

## НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ ПОЉОПРИВРЕДНОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

**Предмет:** Извештај Комисије о оцени урађене докторске дисертације дипл. инж. Јелене Томић.

Одлуком Наставно-научног већа Пољопривредног факултета Универзитета у Београду бр. 392/2-6.2. од 25.11.2015. године, именовани смо у Комисију за оцену и одбрану урађене докторске дисертације под насловом „Утицај микробиолошких и минералних ђубрива на биолошко-производне особине сорти јагоде (*Fragaria ananassa* Duch.)“ кандидата дипл. инж. Јелене Томић. После прегледане завршене докторске дисертације подносимо следећи

### ИЗВЕШТАЈ

#### 1. Општи подаци о докторској дисертацији

Докторска дисертација дипл. инж. Јелене Томић написана је на 190 страна А4 формата, у оквиру којих се налази 37 табела, 21 графикон и 4 слике. Испред основног текста налази се резиме са кључним речима на српском и енглеском језику, као и приказ садржаја. У докторској дисертацији је цитирано и у литератури наведено 264 референце.

Дисертација се састоји из следећих поглавља: 1. Увод (стр. 1-4), 2. Циљ истраживања (стр. 5-6), 3. Преглед литературе (стр. 7-33), 4. Радна хипотеза (стр. 34), 5. Објекат, материјал и методе истраживања (стр. 35-52), 6. Агроеколошки услови (стр. 53-61), 7. Резултати истраживања (стр. 62-124), 8. Дискусија (стр. 125-157), 9. Закључак (стр. 158-162), 10. Литература (стр. 163-184), 11. Биографија (стр. 185) и 12. Прилози (стр. 186-190).

#### 2. Приказ и анализа докторске дисертације

У **Уводу** дисертације докторант приказује привредни значај баштенске јагоде, која по обиму производње у светским размерама представља најзначајнију врсту јагодастих воћака. Иако се већ дужи низ година, заједно са малином и купином, налази у врху најважнијих пољопривредних извозних артикала у Србији, просечна годишња производња јагоде у нашој земљи у последњих пет година стагнира и износи око 30.000 *t*. Узимајући у обзир укупне површине под засадима јагоде, остварени просечни приноси по јединици површине су релативно ниски. У том контексту истакнути су најважнији чиниоци интензивирања производње јагоде, у које спадају: иновирање сортимента, технологија гајења, као и интензитет и начин примене агро и помотехничких мера.

Програми оплемењивања јагоде се реализују у бројним оплемењивачким центрима широм света, што намеће потребу за интродукцијом нових, перспективних сорти различитог времена зрења са циљем што бољег и равномернијег снабдевања тржишта плодовима високог квалитета. Иако је сортимент у засадима јагоде у Србији доста хетероген, при чему се посебно у групи стоних (конзумних) сорти уочава прилична динамика током последње деценије, врло је важно испитати њихове биолошке особине у

одређеним агроеколошким условима у циљу дефинисања производне и употребне вредности, где поред утицаја самог генотипа, значајну улогу имају систем гајења, као и адекватна примена агро и помотехничких мера. Посебно је у циљу постизања оптималне равнотеже између раста и родности, и побољшања/очувања квалитета плода јагоде неопходно правилно комбиновање и извођење помотехничких мера и начина исхране.

У овом поглављу се истиче значај примене микробиолошких и минералних ђубрива у савременој производњи јагоде. Међутим, бројна истраживања спроведена до сада су показала да континуирана употреба минералних ђубрива изазива контаминацију животне средине при чему више од 50% примењених ђубрива биљке не усвоје, већ на различите начине долази до губљења минералних елемената, што представља велику опасност за животну средину. Минимизирање губитка минералних елемената и превенција неуравнотежене исхране представља веома важну стратегију у развоју модерне пољопривредне производње. Разумном употребом и делимичном или чак потпуном супституцијом минералних ђубрива, супстанцама или биолошким агрегатима који садрже живе ћелије микроорганизама (микробни инокуланти тј. биофертилизатори), лако се могу превазићи еколошки проблеми које узрокује интензивирање пољопривредне производње. Стога, основни **Циљ истраживања** у овој дисертацији је био да се испита ефекат микробиолошких и минералних ђубрива на важније биолошке и производне особине три сорте јагоде. С обзиром да се листови налазе у центру метаболизма сваке воћке и да се промене у исхрани испољавају и у хемијском саставу листа, висини приноса и квалитету плодова, један од циљева истраживања је био да се хемијском анализом листова утврди ниво обезбеђености биљака минералним елементима. Узимајући у обзир чињеницу да се плодови јагоде одликују високим нутритивним квалитетом, који се огледа у садржају важних компоненти укуса плода (шећера и органских киселина), као и израженим антиоксидативним капацитетом базираним на присуству фенолних једињења и витамина С, важан циљ ових истраживања је био проучавање утицаја различитих ђубрива на варирање у садржају поменутих једињења. Поред праћења ефеката ђубрења на биолошко-производна својства испитиваних сорти јагоде, утврђивање промена у броју појединих систематских и физиолошких група микроорганизама, као један од индикатора потенцијале и ефективне производне способности земљишта, био је следећи важан циљ ових истраживања. Као крајњи циљ ових истраживања, кандидат наводи да ће добијени резултати имати практични значај првенствено преко давања препорука за примену одговарајућих ђубрива у комерцијалној производњи јагоде.

У поглављу **Преглед литературе** докторант износи досадашња сазнања домаћих и страних истраживача која се односе на важније производне и нутритивне особине сорти јагоде у функцији примене различитих ђубрива, као што су: вегетативни потенцијал (развијеност бокора, број круница, висина розете, величина лисне површине једног листа и укупна лисна површина бокора) што је приказано кроз 26 цитираних радова у потпоглављу 3.1.; физиолошке особине (цветање, сазревање плодова, минерални састав листа, динамика усвајања хранива, приступачност минералних елемената, улога биофертилизатора у трансформацији нерастворљивих једињења у растворљиве облике и садржај фотосинтетски активних пигмената у листовима) приказане кроз 72 цитата (потпоглавље 3.2.); затим потпоглавље 3.3. - генеративни потенцијал приказан кроз број родних стабљика и цветова по бокору, број плодова по родној стабљници и по бокору, као и остварени принос по бокору, са укупно 8 цитираних референци; потпоглавље 3.4. - физичке особине плода: маса плода, димензије плода и индекс облика плода, поткрепљене

су са 11 цитата. Хемијска и антиоксидативна својства плода проучаваних сорти јагоде (потпоглавље 3.5) приказана кроз наводе бројних аутора обухватају примарне метаболите у плодовима (растворљиве суве материје, шећери, органске киселине) са 20 цитираних референци и секундарне метаболите - фенолна једињења (антоцијани, флавоноли и фенолне киселине), која су представљена са 61 цитираном референцом. У овом потпоглављу је приказан и садржај витамина С у плодовима јагоде са укупно 13 цитираних радова; у потпоглављу 3.6. кандидат је анализирао радове у којима су испитивана сензоричка својства плодова јагоде са цитирањем укупно 15 референци; и на крају у потпоглављу 3.7. приказани су резултати истраживања из области биогености земљишта са укупно 28 цитата.

У поглављу **Радна хипотеза** кандидат полази од претпоставке да ће различити типови ђубрива (микробиолошка и минерална) испољити утицај на биолошка и производна својства сорти јагоде, односно на физиолошке особине, вегетативни и генеративни потенцијал проучаваних сорти, затим на физичке, хемијске и сензоричке особине њихових плодова, као и на саму биогеност земљишта. Установљене квалитативне и квантитативне разлике ће омогућити издвајање оне комбинације сорта/тип ђубрива, која даје најбоље резултате са становишта исхрањености и развијености бокора, висине приноса и нутритивне вредности плода у датим агроколошким условима.

У поглављу **Објекат, материјал и методе рада** кандидат је приказао локалитет и карактеристике засада у коме су обављена истраживања, коришћени материјал, начин постављања и извођења пољских и лабораторијских огледа, као и примену статистичких метода у обради података.

Истраживање је обављено у периоду 2011–2013. година, у огледном засаду јагоде сорти 'Clerg', 'Joly' и 'Dely', Института за воћарство у Чачку. Засад се налази у центру Чачка са географским координатама 43°54' СГШ и 20°21' ИГД, и на надморској висини од 242 *m*. Садња фриго конзервисаних садница је обављена у јулу 2011. године у форми дворедних пантљика на гредицама прекривеним црном полиетиленском фолијом. Примењено растојање садње је 30 × 30 *cm*. Током извођења огледа у засаду су спровођене стандардне агро- и помо-техничке мере уз редовну примену наводњавања и прихране коришћењем система „кап по кап“.

Оглед је обухватио 4 третмана:

- 1) примена минералних ђубрива различитих формулација;
- 2) примена биофертилизатора 1 (микробни фертилизатор на бази комбинације бактерија родова: *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus* и *Pseudomonas*);
- 3) примена биофертилизатора 2 (инокулум течне културе диазотрофних бактерија *Klebsiella planticola* TSHA-91);
- 4) контролни третман, наводњавање без ђубрења.

Експеримент је постављен по потпуном случајном плану, при чему је експериментална површина обухватила 4 гредице у засаду јагоде, а свака од њих је представљала један третман. У сваком од третмана било је заступљено по 60 биљака (3 понављања по 20 биљака) сваке испитиване сорте. Укупан број испитиваних биљака по сорти износио је 240 (4 третмана по 60 биљака).

Минерална ђубрива су аплицирана кроз систем за наводњавање по следећем редоследу и дозама: стартно ђубрење обављено је непосредно по завршеној садњи са *Poly-Feed Drip* 11-44-11+ме, у количини од 1 *g* по биљци (укупна количина ђубрива прерачуната по 1 *ha* износи 40 *kg*); прихрана у фази интензивног раста бокора и појаве цветних пулољака обављена је 2 пута у размаку од 7 дана, са ђубривом *Poly-Feed Drip* 20-

20-20+ме. Примењена доза је износила 1,5 g по биљци (укупна количина ђубрива прерачуната по 1 ha износи 120 kg, односно 60 kg по апликацији); прихрана у фенофази цветања, заметања, раста и сазревања плодова обављена је 5 пута на сваких 10 дана комплексним минералним ђубривом *Poly-Feed Drip 16-8-32+2MgO*. Примењена доза је била 1 g по биљци (укупна количина ђубрива прерачуната по 1 ha износи 200 kg, односно 40 kg по апликацији). Током фенофазе интензивног пораста и зрења плодова, уз поменути формулацију примењивана су 2 пута и ђубрива *Multi-Cal* (15,5% N и 26,5% CaO) и *Multi-KMg* (12% N; 43% K и 2% MgO) у интервалу од 10 дана, чија доза је износила 1,5 g по биљци у свакој појединачној прихрани (укупна количина сваког појединачног ђубрива прерачуната по 1 ha износи 120 kg, односно 60 kg по апликацији).

У првој испитиваној години након садње обављено је третирање минералним ђубривима *Poly-Feed Drip 11-44-11+ме* и *Poly-Feed Drip 20-20-20+ме* по наведеном редоследу и дозама. У наредне две године (2012. и 2013.), када су испитиване сорте ступиле у период плодношења, примењена су сва горе наведена минерална ђубрива према редоследу фенолошких фаза. Примена микробиолошких ђубрива вршена је стартно потапањем корена јагоде у течни инокулум при садњи, а након тога је вршена прихрана фертигацијом 3 пута у току сваког месеца док траје вегетациони период са  $10\text{--}12\text{ l ha}^{-1}$  инокулума у свакој испитиваној години. Титар бактерија у инокулуму износио је  $20\text{--}40 \times 10^6\text{ cm}^{-3}$ . У контролном третману вршено је наводњавање без ђубрења, са нормама од 20.000 l воде по 1 ha у 2011. години (после садње), односно 40.000 l воде по 1 ha у 2012. и 2013. години, када су испитиване сорте ступиле у период плодношења.

Целокупан програм истраживања је обухватио већи број параметара, који су у циљу лакшег проучавања груписани у неколико целина:

- Вегетативни потенцијал јагоде;
- Физиолошке особине јагоде;
- Генеративни потенцијал и производне особине јагоде;
- Физичка и хемијска својства плода јагоде;
- Сензоричка оцена квалитета плода;
- Биогеност земљишта.

Испитивања параметара вегетативног потенцијала (број круница у бокору, висина лисне розете, број листова у розети, површина једног листа и укупна лисна површина бокора) обављена су стандардним морфометријским методама (метар и шублер марке *Carl Roth*, Немачка) и пребројавањем, осим површине једног листа ( $\text{cm}^2$ ), која је одређена скенирањем листова и израчунавањем површине у програму *AutoCAD* (Rico-Gacía et al., 2009). Укупна лисна површина бокора ( $\text{cm}^2$ ) одређена је израчунавањем, на основу броја листова у бокору и површине једног листа. На крају треће године испитивања, због неопходности вађења биљака, извршено је мерење: укупне дужине биљке и дужине корена (cm).

У оквиру физиолошких особина сорти јагоде испитиване су фенолошке особине (фенофаза цветања и зрења – евидентирањем датума за почетак и крај, као и њихово трајање у данима), садржај хлорофила *a* и *b*, каротеноида, макро и микро елемената у листовима јагоде у 2012. и 2013. години, када су испитиване биљке биле у периоду плодношења. Садржај хлорофила *a* и *b* и укупних каротеноида је одређен на спектрофотометру (*Jenway 6300*, UK), при чему је апсорбанца екстраката мерена на следећим таласним дужинама: 661,6 nm, 644,8 nm и 470 nm (Lichtenthaler & Buschmann, 2001). Концентрација минералних елемената (*P*, *K*, *Ca*, *Mg*, *Fe*, *Cu*, *Mn*, *Zn*, *B*, и *Mo*) у

листовима испитиваних сорти јагоде одређена је помоћу *ICP-OES*, оптичке емисионе спектрометрије са индуктивно спрегнутом плазмом (*SpectroGenesis EOP II, Spectro Analytical Instruments GmbH, Kleve, Germany*), према методи Nikolić et al. (2011). Садржај укупног азота у листу јагоде одређен је *AOAC 972.43:2000* методом ([www.aoac.org](http://www.aoac.org)). Садржај макроелемената у листовима изражен је у %, а садржај микроелемената у  $mg\ kg^{-1}$  суве масе листа. Ради потпуније интерпретације добијених резултата минералног састава листа у односу на референтне вредности, приказана је обезбеђеност јагоде минералним елементима путем индекса *DOP (Deviation from Optimum Percentage)* (Montanes et al., 1991).

Испитивања параметара генеративног потенцијала јагоде (број родних стабљика по бокору, број цветова и плодова по бокору, број плодова по родној стабљивици, принос по бокору и принос по јединици површине) обављена су пребројавањем, а принос по бокору (*g*) одређен је мерењем масе убраних плодова у свакој берби и сумирањем приноса из свих берби, док је принос по јединици површине ( $kg\ m^{-2}$ ) одређен прерачунавањем. У оквиру физичких особина плода, стандардним морфометријским методама испитиване су: маса плода (*g*), дужина и ширина плода (*mm*), индекс облика плода и дужина петелјке плода (*cm*) на узорку од 20 плодова по понављању (укупно 60 плодова по третману).

Различитим инструменталним методама, одређивани су: садржај растворљиве суве материје (%) у плодовима сорти јагоде – рефрактометријски (*Pocket PAL-1, Atago, Japan*); садржај укупних, инвертних шећера и сахарозе (%) одређен је волуметријски према методи *Luff – Schoorl* (Egan et al., 1981); садржај укупних киселина (%) методом неутрализације са 0,1 N *NaOH* и садржај витамина *C* одређен је методом јодометријске титрације (Rikovski et al., 1989).

Анализа садржаја појединачних фенолних компоненти (антоцијана, флавонола и фенолних киселина) је извршена на *Agilent 1260* хроматографском систему високе перформансе - *HPLC (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)* са *diode array* детектором (*DAD*). Вредности су изражене у  $mg\ 100\ g^{-1}$  свежје масе плода јагоде. Садржај укупних антоцијана - одређен је *pH* диференцијаланом методом (Liu et al., 2002), а резултати су изражени као *mg* еквивалента цијанидин-3-глукозида на 100 *g* свежје масе плода; садржај укупних фенола - одређен је спектрофотометријском методом са *Folin-Ciocalteu* реагенсом (Singleton et al., 1999; Liu et al., 2002), а резултати су изражени у *mg* еквивалента галне киселине на 100 *g* свежје масе плода, и антиоксидативни капацитет плода - одређен је *ABTS* тестом према Re et al. (1999) и изражен као количина *Trolox* еквивалената на 100 *g* свежје масе плода ( $\mu mol\ Trolox$  екв. 100  $g^{-1}$  св. м. пло.).

Сензоричка оцена квалитета плодова утврђена је сензоричким тестом према Правилнику Министарства пољопривреде и заштите животне средине, поентирањем на скали од 0 до 6 за параметре атрактивност и укус плода, односно од 0 до 4 за параметре конзистенција и арома плода. На основу укупне сензоричке оцене је извршено рангирање сорти према сензоричком квалитету плода.

У узорцима земљишта из засада одређивана је бројност микроорганизама индиректном методом разређења на одговарајућим хранљивим подлогама (Pochon & Tardieux, 1962). Укупан број микроорганизама одређен је на подлози за укупан број микроорганизама, број гљива одређен је на *Chapek-Dox* агару, актиномицета на *Waksman-Carey* агару, а азотобактера и олигонитрофила на *Fedorov*-ој подлози.

Испитивања физиолошких особина листова јагоде, параметара квалитета плода испитиваних сорти јагоде, као и биогеност земљишта изведена су у лабораторијама

Института за воћарство, Чачак; Катедре за воћарство Пољопривредног факултета Универзитета у Београду; Института за мултидисциплинарна истраживања Универзитета у Београду; Агрономског факултета у Чачку, Универзитета у Крагујевцу и Института за ратарство и повртарство у Новом Саду.

Експериментални подаци по годинама испитивања су обрађени применом *Fisher* - овог модела анализе варијансе (*ANOVA*) коришћењем статистичког софтверског пакета *STATISTICA* (*StatSoft, Inc.* 2007, верзија 8.0). Анализе су урађене у три понављања, а добијене вредности су изражене као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Тестирање значајности разлика између аритметичких средина третмана и њихових интеракцијских ефеката обављено је применом *LSD* теста на нивоу значајности 0,05. Резултати су приказани табеларно и графички.

У поглављу **Агроеколошки услови** дат је приказ метеоролошких и земљишних услова у периоду испитивања. Упоредно су приказани метеоролошки подаци за тридесетогодишњи период (1980–2010) у виду просека и подаци за године испитивања (2011–2013), када је оглед реализован. У оквиру метеоролошких услова приказане су средње месечне и годишње вредности температуре ваздуха, суме падавина и облачности, као и средње вредности поменутих параметара за период вегетације. Средња годишња температура ваздуха у Чачку за период 1980. до 2010. године износила је  $10,0^{\circ}\text{C}$ , а посечна температура ваздуха за вегетациони период (април-октобар) била је  $11,3^{\circ}\text{C}$ . У периоду извођења огледа највиша средња годишња температура је регистрована у 2012. години ( $12,7^{\circ}\text{C}$ ), са просеком за вегетациони период од  $14,7^{\circ}\text{C}$ . Генерално, средње вегетационе температуре регистроване у периоду истраживања биле су више у просеку за  $2\text{--}3^{\circ}\text{C}$  у односу на тридесетогодишњи просек, а најтоплији месеци су били јул и август. Просечна годишња ( $878,6\text{ mm}$ ) и просечна вегетациона сума падавина ( $619,5\text{ mm}$ ) биле су знатно веће у тридесетогодишњем периоду у односу на исте параметре регистроване у годинама када је оглед изведен. Најмања годишња сума падавина током извођења огледа регистрована је у 2011. години ( $353,5\text{ mm}$ ), док је 2013. година имала највише воденог талога како на годишњем нивоу ( $547,9\text{ mm}$ ), тако и у периоду вегетације ( $384,4\text{ mm}$ ). Највеће вредности облачности су евидентирани у вишегодишњем периоду ( $65,7$ ), док вредности у 2011. и 2012. години нису значајно одступале. Највећа вредност облачности у вегетационом периоду забележена је у 2011. години ( $41,9$ ).

Земљиште на коме је постављен оглед по морфологији, месту и начину постанка представља алувијум, а по својим физичко-хемијским особинама је алувијално-иловасти нанос. Релативно је лаког гранулометријског састава, слабо киселе реакције ( $\text{pH } 5,48$ ), осредње обезбеђено хумусом ( $3,95\%$ ) и азотом ( $0,20\%$ ), богато фосфором ( $22,95\text{ mg}/100\text{ g}$  в.с.з.) и калијумом ( $27,00\text{ mg}/100\text{ g}$  в.с.з.), а присуство  $\text{CaCO}_3$  није регистровано.

На основу показатеља физичких и агрохемијских особина земљишта кандидат у раду констатује да је овај тип земљишта погодан за успешно гајење јагоде уз адекватну исхрану и редовну обраду.

Поглавље **Резултати истраживања** се састоји од седам потпоглавља – **Вегетативни потенцијал, Физиолошке особине, Генеративни потенцијал, Физичке особине плода, Хемијске особине плода, Сензоричка оцена квалитета плода јагоде и Биогеност земљишта.**

У оквиру потпоглавља **Вегетативни потенцијал** испитиваних сорти јагоде кандидат истиче да су значајно више вредности већине параметара вегетативног потенцијала евидентирани код сорте 'Joly' у години садње и другој години плодоношења. У 2011. години запажа се стимулативан утицај биофертилизатора на висину лисне розете, посебно

биофертилизатора 2 на број листова у розети у поређењу са минералним ђубривом. Примена минералног ђубрива резултирала је високим вегетативним потенцијалом у обе године плодношења (2012–2013). У 2012. години, број круница у бокору након примене оба биофертилизатора и висина лисне розете након примене биофертилизатора 1, нису се значајно разликовали од вредности ових параметара добијених у третману са минералним ђубривом. Ипак, примена минералног ђубрива је условила значајно повећање укупне дужине биљке у односу на примену биофертилизатора.

**Физиолошке особине** испитиваних сорти јагоде су обухватиле резултате проучавања фенологије цветања и зрења, садржаја фотосинтетских пигмената у листовима и минералног састава листова. Просечне вредности добијене за двогодишњи период истраживања на подручју општине Чачак указују да фенофаза цветања код све три испитиване сорте почиње у другој декади априла. Фенофаза зрења плодова код сорте ‘Слегу’ почиње у првој декади маја (06.05.), код сорте ‘Dely’ у другој декади маја (16.05.) и код сорте ‘Joly’ у трећој декади маја (24.05.). Трајање зрења се кретало у просеку од 23 дана (‘Joly’) до 28 дана (‘Слегу’), а посматрано по годинама уочава се да је фенофаза зрења имала каснији почетак и краће трајање у 2012. години у поређењу са 2013. годином. Кандидат наводи да је каснији почетак фенофазе зрења последица утицаја ниже средње месечне температуре ваздуха у мају 2012. године у односу на исти месец 2013. године. Краћем трајању фенофазе зрења плодова у 2012. години вероватно је допринела за 3,4°C виша средња месечна температура у јуну у односу на средњу температуру истог месеца у 2013. Употреба различитих типова ђубрива није испољила значајан утицај на почетак и трајање фенофаза цветања и зрења испитиваних сорти јагоде.

У погледу садржаја фотосинтетских пигмената, сорта није испољила значајан утицај на садржај хлорофила *a* и *b* и укупних каротеноида у листовима јагоде у обе године испитивања. Са друге стране, ђубриво је значајно утицало на вредности поменутих параметара. Наиме, у обе експерименталне године може се уочити да су вредности садржаја хлорофила *a* и *b* у листовима контролних биљака и биљака третираних биофертилизатором 2 биле значајно ниже у односу на вредности утврђене у листовима биљака након третмана минералним ђубривом и биофертилизатором 1, осим у 2012. години када је и садржај хлорофила *a* био значајно нижи у третману са биофертилизатором 1 у поређењу са третманом минералним ђубривом. Поред хлорофила, у мембрани тилакоида хлоропласта смештени су наранцасто-жуто обојени пигменти, каротеноиди, чија је најважнија улога у биљци да преносе енергију апсорбованих кваната на хлорофил *a* и штите фотосинтетички систем од оксидативне фотодеструкције. У овом раду, значајно већи садржај укупних каротеноида у листовима јагоде условила је употреба минералног ђубрива у односу на биофертилизаторе у 2012. години, док је у 2013. години на повећање укупних каротеноида у листовима поред минералног ђубрива значајан утицај испољила и примена биофертилизатора 1 у односу на контролу.

С обзиром да је лист метаболички најактивнији орган биљке, међу многобројним методама које се користе за утврђивање степена обезбеђености биљака минералним елементима, фолијарна дијагностика има најширу практичну примену јер пружа потпуну слику о тренутном стању исхрањености биљке. За поређење добијених аналитичких података садржаја појединих елемената у листу са њиховим граничним вредностима у овом раду коришћена је метода *Deviation of the Optimum Procentual (DOP)*. Анализом добијених резултата може се констатовати да су постојале разлике у вредностима садржаја макроелемената у листу по годинама истраживања. Веће вредности садржаја *N* и

*K* у листовима испитиваних сорти регистроване су у 2012. години у односу на 2013. годину, а већи садржај *P*, *Ca* и *Mg* у листу евидентиран је у 2013. години у односу на 2012. годину. Наведена појава може се довести у везу са интензивним усвајањем *N* и *K* посебно у најранијим фазама раста и развића биљака. Такође, већем садржају *N* и *K* у листовима проучаваних сорти јагоде у 2012. години, вероватно су допринеле значајне резерве ових елемената у земљишту огледног засада, као и примењена минерална ђубрива која су садржала високе концентрације ових елемената, у облику приступачном биљкама. Позитиван утицај биофертилизатора 1 на садржај *P* у листу може се објаснити способношћу бактерија садржаних у овом биофертилизатору да на директан или индиректан начин трансформишу тешко растворљива фосфорна једињења, и тако доприносе бољем усвајању овог елемента од стране биљке. Знатно више вредности садржаја микроелемената у листу јагоде регистроване су у 2013. у поређењу са 2012. годином, изузев садржаја *Zn* у листу, који је био нешто виши у 2012. години, и садржаја *Cu* који је имао приближне вредности у обе испитиване године. Највиши садржај *Cu*, *Zn* и *B* детектован је код сорте 'Joly', при чему значајна разлика у садржају *B* у листовима није установљена између сорти 'Clery' и 'Joly' у 2012. години.

Примена минералних ђубрива резултирала је најуравнотеженијим садржајем макроелемената у листу јагоде у обе године плодоношења и микроелемената у листу јагоде у првој години плодоношења. С обзиром да минерални састав листа јагоде не зависи само од утицаја спољашњих фактора, као што су земљиште, температура, влажност, исхрана, већ зависи и од генотипа, кандидат истиче да је у 2012. години евидентиран најбоље избалансиран садржај макроелемената у листу сорте 'Joly'. Код сорти 'Joly' и 'Dely' у 2013. години, у третману са минералним ђубривом забележен је највећи садржај *Fe* и *Mo*, у третману биофертилизатором 1 највећи садржај *Cu* и *Mn*, и висок садржај *Zn* у третманима минералним ђубривом и биофертилизатором 2. Анализом индекса *DOP* израчунатих за садржај микроелемената у 2012. години, запажа се највеће процентуално одступање од оптималних вредности у садржају *Zn*, *Cu*, *Mn* и *Fe* у листу, и знатно мање одступање у садржају *B* и *Mo*. Међутим, према подацима добијеним израчунавањем  $\Sigma DOP$  за садржај микроелемената у листу јагоде у 2013. години можемо уочити да су и сорта и ђубриво значајно утицали на баланс микроелемената у листу јагоде. Највећи дебаланс микроелемената у 2013. години детектован је код сорти 'Joly' и 'Dely' (381,58 и 386,95, по редоследу), а најмањи код сорте 'Clery' (340,75). Код све три испитиване сорте највећи интензитет дебаланса микроелемената у листу забележен је употребом минералног ђубрива у 2013. години, док је најмањи интензитет дебаланса у 2013. години евидентиран код сорте 'Clery' у третману биофертилизатором 2.

**Генеративни потенцијал** испитиваних сорти јагоде праћен је преко броја родних стабљика и цветова по бокору, броја приметних плодова по родној стабљивици и по бокору, приноса по бокору и по јединици површине.

Резултати овог истраживања указују на значајан утицај генотипа на испољавање параметара генеративног потенцијала у обе експерименталне године, када је јагода плодоносила (2012. и 2013.). У 2012. години, највеће вредности броја цветова по бокору, броја приметних плодова по родној стабљивици и броја приметних плодова по бокору имала је сорта 'Clery'. Међутим значајно већи број родних стабљика по бокору евидентиран је код сорте 'Joly' (5,9) у поређењу са сортама 'Clery' и 'Dely'. Високе вредности броја родних стабљика по бокору, броја цветова по бокору и просечне масе плода условиле су добијање највећег приноса код сорте 'Joly' у 2012. години (771,2 g). У



2013. години, код сорте 'Clery' евидентирана је умерено висока родност (804,4 g), која је са друге стране била приближна нивоу родности сорте 'Joly' у овој години (857,5 g). Посматрано са аспекта примене ђубрива, у 2012. години евидентирано је повећање вредности параметара генеративног потенцијала и приноса након примене минералног ђубрива, док је у 2013. години позитиван утицај на генеративни потенцијал и принос јагоде, поред минералног ђубрива испољио и биофертилизатор 1. Наиме, принос по бокору и по  $m^2$  био је значајно већи у третману са минералним ђубривом (868,7 g и 6,9 kg, по редоследу) и биофертилизатором 1 (867,5 g и 6,9 kg, по редоследу) у односу на контролни третман и третман биофертилизатором 2.

**Физичке особине плода** сорти јагоде представљају важан показатељ њиховог квалитета, а маса плода је једна од најважнијих помолошких особина. У овом раду значајно већу масу и димензије плода имала је сорта 'Joly' у односу на сорте 'Clery' и 'Dely', у обе испитиване године. Варирања се могу запазити и по годинама испитивања, при чему су значајно више вредности испитиваних параметара регистроване у 2012. години (19,9–35,43 g) у поређењу са 2013. годином (15,3–22,1 g). Постојање разлика у вредностима физичких својстава плода по годинама испитивања кандидат објашњава различитим метеоролошким условима, односно вишим средњим месечним температурама у 2013. години, а нарочито током интензивног пораста плода јагоде у априлу и мају месецу (13,2 и 18,2°C, по редоследу) у односу на исти период у 2012. години. Такође, на смањење крупноће плода утиче и повећан број приметних плодова по бокору јагоде што је уобичајена појава у другој години експлоатације засада, а то потврђују и резултати добијени у овом раду. Ђубриво је испољило снажнији ефекат на варирање физичких својстава плода у 2013. години него у 2012. години. Наиме, примена минералног ђубрива и биофертилизатора 1 је позитивно утицала на сва испитивана физичка својства плода јагоде у 2013. години. Интеракцијски ефекат сорте и типа ђубрива условио је такође значајне промене масе плода у 2013. години где су највеће вредности регистроване код сорти 'Clery' и 'Joly' у третманима са минералним ђубривом и биофертилизатором 1, што је сагласно резултатима добијеним анализом утицаја појединачних фактора. Код сорте 'Dely', сви примењени типови ђубрива су условили повећање масе плода у поређењу са контролним третманом у 2013. години.

**Хемијска и антиоксидативна својства плода** обухватила су одређивање садржаја примарних и секундарних метаболита, као и антиоксидативног капацитета плода јагоде, а све у функцији примењених типова ђубрива. У овом огледу кандидат је проучавао важније примарне метаболите: растворљиве суве материје, укупне, инвертне шећере и сахарозу, као и укупне киселине и витамин C. У обе године плодоношења (2012. и 2013. година) садржај растворљиве суве материје није значајно варирао међу испитиваним сортама и типовима ђубрива. Просечне вредности садржаја растворљиве суве материје у функцији испитиваних типова ђубрива кретале су се од 9,9 до 10,5% у 2012. години, односно од 8,8 до 9,0% у 2013. години. Већи просечан садржај укупних шећера регистрован је у 2012. години, претежно као резултат двоструко већег учешћа сахарозе у односу на 2013. годину. Забележен је и доминантан утицај генотипа на садржај шећера у плоду јагоде имајући у виду да је до варирања садржаја укупних шећера и сахарозе у обе године плодоношења дошло само под утицајем сорте, док третмани различитим типовима ђубрива нису условили значајно повећање садржаја шећера. Слично садржају шећера, садржај укупних киселина у плоду је био виши у 2012. години у односу на 2013. годину. У првој години плодоношења највиши садржај укупних киселина евидентиран је код сорте

‘Clery’ (0,83%), а у другој години плодношења код сорте ‘Joly’ (0,71%), док је најнижи садржај укупних киселина у обе године испитивања имала сорта ‘Dely’ (0,66 и 0,52%, по редоследу). Биофертилизатор 2 је условио значајно виши ниво укупних киселина (0,81%) у односу на третмане минералним ђубривом и биофертилизатором 1 у 2012. години, док је у 2013. години минерално ђубриво условило значајно повећање садржаја укупних киселина (0,62%) у односу на третман биофертилизаторима и контролни третман.

Плодови јагоде се одликују високим садржајем витамина С, при чему различити фактори, као што су: врста, сорта, технологија гајења, еколошки услови, зрелост плода, дужина и услови складиштења могу утицати на вредност овог параметра. У овом раду, значајан интеракцијски ефекат сорте и типа ђубрива на садржај витамина С у плоду испитиваних сорти јагоде био је регистрован у обе године истраживања. Наиме, значајно виши ниво витамина С у свим третманима ђубривима укључујући и контролу имала је сорта ‘Joly’ у поређењу са сортама ‘Clery’ и ‘Dely’ у обе експерименталне године. Употреба различитих типова ђубрива није испољила значајан утицај на садржај витамина С у 2012. години, док се примена биофертилизатора 2 позитивно одразила на његов садржај у 2013. години.

Секундарни метаболити у плодовима јагоде испољавају веома снажну антиоксидативну активност засновану превасходно на високом садржају фенолних једињења. Кандидат наводи да је садржај слободне елагинске и галне киселине у плоду јагоде био доминантан у односу на ферулинску и *p*-кумаринску киселину. Код сорте ‘Dely’ садржај елагинске и галне киселине био је значајно већи од садржаја ових киселина код друге две проучаване сорте у обе експерименталне године (10,02 и 3,42  $mg\ 100\ g^{-1}$  св. м. пло. у 2012. и 12,22 и 3,23  $mg\ 100\ g^{-1}$  св. м. пло. у 2013. години, по редоследу). Примена биофертилизатора 1 у обе године испитивања показала је стимулативно дејство на садржај елагинске киселине у плоду јагоде, док је значајно већи садржај галне киселине регистрован у контролном третману, без ђубрења, у 2013. години. Повољан утицај на садржај ферулинске киселине евидентиран је применом минералног ђубрива у 2012. години, као и минералног ђубрива и биофертилизатора у 2013. години. У обе експерименталне године није уочено значајно варирање у погледу садржаја *p*-кумаринске киселине под утицајем испитиваних фактора (сорта и ђубриво), као ни под утицајем њихове интеракције. Флавоноли су били заступљени у мањим концентрацијама, при чему није уочен утицај сорте на садржај кемпферола у плодовима јагоде у обе године испитивања и мирицетина у 2013. години. Међутим, утицај биофертилизатора је био позитиван на вредности садржаја кемпферола у обе испитиване године. Мирицетин није идентификован у плодовима испитиваних сорти јагоде у 2012. години, а у 2013. години, као и код кемпферола, већи садржај овог једињења био је у третманима биофертилизаторима.

Доминантну заступљеност у плоду испитиваних сорти јагоде у обе експерименталне године имао је антоцијан пеларгонидин-3-глукозид у односу на цијанидин-3-глукозид. Такође, значајно већи садржај цијанидин-3-глукозида евидентиран је код сорте ‘Joly’, док је значајно већи садржај пеларгонидин-3-глукозида регистрован код сорти ‘Clery’ и ‘Joly’ у обе експерименталне године и у третманима биофертилизаторима. Кандидат објашњава да поједине врсте рода *Pseudomonas* продукују метаболите, који инхибирају раст појединих штетних микроорганизама, а са друге стране биљкама повећавају расположивост хранљивих материја, што се највероватније у овом истраживању одразило

на садржај антоцијана у плодовима јагоде након употребе биофертилизатора 1, који садржи бактерије родова *Pseudomonas* и *Bacillus*.

Сорта је испољила различит утицај на промене у садржају укупних антоцијана и укупних фенола по испитиваним годинама, па је тако у 2012. години значајно већи садржај укупних антоцијана и укупних фенола био у плоду сорте 'Joly' ( $34,6 \text{ mg}$  цијанидин-3-глукозида  $100 \text{ g}^{-1}$  св. м. пло. и  $237,4 \text{ mg}$  галне киселине на  $100 \text{ g}^{-1}$  св. м. пло., по редоследу), док се у 2013. години запажа обрнут тренд, тј. значајно нижа вредност укупних антоцијана је регистрована код сорте 'Joly' у односу на остале две испитиване сорте. До повећања садржаја укупних антоцијана у плоду дошло је након примене биофертилизатора 2 у 2012. години, док у 2013. години нису уочене значајне разлике између испитиваних третмана ђубривима и контроле.

Значајно већи антиоксидативни капацитет плода регистрован код сорте 'Joly' у 2012. години ( $1,86 \mu\text{mol TE} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  св. м. пло.) био је у складу са значајно већим садржајем укупних фенола и витамина C забележених за ову сорту. Међутим, у 2013. години сорте 'Clery' и 'Joly' су се одликовале значајно већим антиоксидативним капацитетом плода ( $1,14$  и  $1,03 \mu\text{mol TE} \cdot 100 \cdot \text{g}^{-1}$  св. м. пло., по редоследу) у поређењу са сортом 'Dely'. Утицај ђубрива на антиоксидативни капацитет плода евидентиран је само у 2012. години, при чему су највише вредности регистроване након употребе биофертилизатора 1.

**Сензоричка оцена квалитета плода** је резултат комплексног баланса између сласти, ароме, текстуре и изгледа плода. Анализом резултата може се уочити да је укупна сензоричка оцена варирала између испитиваних сорти у обе експерименталне године. Идентичне збирне оцене за сензорички квалитет плода оствариле су сорте 'Joly' и 'Dely' у 2012. години (15,9), а у 2013. години највећу збирну оцену остварила је сорта 'Joly' (14,7). Високе оцене које су испитиване сорте добиле за конзистенцију плода у 2012. и 2013. години, могу се довести у везу са садржајем *Ca* у листовима, који је у обе испитиване године био у суфициту.

**Биогеност земљишта** се заснива на проучавању бројности различитих систематских и физиолошких група микроорганизама у земљишту у функцији примене различитих типова ђубрива. Позитиван утицај биофертилизатора 1 на укупну бројност микроорганизама, бројност азотобактера, амонификатора и олигонитрофила запажа се у све три експерименталне године, с тим што је у 2012. и 2013. години уочен и позитиван утицај биофертилизатора 2 на бројност наведених група микроорганизама. Повећање биолошке активности земљишта може бити резултат изражене азотофиксационе способности сојева бактерија које су се налазиле у примењеном биофертилизатору и кумулативног дејства низа ефеката, као што су инхибиција развоја фитопатогена, синтеза фитохормона и егзоцелуларних полисахарида. Међутим, коришћење микробних инокуланата није довело до повећања бројности гљива и актиномицета у овом истраживању, за разлику од минералног ђубрива које је условило испољавање највећих вредности у погледу бројности ових микроорганизама у земљишту експерименталног засада, у све три године испитивања.

У поглављу **Дискусија** кандидат је детаљно коментарисао резултате истраживања из своје докторске дисертације и упоређивао их са резултатима више од 200 аутора, који су радили на истој или сличној проблематици. Дискусију добијених резултата, кандидат је приказао систематично, по истом редоследу којим су наведени и резултати истраживања. Тумачење резултата је изведено правилно и у складу са најновијим сазнањима из ове области.

У **Закључку** кандидат на основу трогодишњег испитивања утицаја микробиолошких и минералних ђубрива на биолошко-производне особине три сорте јагоде 'Clery', 'Joly' и

‘Dely’ у агроеколошким условима Чачка констатује да је најбоље резултате у погледу висине приноса и квалитета плода испољила сорта ‘Joly’, која се може препоручити за даље ширење у производњи. Употребом минералног ђубрива остварен је позитиван утицај на минерални састав листа, вегетативни и генеративни потенцијал бокора, масу и димензије плода, бројност гљива и актиномицета у земљишту, а употребом биофертилизатора 1 остварен је позитиван ефекат на генеративни потенцијал и принос јагоде у другој години плодоношења, као и на садржај већине испитиваних фенолних једињења у плоду и укупну бројност микоорганизама у земљишту употребом оба биофертилизатора. Због тога се примена микробиолошких ђубрива, као допуна или чак замена минералним ђубривима, може сматрати адекватном мером за добијање здравствено безбедних плодова јагоде и повећање биолошке активности земљишта, што се индиректно позитивно одражава и на производна својства испитиваних сорти јагоде.

Поглавље **Литература** садржи 264 референце, које су коришћене приликом писања докторске дисертације. Цитирана литература је обимна, савремена и правилно одабрана према захтевима теме која се разматра. Референце су сложене по азбучном реду и написане правилно, у складу са прихваћеним стандардима за навођење литературе.

### 3. Закључак и предлог

Докторска дисертација под насловом „**Утицај микробиолошких и минералних ђубрива на биолошко-производне особине сорти јагоде (*Fragaria ananassa* Duch.)**“ кандидата дипл. инж. Јелене Томић представља оригиналан и самосталан научни рад из области Помологије (Биотехнолошке науке). Одабрана тема је веома интересантна како са научног тако и са практичног становишта унапређења производње јагоде у Србији. Кандидат је дефинисао предмет и програм испитивања, поставио циљ, основне хипотезе, реализовао истраживања, прикупио податке, применио адекватне статистичке методе при обради података и успешно анализирао добијене резултате правилно их упоређујући са резултатима других аутора. Закључци су правилно изведени и у потпуности произилазе из добијених резултата.

Сагледавајући добијене резултате више од 40 анализираних параметара у функцији примене микробиолошких и минералних ђубрива може се закључити да кандидат даје одговоре на бројна питања повезана са ефектима примене различитих типова ђубрива на биолошке и производне особине три сорте јагоде. С обзиром да се промене у исхрани испољавају и у хемијском саставу листа, посебан значај овог рада се огледа у детаљној анализи минералног састава листа са додатним тумачењем резултата израчунавањем индекса *DOP* (*Deviation of the Optimum Procentual*), чиме се региструју потенцијална одступања и на тај начин уочавају неправилности у исхрани јагоде. Поред праћења ефеката ђубрења на биолошко-производна својства испитиваних сорти јагоде, значај ових истраживања се огледа и у утврђивању промена у броју појединих систематских и физиолошких група микроорганизама, као једног од индикатора потенцијале и ефективне производне способности земљишта.

Свеобухватном анализом добијених резултата докторант закључује да је међу проучаваним сортама најбоље резултате у погледу висине приноса, нутритивног и сензоричког квалитета плода испољила сорта ‘Joly’. Међутим, са аспекта раног времена зрења, умерене до високе родности и доброг квалитета плода, сорта ‘Clery’ је оправдала своју доминантну заступљеност у засадима јагоде. Минерално ђубриво је условило најуравнотеженији садржај макроелемената у листу јагоде у обе године плодоношења и

микроелемената у листу јагоде у првој години плодоношења, а последично је позитивно утицало и на вегетативни и генеративни потенцијал бокора, масу и димензије плода. Са друге стране, употребом биофертилизатора 1 остварен је позитиван ефекат на генеративни потенцијал и принос у другој години плодоношења, као и на садржај већине испитиваних фенолних једињења у плоду и укупну бројност микоорганизама у земљишту са применом оба биофертилизатора. Сагледавајући интеракцијски ефекат појединих сорти и примењених биофертилизатора зависно од године испитивања, уочава се њихов позитиван утицај и на антиоксидативни капацитет плода. Стога, делимична или потпуна супституција минералних ђубрива биофертилизаторима састављеним од високо ефективних сојева микроорганизама може се сматрати оправданом са аспекта унапређења постојеће технологије производње јагоде и добијања плодова са побољшаним нутритивним својствима.

Имајући у виду реализацију програма истраживања, извршену анализу добијених резултата и изведене закључке, као и научни и практични значај ових истраживања, Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију под насловом „**Утицај микробиолошких и минералних ђубрива на биолошко-производне особине сорти јагоде (*Fragaria ananassa* Duch.)**“ кандидата дипл. инж. Јелене Томић и предлаже Наставно-научном већу Пољопривредног факултета Универзитета у Београду да прихвати ову позитивну оцену и омогући кандидату да јавно брани докторску дисертацију.

У Београду, 27. 11. 2015. год.

**Чланови Комисије:**

---

Др Јасминка Миливојевић, ванредни професор  
(Област: Посебно воћарство)  
Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет

---

Др Михаило Николић, редовни професор  
(Област: Посебно воћарство)  
Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет

---

Др Маријана Пешаковић, виши научни сарадник  
(Област: Микробиологија)  
Институт за воћарство, Чачак

---

Др Владо Личина, редовни професор  
(Област: Агрохемија)  
Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет

---

Др Чедо Опарница, ванредни професор  
(Област: Опште воћарство)  
Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет

## ПРИЛОГ 1

Радови кандидата Јелене Томић, дипл. инж. објављени у часописима са *SCI* листе

### Рад у међународном часопису (M22)

1. **Томић, Ј.**, Milivojevic, J., Pesakovic. M. 2015. The response to bacterial inoculation is cultivar-related in strawberries. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 39: 332-341.
2. Pešaković, M., Milenković, S., Đukić, D., Mandić, L., Karaklajić-Stajić, Ž., **Томић, Ј.**, Miletić, N. 2015. Phenolic composition and antioxidant capacity of integrated and conventionally grown strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.). *HORTSCI*, 42, 4 (<http://www.agriculturejournals.cz/web/hortsci.htm?type=futureArticles>).

### Рад у међународном часопису (M23)

3. Pešaković, M., Milenković, S., Đukić, D., Mandić, L., Glišić, I.S., **Луковић, Ј.** 2011. Soil microbial activity as influenced by integrated and conventional production systems. *Archives of Environmental Protection*, 37, 3: 79–85.

### Рад у часопису међународног значаја верификованог посебном одлуком (M24)

4. Miletić, R., Pešaković, M., Karaklajić-Stajić, Ž., **Томић, Ј.**, Paunović, S.M. 2014. Influence of fertigation on generative potential and pomological properties of different apple cultivars. *Journal of Central European Agriculture*, 15, 2: 41–53.

## ПРИЛОГ 2

### Цитирана литература

- Egan, H, Kirk, R., Sawyer, R. 1981. The Luff Schoorl method. Sugars and preserves. In: Pearson`s chemical analysis of foods. 8<sup>th</sup> edition, Longman Scientific and Technical: Harlow, UK, pp. 152-153.
- Lichtenthaler, H.K., Buschmann, C. 2001. Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. *Current protocols in food analytical chemistry*. John Wiley and Sons, New York, pp. F4.3.1–F4.3.8.
- Liu, M., Li, X.Q., Weber, C., Lee, C.Y., Brown, J., Liu, R.H. 2002. Antioxidant and antiproliferative activities of raspberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 2926–2930.
- Montañés, L., Heras, L., Sanz, M. 1991. Deviation from optimum percentage (DOP): new index for the interpretation of plant analysis. *Annales Aula Dei* 20: 93–107.
- Nikolić, N., Kostić, Lj., Đordjević, A., Nikolić M. 2011. Phosphorus deficiency is the major limiting factor for wheat on alluvium polluted by the copper mine pyrite tailings: a black box approach. *Plant and Soil*, 339: 485–498.
- Pochon, J., Tardieux, P. 1962. *Tehnickues d'analyse en microbiologique du soil* edit de la Tourle, Saint Mandé, INRA Press, Paris, France.

- Rico-Garcia, E., Hernandez-Hernandez, F., Soto-Zarazua, G.M., Herrera-Ruiz, G. 2009. Two new methods for the estimation of leaf area using digital photography. *International Journal of Agriculture and Biology* 11: 397-400.
- Rikovski, I., Džamić, M., Rajković, M. 1989. *Praktikum iz analitičke hemije*. Građevinska knjiga, Beograd.
- 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.
- Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymology* 299: 152-178.