosintetskog aparata, dok je u starim listovima posledica procesa koji prate senescenciju. Pojava reaktivnih formi kiseonika kojima se karakteriše pojava oksidativnog stresa može nastati u uslovima stresa suše ili visoke temperature. U tim uslovima hlorofil u stanju tripleta reaguje sa kiseonikom stvarajući slobodne radikale ili može da dođe do promena u transportu elektrona između fotosistema, a koje vode Mehlerovoj reakciji i nastanku vodonik peroksida (Muñoz i Munné-Bosch, 2018).

Kao reakcija na pojavu ROS-a u listovima u uslovima suše dolazi do aktivacije odbrambenog sistema biljke koji je povezan za povećanjem antioksidativne aktivnosti, kao i sadržaja vitamina C koji je jedan od najznačajnijih antioksidanata. Naši rezultati su pokazali da je umereni stres suše izazvao povećanje ukupnog antioksidativnog kapaciteta listova, svih ispitivanih genotipova (Tab. 5), ali je stepen promene bio izraženiji kod čeri genotipova (Plovdiv i LA1420) gde je prosečno došlo do povećanja za 64%, za razliku od genotipova sa krupnim plodovima kod kojih je utvrđeno povećanje od *cca* 30%. Povećanje sadržaja vitamina C u uslovima suše bilo je značajno samo kod čeri genotipova, i to Plovdiva za 11%, a kod LA1420 za 63%.

Rezultati niza autora su pokazali da u uslovima stresa suše kod paradajza dolazi do povećanja ukupne antioksidativne aktivnosti, kao i do povećanja aktivnosti antioksidativnih enzima, posebno superoksid dismutaze, koja ima važnu ulogu u detoksikaciji ROS-a (Zgallai et al., 2006; Yuan et al., 2016). Pored povećanja antioksidativne aktivnosti u listovima paradajza koji je izložen stresu suše mogu se detektovati i veće koncentracije malondialdehida, produkta lipidne peroksidacije membrana, a koji je specifičan indikator prisustva oksidativnog stresa (Al Hassan et al., 2015). Gong et al. (2010) su transkripcionom genskom analizom tolerantnih genotipova paradajza na sušu ukazali na značajne promene u ekspresiji gena u uslovima suše, a koji su u vezi sa enzimima koju učestvuju u otklanjanju ROS-a. Ispitivanja tolerantnih i osetljivih genotipova paradajza na sušu su takođe pokazala da visoko tolerantni genotipovi imaju bolje razvijen antioksidativni sistem, posebno u slučajevima jakog stresa suše (Rigano et al., 2016). Literaturni podaci ukazuju i da sadržaj askorbinske kiseline može biti u korelaciji sa otpornošću na sušu (Zhang et al., 2011), tako da povećanje sadržaja vitamina C koje je utvrđeno kod čeri genotipova u našem ogledu

može predstavljati specifičan adaptivni odgovor ovih biljaka na uslove suše. Kod genotipova paradajza otpornih na sušu prisutna je i pojačana sposobnost recikliranja vitamina C, što povećava kapacitet biljke za odbranu od ROS-a i obezbeđuje ćelijama povoljan redoks status u uslovima stresa (Sánchez-Rodríguez et al., 2010).

Poznato je da u uslovima stresa suše dolazi i do akumulacije “stres” hormona abscisinske kiseline koji ima važnu ulogu u regulaciji mnogih fizioloških procesa, a posebno u adaptivnim reakcijama biljaka (Sah et al., 2016). Efekti ABA se ispoljavaju na niz fizioloških procesa kao što su: regulacija otvorenosti stoma, redukcija rastezanja nadzemnih organa, indukcija rastezanja i razvića korena i povećanje njegove hidraulične provodljivosti i dr. Takođe, ABA utiče i na ispoljavanje specifičnih adaptivnih reakcija biljaka na uslove vodnog deficita (Vishwakarma et al., 2017).

Akumulacija ABA u različitim vegetativnim organima je jedan od odgovora biljaka na uslove vodnog deficita, koja takođe ima važnu ulogu u prenosu signala na relaciji koren list (Manzi et al., 2015). Porast koncentracije ABA u uslovima suše utvrđen je i na nivou listova i korena paradajza (Moles et al., 2018). Analiza sadržaja abscisinske kiseline u listovima u našem ogledu je pokazala da je stres suše indukovao akumulaciju ABA u listovima svih analiziranih genotipova (Graf. 2). Tako je veća akumulacija ABA u listovima utvrđena kod genotipova sa krupnim plodovima (Levovil za 48% i LA0147 za 37%) u poređenju sa čeri genotipovima (Plovdiv za 12% i LA1420 za 17%). Povećan sadržaj ABA u listovima koji je utvrđen kod različitih kultura u uslovima suše, uključujući i paradajz utiče na regulaciju otvorenosti stoma (Thompson et al., 2007). S obzirom da je kod genotipova sa krupnim plodovima (Levovil i LA0147) utvrđena i veća redukcija provodljivosti stoma, promene na nivou stoma se mogu povezati sa većom akumulacijom ABA u listovima koja je utvrđena kod ovih genotipova.

## **6.1.2. Efekat suše na plodove**

### ***6.1.2.1. Fiziološki procesi i primarni metaboliti***

Uticaj suše na rast i prinos paradajza u velikoj meri zavisi od stadijuma razvića u kome se biljka nalazi u trenutku dejstva vodnog deficita (Chen et al., 2015). Pojava suše u reproduktivnoj fazi dovodi do smanjenja prinosa usled smanjenog dotoka vode u

plodove (Kuşçu et al., 2014). Smanjenje veličine plodova i prinosa biljaka zavisi od intenziteta suše. Uzroci mogu biti različiti, uključujući abnormalno razviće plodnika usled dejstva suše, smanjeni transport vode i asimilata u plodove (Muller et al., 2011), pojačanu abortivnost cvetova (Sivakumar i Srividhya, 2016), kao i ograničenje produkcije asimilata u plodovima (Chaves et al., 2009).

Naša istraživanja su pokazala da je umereni stres suše imao negativan efekat na svežu masu ploda kod svih analiziranih genotipova iz MAGIC TOM populacije (Tab. 6). Ovi rezultati su takođe pokazali da je suva masa porasla kod svih plodova, dok je redukcija prečnika plodova statistički bila značajna samo kod čeri genotipova, Plovdiva (za 25%) i LA1420 (za 28%). Poređenje efekta stresa kod ispitivanih genotipova je pokazalo da je stres bio više izražen kod čeri nego kod krupnih plodova, a slična promena je utvrđena i kada je u pitanju veličina ploda. Iako je suša indukovala povećanje sadržaja suve materije kod svih analiziranih genotipova, nisu otkrivene statistički značajne razlike između čeri i krupnih plodova.

Efekat suše na ove parametre plodova može da zavisi od faze razvića ploda u kojoj je primenjen deficit vode. Ripoll et al. (2016a) su ispitivali efekte nekoliko perioda kratkog vodnog deficita sa epizodama rehidracije u različitim fazama razvića ploda paradajza (deoba ćelija, ekspanzija ćelija i sazrevanje), pri čemu je utvrđeno da sveža masa ploda i veličina nisu bili redukovani kod genotipova Plovdiv i LA1420 u uslovima vodnog deficita. Ova promena je utvrđena nezavisno od faze razvića u kojoj su bili izloženi stresu suše. Međutim, to nije potvrđeno u našem eksperimentu. Pošto je vodni deficit u našem eksperimentu primenjen od faze antezisa (uključujući faze deobe i ekspanzije ćelija) i prolongiran do stadijuma pune zrelosti ploda, očekivano je bilo da će suša imati veći efekat na rast i razviće ploda. Iako ti parametri nisu mereni, transport vode tokom ekspanzije ploda i “source/sink” razlike u snabdevanju i potrebama za ugljenikom (Ripoll et al., 2016a) mogu biti uzrok različitih rezultata dobijenih prilikom primene dužeg i kraćeg umerenog vodnog deficita.

Komponente primarnog metabolizma kao što su rastvorljivi šećeri (saharoza, glukoza i fruktoza), kao i organske kiseline (primarno limunska i jabučna) predstavljaju glavna jedinjenja koja se akumuliraju u plodovima paradajza i istovremeno determinišu ukus plodova. Količina ovih najzastupljenijih rastvorljivih šećera definiše slatkoću i utiče na tržišnu vrednost plodova. Rezultati niza autora pokazuju da stres suše utiče na

akumulaciju šećera u plodu paradajza zavisno od genotipa i faze u kojoj je biljka izložena stresu suše (Bertin et al., 2000; Nahar i Gretzmacher, 2002; Chen et al., 2013).

Mnogi rezultati su pokazali da sadržaj ugljenih hidrata varira zavisno od uslova sredine koji deluju na biljke u fazama razvoja i sazrevanja plodova, ali zavisi i od genotipa. Visoka akumulacija heksoza i saharoze je karakteristična za domestikovani paradajz (*Solanum lycopersicum*), dok neke divlje vrste paradajza, kao što je *S. chmielewskii*, akumuliraju uglavnom saharozu (Yelle et al., 1991). Eksperimenti Ripoll et al. (2016a) su pokazali da ukupan sadržaj šećera kod većine od 8 analiziranih genotipova MAGIC TOM populacije nije bio izmenjen u uslovima ponovljenih epizoda suše praćenih epizodama rehidracije. Naši rezultati su pokazali da pri optimalnim uslovima vodnog režima krupniji plodovi nisu akumulirali visoke koncentracije saharoze, ali je sadržaj saharoze povećan u uslovima vodnog deficita (Graf. 4C). Ovi rezultati takođe ukazuju da umeren i dugotrajan vodni deficit može unaprediti kvalitet krupnih plodova zahvaljujući pojačanoj akumulaciji saharoze, koja najviše doprinosi percepciji slatkog ukusa ploda.

Regulacija transporta ugljenika između biljnih organa je blisko povezana sa transportom asimilata i metabolizmom šećera, i to prvenstveno saharoze i heksoza između lista i plodova i održanjem “source-sink” odnosa (Osorio et al., 2014). U uslovima suše može doći i do promena na relaciji source-sink organa koji može dovesti i do inhibicije rastenja ploda (Muller et al., 2011). U našim istraživanjima veća akumulacija i heksoza i saharoze, u plodovima u odnosu na listove MAGIC TOM populacije, indirektno ukazuje na transport šećera između listova (“source” organa) i plodova (“sink” organa).

Međutim, u razmatranjima koncentracije šećera treba uzeti u obzir i da fotosinteza plodova može da ima određeno učešće u obezbeđivanju plodova asimilatima (Lytovchenko et al., 2011). Kod ispitivanih biljaka MAGIC TOM populacije u uslovima stresa je primećena manja redukcija sveže mase i prečnika krupnih plodova u odnosu na čeri plodove, kao i veći stepen akumulacije saharoze, što potencijalno doprinosi osmotskom prilagođavanju koje je neophodno za održavanje rasta ploda u uslovima vodnog deficita (Ripoll et al., 2016b). Variranje u sadržaju saharoze i heksoze je blisko povezano i sa aktivnošću enzima uključenih u metabolizam saharoze - invertazom i saharoznom sintetazom (Carrari et al., 2007). Ruan et al. (2010) i Beckles

et al. (2012) su utvrdili da ovi enzimi imaju ključnu ulogu u metabolizmu šećera i da je njihova aktivnost bitna za reakcije biljaka u stresnim uslovima spoljašnje sredine. Iako naša istraživanja nisu uključila merenja aktivnosti ovih enzima, dobijeni rezultati ukazuju da akumulacija saharoze u plodovima paradajza može biti uzrokovana aktivnim metaboličkim procesima. Stoga bi ova akumulacija pod dejstvom umerenog stresa suše, mogla biti indirektno povezana sa promenama u aktivnosti enzima ključnih za metabolizam šećera.

Objašnjenje efekta suše na sadržaj jedinjenja u plodovima takođe zavisi od načina izražavanja koncentracije ispitivanih jedinjenja, koja može biti izražena na bazi sveže ili suve mase. Takav koncept, a u skladu sa rezultatima Ripoll et al. (2016a), prikazan je u Tab. 7, 8, 9. Poređenje vrednosti izraženih na bazi sveže i suve mase u našem ogledu je pokazalo da je sadržaj glukoze statistički značajno povećan na bazi sveže mase, što se može objasniti kao posledica koncentracionog efekta. Sličan trend je pokazala i analiza sadržaja fruktoze, pri čemu je efekat bio izraženiji kod čeri nego kod krupnih plodova. Poređenje sastava heksoznih šećera na bazi sveže i suve mase je takođe pokazalo da duži period suše koji je primenjen u našem ogledu, može da poboljša ukus ploda i da je to ostvareno povećanjem količine glukoze i fruktoze usled koncentracionog efekta. Poređenje sadržaja glukoze i fruktoze izraženih na suhu i svežu masu ukazuje na to da opadanje akumulacije, odnosno metabolizma ovih jedinjenja u uslovima vodnog deficita, može biti kompenzovano koncentracionim efektom (Tab. 7). Sa druge strane, povećanje količine saharoze u uslovima suše, koje je posebno izraženo kod krupnih plodova (Levovil - 528 % i LA0147 - 419%), ukazuje na to da je do tog povećanja došlo kao posledica i koncentracionog i metaboličkog efekta (Tab. 7).

Organske kiseline su bitne i kao osmotska jedinjenja, i kao komponente ukusa ploda. Postoji dosta kontradiktornih rezultata koji se odnose na akumulaciju organskih kiselina u plodovima pod uticajem stresa suše. Sadržaj organskih kiselina kod poljoprivrednih kultura može biti pozitivno korelisan sa optimalnim snabdevanjem biljaka vodom (De la Hera-Orts et al., 2005), ali su zabeleženi i podaci koji ukazuju na negativne korelacije (Kallsen et al., 2011).

Stres suše može da indukuje i pojačanu osmotsku akumulaciju rastvorljivih šećera i organskih kiselina u zrelih plodovima (Etienne et al., 2013). Biohemijska analiza indirektno ukazuje da pojačana akumulacija jabučne i limunske kiseline može

biti rezultat promene u aktivnosti enzima bitnih za metabolizam organskih kiselina. Istraživanja metabolizma tokom procesa sazrevanja ploda su pokazala da je aktivnost enzima bitnih za akumulaciju šećera i limunske kiseline povećana tokom faze sazrevanja ploda (Biais et al., 2014), kao i da promena u metabolizmu organskih kiselina može doći i pod uticajem visoke temperature koja utiče na brzinu procesa glikolize i/ili Krebsovog ciklusa ili aktivnost enzima (Araujo et al., 2012). Veća akumulacija limunske kiseline u plodovima, u odnosu na listove, ne isključuje ni mogućnost transporta ove kiseline iz listova (kao “source” organa) u plodove (kao “sink” organe).

Analiza sadržaja organskih kiselina u našem ogledu i to na bazi suve mase ukazuje na genotipsku specifičnost reakcija paradajza na stres suše. Vodni deficit je uticao na sadržaj limunske kiseline izazivajući njeno povećanje kod svih analiziranih genotipova, ali je efekat bio izraženiji kod krupnih plodova (Graf. 6A), i to kod Levovila (19%), i LA0147 (22%). Značajno veći sadržaj limunske kiseline je utvrđen i na bazi sveže mase kod svih analiziranih genotipova u uslovima suše, a posebno kod krupnijih plodova. To ukazuje da je povećanje bilo uzrokovano i koncentracionim i metaboličkim efektom. U kontrolnim uslovima sadržaj jabučne kiseline je bio viši u krupnim plodovima (Levovil i LA0147). Stres suše je indukovao povećanje količine jabučne kiseline kod svih analiziranih genotipova (Graf. 6B), ali je ovo povećanje bilo statistički značajno samo kod genotipa Plovdiv (za 18%). Na bazi sveže mase, sadržaj jabučne kiseline je bio veći u uslovima suše i taj efekat je bio izraženiji u čeri plodovima, 51% kod Plovdiva i 47% kod LA1420 (Graf. 5B). Analiza naših podataka takođe pokazuje da je povećanje koncentracije jabučne kiseline prvenstveno posledica koncentracionog efekta, dok je kod genotipa Plovdiv bio prisutan i metabolički efekat. Na osnovu ove analize se može zaključiti da je značajno povećanje ukupne količine organskih kiselina kod svih analiziranih genotipova u uslovima stresa suše, nastalo kao posledica i koncentracionog i metaboličkog efekta (Tab. 8).

Ovi rezultati su u skladu sa nekim prethodnim istraživanjima koja su pokazala da stres suše kod paradajza izaziva akumulaciju organskih kiselina, prvenstveno usled povećanja koncentracije jabučne i limunske kiseline (Micallef et al., 1995; Nahar i Gretzmacher, 2002). Literaturni podaci pokazuju takođe da je ukus ploda definisan sadržajem šećera i kiselina i da najboji ukus paradajza karakteriše velika koncentracija



šećera, praćena sa relativno visokom kiselošću (Grierson i Kader, 1986). U našem ogledu je umeren stres indukovao povećanje glukoze i organskih kiselina, pri čemu su ovi rezultati slični rezultatima koje su dobili Nahar et al. (2011), gde je u uslovima stresa suše došlo do poboljšanja kvaliteta plodova putem povećanja koncentracije heksoza i saharoze, kao i jabučne i limunske kiseline.

#### **6.1.2.2. Sekundarni metaboliti i nutritivna vrednost plodova**

Različiti sekundarni metaboliti definišu nutritivnu vrednost, miris i ukus plodova paradajza. U tom smislu posebna pažnja se usmerava na fitonutrijente i njihov uticaj na zdravlje ljudi. Među najzačajnijima metabolitima su karotenoidi, i to likopen koji je blisko povezan sa nutritivnim kvalitetom ploda paradajza. Drugi značajan karotenoid je  $\beta$ -karoten (provitamin A) koji ima manju nutritivnu važnost od likopena, ali zajedno doprinose antioksidativnoj aktivnosti paradajza (Rosales et al., 2011).

Naši rezultati su pokazali da u kontrolnim uslovima čeri plodovi imaju veći sadržaj karotenoida (Plovdiv - 88,43 mg/kg sveže mase i LA1420 - 80,72 mg/kg sveže mase) od krupnih plodova (Levovil - 65,13 mg/kg sveže mase i LA0147 - 48,92 mg/kg sveže mase) (Graf. 7 i 8). Razlike su bile uzrokovane većim koncentracijama likopena i fitoena kod čeri plodova, kako u kontrolnim, tako i u uslovima stresa suše. Vodni deficit je uticao na povećanje koncentracije fitoena, prekursora karotenoida, kod svih analiziranih genotipova paradajza. Ovo povećanje je bilo više izraženo kod čeri genotipova, a posebno kod genotipa LA1420 (za 71%), u poređenju sa genotipovima sa krupnim plodovima. Poređenje rezultata izraženih na svežu i suhu masu, ukazuje da je povećanje fitoena uglavnom bila posledica koncentracionog efekta, sem kod genotipa LA1420, gde su promene bile posledica i metaboličkih procesa (Tab. 9).

Rezultati su pokazali i da je koncentracija likopena genotipski specifična. Stres suše je izazvao povećanje likopena samo kod genotipa LA1420, dok je kod genotipa Levovil primećen suprotan efekat stresa suše na sadržaj likopena. Sličan trend je primećen i analizom sadržaja  $\beta$ -karotena (Graf. 7B). Razlike u sadržaju likopena i  $\beta$ -karotena izraženih na bazi suve mase i pod dejstvom stresa suše kod većine analiziranih genotipova su verovatno rezultat opadanja skladištenja/metabolizma ovih jedinjenja i ova redukcija je kompenzovana koncentracionim efektom. Izuzetak je genotip LA1420, kod koga povećana koncentracija likopena u plodovima na bazi suve mase (13%) i

sveže mase (49%) ukazuje da je velika akumulacija likopena verovatno praćena i metabolićkim promenama. Stres suše je uticao na povećan sadržaj luteina uglavnom zahvaljujući koncentracionom efektu, dok je kod genotipa LA1420 povećanje sadržaja luteina posledica i koncentracionog i metabolićkog efekta (Tab. 9).

Vodni deficit može uticati na sadržaj karotenoida kako negativno (Atkinson et al., 2011), tako i pozitivno (Pernice et al., 2010). Step en i trend uticaja suše na karotenoide zavisi od genotipa i intenziteta primenjenog stresa (Ripoll et al., 2016a). Slično rezultatima drugih autora, analiza karotenoida u našem ogledu je pokazala da je efekat suše na fitonutrijente genotipski specifičan (Graf. 7), kao što je to pokazano i u ogledu suše u kome je sadržaj karotenoida ispitivan kod 15 genotipova paradajza (Schweiggert et al., 2017). Efekat suše je u našem eksperimentu bio više izražen na akumulaciju  $\beta$ -karotena nego na akumulaciju likopena, što može biti posledica uloge karotenoida u biosintezi hormona bitnih za reakcije na stres suše, kao što je abscisinska kiselina (Riggi et al., 2008).

Među ispitivanim genotipovima, prema reakcijama na stres suše, posebno se istakao genotip LA1420 koji je srodan divljim rođacima paradajza *Solanum pimpinellifolium* L. (Ripoll et al., 2015). Kod njega je u uslovima umerenog stresa suše došlo do izražene akumulacije i heksoznih šećera i karotenoida u plodovima u odnosu na druge genotipove, što se odrazilo na poboljšanje njihovog kvaliteta. Slično su pokazala i prethodna ispitivanja sa MAGIC TOM genotipovima u kojima je primenjivan umereni vodni deficit praćen periodima rehidracije u različitim fazama razvića plodova (Ripoll et al., 2016a,b). To sve govori u prilog tome da ovaj genotip ima karakterističan adaptivni odgovor u uslovima vodnog deficita i ukazuju na mogućnost njegovog korišćenja, značajnog i sa aspekta genetičkog diverziteta, u savremenim selekcionim programima paradajza tolerantnih na stres suše.

Plodovi paradajza se karakterišu i visokim antioksidativnim kapacitetom, koji je u korelaciji sa koncentracijama askorbinske kiseline, karotenoida (uglavnom likopena), tokoferola i fenola. Od svih antioksidanasa u biljkama, askorbinska kiselina (vitamin C) ima ključnu ulogu u regulaciji nivoa ROS-a i u zaštiti od različitih stresnih faktora životne sredine (Venkatesh i Park, 2014). Umereni stres u našem eksperimentalnom sistemu je takođe doveo do povećanja askorbinske kiseline u svežoj masi plodova svih analiziranih genotipova (Graf. 9) prvenstveno zahvaljujući koncentracionom efektu,

posebno izraženom kod čeri genotipova, Plovdiv (za 50%) i LA1420 (za 43%), u poređenju sa genotipovima sa krupnim plodovima (povećanje od 12% kod Levovila, odnosno 24% kod LA0147).

Ripoll et al. (2016a) su utvrdili povećanje koncentracije askorbinske kiseline u čeri plodovima paradajza izazvano primenom više ciklusa vodnog deficita (-38, -45 i -55% snadbevanja vodom u odnosu na kontrolu) praćenih periodom rehidracije. Povećan sadržaj askorbinske kiseline je bio posledica prvenstveno koncentracionog efekta. Primenom konstantnog umerenog stresa Ripoll et al. (2016b) su dobili povećanje askorbinske kiseline koje je zavisilo od faze razvića ploda kada je stres primenjen i dužine trajanja stresa. Ovi rezultati ukazuju da primena više ciklusa vodnog deficita ima manje uticaja na sadržaj askorbinske kiseline u odnosu na kontinuiran stres suše. Povećana akumulacija askorbinske kiseline može biti u korelaciji sa otpornošću biljaka na stres suše (Garchery et al., 2013), ali i posledica i sekundarnog oksidativnog stresa (Sánchez-Rodríguez et al., 2010). Pošto je kod svih genotipova analiziranih u našem eksperimentu došlo do povećanja sadržaja askorbinske kiseline na bazi sveže mase, rezultati ukazuju da je ovo povećanje značajno kao deo adaptivnog mehanizma biljke u borbi protiv ROS formi.

Stres suše može uticati na sekundarni metabolizam preko dva interaktivna mehanizma, i to putem promene transporta primarnih metabolita koji su značajni za biosintezu karotenoida i askorbinske kiseline ili preko oksidativnog stresa, koji može uticati na biosintezu antioksidativnih jedinjenja. Oba mehanizma su blisko povezana, s obzirom da akumulacija ugljenih hidrata može uticati na povećanje fotooksidativnog stresa u fotosintetskim organima (Fanciullino et al., 2014). Ispitivanja su pokazala i da je antioksidativni kapacitet plodova paradajza visoko genotipski specifičan (Nour et al., 2015). Sánchez-Rodríguez et al. (2010) su utvrdili visoku antioksidativnu aktivnost kod različitih varijeteta čeri paradajza koja je bila indukovana oksidativnim stresom i to kao posledica umerenog vodnog deficita. Rezultati Rosales et al. (2011) su pokazali da interakcija više faktora sredine spoljašnje sredine (temperature, radijacije i vodnog deficita) izaziva povećanje antioksidativne aktivnosti u plodovima paradajza gajenog u stakleniku u mediteranskom pojasu. Naši rezultati su takođe pokazali da je umereni i dugotrajni stres indukovao povećanje ukupne antioksidativne aktivnosti kod svih analiziranih genotipova (Graf. 10), s tim što je ovaj efekat bio izraženiji kod čeri

genotipova (prosečno 68%) nego kod genotipova sa krupnim plodovima (prosečno 45%). U ogledu sa listovima je dobijena slična promena jer je umereni stres suše izazvao povećanje ukupnog antioksidativnog kapaciteta listova, kao i sadržaja vitamina C kod svih ispitivanih genotipova (Tab. 5), pri čemu je stepen promene bio izraženiji kod čeri genotipova (Plovdiv i LA1420) u odnosu na genotipove sa krupnim plodovima.

Tokom poslednjih faza razvića ploda se pojačava oksidativni stres koji nastaje usled metaboličkih promena koje su povezane sa sazrevanjem plodova. Ispitivanje ekspresije gena divljeg tipa paradajza i mutanata *ripening inhibitor (rin)*, *nonripening (nor)* i *never ripe (Nr)*, kod kojih je došlo do mutacija na genima koji su uključeni u sazrevanje plodova (biosintezu pigmentata i aktivaciju etilena), pokazalo je da mutanti imaju smanjenu sposobnost akumulacija ROS-a u plodovima u poređenju sa divljim tipom (Kumar et al., 2016). Ti rezultati potvrđuju ulogu ROS-a u održavanju redoks stanja ćelija u procesu sazrevanju plodova. Pojava pojačanog oksidativnog stresa može biti povezana i sa stresom suše (Jiménez et al., 2002). U našem istraživanju došlo je do povećanja koncentracije antioksidativnih jedinjenja u uslovima suše, kao što su likopen i  $\beta$ -karoten, posebno kod čeri plodova. Ovo povećanje može biti rezultat oksidativnog stresa i formiranja reaktivnih kiseoničnih formi, pri čemu likopen i  $\beta$ -karoten doprinose antioksidativnom odbrambenom mehanizmu biljaka (Sánchez-Rodríguez et al., 2010). Naši rezultati su takođe pokazali da je u uslovima stresa suše došlo do povećanja koncentracije luteina u plodovima svih analiziranih genotipova. Ovaj karotenoid je najvažniji za odbranu fotosintetskog aparata od oksidativnog stresa, a pojačana sinteza i metabolička konverzija luteina u ksantofil je bitan zaštitni mehanizam protiv reaktivnih kiseoničnih formi indukovanih stresom suše (Rosales et al., 2011). Iako nismo merili aktivnost enzima uključenih u mehanizme uklanjanja ROS-a, povećanje koncentracije neenzimatskih antioksidativnih komponenti ukazuje na prisustvo oksidativnog stresa. Stoga se može pretpostaviti da je oksidativni stres rezultat kombinacije umerenog vodnog deficita i periodičnih epizoda visokih temperatura, kojima su biljke bile izložene tokom rastenja u stakleniku tokom letnjih meseci.

U uslovima stresa suše dolazi i do povećanja sadržaja stres hormona abscisinske kiseline i na nivou plodova. Naši rezultati su pokazali da je u uslovima dugotrajne umerene suše kod svih ispitivanih genotipova došlo do povećanja sadržaja ABA u plodovima, pri čemu je utvrđen veći stepen promene kod čeri genotipova (Plovdiv za

65% i LA1420 za 55%) u odnosu na genotipove sa krupnim plodovima (Levovil za 45%, a LA0147 za 39%). Poređenje povećanja koncentracije ABA na svežu i suhu masu je pokazalo da je kod genotipova sa krupnim plodovima u pitanju koncentracioni efekat, dok su kod čeri genotipova zastupljena oba, koncentracioni i metabolički efekat.

U toku razvića plodova paradajza koncentracija abscisinske kiseline se značajno povećava, posebno u semenima i u perikarpu ploda (Srivastava i Handa, 2005). Uzimajući u obzir inhibitorni efekat koji ABA ima na rastenje, a koji se indirektno ostvaruje supresijom aktivnosti enzima ćelijskog zida i rastenjem zida (Stikić i Jovanović, 2015), veći procenat povećanja koncentracije ABA u uslovima suše u plodovima čeri genotipova uslovalo je i veću redukciju veličine, odnosno prečnika plodova.

ABA ima i značajnu ulogu u generativnoj fazi razvića biljaka kao jedan od ključnih faktora u kontroli sazrevanja i senescencije plodova (Zhang et al., 2009; Leng et al., 2014). Poznato je da ABA reguliše proces sazrevanja plodova tako što indukuje sintezu etilena u fazama pre stadijuma pune zrelosti ploda. Takođe, ona ima i ulogu u akumulaciji komponenti primarnog i sekundarnog metabolizma koji utiču na kvalitet plodova.

Literaturni podaci pokazuju da je ABA kontrolni faktor koji može da utiče na povećanje sadržaja šećera u plodovima paradajza na taj način što povećava ekspresiju gena koji kodiraju vakuolarnu invertazu i saharoznu sintetazu (Bastias et al., 2011). Egzogena primena ABA može da dovede do povećanja sadržaja glukoze i fruktoze, čime se unapređuje ukus plodova paradajza (Barickman et al., 2016). Analiza sadržaja ABA u plodovima MAGIC TOM populacije je pokazala da čeri plodovi pored veće akumulacije ABA, imaju i veću akumulaciju šećera, što ide u prilog tome da metabolička akumulacija ABA može da dovede i do povećanja sadržaja rastvorljivih šećera.

U našem eksperimentu pored povećanog sadržaja šećera, čeri genotipovi imaju i veći sadržaj likopena i  $\beta$ -karotena. Literaturni podaci ukazuju da egzogena primena ABA može da dovede i do povećanja karotenoida (Barickman et al., 2014; Yu et al., 2016). Iako povećanje sadržaja ABA može biti vezano i za akumulaciju karotenoida i promenu boje plodova tokom sazrevanja, a što je uslovljeno i zajedničkim metaboličkim putem ovog hormona i karotenoida, pojedini autori ukazuju i da ABA može i negativno

uticati na sadržaj pigmenata. Tako su ispitivanja ABA-deficitarnog mutanta paradajza *hp3* pokazala da postoji i negativna korelacija sadržaja ABA i likopena (Galpaz et al., 2008).

ABA takođe ima značajnu ulogu u aktivaciji antioksidativnog sistema. Visok sadržaj ABA može da stimuliše stvaranje ROS-a, što posledično dovodi do aktivacije antioksidativnog sistema i indukcije gena vezanih za antioksidativni kapacitet, kao što su superoksid dismutaze (SOD), katalaze (CAT) i askorbat peroksidaze (APX) (Kumar et al., 2014). Povećan antioksidativni kapacitet koji je utvrđen kod čeri genotipova u našem ogledu, može biti uslovljen i povećanim sadržajem ABA, kao posledica stresa suše, ali i oksidativnog stresa koji prati proces sazrevanja plodova. Pored aktivacije antioksidativnog sistema, ABA utiče i na povećanu ekspresiju gena uključenih u biosintezu flavonoida, tako da ona povećanom produkcijom sekundarnih metabolita u plodovima paradajza doprinosi adaptivnom odgovoru biljke na stres (Mou et al., 2015).

## **6.2. Ogledi sa Ailsa Craig i *flacca* mutantom**

Paradajz je poljoprivredna kultura osetljiva na sušu u različitim fazama razvića. Dužina i intenzitet primenjenog vodnog deficita znatno utiču na reakcije biljaka. U ovoj disertaciji je ispitivana otpornost genotipova Ailsa Craig i mutanta *flacca* na različite nivoe stresa suše: umereni i jak stres. Većina literaturnih podataka koji se odnose na otpornost paradajza na sušu je bazirana na ogledima sa primenom kratkotrajnog stresa suše, dok su reakcije dugotrajnog stresa znatno manje poznate, posebno u reproduktivnoj fazi razvića. Stoga je veoma bitno ispitati otpornost biljaka na različite nivoe stresa u pojedinim fazama razvića, a što bi doprinelo boljem razumevanju mehanizama otpornosti biljaka i unapređenju njihove tolerancije na sušu (Fang i Xiong, 2015; Kamanga et al., 2018).

### **6.2.1. Efekat suše na listove**

#### **6.2.1.1. Fiziološki procesi**

Kao pokazatelji vodnog režima u ogledima umerene i jake suše praćene su vrednosti ukupnog vodnog potencijala u listovima, kao i provodljivost stoma. Stepenu redukcije

provodljivosti stoma se odražava na sposobnost biljaka da spreče gubitke vode putem transpiracije, pa je njihova efikasna regulacija primarna za otpornost biljaka na stres suše. Ukupni vodni potencijal lista se odražava na fiziološki status biljke i negativnije vrednosti ukazuju na jači stepen stresa. Oba ova parametra, potencijal vode i provodljivost stominih ćelija, mogu biti korišćena pri selekciji genotipova paradajza otpornih na sušu (Borba et al., 2017). Mnoga istraživanja takođe potvrđuju da u listovima paradajza dolazi do opadanja turgora u ćelijama i do zatvaranja stoma, kao i do opadanja ukupnog vodnog potencijala (Chaves et al., 2009; Calcagno et al., 2011; Moles et al., 2018).

Literaturni podaci o vezi između stepena primenjenog stresa suše i provodljivosti stoma su različiti. Sličan procenat otvorenosti stoma kao u listovima divljeg tipa iz našeg ogleada sa jakim sušom je dobijen i prilikom ispitivanja tri genotipa od strane autora Nankishore i Farrell (2016), ako je primenjen jak stres suše u vegetativnoj fazi. S druge strane ispitivanja primene regulisanog deficita navodnjavanja gde je jedna strana korena optimalno zalivana, a druga strana isušivana na 10% sadržaja vode u zemljištu, dovela je do redukcije provodljivosti stoma kod paradajza za 49-57% (Bogale et al., 2016). Ovi podaci, kao i prethodno navedeni ukazuju da postoji visoka genotipska specifičnost u pogledu otvorenosti stoma, kako u kontrolnim uslovima, tako i u uslovima stresa suše.

U našim istraživanjima kod oba analizirana genotipa došlo je do opadanja provodljivosti stoma u uslovima umerene i jake suše u odnosu na kontrolne vrednosti (Tab.11 i 22). Rezultati su takođe pokazali i veću sposobnost genotipa Ailsa Craig da u uslovima i umerenog i jakog stresa redukuje provodljivost stoma (za 52% i 83%) u poređenju sa mutantom *flacca* (za 33% i 62%), odnosno da se kao posledica održi ukupan vodni potencijal listova višim kod Ailsa Craig (-0,81 MPa i -1,22 MPa) u odnosu na *flacca* (-1,05 MPa i -1,55MPa).

Istraživanja Merilo et al. (2017) su pokazala da ABA-deficitarni mutanti imaju inicijalno višu provodljivost stoma u odnosu na provodljivost stoma divljeg tipa, čak i u uslovima optimalne vlažnosti supstrata u kome su gajene biljke (70-80% maksimalnog vodnog kapaciteta). Dodd et al. (2009) su utvrdili da se listovi mutanta *flacca* odlikuju nižim ukupnim vodnim potencijalom, kao i višim nivoom transpiracije i otvorenijim stomama. Razlika u rezultatima naših ogleada u odnosu na literaturne podatke može biti

posledica različitih fenofaza u kojima su istraživanja realizovana. Dok se literaturni podaci uglavnom baziraju na ispitivanju biljaka u ranim vegetativnim fazama, ogled umerene suše u našem eksperimentu je realizovan do faze pune zrelosti plodova druge cvetne grane, a u jakoj suši do tzv. turning faze u sazrevanju plodova. Tokom napredovanja fenoloških faza kod paradajza dolazi do povećanja nivoa transpiracije i otvorenosti stoma. Povećanje nivoa transpiracije je neophodno da bi se ostvario gradijent vodnog potencijala, zahvaljujući kome je omogućen transport materija od organa davaoca do organa primaoca (plodova). Takođe, otvorenost stoma obezbeđuje razmenu gasova i održanje nivoa fotosinteze koja je potrebna za sintezu fotoasimilata koji se potom usmeravaju i u plodove.

Ispitivanja Tamburino et al. (2017) dejstva jakog stresa suše na vegetativnu fazu razvića paradajza obustavljanjem navodnjavanja, a nakon toga primene rehidracije pokazala su drastično opadanje provodljivosti stoma, koje je bilo praćeno pojačanom akumulacijom ABA i prolina u listovima ispitivanog genotipa. Muñoz-Espinoza et al. (2015) su merili relativan sadržaj vode u listovima Ailsa Craig i *flacca* i zaključili da je genotip *flacca* posebno pogođen dehidracijom, jer je imao 20% manje vode u odnosu na genotip Ailsa Craig, 6 sati nakon presađivanja u suvi perlit. Rezultati merenja potencijala vode u našim ogledima, takođe potvrđuju da Ailsa Craig, zahvaljujući efikasnijoj kontroli otvorenosti stoma, ima veći kapacitet da reguliše vodni status u uslovima stresa suše od *flacca*. U umerenoj i jakoj suši promena potencijala vode u odnosu na kontrolne vrednosti je bila mnogo manja kod divljeg tipa (za 0,47 MPa i 0,97 MPa) nego kod *flacca* (0,72 MPa i 1,22 MPa). Razlike u provodljivosti stoma u uslovima stresa su rezultat smanjene sinteze ABA kod genotipa *flacca* koja je uslovljena promenama u aktivnosti enzima ABA-aldehid oksidaze, do koje dolazi kao posledica neaktivne MoCo sulfuraze (Sagi et al., 1999). Smanjena sinteza ovog biljnog hormona se odražava na reakcije stoma kod genotipa *flacca* u uslovima stresa suše. Međutim, folijarna aplikacija ABA ili potapanje drški listova u rastvor ABA može da koriguje reakcije stoma i da izazive njihovo zatvaranje kod ovog mutanta (Sagi et al., 1999).

Reakcije stominih ćelija na ABA predstavljaju reakcije na tzv. hemijske signale suše. Sem ovog biljnog hormona, kao hemijski signali mogu delovati i citokinini, promene pH ksilema i apoplasta, kao i u sadržaju šećera u ksilemu. Metaboliti koji deluju kao hemijski signali stresa suše se uglavnom sintetišu u korenu, odakle se



transportuju ksilemom do listova, gde utiču na zatvaranje stoma (Wilkinson i Davies, 2002). Hemijski signali deluju na zatvaranje stoma i u interakciji sa hidrauličnim signalima. Hidraulični signali nastaju kao posledica opadanja količine vode koja je dostupna korenovom sistemu, što dovodi do opadanja potencijala turgora u ćelijama lista i zatvaranja stoma. Pored smanjenja koncentracije ABA, i poremećaj transporta ovog hormona izaziva promene u reakcijama stominih ćelija. Naši rezultati pokazuju da se stome genotipa *flacca* ipak zatvaraju u određenoj meri. Ispitivanja Prokić (2009) su pokazala da stome kod *flacca* slabije reaguju na hemijske signale (ABA, pH), koje suša u ranoj vegetativnoj fazi indukuje u njihovim korenovima u odnosu na stome Ailsa Craig. Poređenja promena potencijala vode i stepena otvorenosti stoma u našim ogleđima umerene i jake suše su pokazala da su razlike u vrednostima potencijala vode kod *flacca*, u odnosu na divlji tip, posledica veće otvorenosti stominih ćelija, koje su uslovljene i razlikom u koncentraciji ABA u listovima ovog genotipa (Graf. 11A i 13A).

Merenja provodljivosti stoma u oba ogleđa umerene suše (ogled iz staklenika - MAGIC TOM i ogled iz fitokomore - Ailsa Craig i *flacca*), pokazala su da se genotipovi paradajza razlikuju u provodljivosti stoma u uslovima optimalnog navodnjavanja (Tab. 1 i 11), kao i da postoje sličnosti između Ailsa Craig i genotipa Levovil, sa krupnim plodovima. Stepem opadanja provodljivosti stoma u umerenoj suši se kod genotipova MAGIC TOM populacije i Ailsa Craig kretao u rangu od 40-68%, dok je promena potencijala vode bila nešto veća kod genotipova MAGIC TOM populacije u odnosu na Ailsa Craig i *flacca*. Kod *flacca* biljaka je utvrđena najmanja promena provodljivosti stoma i najveći pad potencijala vode u odnosu na druge genotipove, a što je nastalo kao rezultat smanjenog kapaciteta ovog genotipa da sintetiše ABA (Graf.11) .

Pored koncentracije ABA, na reakcije stoma utiče i etilen, odnosno balans u produkciji etilena i sadržaja ABA. Veza između ABA i etilena je pokazana i time što povećanje ABA na nivou korena dovodi do promene u produkciji etilena kod mutanta *flacca* (Dodd et al., 2009). ABA ograničava produkciju etilena i time sprečava otvaranje stoma koje je indukovano etilenom, kao što visoke koncentracije etilena inibiraju ABA-indukovano zatvaranje stoma (Arve i Torre, 2015). Porast ABA koji je prisutan kod mutanata može biti posledica i porasta koncentracije ROS-a u uslovima stresa. Istraživanja su pokazala da reaktivne kiseonične forme (ROS) mogu neenzimatskim

putem izazvati konverziju ABA prekursora u ABA (McAdam et al., 2017) i na taj način uticati na povećanu akumulaciju ovog hormona.

Jedan od prvih efekata suše na rastenje vegetativnih organa je redukcija rastenja listova i lisne površine. Rezultati niza autora su pokazali da pod dejstvom stresa suše dolazi do smanjenja ukupne lisne površine i specifične lisne površine (Torrecillas et al., 1995; Rigano et al., 2016; Pataine i Saita, 2015), bez obzira da li je primenjen jak ili umeren stres. Ukoliko je suša praćena periodima oporavka, nakon perioda rehidratacije kod pojedinih genotipova je moguće da dođe do uspostavljanja normalnog rasta lista i dostizanja lisne površine koja je prisutna i u kontroli (Calcagno et al., 2011).

Rezultati naših merenja su pokazali da je u kontrolnim uslovima SLA u ogledu sa umerenom sušom bila viša nego kod kontrolnih biljaka iz jake suše, kao i da je pod dejstvom umerenog stresa suše došlo je do opadanja SLA kod oba ispitivana genotipa (Tab.12), a koje je bilo izraženije kod Ailsa Craig (26%) u odnosu na genotip *flacca* (16%). Sa pojačanjem stepena stresa, utvrđena je manja redukcija SLA kod divljeg tipa (15%), ali značajno veća redukcija od 27% kod mutanta *flacca* (Tab. 23). Razlike u dobijenim vrednostima SLA mogu biti uslovljene i dužinom ogleda koja je uticala na razliku u površini i masi listova, s obzirom da se ogled sa umerenom sušom završio u fazi zrelog ploda, dok je ogled sa jakom sušom završen ranije, u fazi početne akumulacije likopena u plodovima (tzv. turning stage). Sličan opseg promena specifične lisne površine u uslovima umerene suše utvrđen je u ogledu sa genotipovima MAGIC TOM populacije. Stepen redukcije SLA je takođe bio genotipski specifičan i najniže vrednosti su zabeležene u kontrolnim uslovima kod genotipa *flacca*, a u uslovima stresa kod čeri genotipa LA1420.

Smanjenje SLA u uslovima stresa suše može biti uslovljeno redukcijom lisne površine ili suve mase listova. Literaturni podaci pokazuju da su reakcije biljaka paradajza vrlo specifične, i da u uslovima umerenog stresa suše kod pojedinih genotipova paradajza, ne dolazi do statistički značajnog opadanja suve biomase i površine lista (Bsoul et al., 2016), dok primena jačeg stresa suše izaziva redukciju specifične lisne površine (Pokluda et al., 2010). Promene u strukturi i masi lista nastaju usled promene u fazi ekspanzije ćelija, usled čega slojevi tkiva postaju deblji, uz istovremeno smanjenje interćelijskih prostora. Faza ćelijske ekspanzije je zavisna od visine turgora u ćelijama. Iako u našem ogledu nisu vršena merenja turgora, može se

pretpostaviti da je kod genotipa *flacca* u uslovima stresa, usled veće otvorenosti stominih ćelija, koja je bila uzrokovana manjim koncentracijama ABA, došlo do opadanja turgora, a što je zatim uticalo na fazu elongacije i rasteenje listova. Takođe, niz rezultata iz literature pokazuje da je površina *flacca* listova, od koje zavisi i SLA, manja i u uslovima optimalne vlažnosti supstrata u odnosu na divlji tip i do toga dolazi usled manjeg rasta i pojave kovrdžanja listova (Dodd et al., 2009; Nitsch et al., 2012; Pećinar, 2015).

Paralelno sa promenama SLA došlo je do promene u sadržaju suve materije u listovima i to tako da je u umerenoj suši došlo do povećanja od 22% kod divljeg tipa i 11% kod mutanta *flacca* (Tab. 12), dok je u jakoj suši to povećanje bilo značajno veće i to 36% kod divljeg tipa i 49% kod genotipa *flacca* (Tab. 23). Povećanje sadržaja suve materije u listovima indirektno ukazuje na promene u hidrataciji u tkivima lista. Usled primene stresa suše dolazi do opadanja turgora u ćelijama, a samim tim i do posledica po rasteenje i deobu ćelija listova, što može uticati i na promenu sadržaja suve materije (Astacio et al., 2011; Rigano et al., 2016; Al Hassan et al., 2015). Primena različitih stepena stresa suše kod paradajza pokazala je da listovi imaju viši procenat suve materije što je primenjeni stepen stresa izrazitiji (Wahb-Allah et al., 2011), što je u skladu sa dobijenim podacima u našim ogledima sa jakom i umerenom sušom. Povećanje sadržaja suve materije u listovima može biti posledica i koncentracionog efekta, ali takođe i osmotskog prilagođavanja, odnosno sinteze i akumulacije materija (šećera, organskih kiselina, aminokiselina) koje doprinose održanju turgora u ćelijama lista (Sakya et al., 2018).

Sadržaj hlorofila u listovima je bitan parametar koji posredno ukazuje na efikasnost procesa fotosinteze. Literaturni podaci pokazuju da u uslovima optimalne snadbevenosti vodom dolazi do povećanja sadržaja hlorofila u listovima paradajza od faze klijanca, preko faze antezisa i zelenog ploda, do faze pune zrelosti (Yuan et al., 2016). Ovakav trend povećanja količine hlorofila u listovima tokom faza sazrevanja ploda je zabeležen i u našim ogledima umerene suše (Tab. 13) i jake suše (Tab. 24). Primena umerenog i jakog stresa suše imala je negativan efekat na akumulaciju hlorofila u listovima kod oba ispitivana genotipa u različitim fazama sazrevanja plodova i ta promena je bila više izražena kod *flacca*.

Najveći efekat se kod oba genotipa ispoljio u ranijoj fazi sazrevanja ploda (tzv. turning fazi) i kod ABA-mutanta, što ukazuje na povezanost biosinteze hlorofila i procesa sazrevanja plodova. Ispitivanja mutanata paradajza koji imaju manji sadržaj hlorofila u listovima usled njihove smanjene biosinteze (Lutenscent 1 (I1) i I2 mutanti) su pokazala da oni imaju odložen početak sazrevanja plodova u odnosu na kontrolne biljke, što ukazuje na ulogu signala poreklom iz hloroplasta koji kontrolišu proces sazrevanja plodova paradajza (Barry et al., 2012).

Rezultati više autora su pokazali da između genotipova paradajza postoje razlike u reakcijama na stres suše u pogledu sadržaja hlorofila a i b (Rigano et al., 2016; Zhou et al., 2017). Rezultati Zgallai et al. (2006) su pokazali da suša nema uticaja na sadržaj hlorofila ukoliko se stres primeni naglo. Primena umerenog i jakog stresa suše izaziva opadanje sadržaja hlorofila, sa tim što je stepen redukcije sadržaja veći što je primenjeni stepen stresa jači (Al Hassan et al., 2015; Yuan et al., 2016). Oni su utvrdili smanjenje sadržaja hlorofila pod dejstvom stresa suše u ranijim fazama razvića paradajza. Ipak, postoje literaturni podaci koji pokazuju da jak stres suše ne izaziva značajne promene u sadržaju hlorofila i karotenoida, bez obzira da li je praćen periodom rehidracije ili ne. Odusustvo ili manji procenat promene sadržaja hlorofila ukazuje na sposobnost ispitivanog genotipa da održi efikasnost korišćenja svetlosne energije na visokom nivou, pa je stoga stabilnost sadržaja hlorofila znak i tolerancije genotipa na sušu (Tamburino et al., 2017). Rigano et al. (2016) su utvrdili da tolerantniji genotipovi imaju veće količine hlorofila a i b u listovima prilikom primene dugotrajnog stresa, dok je kod osetljivih genotipova došlo do smanjenja koncentracije hlorofila usled fotodestrukcije pigmenta.

Naši rezultati su pokazali da je došlo do smanjenja sadržaja hlorofila u uslovima umerene (Tab.13) i jake suše (Tab.24) i indirektno ukazuju da je u određenom stepenu došlo do fotodestrukcije pigmenta. Iako je do negativnog uticaja suše došlo kod oba ispitivana genotipa, kod mutanta *flacca* je prisutan veći stepen redukcije, što ukazuje na veću osetljivost ovog genotipa na stres suše. Ovi podaci su u skladu sa rezultatima Sivakumar et al. (2017), koji su pokazali da primena stresa suše izaziva opadanja sadržaja hlorofila i  $F_v/F_M$  odnosa kod osetljivijih genotipova, dok je kod tolerantnijih genotipova stepen redukcije manji. Egzogeno aplikacija malih koncentracija ABA je kod različitih genotipova paradajza dovela do povećanja sadržaja hlorofila a i b u

listovima (Barickman et al., 2014). Stoga se može se pretpostaviti da je porast sadržaja ABA u listovima kod oba genotipa uticao i na malo povećanje sadržaja ukupnog hlorofila u uslovima umerene suše (Tab. 13) u fazi zrelog ploda, kao i jake suše u tzv. turning fazi (Tab. 24), u odnosu na fazu zelenog ploda.

Rezultati ispitivanja fluorescencije hlorofila kod MAGIC TOM populacije su pokazali da je stres suše izazvao smanjenje  $F_v/F_m$  odnosa kod svih analiziranih genotipova (Graf. 1). Ovi rezultati ukazuju na smanjenje maksimalne fotohemijske efikasnosti fotosistema II. Sivakumar et al. (2017) su utvrdili da što je genotip tolerantiji na sušu, to je manji stepen promene  $F_v/F_m$  odnosa, a što zatim ukazuje na sposobnost genotipa da u uslovima stresa zaštiti fotosintetski aparat i održi efikasnost transporta elektrona u fotosintezi. Ukoliko se ovi rezultati uporede sa rezultatima oglada umerene suše sa genotipovima Ailsa Craig i *flacca* (Tab.13), može se pretpostaviti da fotodestrukcija pigmenata nije jedina posledica stresa suše koja utiče na funkcionalnost i efikasnost fotosintetskog aparata. Rezultati Farooq et al. (2009) ukazuju da sem smanjenja koncentracije hlorofila, u listovima dolazi i do oštećenja postojećeg fotosintetskog aparata po dejstvom stresa. Iako su u dva naša oglada umerene suše (MAGIC TOM i ogled sa genotipovima Ailsa Craig i *flacca*) mereni različiti parametri koji se odnose na pigmente, zaključak je da se suša negativno odražava na sadržaj i funkcionalnost pigmenata i fotosintetskog aparata, što se može odraziti na produktivnost biljaka usled smanjene redukcije  $CO_2$ . Smanjenje sadržaja hlorofila može biti pouzdan indikator osetljivosti biljaka na stres suše jer, pored smanjene provodljivosti stoma, znatno utiče na sposobnost biljke za asimilaciju  $CO_2$  (Zgallaï et al., 2006).

#### **6.2.1.2. Biohemijski i metabolički procesi - sekundarni metaboliti**

Kao što je već istaknuto, stres suše je često praćen i oksidativnim stresom, odnosno produkcijom reaktivnih kiseoničkih vrsta (ROS). Stoga je od značaja da se u tim uslovima aktiviraju antioksidativni odbrambeni sistemi u kojima vitamin C ima posebnu ulogu. U našem ogledu je utvrđeno povećanje vitamina C u listovima, ali nije uočena značajna razlika u procentu promene u jakoj i umerenoj suši, dok je efekat bio više izražen kod divljeg tipa nego kod *flacca* (Tab. 14 i 25).

Primena različitog stepena stresa izaziva u listovima biljaka paradajza i promene u antioksidativnoj aktivnosti, sa tim što sa povećanjem stepena stresa dolazi i do

povećanja aktivnosti enzima superoksid dismutaza, peroksidaza i katalaza. Jak stres suše izaziva i veći porast koncentracije malondialdehida, što je znak peroksidacije ćelijskih membrane usled pojačanog stvaranja slobodnih radikala (Yuan et al., 2016). Naši rezultati potvrđuju da je jači stepen stresa suše kod oba ispitivana genotipa izazvao veći stepen povećanja antioksidativnog kapaciteta u listovima i to više kod divljeg tipa nego kod *flacca* (Tab. 25). Međutim, u uslovima optimalne vlažnosti u oba ogleda nisu utvrđene statistički značajne razlike u antioksidativnoj aktivnosti između ispitivanih genotipova.

Porast antioksidativne aktivnosti u listovima je povezan sa promenama u provodljivosti stoma, jer zatvaranje stoma izaziva poremećaj u fotosintetskom elektron-transportnom lancu, što vodi produkciji ROS-a. Jak stepen stresa suše izaziva i promene u ekspresiji gena koji kodiraju enzime katalaze, askorbat peroksidaze i glukozo-6-fosfat dehidrogenaze, ali je stepen povećanja ekspresije genotipski specifičan, kao i mehanizam odbrane od oksidativnog stresa (Landi et al., 2017). Pojedini genotipovi ne povećavaju aktivnost katalaza ni u uslovima jakog stresa, dok aktivnost superoksid dismutaza u listovima raste sa stepenom primenjenog stresa (Zgallai et al., 2006). Rezultati Monteiro et al. (2012) su pokazali da je u listovima drugih ABA-deficitarnih mutanata paradajza *notabilis* i *sitiens* gajenih u optimalnim uslovima povećana koncentracija H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> u odnosu na divlji tip. Ovo povećanje koncentracije vodonik-peroksida je nastalo kao posledica smanjene aktivnosti enzima katalaze u listovima ovih mutanata. Ovi genotipovi su se odlikovali i povećanom aktivnošću enzima tipa gvajakol i askorbat peroksidaza, čime se delimično kompenzovala smanjena aktivnost katalaza, a što ukazuje na povezanost aktivnosti peroksidaza sa koncentracijom ABA. Rezultati Ünyayar i Çekici (2005) su pokazali i da se u listovima genotipa *notabilis* može povećati antioksidativna aktivnost primenom stresa suše ili egzogenom aplikacijom ABA. Povezanost antioksidativne aktivnosti sa ovim biljnim hormonom može da objasni veći procenat promene vitamina C i antioksidativnog kapaciteta koji je u našem ogledu umerene suše utvrđen kod divljeg tipa u poređenju sa ABA-deficitarnim *flacca* mutantom.

Poređenje efekata umerene suše u ogledima sa MAGIC TOM populacijom, pokazuje veću sličnost divljeg tipa i *flacca* sa čeri genotipovima MAGIC TOM populacije, nego sa genotipovima sa krupnim plodovima (Levovil i LA0147), kada je u

pitanju sadržaj vitamina C. Antioksidativni kapacitet u listovima je u oba ogleda umerene suše povećan u uslovima vodnog deficita kod svih genotipova, sa tim što postoje određene genotipske razlike u stepenu promene. Najmanji stepen promene antioksidativne aktivnosti je detektovan kod mutanta *flacca*, što ukazuje da je ABA-mutacija smanjila i kapacitet za otklanjanje slobodnih kiseoničnih radikala koji se javljaju u uslovima oksidativnog stresa.

Naša ispitivanja su obuhvatila i efekte umerene i jake suše na akumulaciju ABA u listovima i korenovima Ailsa Craig i *flacca* mutanta (Graf.11 i 13). To je od posebnog značaja jer jedna od prvih biohemijskih promena u biljkama prilikom primene vodnog deficita jeste akumulacija ABA. Biosinteza ovog biljnog hormona se odvija u listovima i korenovima, kao i u vaskularnim tkivima, a dvosmerni transport (recirkulacija) između korena i nadzemnog dela se može vršiti i ksilemom i floemom (Kuromori et al., 2018). Poznato je da se redukcija vodnog potencijala u zemljištu detektuje od strane korenova, u kojima smanjenje vodnog potencijala dovodi do pokretanja puteva sinteze ABA, koja se zatim transportuje putem ksilema do listova (Wang et al., 2012). Međutim, uloga ABA sintetisane od strane korenova u zatvaranju stoma još uvek nije rasvetljena jer pojedina istraživanja ukazuju na činjenicu da je ABA sintetisana u listovima dovoljna za pokretanje mehanizma zatvaranja stoma (Dodd et al., 2009), dok ABA poreklom od korena ima manji značaj. Promene nivoa ovog hormona su stoga vezane i za druge izvore, a ne isključivo za biosintezu na nivou korena. Rezultati ispitivanja akumulacije ABA u listovima i korenovima su pokazali da je koncentracija ABA u kontrolnim uslovima bila 4 puta veća u listovima nego u korenovima divljeg tipa, dok je ta razlika u kapacitetu za akumulaciju ABA u listovima i korenovima *flacca* biljaka bila nešto manja (oko 3 puta). Umerena suša je dovela do povećanja koncentracije ABA u listovima divljeg tipa od 115%, a na nivou korena 112%, dok je kod mutanta to povećanje bilo manje i iznosilo je 79% na nivou lista, odnosno 51% na nivou korena (Graf.11). Jak stepen stresa je izazvao veći porast sadržaja ABA nego umerena suša. Pod dejstvom jake suše ove promene u ispitivanim organima su bile još veće (Graf.13) i to posebno kod divljeg tipa (u listovima - 242%, korenovima -164%) u odnosu na *flacca* (u listovima - 123%, korenovima - 89%).

Moles et al. (2018) su utvrdili povećanje koncentracije ABA u listovima i korenovima kod različitih genotipova paradajza u uslovima stresa suše. Procenat

povećanja sadržaja ABA je više bio izražen na nivou listova u odnosu na povećanje na nivou korena, kao što je to utvrđeno i u našem ogledu. Uočene niže količine ABA kod oba ispitivana genotipa u korenovima, u poređenju sa listovima, u oba oglada suše, se mogu objasniti rezultatima Manzi et al. (2015). Rezultati ovih autora su pokazali da do ograničene biosinteze ABA u korenovima dolazi usled male količine karotenoida u ovim biljnim organima. Ipak, povećanje koncentracije ABA u korenovima je svakako bitno jer predstavlja rani odgovor na vodni deficit i ima uticaj na elongaciju korena i gustinu korenskih dlaka (Xu et al., 2013). Međutim, naša istraživanja nisu obuhvatila ispitivanja razvoja korenova. U našem ogledu kod genotipa *flacca* je primetno da je u uslovima stresa došlo do duplo veće akumulacije ABA u listovima nego u korenovima, za razliku od divljeg tipa (Graf. 11). Primećena razlika u akumulaciji ABA u biljnim organima genotipa *flacca* ukazuju i na mogućnost poremećenog bazipetalnog transporta metabolita kod ABA-deficitiranog mutanta. Mutacija prisutna kod genotipa *flacca*, prema Sagi et al. (1999), ne dovodi do promena samo u akumulaciji, već i u transportu ABA, odnosno smanjenje koncentracije ABA u korenu dovodi do manjeg transporta u ksilem. Kod divljeg tipa je procenat promene u listovima i korenovima sličan, ali je koncentracija ABA daleko viša u listovima. Iako pojedini autori navode da je količina ABA približno jednaka u korenovima i listovima divljeg tipa i mutanta *flacca* (Sagi et al., 1999), rezultati Muñoz-Espinoza et al. (2015) su u skladu sa našim rezultatima gde je sadržaj ABA u korenovima genotipa *flacca* bio niži od sadržaja ABA u listovima.

Istraživanja u oba naša eksperimenta (umerena i jaka suša), kao i kod MAGIC TOM populacije, nisu uključila merenja ksilemske ABA koja može direktno na ukaže na korelativne odnose između ABA i reakcija stoma. To nije urađeno zbog teškoća u prikupljanju dovoljne koncentracije ksilema za merenje ABA sa ELISA testom. Međutim, naša merenja reakcija stoma su bila praćena odgovarajućim merenjima koncentracije ABA u listovima svih ispitivanih genotipova, tako da veća/manja akumulacija ABA u listovima može indirektno da objasni veću/manju redukciju otvorenosti stoma. Prokić (2009) je u ranijoj vegetativnoj fazi izlagala biljke Ailsa Craig i *flacca* dejstvu suše i poredila koncentraciju ksilemske ABA, potencijal vode i reakcije stoma. Na osnovu ovih rezultata je zaključila da su reakcije stoma kod oba genotipa indukovane hemijskim signalima čije je poreklo različito (kod Ailsa Craig ksilemska ABA obrazovana u listovima, a kod *flacca* u korenu).



Mali porast u koncentraciji ABA i suša u listovima mogu izazvati značajne promene u ekspresiji gena (Nitsch et al., 2012). Ispitivanja Milosavljević et al. (2012) ekspresije *TAOI*, *NCED* i *EILI* u listovima Ailsa Craig, ukazuju na sinergističko dejstvo signalnih puteva za ABA i etilen. Kod *flacca* je bila smanjena ekspresija *NCED* gena, a povećana *EILI*, što indirektno ukazuje na porast u koncentraciji etilena (iako nije merena koncentracija). Prema hipotezi Sharp et al. (2000) ABA ima ulogu održi rasteње tako što ograničava obrazovanje etilena. S druge strane, rezultati Muñoz-Espinoza et al. (2015) ukazuju da smanjenje ekspresije *NCED1* gena koje je detektovano kod mutanta *flacca*, može biti posledica negativne regulacije usled akumulacije metabolita tipa ksantoksina i ABA-aldehida. Stoga objašnjenje manje površine listova i mase *flacca* mutanta u odnosu na divlji tip može biti posledica smanjene produkcije ABA ili povećanja koncentracije etilena. Isti autori ukazuju i da se interakcije i sa drugim hormonima (jasmonskom i salicilnom kiselinom) moraju uzeti u razmatranje za objašnjenje efekata suše na *flacca* mutante.

Veliki stepen povećanja ABA u listovima paradajza pod dejstvom jake suše je najčešće posledica promena na nivou biosinteze. Ipak, iako kod većine genotipova pod dejstvom jakog stresa suše dolazi do pojačane ekspresije *NCED* gena, postoje genotipovi kod kojih ne dolazi do promena na nivou ekspresije, a svakako dolazi do povećanja sadržaja ABA. Ovo ukazuje na postojanje alternativnih mehanizama koji vode regulaciji sadržaja ovog biljnog hormona u listovima, dok se nivo *NCED* ekspresije i u kontrolnim uslovima održava na prilično visokom nivou (Landi et al., 2017).

Pojačana akumulacija ABA je uočena i u uslovima umerene suše kod MAGIC TOM populacije (Graf. 2), pri čemu je stepen akumulacije bio niži (od 12-48%) nego stepen povećanja u listovima divljeg tipa i mutanta *flacca* (79-115%). Velika varijabilnost u stepenu promene koncentracije ABA ukazuje na genotipsku specifičnost akumulacije ovog biljnog hormona. Količina ABA u listovima mutanta *flacca* u uslovima stresa je niža ne samo od koncentracije u listovima drugih genotipova izloženih umerenoj suši, već i od koncentracije ABA u listovima MAGIC TOM populacije i Ailsa Craig biljaka gajenih u optimalnom vodnom režimu.

## 6.2.2. Efekat suše na plodove

Stepen stresa suše je uticao i na proces sazrevanja plodova, tako da u uslovima jake suše, zbog venjenja biljaka nije došlo do faze potpunog sazrevanja plodova, pa su stoga ispitivani parametri kvaliteta plodova kada je plod bio u ranijoj fazi sazrevanja (tzv. turning fazi). Za razliku od jake suše, umerena suša nije uticala na sazrevanje plodova, tako da su ispitivanja obavljena kod zrelih plodova.

### 6.2.2.1. Fiziološki procesi

Najizrazitiji efekti suše na morfologiju plodova paradajza su rezultat promena u veličini i masi plodova, što u velikoj meri zavisi i od intenziteta suše. Ispitivanja sveže mase i prečnika ploda u našim ogledima su pokazala da su umerena i jaka suša izazivale redukciju ovih parametara kod oba ispitivana genotipa, a pri tome je efekat bio više izražen kod *flacca* u odnosu na divlji tip (Tab. 15 i 26). *Flacca* plodovi su se u oba tretmana suše odlikovali i manjom svežom masom i veličinom u odnosu na plodove divljeg tipa (Tab.15 i 26). Uprkos većem smanjenju mase ploda u jakoj suši u odnosu na umerenu, došlo je do održavanja sadržaja suve materije na nivou prisutnom i u umerenoj suši. Na osnovu toga se može zaključiti da je redukcija veličine plodova nastala kao rezultat dejstva suše na procese rastanja i izduživanja ćelija plodova.

Kao što je već prethodno istaknuto, uzroci redukcije mase ili prečnika plodova izazvanih sušom mogu biti različiti (stepen i trajanje stresa, abnormalno razviće plodnika, smanjeni transport vode i asimilata u plodove, pojačana abortivnost cvetova, ograničena produkcija asimilata u plodovima i dr.). U literaturi postoje različiti podaci o efektu suše na plodove. Tako su rezultati Patanè et al. (2011) u ogledu sa 4 različita tretmana suše pokazali da u slučaju veoma rane primene stresa suše dolazi do značajnog opadanja u suvoj biomasi plodova ukoliko je stres intenzivan, ali da u slučaju umerenog stresa ne dolazi do promene u suvoj masi plodova. Pojedina istraživanja ukazuju da ne dolazi do smanjenja veličine plodova paradajza ukoliko se umereni stres suše primeni od faze cvetanja nakon perioda optimalnog obezbeđivanja vodom (Topcu et al., 2007). Sa druge strane, jak stres može negativno da se odrazi na prečnik i veličinu plodova (Ozbahce i Tari, 2010), kao i umeren stres primenjen još pre faze cvetanja (Patanè et al., 2011) ili tokom čitavog perioda razvića biljke (Nuruddin et al, 2003). Redukcija sveže

mase plodova u našim ogledima umerene i jake suše je u skladu i sa drugim literaturnim podacima (Wahb-Allah et al., 2011; Sivakumar i Srividhya, 2016).

Naši rezultati su pokazali da su plodovi genotipa *flacca* imali manji prečnik i manju svežu masu u odnosu na divlji tip u uslovima optimalnog vodnog režima, a slična razlika je utvrđena i u obe suše. Rezultati Freitas et al. (2011) su pokazali da ukupna masa ploda zavisi od koncentracije ABA. Nitsch et al. (2012) su takođe utvrdili da *flacca* ima manje plodove u odnosu na divlji tip, a stepen redukcije veličine i mase ploda je bio još veći kod duplih mutanata *flacca/notabilis*. Redukcija veličine ploda se odražava na nivou placente, lokula i perikarpa. Pošto mutacija kod genotipa *flacca* takođe pogađa i aktivnost aldehyd-oksidadze koja je bitna za sintezu auksina, uočene promene mogu biti rezultat smanjenje sinteze i ovog biljnog hormona. Međutim, još uvek nije razjašnjeno da li su u pitanju antagonistički odnosi ABA i auksina, jer su rezultati Nitsch et al. (2012) pokazali da ne postoji korelacija između niskih koncentracija ABA i sadržaja auksina. Rezultati ovih autora su pokazali da su za manju veličinu plodova najverovatnije odgovorni antagonistički odnosi ABA i etilena. Ipak, pojedini rezultati ukazuju da ABA utiče na rast ploda i preko etilen-nezavisnog puta (Dodd et al., 2009). Naša ispitivanja koncentracije ABA u perikarpu plodova su potvrdila rezultate za koren i listove divljeg tipa, jer je koncentracija ABA bila značajno veća (za 56%) u perikarpu plodova divljeg tipa u odnosu na mutant *flacca* u kontrolnim uslovima. Umerena i jaka suša su mnogo više uticale na povećanje sadržaja ABA (Graf. 14) kod divljeg tipa (49% i 276%) u odnosu na povećanje kod *flacca* (38% i 150%).

Uticao ABA na rastenje ploda paradajza je pokazan i od strane drugih autora (Muller et al., 2011). Prema hipotezi Sharp et al. (2000) o antagonističkom dejstvu ABA i etilena na procese rasteња, stimulatívni efekat koji ABA ima na rast ploda je delimično baziran na sposobnosti ovog hormona da inhibira sintezu etilena. Pozitivan efekat ABA na ćelijsku ekspanziju izostaje kod genotipa *flacca* usled smanjene koncentracije ABA, pa su stoga plodovi manji. Nedostatak ABA pogađa kako fazu ćelijskih deoba, tako i fazu izduživanja ćelija. Ipak, pojedini autori su primetili da kod ABA-deficitarnih mutanata nije uočena razlika u broju ćelijskih slojeva tokom početka sazrevanja ploda (tzv. breaker stadijumu), dok je prosečna veličina ćelija smanjena (Nitsch et al., 2012). Sve ovo ukazuje na to da ABA stimuliše transport materija iz

floema u placentu, perikarp i lokule, čime stimuliše rast ploda i depoziciju komponenata suve materije.

Tokom razvića ploda dolazi do porasta koncentracije ABA u fazi rasta ćelija ploda (Gillaspy et al., 1993), a kako se bliži kraj ove faze, dolazi i do opadanja sadržaja ABA u perikarpu do kraja faze ćelijskog rasta (Marjanović et al., 2015). Najveća količina ABA u plodu je skladištena u semenima i lokulima. U ranim fazama razvića ploda dolazi do akumulacije ABA u perikarpu i lokulima, u kojima i čak 50 dana nakon cvetanja postoji mali pik ABA. Akumulacija ABA u različitim delovima ploda i fazama razvića ukazuje na specifične uloge ABA u reproduktivnom razviću paradajza (Kojima et al., 1993). Porast ABA u semenima počinje u fazi nezrelog ploda koji još uvek raste i dostiže maksimum tokom tzv. breaker stadijuma, za razliku od koncentracije ABA u perikarpu koja ima maksimalan pik u tzv. turning fazi, a nakon toga se koncentracija smanjuje do faze pune zrelosti ploda (Zhang et al., 2009). Maksimum produkcije etilena u semenima je u tzv. turning stadijumu, dok je maksimalna koncentracija etilena prisutna u tzv. pink stadijumu ploda, kada se javlja porast koji je praćen naglim padom u stadijumu zrelog ploda. Maksimalna koncentracija etilena u plodu je znatno viša nego koncentracija u semenima, dok je količina ABA viša u semenima nego u perikarpu ploda (Zhang et al., 2009). Ovakva dinamika promene ABA u plodovima ukazuje na činjenicu da je ABA glavni inicijator sinteze etilena u plodovima. Rezultati merenja ABA u perikarpu ploda Ailsa Craig od strane istih autora pokazuju slične vrednosti ABA koje su dobijene i u našem ogledu ukoliko su primenjeni optimalni uslovi navodnjavanja biljaka.

Uloga ABA u procesima sazrevanja i senescencije plodova, je utvrđena kako kod klimakteričnih, tako i kod neklimakteričnih plodova (Yang i Feng, 2015). U rasteњу plodova značajnu ulogu imaju i enzimi. Ispitivanja efekata tehnike delimičnog sušenja korenova na rasteње plodova Ailsa Craig i *flacca*, su pokazala da se porast aktivnosti enzima jonski vezane peroksidaze u ćelijskim zidovima perikarpa ostvaruje u fazi završetka rasteња ćelija i početka sazrevanja plodova (Marjanović et al., 2015). Ovi rezultati su takođe ukazali i na antagonističke efekte između aktivnosti peroksidaze i akumulacije ABA u perikarpu plodova.

U uslovima optimalnog navodnjavanja, kao i u uslovima vodnog deficita, u plodovima MAGIC TOM populacije je izmerena viša koncentracija ABA nego u

plodovima genotipova Ailsa Craig i *flacca*. Sa obzirom na to je najveća koncentracija ABA u plodu lokalizovana u semenima i lokulima, uočene razlike potiču od metodologije uzorkovanja – kod MAGIC TOM genotipova je za analize korišćen ceo plod, dok je za analize ABA u plodovima dva genotipa iz fitokomore uzorkovan samo perikarp. Načelno je procenat povećanja ABA u plodovima MAGIC TOM populacije viši nego kod Ailsa Craig i *flacca*, što je posledica pojačane akumulacije ABA u semenima. Zhang et al. (2009) su pokazali da se u semenima akumulira i do četiri puta više ABA nego u perikarpu ploda u tzv. breaker stadijumu, odnosno duplo više u fazi zrelog ploda, što se odražava i na rezultate merenja ABA kod MAGIC TOM populacije.

#### **6.2.2.2. Biohemijski i metabolički procesi - primarni metaboliti**

Ukus ploda je uglavnom određen sadržajem šećera koji utiče na percepciju i samim tim je značajan parametar kvaliteta ploda. Sadržaj solubilnih materija u plodu koji se određuje putem Brix skale je uglavnom baziran na sadržaju šećera (glukoza, fruktoza i saharoza) i šećernih alkohola (manitol i sorbitol) koji su najviše zastupljeni i čine oko 85% °Brix jedinice (Magwaza i Opara, 2015). Stoga su u našim rezultatima °Brix vrednosti predstavljene kao pokazatelj rastvorljivih šećera. Povećanje sadržaja šećera nije isključivo značajno sa aspekta formiranja ukusa plodova, već i sa aspekta industrijske prerade jer plodovi sa višim sadržajem rastvorljivih materija zahtevaju manje energije za evaporaciju vode iz plodova tokom pravljenja koncentrovanog soka (Favati et al., 2009).

Rezultati oglada (Tab.16 i 27) su pokazali da je suša uticala na sadržaj rastvorljivih šećera u plodovima i to više kod plodova divljeg tipa nego kod *flacca*, kao i da je povećanje bilo više izraženo u jakoj suši (divlji tip - 41%; mutant *flacca* - 25%), u poređenju sa umerenom sušom (divlji tip - 27%; mutant *flacca* - 10%). Biosinteza i metabolizam šećera se menjaju tokom procesa sazrevanja plodova, počev od faze zelenog ploda u kojoj se akumulira skrob koji se kasnije razlaže na proste šećere koji su najviše zastupljeni u zreлом plodu. Iako postoje genotipske specifičnosti u pogledu dinamike i stepena promene °Brix vrednosti koje su vezane za akumulaciju šećera, kod većine genotipova najveći skok sadržaja rastvorljivih materija prisutan je u fazi dobijanja crvene boje plodova (eng. pink stage), kao i u fazi pune zrelosti ploda (Duma et al., 2015).

Reakcije biljaka paradajza na stres suše mogu biti genotipski specifične, pa količina solubilnih materija može biti povećana ili redukovana u zavisnosti od sorte. Ispitivanja Klunklin i Savage (2017) su pokazala da promene sadržaja rastvorljivih materija (°Brix) u uslovima suše nisu praćene promenama u pH ploda, što ukazuje da u tim uslovima nije došlo do značajnih promena u sadržaju organskih kiselina. Rezultati Nuruddin et al. (2003) su pokazali da plodovi koji su izloženi stresu suše samo tokom faze cvetanja imaju manje solubilnih materija u odnosu na plodove koji su izloženi suši u fazi rastenja i sazrevanja ploda. U ovakvim plodovima je sadržaj rastvorljivih materija bio viši za 16-28% u odnosu na kontrolu koja je optimalno navodnjavana, što je u skladu sa našim rezultatima. Rezultati povećanja sadržaja šećera u uslovima jake suše u našem ogledu su u skladu i sa podacima Nahar i Ullah (2017), koji su pokazali da sa porastom jačine stresa, raste stepen akumulacije solubilnih materija, pa su tako u uslovima jake suše dobili povećanje sadržaja glukoze za 100%, fruktoze za 30% i saharoze za 72%.

Titribilna kiselost plodova koja se odnosi na sadržaj organskih kiselina, prevashodno limunske kiseline, je takođe bitna za percepciju ukusa. Njene vrednosti se menjaju tokom rastenja ploda, od najnižih tokom tzv. mature green faze da bi tokom sazrevanja došlo do ponovnog porasta sa maksimumom u tzv. pink stadijumu ili u fazi zrelog ploda, što je genotipski specifično (Nour et al., 2014). Smanjenje titribilne kiselosti tokom sazrevanja plodova može biti posledica i promene odnosa kiselina, smanjenja sadržaja malata koji je kod klimakteričnih plodova osnovni supstrat za respiraciju (Kortstee et al., 2007). Malat je blisko povezan sa metaboličkim putevima koji utiču na akumulaciju solubilnih materija, posebno značajan za aktivaciju ADP-glukozne pirofosforilaze i akumulaciju skroba i solubilnih šećera (Centeno et al., 2011; Batista-Silva et al., 2018). Literaturni podaci pokazuju da postoje genotipske razlike u titribilnoj kiselosti, kao i u dinamici promena ovog parametra. Rezultati Moneruzzaman et al. (2008) su potvrdili da je vrednost titribilne kiselosti opadala ka fazi pune zrelosti (0,03% ekvivalenta limunske kiseline), dok pojedini autori su dobili u fazi zrelosti vrednosti koje su više od rezultata iz našeg ogleda, oko 0,5% ekvivalenta limunske kiseline (Duma et al., 2015).

Stres suše može uticati pored povećanja sadržaja šećera i na sadržaj organskih kiselina u plodovima, pri čemu se stepen akumulacije povećava sa jačinom primenjenog

stresa. Pojedini rezultati pokazuju da stres suše povećava sadržaj šećera i kiselina u plodovima, ali da jači stres ne utiče na pojačanu akumulaciju. Kada je reč o titrabilnoj kiselosti u našim ogledima, suša je u oba tretmana povećala ove vrednosti i to nešto više u uslovima jake, nego umerene suše (Tab.17 i 28). Genotipske razlike su se više ispoljile u jakoj suši kada je povećanje kiselosti plodova bilo nešto veće u plodovima *flacca* (60%), nego u plodovima divljeg tipa. Rezultati Hurtado-Salazar et al. (2018) su pokazali da u uslovima umerene i jake suše dolazi do porasta sadržaja solubilnih materija i titrabilne kiselosti, ali bez statistički značajnih razlika između dva stepena suše. Slično tome velike razlike u sadržaju kiselina između jake i slabe suše nisu dobijene ni u našim ogledima.

Promene u sadržaju šećera (°Brix) i organskih kiselina (titrabilna kiselost) u plodovima u uslovima stresa suše najčešće su rezultat koncentrovanja rastvora usled pojave dehidracije tkiva. Pojava stresa suše od faze cvetanja ili u fazi razvika i sazrevanja plodova paradajza dovodi do porasta sadržaja rastvorljivih materija, kao i titrabilne kiselosti ploda (Patanè et al., 2011). To se pre svega može objasniti koncentracionim efektom izazvanim manjim snadbevanjem ploda vodom, nego biosintezom šećera ili kiselina. Koncentracioni efekat suše na sadržaj šećera i organskih kiselina su potvrdili i drugi autori (Guichard et al., 2001; Ripoll et al., 2016a,b). Rezultati Hashem et al. (2018) su pokazali da redukcija navodnjavanja za 30% u odnosu na kontrolu dovodi do porasta sadržaja solubilnih materija (od 7 do 28%) i titrabilne kiselosti usled koncentracionog efekta, što je slučaj i sa promenama u našem ogledu (Tab. 16 i 28). Naši rezultati su na osnovu analize efekata umerene suše utvrdili da je povećan sadržaj ukupnih šećera (°Brix) rezultat uglavnom koncentracionog efekta kod oba genotipa, pri čemu kod mutanta *flacca* to ne isključuje mogućnost da je došlo i do promena u metabolizmu (Tab. 21). Kada je reč o jakoj suši podaci pokazuju da je koncentracioni efekat u plodovima izraženiji u odnosu na umerenu sušu, kod od oba genotipa (Tab. 32). Promene sadržaja organskih kiselina na bazi sveže mase u umerenoj i jakoj suši pokazuju da je do povećanja njihovog sadržaja došlo usled pojave dehidracije, odnosno kao rezultat koncentracionog efekta kod oba ispitivana genotipa.

Rezultati nekih autora su pokazali da efekat suše na biosintezu šećera i organskih kiselina može biti i negativan, pre svega kao posledica dejstva suše na transport ovih jedinjenja iz listova u plodove, jer se uticajem na turgor floema smanjuje

fluks ovih materija ka organima primaocima (Muller et al., 2011). Rezultati Ripoll et al. (2016b) su pokazali da je akumulacija saharoze, kao jednog od najvažnijih osmotikuma, od posebnog značaja za osmotsko prilagođavanje i održanje turgora kod genotipova sa krupnijim plodovima. To se može odnositi i na krupne plodove u našem ogledu sa MAGIC TOM populacijom. Iako nije meren osmotski potencijal i sadržaj saharoze, naši rezultati akumulacije ukupnih šećera, sveže mase i prečnika plodova, indirektno ukazuju da je mehanizam osmotskog prilagođavanja doprineo da se ovi parametri kod Ailsa Craig manje promene u suši, nego što je to bio slučaj sa *flacca* plodovima. Ipak, manji stepen akumulacije šećera kod mutanta *flacca* u odnosu na divlji tip je takođe posledica smanjenje količine ABA, za koju je poznato da može uticati na transport materija u plodove (Nitsch et al., 2012). Povećanje sadržaja šećera i kiselina u plodovima paradajza se pozitivno odražava na percepciju ukusa ploda (Nahar et al., 2011). U našem ogledu umerene suše, kod genotipa *flacca* je došlo do blagog povećanja šećera i velikog povećanja kiselina u plodovima koji su se i inače odlikovali višom koncentracijom kiselina, pa se generalno može zaključiti da se ukus plodova ovog genotipa pogoršao u uslovima stresa.

Rezultati Bastias et al., (2014). ukazuju da je u regulaciji sinteze šećera i organskih kiselina posebno značajan ABA-regulisani transkripcioni faktor *SIAREB1*. Ovaj transkripcioni faktor utiče na ekspresiju gena za saharoznu sintetazu (*SUS2* i *SUS3*) i invertazu ćelijskog zida (*LIN5* i *LIN 7*). Ove grupe enzima su ključne za stvaranje rezervi heksoza koje nastaju nakon transporta saharoze u plodovima koji sazrevaju. Takođe, rezultati ovih autora pokazuju da je za sadržaj saharoze u plodovima značajna aktivnost *TIV1* gena, koji kodira vakuolarnu invertazu, kao i *SPS* gena, koji kodira saharozo-fosfat sintetazu. Ekspresija ovih gena je takođe regulisana *SIAREB1* transkripcionim faktorom. Ovaj transkripcioni faktor utiče i na akumulaciju organskih kiselina delovanjem na ekspresiju gena koji kodiraju enzime mitrohondrijalnu citrat-sintazu i malat dehidrogenazu.

### **6.2.2.3. Sekundarni metaboliti i nutritivna vrednost plodova**

U uslovima stresa suše može da se javi i sekundarni, oksidativni stres (Fanciullino et al., 2014). Biljke reaguju na oksidativni stres sintezom jedinjenja koja imaju sposobnost neutralizacije slobodnih radikala zahvaljujući signalima koji dolaze od lista ka



plodovima (Poiroux-Gonord et al., 2010). Vitamin C predstavlja značajan sekundarni metabolit za antioksidativnu odbranu biljaka, a takođe ima ulogu kofaktora pojedinih enzima u oksidativnim reakcijama (Fenech et al., 2019). Plodovi paradajza imaju umerene količine vitamina C u odnosu na neke druge vrste biljaka, međutim, usled široke potrošnje predstavljaju veoma bitan izvor vitamina C. Sadržaj askorbinske kiseline tokom sazrevanja plodova se menja i specifičan je za biljnu vrstu. Kod paradajza se sadržaj vitamina C povećava tokom sazrevanja, što je u korelaciji sa promenama u aktivnosti enzima bitnih za održanje redoks stanja ploda tokom tzv. breaker stadijuma (Gautier et al., 2008; Ye et al., 2014). Duma et al. (2015) su zabeležili najviše vrednosti vitamina C u tzv. pink stadijumu, ali je kod nekih kultivara priustan i u stadijumu zrelog ploda (Nour et al., 2014).

Ispitivanja koncentracije vitamina C u plodovima u našim ogledima umerene i jake suše su pokazala da u kontrolnim uslovima, optimalne obezbeđenosti vodom, sadržaj vitamina C je bio veći kod plodova koji su bili u fazi zrelosti u umerenoj suši, u odnosu na plodove u jakoj suši koji su bili u ranijoj fazi razvića tzv. turning fazi. Naši rezultati su ukazali na razlike u sadržaju vitamina C u kontrolnim uslovima između zrelih plodova iz umerene suše (22,85 mg/100 g sveže mase kod divljeg tipa i 20,10 mg/100 g sveže mase kod mutanta *flacca*) i plodova iz jake suše u tzv. turning fazi (15,78 mg/100 g sveže mase kod divljeg tipa i 17,28 mg/100 g sveže mase kod mutanta *flacca*). Vrednosti sadržaja vitamina C u kontrolnim uslovima kod oba genotipa su bile više od nekih literaturnih podataka. Tako su Pavlović et al. (2017), u ogledu sa komercijalnom sortom paradajza i selekcionim linijama utvrdili sadržaj vitamina C koji se kretao od 5,71 do 10,86 mg/100 g sveže mase. Drugi autori su zabeležili viši opseg variranja sadržaja vitamina C u plodovima paradajza, od 8 do 41,6 mg/100 g sveže mase ploda (Frusciante et al., 2007; Kavitha et al., 2013). Vrednosti vitamina C su bile znatno više kod genotipa MAGIC TOM populacije u kontroli (od 50,41 do 57,15 mg/100 g sveže mase). To može biti posledica pre svega genotipske specifičnosti, ali i rezultat drugačijih ekoloških uslova gajenja paradajza.

Rezultati niza autora su takođe pokazali da primena stresa suše dovodi do povećanja sadržaja vitamina C (Favati et al., 2009; Patanè et al., 2011; Murshed et al., 2013), koji je bitna komponenta antioksidativne odbrane biljaka od abiotičkog stresa (Venkatesh i Park, 2014). Pojedini autori ukazuju na genotipsku specifičnost reakcije

biljaka na akumulaciju vitamina C i karotenoida (Nour et al., 2015), pri čemu faza razvića u kojoj je stres primenjen, intenzitet i trajanje stresa utiču značajno na stepen akumulacije (Ripoll et al., 2016a,b). Naši rezultati su pokazali da je umerena suša dovela do manjeg povećanja sadržaja vitamina C (Tab. 19), kod divljeg tipa vitamin C je povećan za 84%, dok je u plodovima mutanta *flacca* povećanje iznosilo 55%. U ogledu jake suše, u plodovima Ailsa Craig suša je izazvala porast sadržaja vitamina C za 245%, dok je kod mutanta *flacca* povećanje iznosilo 178% (Tab. 30). Rezultati Nahar i Ullah (2017) su pokazali da ukoliko se primene umeren i jak stres suše dolazi do porasta sadržaja vitamina C u plodovima, koji je u korelaciji sa stepenom stresa (u jakoj suši se povećava za 175%), a što je slično kao i u našem ogledu jake suše.

Literaturni podaci su takođe pokazali da postoji korelacija sadržaja vitamina C sa tolerancijom genotipova na vodni deficit (Zhang et al., 2011; Garchery et al., 2013). Takođe, sadržaj šećera u velikoj meri može da utiče na akumulaciju ovih antioksidativnih jedinjenja. Šećeri su neophodni kao supstrat za biosintezu askorbata, ali i kao signalni molekuli. Prema Hanson i Smeekens (2009) signalna uloga šećera se odražava uglavnom na fundamentalne ćelijske procese (rast i razviće biljaka), a takođe je integrisana i sa drugim signalnim putevima (aktivirani stresnim faktorima i biljnim hormonima). Od posebnog značaja je povezanost signalnih puteva ABA i šećera (posebno glukoze). Naši rezultati su takođe indirektno ukazali na povezanost šećera i signala oksidativnog stresa, jer je uporedo sa povećanjem antioksidativnom kapaciteta došlo do povećanja sadržaja vitamina C i šećera u plodovima. Ipak, Gautier et al. (2009) nisu utvrdili postojanje veze između sadržaja šećera i vitamina C, dok su pojedini autori zabeležili pozitivne korelacije između ovih metabolita (Causse et al., 2003; Stevens et al., 2007).

Poređenja sadržaja vitamina C u plodovima u umerenoj suši na svežu i suhu masu (Tab. 21) ukazuje da je do povećanja vitamina C došlo usled koncentracionog i metaboličkog efekta, pri čemu je koncentracioni efekat izraženiji. Iako je u uslovima jakog stresa koncentracioni efekat takođe bio još izraženiji kod oba genotipa, analiza promene u odnosu na suhu masu plodova ukazuje i na mogućnost da su pokrenuti putevi biosinteze askorbata (Tab. 32).

Uporedo sa promenom u sadržaju vitamina C dolazi i do promena u aktivnosti antioksidativnog sistema kao posledica sekundarnog oksidativnog stresa u uslovima

vodnog deficita. Povećanje nivoa slobodnih kiseoničnih formi u plodu paradajza može biti posledica i procesa sazrevanja plodova, ali povećane količine ovih reaktivnih formi kiseonika mogu biti izazvane i stresom suše (Jiménez et al., 2002; Giannakoula i Ilias, 2013), što je u skladu sa našim rezultatima koji pokazuju porast antioksidativne aktivnosti u plodovima. Naši rezultati pokazuju da su umerena i jaka suša u plodovima oba genotipa izazvale povećanje antioksidativne aktivnosti (Tab. 20 i 31) i da je to povećanje bilo izraženije u oba tretmana, u plodovima divljeg tipa (umerena suša - 52%, jaka suša - 109%) u odnosu na *flacca* plodove (umerena suša - 42%, jaka suša - 65%). Kao što je slučaj i sa listovima, i u plodovima se pod dejstvom stresa suše stvaraju slobodni radikali koji mogu inhibirati odbrambenu aktivnost antioksidativnih enzima. Stoga se veliko povećanje antioksidativne aktivnosti u plodovima može povezati sa velikim povećanjem sadržaja vitamina C kao ne-enzimske antioksidativne komponente.

U uslovima stresa suše aktiviraju se različiti nivoi antioksidativne odbrane, kao što su enzimatske komponente tipa superoksid-dismutaze, glutation reduktaze i askorbat peroksidaze (Zgallai et al., 2006). Primena perioda rehidracije posle umerenog stresa suše održava aktivnost ovih enzima na visokom nivou, kao u periodima stresa (Murshed et al., 2008). Do porasta antioksidativne aktivnosti dolazi i usled aktivacije neenzimatskih sistema odbrane i akumulacije ukupnih fenola i flavonoida (Klunklin i Savage, 2017), kao i akumulacije karotenoida (Sánchez-Rodríguez et al., 2010). Antioksidativna aktivnost u plodovima biljaka izloženih jakom stresu suše dovodi do porasta antioksidativne aktivnosti kod četiri različita genotipa za 7-271%, što ukazuje na visoku genotipsku specifičnost promene ovog parametra pod dejstvom jake suše (Klunklin i Savage, 2017). Rezultati praćenja uticaja stresa suše i stresa soli na paradajz su pokazali da oba stresa izazivaju značajno povećanje koncentracije  $H_2O_2$  i koncentracije malondialdehida, koji je produkt lipidne peroksidacije i stoga indikator stepena oksidativnog oštećenja polisaturisanih masnih kiselina ćelijske membrane (Giannakoula i Ilias, 2013).

Poređenje vrednosti vitamina C i antioksidativnog kapaciteta sa MAGIC TOM populacijom pokazuje da je u uslovima umerenog stresa u oba ogleđa došlo do većeg povećanja i vitamina C i antioksidativne aktivnosti. Procenat promene je bio visoko genotipski specifičan, kao što i vrednosti u uslovima optimalnog navodnjavanja variraju u određenom procentu. Genotipsku specifičnost reakcije biljaka na oksidativni stres su

potvrdili i rezultati drugih autora (Kavitha et al., 2013; Nour et al., 2015; Coyago-Cruz et al., 2018).

Pokazatelj kvaliteta plodova, ali i antioksidativna komponenta je i karotenoid likopen koji kod paradajza ima značajnu ulogu u uklanjanju slobodnih radikala (Sánchez-Rodríguez et al., 2012). Ispitivanja promena sadržaja sekundarnih metabolita tokom sazrevanja plodova paradajza su pokazala da količina likopena i flavonoida raste tokom napredovanja procesa sazrevanja plodova. Likopen počinje da raste od faze promene boje ploda, tzv. turning stadijuma do faze pune zrelosti, kada je najveći porast sadržaja likopena upravo prisutan u finalnoj fazi sazrevanja (Nour et al., 2014; Ye et al., 2015).

Koncentracije likopena u našim oglecima, u uslovima kontrole, su u skladu sa rezultatima zabeleženim od strane drugih autora (Sánchez-Rodríguez et al., 2012; Kavitha et al., 2013; Pavlović et al., 2017). Istraživanja efekata stresa suše na sadržaj likopena su pokazala da vodni deficit može uticati pozitivno na sadržaj likopena (Favati et al., 2009), ali i negativno (De Pascale et al., 2007). Rezultati Giannakoula i Ilias (2013) su pokazali da stres soli izaziva povećanje sadržaja likopena u plodovima, ali da pod uticajem stresa suše ne dolazi do promene u koncentraciji ovog metabolita. Smanjenje sadržaja likopena je moguće usled smanjenje količine saharoze u perikarpu paradajza (Telef et al., 2006).

Naši rezultati su pokazali da je u optimalnim uslovima vodnog režima sadržaj likopena bio za 13% veći u plodovima mutanta *flacca* nego u plodovima divljeg tipa. Suša je delovala u zavisnosti od stepena stresa i ispitivanih genotipova. U umerenoj suši je došlo do povećanja sadržaja likopena u plodovima divljeg tipa (23%), kao i u jakoj suši (37%), iako su se plodovi nalazili u ranijoj fazi u odnosu na zrele plodove u umerenoj suši (Tab. 18 i 29). Nasuprot tome, i umerena i jaka suša su izazvale smanjenje koncentracije likopena u plodovima *flacca* biljaka (za 18% i 26%).

Koncentracija karotenoida je negativno korelisana sa sadržajem abscisinske kiseline, što objašnjava veću akumulaciju likopena u plodovima genotipa *flacca* u kontrolnim uslovima, u oba ogleada. Ovi rezultati su u skladu sa rezultatima drugih autora, koju su kod ABA-deficitarnih mutanata *flacca* i *sitiens* u optimalnim uslovima gajenja zabeležili 35% više karotenoida nego u divljem tipu i ovo povećanje je uglavnom bazirano na povećanju koncentracije likopena (Galpaz et al., 2008). Takođe,

ovi mutanti se odlikuju i većim brojem plastida (36% više kod mutanta *flacca* i 59% više kod mutanta *sitiens*). Razlike u sadržaju likopena u odnosu na divlji tip su postale očigledne već u fazi zelenog ploda koji je završio svoje rasteenje (tzv. mature green faza) (Galpaz et al., 2008). Redukovane koncentracije ABA ne samo da utiču na sadržaj karotenoida, već i produžavaju dužinu skladištenja plodova posle branja. Plodovi biljaka kod kojih je bila suprimirana ekspresija *NCED* gena su bili čvršći i pogodniji za duže skladištenje (Sun et al., 2012). Ovi rezultati ukazuju na ulogu koju ABA ima u procesu razvića i sazrevanja plodova (Yang i Feng, 2015).

Poređenja efekata umerenog i jakog stresa suše na akumulaciju likopena su pokazala da je u umerenoj suši povećan sadržaj likopena kod Ailsa Craig rezultat koncentracionog efekta, dok smanjen sadržaj likopena kod *flacca* mutanta ukazuje na više izražen metabolički efekat. Sadržaj likopena u plodovima Ailsa Craig u uslovima jake suše je prevashodno povećan usled koncentracionog efekta, dok kod mutanta *flacca* smanjenje sadržaja likopena na bazi sveže i suve mase ukazuje na izraženije metaboličke promene u sintezi likopena.

U uslovima umerene suše, kod većine genotipova MAGIC TOM populacije je zabeleženo smanjenje sadržaja likopena, mada je kod jednog genotipa zabeležen i stimulatívni efekat umerene suše na akumulaciju likopena u plodu. Kao i u slučaju MAGIC TOM populacije, i kod genotipova Ailsa Craig i *flacca* akumulacija likopena jeste visoko genotipski specifična.

## 7. ZAKLJUČAK

Na osnovu rezultata istraživanja ove disertacije mogu se izvesti sledeći zaključci:

1. Ispitivanja efekata suše na listove genotipova MAGIC TOM populacije, a na osnovu promena u provodljivosti stominih ćelija i potencijalu vode, su pokazala da su biljke bile izložene umerenom stepenu stresa suše, kao i da su se genotipske razlike ispoljile samo u reakcijama stominih ćelija. Pri tome je redukcija provodljivosti stoma bila više izražena kod genotipova sa krupnim plodovima (Levovil i LA0147) i to za prosečno 65%, što ukazuje na njihovu veću osetljivost u odnosu na čeri genotipove (Plovdiv i LA1420) kod kojih je redukcija bila oko 44%. Reakcije stominih ćelija se mogu objasniti i na osnovu koncentracije abscisinske kiseline (ABA) u listovima u uslovima suše, koja je kod genotipova sa krupnim plodovima bila značajno veća (prosečno za 42%) od koncentracije u listovima čeri genotipova (prosečno za 14%). Ovi podaci, kao i odsustvo genotipskih razlika u potencijalu vode, indirektno ukazuju da se razlike u provodljivosti stoma mogu objasniti hemijskim, a ne hidrauličnim signalima suše.
2. Analiza uticaja suše na fiziološke procese u listovima je pokazala da je suša izazvala redukciju specifične lisne površine (SLA) kod svih genotipova, pri čemu je stepen redukcije bio izraženiji kod čeri (prosečno za 34%), u odnosu na genotipove sa krupnim plodovima (prosečno za 12%). Rezultati merenja fluorescencije hlorofila, kao indikatora efekta i stepena suše na proces fotosinteze, su pokazali da se kod svih genotipova pod dejstvom suše redukovao odnos  $F_v/F_m$ , ali i da je to bilo manje izraženo kod čeri genotipova (za 12%) u odnosu na genotipove sa krupnim plodovima (za 22%). To upućuje na zaključak da je fotosintetski aparat u listovima čeri genotipova manje osetljiv na sušu u odnosu na listove genotipova sa krupnim plodovima.

3. Rezultati merenja pokazatelja biohemijskih i metaboličkih procesa su pokazali da su heksoze (glukoze + fruktoze) bili preovlađujući šećeri u listovima svih MAGIC TOM genotipova, i u uslovima optimalnog vodnog režima i u suši. U suši je došlo do povećanja sadržaja heksoza, a posebno glukoze i to više kod čeri genotipova (Plovdiva za 67% i LA1420 za 161%) u odnosu na kod krupne (Levovil za 55%), a slično je utvrđeno i za saharozu. Na osnovu toga se može zaključiti da je veća sposobnost listova čeri genotipova u odnosu na krupne, da u suši nastave proces fotosinteze. Ispitivanja sadržaja organskih kiselina u suši su pokazala statistički značajno povećanje samo kod krupnih plodova. Ovi rezultati ukazuju da se održanje potencijala vode u suši u listovima genotipova sa krupnim plodovima ostvaruje na račun akumulacije organskih kiselina kao osmotikuma, a kod listova čeri genotipova na račun akumulacije šećera.
4. Suša je dovela do povećanja ukupnog antioksidativnog kapaciteta listova, kao i sadržaja vitamina C kod svih ispitivanih MAGIC TOM genotipova, pri čemu je stepen promene bio izraženiji kod čeri genotipova u odnosu na genotipove sa krupnim plodovima. Na osnovu toga se može zaključiti da listovi čeri genotipova izloženi suši, imaju veći kapacitet za aktivaciju odbrambenog antioksidativnog sistema od listova genotipova sa krupnim plodovima.
5. Rezultati ispitivanja efekata suše na plodove su pokazali da je umereni stres suše imao negativan efekat na svežu masu ploda kod svih analiziranih genotipova iz MAGIC TOM populacije, da je redukcija prečnika (veličine) plodova statistički bila značajna samo kod čeri genotipova (za 26%), a što ukazuje da je stres bio više izražen kod čeri nego kod krupnih plodova. Veći stepen povećanja sadržaja hormona ABA u plodovima kod čeri genotipova (Plovdiv za 65% i LA1420 za 55%), u odnosu na genotipove sa krupnim plodovima (Levovil za 45%, a LA0147 za 39%), može da objasni razlike u veličini plodova ispitivanih genotipova izloženih stresu suše.
6. Na osnovu ispitivanja uticaja suše na komponente primarnog metabolizma (rastvorljivih šećera i organskih kiselina) u plodovima i analize ovih promena sa

aspekta metaboličkog i koncentracionog efekta, može se zaključiti da je povećanje sadržaja heksoza kod svih genotipova nastalo kao rezultat koncentracionog efekta. Povećanje sadržaja saharoze, posebno izraženo kod krupnih plodova, nastalo je kao posledica koncentracionog i metaboličkog efekta. Značajno povećanje ukupne količine organskih kiselina kod svih analiziranih genotipova, a posebno kod krupnih plodova u uslovima stresa suše, nastalo je kao posledica i koncentracionog i metaboličkog efekta.

7. Na osnovu analize karotenoida, kao komponenti sekundarnog metabolizma u plodovima, može se zaključiti da su genotipske razlike između čeri i krupnih plodova bile najviše izražene u koncentracijama fitoena i likopena, koje su u suši i kontroli bile veće u čeri plodovima, u odnosu na krupne plodove. Sličan trend je utvrđen i u sadržaju  $\beta$ -karotena. Izrazito povećana akumulacija fitoena u suši (za 71%), kao i likopena (za 50%) koja je utvrđena kod genotipa LA1420, nastala je kao rezultat i koncentracionog i metaboličkog efekta. Suša je izazvala povećanja koncentracije vitamina C u svežoj masi plodova svih analiziranih genotipova, posebno kod čeri plodova (prosečno za 46%) u odnosu na krupne plodove (prosečno za 18%), i to prvenstveno na osnovu koncentracionog efekta.
8. Rezultati ispitivanja su pokazali da je stres suše u plodovima, kao i u listovima ispitivanih genotipova, indukovao povećanje ukupnog antioksidativnog kapaciteta kod svih analiziranih genotipova, s tim što je ovaj efekat bio izraženiji kod čeri genotipova (prosečno za 68%) u odnosu na genotipove sa krupnim plodovima (prosečno za 45%). Na osnovu ispitivanja neenzimskih komponenti antioksidativnih sistema, može se zaključiti da je povećanju antioksidativnog kapaciteta čeri plodova u velikoj meri doprinela povećana koncentracija likopena i  $\beta$ -karotena.
9. Među ispitivanim genotipovima MAGIC TOM populacije, prema reakcijama na stres suše, posebno se istakao genotip LA1420. koji je srodan divljim rođacima paradajza. Kod njega je u uslovima umerenog stresa suše došlo do izražene akumulacije heksoznih šećera i karotenoida u plodovima u odnosu na druge



genotipove, što se odrazilo na poboljšanje kvaliteta plodova. To ukazuje da ovaj genotip ima karakterističan adaptivni odgovor u uslovima vodnog deficita, kao i to da se, sa aspekta genetičkog diverziteta, LA1420 može koristiti u savremenim selekcionim programima za stvaranja paradajza tolerantnog na stres suše.

10. Ispitivanja efekata suše na pokazatelje vodnog režima u listovima Ailsa Craig i mutanta *flacca* su pokazala da su ovi efekti na oba genotipa zavisili od stepena stresa kome su biljke bile izložene. Stres jake suše je izazvao veći efekat na zatvaranje stominih ćelija i pad potencijala vode i kod divljeg tipa (za 83% i 0,91 MPa) i kod mutanta (za 62% i 1,22 MPa), u poređenju sa umerenim stresom u listovima divljeg tipa (za 52% i 0,47 MPa) i *flacca* (za 33% i 0,72 MPa). Ovi rezultati su pokazali da su *flacca* biljke bile izložene većem stepenu stresa od Ailsa Craig biljaka. Do toga je došlo zbog smanjene sposobnosti *flacca* biljaka da u uslovima suše zatvore stome i tako spreče dehidraciju i opadanje turgora u listovima.
11. Suša je kod oba genotipa izazvala smanjenje specifične lisne površine (SLA), ali je ona kod Ailsa Craig bila više izražena u uslovima umerene suše, a kod mutanta *flacca* u jakoj suši. Kod oba genotipa jaka suša je, više od umerene suše, izazvala i redukciju sadržaja hlorofila u listovima, ali je taj efekat zavisio od faze sazrevanja plodova u toku koje su uzorci listova analizirani. Najveći efekat se kod oba genotipa ispoljio u ranijoj fazi sazrevanja ploda (tzv. turning fazi), što ukazuje na povezanost biosinteze hlorofila i procesa sazrevanja plodova.
12. Umereni i jak stres suše izazvao je povećanje ukupnog antioksidativnog kapaciteta listova, kao i sadržaja vitamina C, i kod Ailsa Craig i kod *flacca*, ali je manji stepen promene u uslovima i umerene i jake suše detektovan kod mutanta *flacca* (za 14% i 30%) u odnosu na divlji tip (za 34% i 51%). Slična je promena utvrđena i za vitamin C koji se u manjoj meri akumulirao u listovima *flacca* (za 11% i 9%) u odnosu na divlji tip (za 17% i 21%). Na osnovu toga se može

zaključiti da je ABA-mutacija dovela i do smanjenja kapaciteta za odbranu od oksidativnog stresa izazvanog sušom.

13. Oba tretmana suše su dovela do povećanja akumulacije ABA u listovima i korenovima, ali je veći stepen akumulacije kod oba genotipa izmeren u jakoj u odnosu na umerenu sušu, kao i očekivano kod divljeg tipa u odnosu na *flacca*. Manja akumulacija ABA u listovima *flacca* (sa 243,36 na 541,70 ng/g sveže mase) u odnosu na divlji tip (sa 387,93 na 1326,99 ng/g sveže mase) može da objasni manju redukciju otvorenosti stoma i odgovarajuće promene u transpiraciji i potencijalu vode. Analize akumulacije ABA u listovima i korenovima i vrednosti potencijala vode, indirektno ukazuju da su reakcije stominih ćelija i rasteња listova kod *flacca* primarno rezultat dejstva hidrauličnih signala, a kod divljeg tipa kombinacije hidrauličnih i hemijskih signala.
  
14. Efekat umerene suše je ispitivan kod zrelih plodova, dok su ispitivanja efekata jake suše obuhvatila plodove u ranijoj fazi razvića tzv. turning fazi, kada je jak stres suše onemogućio njihovo dalje sazrevanje. Analiza rezultata je pokazala da je suša u oba tretmana, delovala tako što je došlo do smanjenja sveže mase plodova i njihove veličine (prečnika), i da su ovi efekti bili više izraženi u jakoj, u odnosu na umerenu sušu. Pošto se suva masa plodova nije značajno razlikovala u oba tretmana suše može se zaključiti da je redukcija veličine plodova nastala kao rezultat dejstva suše na procese rasteња i izduživanja ćelija. U tome posebno značajnu ulogu ima hormon ABA čija je veća koncentracija, slično kao i u listovima i korenovima, izmerena i u perikarpu plodova divljeg tipa, u odnosu na perikarp *flacca* genotipa.
  
15. Ispitivanja efekata suše na komponente primarnog metabolizma u plodovima su pokazala da je efekat na akumulaciju šećera bio više izražen u jakoj suši i to i kod divljeg tipa (za 41%) i kod mutanta (za 25%), u poređenju sa efektima umerene suše na plodove Ailsa Craig (27%) i *flacca* (10%). Analiza rezultata ukazuje i da je u uslovima umerene suše povećan sadržaj ukupnih šećera rezultat

koncentracionog efekta, pri čemu se kod mutanta *flacca* ne isključuje mogućnost da je došlo i do promena u metabolizmu plodova. Rezultati za jaku sušu kod tzv. turning plodova oba genotipa ukazuju na još izraženiji koncentracioni efekat. Sadržaj organskih kiselina je pod uticajem umerene suše povećan za 50% u zrelim plodovima divljeg tipa i 47% kod *flacca*, dok je jaka suša izazvala veći procenat povećanja njihovog sadržaja u tzv. turning plodovima kod oba genotipa, posebno kod *flacca* mutanta (za 60%). Na osnovu ovih analiza može se zaključiti da su promene u oba tretmana suše nastale kao rezultat koncentracionog efekta.

16. Ispitivanja efekata suše na komponente sekundarnog metabolizma (vitamin C i likopen) su pokazala da je efekat zavisio od stepena stresa i ispitivanih genotipova. Umerena i jaka suša su izazvale povećanja vitamina C u plodovima oba genotipa i to mnogo više kod divljeg tipa (za 84% i 245%) u odnosu na plodove *flacca* (za 55% i 178%). Do toga je došlo kao posledica i koncentracionog i metaboličkog efekta suše kod plodova oba genotipa. Sličan efekat u odnosu na stepen stresa je utvrđen i za sadržaj likopena u plodovima divljeg tipa (povećanje za 23% i 37%), i to prvenstveno kao rezultat koncentracionog efekta. Umerena i jaka suša su u *flacca* plodovima redukovali sadržaj likopena (za 18% i 27%), a što ukazuje na metaboličke promene u sintezi ovog karotenoida.
17. Tretmani suše su doveli do povećanja ukupnog antioksidativnog kapaciteta u plodovima. To je bilo posebno izraženo kod plodova izloženih jakoj suši koja je izazvala veći procenat povećanja antioksidativnog kapaciteta kod Ailsa Craig (za 109%), u odnosu na *flacca* (za 65%). U umerenoj suši povećanje u zrelim plodovima je bilo znatno manje i kod divljeg tipa (za 52%), i kod mutanta *flacca* (za 42%). Genotipske razlike u ovim ispitivanjima potvrđuju rezultate za listove da je ABA-mutacija smanjila kapacitet *flacca* biljaka za otklanjanje efekata oksidativnog stresa koji često prati stres suše.

18. Na osnovu poređenja reakcija ABA-mutanta i divljeg tipa može se zaključiti da je akumulacija ABA od značaja ne samo za održanje vodenog režima i adaptivnih reakcija na stres suše u listovima paradajza, već i za očuvanje kvaliteta plodova izloženih suši. Od posebnog značaja su osobine plodova koje doprinose ne samo njegovoj nutritivnoj vrednosti (šećeri organske kiseline), već i kvalitetu sa aspekta lekovitih osobina (karotenoidi, vitamin C i antioksidativna aktivnost).

## 8. LITERATURA

- Adalid, A.M., Roselló, S., Nuez, F. (2010): Evaluation and selection of tomato accessions (*Solanum* section *Lycopersicon*) for content of lycopene,  $\beta$ -carotene and ascorbic acid. *Journal of Food Composition and Analysis* 23(6):613-618.
- Al Hassan, M., Martinez Fuertes, M., Ramos Sanchez, F.J., Vicente, O., Boscaiu, M. (2015): Effects of Salt and Water Stress on Plant Growth and on Accumulation of Osmolytes and Antioxidant Compounds in Cherry Tomato. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici* 43(1):1-1.
- Albacete, A., Cantero-Navarro, E., Grosskinsky, D. K., Arias, C. L., Balibrea, M. E., Bru, R., Fragner, L., Ghanem, M.E., Cruz Gonzales, M., Hernandez, J.A., Martinez-Andujar, C., Graaf, E., Weckwerth, W., Zellnig, G., Perez-Alfocea, F., Roitsch, T. (2015): Ectopic overexpression of the cell wall invertase gene CIN1 leads to dehydration avoidance in tomato. *Journal of Experimental Botany* 66(11):3431-3432.
- Anton, D., Bender, I., Kaart, T., Roasto, M., Heinonen, M., Luik, A., Püssa, T. (2017): Changes in Polyphenols Contents and Antioxidant Capacities of Organically and Conventionally Cultivated Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) Fruits during Ripening. *International Journal of Analytical Chemistry* 2017:1-10.
- Araujo, W.L., Nunes-Nesi, A., Nikoloski, Z., Sweetlove, L.J., Fernie, A.R. (2012): Metabolic control and regulation of the tricarboxylic acid cycle in photosynthetic and heterotrophic plant tissues. *Plant, Cell and Environment* 35:1-21.
- Arve, L. E., Torre, S. (2015): Ethylene is involved in high air humidity promoted stomatal opening of tomato (*Lycopersicon esculentum*) leaves. *Functional Plant Biology* 42(4):376.
- Asch, F. (2000): Laboratory Manual on Determination of Abscisic Acid by indirect Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA). Technical Series 1-2000, The Royal Veterinary and Agricultural University, 1-21.
- Astacio, M.G., Iersel, M.W. (2011): Concentrated Exogenous Abscisic Acid Drenches Reduce Root Hydraulic Conductance and Cause Wilting in Tomato. *Hortscience* 46(12):1640-1645.
- Atkinson, N.J., Dew, T.P., Orfila, C., Urwin, P.E. (2011): Influence of combined biotic and abiotic stress on nutritional quality parameters in tomato (*Solanum lycopersicum*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59:9673-9682.
- Azzi, L., Deluche, C., Gévaudant, F., Frangne, N., Delmas, F., Hernould, M., Chevalier, C. (2015): Fruit growth-related genes in tomato. *Journal of Experimental Botany* 66(4):1075-1086.
- Bai, Y., Lindhout, P. (2007): Domestication and Breeding of Tomatoes: What have We Gained and What Can We Gain in the Future? *Annals of Botany* 100(5):1085–1094.
- Baldet, P., Hernould, M., Laporte, F., Mounet, F., Just, D., Mouras, A., Chevalier, C., Rotha, C. (2006): The expression of cell proliferation-related genes in early developing flowers is affected by a fruit load reduction in tomato plants. *Journal of Experimental Botany* 57:961-970.

- Baldwin, E.A., Goodner, K., Plotto, A.J. (2008): Interaction of volatiles, sugars, and acids on perception of tomato aroma and flavor descriptors. *Journal of Food Science* 73(6):294-307.
- Bapat, V.A., Trivedi, P.K., Ghosh, A., Sane, V.A., Ganapathi, T.R., Nath, P. (2010): Ripening of fleshy fruit: molecular insight and the role of ethylene. *Biotechnological Advances* 28:94-107.
- Barickman, T.C., Kopsell, D.A., Sams, C. E. (2014): Abscisic Acid Increases Carotenoid and Chlorophyll Concentrations in Leaves and Fruit of Two Tomato Genotypes. *Journal of The American Society for Horticultural Science* 139(3):261-266.
- Barickman, C., Kopsell, D.A, Sams, C. (2016): Abscisic Acid Impacts Tomato Carotenoids, Soluble Sugars, and Organic Acids. *HortScience* 51(4):370-376.
- Barry, C. S., Giovannoni, J. J. (2007): Ethylene and fruit ripening. *Journal of Plant Growth Regulation* 26(2):143-159.
- Barry, C. S., Aldridge, G. M., Herzog, G., Ma, Q., McQuinn, R. P., Hirschberg, J., Giovannoni, J. J. (2012): Altered chloroplast development and delayed fruit ripening caused by mutations in a zinc metalloprotease at the lutescent2 locus of tomato. *Plant Physiology* 159(3):1086-1098.
- Bastías, A., Lopez-Climent, M., Valcarcel, M., Rosello, S., Gómez Cadenas, A., Casaretto, J.A. (2011): Modulation of organic acids and sugar content in tomato fruits by an abscisic acid-regulated transcription factor. *Physiologia Plantarum* 141:215-226.
- Bastías, A., Yañez, M., Osorio, S., Arbona, V., Gómez-Cadenas, A., Fernie, A.R., Casaretto, J.A. (2014): The transcription factor AREB1 regulates primary metabolic pathways in tomato fruits. *Journal of Experimental Botany* 65(9):2351-63.
- Batista-Silva, W., Nascimento, V.L., Medeiros, D.B., Nunes-Nesi, A., Ribeiro, D.M., Zsögön, A., Araújo, W.L. (2018): Modifications in Organic Acid Profiles During Fruit Development and Ripening: Correlation or Causation? *Frontiers in Plant Science* 9:1689.
- Beauvoit, B., Belouah, I., Bertin, N., Cakpo, C. B., Colombié, S., Dai, Z., Gautier, H., Moing, A., Roch, L., Vercambre, G., Gibon, Y. (2018): Putting primary metabolism into perspective to obtain better fruits. *Annals of Botany* 122:1-21.
- Beckles, D.M., Hong, N., Stamova, L., Luengwilai, K. (2012): Biochemical factors contributing to tomato fruit sugar content: a review. *Fruits* 67(1):49-64.
- Benton Jones, J. (2007): *Tomato Plant Culture: In the Field, Greenhouse, and Home Garden*, 2nd Edition, CRC Press.
- Bergougnoux, V. (2013): The history of tomato: From domestication to biopharming. *Biotechnology Advances* 32(1):170-189.
- Bertin, N., Guichard, S., Leonardi, C., Longuenesse, J.J., Langlois, D., Navez B. (2000): Seasonal evolution of the quality of fresh glasshouse tomatoes under Mediterranean conditions, as affected by air vapour pressure deficit and plant fruit load. *Annals of Botany* 85:741-750.
- Bertin, N., Borel, C., Brunel, B., Cheniclet, C., Causse, M. (2003): Do genetic makeup and growth manipulation affect tomato fruit size by cell number, or cell size and DNA endoreduplication? *Annals of Botany* 92:415-424.
- Bertin, N., Genard, M. (2018): Tomato quality as influenced by preharvest factors. *Scientia Horticulturae* 233:264-276.

- Bhatt, R.M., Rao, N.K.S., Upreti, K.K., Shobha, H.S. (2009): Floral abscission and changes in sucrose phosphate synthase and invertase activities in water deficit tomato. *Indian Journal of Plant Physiology* 14(4):370-376.
- Biais, B., Bénard, C., Beauvoit, B., Colombié, S., Prodhomme, D., Ménard, G., Bernillon, S., Gehl, B., Gautier, H., Ballias, P., Mazat, J.P., Sweetlove, L., Génard, M., Gibon, Y. (2014): Remarkable Reproducibility of Enzyme Activity Profiles in Tomato Fruits Grown under Contrasting Environments Provides a Roadmap for Studies of Fruit Metabolism. *Plant Physiology* 164(3):1204-1221.
- Bogale, A., Nagle, M., Latif, S., Aguila, M., Müller, J. (2016): Regulated deficit irrigation and partial root-zone drying irrigation impact bioactive compounds and antioxidant activity in two select tomato cultivars. *Scientia Horticulturae* 213:115-124.
- Borba, M.E.A., Maciel, G.M., Fraga Júnior, E.F., Machado Júnior, C.S., Marquez, G.R., Silva, I.G., Almeida, R.S. (2017): Gas exchanges and water use efficiency in the selection of tomato genotypes tolerant to water stress. *Genetics and Molecular Research* 16(2):1-9.
- Bradford, K.J., Hsiao, T.C. (1982): Stomatal behaviour and water relations of waterlogged tomato plants. *Plant Physiology* 70:1508-1513.
- Brummell, D. A. (2006): Cell wall disassembly in ripening fruit. *Functional Plant Biology* 33:103-119.
- Bsoul, E.Y., Al-Afaeshat, A., Qaryouti, M. (2016): Growth, water relation and physiological responses of drought stressed Irhaba tomato landrace as compared with Amani and GS-12 cultivars. *Journal of Food, Agriculture and Environment* 14(1):78-84.
- Burbidge, A., Grieve, T.M., Jackson, A., Thompson, A., McCarty, D.R., Taylor, I.B. (1999): Characterization of the ABA-deficient tomato mutant *notabilis* and its relationship with maize vp14. *Plant Journal* 17:427-431.
- Calcagno, A.M., Rivas, M., Castrillo, M. (2011): Structural, physiological and metabolic integrated responses of two tomato (*Solanum lycopersicum* L.) cultivars during leaf rehydration. *Australian Journal of Crop Science* 5(6):695-701.
- Cantwell, M. (2010): Optimum Procedures for Ripening Tomatoes. In: Thompson, J.T., Crisosto, C. (Eds.), *Fruit Ripening and Ethylene Management*, UC Postharvest Horticulture Series 9:106-116.
- Capel, C., Fernández del Carmen, A., Alba, J. M., Lima-Silva, V., Hernández-Gras, F., Salinas, M., Boronat, A., Angosto, T., Botella, M.A., Fernández-Muñoz, R., Granell, A., Capel, J., Lozano, R. (2015): Wide-genome QTL mapping of fruit quality traits in a tomato RIL population derived from the wild-relative species *Solanum pimpinellifolium* L. *Theoretical and Applied Genetics* 128(10):2019-2035.
- Carrari, F., Fernie, A.R. (2006): Metabolic regulation underlying tomato fruit development. *Journal of Experimental Botany* 57:1883-1897.
- Carrari, F., Asis, R., Fernie, A.R. (2007): The metabolic shifts underlying tomato fruit development. *Plant Biotechnology* 24:45-55.
- Causse, M. (2002): QTL analysis of fruit quality in fresh market tomato: a few chromosome regions control the variation of sensory and instrumental traits. *Journal of Experimental Botany* 53(377):2089-2098.

- Causse, M., Buret, M., Robini, K., Verschave, P. (2003): Inheritance of nutritional and sensory quality traits in fresh market tomato and relation to consumer preferences. *Journal of Food Science* 68:2342-2350.
- Causse, M., Friguier, C., Coiret, C., Lépiciier, M., Navez, B., Lee, M., Holthuysen, N., Sinesio, F., Moneta, E., Grandillo, S. (2010): Consumer preferences for fresh tomato at the European scale: a common segmentation on taste and firmness. *Journal of Food Science* 75(9):531-541.
- Cavanagh, C., Morell, M., Mackay, I., Powell, W. (2008): From mutations to MAGIC: resources for gene discovery, validation and delivery in crop plants. *Current Opinion in Plant Biology* 11:215-221.
- Centeno, D.C., Osorio, S., Nunes-Nesi, A., Bertolo, A.L., Carneiro, R.T., Araújo, W.L., Steinhauser, M.C., Michalska, J., Rohrmann, J., Geigenberger, P., Oliver, S.N., Stitt, M., Carrari, F., Rose, J.K.C., Fernie, A.R. (2011): Malate plays a crucial role in starch metabolism, ripening, and soluble solid content of tomato fruit and affects postharvest softening. *Plant Cell* 23:162-184.
- Chaves, M.M., Maroco, J.P., Pereira, J.S. (2003): Understanding plant responses to drought - from genes to the whole plant. *Functional Plant Biology* 30:239-264.
- Chaves, M.M., Oliveira, M.M. (2004): Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. *Journal of Experimental Botany* 55(407):2365-2384.
- Chaves, M.M., Flexas, J., Pinheiro, C. (2009): Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany* 103:551-60.
- Chen, G., Shi, Q., Lips, S.H., Sagi, M. (2003): Comparison of growth of *flacca* and wild-type tomato grown under conditions diminishing their differences in stomatal control. *Plant Science* 164:753-757.
- Chen, J., Kang, S., Du, T., Qiu, R., Guo, P., Chen, R. (2013): Quantitative response of greenhouse tomato yield and quality to water deficit at different growth stages. *Agricultural Water Management* 129:152-162.
- Chen, S., Zhou, Z.J., Andersen, M.N., Hua, T. (2015): Tomato yield and water use efficiency – coupling effects between growth stage specific soil water deficit. *Acta Agriculturae Scandinavica* 65(5):460-469.
- Cheniclet, C., Rong, W.Y., Causse, M., Frangne, M., Bolling, L., Carde, J.P., Renaudin, J.P. (2005): Cell expansion and endoreduplication show a large genetic variability in pericarp and contribute strongly to tomato fruit growth. *Plant Physiology* 139:1984-1994.
- Chevalier, C., Nafati, M., Mathieu-Rivet, E., Bourdon, M., Frangne, N., Cheniclet, C., Gevaudant, F., Hernould, M. (2011): Elucidating the functional role of endoreduplication in tomato fruit development. *Annals of Botany* 107(7):1159-1169.
- Colombié, S., Nazaret, C., Bénard, C., Biais, B., Mengin, V., Solé, M., Fouillen, L., Dieuaide-Noubhani, M., Mazat, J-P., Beauvoit, B., Gibon, Y. (2015): Modelling central metabolic fluxes by constraint-based optimization reveals metabolic reprogramming of developing *Solanum lycopersicum* (tomato) fruit. *Plant Journal* 81:24-39.
- Costa, J.M., Heuvelink, E. (2005): The tomato crop and industry. In: Heuvelink, E. (Ed.), *Tomatoes*. Oxfordshire, CABInternational, pp. 1-19.



- Coyago-Cruz, E., Corell, M., Moriana, A., Hernanz, D., Benítez-González, A. M., Stinco, C. M., Meléndez-Martínez, A. J. (2018): Antioxidants (carotenoids and phenolics) profile of cherry tomatoes as influenced by deficit irrigation, ripening and cluster. *Food Chemistry* 240:870-884.
- Davies, W., Kudoyarova, G., Hartung, W. (2005): Long-distance ABA signaling and its relation to other signaling pathways in the detection of soil drying and the mediation of the plant's response to drought. *Journal of Plant Growth Regulation* 24:285-295.
- De Jong, M., Mariani, C., Vriezen, W.H. (2009): The role of auxin and gibberellin in tomato fruit set. *Journal of Experimental Botany* 60:1523-1532.
- De la Hera-Orts, M., Martínez-Cutillas, A., López-Roca, J., Gómez-Plaza, E. (2005): Effect of moderate irrigation on grape composition during ripening. *Spanish Journal of Agricultural Research* 3:352-361.
- De Ollas, C., Arbona, V., Goymezcadenas, A., Dodd, I.C. (2018): Attenuated accumulation of jasmonates modifies stomatal responses to water deficit. *Journal of Experimental Botany* 69(8):2103-2116.
- De Pascale, S., Martino, A., Raimondi, G., Maggio, A. (2007): Comparative analysis of water and salt stress-induced modifications of quality parameters in cherry tomatoes. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 82:283-289.
- Diouf, I.A., Derivot, L., Bitton, F., Pascual, L., Causse, M. (2018): Water Deficit and Salinity Stress Reveal Many Specific QTL for Plant Growth and Fruit Quality Traits in Tomato. *Frontiers in Plant Science* 9:279.
- Dodd, I.C. (2007): Soil moisture heterogeneity during deficit irrigation alters root-to-shoot signalling of abscisic acid. *Functional Plant Biology* 34:439-448.
- Dodd, I. C., Theobald, J. C., Richer, S. K., Davies, W. J. (2009): Partial phenotypic reversion of ABA-deficient *flacca* tomato (*Solanum lycopersicum*) scions by a wild-type rootstock: normalizing shoot ethylene relations promotes leaf area but does not diminish whole plant transpiration rate. *Journal of Experimental Botany* 60(14):4029-4039.
- Dorais, M., Ehret, D.L., Papadopoulos, A.P. (2008): Tomato (*Solanum lycopersicum*) health components: from the seed to the consumer. *Phytochemistry Reviews* 7(2):231-250.
- Duma, M., Alsina, I., Dubova, L., Erdberga, I. (2015): Chemical composition of tomatoes depending on the stage of ripening. *Chemine Technologia* 1(66):24-28.
- Etienne, A., Genard, M., Lobit, P., Mbeguie-A-Mbeguie, D., Bugaud, C. (2013): What controls fleshy fruit acidity? A review of malate and citrate accumulation in fruit cells. *Journal of Experimental Botany* 64:1451-1469.
- Fanciullino, A.L., Bidel, L.P.R., Urban, L. (2014): Carotenoid responses to environmental stimuli: integrating redox and carbon controls into a fruit model. *Plant, Cell and Environment* 37:273-289.
- Fang, Y., Xiong, L. (2015): General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants. *Cellular and Molecular Life Sciences* 72:673-689.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., Basra, S.M.A. (2009): Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development* 29:185-212.

- Favati, F., Lovelli, S., Galgano, F., Miccolis, V., Di Tommaso, T., Candido, V. (2009): Processing tomato quality as affected by irrigation scheduling. *Scientia Horticulturae* 122:562-571.
- Fenech, M., Amaya, I., Valpuesta V., Botella, M. (2019): Vitamin C Content in Fruits: Biosynthesis and Regulation. *Frontiers in Plant Science* 9:1-21.
- Foyer, C.H., Lelandais, M., Kunert, K.J. (1994): Photooxidative stress in plants. *Physiologia Plantarum* 92:696-717.
- Fraser, P.D., Truesdale, M.R., Bird, C.R., Schuch, W., Bramley, P.M. (1994): Carotenoid Biosynthesis during Tomato Fruit Development (Evidence for Tissue-Specific Gene Expression). *Plant Physiology* 105(1):405-413.
- Fridman, E., Carrari, F., Liu, Y-S., Fernie, A.R., Zamir, D. (2000): Zooming in on a quantitative trait for tomato yield using interspecific introgressions. *Science* 305:1786-1789.
- Frusciante, L., Carli, P., Ercolano, R. (2007): Antioxidant nutritional quality of tomato. *Molecular Nutrition and Food Research* 51(5):609-617.
- Galpaz, N., Wang, Q., Menda, N., Zamir, D., Hirschberg, J. (2008): Abscisic acid deficiency in the tomato mutant high-pigment 3 leading to increased plastid number and higher fruit lycopene content. *The Plant Journal* 53:717-730.
- Garchery, C., Gest, N., Do, P.T., Alhag Dow, M., Baldet, P., Menard, G., Rothan, C., Massot, C., Gautier, H., Aarouf, J., Fernie, A.R., Stevens, R. (2013): A diminution in ascorbate oxidase activity affects carbon location and improves yield in tomato under water deficit. *Plant, Cell and Environment* 36:159-175.
- Gautier, H., Diakou-Verdin, V., Bénard, C., Reich, M., Buret, M., Bourgaud, F., Poessel, J.L., Caris-Veyrat, C., Genard, M. (2008): How does tomato quality (sugar, acid, and nutritional quality) vary with ripening stage, temperature, and irradiance? *Journal of Agricultural and Food Biochemistry* 56(4):1241-1250.
- Gautier, H., Massot, C., Stevens, R., Sérino, S., Génard, M. (2009): Regulation of tomato fruit ascorbate content is more highly dependent on fruit irradiance than leaf irradiance. *Annals of Botany* 103(3):495-504.
- Gest, N., Gautier, H., Stevens, R. (2013): Ascorbate as seen through plant evolution: the rise of a successful molecule? *Journal of Experimental Botany* 64(1):33-53.
- Giannakoula, A., Ilias, I.F. (2013): The effect of water stress and salinity on growth and physiology of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Archives of Biological Sciences* 65(2):611-620.
- Gillaspy, G., Ben-David, H., Gruissem, W. (1993): Fruits: a developmental perspective. *Plant Cell* 5:1439-1451.
- Giovannoni, J.J. (2004): Genetic regulation of fruit development and ripening. *Plant Cell* 16:170-180.
- Gomez, L., Rubio, E., Auge, M. (2002): A new procedure for extraction and measurement of soluble sugars in ligneous plant. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 82:360-369.
- Gong, P., Zhang, J., Li, H., Yang, C., Zhang, C., Zhang, X., Khurram, Z., Zhang, Y., Wang, T., Fei, Z., Ye, Z. (2010): Transcriptional profiles of drought-responsive genes in modulating signal transduction and biochemical pathways in tomato. *Journal of Experimental Botany* 61(13):3563-3575.
- Gornall, J., Betts, R., Burke, E., Clark, R., Camp, J., Willett, K., Wiltshire, A. (2010): Implications of climate change for agricultural productivity in the early twenty-

- first century. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 365(1554):2973-2989.
- Grierson, D., Kader, A.A. (1986): Fruit ripening and quality, physiology and biochemistry of ripening. In: Atherton, J.G., Rudich, J. (Eds.), *The Tomato Crop, a Scientific Basis for Improvement*. Chapman and Hall, London, pp. 241-259.
- Guichard, S., Bertin, N., Leonardi, C., Gary, C. (2001): Tomato fruit quality in relation to water and carbon fluxes. *Agronomie* 21:385-392.
- Habauzit, V., Morand, C. (2012): Evidence for a protective effect of polyphenols containing foods on cardiovascular health: an update for clinicians. *Therapeutic Advances in Chronic Disease* 3:87-106.
- Hanson, B., May, M. (2004): Effect of subsurface drip irrigation on processing tomato yield, water table depth, soil salinity, and profitability. *Agricultural Water Management* 68:1-17.
- Hanson, J., Smeekens, S. (2009): Sugar perception and signaling – an update. *Current Opinion in Plant Biology* 12:562-567.
- Hashem, M.S., El-Abedin, T.Z., Al-Ghobari, H.M. (2018): Assessing effects of deficit irrigation techniques on water productivity of tomato for subsurface drip irrigation system. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering* 11(4):156-167.
- Hayat, S., Hasan, S.A., Fariduddin, Q., Ahmad, A. (2008): Growth of tomato (*Lycopersicon esculentum*) in response to salicylic acid under water stress. *Journal of Plant Interactions* 3(4):297-304.
- Heuvelink, E. (2005): Tomatoes. *Crop Production in Horticulture Volume 13*. Wallingford, UK, CABI Publishing.
- Hirschberg, J. (2001): Carotenoid biosynthesis in flowering plants. *Current Opinion Plant Biology* 4:210-8.
- Ho, L.C., Grange, R.I., Picken, A.J. (1987): An analysis of the accumulation of water and dry matter in tomato fruit. *Plant, Cell and Environment* 10:157-162.
- Hobson, G.E., Grierson, D. (1993): Tomato. In: Seymour, G., Taylor, J., Tucker, G. (Eds.), *Biochemistry of fruit ripening*. Springer Netherlands, pp. 405-442.
- Hounsome, N., Hounsome, B. (2011): Biochemistry of vegetables: Major classes of primary (carbohydrates, amino acids, fatty acids, vitamins, and organic acids) and secondary metabolites (terpenoids, phenolics, alkaloids, and sulfur-containing compounds) in vegetables. In: Sinha, N. K. (Ed.), *Handbook of Vegetables and Vegetable Processing*. Blackwell Publishing Ltd., Iowa, USA, pp. 23-58.
- Hsiao, T.C. (1973): Plant responses to water stress. *Annual Review of Plant Biology* 24:519-570.
- Huang, H.J., Zhang, Q., Feng, J.H., Peng, C.L. (2010): Does lutein play a key role in protection of photosynthetic apparatus in *Arabidopsis* under severe oxidative stress? *Pakistan Journal of Botany* 42(4):2765-2774.
- Hunt, R. (1982): *Plant growth curves: the functional approach to plant growth analysis*. Cambridge University Press, London.
- Hurtado-Salazar, A., Torres, J., Ceballos-Aguirre, N. (2018): Quality of Cherry Tomato Fruits under Conditions of Water and Saline Stress. *Food Science and Nutrition Technology* 3(4):1-7.
- Hussain, A., Black, C.R., Taylor, I.B., Roberts, J.A. (2000): Does antagonistic relationship between ABA and ethylene mediate shoot growth when tomato

- (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plants encounter compacted soil? *Plant, Cell and Environment* 23:1217-1226.
- Ikeda, H., Hiraga, M., Shirasawa, K., Nishiyama, M., Kanahama, K., Kanayama, Y. (2013): Analysis of a tomato introgression line, IL8-3, with increased Brix content. *Scientia Horticulturae* 153:103-108.
- Ilahy, R., Hdider, C., Lenucci, M.S., Tlili, I., Dalessadnro, G. (2011): Antioxidant activity and bioactive compound changes during fruit ripening of high-lycopene tomato cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis* 24:588-595.
- IPCC (2014): Climate Change 2014: Synthesis Report. In: Pachauri, R. K., Meyer, L. A. (Eds.), Proceedings of the Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, Core Writing Team, Geneva - IPCC, pp. 151.
- Jadav, S. K., Kirti Bardhan, K. Patel, D. P. (2017): Differential Early Stage Water Relations, Gaseous Exchange and Photosynthetic Responses of Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) to Water and Salt Stress. *British Journal of Applied Science and Technology* 19(6):1-13.
- Jia, W., Zhang, J. (2008): Stomatal movements and long-distance signaling in plants. *Plant Signaling and Behavior* 3(10):772-777.
- Jimenez, A., Creissen, G., Kular, B., Firmin, J., Robinson, S., Verhoeven, M., Mullineaux, P. (2002): Changes in oxidative processes and components of the antioxidant system during tomato fruit ripening. *Planta* 214:751-758.
- Jovanović, Z., Stikić, R. (2012): Strategies for improving water productivity and quality of agricultural crops in an era of climate change. In: Lee, T.S. (Ed.), *Irrigation Systems and Practices in Challenging Environments*, InTech. pp. 77-102.
- Kallsen, C.E., Sanden, B., Arpaia, M.L. (2011): Early navel orange fruit yield, quality, and maturity in response to late-season water stress. *HortScience* 46:1163-1169.
- Kamanga, R. M., Mbega, E., Ndakidemi, P. (2018): Drought Tolerance Mechanisms in Plants: Physiological Responses Associated with Water Deficit Stress in *Solanum lycopersicum*. *Advances in Crop Science and Technology* 6(3):362.
- Katsoulas, N., Kittas, C. (2008): Impact of greenhouse microclimate on plant growth and development with the special reference to the Solanaceae. *The European Journal of Plant Science and Biotechnology* 2(Special Issue 1):31-44.
- Kautz, B., Noga, G., Hunsche, M. (2014): Controlled Long-Term Water Deficiency and its Impact on the Fluorescence Emission of Tomato Leaves during Stress and Re-Watering. *European Journal of Horticultural Science* 79(2):60-69.
- Kavitha, P., Shivashankara, K. S., Rao, V. K., Sadashiva, A. T., Ravishankar, K. V., Sathish, G. J. (2013): Genotypic variability for antioxidant and quality parameters among tomato cultivars, hybrids, cherry tomatoes and wild species. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 94(5):993-999.
- Kawabata, S., Sasaki, H., Sakiyama, R. (2005): Role of transpiration from fruits in phloem transport and fruit growth in tomato fruits. *Physiologia Plantarum* 124(3):371-380.
- Klee, H.J., Giovannoni, J.J. (2011): Genetics and control of tomato fruit ripening and quality attributes. *Annual Review of Genetics* 45:41-59.
- Klunklin, W., Savage, G. (2017): Effect on Quality Characteristics of Tomatoes Grown Under Well-Watered and Drought Stress Conditions. *Foods* 6(8):56.

- Knapp, S., Peralta, I. E. (2016): The Tomato (*Solanum lycopersicum* L., Solanaceae) and Its Botanical Relatives. In: Causse, M. (Ed.). The Tomato Genome. Compendium of Plant Genome, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. pp.7-21.
- Kojima, K., Kuraishi, S., Sakurai, N., Fusao, K. (1993): Distribution of abscisic acid in different parts of the reproductive organs of tomato. *Scientia Horticulturae* 56:23-30.
- Kortstee, A.J., Appeldoorn, N.J.G., Oortwijn, M.E.P., Visser, R.G.F. (2007): Differences in regulation of carbohydrate metabolism during early fruit development between domesticated tomato and two wild relatives. *Planta* 226:929-939.
- Kumar, R., Khurana, A., Sharma, A.K. (2014): Role of plant hormones and their interplay in development and ripening of fleshy fruits. *Journal of Experimental Botany* 65:4561-75.
- Kumar, V., Irfan, M., Ghosh, S., Chakraborty, N., Chakraborty, S., Datta, A. (2016): Fruit ripening mutants reveal cell metabolism and redox state during ripening. *Protoplasma* 253(2):581-594.
- Kuromori, K., Seo, M., Shinozaki, K. (2018): ABA Transport and Plant Water Stress Responses. *Trends in Plant Science* 23(6):513-522.
- Kuşçu, H., Turhan, A., Demir, A.O. (2014): The response of processing tomato to deficit irrigation at various phenological stages in a sub-humid environment. *Agricultural Water Management* 133:92-103.
- Kuti, J.O., Konuru, B.H. (2005): Effects of genotype and cultivation environment on lycopene content in red-ripe tomatoes. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 85:2021-2026.
- Landi, S., De Lillo, A., Nurcato, R., Grillo, S., Esposito, S. (2017): In-field study on traditional Italian tomato landraces: The constitutive activation of the ROS scavenging machinery reduces effects of drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry* 118:150-160.
- Lemoine, R., Camera, S. L., Atanassova, R., Dédaldéchamp, F., Allario, T., Pourtau, N., Bonnemain, J.L., Laloi, M., Coutos-Thevenot P., Maurousset, L., Faucher, M., Girousse, C., Lemonnier, P., Parilla, J., Durand, M. (2013): Source-to-sink transport of sugar and regulation by environmental factors. *Frontiers in Plant Science* 4:272.
- Leng, P., Yuan, B., Leng, P. (2014): The role of abscisic acid in fruit ripening and responses to abiotic stress. *Journal of Experimental Botany*, 65(16):4577-4588.
- Li, Y., Ye, W., Wang, M., Yan, X. (2009): Climate change and drought: a risk assessment of crop-yield impacts. *Climate Research* 39:31-46.
- Litvin, A. G., van Iersel, M. W., Malladi, A. (2016): Drought Stress Reduces Stem Elongation and Alters Gibberellin-related Gene Expression during Vegetative Growth of Tomato. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 141(6):591-597.
- Liu, L., Wei, J., Zhang, M., Zhang, L., Li, C., Wang, Q. (2012): Ethylene independent induction of lycopene biosynthesis in tomato fruits by jasmonates. *Journal of Experimental Botany* 63:5751-5761.
- Lobell, D. B., Schlenker, W., Costa-Roberts, J. (2011): Climate trends and global crop production since 1980. *Science* 333:616-620.
- Lytovchenko, A., Eickmeier, I., Pons, C., Osorio, S., Szecowka, M., Lehmeberg, K., Arrivault, S., Tohge, T., Pineda, B., Anton, M.T., Hedtke, B., Lu, Y., Fisahn, J.,

- Bock, R., Stitt, M., Grimm, B., Granell, A., Fernie, A.R. (2011): Tomato fruit photosynthesis is seemingly unimportant in primary metabolism and ripening but plays a considerable role in seed development. *Plant Physiology* 157(4):1650-1663.
- Magwaza, L. S., Opara, U. L. (2015): Analytical methods for determination of sugars and sweetness of horticultural products-A review. *Scientia Horticulturae* 184:179-192.
- Manzi, M., Lado, J., Rodrigo, M. J., Zacarías, L., Arbona, V., Gómez-Cadenas, A. (2015): Root ABA Accumulation in Long-Term Water-Stressed Plants is Sustained by Hormone Transport from Aerial Organs. *Plant and Cell Physiology* 56(12):2457-2466.
- Mariotti, L., Picciarelli, P., Lombardi, L., Ceccarelli, N. (2011): Fruit-set and Early Fruit Growth in Tomato are Associated with Increases in Indoleacetic Acid, Cytokinin, and Bioactive Gibberellin Contents. *Journal of Plant Growth Regulation* 30(4):405-415.
- Marjanović, M., Jovanović, Z., Stikić, R., Vucelić Radović, B. (2015): The Effect of Partial Root-Zone Drying on Tomato Fruit Growth. *Procedia Environmental Sciences* 29:87.
- Massot, C., Génard, M., Stevens, R., Gautier, H. (2010): Fluctuations in sugar content are not determinant in explaining variations in vitamin C in tomato fruit. *Plant Physiology and Biochemistry* 48(9):751-757.
- McAdam E.L., Brodribb, T.J., McAdam, S.A.M. (2017): Does ozone increase ABA levels by non-enzymatic synthesis causing stomata to close? *Plant, Cell and Environment* 40:741-747.
- McAtee, P., Karim, S., Schaffer, R., David, K. (2013): A dynamic interplay between phytohormones is required for fruit development, maturation, and ripening. *Frontiers in Plant Science* 4:79.
- Meier, U. (2001): Growth stages of mono-and dicotyledonous plants. *BBCB Monograph*, Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry, pp. 158.
- Mellidou, I., Keulemans, J., Kanellis, A. K., Davey, M. W. (2012): Regulation of fruit ascorbic acid concentrations during ripening in high and low vitamin C tomato cultivars. *BMC Plant Biology* 12(1):239.
- Merilo, E., Yarmolinsky, D., Jalakas, P., Parik, H., Tulva, I., Rasulov, B., Kilk, K., Kollist, H. (2017): Stomatal VPD Response: There Is More to the Story Than ABA. *Plant Physiology* 176(1):851-864.
- Micallef, B.J., Haskins, K.A., Vanderveer, P.J. (1995): Altered photosynthesis, flowering and fruiting in transgenic tomato plants that have incnthesis. *Planta* 196:327-334.
- Miller, J.C., Tanksley, S.D. (1990): RFLP analysis of phylogenetic relationships and genetic variation in the genus *Lycopersicon*. *Theoretical and Applied Genetics* 80:437-448.
- Milosavljević, A., Prokić, Lj., Marjanović, M., Stikić, R., Sabovljević, A. (2012): The effects of drought on the expression of *TAOI*, *NCED* and *EIL1* genes and ABA content in tomato wild-type and *flacca* mutant. *Archives of Biological Sciences* 64(1):297-306.

- Mingo, D.M., Bacon, M.A., Davies, W.J. (2003): Non-hydraulic regulation of fruit growth in tomato plants (*Lycopersicon esculentum* cv. Solairo) growing in drying soil. *Journal of Experimental Botany* 54(385):1205-12.
- Mingo, D.M., Theobald, J.C., Bacon, M.A., Davies, W.J., Dodd, I.C. (2004): Biomass allocation in tomato (*Lycopersicon esculentum*) plants grown under partial root zone drying: enhancement of root growth. *Functional Plant Biology* 31:971-978.
- Mishra, K.B., Iannacone, R., Petrozza, A., Mishra, A., Armetano, N., La Vecchia, G., Trtilek, M., Cellini, F., Nedbal, L. (2012): Engineered drought tolerance in tomato plants is reflected in chlorophyll fluorescence emission. *Plant science* 182:79-86.
- Moles, T.M., Mariotti, L., De Pedro, L.F., Guglielminetti, L., Picciarelli, P., Scartazza, A. (2018): Drought induced changes of leaf-to-root relationships in two tomato genotypes. *Plant Physiology and Biochemistry* 128:24-31.
- Mondal, K., Sharma, N. S., Malhotra, S. P., Dhawan, K., Singh, R. (2004): Antioxidant Systems in Ripening Tomato Fruits. *Biologia Plantarum* 48(1):49-53.
- Moneruzzaman, K. M. A. B. M. S., Hossain, W. S., Safiuddin, M. (2008): Effect of stages of maturity and ripening conditions on the biochemical characteristics of tomato. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology* 4(4):336-344.
- Monteiro, C.C., Rolao, M.B., Franco, M.R., Peters, L.P., Cia, M.C., Capaldi, F.R., Carvalho, R.F., Gratao, P.L., Rossi, M.L., Martinelli, A.P., Peres, L.E.P., Azvedo, R. (2012): Biochemical and histological characterization of tomato. *Anais da Academia Brasileira de Ciências (Annals of the Brazilian Academy of Sciences)* 84(2):573-585.
- Moravčević, Đ., Todorović, V., Pavlović, N. (2017): Povrtarstvo (praktikum). Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, 102.
- Mou, W., Li, D., Luo, Z., Mao, L., Ying, T. (2015): Transcriptomic Analysis Reveals Possible Influences of ABA on Secondary Metabolism of Pigments, Flavonoids and Antioxidants in Tomato Fruit during Ripening. *PLoS ONE* 10(6):e0129598.
- Mou, W., Li, D., Bu, J., Jiang, Y., Khan, Z.U., Luo, Z., Mao, L., Ying, T. (2016): Comprehensive Analysis of ABA Effects on Ethylene Biosynthesis and Signaling during Tomato Fruit Ripening. *PLoS ONE* 11(4):e0154072.
- Muller, B., Pantin, F., Génard, M., Turc, O., Freixes, S., Piques, M., Gibon, Y. (2011): Water deficits uncouple growth from photosynthesis, increase C content, and modify the relationships between C and growth in sink organs. *Journal of Experimental Botany* 62(6):1715-1729.
- Muñoz, P., Munné-Bosch, S. (2018): Photo-Oxidative Stress during Leaf, Flower and Fruit Development. *Plant Physiology* 176:1004-1014.
- Muñoz-Espinoza, V.A., López-Climent, M.F., Casaretto, J.A., Gómez-Cadenas, A. (2015): Water Stress Responses of Tomato Mutants Impaired in Hormone Biosynthesis Reveal Abscisic Acid, Jasmonic Acid and Salicylic Acid Interactions. *Frontiers in Plant Science* 6:997.
- Murshed, R, Lopez-Lauri, F, Keller, C, Monnet, F, Sallanon, H (2008): Acclimation to drought stress enhances oxidative stress tolerance in *Solanum lycopersicum* L. fruits. *Plant Stress* 2:145-151.
- Murshed R., Lopez-Lauri F., Sallanon H. (2013): Effect of water stress on antioxidant systems and oxidative parameters in fruits of tomato (*Solanum lycopersicon* L, cv. Micro-tom). *Physiology and Molecular Biology of Plants* 19(3):363-378.

- Nagel, O.W., Konings, H., Lambers, H. (1994): Growth rate, plant development and water relations of the ABA-deficient mutant sitiens. *Physiologia Plantarum* 92:102-108.
- Nahar, K., Gretzmacher, R. (2002): Effect of water stress on nutrient uptake, yield and quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) under subtropical conditions. *Bodenkultur* 53(1):45-51.
- Nahar, K., Ullah, S.M., Islam, N. (2011): Osmotic adjustment and quality response of five tomato cultivars (*Lycopersicon esculentum* Mill.) following water deficit stress under subtropical climate. *Asian Journal of Plant Science* 10:153-157.
- Nahar, K., Ullah, S.M. (2017): Fruit Quality and Osmotic Adjustment of Four Tomato Cultivars under Drought Stress. *Asian Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 2(1):2456-9682.
- Nankishore, A., Farrell A. D. (2016): The response of contrasting tomato genotypes to combined heat and drought stress. *Journal of Plant Physiology* 202:75-82.
- Nitsch, L., Kohlen, W., Oplaat, C., Charnikhova, T., Cristescu, S., Michieli, P., Wolters-Arts, M., Bouwmeester, H., Mariani, C., Vriezen, W.H., Rieu, I. (2012): ABA-deficiency results in reduced plant and fruit size in tomato. *Journal of Plant Physiology* 169:878-883.
- Nora, L., Dalmazo, G.O., Nora, F.R., Rombaldi, C.V. (2012): Controlled Water Stress to Improve Fruit and Vegetable Postharvest Quality. In: Rahman, I.M.M. (Ed.), *Water Stress*, InTech Europe, pp.59-72.
- Nour, V., Trandafir, I., Ionica, M.E. (2014): Evolution of antioxidant activity and bioactive compounds in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruits during growth and ripening. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 87:97-103.
- Nour, V., Ionica, M.E., Trandafir, I. (2015): Bioactive Compounds, Antioxidant Activity and Color of Hydroponic Tomato Fruits at Different Stages of Ripening. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici* 43(2):404-412.
- N'tchobo H., Dali N., Nguyen-Quoc B., Foyer C.H., Yelle S. (1999): Starch synthesis in tomato remains constant throughout fruit development and is dependent on sucrose supply and sucrose synthase activity. *Journal of Experimental Botany* 50(338):1457-1463.
- Nurrudin, M.N., Madramootoo, C.A., Dodds, G.T. (2003): Effects of Water Stress at Different Growth Stages on Greenhouse Tomato Yield and Quality. *HORTSCIENCE* 38(7):1389-1393.
- OIV (1992): Compendium of international methods of wine and must analyses. OIV, Paris.
- Osorio, S., Scossa, F., Fernie, A.R. (2013): Molecular regulation of fruit ripening. *Frontiers in Plant Science* 14(4):198.
- Osorio, S., Ruan, Y.-L., Fernie, R. (2014): An update on source-to-sink carbon partitioning in tomato. *Frontiers in Plant Science* 5:516.
- Ozbağcı, A., Tari, A.F. (2010): Effects of different emitter space and water stress on yield and quality of processing tomato under semi-arid climate conditions. *Agricultural Water Management* 97:1405-1410.
- Panthee, D.R., Cao, C.X., Debenport, S.J., Rodriguez, G.R., Labate, J.A., Robertson, L.D., Breksa, A.P., Knaap E., Gardener B.B.M. (2012): Magnitude of genotype \* environment interactions affecting tomato fruit quality. *HortScience* 47:721-726.
- Pascual, L., Desplat, N., Huang, B.E., Desgroux, A., Bruguier, L., Bouchet, J.P., Le, Q.H., Chauchard B., Verschave P., Causse M. (2015): Potential of a tomato



- MAGIC population to decipher the genetic control of quantitative traits and detect causal variants in the resequencing era. *Plant Biotechnology Journal* 13:565-77.
- Patanè, C., Cosentino, S.L. (2010): Effects of soil water deficit on yield and quality of processing tomato under a Mediterranean climate. *Agricultural Water Management* 97:131-138.
- Patanè, C., Tringali, S., Sortino, O. (2011): Effects of deficit irrigation on biomass yield, water productivity and fruit quality of processing tomato under semi-arid Mediterranean climate conditions. *Scientia Horticulturae* 129:590-596.
- Patanè, C., Saita, A. (2015): Biomass, fruit yield, water productivity and quality response of processing tomato to plant density and deficit irrigation under a semi-arid Mediterranean climate. *Crop and Pasture Science* 66:224-234.
- Pavlović, R., Mladenović, J., Pavlović, N., Zdravković, M., Jošić, D., Zdravković, J. (2017): Antioxidant nutritional quality and the effect of thermal treatments on selected processing tomato lines. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus* 16(3):119-128.
- Pećinar, I. (2015): Morfo-anatomska i citološka analiza ploda paradajza u uslovima suše. Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu - Poljoprivredni fakultet, Beograd.
- Pe´rez-Alfocea, F., Ghanem, M.E., Go´mez-Cadenas, A., Dodd, I.C. (2011): Omics of Root-to-Shoot Signaling Under Salt Stress and Water Deficit. *OMICS A Journal of Integrative Biology* 15(12):893-890.
- Pernice, R., Parisi, M., Giordano, I., Pentangelo, A., Graziani, G., Gallo, M., Fogliano, V., Ritieni, A. (2010): Antioxidants profile of small tomato fruits: Effect of irrigation and industrial process. *Scientia Horticulturae* 126(2):156-163.
- Pesaresi, P., Mizzotti, C., Colombo, M., Masiero, S. (2014): Genetic regulation and structural changes during tomato fruit development and ripening. *Frontiers in Plant Science* 23(5):124.
- Petreikov, M., Shen, S., Yeselson, Y., Levin, I., Bar, M., Schaffer, A.A. (2006): Temporally extended gene expression of the ADP-Glcpyrophosphorylase large subunit (AgpL1) leads to increased enzyme activity in developing tomato fruit. *Planta* 224:1465-1479.
- Poiroux-Gonord, F., Bidet, L.P., Fanciullino, A.L., Gautier, H., Lauri Lopez, F., Urban, L. (2010): Health benefits of vitamins and secondary metabolites of fruits and vegetables and prospects to increase their concentrations by agronomic approaches. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58:12065-12082.
- Poorter, H., Niinemets, Ü., Poorter, L., Wright, I.J., Villar, R. (2009): Causes and consequences of variation in leaf mass per area (LMA): a meta-analysis. *New Phytologist* 182:565-588.
- Prema, G., Indires, K.K., Santosha, H.M. (2011): Evaluation of cherry tomato (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) genotypes for growth, yield and quality traits. *Asian Journal of Agriculture* 6(1):181-184.
- Prokić, Lj. (2009): Mehanizmi i reakcije stoma u uslovima dejstva stresnih faktora., Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu - Poljoprivredni fakultet, Beograd.
- Prudent, M., Bertin, N., Genard, M., Munos, S., Rolland, S., Garcia, V., Petit, J., Baldet, P., Rothan, C., Causse, M. (2010): Genotype-dependent response to carbon availability in growing tomato fruit. *Plant, Cell and Environment* 33:1186-1204.
- Raffo, A., Leonardi, C., Fogliano, V., Ambrosino, P., Salucci, M., Gennaro, L., Bugianesi, R., Giffrida, F., Quaglia, G. (2002): Nutritional value of cherry

- tomatoes (*Lycopersicon esculentum* cv. Naomi F1) harvested at different ripening stages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50:6550-6556.
- Ranc, N. (2010): Analyse du Polymorphisme Moléculaire de Gènes de Composantes de la Qualité des Fruits dans les Ressources Génétiques Sauvages et Cultivées de Tomate; Recherche D'Associations Gènes/QTL. PhD thesis, Académie de Montpellier, Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier, Montpellier.
- Rao, A., Rao, L. (2007): Carotenoids and human health. *Pharmacological Research* 55(3):207-216.
- Ray, R.C., El Sheikha, A.F., Panda, S.H., Montet, D. (2011): Anti-oxidant properties and other functional attributes of tomato: An overview. *International Journal of Food and Fermentation Technology* 1(2):139-148.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999): Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* 26:1231-1237.
- Rick, C.M. (1974): Potential genetic resources in tomato species: clues from observations in native habitats. In: Srb, A. (Ed.), *Genes, enzymes and populations. Basis Life Sciences US*, Springer, pp. 255-269.
- Rigano, M. M., Arena, C., Di Matteo, A., Sellitto, S., Frusciante, L., Barone, A. (2016): Eco-physiological response to water stress of drought-tolerant and drought-sensitive tomato genotypes. *Plant Biosystems - An International Journal Dealing with All Aspects of Plant Biology* 150(4):682-691.
- Riggi, E., Patané, C., Ruberto, G. (2008): Content of carotenoids at different ripening stages in processing tomato in relation to soil water availability. *Australian Journal of Agricultural Research* 59(4):348-353.
- Ripoll, J. (2015): Effects of water stress, only or in interaction with a pathogen, on plant functioning and fruit quality, depending on genetic variation. PhD Thesis. University of Avignon, France.
- Ripoll, J., Urban, L., Staudt, M., Lopez-Lauri, F., Bidet, L.P.R., Bertin, N. (2014): Water shortage and quality of fleshy fruits – making the most of the unavoidable. *Review. Journal of Experimental Botany* 65(15):4097-4117.
- Ripoll, J., Urban, L., Bertin, N. (2016a): The potential of the MAGIC TOM parental accessions to explore the genetic variability of tomato acclimation to repeated cycles of water deficit and recovery. *Frontiers in Plant Science* 6:3-15.
- Ripoll, J., Urban, L., Brunel, B., Bertin, N. (2016b): Water deficit effects on tomato quality depend on fruit development stage and genotype. *Journal of Plant Physiology* 190:26-35.
- Rosado, A., Amaya, I., Valpuesta, V., Cuartero, J., Botella, M.A., Borsani, O. (2006): ABA- and ethylene-mediated responses in osmotically stressed tomato are regulated by the TSS2 and TOS1 loci. *Journal of Experimental Botany* 57:3327-3335.
- Rosales, M.A., Cervilla, L.M., Sánchez-Rodríguez, E., Rubio-Wilhelmi, M.M., Blasco, B., Rios, J.J., Soriano, T., Castilla, N., Romero, L., Ruiz, J.M. (2011): The effect of environmental conditions on nutritional quality of cherry tomato fruits: evaluation of two experimental Mediterranean greenhouses. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 91:152-162.

- Roychoudhury, A., Paul, S., Basu, S. (2013): Cross-talk between abscisic acid-dependent and abscisic acid-independent pathways during abiotic stress. *Plant Cell Reports* 32:985-1006.
- Ruan, Y., Jin, Y., Yang, Y., Li, G., Boyer, J.S. (2010): Sugar input, metabolism, and signaling mediated by invertase: roles in development, yield potential, and response to drought and heat. *Molecular Plant* 3:942-955.
- Sagi, M., Fluhr, R., Lips, S. (1999): Aldehyde oxidase and xanthine dehydrogenase in a *flacca* tomato mutant with deficient abscisic acid and wilted phenotype. *Plant Physiology* 120:571-577.
- Sagi, M., Scazzocchio, C., Fluhr, R. (2002): The absence of molybdenum cofactor sulfuration is the primary cause of the *flacca* phenotype in tomato plants. *Plant Journal* 31:305-317.
- Sah, S.K., Reddy, K.R., Li, J. (2016): Abscisic Acid and Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants. *Frontiers in Plant Science* 7:571.
- Sánchez-Rodríguez, E., Rubio-Wilhelmi, M., Cervilla, L.M., Blasco, B., Rios, J.J., Rosales, M.A., Romero, L., Ruiz, J.M. (2010): Genotypic differences in some physiological parameters symptomatic for oxidative stress under moderate drought in tomato plants. *Plant Science* 178:30-40.
- Sánchez-Rodríguez, E., Rubio-Wilhelmi, M. del M., Blasco, B., Leyva, R., Romero, L., Ruiz, J. M. (2012): Antioxidant response resides in the shoot in reciprocal grafts of drought-tolerant and drought-sensitive cultivars in tomato under water stress. *Plant Science* 188-189:89-96.
- Schachtman, D.P., Goodger, J.Q.D. (2008): Chemical root to shoot signaling under drought. *Trends in Plant Science* 13(6):281-287.
- Scholander, P. F., Bradstreet, E. D., Hemmingsen, E. A., Hammel, H. T. (1965): Sap pressure in vascular plants: negative hydrostatic pressure can be measured in plants. *Science* 148:339-346.
- Schwarz, D., Thompson, A.J., Kläring, H.P. (2014): Guidelines to use tomato in experiments with a controlled environment. *Frontiers in Plant Science* 5:625.
- Schweiggert, R.M., Ziegler, J.U., Metwali, E.M.R., Mohamed, F.H., Almaghrabi, O.A., Kadasa, N.M., Carle, R. (2017): Carotenoids in mature green and ripe red fruits of tomato (*Solanum Lycopersicum* L.) grown under different levels of irrigation. *Archives of Biological Sciences* 69(2): 305-314.
- Sharp, R. E., Le Noble, M. E., Else, M. A., Thorne, E. T., Gherardi, F. (2000): Endogenous ABA maintains shoot growth in tomato independently of effects on plant water balance: evidence for an interaction with ethylene. *Journal of Experimental Botany* 51:1575-1584.
- Showemimo, F.A., Olarewaju, J.D., Buah, J.N., Tetteh, J.P. Asare-Bediako, E. (2007): Genetic Estimates of Water Stress in Tomato (*Lycopersicum esculentum*). *International Journal of Plant Breeding and Genetics* 1:18-23.
- Serino, S., Gomez, L., Costagliola, G., Gautier, H. (2009): HPLC assay of tomato carotenoids: validation of a rapid microextraction technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57:8753-60.
- Setha, S. (2012): Roles of Abscisic Acid in Fruit Ripening *Walailak Journal of Science and Technology* 9(4):297-308.
- Sivakumar, R., Srividhya, S. (2016): Impact of drought on flowering, yield and quality parameters in diverse genotypes of tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Advances in Horticultural Science* 30(1):3-11.

- Sivakumar, R., Nandhitha, G.K., Nithila, S. (2017): Impact of Drought on Chlorophyll, Soluble Protein, Abscisic Acid, Yield and Quality Characters of Contrasting Genotypes of Tomato (*Solanum lycopersicum*). *British Journal of Applied Science and Technology* 21(5):1-10.
- Slimestad, R., Verheul, M. (2009): Review of flavonoids and other phenolics from fruits of different tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivars. *Journal of the Science of Food and agriculture* 89:1255-1270.
- Srivastava, A., Handa, A.K. (2005): Hormonal Regulation of Tomato Fruit Development: A Molecular Perspective. *Journal of Plant Growth Regulation* 24:67-82.
- Steinhauser, M.C., Steinhauser, D., Koehl, K., Carrari, F., Gibon, Y., Fernie, A.R., Stitt, M. (2010): Enzyme activity profiles during fruit development in tomato cultivars and *Solanum pennellii*. *Plant Physiology* 153:80-98.
- Stevens, R., Buret, M., Duffe, P., Garchery, C., Baldet, P., Rothan, C., Causse, M. (2007): Candidate genes and quantitative trait loci affecting fruit ascorbic acid content in three tomato populations. *Plant Physiology* 143:1943-1953.
- Stikić, R., Jovanović, Z. (2015): *Fiziologija biljaka*, Izd. Naučna KMD.
- Su, L., Diretto, G., Purgatto, E., Danoun, S., Zouine, M., Li, Z., Roustan, J-P., Bouzayen, M., Giuliano, G., Chervin, C. (2015): Carotenoid accumulation during tomato fruit ripening is modulated by the auxin-ethylene balance. *BMC Plant Biology* 15:114.
- Sun, L., Yuan, B., Zhang, M., Wang, L., Cui, M., Wang, Q., Leng, P. (2012): Fruit-specific RNAi-mediated suppression of *SINCE1* increases both lycopene and beta-carotene contents in tomato fruit. *Journal of Experimental Botany* 63:3097–3108.
- Tamburino, R., Vitale, M., Ruggiero, A., Sassi, M., Sannino, L., Arena, S., Costa, A., Batelli, G., Zambrano, N., Scaloni, A., Grillo, S., Scotti, N. (2017): Chloroplast proteome response to drought stress and recovery in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *BMC Plant Biology* 7(40):3-14.
- Tardieu F, Granier C, Muller B. (2011): Water deficit and growth. Co-ordinating processes without an orchestrator? *Current Opinion in Plant Biology* 14:283-289.
- Tardieu, F., Simonneau, T., Parent, B. (2015): Modelling the coordination of the controls of stomatal aperture, transpiration, leaf growth, and abscisic acid: update and extension of the Tardieu–Davies model. *Journal of Experimental Botany* 66:2227-2237.
- Taylor, I.B., Linfoth, R.S.T., Al Naieb, R.J., Bowman, W.R., Marples, B.A. (1988): The wilted tomato mutants *flacca* and *sitiens* are impaired in the oxidation of ABA-aldehyde to ABA. *Plant, Cell and Environment* 11:739-745.
- Telef, N., Stammitti-Bert, L., Mortain-Bertrand, A., Maucourt, M., Carde, J.P., Rolin, D., Gallusci, P. (2006): Sucrose deficiency delays lycopene accumulation in tomato fruit pericarp discs. *Plant Molecular Biology* 62:45–469.
- Thompson, A.J., Jackson, A.C., Symonds, R.C., Mulholland, B.J., Dadswell, A.R., Blake, P.S., Burbidge, A., Taylor, I.B. (2002): Ectopic expression of a tomato 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase gene causes over-production of abscisic acid. *Plant Journal* 23:363-374
- Thompson, A. J., Andrews, J., Mulholland, B. J., McKee, J. M. T., Hilton, H. W., Horridge, J. S., Farquhar, G.D., Smeeton, R.C., Smillie, I.R.A., Black, C.R. Taylor, I. B. (2007): Overproduction of Abscisic Acid in Tomato Increases

- Transpiration Efficiency and Root Hydraulic Conductivity and Influences Leaf Expansion. *Plant Physiology* 143(4):1905-1917.
- Tohge, T., Alseekh, S., Fernie, A.R. (2014): On the regulation and function of secondary metabolism during fruit development and ripening. *Journal of Experimental Botany* 65:4599-4611.
- Tomato Genome Consortium (2012): The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution. *Nature* 485:635-641.
- Topcu, S., Kirda, C., Dasgan, Y., Kaman, H., Cetin, M., Yazici, A., Bacon, M.A. (2007): Yield response and N-fertiliser recovery of tomato grown under deficit irrigation. *European Journal of Agronomy* 26:64-70.
- Torrecillas, A., Guillaume, C., Alarcon, J.J., Ruiz-Sanchez, M.C. (1995): Water relations of two tomato species under water stress and recovery. *Plant Science* 105:169-176.
- Tripathi, K., Pandey, S., Malik, M., Kaul, T. (2016): Fruit ripening of climacteric and non climacteric fruit *Journal of Environmental and Applied Bioresearch* 4(1):27-34.
- Ünyayar, S., Çekici, F. Ö. (2005): Changes in Antioxidative Enzymes of Young and Mature Leaves of Tomato Seedlings under Drought Stress. *Turkish Journal of Biology* 29:211-216.
- Veit-Köhler, U., Krumbein, A., Kosegarten, H. (1999): Effect of different water supply on plant growth and fruit quality of *Lycopersicon esculentum*. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 162(6):583-588.
- Venkatesh, J., Park, S.W. (2014): Role of L-ascorbate in alleviating abiotic stresses in crop plants. *Botanical Studies* 55(1):1-19.
- Vishwakarma, K., Upadhyay, N., Kumar, N., Yadav, G., Singh, J., Mishra, R.K., Kumar, V., Verma, R., Upadhyay, R.G., Pandey, M., Sharma, S. (2017): Abscisic Acid Signaling and Abiotic Stress Tolerance in Plants: A Review on Current Knowledge and Future Prospects. *Frontiers in Plant Science* 8:161.
- Vuković, A., Vujadinović Mandić, M. (2018): Study on climate change in the Western Balkans region. SEE2020 Series, Regional Cooperation Council Secretariat, Sarajevo.
- Wahb-Allah, M.A., Alsadon, A.A., Ibrahim, A.A. (2011): Drought Tolerance of Several Tomato Genotypes Under Greenhouse Conditions. *World Applied Sciences Journal* 15(7):933-940.
- Wang, F., Kang, S., Du, T., Li, F., Qiu, R. (2011): Determination of comprehensive quality index for tomato and its response to different irrigation treatments. *Agricultural Water Management* 98:1228-1238.
- Wang, Y., Liu, F., Jensen, C.R. (2012): Comparative effects of deficit irrigation and alternate partial root-zone irrigation on xylem pH, ABA, and ionic concentrations in tomatoes. *Journal of Experimental Botany* 63:1907-1917.
- Xia, X.-J., Zhou, Y.-H., Shi, K., Zhou, J., Foyer, C. H., Yu, J.-Q. (2015): Interplay between reactive oxygen species and hormones in the control of plant development and stress tolerance. *Journal of Experimental Botany* 66(10):2839-2856.
- Xiong, L., Zhu, J.K. (2003): Update on Abscisic Acid Biosynthesis Regulation Regulation of Abscisic Acid Biosynthesis. *Plant Physiology* 133:29-36.
- Xu, W. F., Jia, L. G., Shi, W. M., Liang, J. S., Zhou, F., Li, Q. F., Zhang, J. (2013): Abscisic acid accumulation modulates auxin transport in the root tip to

- enhance proton secretion for maintaining root growth under moderate water stress. *New Phytologist* 197:139-150.
- Yang, D.W., Feng, X.Q. (2015): Abscisic acid biosynthesis and catabolism and their regulation roles in fruit ripening. *Phyton* 84(2):444-453.
- Ye, J., Hu, T., Yang, C., Li, H., Yang, M., Ijaz, R., Ye, Z., Zhang, Y. (2015): Transcriptome Profiling of Tomato Fruit Development Reveals Transcription Factors Associated with Ascorbic Acid, Carotenoid and Flavonoid Biosynthesis. *PLoS ONE* 10(7):e0130885.
- Yelle, S., Chetelat, R.T., Dorais, M., Deverna, J.W., Bennett, A.B. (1991): Sink metabolism in tomato fruit. 4. Genetic and biochemical analysis of sucrose accumulation. *Plant Physiology* 95:1026-1035.
- Yu, Y., Weng, Q., Zhou, B. (2016): Effects of Exogenous ABA on Contents of Lycopene and Endogenous Hormone in Tomato Pericarp. *British Biotechnology Journal* 16(1):1-5.
- Yuan, X.K., Yang, Z. Q., Li, Y.X., Liu, Q., Han, W. (2016): Effects of different levels of water stress on leaf photosynthetic characteristics and antioxidant enzyme activities of greenhouse tomato. *Photosynthetica* 54(1):28-39.
- Zanor, M.I., Rambla, J.L., Chaib, J., Steppa, A., Medina, A., Granell, A., Fernie, A.R., Causse, M. (2009): Metabolic characterization of loci affecting sensory attributes in tomato allows an assesment of the influence of the levels of primary metabolites and volatile organic contents. *Journal of Experimental Biology* 60:2139-2154.
- Zgallai, H., Steppe, K., Lemeur, R. (2006): Effects of Different Levels of Water Stress on Leaf Water Potential, Stomatal Resistance, Protein and Chlorophyll Content and Certain Antioxidative Enzymes in Tomato Plants. *Journal of Integrative Plant Biology* 48(6):679-685.
- Zhang, M., Yuaun, B., Leng, P. (2009): The role of ABA in triggering ethylene biosynthesis and ripening of tomato fruit. *Journal of Experimental Botany* 60(6):1579-1588.
- Zhang, Y., Li, H., Shu, W., Zhang, C., Zhang, W., Ye, Z. (2011): Suppressed expression of ascorbate oxidase gene promotes ascorbic acid accumulation in tomato fruit. *Plant Molecular Biology Reporter* 29:638-645.
- Zheng, J., Huang, G., Jia, D., Wang, J., Mota, M., Pereira, L.S., Huang, Q., Xu, X., Liu, H. (2013): Responses of drip irrigated tomato (*Solanum lycopersicum* L.) yield, quality and water productivity to various soil matric potential thresholds in an arid region of Northwest China. *Agricultural Water Management* 129:181-193.
- Zhou, R., Yu, X., Ottosen, C.-O., Rosenqvist, E., Zhao, L., Wang, Y., Yu, W., Zhao, T., Wu, Z. (2017): Drought stress had a predominant effect over heat stress on three tomato cultivars subjected to combined stress. *BMC Plant Biology* 17(1):24.
- <http://www.biodiversitylibrary.org/bibliography/567#/summary>
- <http://www.fao.org/faostat/en/#home>
- <http://www.force-a.com>
- <http://www.hansatech-instruments.com>

## **Biografija autora**

Ivana Petrović je rođena 15.07.1988. godine u Valjevu. Osnovnu školu je završila u Mionici, a gimnaziju (opšti smer) u Ljigu. Osnovne akademske studije upisala je na Biološkom fakultetu (smer biolog-istraživač) školske 2007/08 godine i završila ih je 2010. godine sa opštim uspehom 9,57 (devet pedesetsedam). U toku školske 2009/2010 godine je bila student prodekan Biološkog fakulteta. Master akademske studije je upisala školske 2010/11 godine na Biološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu (smer Fiziologija biljaka), a završila ih je 2012. godine sa opštim uspehom 9,92 (devet devedesetdva). Zvanje master biolog je stekla nakon odbrane master rada „Uticaj regulatora rastjenja na morfogenezu mahovine *Bartramia subulata* Bruch & Schimp. u kulturi *in vitro*“. Doktorske akademske studije - studijski program Poljoprivredne nauke, modul Melioracije zemljišta, Ivana Petrović je upisala školske 2012/2013. godine na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Beogradu.

Trenutno je zaposlena na Poljoprivrednom fakultetu kao istraživač saradnik na projektu Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja („Savremeni biotehnoški pristup rešavanja problema suše u poljoprivredi Srbije“ TR31005). Takođe je učestvovala u međunarodnom projektu FP7 REGPOT AREA. Kao učesnik AREA projekta, u toku 2014. i 2015. godine Ivana Petrović je obavila dve 3-mesečne specijalizacije u francuskom Nacionalnom institutu za poljoprivredna istraživanja (INRA - National Institute for Agricultural Research, Avignon, France) iz oblasti fiziologije i molekularne biologije biljaka.

U saradnji sa kolegama objavila je 18 bibliografskih jedinica, od toga u kategoriji M20: jedan rad u vrhunskom međunarodnom časopisu (M21), dva rada u međunarodnim časopisima (M23) i dva rada u nacionalnim časopisima od međunarodnog značaja (M24).

## Izjava o autorstvu

Ime i prezime autora Ivana Petrović

Broj indeksa ML 12/12

### Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

“Efekat suše na fiziološke i biohemijske pokazatelje kvaliteta plodova paradajza (*Lycopersicon esculentum* L.)“

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada;
- da disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za sticanje druge diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova;
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio/la intelektualnu svojinu drugih lica.

**Potpis autora**

U Beogradu, \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_



## Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora Ivana Petrović

Broj indeksa ML 12/12

Studijski program Poljoprivredne nauke

Naslov rada „Efekat suše na fiziološke i biohemijske pokazatelje kvaliteta plodova paradajza (*Lycopersicon esculentum* L.)“

Mentor dr Zorica Jovanović, redovni profesor

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la radi pohranjenja u **Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog naziva doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

**Potpis autora**

U Beogradu, \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

“Efekat suše na fiziološke i biohemijske pokazatelje kvaliteta plodova paradajza (*Lycopersicon esculentum* L.)“

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim prilogima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu i dostupnu u otvorenom pristupu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo (CC BY)
2. Autorstvo – nekomercijalno (CC BY-NC)
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada (CC BY-NC-ND)
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima (CC BY-NC-SA)
5. Autorstvo – bez prerada (CC BY-ND)
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima (CC BY-SA)

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci.

Kratak opis licenci je sastavni deo ove izjave).

**Potpis autora**

U Beogradu, \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

1. **Autorstvo.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.
2. **Autorstvo – nekomercijalno.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
3. **Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.
4. **Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.
5. **Autorstvo – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
6. **Autorstvo – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.