

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
i
Institut Ruđer Bošković Zagreb

Sveučilišni poslijediplomski interdisciplinarni studij
Zaštita prirode i okoliša

Ivna Štolfa

UTJECAJ BIOSTIMULATORA I REDUCIRANE GNOJIDBE NA
KVALITETU PLODA JAGODA I ZAŠTITU OKOLIŠA

Doktorska disertacija

Osijek, 2010.

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku i
Institut Ruđer Bošković, Zagreb
Sveučilišni poslijediplomski interdisciplinarni studij
ZAŠTITA PRIRODE I OKOLIŠA
Znanstveno područje: Prirodne znanosti
Znanstveno polje: Biologija

Doktorski rad

Utjecaj biostimulatora i reducirane gnojidbe na kvalitetu ploda jagoda i zaštitu okoliša

Ivna Štolfa

Doktorski rad izrađen je na Poljoprivrednom fakultetu i Odjelu za biologiju Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Mentor: doc.dr. sc. Aleksandar Stanisavljević, Poljoprivredni fakultet, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Komentor: dr.sc. Tatjana Prebeg, Institut Ruđer Bošković u Zagrebu

Sažetak doktorskog rada

U disertaciji je istražen utjecaj biostimulatora Megafola i Vive te njihove kombinacije na jagode (*Fragaria x ananassa* Duch.) u plasteničkom uzgoju. Ispitana je mogućnost racionalizacije gnojidbe primjenom biostimulatora, utjecaj biostimulatora na prirod i kvalitetu ploda te potencijalno pozitivno djelovanje biostimulatora na rast i otpornost biljaka. Istraživanja su provedena na biljkama u prvoj sezoni plodonošenja (jesenski pokus) te na biljkama u drugoj sezoni plodonošenja (proljetni pokus) i to pri standardnoj (100%) i reduciranoj (50%) gnojidbi.

U oba pokusa varijanta gnojidbe nije imala značajan utjecaj na pokazatelje vegetativnog rasta biljaka. Tretman Megafolom je u proljetnom pokusu značajno povećao svježiu masu najrazvijenije troliske. Analize elementarnog sastava pokazale su da je u jesenskom pokusu tretman Vivom smanjio sadržaj nitrata u supstratu i istovremeno povećao primanje N i K u korijen. U proljetnom pokusu je tretman Megafolom i kombinacijom biostimulatora povećao koncentraciju Ca u listovima, a sve su varijante biostimulatora pozitivno utjecale na akumulaciju Ca u korijenu. Analize antioksidativnog statusa lista pokazale su da su u proljetnom pokusu specifične aktivnosti askorbat peroksidaze, gvajakol peroksidaze i glutation reduktaze u listovima biljaka tretiranih biostimulatorima bile značajno veće nego kod kontrolnih biljaka, a utjecaj biostimulatora bio je znatno snažniji pri reduciranoj gnojidbi. Specifična aktivnost katalaze je u biljkama tretiranih Megafolom i kombinacijom Vive i Megafola bila značajno veća nego u kontrolnim biljkama, ali samo pri reduciranoj gnojidbi. U jesenskom pokusu, tretman Megafolom i kombinacijom biostimulatora značajno je povećao samo specifičnu aktivnost glutation reduktaze. Analize priroda pokazale su da je u proljetnom pokusu pri reduciranoj gnojidbi prirod kontrolnih biljaka bio značajno manji nego pri standardnoj gnojidbi, dok se prirod biljaka tretiranih Megafolom i kombinacijom Megafola i Vive nije značajno razlikovao od priroda kontrolnih biljaka pri standardnoj gnojidbi. Analize pokazatelja kvalitete ploda pokazale su da je u jesenskom pokusu reducirana gnojidba rezultirala manjim sadržajem nitrata u plodovima, a povisila sadržaj ukupnih fenola i ukupnu antioksidativnu aktivnost u plodovima. Značajno veći sadržaj ukupnih fenola u plodu pri reduciranoj gnojidbi utvrđen je i u proljetnom pokusu. U prikazanim eksperimentalnim uvjetima, tretman biostimulatorima nije imao značajan utjecaj na ispitivane pokazatelje kvalitete ploda ni u jesenskom niti u proljetnom pokusu.

Dobiveni rezultati su pokazali da se u plasteničkom uzgoju jagoda reduciranom gnojidbom uz upotrebu biostimulatora mogu, uz isti prirod kao i pri standardnoj gnojidbi, dobiti otpornije biljke te istodobno smanjiti opasnost od opterećenja okoliša nitratima.

Broj stranica: 153

Broj slika: 25

Broj tablica: 35

Broj literaturnih navoda: 178

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: jagoda, biostimulatori, gnojidba, antioksidativni status, prirod, okoliš

Datum obrane:

Stručno povjerenstvo za obranu:

- 1.
- 2.
- 3.

Rad je pohranjen u:

Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu (Ul. Hrvatske bratske zajednice 4); Gradskoj i sveučilišnoj knjižnici Osijek (Europske avenije 24); Sveučilištu Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku (Trg Sv. Trojstva 3) i Odjelu za biologiju u Osijeku (Trg Lj. Gaja 6).

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek and
Ruđer Bošković Institute Zagreb**
Scientific area: Natural sciences
Scientific field: Biology

PhD Thesis

The impact of biostimulators and reduced fertilization on strawberry fruit quality and environment protection

Ivna Štolfa

Thesis performed at: Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

Supervisor: Aleksandar Stanisavljević, PhD, Assistant Professor, Faculty of Agriculture, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

Co-supervisor: Tatjana Prebeg, PhD, Ruđer Bošković Institute Zagreb

Abstract

Influence of biostimulators Megafol and Viva and its combination on greenhouse grown strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) was investigated in the dissertation. The possibility for fertilisation reduction with biostimulators application, biostimulators influence on strawberry yield and fruit quality, and their potential positive effect on plant growth and resistance were investigated. The experiment was done with plants in first (fall experiment) and second fruitbearing season (spring experiment) with standard (100%) and reduced (50%) fertilisation.

In both experiments the fertilisation variant did not influence significantly on strawberry vegetative growth parameters. Foliar Megafol treatment increased significantly fresh weight of the most developed trifoliate leaflet in the spring experiment. The treatment with biostimulator Viva decreased substrate nitrate content in the fall experiment and at the same time increased root N and K uptake. On the other hand, treatment with Megafol and combination of biostimulators increased Ca concentration in leaves and all of the biostimulator treatments positively influenced the Ca accumulation in root. Leaf antioxidative status analyses showed increased ascorbate peroxidase, guaiacol peroxidase and glutathione reductase specific activity in leaves treated with biostimulators in relation to control, while biostimulator effect was more pronounced at reduced fertilisation. Also, catalase specific activity in leaves treated with Megafol and combination of biostimulators was significantly higher than in control plants, but only at reduced fertilisation level. In fall experiment, treatment with Megafol and combination of biostimulators significantly increased only glutathione reductase specific activity. Yield analyses showed that yield of control plants at reduced fertilisation was lower than obtained by standard fertilisation. However, yield of plants treated with Megafol and combination of biostimulators did not differ significantly from yield of control plants at standard fertilisation. Fruit quality analyses showed that the reduced fertilisation in fall experiment resulted in lower nitrate content as well as higher total phenol content and total antioxidative activity in fruits. Also, significantly higher total phenol content was established at reduced fertilisation in spring experiment. In both experiments and described experimental conditions, biostimulator treatment did not influence significantly on the tested fruit quality parameters.

The obtained results revealed that biostimulator treatment at reduced fertilisation level in greenhouse grown strawberry, can improve plant resistance and in the same time diminish the risk of nitrate pollution in the environment.

Number of pages: 153

Number of figures: 25

Number of tables: 35

Number of references: 178

Original in: Croatian

Key words: strawberry, biostimulators, fertilization, antioxidative status, fruit yield, environment

Date of thesis defense:

Reviewers:

- 1.
- 2.
- 3.

Thesis is deposited in:

National and University Library in Zagreb (Hrvatske bratske zajednice 4); City and University Library in Osijek (Europske avenije 24); Josip Juraj Strossmayer University of Osijek (Trg Sv. Trojstva 3) and Department of Biology in Osijek (Trg Lj. Gaja 6).

SADRŽAJ

SADRŽAJ	8
1. UVOD	8
2. DOSADAŠNJA ISTRAŽIVANJA	10
2.1. KARAKTERISTIKE JAGODA, SORTA I ZNAČAJKE UZGOJA	10
2.1.1. SORTA ELSANTA	11
2.1.2. PLASTENIČKI UZGOJ I GNOJIDBA JAGODA	12
2.2. OKSIDATIVNI STRES I ANTIOKSIDATIVNI ODGOVOR	15
2.2.1. ANTIOKSIDATIVNI ENZIMI	15
2.2.2. NEENZIMATSKI ANTIOKSIDANSI	18
2.3. BIOSTIMULATORI	22
3. HIPOTEZE I CILJEVI ISTRAŽIVANJA	25
4. MATERIJAL I METODE	26
4.1. LOKALITET	26
4.2. MATERIJAL I OPIS EKSPERIMENTA	26
4.3. ANALIZE VEGETATIVNIH POKAZATELJA RAZVOJA BILJAKA I PRIRODA	31
4.4. ODREĐIVANJE ANTIOKSIDATIVNOG STATUSA LISTA	31
4.4.1. NEENZIMATSKI ANTIOKSIDANSI	31
4.4.1.1. Određivanje koncentracije slobodnog prolina	31
4.4.1.2. Određivanje koncentracije askorbinske kiseline	32
4.4.1.3. Određivanje koncentracije vodikovog peroksida	32
4.4.1.4. Određivanje intenziteta lipidne peroksidacije	33
4.4.1.5. Određivanje sadržaja ukupnih fenola	33
4.4.2. ANTIOKSIDATIVNI ENZIMI	33
4.4.2.1. Ekstrakcija topljivih proteina	33
4.4.2.2. Određivanje koncentracije proteina	34
4.4.2.3. Spektrofotometrijsko određivanje aktivnosti gvajakol peroksidaze	34
4.4.2.4. Spektrofotometrijsko određivanje aktivnosti katalaze	35
4.4.2.5. Spektrofotometrijsko određivanje aktivnosti askorbat peroksidaze	35
4.4.2.6. Spektrofotometrijsko određivanje aktivnosti glutation reduktaze	36

4.5. ANALIZE KVALITATIVNIH SVOJSTAVA PLODA	36
4.5.1. ODREĐIVANJE SADRŽAJA REDUCIRAJUĆIH ŠEĆERA	36
4.5.2. ODREĐIVANJE UKUPNE TITRACIJSKE KISELOSTI	37
4.5.3. ODREĐIVANJE SADRŽAJA NITRATA	37
4.5.4. ODREĐIVANJE PH VRIJEDNOSTI.....	38
4.5.5. ODREĐIVANJE UKUPNE ANTIOKSIDATIVNE AKTIVNOSTI	38
4.5.6. ODREĐIVANJE SADRŽAJA UKUPNIH ANTOCIJANINA	38
4.5.7. ODREĐIVANJE SADRŽAJA ASKORBINSKE KISELINE	39
4.5.8. ODREĐIVANJE SADRŽAJA UKUPNIH FENOLA	39
4.6. ODREĐIVANJE FIZIKALNO-KEMIJSKIH SVOJSTAVA SUPSTRATA	40
4.6.1. ODREĐIVANJE SADRŽAJA NITRATA	40
4.6.2. ODREĐIVANJE PH VRIJEDNOSTI.....	40
4.6.3. ODREĐIVANJE ELEKTRIČNE PROVODLJIVOSTI.....	40
4.7. ODREĐIVANJE MINERALNOG SASTAVA (LIST, KORJEN, SUPSTRAT, BIOSTIMULATORI)	40
.....	
4.7.1. PRIPREMA OSNOVNE OTOPINE	41
4.7.2. ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE DUŠIKA	41
4.7.3. ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE FOSFORA.....	42
4.7.4. ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE OSTALIH MAKROELEMENATA I SADRŽAJA MIKROELEMENATA	43
4.8. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA.....	44
 5. REZULTATI	 45
 5.1. JESENSKI POKUS.....	 46
5.1.1. ANALIZE FIZIKALNO-KEMIJSKIH SVOJSTAVA SUPSTRATA.....	46
5.1.1.1. Korelacijske povezanosti između fizikalno-kemijskih svojstava supstrata pod utjecajem biostimulatora i reducirane gnojidbe	49
5.1.2. ANALIZE VEGETATIVNIH POKAZATELJA RAZVOJA BILJAKA I PRIRODA	49
5.1.2.1. Korelacijske povezanosti između vegetativnih pokazatelja razvoja i priroda biljaka pod utjecajem biostimulatora i reducirane gnojidbe	50
5.1.3. ANALIZE ANTIOKSIDATIVNOG STATUSA LISTA	50
5.1.3.1. Prolin	50
5.1.3.2. Askorbinska kiselina	51
5.1.3.3. Vodikov peroksid	51
5.1.3.4. Intenzitet lipidne peroksidacije	51
5.1.3.5. Ukupni fenoli	52

5.1.3.6.	Aktivnost gvajakol peroksidaze	54
5.1.3.7.	Aktivnost katalaze	54
5.1.3.8.	Aktivnost askorbat peroksidaze	55
5.1.3.9.	Aktivnost glutacion reduktaze	55
5.1.3.10.	Korelacijske povezanosti između pokazatelja antioksidativnog statusa u listu pod utjecajem biostimulatora i reducirane gnojidbe	57
5.1.4.	ANALIZE MINERALNOG SASTAVA LISTA.....	60
5.1.4.1.	Korelacijske povezanosti između komponenata mineralnog sastava lista i neenzimatskih antioksidansa u listu pod utjecajem biostimulatora i reducirane gnojidbe	62
5.1.4.2.	Korelacijske povezanosti između komponenata mineralnog sastava lista i vegetativnih pokazatelja razvoja te priroda pod utjecajem biostimulatora i reducirane gnojidbe	65
5.1.5.	ANALIZE MINERALNOG SASTAVA KORIJENA.....	65
5.1.5.1.	Korelacijske povezanosti između komponenata mineralnog sastava korijena i vegetativnih pokazatelja razvoja te priroda biljaka pod utjecajem biostimulatora i reducirane gnojidbe	66
5.1.6.	ANALIZE KVALITATIVNIH SVOJSTVA PLODA.....	67
5.1.6.1.	Reducirajući šećeri	67
5.1.6.2.	Ukupna titracijska kiselost	67
5.1.6.3.	pH vrijednost	67
5.1.6.4.	Ukupni fenoli	68
5.1.6.5.	Ukupni antocijanini	68
5.1.6.6.	Ukupna antioksidativna aktivnost	68
5.1.6.7.	Askorbinska kiselina	69
5.1.6.8.	Nitrati	69
5.1.6.9.	Korelacijske povezanosti između ispitivanih pokazatelja kvalitete ploda, koncentracije K i N u listu te priroda pod utjecajem biostimulatora i reducirane gnojidbe	71
5.1.6.10.	Korelacijske povezanosti između neenzimatskih pokazatelja antioksidativnog statusa lista i ispitivanih pokazatelja kvalitete ploda pod utjecajem biostimulatora i reducirane gnojidbe	73
5.2.	PROLJETNI POKUS.....	74
5.2.1.	ANALIZE FIZIKALNO-KEMIJSKIH SVOJSTAVA SUPSTRATA.....	74
5.2.1.1.	Korelacijske povezanosti između fizikalno-kemijskih svojstava supstrata pod utjecajem biostimulatora i reducirane gnojidbe	76
5.2.2.	ANALIZE VEGETATIVNIH POKAZATELJA RAZVOJA BILJAKA I PRIRODA.....	76

5.2.2.1. Korelacijske povezanosti između vegetativnih pokazatelja razvoja i priroda biljaka pod utjecajem biostimulatora i reducirane gnojidbe	77
5.2.3. ANALIZE ANTIOKSIDATIVNOG STATUSA LISTA	77
5.2.3.1. Koncentracija prolina	77
5.2.3.2. Koncentracija askorbinske kiseline	78
5.2.3.3. Koncentracija vodikovog peroksida	78
5.2.3.4. Intenzitet lipidne peroksidacije	78
5.2.3.5. Sadržaj ukupnih fenola	78
5.2.3.6. Aktivnost gvajakol peroksidaze	80
5.2.3.7. Aktivnost katalaze	81
5.2.3.8. Aktivnost askorbat peroksidaze	81
5.2.3.9. Aktivnost glutation reduktaze	82
5.2.3.10. Korelacijske povezanosti između pokazatelja antioksidativnog statusa u listu pod utjecajem biostimulatora i reducirane gnojidbe	84
5.2.4. ANALIZE MINERALNOG SASTAVA LISTA.....	87
5.2.4.1. Korelacijske povezanosti između komponenata mineralnog sastava lista i neenzimatskih antioksidansa u listu pod utjecajem biostimulatora i reducirane gnojidbe	90
5.2.4.2. Korelacijske povezanosti između komponenata mineralnog sastava lista i vegetativnih pokazatelja razvoja i priroda pod utjecajem biostimulatora i reducirane gnojidbe	93
5.2.5. ANALIZE MINERALNOG SASTAVA KORIJENA	93
5.2.5.1. Korelacijske povezanosti između komponenata mineralnog sastava korijena i vegetativnih pokazatelja razvoja i priroda biljaka pod utjecajem biostimulatora i reducirane gnojidbe	94
5.2.6. ANALIZE KVALITATIVNIH SVOJSTAVA PLODA.....	95
5.2.6.1. Reducirajući šećeri	95
5.2.6.2. Ukupna titracijska kiselost	95
5.2.6.3. pH vrijednost	95
5.2.6.4. Ukupni fenoli	95
5.2.6.5. Ukupni antocijanini	95
5.2.6.6. Ukupna antioksidativna aktivnost	96
5.2.6.7. Askorbinska kiselina	96
5.2.6.8. Nitrati	96
5.2.6.9. Korelacijske povezanosti između ispitivanih pokazatelja kvalitete ploda, koncentracije K i N u listu te priroda pod utjecajem biostimulatora i reducirane gnojidbe	98

5.2.6.10. Korelacijske povezanosti između neenzimatskih pokazatelja antioksidativnog statusa lista i ispitivanih pokazatelja kvalitete ploda pod utjecajem biostimulatora i reducirane gnojidbe	100
<u>6. RASPRAVA</u>	101
<u>7. ZAKLJUČCI</u>	125
<u>8. LITERATURA</u>	129
<u>9. ŽIVOTOPIS</u>	149
<u>10. POPIS RADOVA</u>	150

1. UVOD

Jagoda (*Fragaria x ananassa* Duch.) je grmolika, zeljasta, višegodišnja biljka, koja se može uzgajati na otvorenom ili u plastenicima i staklenicima. Sustav uzgoja jagoda na različitim supstratima u zaštićenim prostorima poput plastenika i staklenika, omogućuje pomak berbe jagoda izvan uobičajene sezone jagoda, gdje se uz visoku i kvalitetnu proizvodnju mogu postići visoke cijene na tržištu.

U plasteničkom uzgoju jagoda u supstratu zbog intenzivne gnojidbe vrlo često dolazi do pojave solnog stresa zbog malog volumena supstrata i njegove velike propusnosti za hranjivu otopinu, pri čemu kod viših temperatura i velike potrošnje vode transpiracijom biljaka može doći do zaslanjivanja supstrata. S druge strane, intenzivnom gnojidbom značajne količine hraniva mogu biti izgubljene otjecanjem hranjive otopine kroz supstrat u vanjsku sredinu, ukoliko ne postoji mogućnost recirkulacije hranjive otopine, što osim nepovoljnog financijskog učinka predstavlja i ekološko opterećenje. U posljednje se vrijeme stoga sve više istražuje djelovanje biostimulatora, preparata na bazi biljnih ekstrakata, koji u malim koncentracijama poboljšavaju rast i metabolički status biljaka (Zhang i Schmidt, 1997.). Upotrebom biostimulatora se teoretski može smanjiti primjena gnojiva kako na otvorenom polju, tako i u hidroponskom uzgoju, što je od posebne važnosti za očuvanje okoliša.

Biostimulatori su namijenjeni tretmanu biljaka zalijevanjem ili folijarno. Ovi preparati sadrže fiziološki aktivne organske i anorganske komponente poput huminskih kiselina, aminokiselina, peptida, proteina, polisaharida, vitamina i mikroelemenata. Patentirani proces ekstrakcije daje sve prirodno sadržane aktivne komponente i prateće kofaktore, čime je osigurana visoka razina njihove čistoće i aktivnosti te pristupačnosti za biljku. Smatra se da biostimulatori povoljno utječu na razvoj korijena, poboljšavaju usvajanje i iskorištenje hraniva te povećavaju otpornost na različite vrste abiotskog stresa, naročito u fazi presađivanja mladih biljaka. Prednost ovih prirodnih stimulatora rasta je da nemaju negativnih sporednih učinaka, za razliku od sintetskih preparata dobivenih kemijskim putem ili preparata animalnog podrijetla. Danas postoji cijeli niz komercijalnih biostimulatora različitog kemijskog sastava te je od posebnog značaja odrediti koji

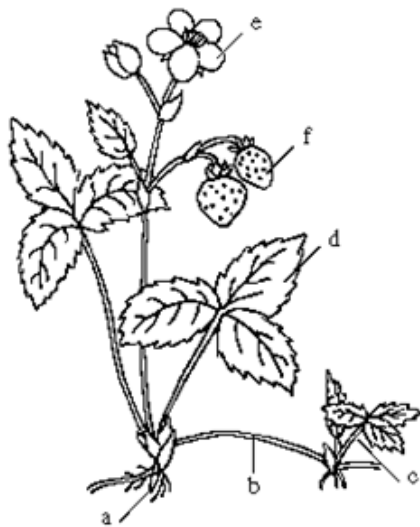
biostimulator primijeniti za određenu biljnu vrstu i u kojoj je fazi rasta biljke njegovo djelovanje fiziološki i komercijalno najpogodnije.

U okviru ove disertacije, istražena je mogućnost racionalizacije gnojidbe primjenom biostimulatora u plasteničkom uzgoju jagoda, utjecaj biostimulatora na prirod i kvalitetu ploda te potencijalna uloga biostimulatora kao regulatora rasta jagoda i stimulatora obrambene reakcije biljke na fiziološke poremećaje mineralne ishrane. U tu svrhu su ispitivana dva biostimulatora, Megafol i Viva te njihova kombinacija. Prema deklaraciji proizvođača, Megafol je aminokiselinski kompleks koji omogućava uravnoteženi razvoj biljke i prevladavanje stresnih uvjeta. Viva je aktivator biološke aktivnosti biljke čije je djelovanje usmjereno na korijenov sustav te na mikrobiološku aktivnost u tlu. Biljke tretirane Vivom trebale bi imati razvijeniji korijenov sustav i poboljšani prirod, kako u smislu kvantitete, tako i kvalitete plodova. Primjena Vive također se preporučuje za regeneraciju mikroflore u tlu nakon kemijskih tretmana kao što je primjena nematocida. Primjena biostimulatora Megafola i Vive u plasteničkom uzgoju jagoda bila bi od izuzetne važnosti na samo zbog njihova mogućeg pozitivnog djelovanja na rast, razvoj, produktivnost i otpornost jagoda, već i s ekološkog aspekta, odnosno zbog mogućnosti redukcije gnojidbe što bi bi rezultiralo znatnim smanjenjem opterećenja okoliša nitratima.

2. DOSADAŠNJA ISTRAŽIVANJA

2.1. Karakteristike jagoda, sorta i značajke uzgoja

Jagoda (*Fragaria x ananassa* Duch.) je grmolika, zeljasta, višegodišnja biljka koja



Slika 1. Morfologija jagode. a) korijen; b) vriježa; c) mlada biljka; d) trodjelni list s peteljkom; e) cvijet bijele boje; f) plod.

(www.inra.fr/hyppz/DESSINS/8039045.gif)

pripada porodici *Rosaceae*. Osnovu stabljike jagode čini kruna (skraćena stabljika) iz koje se stvaraju listovi i aksilarni pupovi. Listovi su trodjelni, s dugačkim lisnim peteljka i tvore prizemnu rozetu. Većinom su slabo naborani i rjeđe kožasti, na naličju rijetko dlakavi ili gotovo goli (*Slika 1*). Kod većine vrsta jagoda u vanjskom uzgoju listovi žive tek nekoliko mjeseci te venu nakon pojave prvog mraza u jesen. U proljeće stare listove nadomještaju mladi, čiji su začeci prezimili ispod zaštitnih slojeva palistića. U vegetativnom pupu se obično nalazi 5 do 10 lisnih začetaka.

Vriježe se razvijaju iz aksilarnih lisnih pupova i na njihovim krajevima se stvaraju nove mlade biljke.

Cvijet je pravilan, promjera 2,5 do 3 cm, dvospolan s puno prašnika. Cvatnja u uvjetima otvorenog polja počinje u travnju, 14-20 dana nakon listanja i traje 10 do 25 dana, što ovisi o sorti i vremenskim prilikama. Berba započinje otprilike mjesec dana nakon cvatnje te ovisno o sorti i vremenskim prilikama traje 1 do 3 tjedna. Jagode se razmnožavaju sjemenom te vegetativno vriježama i dijeljenjem grmova. S obzirom na učestalost plodonošenja, jagode mogu biti jednorodne (daju plod jednom u godini) i stalnorađajuće (mjesječarke; daju plod čitavo ljeto do prvih mrazeva u jesen) (Dubravec i Dubravec, 1989.; Miloš, 1997.; Hoover i sur., 2008.).

Plod jagoda je iznimno cijenjen kao funkcionalna hrana, budući da zbog visokog sadržaja vitamina C i fenola pokazuje jako antioksidativno djelovanje. U istraživanju nekoliko vrsta voća, između ostalih jagode, kivija, jabuke, breskve i marelice, najviše su antioksidativne aktivnosti izmjerene upravo u plodovima divljih i nekoliko sorti kultiviranih jagoda (Scalzo i sur., 2005.).

Prema podacima za 2008. godinu, u Europi se jagoda uzgajala na 164 191 ha te je ukupno proizvedeno 1 419 699 tona, dok se u Hrvatskoj jagoda uzgajala na 305 ha s ukupnom proizvodnjom od 3 118 tona (FAOSTAT).

2.1.1. Sorta Elsanta

Sorta jagode Elsanta (*Fragaria* × *ananassa* cv. *Elsanta*) selektirana je 1975. godine (Plant Research International B.V.), kao rezultat križanja sorti 'Gorella' x 'Holiday'. Sorta jagode Elsanta jedna je od najčešće uzgajanih sorti jagoda kako u Europi, tako i u Hrvatskoj. Razlozi vrlo visoke stope proizvodnje ove sorte su visoki prirod s kvalitetnim plodovima te produženo vrijeme skladištenja.

U istraživanju koje je obuhvatilo 7 sorti jagoda, Elsanta je imala najviše vrijednosti antioksidativne aktivnosti, sadržaja topljive suhe tvari, omjera topljive suhe tvari i ukupne kiselosti te sadržaja askorbinske kiseline, ukupnih fenola i neflavonoidnih fenola (Voća i sur., 2008.).

Uspoređujući utjecaj tri različita sustava uzgoja (na otvorenom polju, u plastičnom tunelu i u hidroponu) na kakvoću plodova sorte Elsanta, Družić i sur. (2006.) su utvrdili da najbolje fizikalno – kemijske parametre imaju plodovi uzgojeni u plasteničkom načinu uzgoja.



Slika 2. Sorta jagode Elsanta.

(<http://www.hargreavesplants.com>)

2.1.2. Plastični uzgoj i gnojidba jagoda

U zaštićenim prostorima, poput plastenika i staklenika, postoji nekoliko tipova uzgoja jagoda bez tla (tzv. "soilless"). Ovi se tipovi uzgoja međusobno razlikuju s obzirom na način postavljanja sadnica.

Kod vertikalnog tipa uzgoja (Slika 3), sadnice jagoda su posađene u 8 - 9 perlitnih posuda s otvorom u sredini. Otvor omogućuje nizanje posuda vertikalno na metalne nosače, čime se postiže bolje iskorištenje raspoložive proizvodne površine, odnosno ušteda prostora, i povećanje priroda po jedinici površine. Glavni problem koji se javlja kod ovakvog tipa uzgoja je zasjenjenje sadnica jagoda u donjim posudama te sustav prihrane kod kojeg hraniva prolaze iz jedne posude u drugu, što često dovodi do pojave zaslanjivanja supstrata u donjim posudama.



Slika 3. A - Vertikalni plastični uzgoj jagoda; B – Detalj vertikalnog uzgoja

(Foto: A. Stanisavljević, 2007.)

Kod kosog tipa uzgoja (Slika 4), presadnice jagoda posađene su na kose metalne konstrukcije čime se smanjuje problem zasjenjenja donjih posuda. Kod horizontalnog tipa uzgoja (Slika 5), presadnice jagoda posađene su u perlitne posude koje se mogu nalaziti horizontalno na tlu ili na povišenoj metalnoj konstrukciji koja omogućava sakupljanje procjednih hraniva i njihovu ponovnu cirkulaciju u sustavu.



Slika 4. Kosi plastenički uzgoj jagoda; B – Detalj kosog uzgoja.
(http://ec.europa.eu/environment/ozone/lisbon_conference.htm)



Slika 5. A - Horizontalni plastenički uzgoj jagoda; B – Detalj horizontalnog uzgoja.
(http://ec.europa.eu/environment/ozone/lisbon_conference.htm)

Plastenički uzgoj omogućuje pomak berbe jagoda izvan uobičajene sezone, a osobito se pokazao dobrim u jesenskoj proizvodnji, gdje se uz visoku i kvalitetnu proizvodnju postižu

visoke cijene na tržištu (Miloš, 1997.). Međutim, za razliku od tla, koje svojom pufernom sposobnošću i apsorpcijskim kapacitetom može podnijeti intenzivniju gnojidbu i održavati ravnotežu hraniva tijekom vegetacije, supstrati koji se koriste pri uzgoju u posudama u zaštićenim prostorima zahtijevaju kontinuiranu prihranu vodotopljivim gnojivima, a često i folijarnu primjenu pojedinih hraniva. Mali volumen supstrata i njegova velika propusnost za hranjivu otopinu podrazumijevaju kontrolirano i prilagođeno doziranje hraniva, pri čemu kod viših temperatura i intenzivne transpiracije biljaka može doći do zaslanjivanja supstrata i solnog stresa u biljkama. Prema Giuffrida i sur. (2001.), jagode su osjetljive na povećanu zaslanjenost hranjive otopine, naročito kod EC 2,6 – 4,6 dS m⁻¹ (ili mS cm⁻¹), pri čemu se zbog solnog stresa smanjuje broj plodova po biljci te masa plodova, a biljke progresivno odumiru. Zbog toga je važan čimbenik pri uzgoju u tzv. "soilless" sustavu pravilno navodnjavanje i gnojidba, odnosno fertirigacija. S druge strane, uzgoj bez tla kao krajnji rezultat daje velik urod, kvalitetne i zdrave plodove bogatije mineralnim tvarima i vitaminom C, s manje teških metala (Parađiković i Kraljičak, 2008.).

U vrijeme zametanja prvih plodova i nakon toga, posebno je važna gnojidba dušikom i kalijem. Gnojidba dušikom iznimno je važna jer je ovaj element sastavni dio aminokiselina, nukleinskih kiselina, klorofila i mnogih drugih spojeva te je stoga neophodan za rast i razvoj biljke. S druge strane, kalij sudjeluje u aktivaciji čak 60 vrsta enzima uključenih u rast i razvoj biljke, važan je za procese fotosinteze i stvaranja ATP-a te ima ulogu u transportu nitrata, aniona organskih kiselina, aminokiselina i šećera, a iznimno je važan i u regulaciji vodnog režima biljaka. Budući da se za vrijeme formiranja ploda šećeri iz fotosintetski aktivnih tkiva premještaju u plod, to može dovesti do nedostatka ugljikohidrata u korijenu i inhibicije usvajanja kalija, stoga se kalij u plodove mora transportirati iz listova i stabljike. Zbog deficita kalija dolazi do smanjene sinteze proteina unatoč dostupnom dušiku te do akumulacije ulaznih sirovina za sintezu aminokiselina, tj. nitrata i amida. Kalij utječe i na metabolizam škroba jer aktivira enzim sintazu škroba te uslijed manjka kalija dolazi do akumulacije topljivih šećera (Kafkafi i sur., 2001.; Kant i Kafkafi, 2002.). Tagliavini i sur. (2004.) ističu da se više od 60% ukupnih potreba jagoda za kalijem odnosi na kratko razdoblje koje obuhvaća pet tjedana nakon cvatnje, stoga se pri hidroponskom uzgoju jagoda uobičajeno preporučuje intenzivna gnojidba kalijem, upravo u razdoblju formiranja ploda i zriobe. Odgovarajuća gnojidba kalijem povezana je s povećanim prirodom, veličinom plodova, povećanjem sadržaja topljive suhe tvari i askorbinske kiseline te produženjem vremena skladištenja (Lester i sur., 2010.).

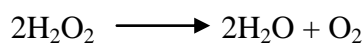
2.2. Oksidativni stres i antioksidativni odgovor

Biljke su tijekom razvoja izložene velikom broju nepovoljnih abiotičkih i biotičkih čimbenika koji negativno utječu na njihov razvoj, metabolizam i prirod (Kaur i Gupta, 2005.). Promjene abiotičkih čimbenika, kao što su temperatura, svjetlost i salinitet, često kod biljaka dovode do pojave oksidativnog stresa (Ahmad i sur., 2009.). Oksidativni stres nastaje kao posljedica pojačanog stvaranja reaktivnih kisikovih jedinki (engl. *reactive oxygen species* - ROS) (Mittler, 2002.; Bhattacharjee, 2005.). ROS u pravilu nastaju prijenosom jednog, dva ili tri elektrona na molekularni kisik pri čemu nastaju superoksidni radikal (O_2^-), vodikov peroksid (H_2O_2) ili hidroksilni radikal (HO^\cdot), ili ekscitacijom molekularnog kisika uslijed čega dolazi do stvaranja visokoenergetskog singletnog kisika (Mittler, 2002.). Radi se o vrlo reaktivnim molekulama koje mogu stupiti u interakciju s nizom različitih molekula u stanici kao što su DNA, ugljikohidrati, lipidi, proteini itd. te tako oštetiti različite stanične komponente. Kako bi uspješno spriječile i/ili smanjile oštećenja nastala uslijed oksidativnog stresa, biljke su razvile kompleksan antioksidativni mehanizam regulacije ROS-a. Antioksidativni sustav biljaka čine antioksidativni enzimi (npr. katalaza, superoksid dismutaza, enzimi askorbat – glutationskog ciklusa) te neenzimatski antioksidansi (npr. flavoni, tokoferoli, antocijanini, karotenoidi i askorbinska kiselina) (Ashraf, 2009.).

2.2.1. Antioksidativni enzimi

Katalaza

Katalaza (engl. *catalase* - CAT; EC 1.11.1.6) katalizira pretvorbu vodikovog peroksida u vodu i kisik:



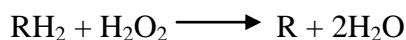
Vodikov peroksid u biljnim stanicama uglavnom nastaje tijekom procesa fotosinteze, fotorespiracije te, u manjoj mjeri, staničnog disanja (Ślesak i sur., 2007.; Bhattacharjee, 2005., Pevalek-Kozlina, 2002.). Do pojačanog stvaranja vodikovog peroksida u kloroplastima i drugim staničnim kompartmentima te u apoplastu dolazi kada je biljka izložena različitim stresnim uvjetima (Foyer i sur., 1997.). Smatra se da vodikov peroksid također ima ulogu signalne molekule koja posreduje u otpornosti biljaka na biotički i

abiotički stres, ali također i u procesima rasta i razvoja biljke (Bhattacharjee, 2005.; Ślesak i sur., 2007.).

CAT ima izrazito nizak afinitet prema supstratu (H_2O_2) jer je za samu reakciju potreban simultan ulazak dvije molekule H_2O_2 u aktivno mjesto (Willkenes i sur., 1995.). U biljnim stanicama primarno se nalaze u peroksisomima i glioksisomima. U kloroplastima prisutnost CAT nije utvrđena te se u njima H_2O_2 uklanja u tzv. askorbat-glutationskom ciklusu (Foyer i Noctor, 2003.). Do značajnog povećanja aktivnosti CAT može doći u različitim stresnim uvjetima, primjerice tijekom aklimatizacije biljke na niske temperature (Guo i sur., 2006.), kao odgovor na solni stres (El-baky i sur., 2003.) ili sušu (Nair i sur., 2008.). Aktivnost CAT smatra se jednim od glavnih pokazatelja otpornosti biljaka na solni stres (Ashraf, 2009.).

Peroksidaze

Peroksidaze su enzimi koji kataliziraju redoks reakcije između vodikovog peroksida i različitih reducensa (npr. fenola, prekursora lignina, auksina, sekundarnih metabolita) (Hiraga i sur., 2001.):



Peroksidaze se dijele u tri razreda: razred I (EC 1.11.1.5/6/11) obuhvaća intracelularne peroksidaze, razred II (EC 1.11.1.13/14) obuhvaća peroksidaze koje sintetiziraju gljive i razred III (EC 1.11.1.7) obuhvaća peroksidaze koje se izlučuju u apoplast biljnih stanica (Welinder, 1992.). Sve biljne peroksidaze imaju istu temeljnu strukturu. Sastoje se od hem skupine građene od atoma željeza i protoporfirina IX, deset alfa uzvojnica i dva stabilizirajuća iona kalcija (Veitch, 2004.). Peroksidaze su u biljkama uključene u mnoge fiziološke i razvojne procese, od klijanja do senescencije (npr. sudjeluju u biosintezi lignina, degradaciji indol-3-octene kiseline, biosintezi etilena itd.) (Asada 1992., Passardi i sur., 2005.). S druge strane, sudjeluju u regulaciji razine vodikovog peroksida te imaju važnu ulogu u zaštiti biljaka od štetnog djelovanja ROS-a (Passardi i sur., 2005.).

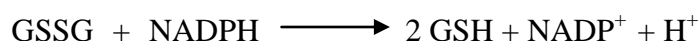
Askorbat peroksidaza (engl. *ascorbate peroxidase* - APX; EC 1.11.1.11) je intracelularna peroksidaza koja pripada peroksidazama razreda I (Asada, 1992.). Uloga ovog enzima je brzo uklanjanje vodikovog peroksida koristeći askorbat kao elektron donor (Dąbrowska i sur., 2007.). APX je učinkovita u uklanjanju H_2O_2 čak i pri niskoj

koncentraciji enzima jer za razliku od CAT ima velik afinitet za H₂O₂ (Asada, 1992.). U biljnim stanicama različite izoforme APX-a utvrđene su u kloroplastima, mitohondrijima, peroksisomima i citoplazmi (Jiménez i sur., 1997.). Do povećanja aktivnosti APX može doći u različitim stresnim uvjetima, kao što su primjerice visoka i niska temperatura (Sato i sur., 2001.), svjetlost visokog intenziteta (Yabuta i sur., 2004.; Yoshimura i sur., 2000.) ili kombinacija različitih stresnih faktora (Koussevitzky i sur., 2008.). Glavnu ulogu u reguliranju aktivnosti APX ima koncentracija vodikovog peroksida (Morita i sur., 1999.).

Gvajakol peroksidaza (engl. *guaiacol peroxidase* - GPX) kao donor elektrona koristi aromatske fenole, a pripada peroksidazama razreda III (Siegel i Galston, 1967.). Biljne peroksidaze razreda III imaju velik broj izoformi i različito reguliranu ekspresiju, a uključene su u brojne stanične procese tijekom razvoja biljaka te u odgovor biljaka na stresne čimbenike iz okoliša (Passardi i sur., 2005.). Osim što kataliziraju redukciju vodikovog peroksida u tzv. peroksidativnom ciklusu, također mogu dovesti do nastanka različitih oblika ROS-a (tzv. hidroksilni ciklus) (Liszkay i sur., 2003.; Passardi i sur., 2004.).

Glutation reduktaza

Glutation reduktaza (engl. *glutathione reductase* - GR; EC 1.6.4.2) katalizira redukciju oksidiranog glutationa (GSSG) u reducirani oblik (GSH) reakcijom ovisnom o NADPH:



Reducirani glutation je snažan reducens koji održava proteinske tiolne skupine u reduciranom obliku i štiti membrane od peroksidacije uzrokovane ROS-om. Oksidirani oblik glutationa nema sposobnost zaštite staničnih struktura od oksidacije (Noctor i Foyer, 1998.; Tandoğan i Ulusu, 2006.). Aktivnošću GR se u kloroplastima odnos GSH/GSSG održava u omjeru 10:1 (Anderson i sur., 1990.). Zajedno s APX, GR su uključene u askorbat-glutationski ciklus kojim se neutralizira H₂O₂ (Noctor i Foyer, 1998.). Različiti izoenzimi GR su lokalizirani u kloroplastima, mitohondrijima, citoplazmi i peroksisomima (Romero-Puertas i sur., 2006.). Do povećanja aktivnosti GR često dolazi u stresnim uvjetima u okolišu, poput niskih temperatura, visokog intenziteta svjetlosti, povišenog saliniteta ili prisutnosti zagađivača (Foyer i sur., 1991.; Anderson i sur., 1992.; Edwards i sur., 1993.; Meloni i sur., 2003.).

2.2.2. Neenzimatski antioksidansi

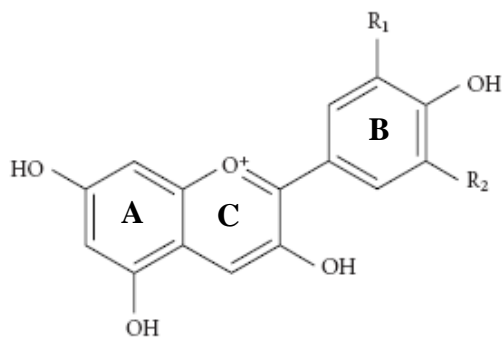
Askorbinska kiselina

Askorbinska kiselina (*Slika 6*) je izuzetno važan antioksidans u biljnim stanicama koji u suradnji s drugim komponentama antioksidativnog sustava, djelotvorno štiti biljke od oksidativnih oštećenja (Smirnov, 1996.). Glavni prekursori za sintezu askorbinske kiseline su L-galaktoza i L-galaktono-1,4-lakton (Barata-Soares i sur., 2004.). Askorbinska kiselina je prisutna u kloroplastima, citoplazmi, vakuoli i apoplastu (Arora i sur., 2002.). U kloroplastima se nalazi oko 30 - 40% ukupne askorbinske kiseline te u njima koncentracija askorbinske kiseline može iznositi 20 - 300 mM (Smirnov, 2000.). Smatra se da u kloroplastima askorbinska kiselina ima važne uloge u procesu fotosinteze, kao što su primjerice uklanjanje vodikovog peroksida koji nastaje fotoredukcijom kisika u fotosustavu I, zatim direktno uklanjanje superoksidnog i hidroksilnog radikala i singletnog kisika, te uloga kofaktora violaksantin de-epoksidaze, enzima koji sudjeluje u rasipanju viška ekscitacijske energije (u ksantofilskom ciklusu) (Smirnov, 2000.). S druge strane, smatra se da askorbinska kiselina prisutna u apoplastu sudjeluje u metabolizmu stanične stijenke i izduživanju stanice (Smirnov, 1996.), ali također i zaštiti od oksidativnih oštećenja nastalih djelovanjem ozona (Luwe, 1996.) Svojstvo reducensa askorbinska kiselina ima zahvaljujući reaktivnoj endiol skupini (Smirnov, 1996.) (*Slika 6*). Zbog tog svojstva askorbinska kiselina može direktno uklanjati različite oblike ROS-a (singletni kisik, superoksidni anion i hidroksilni radikal) (Bodannes i Chan, 1979.). Oksidacijom askorbinske kiseline nastaje monodehidroaskorbatni radikal koji disproporcionira na askorbinsku kiselinu i dehidroaskorbinsku kiselinu (*Slika 6*). Budući da je dehidroaskorbinska kiselina vrlo nestabilna pri pH većem od 7, važno je održati zalihu askorbinske kiseline u reducirajućem obliku kako bi se spriječio njen gubitak (Smirnov, 1996.).

Fenoli

Biljke proizvode mnoštvo različitih spojeva koji sadrže jednu ili više fenolnih skupina. Jedna od najvećih skupina fenola u biljkama su flavonoidi koji se uglavnom pojavljuju kao glikozidi, a sadrže nekoliko fenolnih hidroksilnih funkcionalnih skupina vezanih za prstenaste strukture (Rice-Evans i sur., 1997.). Skupina flavonoida obuhvaća antocijanidine, flavonole, flavone, flavanone, flavan-3-ole i izoflavone (Lila, 2004.). Sintetiziraju se iz prekursora nastalih putem šikiminske kiseline ili acetat-malonatnim putem (Rice-Evans i sur., 1997.). Upravo zbog svoje strukture fenolni spojevi su dobri antioksidansi. Antioksidativna aktivnost fenola određena je njihovom sposobnošću doniranja elektrona ili vodika te stabilizacije i delokalizacije nesparenih elektrona, ali i reaktivnošću s ostalim antioksidansima te potencijalom za kelatiranje metala (Rice-Evans i sur., 1997.). Za flavonoide je karakteristično svojstvo apsorpcije UV zračenja i zbog toga su glavna mjesta akumulacije flavonoida epidermalno i subepidermalno područje fotosintetskih tkiva, a vrlo često se nalaze i u kutikularnom vosku i trihomima (Tattini i sur., 2000.; Tattini i sur., 2004.). Flavonoidi su uključeni u brojne fiziološke procese u biljkama: u interakcije biljka – biljka i biljka – mikroorganizam; u odgovor biljke na biotičke i abiotičke čimbenike stresa; u staničnu signalizaciju te u rast, razvoj i razmnožavanje biljaka (Pourcel i sur., 2006.).

Glavna skupina flavonoida karakterističnih za plod jagode su antocijanini (Bordignon i sur., 2009.). Antocijanini nastaju glikoziliranjem ili acilglikoziliranjem antocijanidina i upravo su te strukturne promjene odgovorne za modifikaciju njihova antioksidativnog potencijala (Wang i sur., 1997.). Molekula antocijanidina građena je od dva benzenska (A i B) i piranskog prstena (C) na koje su vezane funkcionalne hidroksilne skupine (*Slika 8*). Antocijanini su široko rasprostranjeni u cvjetovima i plodovima biljaka te im daju karakterističnu boju (crvenu, ružičastu, ljubičastu, plavu). Imaju važnu ekološku ulogu u privlačenju oprašivača i životinja koje rasprostranjuju plodove. Smatra se da antocijanini mogu pojačati antioksidativni odgovor biljaka te tako podržati normalan fiziološki status tkiva u slučaju kad je biljka izložena različitim biotičkim i abiotičkim stresnim faktorima (Stintzing i Carle, 2004.).



Slika 8. Struktura antocijanidina.

Cijanidin, $R_1 = \text{OH}$, $R_2 = \text{H}$;

delfinidin, $R_1 = R_2 = \text{OH}$;

peonidin, $R_1 = \text{OCH}_3$, $R_2 = \text{H}$;

petunidin, $R_1 = \text{OCH}_3$, $R_2 = \text{OH}$;

malvidin, $R_1 = R_2 = \text{OCH}_3$

(prema Nakajima i sur., 2004.).

Prolin

Aminokiselina prolin se u biljnim stanicama nakuplja u velikim količinama kao odgovor na različite stresne uvjete u okolišu te je jedan od glavnih pokazatelja osmotskog stresa (Ashraf i Foolad, 2007.). Prolin je organski osmolit te zajedno s ostalim kompatibilnim osmolitima omogućuje osmotsku prilagodbu u biljnim stanicama, kojom se smanjuje vodni potencijal u citoplazmi i vakuoli bez smanjenja staničnog turgora. Do akumulacije prolina vjerojatno dolazi zbog *de novo* sinteze prolina, njegove smanjene razgradnje ili zbog oba procesa (Kavi Kishor i sur., 2005.). Ishodišne molekule za sintezu prolina su glutamat, ali također i arginin odnosno ornitin (Kavi Kishor i sur., 2005.). Smatra se da prolin, osim kao osmolit, može djelovati i kao molekularni "chaperon" jer sudjeluje u stabilizaciji strukture proteina (Verbruggen i Hermans, 2008.). Molekula prolina je "zwitterionske" građe i pri fiziološkim vrijednostima pH ima pozitivno i negativno nabijene krajeve. Takva građa omogućuje molekuli prolina da se orijentira oko proteina u svrhu očuvanja njegova hidratacijskog omotača, čime stabilizira proteine slično molekulama vode (Srinivas i Balasubramanian, 1995.). Na taj način, prolin može imati važnu ulogu u zaštiti fotosintetskog aparata te enzima uključenih u detoksifikaciju ROS-a (Szabados i Savouré, 2009.). S druge strane, dosadašnja istraživanja ukazuju da prolin može i direktno sudjelovati u uklanjanju ROS-a (Matysik i sur., 2002.). Također se smatra da prolin pridonosi održanju stanične redoks ravnoteže, ali i da ima ulogu komponente metaboličkih signalnih puteva koji kontroliraju razvoj biljke, funkciju mitohondrija i odgovor na stres (Szabados i Savouré, 2009.).

2.3. Biostimulatori

Biostimulatori su tvari prirodnog podrijetla koje u malim koncentracijama poboljšavaju rast i metabolički status biljaka (Zhang i Schmidt, 1997.). S obzirom na sastav, biostimulatori se dijele u tri velike skupine: biostimulatore koji sadrže huminsku kiselinu, biostimulatore koji sadrže hormone i biostimulatore koji sadrže aminokiseline (Kauffman III i sur., 2007.). Sinergijskim djelovanjem, komponente biostimulatora utječu na sustav tlo (supstrat) - korijen - nadzemni dio biljke. Iako su dosada zabilježeni pozitivni učinci biostimulatora na rast biljaka te na njihov fiziološki odgovor na stresne uvjete, mehanizmi djelovanja biostimulatora su još nerazjašnjeni (Zhang i sur., 2003.; Zhang i Ervin, 2004.). Utvrđeno je da pri egzogenoj aplikaciji biostimulatora dolazi do promjene u hormonalnoj ravnoteži, što za posljedicu ima povećanu metaboličku učinkovitost tijekom razdoblja izloženosti biljke abiotičkom stresu (Zhang i Schmidt, 1997; Zhang i Schmidt, 2000.; Allen i sur., 2001; Zhang i Ervin, 2004.).

Prva istraživanja djelovanja biostimulatora obuhvatila su preparate koji su sadržavali ekstrakt morske alge *Ascophyllum nodosum*, huminsku kiselinu, tiamin i askorbinsku kiselinu. U ovim istraživanjima korišteno je više vrsta povrćarskih kultura uzgojenih u kontroliranim uvjetima te je utvrđeno da biostimulator poboljšava njihovu klijavost te razvoj korijena i ponika (Poincelot, 1993.).

Biostimulatori na bazi huminske kiseline sadrže auksine (Muscolo i sur., 1998.) te su upravo zbog fitohormonalne aktivnosti korišteni za poboljšanje antioksidativnog statusa biljaka pri odgovoru na stresne uvjete u okolišu (Eyheraguibel i sur., 2008.). Osim auksina, preparati na bazi huminske kiseline sadrže i različite spojeve dušika, među kojima su i poliamini, za koje je poznato da kod biljaka imaju ulogu regulatora rasta. Utvrđeno je da poliamini identificirani u ekstraktima huminske kiseline (spermidin, putrescin i spermin) poboljšavaju radijalni rast korijena klijanaca salate (Young i Chen, 1997.). Huminska kiselina također stimulira primanje nitrata korijenom i njihovu akumulaciju u listu kukuruza (Quaggiotti i sur., 2004.). Tretman mladih biljaka nevena, paprike i jagode huminskom kiselinom u uvjetima plasteničkog uzgoja imao je pozitivan učinak na razvoj korijena kod sve tri biljne vrste te na broj plodova po biljci kod jagoda (Arancon i sur., 2003.).

Biostimulatori mogu sadržavati aminokiseline, a dokazano je da primjena aminokiselina u hidroponskom uzgoju rajčice pozitivno utječe na rast biljaka (García i sur., 2006.). Biostimulator Radifarm koji sadrži polisaharide, glikozide i proteine, a obogaćen je

aminokiselinama (argininom i asparaginom), vitaminima i kelatnim mikroelementima, pozitivno djeluje na porast korijena i ponovni rast presadnica salate i rajčice u plasteničkom uzgoju (Vernieri i sur., 2002.). Također je utvrđeno da Radifarm kod presadnica rajčica uzgajanih u plateniku i na otvorenom pojačava rast i razvoj korijena, lista i stabljike nakon presađivanja (Parađiković i sur., 2008.a; Vinković i sur. 2009.). U istraživanju Parađiković i sur. (2009.), tretman kadife (*Tagetes erecta* L.) Radifarmom povoljno je djelovao na rast i razvoj mladih biljaka: tretirane biljke imale su značajno veće mase korijena (27%) i nadzemnog dijela presadnica (29%). Istraživanja učinka biostimulatora na bazi aminokiselina na klijavost, masu suhe i svježije tvari klijanaca različitih cvjetnih vrsta (prkosa, slamnatog cvijeta, kadife i cinije) pokazala su da biostimulatori poboljšavaju klijavost te stimuliraju povećanje mase, osobito svježije mase tvari, što je vjerojatno posljedica boljeg usvajanja vode i bolje aktivnosti korijena (Parađiković i sur., 2008.b). Osim što povoljno djeluje na morfološke pokazatelje i produktivnost biljaka, primjena biostimulatora na bazi aminokiselina smanjuje stres kod nepovoljnih temperatura, ali također i štetne posljedice suše, smrzavanja, mehaničkih i kemijskih oštećenja te virusne infekcije biljke (Maini, 2006.). Kauffman III i sur. (2007.) su pokazali da folijarni biostimulator koji sadrži samo aminokiseline ima učinak sličan auksinu te da biljke tretirane biostimulatorom pokazuju povećanu otpornost na visoku temperaturu. Biostimulatori na bazi huminske kiseline i aminokiselina pojačavaju antioksidativni odgovor soje i kukuruza na sušu i to stimulirajući aktivnost superoksid dismutaze i askorbat peroksidaze u listovima (Feitosa de Vasconcelos i sur., 2009.).

U istraživanju utjecaja različitih biostimulatora na kvalitativna svojstva ploda jagoda sorte Camarosa, utvrđeno je da tretirane biljke imaju veći komercijalni prirod te veći plod, no biostimulatori nisu utjecali na pH ploda, ukupnu kiselost i sadržaj topljive suhe tvari u plodu (Roussos i sur., 2009.). Istraživanje utjecaja različitih biostimulatora na prirod i kvalitetu plodova te otpornost na biotički stres kod jagoda sorte Honeoye, pokazalo je da tretman biostimulatorima povećava otpornost na biotički stres, no ne utječe značajno na prirod i sadržaj šećera, nitrata, askorbinske kiseline i ukupnih kiselina (Lanauskas i sur., 2006.).

Dosad provedena istraživanja ukazuju da se upotrebom biostimulatora može smanjiti primjena gnojiva kako na otvorenom polju, tako i u hidroponskom uzgoju. Naime, smanjenje upotrebe gnojiva moguće je ako biljka učinkovitije koristi hraniva, budući da je poznato da biljke ne iskoriste u potpunosti gnojivo koje se nalazi u mediju rasta.

Istraživanje koje su proveli Vernieri i sur. (2005.) pokazalo je da biostimulatori mogu poboljšati usvajanje hraniva i njihovo iskorištenje. U navedenom istraživanju, primjena biostimulatora Activawe direktno u hranjivu otopinu, smanjila je kod vrste *Eruca sativa* Mill. potrebu za hranivima do 75% te su listovi sadržavali manje nitrata i veću koncentraciju klorofila. Csizinszky (2003.) je utvrdio da se primjenom biostimulatora povećava prinos ploda rajčice, ali uz dostatnu gnojidbu s N i K, pri čemu biostimulatori nisu utjecali na elementarni sastav ploda. Zbog mogućnosti smanjenja primjene gnojiva, hidroponski uzgoj uz primjenu biostimulatora od osobite je važnosti za zaštitu okoliša te stoga on postaje strateški oblik proizvodnje povrća u plastenicima (Vernieri i sur., 2006.).

3. HIPOTEZE I CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Predloženo istraživanje temelji se na sljedećim hipotezama:

- tretman biostimulatorima može, ovisno o komponentama koje sadrže i stadiju razvoja biljke, pozitivno utjecati na rast i razvoj jagoda uzgojenih u uvjetima plastenika, uz očekivano veći prirod i kvalitetu ploda
- ekološki značaj primjene biostimulatora sastoji se (i) u većoj otpornosti tretiranih biljaka na nepovoljne ekološke činitelje te (ii) u većem kapacitetu usvajanja i iskorištenja primjenjenih hraniva, što omogućuje racionalizaciju gnojidbe i smanjuje opterećenje okoliša
- utjecaj biostimulatora na metaboličkoj odnosno molekularnoj razini očituje se u većoj antioksidativnoj aktivnosti u listu te akumulaciji šećera i funkcionalnih komponenata (askorbinska kiselina, antocijanini i fenoli) u plodu

Polazeći od gore navedenih hipoteza, ciljevi ovog istraživanja su:

- ispitati djelotvornost biostimulatora i reducirane gnojidbe putem analize vegetativnih pokazatelja rasta biljaka, pri uzgoju jagoda u posudama s komercijalnim supstratom, u uvjetima plastenika sa sustavom za fertirigaciju, tijekom dva vegetacijska razdoblja koja čine jedan tehnološki ciklus: mlade biljke u prvoj sezoni plodonošenja (jesenski pokus) i starije biljke u drugoj sezoni plodonošenja (proljetni pokus);
- utvrditi da li ispitivani biostimulatori mogu svojim funkcionalnim komponentama utjecati na intenzitet usvajanja hraniva, u uvjetima standardne i reducirane gnojidbe, s ciljem smanjenja primjene mineralnih gnojiva te posljedično bolje zaštite okoliša i zdravlja konzumenata;
- analizirati antioksidativnu aktivnost u listu jagode te utvrditi pokazatelje oksidacijskog stresa u jagodama tretiranim biostimulatorima i različitim gnojdbom;
- ispitati utjecaj primjene biostimulatora i gnojidbe na visinu prirod i kvalitativna svojstva ploda jagoda.

4. MATERIJAL I METODE

4.1. Lokalitet

Pokus je proveden u plasteniku u vlasništvu Srednje škole Dalj iz Dalja. Plastenik (površine 480 m²) je bio pokriven dvostrukom polietilenskom folijom između kojih je upuhan zrak kao izolator. Konstrukcija plastenika uključivala je bočne ventilacije (pogonjene elektromotorom spojenim na senzor temperature i vlage preko kompjuterske jedinice) te čeonu otvore za prolaz i ventilaciju. Na podu se nalazio vodopropustan polietilenski tekstil bijele boje koji je imao funkciju malča (protiv neželjene vegetacije) i reflektora (u svrhu boljeg iskorištenja svjetla za dozrijevanje plodova), odnosno vršio regulaciju temperature (noću sprječava nepotrebnu radijaciju i gubitak temperature, a po danu pregrijavanje refleksijom). Za dodatnu ventilaciju, odnosno dovođenje svježeg zraka, snižavanje temperature te smanjivanje prekomjerne vlage, korištena su tri elektropogonjena ventilatora pričvršćena na krovnu konstrukciju. Plastenik je imao dva izvora vode, priključak na gradski vodovod i bunar. Voda je dopremana u spremnik (1000 L) u kojem se priprema hranjiva otopina te se pomoću dozatora određuje potrebna koncentracija koja ide u sustav za navodnjavanje putem linijski raspoređenih drip cijevi.

4.2. Materijal i opis eksperimenta

Biljke jagoda (*Fragaria x ananassa* Duch.) sorte Elsanta uzgajane su u perlitnim posudama volumena 4,5 L, na komercijalnom supstratu (Stender B 400) koji se sastoji od 80% bijelog treseta, 15% crnog treseta i 5% gline. pH vrijednost supstrata je 5,5-6,0, dok zaslanjenost iznosi 0,9 g L⁻¹. Posude s jagodama su bile navodnjavane hranjivom otopinom pomoću drip cijevi. U jednoj posudi su bile posađene četiri biljke.

Istraživanje je obuhvatilo dva, po tretmanima identična pokusa:

- prvi pokus proveden je u proljeće 2009. godine (proljetni pokus) na biljkama starosti 10 mjeseci (sadnja 04.08.2008.), tj. u drugoj godini vegetacije i drugoj sezoni plodonošenja (Slika 9),

- drugi pokus proveden je u jesen 2009. godine (jesenski pokus) na mladim biljkama (sadnja 02.08.2009.) u prvoj sezoni plodonošenja 6 tjedana nakon sadnje (*Slika 10*).



Slika 9. Biljke jagoda u proljetnom pokusu u drugoj godini vegetacije s dobro razvijenom nadzemnom masom biljaka.

Foto: Ivna Štolfa, 2009.



Slika 10. Biljke jagoda u jesenskom pokusu u prvoj godini vegetacije sa slabije razvijenom nadzemnom masom biljaka.

Foto: Ivna Štolfa, 2009.

Tretmani biostimulatorima Viva® i Megafol® (Proizvođač Valagro S.p.A.) te njihovom kombinacijom, uz varijantu kontrole tj. netretirane biljke, primijenjeni su u fazi zamatanja i berbe prvih plodova nakon cvatnje.

Prema specifikaciji proizvođača (*Tablica A*), Viva sadrži (w/v): 14,5% organske tvari; 15,1% proteina, peptida i aminokiselina; 1,8% polisaharida; 3,2% huminskih kiselina te 0,21% vitamina (B1, B6, PP, folna kiselina) i inozitola. Megafol sadrži (w/v): 35,0% aminokiselina s 5,6% ukupnog (organskog) dušika; 3,6% topljivog K₂O i 18,7% organskog ugljika.

Biostimulator Viva primijenjen je zalijevanjem po površini supstrata oko biljaka, a Megafol folijarno, oba u koncentraciji 0,25%. Tretman je proveden jednom tjedno, tri tjedna tijekom faze plodonošenja, u količini 250 mL otopine po posudi tj. na četiri biljke. Varijanta kombinacije biostimulatora podrazumijeva navedene doze pojedinačnih tretmana zajedno na istim biljkama. U istim terminima kada su primijenjeni biostimulatori, kontrolne biljke su primile 250 mL vodovodne vode po posudi (zalijevanjem supstrata). Svaka varijanta pokusa obuhvatila je deset posuda s četiri biljke po posudi (ukupno 40 biljaka) te je provedena s 4 ponavljanja (tj. ukupno 160 biljaka po varijanti pokusa).

Oba pokusa provedena su u istom plasteniku, na dva reda posuda s jagodama od čega je jedan red imao standardnu gnojdbu otopinama mineralnih gnojiva, ovisno o vremenskim uvjetima, odnosno dnevnoj insolaciji i temperaturi zraka u plasteniku. Drugi red je u eksperimentalnom razdoblju kroz tri tjedna plodonošenja primio 50% manju dozu gnojiva, koje se u tom razdoblju prema uobičajenoj tehnologiji plastičkog uzgoja jagoda na supstratima uglavnom odnosi na kalijev nitrat.

Radi utvrđivanja mineralnog sastava biostimulatora, provedena je analiza koncentracije makroelemenata (*Tablica B*) i sadržaja mikroelemenata (*Tablica C*), analitičkim metodama korištenim za analizu mineralnog sastava biljnog materijala i supstrata (opisano u poglavlju 4.3.4.).

Tablica A. Sastav i fizikalna svojstva biostimulatora (prema specifikaciji proizvođača; www.valagro.com).

VIVA®					
	Organska tvar (suha tvar 33%)	Proteini, peptidi, aminokiseline	Polisaharidi	Huminske kiseline	Vitaminski kompleks (B1, B6, PP, folna kiselina, inozitol)
w/w	12,0%	12,5%	1,5%	2,7%	0,18%
w/v	14,5%	15,1%	1,8%	3,2%	0,21%
Fizikalna svojstva		Izgled			Tekućina
		Boja			Smeđa
		pH (1% vodena otopina)			8,6
		Konduktivitet 1‰ (mS/cm) 18 °C			0,195
		Gustoća (g/cm ³) 20 °C			1,21
MEGAFOL®					
	Ukupne aminokiseline	Dušik (N)		Topivi kalij (K₂O)	Organski ugljik (C)
		Ukupni	organski		
w/w	28%	4,5%	4,5%	2,9%	15,0%
w/v	35%	5,6%	5,6%	3,6%	18,7%
Fizikalna svojstva		Izgled			Tekućina
		Boja			Smeđa
		pH (1% vodena otopina)			1,26
		Konduktivitet 1‰ (mS/cm) 18 °C			7,6
		Gustoća (g/cm ³) 20 °C			0,380

Tablica B. Koncentracija makroelemenata (w/w) u uzorcima biostimulatora Vive i Megafola.

VIVA®				
N	P	K	Ca	Mg
1,89%	0,01%	3,59%	0,08%	0,05%
MEGAFOL®				
N	P	K	Ca	Mg
4,40%	0,01%	2,84%	0,20%	0,03%

Tablica C. Sadržaj mikroelemenata (w/v) u uzorcima biostimulatora Vive i Megafola.

VIVA®			
Fe	Mn	Cu	Zn
1028 mgL ⁻¹	274,5 mgL ⁻¹	2 mgL ⁻¹	21 mgL ⁻¹
MEGAFOL®			
Fe	Mn	Cu	Zn
592,5 mgL ⁻¹	11 mgL ⁻¹	6 mgL ⁻¹	15 mgL ⁻¹

Program osnovne gnojidbe jagoda u uvjetima plasteničke proizvodnje i preporučene tehnologije proveden je prema preporuci tvrtke Haifa Chemicals Ltd. čija su vodotopiva gnojiva (Poly-Feed) korištena za potrebe ovog pokusa.

Na osnovu provedene gnojidbe utvrđeni su ukupno dodani makro- i mikroelementi po biljci za sve varijante pokusa (proljetni i jesenski pokus) prije tretmana biostimulatorima:

Proljetni pokus:

Biljke posađene u jesen 2008. godine, do tretmana biostimulatorima (proljeće 2009.) ukupno su primile 1760 mg N, 938 mg P, 3255 mg K, 669 mg Ca, 71,4 mg Mg, 189 mg S te 6808 µg Fe, 3481 µg Mn, 1346 µg B, 1209 µg Zn, 774 µg Cu, 452 µg Mo.

Jesenski pokus:

Biljke posađene u jesen 2009. godine, do tretmana biostimulatorima, ukupno su primile 950 mg N, 330 mg P, 1277 mg K, 556 mg Ca, 45 mg Mg, te 2693 µg Fe, 1346 µg Mn, 538 µg B, 404 µg Zn, 295 µg Cu, 188 µg Mo.

Za vrijeme tretmana biostimulatorima izvršena je gnojidba dušikom i kalijem u obliku KNO₃, formulacije gnojiva 15-0-46. Gnojidba je uključivala dvije varijante, standardnu gnojidbu (100%) i reduciranu gnojidbu (50%; *Tablica D*).

Tablica D. Izračun količine makroelemenata koje su biljke primile kroz dvije varijante gnojidbe (50% i 100%) za vrijeme tretmana biostimulatorima.

I. proljetni pokus (12.05.2009. – 02.06.2009.)		II. jesenski pokus (18.09.2009. – 02.10.2009.)	
Makroelementi (mg po biljci)			
50% gnojidba	100% gnojidba	50% gnojidba	100% gnojidba
137,5 N	275,0 N	101,0 N	202,0 N
486,5 K	973,0 K	309,5 K	619,0 K

Na osnovu provedenog tretmana biostimulatorima i analize koncentracija makroelemenata i sadržaja mikroelemenata u sastavu biostimulatora, napravljen je izračun ukupno dodane količine makro- i mikroelemenata po biljci putem biostimulatora (*Tablica E*).

Tablica E. Ukupne količine makro- i mikroelemenata dodanih po biljci jagode primjenom biostimulatora (identično za oba pokusa).

VIVA®								
N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu
10,8 mg/b	57,0 µg/b	20,5 mg/b	0,46 mg/b	0,29 mg/b	482 µg/b	129 µg/b	9,85 µg/b	0,94 µg/b
MEGAFOL®								
N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu
26,8 mg/b	60,8 µg/b	17,3 mg/b	1,22 mg/b	0,18 mg/b	278 µg/b	5,16 µg/b	7,04 µg/b	2,81 µg/b
KOMBINACIJA (VIVA® + MEGAFOL®)								
N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu
37,6 mg/b	118 µg/b	37,8 mg/b	1,68 mg/b	0,47 mg/b	760 µg/b	134 µg/b	16,9 µg/b	3,75 µg/b

4.3. Analize vegetativnih pokazatelja razvoja biljaka i priroda

Svježa i suha masa najrazvijenije troliske (SVMT i SMT; uzorak s deset troliski po ponavljanju) analizirane su prije prvog tretmana i tjedan dana nakon zadnjeg tretmana biostimulatorima. Na kraju pokusa utvrđena je svježa masa nadzemnih vegetativnih dijelova (NM). Nakon prvog tretmana pa sve do završetka pokusa utvrđivan je prirod berbom komercijalnih plodova jagoda, prema dinamici sazrijevanja plodova.

4.4. Određivanje antioksidativnog statusa lista

U svježoj tvari lista prije prvog i tjedan dana nakon zadnjeg tretmana analizirani su:

- koncentracija prolina,
- koncentracija askorbinske kiseline,
- koncentracija vodikovog peroksida,
- intenzitet lipidne peroksidacije,
- sadržaj ukupnih fenola,
- koncentracija proteina,

te ukupna i specifična aktivnost antioksidativnih enzima:

- gvajakol peroksidaze (EC 1.11.1.7),
- katalaze (EC 1.11.1.6),
- askorbat peroksidaze (EC 1.11.1.11),
- glutation reduktaze (EC 1.6.4.2).

4.4.1. Neenzimatski antioksidansi

4.4.1.1. Određivanje koncentracije slobodnog prolina

Koncentracija prolina (PRO) u listovima jagoda određena je prema Bates i sur. (1973.). Smrznuti listovi jagoda homogenizirani su hladnom 3%-tnom otopinom sulfosalicilne kiseline (10 mL) uz pomoć prethodno ohlađenog tučka i tarionika. Nakon centrifugiranja u trajanju od 15 min pri 3 500g na 4°C, u supernatant (2 mL) su dodani ninhidrinski reagens (2 mL po uzorku) i ledena octena kiselina (2 mL po uzorku). Nakon dodavanja ledene octene kiseline, uzorci su promiješani 10 s na vrtložnoj tresilici. Tako pripremljene smjese

bile su zagrijavane 1 h u vodenoj kupelji na 95 - 98°C. Nakon hlađenja na ledu, svakom uzorku dodano je 4 mL toluena. Uzorci su promiješani 15 s i ostavljeni na sobnoj temperaturi dok se gornji toluenski sloj s prolinom nije odvojio od donjeg, vodenog sloja. Koncentracija PRO u toluenskoj frakciji određena je mjerenjem apsorbancije na 520 nm i izračunata iz standardne krivulje s poznatim koncentracijama PRO (0 – 10,0 µg prolina mL⁻¹), koje su tretirane na isti način kao i uzorci. Konačni rezultati su izraženi kao µmol prolina g⁻¹ sv.t.

4.4.1.2. Određivanje koncentracije askorbinske kiseline

Koncentracija askorbinske kiseline (AA) određena je prema Mukherjee i Choudhouri (1983.). Oko 20 mg maceriranog praha listova jagoda ekstrahirano je s 1 mL 6% trikloroctene kiseline. Nakon centrifugiranja, svakom ekstraktu dodano je 500 µL 2% otopine dinitrofenilhidrazina u kiselom mediju (50% H₂SO₄) te po kap 10% otopine tiouree u 70% etanolu. Tako dobivene smjese zagrijavane su 15 min u kipućoj vodenoj kupelji. Nakon hlađenja na sobnu temperaturu smjese su centrifugirane 10 minuta na 700g, stavljene u ledenu kupelj i svakoj je dodano po 1,5 mL 80% H₂SO₄. Apsorbancija tako dobivenih smjesa mjerena je na 530 nm. Koncentracija AA određena je iz baždarne krivulje dobivene s poznatim koncentracijama AA (0,82 - 7,14 x 10⁻³ M) i izražena u nmol g⁻¹ sv.t. uz ekstinkcijski koeficijent $\epsilon_{530} = 226,2 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

4.4.1.3. Određivanje koncentracije vodikovog peroksida

Koncentracija vodikovog peroksida (HP) određena je posredno, mjerenjem količine kompleksa titanovog peroksida koji se taloži kada se biljnom ekstraktu doda titanov oksisulfat u sulfatnoj kiselini i otopina amonijevog hidroksida (Mukherjee i Choudhouri, 1983.). Macerirano tkivo listova jagoda u tekućem dušiku ekstrahirano je s 1 mL hladnog acetona i centrifugirano 5 minuta pri 6 000g na 4°C. Supernatant je odvojen u mikropruvete od 2 mL te je dodano 400 µL titanovog reagensa i 500 µL NH₄OH (25%). Nakon centrifugiranja je supernatant bačen, a talog otopljen u 1 mL 2 M H₂SO₄. Zatim je slijedilo ponovo centrifugiranje nakon kojeg je supernatant korišten za mjerenje apsorbancije na 415 nm. Koncentracija HP izračunata je iz standardne krivulje dobivene s poznatim koncentracijama HP (0,23 - 1,27 mM) te su konačni rezultati izraženi kao nmol g⁻¹ sv.t.

4.4.1.4. Određivanje intenziteta lipidne peroksidacije

Koncentracija produkata lipidne peroksidacije određena je kao količina supstanci koje reagiraju s tiobarbiturnom kiselinom (engl. *Thiobarbituric acid reactive substances* - TBARS) (Heath i Packer, 1968.). Određivanje je izvršeno spektrofotometrijski, očitavanjem apsorbancije pri valnim duljinama od 532 i 600 nm.

Listovi jagode usitnjeni su u porculanskom tarioniku u tekućem dušiku do finog praha. Oko 0,2 g tako usitnjenog biljnog tkiva ekstrahirano je s 1 mL 0,1% trikloroetene kiseline. Nakon centrifugiranja na 4°C pri 6 000g tijekom 5 minuta, na 0,5 mL supernatanta dodano je 1 mL 0,5%-tne tiobarbiturne kiseline u 20% trikloroetenoj kiselini. Tako dobivena smjesa zagrijavana je 30 minuta u vodenoj kupelji na 95°C, ohlađena na ledu te pri 18000g centrifugirana tijekom 15 minuta na 4°C. Dobiveni supernatant korišten je za spektrofotometrijsko mjerenje. Kao slijepa proba korištena je 0,5% tiobarbiturna kiselina u 20% trikloroetenoj kiselini. Koncentracija produkata lipidne peroksidacije (TBARS) izračunata je koristeći ekstincijski faktor $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ i izražena kao $\text{nmol g}^{-1} \text{ sv.t.}$

4.4.1.5. Određivanje sadržaja ukupnih fenola

Sadržaj ukupnih fenola (PHE) u listu jagode određen je prema Liang i sur. (2003.). PHE su ekstrahirani s 2,5 mL 95% etanola na -20°C kroz 48 h iz oko 0,3 g maceriranog tkiva lista. Nakon ekstrakcije homogenati su centrifugirani na 10 000g pri 4°C tijekom 10 min. U plastične epruvete s čepom na navoj od 15 mL dodano je 100 μL ekstrakta, 500 μL otopine za bojanje ($3,6 \times 10^{-3} \text{ M FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ i $3,5 \times 10^{-3} \text{ M KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \times 4 \text{ H}_2\text{O}$), 400 μL destilirane vode i 1,5 mL fosfatnog pufera ($0,067 \text{ M Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{ H}_2\text{O}$ i $0,067 \text{ M KH}_2\text{PO}_4$). Nakon 10 minuta izmjerena je apsorbancija dobivene smjese na 540 nm. Koncentracija PHE je izračunata iz standardne krivulje s poznatim koncentracijama taninske kiseline ($50 - 1\ 000 \text{ mg dm}^{-3}$). Konačni sadržaj PHE izražen je kao $\text{mg taninske kis. g}^{-1} \text{ sv.t.}$

4.4.2. Antioksidativni enzimi

4.4.2.1. Ekstrakcija topljivih proteina

Listovi jagoda su škarama narezani u porculanski tarionik, posipani polivinilpirolidonom i usitnjeni u tekućem dušiku u fini prah. Oko 0,5 g tako usitnjenog

tkiva prebačeno je u prethodno izvaganu kivetu te zatim izvavano i ekstrahirano na ledu s 1 mL ekstrakcijskog pufera (0,1 M Tris/HCl, pH 8,0) u trajanju od 15 minuta. Homogenat je centrifugiran 15 minuta pri 18 000g na 4°C. Supernatant je zatim prebačen u čistu kivetu, a preostali talog je ponovo ekstrahirano s 1 mL istog pufera. Supernatanti obje ekstrakcije su spojeni i korišteni kao sirovi ekstrakt za spektrofotometrijsko određivanje ukupne aktivnosti enzima gvajakol peroksidaze i koncentracije proteina.

Sirovi ekstrakt za određivanje aktivnosti ostalih enzima pripremljen je na isti način kao za peroksidaze, ali je pufer za ekstrakciju proteina bio različit. Ekstrakcijski pufer za katalazu je sadržavao 0,1 M K₂HPO₄, 0,1 M KH₂PO₄ i 1 mM EDTA (pH 7,0). Ekstrakcijski pufer za askorbat peroksidazu, kao i za glutation reduktazu, sadržavao je 0,1 M K₂HPO₄, 0,1 M KH₂PO₄, 5 mM natrijev askorbat i 1 mM EDTA (pH 7,0).

4.4.2.2. Određivanje koncentracije proteina

Koncentracija proteina određena je prema Bradford (1976.). Ovaj postupak temelji se na brzom pomaku maksimuma apsorbancije, od 465 nm na 595 nm do kojeg dolazi zbog vezivanja boje Coomassie briljant plavo (engl. *Coomassie brilliant blue* - CBB) na proteine. Za vezanje CBB boje na proteine važne su elektrostatske sile između sulfatnih skupina same boje i bazičnih aminokiselinskih ostataka u proteinima te hidrofobne interakcije s ostacima aromatskih aminokiselina. Koncentracija proteina ekstrapolira se iz baždarne krivulje napravljene s poznatim koncentracijama albumina govedeg seruma (engl. *bovine serum albumine* - BSA). Koncentracija proteina je izražena u mg g⁻¹ svježe tvari i korištena je za izračun specifičnih aktivnosti antioksidativnih enzima.

4.4.2.3. Spektrofotometrijsko određivanje aktivnosti gvajakol peroksidaze

Ukupna aktivnost enzima gvajakol peroksidaze (GPXu) određena je prema Siegel i Galston (1967.). Reakcijska smjesa (pH 5,8) sadržavala je 5 mM gvajakola, 0,2 M KH₂PO₄, 0,2 M Na₂PO₄ x 12 H₂O, te 5 mM H₂O₂ koji je dodan neposredno prije mjerenja. Na 800 µL reakcijske smjese dodano je 200 µL ekstrakta proteina lista te je povećanje apsorbancije mjereno pri valnoj duljini od 470 nm svake sekunde tijekom dvije minute. Svaki uzorak mjereno je u u triplikatu.

Aktivnost GPX izražena je kao ukupna aktivnost (GPXu):

$$\text{GPXu} = X \cdot Y \cdot V_u / m \cdot V_a \text{ [}\Delta\text{A}_{470} \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ sv.t.)}$$

pri čemu je:

X – srednja vrijednost razlika u promjeni apsorbancije u određenom vremenskom intervalu

Y – faktor potreban za izražavanje promjene apsorbancije po minuti

Vu – ukupni volumen proteinskog ekstrakta

m – masa svježe tvari (izražena u gramima)

Va – volumen mjerenog alikvota

Specifična aktivnost gvajakol peroksidaze (GPXs) određena je kao kvocijent GPXu i koncentracije proteina i izražena u $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ prot.

4.4.2.4. Spektrofotometrijsko određivanje aktivnosti katalaze

Ukupna aktivnost enzima katalaze (CATu) određena je prema Aebi (1984.). Reakcijska smjesa (pH 7,0) sadržavala je 0,05 M KH_2PO_4 , 0,05 M K_2HPO_4 te 0,01 M H_2O_2 . Na 1980 μL reakcijske smjese dodano je 20 μL sirovog ekstrakta proteina i pri valnoj duljini od 240 nm mjereno je smanjenje apsorbancije svakih deset sekundi tijekom dvije minute. CATu izražena je kao promjena apsorbancije po minuti po gramu svježeg tkiva. Specifična aktivnost katalaze (CATs) određena je kao kvocijent CATu i koncentracije proteina i izražena u $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteina.

4.4.2.5. Spektrofotometrijsko određivanje aktivnosti askorbat peroksidaze

Ukupna aktivnost askorbat peroksidaze (APXu) određena je prema Nakano i Asada (1981.). Reakcijska smjesa (pH 7,0) sadržavala je 0,05 M KH_2PO_4 , 0,05 M K_2HPO_4 , 0,1 mM EDTA, 50 mM askorbinsku kiselinu i 12 mM H_2O_2 . U kivetu od kvarcnog stakla dodano je 790 μL 50 mM kalij-fosfatnog pufera (pH 7,0) koji je sadržavao 0,1 mM EDTA, 20 μL 50 mM askorbinske kiseline, 180 μL sirovog ekstrakta proteina te 10 μL 30 % H_2O_2 čijim je dodatkom započela reakcija. Smanjenje apsorbancije praćeno je pri valnoj duljini od 290 nm svake sekunde tijekom jedne minute. APXu izražena je kao promjena apsorbancije u minuti po gramu svježeg tkiva. Specifična aktivnost askorbat peroksidaze (APXs) određena je kao kvocijent APXu i koncentracije proteina i izražena u $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ prot.

4.4.2.6. Spektrofotometrijsko određivanje aktivnosti glutation reduktaze

Ukupna aktivnost enzima glutation reduktaze (GRu) određena je prema protokolu za GR assay kit (Oxford Biomedical Research). Reakcijska smjesa (pH 7,5) sadržavala je 0,1 M KH_2PO_4 , 0,1 M K_2HPO_4 , 1 mM EDTA, 2 mM NADPH i 2 mM GSSG. U kivetu od kvarcnog stakla dodano je 500 μL 2mM GSSG, 440 μL 100 mM kalij-fosfatnog pufera (pH 7,5) koji je sadržavao 1 mM EDTA te 10 μL sirovog ekstrakta proteina i 50 μL 2mM NADPH. Smanjenje apsorbancije praćeno je pri valnoj duljini od 340 nm svake sekunde tijekom jedne minute. GRu izražena je kao promjena apsorbancije u minuti po gramu svježeg tkiva. Specifična aktivnost glutation reduktaze (GRs) određena je kao kvocijent GRu i koncentracije proteina i izražena u $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot}$.

4.5. Analize kvalitativnih svojstava ploda

Prije prvog tretmana i nakon zadnjeg, tj. istovremeno s uzorkovanjem lista za određivanje antioksidativnog statusa, plodovi jagode uzorkovani su za analize kemijskog i kvalitativnog sastava. U tkivu ploda analiziran je sadržaj reducirajućih šećera, ukupnih kiselina, nitrata, ukupnih fenola, ukupnih antocijanina, askorbinske kiseline, te vrijednost pH i ukupna antioksidativna aktivnost.

4.5.1. Određivanje sadržaja reducirajućih šećera

Sadržaj reducirajućih šećera (RŠ) određen je metodom po Luff-Schoorl-u (Lisjak i sur., 2009.). Plodovi jagode macerirani su laboratorijskim mikserom te je odvagano 10 g uzorka u Erlenmayer-ovu tikvicu od 100 mL. Uzorci su preliveni sa 100 mL destilirane vode i stavljeni na parnu kupelj, zagrijanu na 96°C na 15 min. Nakon toga su tikvice s uzorcima ohlađene pod vodenim mlazom. U međuvremenu su postavljeni lijevci na tikvice od 200 mL te je u svaki lijevak usipano 1-2 g CaCO_3 . Nakon hlađenja, uzorci su presipani u tikvice od 200 mL. Zaostali CaCO_3 na stijenkama lijevaka ispran je dodavanjem po 5 mL Carrez I i po 5 mL Carrez II otopine (za izbistravanje), u svaki uzorak. Tikvice s uzorcima su nadopunjene do 200 mL destiliranom vodom. Nakon taloženja i izbistravanja uzorak je filtriran u Erlenmayer-ove tikvice od 300 mL. U međuvremenu je dodano 25 mL Luff-ovog reagensa i 10 mL destilirane vode u šlifovane Erlenmayer-ove tikvice od 300 mL, uz dodatak kuglica za vrenje. Nakon filtracije odpipetirano je 10 mL filtrata uzorka u prethodno pripremljeni predložak. Uzorak je stavljen na plinsko kuhalo te je nakon početka

vrenja postavljeno povratno hladilo na Erlenmayer-ovu tikvicu. Nakon 10 min kuhanja uzorci su ohlađeni pod vodenim mlazom. U ohlađeni uzorak odpipetirano je 10 mL 30%-tne otopine KI i postupno 25 mL 3M H₂SO₄. Uzorak je nakon toga titriran s 0,1 M Na₂S₂O₃, do pojave žute boje. Nakon toga je dodano 3 mL škrobne otopine i nastavljena titracija do potpunog nestanka plave boje (prijelaz u bijelu boju).

Za slijepu probu je umjesto filtrata uzorka odpipetirano 25 mL vode u šlifovane Erlenmayer-ove tikvice, tako da je opet konačni volumen iznosio 50 mL. Od volumena Na₂S₂O₃ utrošenog za titraciju uzorka oduzima se utrošeni volumen 0,1 M Na₂S₂O₃ za titraciju slijepa probe.

Utrošak Na₂S₂O₃ za titraciju preračunat je u % prirodnog inverta (reducirajući šećeri) prema formuli:

$$\% \text{ prirodnog inverta} = A \times 100 / \text{mg uzorka u alikvotu (500)}$$

pri čemu je:

A - mg prirodnog inverta određen prema jednadžbi regresije izračunate iz tabličnih vrijednosti (Narodne novine, br 29., str 827., tablica 3).

4.5.2. Određivanje ukupne titracijske kiselosti

Ukupna kiselost (UK) ploda određena je prema Lisjak i sur. (2009.). U Erlenmayer-ovu tikvicu odvagano je 5 g izmaceriranog ploda i dodano 30 mL destilirane vode. Sadržaj je homogeniziran miješanjem te zagrijavan 30 min na vodenoj kupelji, uz povratno hladilo. Sadržaj je nakon hlađenja presipan u odmjernu tikvicu od 50 mL te nadopunjen destiliranom vodom do oznake. Nakon filtracije kroz naborani filter papir, odpipetirano je 25 mL uzorka u koji je dodan indikator fenolftalein te je titriran s otopinom 0,1 M NaOH do promjene boje u svijetloružičastu, u trajanju od najmanje 30 sekundi. Volumen utrošenog NaOH je preračunat prema analiziranom alikvotu uzorka, na postotak limunske kiseline koristeći faktor za limunsku kiselinu 0,0064.

4.5.3. Određivanje sadržaja nitrata

Sadržaj nitrata određen je prema Lisjak i sur. (2009.). Odvagano je 1 g usitnjenih plodova jagode u plastične epruvete od 15 mL, preliveno s 10 mL destilirane vode, promiješano na vrtložnoj tresilici i ostavljeno 30 min na sobnoj temperaturi. Nakon toga, uzorci su centrifugirani 15 min na 3 500g. Sadržaj nitrata određen je direktno uranjanjem

mjernih trakica za nitrata u supernatant i očitavanjem na reflektokvantu, prema uputama za rad s aparatom. Dobivene vrijednosti očitavanja u mg L^{-1} preračunate su u mg kg^{-1} uzimajući u obzir odvagano masu ploda i razrijeđenje (1:10) te je konačan rezultat izražen u mg nitrata po kg svježe mase plodova.

4.5.4. Određivanje pH vrijednosti

U kaši plodova jagode pripremljenoj miksanjem, pH je utvrđen direktnim uranjanjem elektrode pH-metra.

4.5.5. Određivanje ukupne antioksidativne aktivnosti

Ukupna antioksidativna aktivnost (UAA) u plodu određena je kao % neutralizacije 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikala (DPPH) prema Generalić i sur. (2009.). Odvagano je po 1 g izmiksano uzorka ploda jagode u plastične epruvete od 15 mL. Uzorku je dodano 10 mL etanola, nakon čega su epruvete začepljene, promiješane i ostavljene na sobnoj temperaturi 15 min. Nakon centrifugiranja (15 min na 3 500g), 50 μL supernatanta je pipetirano u kivete i dodano 2 mL otopine 0,004% DPPH. Kao slijepa proba je korištena izmjerena apsorbancija na 517 nm u vremenu $t = 0$, u kiveti s 2 mL DPPH i 50 μL deionizirane vode. Nakon točno 16 min ($t = 16$) držanja kiveta s uzorcima u mraku na hladnom, mjerena je apsorbancija u reakcijskoj smjesi DPPH i etanolnog ekstrakta ploda jagode. Za kalibraciju spektrofotometra je korišten čisti etanol. UAA je izražena kao % neutralizacije DPPH radikala, na temelju početne vrijednosti apsorbancije (slijepa proba) i utvrđene apsorbancije u kivetama s uzorcima nakon 16 min reakcije.

4.5.6. Određivanje sadržaja ukupnih antocijanina

Sadržaj ukupnih antocijanina (AC) određen je prema Lee i sur. (2005.). Metoda se temelji na strukturnoj razlici AC pri različitoj pH vrijednosti medija (pri pH 1,0 su obojeni, a pri pH 4,5 bezbojni), uslijed čega pokazuju različitu apsorpciju svjetlosti valne duljine 510 nm.

Oko 0,5 g izmiksano ploda jagoda odvagano je u posebno označene dvije plastične epruvete od 15 mL. U jednu je dodavano 10 mL pufera I pH 1,0 (125 mL 0,2 M KCl i 375 mL 0,2 M HCl), a u drugu isti volumen pufera II pH 4,5 (400 mL 1 M CH_3COONa , 240 mL 1 M HCl i 360 mL deionizirane vode). Nakon homogenizacije miješanjem na vrtložnoj tresilici (10-tak sekundi), obje suspenzije su centrifugirane dva puta po 15 minuta na

5 000g pri 4°C. Supernatanti su korišteni za mjerenje apsorbancije na 510 nm, dok su čisti puferi korišteni kao slijepe probe. Sadržaj AC izračunat je po sljedećoj formuli:

$$AC \text{ (mg kg}^{-1}\text{)} = (\text{ApH } 1,0 - \text{ApH } 4,5) \times (484,8/24\ 825) \times 20\ 000$$

AC [mgkg⁻¹] - sadržaj AC u mg po kg svježe mase biljnog tkiva

ApH 1,0 – apsorbancija u uzorku s puferom I

ApH 4,5 – apsorbancija u uzorku s puferom II

484,8 – molekularna masa cijanidin-3-glukozid klorida

24 825 – molarni apsorpcijski koeficijent cijanidin-3-glukozid klorida

20 000 – faktor za preračunavanje na mgkg⁻¹ svježe mase

4.5.7. Određivanje sadržaja askorbinske kiseline

Sadržaj askorbinske kiseline (AA) u plodu određen je prema Bendritter i sur. (1998.). Oko 0,5 g svježe kaše jagoda odvagano je u plastične epruvete od 15 mL. Vodeni ekstrakt pripremljen je homogeniziranjem tkiva s 10 mL dH₂O. Homogenati su centrifugirani na 3000g 15 minuta na 4°C. Dobiveni supernatant korišten je za određivanje sadržaja AA. U reakcijsku smjesu koja se sastojala od 300 µL vodenog ekstrakta, 100 µL 13,3% trikloroetene kiseline i 25 µL deionizirane vode dodano je 75 µL 2,4-dinitrofenilhidrazin (DNPH) reagensa (2 g DNPH, 230 mg tiouree i 270 mg CuSO₄ u 100 mL 5M H₂SO₄). Slijepe probe napravljene su paralelno za svaki uzorak na isti način, osim dodatka DNPH reagensa koji je dodan naknadno, nakon inkubacije. Dobivene reakcijske smjese inkubirane su u vodenoj kupelji 3 h na 37°C. Nakon inkubacije i dodavanja DNPH reagensa u slijepe probe, u sve reakcijske smjese dodano je po 500 µL 65% H₂SO₄. Apsorbancija tako dobivenih reakcijskih smjesa mjerena je na 520 nm te je koncentracija AA dobivena ekstrapolacijom iz baždarne krivulje s poznatim koncentracijama AA (2,5 - 20 µg mL⁻¹). Konačan sadržaj AA izražen je u mg/100 g sv.t.

4.5.8. Određivanje sadržaja ukupnih fenola

Sadržaj ukupnih fenola (PHE) u plodu određen je metodom prema Liang i sur. (2003.). Postupak određivanja je bio isti kao i kod određivanja PHE u listu. PHE su ekstrahirani iz 1 g svježe kaše jagoda. Konačan sadržaj PHE izražen je kao mg taninske kis.g⁻¹ sv.t.

4.6. Određivanje fizikalno-kemijskih svojstava supstrata

Za analize fizikalno-kemijskih svojstava supstrata su, nakon završetka svakog pokusa i odvajanja korijena od supstrata, uzeti prosječni uzorci supstrata iz svih 10 posuda po repetitiji. Dio uzorka je korišten za analize sadržaja zaostalih nitrata, pH i EC, a u ostatku je nakon sušenja na 70°C (24 h) analiziran mineralni sastav.

4.6.1. Određivanje sadržaja nitrata

Sadržaj nitrata u supstratu je određen prema Lisjak i sur. (2009.). Odvagano je 10 g nesusenog supstrata i preliveno s 50 mL otopine natrijevog klorida (NaCl se otapa u 40 mL destilirane vode do zasićenja te se prelije u odmjernu tikvicu od 1 L i nadopuni vodom do oznake). Suspenzija je promiješana staklenim štapićem te ostavljena na sobnoj temperaturi 30 min. Nakon filtracije mjereno je sadržaj nitrata direktnim uranjanjem testnih trakica za nitrate u filtrat uz očitavanje na reflektokvantu. Dobivene vrijednosti očitavanja u mgL^{-1} preračunate su u mg nitrata po kg supstrata uzimajući u obzir odvagano masu supstrata i razrijeđenje (1:5).

4.6.2. Određivanje pH vrijednosti

pH vrijednost supstrata određena je prema Lisjak i sur. (2009.). Za pH analizu supstrata je odvagano 10 g nesusenog supstrata u plastične boce od 500 mL s čepom, preliveno sa 100 mL destilirane vode (omjer 1:10) i stavljeno na rotacijsku mješalicu 60 min. Suspenzija je prelivena u čašu te je pH izmjereno direktnim uranjanjem elektrode pH metra.

4.6.3. Određivanje električne provodljivosti

Električna provodljivost (EC) supstrata određena je prema Lisjak i sur. (2009.). Na 20 g nesusenog supstrata dodano je 100 mL destilirane vode i mućkano na rotacijskoj mješalici 60 min. Nakon filtracije dobivene suspenzije kroz naborani filter papir, EC je izmjereno direktnim uranjanjem sonde konduktometra u filtrat, a rezultati su izraženi u dS m^{-1} .

4.7. Određivanje mineralnog sastava (list, korijen, supstrat, biostimulatori)

Za analizu mineralnog sastava primjenjene su uobičajene metode razaranja organske tvari biljke mokrim postupkom (smjesa perklorne i sulfatne kiseline te vodikovog peroksida), destilacija N, spektrofotometrijsko mjerenje koncentracije P te utvrđivanje

koncentracije K, Ca, Mg, kao i sadržaja Fe, Mn, Zn i Cu pomoću atomske apsorpcijske spektrofotometrije. Mineralni sastav (koncentracija makroelemenata i sadržaj mikroelemenata u suhoj tvari) lista analizirani su prije prvog tretmana i tjedan dana nakon zadnjeg tretmana biostimulatorima, dok je mineralni sastav korijena i supstrata određen nakon završetka pokusa.

4.7.1. Priprema osnovne otopine

Na 1 do 2 g suhe samljevene biljne tvari (list, korijen) ili suhog samljevenog supstrata, kao i na 1 mL biostimulatora u kiveti za razaranje dodano je 5 mL smjese 4% HClO_4 u H_2SO_4 . Nakon toga, uzorak je prelišen s 10 mL H_2O_2 (30%) i postavljen u blok za razaranje. Uzorak sa smjesom kiselina i vodikovim peroksidom je zagrijavan u bloku za razaranje pri temperaturi od 340-360°C oko sat vremena (ovisno o vrsti uzorka) do gubitka boje i potpunog razbistravanja. Ako je uzorak nakon razaranja bio i dalje mutan prema potrebi je dodano od 5-10 mL vodikovog peroksida (30%) i razarano još dodatnih 20-30 min. Ohlađeni uzorak je kvantitativno prenešen u odmjerne tikvice od 25, 50 ili 100 mL te su tikvice bile nadopunjene vodom do oznake.

4.7.2. Određivanje koncentracije dušika

Koncentracija dušika određena je metodom po Kjeldahlu (Lisjak i sur., 2009.). Određivanje koncentracije N temelji se na istiskivanju dušika u obliku amonijaka (NH_3) iz uzorka jakim bazom u predložak s kiselinom poznate koncentracije i pH vrijednosti. Natrijev hidroksid istiskuje dušik iz uzorka u obliku amonijaka (NH_3), u plinovitom stanju. Prolazom kroz hladilo plinoviti oblik amonijaka prelazi u tekući, te kaplje u predložnu čašicu u kojoj se nalazi borna kiselina. U reakciji borne kiseline i amonijaka nastaje njihova kompleksna sol, a pH vrijednost raste. pH vrijednost ne smije porasti preko 7 jer bi se u protivnom amonijak gubio isparavanjem. Generiranjem vodene pare, uzorak ključa otprilike 4-5 minuta te titrator počinje sa titracijom otopine u predlošku s 0,25 M sulfatnom kiselinom (H_2SO_4). Sulfatna kiselina je jaka kiselina koja istiskuje borne anione iz kompleksne soli amonijaka i borata te nastaje sol amonij sulfat ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$). Ovom reakcijom hidronijevi ioni borne kiseline postaju ponovo slobodni u otopini predloška i svojom aktivnošću spuštaju pH vrijednost do 4,6 (početna pH vrijednost borne kiseline). Vrijednost postotka dušika određena je prema utrošku kiseline za titraciju po formuli koja je unesena u memoriju titratora.

Postotak dušika (N) u uzorku izračunat je prema sljedećoj formuli:

$$N (\%) = [7 \times V \times (100/v) \times 10^{-2}] / m$$

pri čemu je:

V [mL] - volumen utrošene 0,25 M H₂SO₄ za titraciju otopine iz predloška do pH 4,6

v [mL] - alikvot matične otopine (10 mL)

m [g] - odvaga suhe tvari uzorka u 100 mL matične otopine

7 - faktor za preračunavanje količine vezanog N na 0,25M H₂SO₄ (1 mL 0,25 M H₂SO₄ veže 7 mg N)

Konačna koncentracija N je za biostimulatore izražena u %, koristeći specifičnu gustoću utvrđenu vaganjem 1 mL biostimulatora ($\pm 0,0001$ g).

4.7.3. Određivanje koncentracije fosfora

Koncentracija fosfora je određena spektrofotometrijski, na temelju specifične apsorpcije svjetlosti (725 nm) u plavo obojenom fosfor-molibdatskom kompleksu (Lisjak i sur., 2009.).

Serijski standardnih otopina poznate koncentracije fosfora priređena je tako da je u odmjerne tikvice od 100 mL dodano 0, 1, 2, 3, 4, 5 i 6 mL osnovnog standarda (koncentracija 0 - 6 $\mu\text{g P/mL}$). 10 mL matične otopine uzorka u kojem se određuje koncentracija fosfora otpipetirano je u odmjernu tikvicu od 100 mL. U sve tikvice (standardi i uzorci) dodano je 5 mL amonijevog molibdata (5%), po 1 mL natrijevog sulfita (11%) i hidrokinona (0,5%) te nadopunjeno destiliranom vodom do 100 mL. Začepljene tikvice su promućkane te ostavljene da se razvije boja tijekom 1 h u mraku. Nakon toga je spektrofotometrom mjerena apsorbanca na 725 nm te pomoću kompjuterskog programa za izračun koncentracije na temelju serije standarda, izračunata koncentracija fosfora u $\mu\text{g mL}^{-1}$ otopine, odnosno u % na suhu tvar analiziranog biljnog materijala.

Postotak fosfora (P) izračunat je prema sljedećoj formuli:

$$P (\%) = [c \times (100/v)] \times 10^{-2} / m$$

pri čemu je

c [$\mu\text{g mL}^{-1}$] - koncentracija P

v [mL] - alikvot matične otopine (10 mL)

m [g] - odvaga suhe tvari uzorka u 100 mL matične otopine

Kod biostimulatora je koncentracija P preračunata na %, kao kod N.

4.7.4. Određivanje koncentracije ostalih makroelemenata i sadržaja mikroelemenata

Koncentracije ostalih makroelemenata (K, Ca, Mg) i sadržaji mikroelemenata (Fe, Mn, Cu, Zn) u osnovnoj otopini određeni su apsorpcijskom i/ili emisijskom tehnikom pomoću atomskog apsorpcijskog spektrofotometra (AAS). U svrhu kalibracije AAS, pripremljeno je niz standardnih otopina poznatih koncentracija analiziranih elemenata. Rezultati analiza izraženi su u $\mu\text{g mL}^{-1}$ ili mg L^{-1} (prijašnje oznake ppm) i označavaju koncentraciju ispitivanog elementa u osnovnoj otopini. Očitane vrijednosti koncentracije analiziranih elemenata su preračunate u sadržaj elemenata u mg kg^{-1} ili % suhe tvari biljnog materijala (Lisjak i sur., 2009.) ili supstrata odnosno mg L^{-1} biostimulatora.

4.8. Statistička obrada podataka

Oba pokusa su postavljena i statistički ocijenjena po shemi split plot, gdje je glavni faktor gnojidba, a podfaktor varijanta primjene biostimulatora, uz četiri repeticije, pri čemu repeticija podrazumijeva deset posuda (s četiri biljke po posudi) tj. ukupno 40 biljaka. Ukupno je u istraživanju bilo uključeno 1280 biljaka u proljetnom i isto toliko biljaka u jesenskom pokusu (*Shema 1*).

Svi utvrđeni rezultati analizirani su uobičajenim metodama statističke obrade podataka (analiza varijance (engl. *analysis of variance* – ANOVA), statistički test značajnosti utjecaja primijenjenih tretmana – F test i LSD test (engl. *least significant difference* - LSD) te pojedinačna i multipla korelacijska i regresijska analiza).

Shema 1. Dizajn pokusa.

100% gnojidba	Varijante tretmana	50% reducirana gnojidba	Repeticije
Oznaka parcele		Oznaka parcele	
16	Kombinacija (M+V)	32	IV
15	Megafol (M)	31	
14	Viva (V)	30	
13	Kontrola (0)	29	
12	Kombinacija (M+V)	28	III
11	Megafol (M)	27	
10	Viva (V)	26	
9	Kontrola (0)	25	
8	Kombinacija (M+V)	24	II
7	Megafol	23	
6	Viva (V)	22	
5	Kontrola (0)	21	
4	Kombinacija (M+V)	20	I
3	Megafol (M)	19	
2	Viva (V)	18	
1	Kontrola (0)	17	

5. REZULTATI

Rezultati analiza varijanci i korelacijskih analiza prikazani su za svaki ispitivani pokazatelj u okviru dva segmenta jednog tehnološkog ciklusa (jesenski i proljetni pokus – identični po dizajnu i primjenjenim tretmanima). Ovi pokusi uključivali su ispitivanje i analizu sljedećih pokazatelja:

- A. Tehnološki pokazatelj produktivnosti (prirod po biljci)
- B. Vegetativni pokazatelji rasta (masa nadzemnog dijela biljke, masa svježe tvari najrazvijenije troliske, masa suhe tvari najrazvijenije troliske)
- C. Kvalitativni pokazatelji, elementarni sastav i fiziološki status pojedinih organa biljke:
 - C.1. LIST – antioksidativni status (neenzimatske i enzimatske komponente) i elementarni sastav
 - C.2. PLOD – pokazatelji kvalitete (reducirajući šećeri, ukupna kiselost, pH, ukupni fenoli, ukupni antocijanini, ukupna antioksidativna aktivnost, askorbinska kiselina, nitrati)
 - C.3. KORIJEN – elementarni sastav
- D. Supstrat – fizička svojstva i elementarni sastav

5.1. JESENSKI POKUS

5.1.1. Analize fizikalno-kemijskih svojstava supstrata

Analize fizikalno-kemijskih svojstava supstrata napravljene su nakon završetka pokusa. Statističke analize pH vrijednosti supstrata nisu pokazale značajan utjecaj varijante gnojidbe te njene interakcije s biostimulatorima (*Tablica 1*). Jedini značajan utjecaj na pH vrijednost supstrata imao je tretman biostimulatorima ($P \leq 0,0013$). Najveću pH vrijednost imao je supstrat biljaka tretiranih Vivom (6,933). Najmanju pH vrijednost imao je supstrat biljaka tretiranih Megafolom (6,409), no ona se nije značajno razlikovala od pH vrijednosti supstrata kontrolnih biljaka (6,601). Supstrat biljaka tretiranih kombinacijom biostimulatora imao je pH vrijednost 6,719 i ona se nije značajno razlikovala od pH vrijednosti supstrata kontrolnih biljaka, dok se značajno razlikovala od pH vrijednosti supstrata pri pojedinačnom tretmanu Vivom i Megafolom.

Električna provodljivost supstrata (EC) vrijednost supstrata kod svih varijanti tretmana biostimulatorima nije se značajno razlikovala od kontrolnih biljaka (*Tablica 1*). Najveća EC vrijednost supstrata utvrđena je kod tretmana Megafolom ($0,360 \text{ dS m}^{-1}$) te se ona statistički značajno razlikovala od EC vrijednosti supstrata pri tretmanu Vivom ($0,188 \text{ dSm}^{-1}$) i kombinacijom biostimulatora ($0,215 \text{ dS m}^{-1}$).

Na sadržaj nitrata u supstratu značajno su utjecali varijanta gnojidbe ($P \leq 0,0307$) i tretman biostimulatorima ($P \leq 0,0035$) (*Tablica 1*). Sadržaj nitrata u supstratu kod standardne gnojidbe ($44,31 \text{ mg kg}^{-1}$) je bio 38% veći od sadržaja nitrata kod reducirane gnojidbe ($27,50 \text{ mg kg}^{-1}$). Sadržaj nitrata u supstratu kod tretmana Megafolom ($62,75 \text{ mg kg}^{-1}$) bio je za 37% veći nego kod kontrole ($39,75 \text{ mg kg}^{-1}$), dok se kod tretmana Vivom smanjio za 61% ($15,63 \text{ mg kg}^{-1}$). Sadržaj nitrata kod tretmana kombinacijom biostimulatora ($25,50 \text{ mg kg}^{-1}$) nije se statistički značajno razlikovao od kontrole.

Koncentracija P u supstratu nije se značajno razlikovala ni kod različitih varijanti gnojidbe niti kod različitih tretmana biostimulatorima (*Tablica 1*). Značajan utjecaj na koncentraciju P u supstratu imala je interakcija gnojidbe i biostimulatora ($P \leq 0,0363$)

Na koncentraciju K u supstratu nisu imali značajan učinak ni varijanta gnojidbe, ni tretman biostimulatorima, kao ni njihova interakcija (*Tablica 1*).

Na koncentraciju Ca u supstratu značajan učinak imali su tretman biostimulatorima ($P \leq 0,0092$) i interakcija varijante gnojidbe i tretmana biostimulatorima ($P \leq 0,0300$; *Tablica*

1), no ne i varijanta gnojidbe. Koncentracija Ca u supstratu kod tretmana Megafolom (0,140%) i kombinacijom biostimulatora (0,173%) bila je značajno niža nego kod kontrole (0,279%), dok se kod tretmana Vivom (0,278%) nije značajno razlikovala od kontrole.

Tretman biostimulatorima imao je značajan učinak na koncentraciju Mg ($P \leq 0,0115$) i sadržaj Fe ($P \leq 0,0165$) u supstratu (*Tablica 1*). Najveće vrijednosti sadržaja Fe (6155,8 mgkg^{-1}) i koncentracije Mg (0,141%) u supstratu utvrđene su nakon tretmana Megafolom, dok su najniže vrijednosti utvrđene nakon tretmana Vivom (0,064% Mg; 3452,0 mgkg^{-1} Fe). Sadržaj mikroelemenata Mn, Cu i Zn nije se značajno razlikovao ni kod različitih varijanti gnojidbe ni kod različitih tretmana biostimulatorima. Na sadržaj ovih mikroelemenata značajan učinak nije imala niti međusobna interakcija varijante gnojidbe i tretmana biostimulatorima (*Tablica 1*).

Tablica 1. pH, električni konduktivitet (EC), sadržaj nitrata te koncentracija makroelemenata (P, K, Ca, Mg) i sadržaj mikroelemenata (Fe, Mn, Cu, Zn) u supstratu pod utjecajem varijante gnojidbe (A) i tretmana biostimulatorima (B) u jesenskom pokusu. (ANOVA, F test; prosjeci označeni istim slovom (^{A,B,C}) se ne razlikuju prema LSD testu; $P=0,05$).

	pH	EC dS m ⁻¹	nitrati mg kg ⁻¹	P	K	Ca %	Mg	Fe	Mn	Cu mg kg ⁻¹	Zn
Varijanta gnojidbe (A)											
100% (A1)	6,646 ^A	0,292 ^A	44,31 ^A	0,313 ^A	0,490 ^A	0,233 ^A	0,095 ^A	5197,9 ^A	31,59 ^A	7,138 ^A	40,14 ^A
50% (A2)	6,685 ^A	0,234 ^A	27,50 ^B	0,304 ^A	0,494 ^A	0,202 ^A	0,105 ^A	4232,0 ^A	31,14 ^A	6,763 ^A	38,48 ^A
F test	0,41	2,82	6,55	0,98	0,09	1,36	0,62	3,30	0,01	0,11	0,20
<i>P</i>	0,5357	0,1273	0,0307	0,3476	0,7690	0,2731	0,4521	0,1026	0,9408	0,7437	0,6650
Tretman biostimulatorima (B)											
Kontrola (B1)	6,601 ^{B,C}	0,290 ^{A,B}	39,75 ^B	0,315 ^A	0,467 ^A	0,279 ^A	0,083 ^{B,C}	3814,5 ^{B,C}	30,68 ^{A,B}	5,575 ^A	35,08 ^A
Viva (B2)	6,933 ^A	0,188 ^B	15,63 ^C	0,313 ^A	0,501 ^A	0,278 ^A	0,064 ^C	3452,0 ^C	17,05 ^B	6,250 ^A	35,38 ^A
Megafol (B3)	6,409 ^C	0,360 ^A	62,75 ^A	0,305 ^A	0,503 ^A	0,140 ^B	0,141 ^A	6155,8 ^A	43,90 ^A	8,125 ^A	46,65 ^A
Viva+Megafol(B4)	6,719 ^B	0,215 ^B	25,50 ^{B,C}	0,300 ^A	0,497 ^A	0,173 ^B	0,111 ^{A,B}	5437,5 ^{A,B}	33,83 ^{A,B}	7,850 ^A	40,13 ^A
F test	12,85	5,12	9,69	0,61	1,27	7,19	6,68	5,90	3,53	1,23	2,13
<i>P</i>	0,0013	0,0245	0,0035	0,6264	0,3409	0,0092	0,0115	0,0165	0,0615	0,3536	0,1671
Interakcija (AxB)											
F test	2,87	0,56	3,02	4,40	1,15	4,74	3,29	1,60	2,34	0,14	2,29
<i>P</i>	0,0961	0,6524	0,0865	0,0363	0,3819	0,0300	0,0722	0,2559	0,1413	0,9341	0,1467

5.1.1.1. Korelacijske povezanosti između fizikalno-kemijskih svojstava supstrata pod utjecajem biostimulatora i reducirane gnojidbe

Između fizikalno-kemijskih svojstava supstrata u jesenskom pokusu postojao je niz značajnih korelacija. Vrijednost pH supstrata bila je vrlo značajno negativno korelirana sa sadržajem nitrata ($r=-0,896^{**}$), sadržajem Mn ($r=-0,909^{**}$) i EC supstrata ($r=-0,869^{**}$) te značajno negativno korelirana s koncentracijom Mg ($r=-0,710^*$). Značajna pozitivna veza postojala je između sadržaja nitrata u supstratu i sadržaja Mn ($r=0,775^*$) te sadržaja nitrata i EC supstrata ($r=0,959^{**}$). Koncentracija Ca bila je u negativnoj korelaciji s koncentracijom Mg ($r=-0,968^{**}$), sadržajem Cu ($r=-0,845^{**}$) te sadržajem Mn ($r=-0,727^*$). Za razliku od Ca, koncentracija Mg bila je pozitivno korelirana sa sadržajem Mn ($r=0,853^{**}$) i Cu ($r=0,797^*$). Sadržaji mikroelemenata Fe i Cu bili su u pozitivnoj korelaciji ($r=0,749^*$).

5.1.2. Analize vegetativnih pokazatelja razvoja biljaka i priroda

Vegetativni pokazatelji razvoja jagoda izmjereni su nakon završetka pokusa, dok je prirod prema dinamici sazrijevanja plodova utvrđivan tijekom čitavog pokusa. Različite varijante gnojidbe i tretmani biostimulatorima te interakcija ta dva faktora nisu značajno utjecali na prirod, masu nadzemnog dijela biljke te masu svježe i suhe tvari najrazvijenije troliske (*Tablica 2*).

Tablica 2. Vegetativni pokazatelji razvoja (masa nadzemnog dijela biljke (NM), masa svježe tvari najrazvijenije troliske (SVMT) i masa suhe tvari najrazvijenije troliske (SMT)) i prirod jagoda pod utjecajem varijante gnojidbe (A) i tretmana biostimulatorima (B) nakon završetka jesenskog pokusa. (ANOVA, F test; prosjeci označeni istim slovom (^{A,B,C}) se ne razlikuju prema LSD testu; $P=0,05$).

	PRIROD	NM	SVMT	SMT
	g/biljci			
Varijanta gnojidbe (A)				
100% (A1)	13,09 ^A	19,47 ^A	2,994 ^A	0,696 ^A
50% (A2)	12,18 ^A	19,11 ^A	2,750 ^A	0,675 ^A
F test	2,38	0,19	2,60	0,65
<i>P</i>	0,1573	0,6760	0,1416	0,4402
Tretman biostimulatorima (B)				
Kontrola (B1)	12,40 ^A	20,35 ^A	2,988 ^A	0,681 ^A
Viva (B2)	13,28 ^A	19,53 ^A	2,888 ^A	0,714 ^A
Megafol (B3)	12,31 ^A	18,23 ^A	2,800 ^A	0,668 ^A
Viva+Megafol(B4)	12,54 ^A	19,07 ^A	2,813 ^A	0,680 ^A
F test	0,55	1,13	0,32	0,56
<i>P</i>	0,6600	0,3892	0,8075	0,6527
Interakcija (AxB)				
F test	1,51	1,03	0,35	0,46
<i>P</i>	0,2772	0,4227	0,7888	0,7183

5.1.2.1. Korelacijske povezanosti između vegetativnih pokazatelja razvoja i priroda biljaka pod utjecajem biostimulatora i reducirane gnojidbe

Između vegetativnih pokazatelja razvoja i priroda jagoda u jesenskom pokusu nije bilo statistički značajnih korelacija. Jedina vrlo značajna korelacija negativnog smjera bila je ona između koncentracije K u supstratu i mase nadzemnog dijela biljke ($r=-0,886^{**}$).

5.1.3. Analize antioksidativnog statusa lista

5.1.3.1. Prolin

Na koncentraciju prolina (PRO) u listu značajno je utjecao samo termin analize ($P \leq 0,0001$; Tablica 3). Koncentracija PRO nakon tretmana ($0,306 \mu\text{mol g}^{-1}$ sv.t.) je bila 38% manja nego na početku pokusa ($0,493 \mu\text{mol g}^{-1}$ sv.t.). Varijanta gnojidbe i

primijenjeni biostimulatori nisu značajno utjecali na koncentraciju PRO, ako se analiziraju podaci oba uzorkovanja. Interakcije termina analize i gnojidbe ($A \times B$, $P \leq 0,0016$), kao i termina analize i tretmana biostimulatorima ($A \times C$, $P \leq 0,0099$) te interakcija sva tri faktora zajedno ($A \times B \times C$, $P \leq 0,0208$) značajno su utjecale na vrijednosti koncentracije PRO, također na temelju analize lista prije i poslije tretmana..

Podaci dobiveni nakon završetka tretmana pokazali su da su i gnojidba ($P \leq 0,0021$) i tretman biostimulatorima ($P \leq 0,0263$) imali značajan utjecaj na koncentraciju PRO, dok interakcija ta dva faktora nije imala značajan utjecaj (*Tablica 4*). Koncentracija PRO u listovima pri reduciranoj gnojidbi ($0,270 \mu\text{mol g}^{-1} \text{ sv.t.}$) je bila 21% manja nego pri standardnoj gnojidbi ($0,342 \mu\text{mol g}^{-1} \text{ sv.t.}$). Iako je tretman biostimulatorima imao značajan učinak na koncentraciju PRO, koncentracije PRO u listovima biljaka tretiranim biostimulatorima (Viva, Megafol, Viva+Megafol) se nisu značajno razlikovale od kontrole.

5.1.3.2. Askorbinska kiselina

Na koncentraciju askorbinske kiseline (AA) u listu značajan utjecaj imao je jedino termin analize ($P \leq 0,0001$), dok ostali faktori i njihove interakcije nisu imali značajan utjecaj (*Tablica 3*). Nakon tri tjedna tretmana, koncentracija AA ($291,8 \text{ nmol g}^{-1} \text{ sv.t.}$) bila je 35% veća nego na početku pokusa ($189,3 \text{ nmol g}^{-1} \text{ sv.t.}$) (*Tablica 3*). Nakon tretmana, ni varijanta gnojidbe niti tretman biostimulatorima nisu imali značajan utjecaj na koncentraciju AA u listu (*Tablica 4*).

5.1.3.3. Vodikov peroksid

Koncentracija vodikovog peroksida (HP) u listu je nakon tretmana ($8,911 \text{ nmol g}^{-1} \text{ sv.t.}$) bila 24% veća nego prije tretmana ($6,752 \text{ nmol g}^{-1} \text{ sv.t.}$; *Tablica 3*). Varijanta gnojidbe, tretman biostimulatorima i njihova kombinacija nisu značajno utjecali na koncentraciju HP, ni ukupno uzimajući u obzir podatke i prije i poslije tretmana, ni nakon tretmana (*Tablica 4*).

5.1.3.4. Intenzitet lipidne peroksidacije

Intenzitet lipidne peroksidacije (TBARS) nije se značajno razlikovao prije i poslije tretmana (*Tablica 3*), iako je poslije tretmana TBARS kod biljaka jagode s reduciranom gnojidbom bio značajno veći ($9,016 \text{ nmol g}^{-1} \text{ sv.t.}$), nego kod biljaka sa standardnom

gnojdbom ($8,436 \text{ nmol g}^{-1} \text{ sv.t.}$; *Tablica 4*). Tretman biostimulatorima te interakcija gnojdbi i biostimulatora nisu značajno utjecali na TBARS.

5.1.3.5. Ukupni fenoli

Sadržaj ukupnih fenola (PHE) u listovima je nakon tretmana ($3,505 \text{ mg g}^{-1} \text{ sv.t.}$) bio 37% veći nego na početku pokusa ($2,149 \text{ mg g}^{-1} \text{ sv.t.}$), iako na to povećanje nisu značajno utjecali ni tretman biostimulatorima, ni varijanta gnojdbi (*Tablica 3*).

Tablica 3. Koncentracije askorbinske kiseline (AA), prolina (PRO) i vodikovog peroksida (HP), sadržaj ukupnih fenola (PHE) te intenzitet lipidne peroksidacije (TBARS) u listu jagoda pod utjecajem termina analize (A), razine gnojdbi (B) i tretmana biostimulatorima (C) u jesenskom pokusu. (ANOVA, F test; prosjeci označeni istim slovom (^{A,B,C}) se ne razlikuju prema LSD testu; $P=0,05$).

	PRO $\mu\text{mol g}^{-1} \text{ sv.t.}$	AA	HP $\text{nmol g}^{-1} \text{ sv.t.}$	TBARS	PHE $\text{mg g}^{-1} \text{ sv.t.}$
Termin analize (A)					
Prije tretmana (A1)	0,493 ^A	189,3 ^B	6,752 ^B	8,324 ^A	2,149 ^B
Poslije tretmana (A2)	0,306 ^B	291,8 ^A	8,911 ^A	8,560 ^A	3,505 ^A
F test	238,85	503,43	51,66	1,06	250,86
P	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,3308	<0,0001
Varijanta gnojdbi (B)					
100% (B1)	0,390 ^A	236,1 ^A	2,891 ^A	8,233 ^A	2,891 ^A
50% (B2)	0,408 ^A	245,0 ^A	2,763 ^A	8,651 ^A	2,763 ^A
F test	2,20	3,76	1,94	3,32	2,21
P	0,1718	0,0845	0,1969	0,1018	0,1715
Tretman biostimulatorima (C)					
Kontrola (C1)	0,395 ^A	240,0 ^A	7,598 ^A	8,492 ^A	2,814 ^{A,B}
Viva (C2)	0,406 ^A	239,2 ^A	7,776 ^A	8,316 ^A	2,711 ^B
Megafol (C3)	0,392 ^A	238,8 ^A	7,834 ^A	8,313 ^A	3,032 ^A
Viva+Megafol (C4)	0,404 ^A	244,2 ^A	8,117 ^A	8,646 ^A	2,750 ^B
F test	0,33	0,29	0,51	0,49	2,80
P	0,8035	0,8323	0,6838	0,7001	0,1008
Interakcije					
(AxB) F test	19,74	2,73	3,12	4,68	1,64
P	0,0016	0,1328	0,1112	0,0586	0,2328
(AxC) F test	7,01	0,19	1,42	0,37	1,66
P	0,0099	0,9022	0,2992	0,7783	0,2432
(BxC) F test	1,87	2,38	2,57	2,03	2,30
P	0,2059	0,137	0,1191	0,1796	0,1464
(AxBxC) F test	5,43	0,1	1,68	1,55	3,85
P	0,0208	0,9583	0,2394	0,2678	0,0505

Tablica 4. Koncentracije askorbinske kiseline (AA), prolina (PRO) i vodikovog peroksida (HP), sadržaj ukupnih fenola (PHE) te intenzitet lipidne peroksidacije (TBARS) u listu jagoda pod utjecajem varijante gnojidbe (A) i tretmana biostimulatorima (B) nakon završetka jesenskog pokusa. (ANOVA, F test; prosjeci označeni istim slovom (^{A,B,C}) se ne razlikuju prema LSD testu; $P=0,05$).

	PRO $\mu\text{mol g}^{-1}$ sv.t.	AA	HP nmol g^{-1} sv.t.	TBARS	PHE mg g^{-1} sv.t.
Varijanta gnojidbe (A)					
100% (A1)	0,342 ^A	283,6 ^A	8,436 ^A	8,103 ^B	3,623 ^A
50% (A2)	0,270 ^B	300,0 ^A	9,386 ^A	9,016 ^A	3,387 ^A
F test	18,23	1,83	4,50	5,27	2,00
<i>P</i>	0,0021	0,2087	0,0629	0,0473	0,1912
Tretman biostimulatorima (B)					
Kontrola (B1)	0,303 ^{A,B}	289,2 ^A	8,279 ^A	8,586 ^A	3,531 ^{A,B}
Viva (B2)	0,355 ^A	293,1 ^A	9,314 ^A	8,247 ^A	3,262 ^B
Megafol (B3)	0,264 ^B	290,3 ^A	8,800 ^A	8,547 ^A	3,841 ^A
Viva+Megafol (B4)	0,303 ^{A,B}	294,5 ^A	9,252 ^A	8,860 ^A	3,387 ^{A,B}
F test	4,98	0,04	1,15	0,40	2,22
<i>P</i>	0,0263	0,9886	0,3815	0,7587	0,1553
Interakcija (AxB)					
F test	2,59	0,39	3,58	2,21	1,95
<i>P</i>	0,1171	0,7652	0,0598	0,1568	0,1929

5.1.3.6. Aktivnost gvajakol peroksidaze

Ukupna aktivnost gvajakol peroksidaze (GPXu) u listovima je nakon tretmana (1,184 $\Delta A \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ sv.t.}$) bila 68% manja nego na početku pokusa (3,664 $\Delta A \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ sv.t.}$; *Tablica 5*). Utjecaj gnojidbe i tretmana biostimulatorima nije bio značajan, ni ukupno uzimajući u obzir GPXu prije i poslije tretmana, niti samo nakon tretmana. Jedini značajan utjecaj na GPXu imala je interakcija gnojidbe i tretmana biostimulatorima ($P \leq 0,0128$).

Specifična aktivnost gvajakol peroksidaze (GPXs) u listovima pri standardnoj gnojidbi (9,930 $\Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ prot.}$) je bila 13% veća nego pri reduciranoj gnojidbi (8,685 $\Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ prot.}$; *Tablica 5*). Termin analize i tretman biostimulatorima, kao i njihova interakcija, nisu imali značajan utjecaj na GPXs. Iako utjecaj biostimulatora na GPXs nije bio značajan, ipak su biljke tretirane Vivom (9,584 $\Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ prot.}$) i Megafolom (10,12 $\Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ prot.}$) imale veće GPXs nego kontrolne biljke (7,493 $\Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ prot.}$; *Tablica 6*). GPXs u listovima biljaka tretiranih kombinacijom biostimulatora nije se značajno razlikovala od kontrolnih biljaka. Značajan utjecaj na GPXs u listu poslije tretmana imala je interakcija gnojidbe i biostimulatora (AxB, $P \leq 0,0452$), dok isti faktori pojedinačno nisu imali značajan utjecaj (*Tablica 6*).

5.1.3.7. Aktivnost katalaze

Termin analize, varijanta gnojidbe, tretman biostimulatorima i njihove međusobne interakcije nisu imali značajan utjecaj na ukupnu aktivnost katalaze (CATu; *Tablica 5*). Nakon tretmana, u listovima biljaka s reduciranom gnojidbom (4,250 $\Delta A \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ sv.t.}$) CATu bila je 14% veća nego u biljkama s uobičajenom gnojidbom (3,668 $\Delta A \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ sv.t.}$; *Tablica 6*). Tretman biostimulatorima i interakcija varijante gnojidbe i tretmana biostimulatorima (AxB) nisu značajno utjecali na CATu u listu.

Specifična aktivnost katalaze (CATs) nakon tri tjedna tretmana (38,23 $\Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ prot.}$) bila je čak 74% veća nego u biljkama prije tretmana (9,890 $\Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ prot.}$; $P \leq 0,0001$; *Tablica 5*). Osim termina analize, značajan utjecaj na CATs imale su i interakcije termina analize i varijante gnojidbe (AxB, $P \leq 0,0480$), varijante gnojidbe i tretmana biostimulatorima (BxC, $P \leq 0,0261$) te interakcija sva tri faktora zajedno ($P \leq 0,0346$). Podaci dobiveni nakon tretmana pokazali su da je značajan utjecaj na CATs imala samo interakcija varijante gnojidbe i tretmana biostimulatorima (AxB, $P \leq 0,0142$), dok pojedinačno gnojidba i biostimulatori nisu imali značajan utjecaj (*Tablica 6*).

5.1.3.8. Aktivnost askorbat peroksidaze

Nakon trojtjednog tretmana, ukupna aktivnost askorbat peroksidaze (APXu) u listovima ($0,867 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ sv.t.}$) je bila 11% manja nego u listovima prije tretmana ($0,973 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ sv.t.}$; *Tablica 5*), dok je specifična aktivnost askorbat peroksidaze (APXs) nakon tretmana ($5,832 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ prot.}$) bila 54% veća ($2,673 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ prot.}$; *Tablica 5*). Ostali ispitivani parametri i njihove međusobne interakcije nisu imali značajan utjecaj na APXu i APXs, ni uzimajući ukupno u obzir vrijednosti prije i poslije tretmana, niti samo vrijednosti dobivene nakon tretmana (*Tablica 5 i 6*).

5.1.3.9. Aktivnost glutathion reduktaze

Ukupna aktivnost glutathion reduktaze (GRu) u listovima je nakon tretmana ($2,402 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ sv.t.}$) bila 61% manja nego na početku pokusa ($6,211 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ sv.t.}$; *Tablica 5*). Značajan utjecaj na GRu imao je tretman biostimulatorima ($P \leq 0,0116$) i interakcija biostimulatora i termina analize ($P \leq 0,0179$). GRu u listovima biljaka tretiranim kombinacijom biostimulatora ($4,851 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ sv.t.}$) bila je značajno veća od kontrole ($4,056 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ sv.t.}$), dok se GRu u listovima biljaka tretiranim Megafolom ($4,495 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ sv.t.}$) i Vivom ($3,823 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ sv.t.}$) nisu značajno razlikovale od kontrole. Nakon tretmana, značajan utjecaj na GRu imala je varijanta gnojidbe ($P \leq 0,0072$), tretman biostimulatorima ($P \leq 0,0001$) i njihova međusobna interakcija ($P \leq 0,0145$; *Tablica 6*). GRu u listovima biljaka tretiranih Megafolom ($2,670 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ prot.}$) i kombinacijom biostimulatora ($3,516 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ prot.}$) bile su veće nego u kontrolnih biljaka ($1,849 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ prot.}$) i biljaka tretiranih Vivom ($1,573 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ prot.}$).

Specifična aktivnost glutathion reduktaze (GRs) se nije razlikovala prije i poslije tretmana. Međutim, značajan utjecaj na navedenu aktivnost imao je tretman biostimulatorima ($P \leq 0,0014$) te međusobne kombinacije svih ispitivanih faktora: termina analize i varijante gnojidbe (AxB; $P \leq 0,0321$), termina analize i tretmana biostimulatorima (AxC; $P \leq 0,0017$), varijante gnojidbe i tretmana biostimulatorima (BxC; $P \leq 0,0377$) te termina analize, varijante gnojidbe i tretmana biostimulatorima; (AxBxC; $P \leq 0,0026$; *Tablica 5*). Najveću GRs imali su listovi biljaka tretiranih kombinacijom biostimulatora ($19,44 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ prot.}$) te su one bile značajno veće od vrijednosti izmjerenih u biljaka tretiranih Vivom ($13,33 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ prot.}$) i kontrolnih biljaka ($15,55 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ prot.}$), no nisu se statistički značajno razlikovale od GRs u biljaka tretiranih Megafolom ($17,68 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ prot.}$). Nakon tretmana, na GRs vrlo značajan utjecaj imali su

varijanta gnojidbe ($P \leq 0,004$), tretman biostimulatorima ($P \leq 0,0001$) i njihova interakcija ($P \leq 0,0001$; *Tablica 6*). GRs je kod biljaka s reduciranom gnojidbom ($17,69 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ prot.) bila 19% veća nego kod biljaka sa standardnom gnojidbom ($14,25 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ prot.). Značajan porast GRs u odnosu na kontrolne biljke ($12,70 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ prot.), zabilježen je u listovima tretiranim Megafolom ($17,89 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ prot.) te kombinacijom Viva i Megafola ($22,23 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ prot.), dok sam tretman Vivom nije uzrokovao značajnu promjenu GRs ($11,05 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ prot.).

Tablica 5. Ukupne (u) i specifične (s) aktivnosti gvajakol peroksidaze (GPX), katalaze (CAT), askorbat peroksidaze (APX) i glutation reduktaze (GR) u listu jagoda pod utjecajem termina analize (A), razine gnojidbe (B) i tretmana biostimulatorima (C) u jesenskom pokusu. (ANOVA, F test; prosjeci označeni istim slovom (^{A,B,C}) se ne razlikuju prema LSD testu; $P=0,05$).

	GPXu	CATu	APXu	GRu	GPXs	CATs	APXs	GRs
	$\Delta A \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ sv.t.}$				$\Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ prot.}$			
Termin analize (A)								
Prije tretmana (A1)	3,664 ^A	3,737 ^A	0,973 ^A	6,211 ^A	9,738 ^A	9,890 ^B	2,673 ^B	17,03 ^A
Poslije tretmana (A2)	1,184 ^B	3,959 ^A	0,867 ^B	2,402 ^B	8,877 ^A	38,23 ^A	5,832 ^A	15,97 ^A
F test	521,46	1,97	9,53	461,36	4,34	619,14	280,15	2,06
P	<0,0001	0,1939	0,013	<0,0001	0,0668	<0,0001	<0,0001	0,1848
Varijanta gnojidbe (B)								
100% (B1)	2,456 ^A	3,735 ^A	0,913 ^A	4,154 ^A	9,930 ^A	23,29 ^A	4,300 ^A	15,72 ^A
50% (B2)	2,391 ^A	3,961 ^A	0,927 ^A	4,459 ^A	8,685 ^B	24,83 ^A	4,205 ^A	17,28 ^A
F test	0,35	2,04	0,17	2,94	9,06	1,85	0,25	4,40
P	0,5682	0,1868	0,6906	0,1203	0,0147	0,2071	0,6267	0,0654
Tretman biostimulatorima (C)								
Kontrola (C1)	2,332 ^A	3,919 ^A	0,924 ^A	4,057 ^{B,C}	8,435 ^B	25,17 ^A	4,436 ^A	15,55 ^{B,C}
Viva (C2)	2,503 ^A	3,966 ^A	0,919 ^A	3,823 ^C	9,895 ^A	23,86 ^A	4,234 ^A	13,33 ^C
Megafol (C3)	2,437 ^A	3,826 ^A	0,908 ^A	4,495 ^{A,B}	9,924 ^A	24,56 ^A	4,234 ^A	17,68 ^{A,B}
Viva+Megafol (C4)	2,422 ^A	3,680 ^A	0,929 ^A	4,851 ^A	8,977 ^{A,B}	22,66 ^A	4,104 ^A	19,44 ^A
F test	0,42	0,64	0,06	6,66	3,11	0,90	0,53	12,70
P	0,7433	0,6106	0,9778	0,0116	0,0811	0,4790	0,6737	0,0014
Interakcije								
(AxB) F test	0,01	5,07	0,94	2,71	0,30	5,23	0,00	6,41
P	0,9186	0,0508	0,3575	0,1343	0,5994	0,0480	0,9767	0,0321
(AxC) F test	0,51	0,06	0,5	5,74	1,42	0,30	0,26	12,07
P	0,6833	0,9778	0,6908	0,0179	0,3002	0,8224	0,8531	0,0017
(BxC) F test	1,52	2,68	0,16	0,83	2,56	5,00	1,48	4,34
P	0,2760	0,1100	0,9204	0,5120	0,1197	0,0261	0,2848	0,0377
(AxBxC) F test	0,93	1,45	1,84	2,68	2,67	4,49	2,19	10,59
P	0,4649	0,2924	0,2100	0,1103	0,1104	0,0346	0,1585	0,0026

Tablica 6. Ukupne (u) i specifične (s) aktivnosti gvajakol peroksidaze (GPX), katalaze (CAT), askorbat peroksidaze (APX) i glutation reduktaze (GR) u listu jagoda, pod utjecajem varijante gnojidbe (A) i tretmana biostimulatorima (B) nakon završetka jesenskog pokusa. (ANOVA, F test; prosjeci označeni istim slovom (^{A,B,C}) se ne razlikuju prema LSD testu; P=0,05).

	GPXu	CATu	APXu	GRu	GPXs	CATs	APXs	GRs
	$\Delta A \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ sv.t.}$				$\Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ prot.}$			
Varijanta gnojidbe (A)								
100% (A1)	1,210 ^A	3,668 ^B	0,843 ^A	2,104 ^B	9,386 ^A	36,15 ^A	5,870 ^A	14,25 ^B
50% (A2)	1,157 ^A	4,250 ^A	0,890 ^A	2,700 ^A	8,367 ^A	40,31 ^A	5,787 ^A	17,69 ^A
F test	0,35	6,52	0,70	11,94	2,54	4,38	0,05	29,58
P	0,5703	0,0310	0,4244	0,0072	0,1457	0,0659	0,8346	0,0004
Tretman biostimulatorima (B)								
Kontrola (B1)	1,091 ^A	4,027 ^A	0,887 ^A	1,849 ^C	7,493 ^B	39,90 ^A	6,042 ^A	12,70 ^C
Viva (B2)	1,251 ^A	4,116 ^A	0,830 ^A	1,573 ^C	9,584 ^A	37,86 ^A	5,875 ^A	11,05 ^C
Megafol (B3)	1,299 ^A	3,955 ^A	0,872 ^A	2,670 ^B	10,12 ^A	39,15 ^A	5,870 ^A	17,89 ^B
Viva+Megafol (B4)	1,094 ^A	3,737 ^A	0,877 ^A	3,516 ^A	8,308 ^{A,B}	36,01 ^A	5,541 ^A	22,23 ^A
F test	1,42	0,50	0,19	25,81	3,49	0,74	0,25	64,81
P	0,3005	0,6891	0,9002	<0,0001	0,0632	0,5568	0,8563	<0,0001
Interakcija (AxB)								
F test	6,43	3,63	0,91	6,16	4,03	6,21	1,28	36,13
P	0,0128	0,0578	0,4758	0,0145	0,0452	0,0142	0,3398	<0,0001

5.1.3.10. Korelacijske povezanosti između pokazatelja antioksidativnog statusa u listu pod utjecajem biostimulatora i reducirane gnojidbe

Između neenzimatskih pokazatelja antioksidativnog statusa u listu postojala je samo jedna značajna negativna korelacija prije tretmana (AA:PHE) i jedna vrlo značajna pozitivna korelacija poslije tretmana (AA:TBARS), dok su korelacijske analize ukupnih podataka i prije i poslije tretmana dale puno veći broj značajnih veza (*Tablica 7*). Ukoliko se uzmu u obzir samo podaci prije tretmana, može se uočiti nekoliko značajnih korelacija između antioksidativnih enzimatskih komponenti: negativna veza između GPXu i GRs, GPXu i GRu te APXu i GRu, dok je jedina pozitivna korelacija bila između CATu i CATs. Također, APXu bila je u pozitivnoj vezi s TBARS, dok je GRs bila u negativnoj vezi s TBARS. Multiple korelacijske analize samo nakon tretmana pokazale su značajne pozitivne korelacije između ukupnih i specifičnih aktivnosti enzima GPX, APX, GR i CAT te značajnu pozitivnu vezu između CATu i APXu. Koncentracija AA je uzimajući u obzir oba termina uzorkovanja pokazala vrlo značajnu pozitivnu korelaciju s koncentracijom HP,

sadržajem PHE, CATs i APXs, dok je vrlo značajnu negativnu korelaciju pokazala s koncentracijom PRO, GPXu, APXu i GRu. Za razliku od koncentracije AA, koncentracija PRO je bila u pozitivnoj korelaciji s GPXu, APXu i GRu, a u negativnoj s koncentracijom HP, sadržajem PHE, CATs i APXs. GPXu, APXu i GRu bile su negativno povezane s koncentracijom HP, za razliku od sadržaja PHE te APXs, CATu i CATs s kojima je koncentracija HP bila u pozitivnoj vezi. Kao i koncentracija HP, sadržaj PHE je bio u vrlo značajnoj vezi negativnoj smjera s GPXu, APXu i GRu. Vrlo značajna negativna korelacija postojala je između sadržaja PHE i CATs te APXs. CATu je bila u značajno pozitivnoj korelaciji s TBARS. Značajne korelacije su bile uočljive i između aktivnosti pojedinih antioksidativnih enzima. GPXu je vrlo značajno negativno korelirala s CATs i APXs, dok je vrlo značajno pozitivno korelirala s APXu i GRu. CATu je bila u značajnoj pozitivnoj vezi CATs, a CATs je bila u vrlo značajnoj pozitivnoj vezi s APXs te u negativnoj vezi s APXu i GRu. APXs je bila u vrlo značajnoj negativnoj korelaciji s GRu, za razliku od APXu koja je s GRu bila u vrlo značajnoj pozitivnoj korelaciji. Također, negativna korelacija bila je prisutna između APXu i APXs.

Tablica 7. Koeficijenti linearnih korelacija između pokazatelja antioksidativnog statusa u listu jagoda u jesenskom pokusu (* $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$).

Analiza prije tretmana		Analiza poslije tretmana		Oba termina analize	
X:y	r	x:y	r	x:y	r
AA:PHE	-0,781*	AA:TBARS	0,901**	AA:PRO	-0,889**
GPXu:GRu	-0,771*	GPXu:GPXs	0,914**	AA:HP	0,856**
GPXu:GRs	-0,776*	CATu:CATs	0,951**	AA:PHE	0,898**
CATu:CATs	0,818*	CATu:APXu	0,721*	AA:GPXu	-0,968**
APXu:GRu	-0,855**	APXu:APXs	0,824*	AA:CATs	0,968**
APXu:TBARS	0,812*	GRu:GRs	0,981**	AA:APXu	-0,691**
GRs:TBARS	-0,813*			AA:APXs	0,959**
				AA:GRu	-0,918**
				PRO:HP	-0,777**
				PRO:PHE	-0,833**
				PRO:GPXu	0,890**
				PRO:CATs	-0,886**
				PRO:APXu	0,539*
				PRO:APXs	-0,849**
				PRO:GRu	0,777**
				HP:PHE	0,794**
				HP:GPXu	-0,819**
				HP:CATu	0,530*
				HP:CATs	0,868**
				HP:APXu	-0,555*
				HP:APXs	0,857**
				HP:GRu	-0,683**
				PHE:GPXu	-0,919**
				PHE:CATs	0,918**
				PHE:APXu	-0,726**
				PHE:APXs	0,946**
				PHE:GRu	-0,856**
				GPXu:CATs	-0,947**
				GPXu:APXu	0,735**
				GPXu:APXs	-0,963**
				GPXu:GRu	0,929**
				CATu:CATs	0,499*
				CATu:TBARS	0,642*
				CATs:APXu	-0,587*
				CATs:APXs	0,975**
				CATs:GRu	-0,907**
				APXu:APXs	-0,659**
				APXu:GRu	0,722**
				APXs:GRu	-0,923**

5.1.4. Analize mineralnog sastava lista

Nakon tretmana biostimulatorima koncentracija N u listu (2,935%) je bila 20% manja nego prije tretmana (3,671%), no na smanjenje koncentracije nisu utjecali ni varijanta gnojidbe, ni biostimulatori, niti njihove međusobne interakcije (*Tablica 8*). Navedeni parametri i njihova interakcija također nisu značajno utjecali na koncentraciju N u listu niti ako se uzmu u obzir samo podaci nakon tretmana (*Tablica 9*).

Nakon tretmana, koncentracija P u listu (0,626%) je bila 7% veća nego prije tretmana (0,580%; *Tablica 8*). U listovima biljaka s reduciranom gnojibom koncentracija P je bila manja (0,583 %) nego kod biljaka sa standardnom gnojibom (0,623%). Iako tretman biostimulatorima i različite interakcije biostimulatora, termina analize i gnojidbe nisu značajno utjecali na koncentraciju P, ona je bila najviša u listovima kontrolnih biljaka (0,623%), a najmanja u listovima biljaka tretiranih Vivom (0,593 %). Koncentracije P u listovima biljaka tretiranih Megafolom (0,601%) i kombinacijom biostimulatora (0,596%) nisu se značajno razlikovale od koncentracija P u listovima kontrolnih biljaka ni biljaka tretiranih Vivom. Podaci dobiveni nakon tretmana pokazuju da je na koncentraciju P u listovima značajno utjecala varijanta gnojidbe ($P \leq 0,0047$; *Tablica 9*). U listovima biljaka sa standardnom gnojibom koncentracija P je bila značajno veća (0,655%) nego kod biljaka s reduciranom gnojibom (0,598 %). Biostimulatori i interakcija varijante gnojidbe i tretmana biostimulatorima (A x B) nisu značajno utjecali na koncentraciju P.

Na koncentraciju K u listovima značajan utjecaj imali su termin analize ($P < 0,0001$) te interakcija termina analize i varijante gnojidbe ($P \leq 0,0247$; *Tablica 8*). Koncentracija K je nakon tretmana (2,487%) bila 11% manja nego prije tretmana (2,810%). Podaci dobiveni nakon tretmana pokazuju da nije bilo značajnog učinka varijante gnojidbe i biostimulatora na koncentraciju K u listovima (*Tablica 9*).

Koncentracija Ca u listovima je nakon tretmana (0,701%) bila 25% manja nego prije tretmana (0,928%; *Tablica 8*). Na smanjenje koncentracije Ca nisu značajno utjecali ni biostimulatori, ni varijanta gnojidbe, niti njihova interakcija. Podaci dobiveni nakon tretmana također pokazuju da nije bilo značajnog utjecaja ispitivanih faktora na koncentraciju Ca (*Tablica 9*).

Koncentracija Mg je nakon tretmana (0,371%) bila 13% manja nego na početku pokusa (0,427%; *Tablica 8*). Na koncentraciju Mg u listovima značajan utjecaj je imala varijanta gnojidbe ($P \leq 0,0025$) te interakcija varijante gnojidbe i termina analize ($P \leq 0,0067$). Uzimajući u obzir samo podatke nakon tretmana, koncentracija Mg bila je u listovima biljaka s reduciranom gnojibom (0,357%) niža nego u biljaka sa standardnom gnojibom

(0,385%; *Tablica 9*). Nakon tretmana, sadržaji Fe, Mn i Zn u listovima bili su značajno manji nego na početku pokusa, dok se sadržaj Cu nije statistički značajno promijenio (*Tablica 8*). Varijanta gnojidbe, tretmani biostimulatorima i međusobne interakcije praćenih faktora nisu značajno utjecali na sadržaje spomenutih mikroelemenata, osim interakcije termina analize, varijante gnojidbe i tretmana biostimulatorima (AxBxC) koja je značajno utjecala na sadržaj Cu ($P \leq 0,0059$). Podaci dobiveni nakon tretmana pokazuju da gnojidba i biostimulatori te njihova interakcija nisu značajno utjecali na sadržaj Fe, Mn, Cu i Zn (*Tablica 9*).

Tablica 8. Koncentracije makroelemenata (N, P, K, Ca, Mg) i sadržaj mikroelemenata (Fe, Mn, Cu, Zn) u listu jagode pod utjecajem termina analize (A), razine gnojidbe (B) i tretmana biostimulatorima (C) u jesenskom pokusu. (ANOVA, F test; prosjeci označeni istim slovom (^{A,B,C}) se ne razlikuju prema LSD testu; $P=0,05$).

	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Cu	Zn
	%					mg kg ⁻¹			
Termin analize (A)									
Prije tretmana (A1)	3,671 ^A	0,580 ^B	2,810 ^A	0,928 ^A	0,427 ^A	173,0 ^A	145,3 ^A	4,016 ^A	36,13 ^A
Poslije tretmana (A2)	2,935 ^B	0,626 ^A	2,487 ^B	0,701 ^B	0,371 ^B	114,9 ^B	97,67 ^B	3,625 ^A	31,08 ^B
F test	275,55	25,23	106,38	16,43	251,39	216,95	148,37	1,07	101,34
P	<0,001	0,0007	<0,0001	0,0029	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,3286	<0,001
Varijanta gnojidbe (B)									
100% (B1)	3,337 ^A	0,623 ^A	2,666 ^A	0,799 ^A	0,407 ^A	142,6 ^A	120,9 ^A	4,041 ^A	34,46 ^A
50% (B2)	3,269 ^A	0,583 ^B	2,631 ^A	0,830 ^A	0,392 ^B	145,3 ^A	122,0 ^A	3,600 ^A	32,75 ^B
F test	2,36	18,91	1,26	0,32	17,27	0,47	0,08	1,36	11,60
P	0,1589	0,0019	0,2904	0,5868	0,0025	0,5098	0,7793	0,2739	0,0078
Tretman biostimulatorima (C)									
Kontrola (C1)	3,314 ^A	0,623 ^A	2,689 ^A	0,896 ^A	0,399 ^A	149,3 ^A	118,0 ^A	3,519 ^A	33,36 ^A
Viva (C2)	3,283 ^A	0,593 ^B	2,611 ^A	0,815 ^A	0,397 ^A	147,1 ^A	128,4 ^A	3,338 ^A	33,93 ^A
Megafol (C3)	3,303 ^A	0,601 ^{AB}	2,619 ^A	0,768 ^A	0,403 ^A	138,3 ^A	120,0 ^A	3,888 ^A	33,22 ^A
Viva+Megafol (C4)	3,313 ^A	0,596 ^{AB}	2,675 ^A	0,780 ^A	0,397 ^A	141,2 ^A	119,4 ^A	4,538 ^A	33,92 ^A
F test	0,10	2,13	1,56	1,08	0,68	1,66	1,45	1,97	0,54
P	0,9569	0,1672	0,2664	0,4067	0,5865	0,2433	0,2910	0,1899	0,6638
Interakcije									
(AxB) F test	0,37	3,44	7,25	0,22	12,27	0,39	0,47	0,01	0,01
P	0,5595	0,0967	0,0247	0,6533	0,0067	0,5487	0,5104	0,9423	0,9180
(AxC) F test	0,73	1,58	1,37	2,10	0,08	3,24	0,63	2,68	3,25
P	0,5606	0,2612	0,3130	0,1709	0,9689	0,0745	0,6128	0,1102	0,0740
(BxC) F test	1,18	1,32	1,09	0,71	1,62	0,78	1,07	2,88	1,87
P	0,3699	0,3266	0,4026	0,5693	0,2529	0,5318	0,4110	0,0956	0,2048
(AxBxC) F test	0,67	0,61	1,04	0,92	2,31	2,13	0,10	8,27	0,33
P	0,5927	0,6269	0,4190	0,4674	0,1453	0,1670	0,9568	0,0059	0,8061

Tablica 9. Koncentracije makroelemenata (N, P, K, Ca, Mg) i sadržaj mikroelemenata (Fe, Mn, Cu, Zn) u listu jagode pod utjecajem varijante gnojidbe (A) i tretmana biostimulatorima (B) nakon završetka jesenskog pokusa. (ANOVA, F test; prosjeci označeni istim slovom (^{A,B,C}) se ne razlikuju prema LSD testu; $P=0,05$).

	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Cu	Zn
	%					mg kg ⁻¹			
Varijanta gnojidbe (A)									
100% (A1)	2,983 ^A	0,655 ^A	2,547 ^A	0,673 ^A	0,385 ^A	114,8 ^A	95,76 ^A	3,831 ^A	31,91 ^A
50% (A2)	2,888 ^A	0,598 ^B	2,427 ^A	0,730 ^A	0,357 ^B	115,0 ^A	99,57 ^A	3,419 ^A	30,25 ^A
F test	2,47	13,96	4,35	0,58	27,10	0,00	0,16	0,47	4,08
P	0,1502	0,0047	0,0666	0,4673	0,0006	0,9724	0,6983	0,5115	0,0742
Tretman biostimulatorima (B)									
Kontrola (B1)	2,998 ^A	0,645 ^A	2,569 ^A	0,674 ^A	0,372 ^A	125,8 ^A	94,84 ^A	4,075 ^A	31,86 ^A
Viva (B2)	2,883 ^A	0,619 ^A	2,411 ^A	0,787 ^A	0,369 ^A	110,4 ^A	108,2 ^A	2,575 ^A	30,41 ^A
Megafol (B3)	2,939 ^A	0,638 ^A	2,475 ^A	0,676 ^A	0,376 ^A	104,7 ^A	95,96 ^A	3,950 ^A	30,21 ^A
Viva+Megafol (B4)	2,921 ^A	0,604 ^A	2,491 ^A	0,668 ^A	0,368 ^A	118,7 ^A	91,66 ^A	3,900 ^A	31,83 ^A
F test	0,63	1,46	1,28	0,57	0,49	1,73	0,58	1,36	1,17
P	0,6152	0,2883	0,3378	0,6465	0,6998	0,2307	0,6416	0,3158	0,3733
Interakcija (AxB)									
F test	0,13	0,66	1,27	0,07	3,06	1,30	0,18	2,61	1,08
P	0,9395	0,5996	0,3413	0,9727	0,0844	0,3341	0,9057	0,1154	0,4047

5.1.4.1. Korelacijske povezanosti između komponenata mineralnog sastava lista i neenzimatskih antioksidansa u listu pod utjecajem biostimulatora i reducirane gnojidbe

Kod biljaka prije tretmana postojale su samo dvije značajne korelacije i to negativna veza između sadržaja Fe i koncentracije HP i pozitivna veza između sadržaja Cu i koncentracije AA (Tablica 10). Korelacijske analize nakon tretmana ukazale su na značajnu pozitivnu vezu između koncentracija N i P, vrlo značajnu pozitivnu vezu između koncentracija N i K te negativnu vezu između koncentracija N i Ca (Tablica 10). Koncentracija P je bila u pozitivnoj korelaciji s koncentracijama K i Mg, dok je u negativnoj korelaciji bila s koncentracijama AA, HP i TBARS. Koncentracija K je bila u negativnoj korelaciji s koncentracijama Ca i HP, ali u pozitivnoj korelaciji s koncentracijom Mg. Koncentracija Mg je bila u negativnoj korelaciji s koncentracijama AA, HP i TBARS. Pozitivne korelacije su bile prisutne između koncentracije Ca i sadržaja Mn te sadržaja Cu i PHE. Kad se uzmu u obzir oba termina analize, može se uočiti negativna korelacija između koncentracija N i P. Koncentracija N je bila u značajnoj

pozitivnoj korelaciji s koncentracijama K, Ca, Mg i PRO te sa sadržajem Fe, Mn i Zn te u negativnoj korelaciji s koncentracijama AA i HP te sadržajem PHE. Koncentracija P je bila u negativnoj korelaciji sa sadržajem Fe i Mn te u značajnoj pozitivnoj korelaciji s koncentracijom AA i sadržajem PHE. Koncentracija K je bila u značajnoj pozitivnoj korelaciji s koncentracijom Ca te vrlo značajnoj korelaciji s koncentracijama Mg i PRO te sa sadržajem Fe, Mn i Zn. Vrlo značajna negativna korelacija je bila prisutna između koncentracija K i AA, HP i sadržaja PHE. Kao i koncentracija K, koncentracija Ca je bila u negativnoj korelaciji s koncentracijama AA, HP i sadržajem PHE, dok je u pozitivnoj korelaciji bila s koncentracijama Mg i PRO te sadržajem Fe i Mn. Također, koncentracija Mg je bila u negativnoj korelaciji s koncentracijama AA, HP i sadržajem PHE, a u pozitivnoj korelaciji sa sadržajem Fe, Mn i Zn te koncentracijom PRO. Sadržaj Fe, Mn i Zn je bio u značajnoj negativnoj korelaciji s koncentracijama AA, HP i sadržajem PHE i pozitivnoj korelaciji s koncentracijom PRO. Sadržaj Fe je također bio u pozitivnoj korelaciji sa sadržajem Mn i Zn, a u pozitivnoj korelaciji su bili i sadržaji Mn i Zn.

Tablica 10. Koeficijenti linearnih korelacija između komponenata elementarnog sastava i pokazatelja antioksidativnog statusa u listu jagoda u jesenskom pokusu (*P<0,05; ** P<0,01).

Analiza prije tretmana		Analiza poslije tretmana		Oba termina analize	
x:y	r	X:y	r	x:y	R
Fe:HP	-0,853**	N:P	0,822*	N:P	-0,543*
Cu:AA	0,704*	N:K	0,877**	N:K	0,929**
		N:Ca	-0,776*	N:Ca	0,676**
		P:K	0,707*	N:Mg	0,941**
		P:Mg	0,880**	N:Fe	0,945**
		P:AA	-0,815*	N:Mn	0,939**
		P:HP	-0,786*	N:Zn	0,899**
		P:TBARS	-0,709*	N:PRO	0,904**
		K:Ca	-0,798*	N:AA	-0,986**
		K:Mg	0,717*	N:HP	-0,859**
		K:HP	-0,763*	N:PHE	-0,892**
		Ca:Mn	0,768*	P:Fe	-0,643**
		Mg:AA	-0,751*	P:Mn	-0,598*
		Mg:HP	-0,732*	P:AA	0,525*
		Mg:TBARS	-0,757*	P:PHE	0,623**
		Cu:PHE	0,830*	K:Ca	0,584*
				K:Mg	0,930**
				K:Fe	0,861**
				K:Mn	0,827**
				K:Zn	0,838**
				K:PRO	0,858**
				K:AA	-0,907**
				K:HP	-0,907**
				K:PHE	-0,818**
				Ca:Mg	0,616*
				Ca:Fe	0,680**
				Ca:Mn	0,687**
				Ca:PRO	0,679**
				Ca:AA	-0,672**
				Ca:HP	-0,496*
				Ca:PHE	-0,786**
				Mg:Fe	0,831**
				Mg:Mn	0,867**
				Mg:Zn	0,865**
				Mg:PRO	0,888**
				Mg:AA	-0,946**
				Mg:HP	-0,903**
				Mg:PHE	-0,837**
				Fe:Mn	0,899**
				Fe:Zn	0,874**
				Fe:PRO	0,862**
				Fe:AA	-0,940**
				Fe:HP	-0,791**
				Fe:PHE	-0,879**
				Mn:Zn	0,856**
				Mn:PRO	0,852**
				Mn:AA	-0,959**
				Mn:HP	-0,788**
				Mn:PHE	-0,926**
				Zn:PRO	0,776**
				Zn:AA	-0,906**
				Zn:HP	-0,858**
				Zn:PHE	-0,816**

5.1.4.2. Korelacijske povezanosti između komponenata mineralnog sastava lista i vegetativnih pokazatelja razvoja te priroda pod utjecajem biostimulatora i reducirane gnojidbe

Masa svježe tvari najrazvijenije troliske bila je u značajnim pozitivnim vezama s koncentracijom P ($r=0,835^*$), K ($r=0,768^*$) i Mg ($r=0,717^*$) u listu. Ostali vegetativni pokazatelji razvoja biljaka, kao i prirod jagoda, nisu korelirali s komponentama mineralnog sastava lista u ovom istraživanju.

5.1.5. Analize mineralnog sastava korijena

Jedini značajan učinak na koncentraciju N ($P \leq 0,0204$) i P ($P \leq 0,0211$) u korijenu imao je tretman biostimulatorima (*Tablica 11*). Najviše koncentracije N (1,224%) i P (0,405%) utvrđene su u korijenu biljaka tretiranih Vivom. Ove se koncentracije nisu značajno razlikovale od onih u korijenu kontrolnih biljaka (1,134% – N; 0,395% – P), ali su se značajno razlikovale od koncentracija u korijenu biljaka tretiranih Megafolom (1,056% – N; 0,336% – P) i kombinacijom Megafola i Vive (1,113% – N; 0,340% – P).

Na koncentraciju K u korijenu značajno je utjecala varijanta gnojidbe ($P \leq 0,0444$; *Tablica 11*). Korijen biljaka pri reduciranoj gnojidbi sadržavao je 12% nižu koncentracija K (0,821%) nego pri standardnoj gnojidbi (0,929%).

Iako na koncentraciju Ca u korijenu gnojidba i tretman biostimulatorima nisu imali značajan utjecaj, najnižu koncentraciju Ca (0,322%) sadržavao je korijen biljaka tretiranih kombinacijom biostimulatora (*Tablica 11*).

Na koncentraciju Mg u korijenu značajno je utjecao tretman biostimulatorima ($P \leq 0,0235$; *Tablica 11*). Najviša koncentracija Mg u korijenu izmjerena je kod biljaka tretiranih kombinacijom biostimulatora (0,418%) i Megafolom (0,384%), no kod tretmana Megafolom se statistički nije razlikovala od kontrole (0,306%).

Sadržaj Fe, Mn i Zn se pod utjecajem ispitivanih faktora nije značajno promijenio u odnosu na kontrolne biljke. Biostimulatori su značajno utjecali na sadržaj Cu u korijenu ($P \leq 0,0319$; *Tablica 11*). Najveći sadržaj Cu izmjeren je u korijenu biljaka tretiranih Megafolom (24,89 mg kg⁻¹) te se statistički nije značajno razlikovao od sadržaja Cu u korijenu kontrolnih biljaka (24,14 mg kg⁻¹).

Tablica 11. Koncentracije makroelemenata (N, P, K, Ca, Mg) i sadržaj mikroelemenata (Fe, Mn, Cu, Zn) u korijenu jagode pod utjecajem varijante gnojidbe (A) i tretmana biostimulatorima (B) nakon završetka jesenskog pokusa. (ANOVA, F test; prosjeci označeni istim slovom (^{A,B,C}) se ne razlikuju prema LSD testu; $P=0,05$).

	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Cu	Zn
	%					mg kg ⁻¹			
Varijanta gnojidbe (A)									
100 % (A1)	1,132 ^A	0,381 ^A	0,929 ^A	0,419 ^A	0,338 ^A	4727,1 ^A	82,16 ^A	22,90 ^A	57,25 ^A
50 % (A2)	1,131 ^A	0,358 ^A	0,821 ^B	0,359 ^A	0,365 ^A	5465,1 ^A	82,83 ^A	23,61 ^A	53,21 ^A
F test	0,00	2,23	5,45	4,20	1,14	3,29	0,03	1,04	4,93
P	0,9837	0,1694	0,0444	0,0708	0,3138	0,1033	0,8729	0,3338	0,0535
Tretman biostimulatorima (B)									
Kontrola (B1)	1,134 ^{A,B}	0,395 ^A	0,904 ^A	0,428 ^A	0,306 ^{B,C}	4603,3 ^{A,B}	83,05 ^A	24,14 ^{A,B}	58,45 ^A
Viva (B2)	1,224 ^A	0,405 ^A	0,924 ^A	0,425 ^A	0,299 ^C	4375,0 ^B	75,79 ^A	21,90 ^C	57,44 ^A
Megafol (B3)	1,056 ^B	0,336 ^B	0,795 ^A	0,383 ^{A,B}	0,384 ^{A,B}	5509,1 ^{A,B}	84,14 ^A	24,89 ^A	54,51 ^B
Viva+Megafol(B4)	1,113 ^B	0,340 ^B	0,878 ^A	0,322 ^B	0,418 ^A	5895,1 ^A	87,00 ^A	22,09 ^{B,C}	50,53 ^{A,B}
F test	5,47	5,40	1,51	2,86	5,20	3,17	1,35	4,63	3,82
P	0,0204	0,0211	0,2784	0,0969	0,0235	0,0781	0,3179	0,0319	0,0512
Interakcija (AxB)									
F test	2,88	0,09	1,21	0,95	0,91	0,42	0,45	1,81	0,52
P	0,0954	0,9621	0,3605	0,4561	0,4741	0,7455	0,7237	0,2154	0,6791

5.1.5.1. Korelacijske povezanosti između komponenata mineralnog sastava korijena i vegetativnih pokazatelja razvoja te priroda biljaka pod utjecajem biostimulatora i reducirane gnojidbe

Masa suhe tvari najrazvijenije troliske je bila u značajnoj pozitivnoj vezi s koncentracijom N ($r=0,752^*$) i P ($r=0,712^*$) u korijenu, dok je u značajnoj negativnoj vezi bila sa sadržajem Mn ($r=-0,719^*$). Masa svježe tvari najrazvijenije troliske bila je u vrlo značajnoj pozitivnoj vezi s koncentracijom K ($r=0,863^{**}$) te u značajnoj pozitivnoj vezi s koncentracijom Ca ($r=0,755^*$) i sadržajem Zn ($r=0,768^*$). Koncentracija K u korijenu značajno je pozitivno korelirala s masom nadzemnog dijela biljke ($r=0,752^*$), dok je sadržaj Cu bio u negativnoj vezi s prirodom jagoda ($r=-0,736^*$). Uzimajući u obzir međusobne odnose samih elemenata u korijenu, dobiveno je nekoliko značajnih korelacija. Koncentracija P bila je u pozitivnoj vezi s koncentracijom K ($r=0,734^*$), Ca ($r=0,774^*$) i sadržajem Zn ($r=0,871^{**}$) te u negativnoj vezi s koncentracijom Mg ($r=-0,856^{**}$) i sadržajem Fe ($r=-0,869^{**}$). Značajna veza pozitivnog smjera je utvrđena između

koncentracije K i sadržaja Zn ($r=0,784^*$), dok su značajne veze negativnog smjera utvrđene između koncentracija Ca i Mg ($r=-0,747^*$) te koncentracije Ca i sadržaja Fe ($r=-0,799^*$).

5.1.6. Analize kvalitativnih svojstva ploda

5.1.6.1. Reducirajući šećeri

Sadržaj reducirajućih šećera (RŠ) je u plodu nakon tretmana (4,408%) bio 21% manji nego na početku pokusa (5,559%; *Tablica 12*). Na sadržaj RŠ nisu značajno utjecali ni tretman biostimulatorima, ni različita gnojidba, kao ni interakcije termina analize, varijante gnojidbe i tretmana biostimulatorima. Iako analize nakon tretmana nisu pokazale značajan utjecaj biostimulatora na sadržaj RŠ u plodu jagode (*Tablica 13*), u plodovima biljaka tretiranih kombinacijom biostimulatora utvrđen je značajno manji sadržaj RŠ (3,935%) nego u plodovima kontrolnih biljaka (4,767%) i biljaka tretiranih biostimulatorima pojedinačno (4,410% – Viva; 4,521% – Megafol).

5.1.6.2. Ukupna titracijska kiselost

Ukupna kiselost (UK) ploda, izražena kao postotak limunske kiseline, je u plodovima jagode nakon tretmana (0,827%) bila 17% veća nego u plodovima ubranim na početku pokusa (0,994%; *Tablica 12*). Osim termina analize, značajan utjecaj na UK ploda imao je tretman biostimulatorima ($P \leq 0,0132$). Najniža UK je izmjerena u plodovima biljaka tretiranih Megafolom (0,862%), dok se u ostalim varijantama tretmana biostimulatorima (0,916% – Viva; 0,921% – kombinacija) i kontrolnim biljkama (0,943%) UK ploda nije značajno razlikovala. Analize plodova nakon tretmana, nisu pokazale značajan utjecaj gnojidbe, biostimulatora te njihove interakcije (AxB) na UK (*Tablica 13*).

5.1.6.3. pH vrijednost

pH vrijednost u plodu je nakon završenog tretmana (3,404) bila 6% manja nego na početku pokusa (3,610; *Tablica 12*). Značajan utjecaj na pH ploda su imali varijanta gnojidbe ($P \leq 0,0349$) i tretman biostimulatorima ($P \leq 0,0215$). Plodovi biljaka s reduciranom gnojidbom su imali značajno nižu pH vrijednost (3,491) nego plodovi biljaka sa standardnom gnojidbom (3,523). Najviše vrijednosti pH utvrđene su u plodovima biljaka tretiranih Megafolom (3,553) (*Tablica 12*). Interakcije ispitivanih faktora nisu značajno

utjecale na pH vrijednost u plodu jagoda. U plodovima ubranim nakon tretmana, nije utvrđen značajan utjecaj gnojidbe, biostimulatora i njihove interakcije na pH vrijednosti u plodu (*Tablica 13*).

5.1.6.4. Ukupni fenoli

Sadržaj ukupnih fenola (PHE) u plodu se nakon tretmana nije značajno promijenio u odnosu na sadržaj PHE u plodovima prije tretmana (*Tablica 12*). Značajan učinak na sadržaj PHE imali su varijanta gnojidbe ($P \leq 0,0240$), tretman biostimulatorima ($P \leq 0,0122$), interakcija termina analize i varijante gnojidbe ($A \times B$; $P \leq 0,0058$), varijante gnojidbe i tretmana biostimulatorima ($B \times C$; $P < 0,0001$) te interakcija termina analize, varijante gnojidbe i tretmana biostimulatorima ($A \times B \times C$; $P < 0,0001$). Sadržaj PHE bio je u plodovima biljaka s reduciranom gnojdbom ($0,705 \text{ mg g}^{-1} \text{ sv.t.}$) značajno veći nego u plodovima biljaka sa standardnom gnojdbom ($0,654 \text{ mg g}^{-1} \text{ sv.t.}$). Najveći sadržaj PHE izmjeren je u plodovima biljaka tretiranih Vivom ($0,748 \text{ mg g}^{-1} \text{ sv.t.}$), dok se sadržaji PHE kod ostalih tretmana biostimulatorima nisu značajno razlikovali ni međusobno ni u odnosu na kontrolu. Rezultati dobiveni analizom ploda nakon tretmana su pokazali značajan učinak gnojidbe ($P \leq 0,0222$) i interakcije gnojidbe i biostimulatora ($P < 0,0001$). Sadržaj PHE je bio značajno veći pri reduciranoj gnojdbi ($0,730 \text{ mg g}^{-1} \text{ sv.t.}$) nego pri standardnoj gnojdbi ($0,611 \text{ mg g}^{-1} \text{ sv.t.}$; *Tablica 13*).

5.1.6.5. Ukupni antocijanini

Sadržaj ukupnih antocijanina (AC) je nakon tretmana ($172,0 \text{ mg kg}^{-1}$) bio 47% manji nego na početku pokusa ($325,6 \text{ mg kg}^{-1}$; *Tablica 12*). Značajan učinak na sadržaj AC u plodovima imale su interakcije termina analize i varijante gnojidbe ($A \times B$; $P \leq 0,0276$) te termina analize, varijante gnojidbe i tretmana biostimulatorima ($A \times B \times C$; $P \leq 0,0141$). Kada se uzmu u obzir samo podaci nakon tretmana, može se uočiti značajan utjecaj varijante gnojidbe ($P \leq 0,0361$) te interakcije varijante gnojidbe i biostimulatora ($A \times B$; $P \leq 0,0377$; *Tablica 13*). Sadržaj AC u plodovima pri reduciranoj gnojdbi ($158,0 \text{ mg kg}^{-1}$) bio je značajno manji nego pri standardnoj gnojdbi ($186,1 \text{ mg kg}^{-1}$).

5.1.6.6. Ukupna antioksidativna aktivnost

Ukupna antioksidativna aktivnost (UAA), izražena kao % neutralizacije DPPH radikala, bila je u plodovima jagoda nakon tretmana (32,90%) 30% veća nego na početku pokusa

(23,11%; *Tablica 12*). Na UAA u plodu su značajan učinak imali tretman biostimulatorima ($P \leq 0,0074$), interakcija varijante gnojidbe i tretmana biostimulatorima ($B \times C$; $P \leq 0,0134$) te interakcija termina analize, varijante gnojidbe i tretmana biostimulatorima ($A \times B \times C$; $P \leq 0,0044$). UAA je u plodovima kontrolnih biljaka (29,09%) i biljaka tretiranih Vivom (30,12%) bila značajno veća od UAA u plodovima biljaka tretiranih Megafolom (26,23%) i kombinacijom biostimulatora (26,58%). Podaci dobiveni nakon završetka tretmana pokazali su značajan utjecaj varijante gnojidbe ($P \leq 0,0497$) i interakcije varijante gnojidbe i biostimulatora ($A \times B$; $P \leq 0,0048$; *Tablica 13*) na UAA. je Pri reduciranoj gnojidbi UAA u plodovima je bila veća nego pri standardnoj gnojidbi (34,23% prema 31,57%; *Tablica 13*).

5.1.6.7. Askorbinska kiselina

Sadržaj askorbinske kiseline (AA) u plodu je nakon tretmana (65,46 mg/100g sv.t.) bio 4% veći nego na početku pokusa (62,93 mg/100g sv.t.; *Tablica 12*). Na sadržaj AA u plodovima značajan utjecaj je imao termin analize ($P \leq 0,0016$), tretman biostimulatorima ($P \leq 0,0053$) te interakcije termina analize i gnojidbe ($A \times B$; $P \leq 0,0066$), termina analize i tretmana biostimulatorima ($A \times C$; $P \leq 0,0062$) te gnojidbe i tretmana biostimulatorima ($B \times C$; $P \leq 0,0043$). Plodovi jagoda s biljaka tretiranih kombinacijom biostimulatora su imali najmanji sadržaj AA (61,88 mg/100g sv.t.), dok se sadržaji AA kod ostalih tretmana nisu značajno razlikovali ni međusobno niti od kontrole (kontrola – 65,08 mg/100g sv.t.; Megafol – 65,63 mg/100g sv.t. i Viva - 64,18 mg/100g sv.t.). Podaci dobiveni nakon završetka tretmana su pokazali značajan utjecaj biostimulatora na sadržaj AA ($P \leq 0,0144$; *Tablica 13*). Najveći sadržaj AA bio je u plodovima biljaka tretiranih Megafolom (68,87 mg/100g sv.t.) i u plodovima kontrolnih biljaka (66,38 mg/100g sv.t.).

5.1.6.8. Nitrati

Sadržaj nitrata u plodovima je nakon tretmana ($315,3 \text{ mg kg}^{-1}$) bio 13% manji nego na početku pokusa ($361,9 \text{ mg kg}^{-1}$; *Tablica 12*). Pri reduciranoj gnojidbi sadržaj nitrata u plodovima je bio značajno manji ($319,7 \text{ mg kg}^{-1}$) nego pri standardnoj gnojidbi ($357,5 \text{ mg kg}^{-1}$). Podaci dobiveni nakon tretmana nisu pokazali značajan utjecaj gnojidbe, biostimulatora i njihove interakcije na sadržaj nitrata (*Tablica 13*).

Tablica 12. Kvalitativna svojstva plodova jagoda (reducirajući šećeri (RŠ), kiselost (UK), pH, ukupni fenoli (PHE), ukupni antocijanini (AC), ukupna antioksidativna aktivnost (UAA), askorbinska kiselina (AA) i nitrati) pod utjecajem termina analize (A), razine gnojidbe (B) i tretmana biostimulatorima (C) u jesenskom pokusu. (ANOVA, F test; prosjeci označeni istim slovom (^{A,B,C}) se ne razlikuju prema LSD testu; $P=0,05$).

	RŠ % prir.inverta	UK % limunske kisleline	pH	PHE mg g ⁻¹ sv.t.	AC mg kg ⁻¹ sv.t.	UAA %	AA mg/100g sv.t.	nitrati mg kg ⁻¹
Termin analize (A)								
Prije tretmana (A1)	5,559 ^A	0,827 ^B	3,610 ^A	0,688 ^A	325,6 ^A	23,11 ^B	62,93 ^B	361,9 ^A
Poslije tretmana (A2)	4,408 ^B	0,994 ^A	3,404 ^B	0,671 ^A	172,0 ^B	32,90 ^A	65,46 ^A	315,3 ^B
F test	94,35	148,8	244,2	0,82	643,37	204,80	19,96	8,88
<i>P</i>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,3885	<0,0001	<0,0001	0,0016	0,0155
Varijanta gnojidbe (B)								
100% (B1)	5,044 ^A	0,912 ^A	3,523 ^A	0,654 ^B	254,9 ^A	27,39 ^A	63,90 ^A	357,5 ^A
50% (B2)	4,924 ^A	0,909 ^A	3,491 ^B	0,705 ^A	242,7 ^A	28,62 ^A	64,49 ^A	319,7 ^B
F test	1,04	0,05	6,16	7,35	4,07	3,25	1,07	5,85
<i>P</i>	0,3350	0,8260	0,0349	0,0240	0,0745	0,1050	0,3283	0,0387
Tretman biostimulatorima (C)								
Kontrola (C1)	5,110 ^A	0,943 ^A	3,495 ^B	0,678 ^B	241,3 ^A	29,09 ^A	65,08 ^A	340,0 ^A
Viva (C2)	4,973 ^A	0,916 ^A	3,486 ^B	0,748 ^A	252,1 ^A	30,12 ^A	64,18 ^A	343,1 ^A
Megafol (C3)	5,088 ^A	0,862 ^B	3,553 ^A	0,648 ^B	259,3 ^A	26,23 ^B	65,63 ^A	332,5 ^A
Viva+Megafol (C4)	4,765 ^A	0,921 ^A	3,495 ^B	0,644 ^B	242,5 ^A	26,58 ^B	61,88 ^B	338,8 ^A
F test	1,78	6,37	5,37	6,55	1,98	7,72	8,56	0,08
<i>P</i>	0,2212	0,0132	0,0215	0,0122	0,1869	0,0074	0,0053	0,9685
Interakcije								
(AxB) F test	0,05	0,18	1,45	12,93	6,89	4,40	12,36	2,37
<i>P</i>	0,8347	0,6841	0,2587	0,0058	0,0276	0,0655	0,0066	0,1581
(AxC) F test	2,82	1,72	0,49	0,14	2,57	1,31	8,16	0,80
<i>P</i>	0,0993	0,2312	0,6973	0,9312	0,1188	0,3302	0,0062	0,5260
(BxC) F test	0,09	1,26	2,99	27,83	2,72	6,33	9,14	0,15
<i>P</i>	0,9626	0,3443	0,0885	<0,0001	0,1068	0,0134	0,0043	0,9287
(AxBxC) F test	3,75	0,70	0,90	42,23	6,23	9,07	0,56	1,11
<i>P</i>	0,0536	0,5733	0,4773	<0,0001	0,0141	0,0044	0,6520	0,3955

Tablica 13. Kvalitativna svojstva plodova jagoda (reducirajući šećeri (RŠ), kiselost (UK), pH, ukupni fenoli (PHE), ukupni antocijanini (AC), ukupna antioksidativna aktivnost (UAA), askorbinska kiselina (AA) i nitrati) pod utjecajem razine gnojidbe (A) i tretmana biostimulatorima (B) nakon završetka jesenskog pokusa. (ANOVA, F test; prosjeci označeni istim slovom (^{A,B,C}) se ne razlikuju prema LSD testu; $P=0,05$).

	RŠ % prir. inverta	UK % limunske kiseline	pH	PHE mg g ⁻¹ sv.t.	AC mg kg ⁻¹ sv.t.	UAA %	AA mg/100g sv.t.	nitrati mgkg ⁻¹ sv.t.
Varijanta gnojidbe (A)								
100% (A1)	4,481 ^A	0,998 ^A	3,428 ^A	0,611 ^B	186,1 ^A	31,57 ^B	66,16 ^A	346,3 ^A
50% (A2)	4,335 ^A	0,990 ^A	3,379 ^A	0,730 ^A	158,0 ^B	34,23 ^A	64,76 ^A	284,4 ^A
F test	0,59	0,09	2,87	7,61	6,06	5,13	1,66	3,27
<i>P</i>	0,4607	0,7659	0,1245	0,0222	0,0361	0,0497	0,2298	0,1040
Tretman biostimulatorima (B)								
Kontrola (B1)	4,767 ^A	1,006 ^A	3,404 ^A	0,674 ^A	171,1 ^A	32,89 ^{A,B}	66,38 ^{A,B}	297,5 ^A
Viva (B2)	4,410 ^{A,B}	0,991 ^A	3,378 ^A	0,732 ^A	185,3 ^A	35,77 ^A	63,47 ^B	333,8 ^A
Megafol (B3)	4,521 ^{A,B}	0,955 ^A	3,451 ^A	0,635 ^A	175,9 ^A	31,31 ^B	68,87 ^A	313,8 ^A
Viva+Megafol(B4)	3,935 ^B	1,024 ^A	3,383 ^A	0,642 ^A	155,8 ^A	31,62 ^B	63,11 ^B	316,3 ^A
F test	3,38	1,03	1,37	1,05	1,16	2,99	6,18	0,19
<i>P</i>	0,0677	0,4240	0,3138	0,4178	0,3778	0,0884	0,0144	0,9019
Interakcija (AxB)								
F test	1,71	0,86	1,30	26,38	4,34	8,84	3,75	0,29
<i>P</i>	0,2348	0,4962	0,3326	<0,0001	0,0377	0,0048	0,0535	0,8302

5.1.6.9. Korelacijske povezanosti između ispitivanih pokazatelja kvalitete ploda, koncentracije K i N u listu te priroda pod utjecajem biostimulatora i reducirane gnojidbe

Korelacijske analize podataka dobivenih prije tretmana ukazale su na negativne veze između UK i pH, te UK i sadržaja AC (Tablica 14). Prije tretmana, UAA je bila u pozitivnoj vezi sa sadržajem PHE i vrlo značajnoj negativnoj vezi sa sadržajem AC. Pozitivna veza UAA i sadržaja PHE bila je i prisutna i nakon tretmana. Nakon tretmana je UAA bila u negativnoj vezi s koncentracijom K u listu. Također, poslije tretmana utvrđena je značajna pozitivna veza između sadržaja nitrata u plodu i priroda. Ukoliko se uzmu u obzir podaci oba termina uzorkovanja, mogu se uočiti pozitivne korelacijske veze između sadržaja RŠ i pH, te sadržaja RŠ i AC, nitrata i koncentracija K i N u listu te negativne

korelacijske veze između sadržaja RŠ i UK te UAA u plodu. UK pokazuje vrlo značajne negativne korelacije s pH i sadržajem AC u plodu te s koncentracijama K i N u listu. Vrlo značajna pozitivna korelacija bila je prisutna između UK i UAA u plodu. Vrijednosti pH ploda su pokazale nekoliko vrlo značajnih pozitivnih korelacija i to sa sadržajem AC, nitrata, koncentracijom K i N u listu te također vrlo značajnu negativnu korelaciju s UAA u plodu. UAA je također negativno korelirala sa sadržajem AC i nitrata u plodu te s koncentracijama K i N u listu. Pozitivne korelacije utvrđene su između koncentracije K i N u listu i sadržaja nitrata i AC u plodu. Također, utvrđena je vrlo značajna pozitivna korelacija između sadržaja AC i nitrata u plodu.

Tablica 14. Koeficijenti linearnih korelacija između ispitivanih pokazatelja kvalitete ploda, koncentracije K i N u listu (K₁ i N₁) te priroda u jesenskom pokusu (*P≤0,05; ** P≤0,01).

Analiza prije tretmana		Analiza poslije tretmana		Oba termina analize	
x:y	r	x:y	r	x:y	R
UK:pH	-0,851**	PHE:UAA	0,768*	RŠ:UK	-0,891**
UK:AC	-0,734*	NO ₃ :prirod	0,795*	RŠ:pH	0,898**
PHE:UAA	0,717*	K ₁ :UAA	-0,757*	RŠ:AC	0,915**
AC:UAA	-0,879**			RŠ:NO ₃	0,612*
				RŠ:K ₁	0,804**
				RŠ:N ₁	0,877**
				RŠ:UAA	-0,749**
				UK:pH	-0,944**
				UK:AC	-0,930**
				UK:K ₁	-0,768**
				UK:N ₁	-0,905**
				UK:UAA	0,828**
				pH:AC	0,954**
				pH:NO ₃	0,637**
				pH: K ₁	0,853**
				pH:N ₁	0,944**
				pH:UAA	-0,869**
				AC:NO ₃	0,665**
				AC:K ₁	0,899**
				AC:N ₁	0,956**
				AC:UAA	-0,901**
				NO ₃ :K ₁	0,590*
				NO ₃ :N ₁	0,617*
				NO ₃ :UAA	-0,511*
				K ₁ :UAA	-0,903**
				N ₁ :UAA	-0,876**

Prema vrlo značajnoj multiploj regresiji (F test=17,592**; R²=0,9635**) UAA je u cjelini vrlo značajno ovisila od ispitivanih pokazatelja kvalitete ploda (AC, pH, RŠ i UK) i koncentraciji K i N u listu jagode.

5.1.6.10. Korelacijske povezanosti između neenzimatskih pokazatelja antioksidativnog statusa lista i ispitivanih pokazatelja kvalitete ploda pod utjecajem biostimulatora i reducirane gnojidbe

Prije tretmana koncentracija AA u listu je bila u značajnoj negativnoj korelaciji sa sadržajem PHE u listu (*Tablica 15*). UAA je bila u značajnoj pozitivnoj vezi sa sadržajem PHE u plodu i u vrlo značajnoj negativnoj korelaciji sa sadržajem AC u plodu. Također, vrlo značajna pozitivna korelacija je dobivena između sadržaja PHE u plodu i UAA poslije tretmana, dok je koncentracija AA u listu bila u značajnoj negativnoj korelaciji sa sadržajem AC u plodu. Korelacijske analize podataka prije i poslije tretmana pokazuju vrlo značajnu pozitivnu korelaciju između koncentracije AA i sadržaja PHE u listu te koncentracije AA u listu i UAA u plodu. Vrlo značajna negativna korelacija je utvrđena između koncentracije AA u listu i koncentracije PRO u listu te koncentracije AA u listu i sadržaja AC u plodu. Sadržaj PHE u listu je bio u vrlo značajnoj vezi negativnog smjera s koncentracijom PRO u listu i sadržajem AC u plodu te u vrlo značajnoj pozitivnoj vezi s UAA u plodu. UAA u plodu je bila u vrlo značajnoj negativnoj korelaciji s koncentracijom PRO u listu i sadržajem AC u plodu. Vrlo značajna pozitivna korelacija također je bila prisutna između koncentracije PRO u listu i sadržaja AC u plodu.

Tablica 15. Koeficijenti linearnih korelacija između neenzimatskih pokazatelja antioksidativnog statusa lista (l) i ispitivanih pokazatelja kvalitete ploda (p) u jesenskom pokusu (* $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$).

Analiza prije tretmana		Analiza poslije tretmana		Oba termina analize	
x:y	r	x:y	r	x:y	R
AA _l :PHE _l	-0,781*	AA _l :AC _p	-0,758*	AA _l :PHE _l	0,898**
PHE _p :UAA	0,717*	PHE _p :UAA	0,768*	AA _l :PRO	-0,889**
AC _p :UAA	-0,879**			AA _l :AC _p	-0,970**
				AA _l :UAA	0,851**
				PHE _l :PRO	-0,833**
				PHE _l :AC _p	-0,904**
				PHE _l :UAA	0,761**
				PRO:AC _p	0,883**
				PRO:UAA	-0,782**
				AC _p :UAA	-0,901**

Dobivena je vrlo značajna multipla regresija ($F=10,7074^{**}$; $R^2=0,8771^{**}$) prema kojoj je UAA ovisila o koncentraciji AA, PHE, PRO u listu i sadržaja AC u plodu.

5.2. PROLJETNI POKUS

5.2.1. Analize fizikalno-kemijskih svojstava supstrata

Varijanta gnojidbe, tretman biostimulatorima i njihova interakcija nisu značajno utjecali na pH vrijednost supstrata (*Tablica 16*).

Na električnu provodljivost supstrata (EC) jedini značajan utjecaj je imala gnojidba ($P \leq 0,0007$; *Tablica 16*). EC supstrata je pri reduciranoj gnojidbi ($0,188 \text{ dS m}^{-1}$) bio značajno manji nego pri standardnoj gnojidbi ($0,239 \text{ dS m}^{-1}$; *Tablica 16*).

Na sadržaj nitrata u supstratu, kao i na koncentraciju K, značajan utjecaj nisu imali ni varijanta gnojidbe, ni tretman biostimulatorima niti njihova interakcija (*Tablica 16*).

Značajan učinak na koncentraciju P je imao tretman biostimulatorima ($P \leq 0,0114$) pri čemu je najniža koncentracija P u supstratu bila pri tretmanu kombinacijom biostimulatora ($0,258\%$; *Tablica 16*).

Na koncentraciju Ca u supstratu značajno su utjecali varijanta gnojidbe ($P \leq 0,0002$), biostimulatori ($P \leq 0,0003$) i njihova interakcija ($P \leq 0,0015$) (*Tablica 16*). Koncentracija Ca je kod reducirane gnojidbe ($0,161\%$) bila 30% veća nego kod standardne gnojidbe ($0,229\%$). Najmanja koncentracija Ca u supstratu utvrđena je pri tretmanu Megafolom ($0,127\%$), a najveća pri tretmanu kombinacijom biostimulatora ($0,228\%$) te kod kontrolnih biljaka ($0,237\%$).

Interakcija varijante gnojidbe i tretmana biostimulatorima ($A \times B$; $P \leq 0,0231$) te sama gnojidba ($P \leq 0,0490$), značajno su utjecali na koncentraciju Mg u supstratu (*Tablica 16*). Koncentracija Mg je bila značajno veća u supstratu pri reduciranoj gnojidbi ($0,248\%$), nego pri standardnoj gnojidbi ($0,230\%$).

Varijanta gnojidbe, tretman biostimulatorima i njihova interakcija nisu značajno utjecali na sadržaj Fe u supstratu (*Tablica 16*).

Sadržaj Mn u supstratu je pri reduciranoj gnojidbi bio značajno veći ($344,0 \text{ mg kg}^{-1}$), nego pri standardnoj gnojidbi ($320,9 \text{ mg kg}^{-1}$). Značajan učinak na sadržaj Cu je imao tretman biostimulatorima ($P \leq 0,0412$) pri čemu je najveći sadržaj Cu u supstratu utvrđen pri tretmanu s Megafolom. Na oba je navedena mikroelementa značajan učinak imala interakcija varijante gnojidbe i tretmana biostimulatorima ($A \times B$; Mn - $P \leq 0,0043$; Cu - $P \leq 0,0051$). Tretman biostimulatorima je značajno djelovao i na sadržaj Zn u supstratu ($P \leq 0,0330$). Najveći sadržaj Zn u supstratu je utvrđen kod kontrole ($54,00 \text{ mg kg}^{-1}$), dok se varijante tretmana biostimulatorima statistički nisu međusobno razlikovale.

Tablica 16. pH, električni konduktivitet (EC), sadržaj nitrata te koncentracije makroelemenata (N, P, K, Ca, Mg) i sadržaj mikroelemenata (Fe, Mn, Cu, Zn) u supstratu pod utjecajem varijante gnojidbe (A) i tretmana biostimulatorima (B) nakon završetka proljetnog pokusa. (ANOVA, F test; prosjeci označeni istim slovom (^{A,B,C}) se ne razlikuju prema LSD testu; $P=0,05$).

	pH	EC dS m ⁻¹	nitrati mg kg ⁻¹	P	K %	Ca	Mg	Fe	Mn mg kg ⁻¹	Cu	Zn
Varijanta gnojidbe (A)											
100% (A1)	8,040 ^A	0,239 ^A	18,70 ^A	0,289 ^A	0,321 ^A	0,229 ^A	0,230 ^B	26834 ^A	320,9 ^B	24,81 ^A	43,90 ^A
50% (A2)	8,106 ^A	0,188 ^B	15,94 ^A	0,280 ^A	0,290 ^A	0,161 ^B	0,248 ^A	26267 ^A	344,0 ^A	27,13 ^A	46,83 ^A
F test	3,45	25,51	4,76	1,57	4,27	35,89	5,17	0,18	6,02	2,88	1,08
P	0,0962	0,0007	0,0569	0,2419	0,0687	0,0002	0,0490	0,6852	0,0365	0,1238	0,3262
Tretman biostimulatorima (B)											
Kontrola (B1)	8,093 ^A	0,229 ^A	18,13 ^A	0,295 ^A	0,312 ^A	0,237 ^A	0,230 ^A	25880 ^A	316,7 ^B	23,95 ^B	54,00 ^A
Viva (B2)	8,048 ^A	0,213 ^{A,B}	16,88 ^A	0,295 ^A	0,315 ^A	0,188 ^B	0,237 ^{A,B}	25563 ^A	333,3 ^{A,B}	26,60 ^{A,B}	40,58 ^B
Megafol (B3)	8,081 ^A	0,218 ^{A,B}	15,63 ^A	0,290 ^A	0,312 ^A	0,127 ^C	0,261 ^B	27588 ^A	347,2 ^A	29,65 ^A	42,05 ^B
Viva+Megafol (B4)	8,070 ^A	0,193 ^B	18,75 ^A	0,258 ^B	0,282 ^A	0,228 ^A	0,227 ^B	27171 ^A	332,7 ^{A,B}	23,68 ^B	44,83 ^B
F test	0,30	2,30	1,16	6,69	1,13	19,09	3,61	0,52	1,76	4,18	4,57
P	0,8277	0,1463	0,3784	0,0114	0,3867	0,0003	0,0585	0,6760	0,2246	0,0412	0,0330
Interakcija (AxB)											
F test	1,71	2,35	0,22	2,42	0,07	12,52	5,23	2,39	9,14	8,64	0,34
P	0,2343	0,1408	0,8831	0,1329	0,9746	0,0015	0,0231	0,1365	0,0043	0,0051	0,7966

5.2.1.1. Korelacijske povezanosti između fizikalno-kemijskih svojstava supstrata pod utjecajem biostimulatora i reducirane gnojidbe

Nakon završenog tretmana, između fizikalno-kemijskih svojstava supstrata je utvrđeno nekoliko značajnih korelacija. Koncentracija K je bila pozitivno korelirana s EC vrijednosti supstrata ($r=0,804^*$). Koncentracije Ca i Mg u supstratu su bile međusobno negativno korelirane ($r=-0,841^{**}$). Također, koncentracija Ca je bila negativno korelirana i sa sadržajem Mn ($r=-0,823^*$) te sadržajem Cu ($r=-0,813^*$). Pozitivna korelacija je postojala između sadržaja Cu i Fe ($r=0,752^*$) te sadržaja Cu i Mn ($r=0,823^*$).

5.2.2. Analize vegetativnih pokazatelja razvoja biljaka i priroda

Najveći prirod su imale biljke tretirane kombinacijom biostimulatora (51,68 g/biljci) te se on značajno razlikovao samo od priroda kontrolnih biljaka (43,16 g/biljci), ali ne i od pojedinačnih tretmana Vivom (45,28 g/biljci) i Megafolom (50,99 g/biljci; *Tablica 17*). Nijedan od promatranih parametara nije imao značajan utjecaj na masu nadzemnog dijela biljke, dok je na masu svježe tvari najrazvijenije troliske značajan utjecaj imao tretman biostimulatorima ($P \leq 0,0047$) i kombinacija gnojidbe i biostimulatora ($P \leq 0,0123$). Najveća masa svježe tvari najrazvijenije troliske bila je kod biljaka tretiranih Megafolom (2,713 g/biljci). Gnojidba i biostimulatori nisu imali značajan utjecaj na masa suhe tvari najrazvijenije troliske.

Tablica 17. Vegetativni pokazatelja razvoja (masa nadzemnog dijela biljke (NM), masa svježe tvari najrazvijenije troliske (SVMT) i masa suhe tvari najrazvijenije troliske (SMT)) i prirod jagoda pod utjecajem varijante gnojidbe (A) i tretmana biostimulatorima (B) nakon završetka proljetnog pokusa. (ANOVA, F test; prosjeci označeni istim slovom (^{A,B,C}) se ne razlikuju prema LSD testu; $P=0,05$).

	PRIROD	NM	SVMT	SMT
	g/biljci			
Varijanta gnojidbe (A)				
100% (A1)	49,53 ^A	45,54 ^A	2,406 ^A	0,843 ^A
50% (A2)	46,03 ^A	48,93 ^A	2,450 ^A	0,868 ^A
F test	2,03	4,02	0,31	0,43
P	0,1879	0,0758	0,5916	0,5276
Tretman biostimulatorima (B)				
Kontrola (B1)	43,16 ^B	46,53 ^A	2,338 ^{B,C}	0,806 ^{A,B}
Viva (B2)	45,28 ^{A,B}	46,58 ^A	2,500 ^{A,B}	0,904 ^{A,B}
Megafol (B3)	50,99 ^{A,B}	49,60 ^A	2,713 ^A	0,926 ^A
Viva+Megafol (B4)	51,68 ^A	46,24 ^A	2,163 ^C	0,784 ^B
F test	2,93	0,88	8,88	3,43
P	0,0920	0,4858	0,0047	0,0656
Interakcija (AxB)				
F test	1,01	3,20	6,52	1,48
P	0,4329	0,0766	0,0123	0,2858

5.2.2.1. Korelacijske povezanosti između vegetativnih pokazatelja razvoja i priroda biljaka pod utjecajem biostimulatora i reducirane gnojidbe

Jedina značajna korelacija važna za vegetativne pokazatelje razvoja i prirod jagoda bila je pozitivna veza između svježe i suhe mase tvari najrazvijenije troliske ($r=0,944^{**}$).

5.2.3. Analize antioksidativnog statusa lista

5.2.3.1. Koncentracija prolina

Varijanta gnojidbe i tretman biostimulatorima nisu imali značajan utjecaj na koncentraciju prolina (PRO) u listu (Tablica 18). Jedini značajan utjecaj na koncentraciju PRO je imala interakcija termina analize i tretmana biostimulatorima (AxC, $P\leq 0,036$). Podaci dobiveni nakon tretmana nisu pokazali značajan utjecaj gnojidbe, tretmana biostimulatorima i njihove interakcije na koncentraciju PRO (Tablica 19).

5.2.3.2. Koncentracija askorbinske kiseline

Koncentracija askorbinske kiseline (AA) u listovima je nakon tretmana ($331,5 \text{ nmol g}^{-1}$ sv.t.) bila 10% veća nego na početku pokusa ($299,3 \text{ nmol g}^{-1}$ sv.t.; *Tablica 18*). Na koncentraciju AA značajan utjecaj nisu imali ni gnojidba ni tretman biostimulatorima niti njihove interakcije, kako ukupno gledajući podatke dobivene prije i poslije tretmana, tako i uzimajući u obzir samo podatke nakon tretmana (*Tablice 18 i 19*).

5.2.3.3. Koncentracija vodikovog peroksida

Nakon tretmana, koncentracija vodikovog peroksida (HP) u listovima ($5,955 \text{ nmol g}^{-1}$ sv.t.) je bila 35% veća nego na početku pokusa ($3,851 \text{ nmol g}^{-1}$ sv.t.; *Tablica 18*). Pri reduciranoj gnojidbi koncentracija HP u listovima je bila manja ($4,608 \text{ nmol g}^{-1}$ sv.t.), nego pri standardnoj gnojidbi ($5,198 \text{ nmol g}^{-1}$ sv.t.). Između kontrolnih biljaka ($5,108 \text{ nmol g}^{-1}$ sv.t.) i biljaka tretiranih Vivom ($5,105 \text{ nmol g}^{-1}$ sv.t.) nije bilo značajne razlike u koncentraciji HP, dok je tretman Megafolom ($4,596 \text{ nmol g}^{-1}$ sv.t.) značajno smanjio koncentraciju HP u listovima. Rezultati dobiveni nakon tretmana pokazali su značajan utjecaj gnojidbe ($P \leq 0,0044$) na koncentraciju HP te je ona bila manja pri reduciranoj gnojidbi ($5,358 \text{ nmol g}^{-1}$ sv.t.) nego pri standardnoj gnojidbi ($6,553 \text{ nmol g}^{-1}$ sv.t.; *Tablica 19*).

5.2.3.4. Intenzitet lipidne peroksidacije

Intenzitet lipidne peroksidacije (TBARS) u listovima je nakon tretmana ($11,709 \text{ nmol g}^{-1}$ sv.t.) bio 38% veći nego na početku pokusa ($7,224 \text{ nmol g}^{-1}$ sv.t.; *Tablica 18*). Varijanta gnojidbe i tretman biostimulatorima nisu značajno utjecali na TBARS u listu ni ako se uzimaju u obzir oba termina uzorkovanja (*Tablica 18*), niti ako se uzimaju u obzir samo rezultati dobiveni nakon tretmana (*Tablica 19*).

5.2.3.5. Sadržaj ukupnih fenola

Biljke su nakon tretmana ($4,939 \text{ mg g}^{-1}$ sv.t.) imale 34% veći sadržaj ukupnih fenola (PHE) u listu nego na početku pokusa ($3,246 \text{ mg g}^{-1}$ sv.t.; *Tablica 18*). Na sadržaj PHE u listu značajan utjecaj nisu imali ni gnojidba niti tretman biostimulatorima, ni kada se uzmu u obzir oba termina uzorkovanja, ni kada se uzmu u obzir samo podaci dobiveni nakon tretmana (*Tablica 18 i 19*).

Tablica 18. Koncentracije askorbinske kiseline (AA), prolina (PRO), vodikovog peroksida (HP), sadržaj ukupnih fenola (PHE) i intenzitet lipidne peroksidacije (TBARS) u listu jagoda pod utjecajem termina analize (A), razine gnojidbe (B) i tretmana biostimulatorima (C) u proljetnom pokusu. (ANOVA, F test; prosjeci označeni istim slovom (^{A,B,C}) se ne razlikuju prema LSD testu; $P=0,05$).

	PRO $\mu\text{mol g}^{-1}$ sv.t.	AA	HP nmol g^{-1} sv.t.	TBARS	PHE mg g^{-1} sv.t.
Termin analize (A)					
Prije tretmana (A1)	0,321 ^A	299,3 ^B	3,851 ^B	7,224 ^B	3,246 ^B
Poslije tretmana (A2)	0,328 ^A	331,5 ^A	5,955 ^A	11,71 ^A	4,939 ^A
F test	0,09	8,07	223,49	108,60	178,86
P	0,7680	0,0194	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Varijanta gnojidbe (B)					
100% (B1)	0,302 ^A	309,1 ^A	5,198 ^A	9,756 ^A	4,160 ^A
50% (B2)	0,347 ^A	321,6 ^A	4,608 ^B	9,177 ^A	4,026 ^A
F test	4,53	1,22	17,58	1,81	1,12
P	0,0622	0,2978	0,0023	0,2115	0,3179
Tretman biostimulatorima (C)					
Kontrola (C1)	0,333 ^A	308,7 ^A	5,108 ^A	9,798 ^A	4,114 ^A
Viva (C2)	0,327 ^A	311,0 ^A	5,105 ^A	9,564 ^A	4,247 ^A
Megafol (C3)	0,297 ^A	331,7 ^A	4,596 ^B	9,194 ^A	4,089 ^A
Viva+Megafol (C4)	0,342 ^A	310,2 ^A	4,805 ^{A,B}	9,311 ^A	3,921 ^A
F test	0,86	0,93	3,14	0,39	1,11
P	0,4979	0,4636	0,0799	0,762	0,3936
Interakcije					
(AxB) F test	0,37	0,99	18,47	3,06	1,19
P	0,5581	0,3465	0,0020	0,1143	0,3037
(AxC) F test	4,41	0,92	4,62	0,07	2,31
P	0,0360	0,4699	0,0321	0,9750	0,1445
(BxC) F test	0,35	2,38	1,83	0,28	2,36
P	0,7931	0,1373	0,2119	0,8412	0,1400
(AxBxC) F test	2,28	1,37	5,01	0,40	0,80
P	0,1481	0,3127	0,0259	0,7547	0,5239

Tablica 19. Koncentracije askorbinske kiseline (AA), prolina (PRO), vodikovog peroksida (HP), sadržaj ukupnih fenola (PHE) i intenzitet lipidne peroksidacije (TBARS) u listu jagoda pod utjecajem varijante gnojidbe (A) i tretmana biostimulatorima (B) nakon završetka proljetnog pokusa. (ANOVA, F test; prosjeci označeni istim slovom (^{A,B,C}) se ne razlikuju prema LSD testu; $P=0,05$).

	PRO $\mu\text{mol g}^{-1}$ sv.t.	AA	HP nmol g^{-1} sv.t.	TBARS	PHE mg g^{-1} sv.t.
Varijanta gnojidbe (A)					
100% (A1)	0,299 ^A	319,6 ^A	6,553 ^A	12,38 ^A	5,076 ^A
50% (A2)	0,357 ^A	343,3 ^A	5,358 ^B	11,04 ^A	4,803 ^A
F test	3,43	1,92	14,26	5,11	1,18
<i>P</i>	0,0971	0,1992	0,0044	0,0502	0,3049
Tretman biostimulatorima (B)					
Kontrola (B1)	0,351 ^{A,B}	316,9 ^A	6,543 ^A	12,08 ^A	5,058 ^A
Viva (B2)	0,294 ^B	332,5 ^A	6,254 ^{AB}	11,91 ^A	5,314 ^A
Megafol (B3)	0,264 ^B	360,4 ^A	5,436 ^B	11,28 ^A	4,744 ^A
Viva+Megafol (B4)	0,403 ^A	316,1 ^A	5,587 ^{A,B}	11,57 ^A	4,641 ^A
F test	3,78	1,46	2,80	0,37	1,50
<i>P</i>	0,0526	0,2895	0,1011	0,7742	0,2789
Interakcija (AxB)					
F test	1,51	3,20	2,36	0,68	1,22
<i>P</i>	0,2773	0,0763	0,1391	0,5886	0,3564

5.2.3.6. Aktivnost gvajakol peroksidaze

Nakon tretmana, ukupna aktivnost gvajakol peroksidaze (GPXu) u listovima ($1,084 \Delta\text{A min}^{-1} \text{g}^{-1}$ sv.t) je bila 34% veća nego na početku pokusa ($0,720 \Delta\text{A min}^{-1} \text{g}^{-1}$ sv.t; *Tablica 20*). Također, GPXu je bila značajno veća pri reduciranoj gnojidbi ($0,962 \Delta\text{A min}^{-1} \text{g}^{-1}$ sv.t) nego pri standardnoj gnojidbi ($0,842 \Delta\text{A min}^{-1} \text{g}^{-1}$ sv.t; $P \leq 0,0005$). Tretman kombinacijom biostimulatora ($1,020 \Delta\text{A min}^{-1} \text{g}^{-1}$ sv.t) je značajno povećao GPXu i u odnosu na kontrolu ($0,850 \Delta\text{A min}^{-1} \text{g}^{-1}$ sv.t) i u odnosu na pojedinačne tretmane biostimulatorima (Viva – $0,862 \Delta\text{A min}^{-1} \text{g}^{-1}$ sv.t; Megafol – $0,878 \Delta\text{A min}^{-1} \text{g}^{-1}$ sv.t.). Na GPXu značajno su utjecale interakcije termina analize i varijante gnojidbe (AxB, $P \leq 0,0002$), termina analize i tretmana biostimulatorima (AxC, $P \leq 0,0012$), varijante gnojidbe i tretmana biostimulatorima (BxC, $P \leq 0,0342$) te interakcija termina analize, varijante gnojidbe i tretmana biostimulatorima

(AxBxC, $P \leq 0,0354$). Rezultati dobiveni nakon tretmana pokazuju značajan utjecaj gnojidbe ($P \leq 0,0016$) i tretmana biostimulatorima na GPXu ($P \leq 0,0066$; *Tablica 21*).

Specifična aktivnost gvajakol peroksidaze (GPXs) je nakon tretmana ($1,473 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ prot.) bila 25% veća nego na početku pokusa ($1,098 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ prot.; *Tablica 20*). Reducirana gnojidba je značajno povećala GPXs ($1,372 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ prot.) u odnosu na standardnu gnojidbu ($1,199 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ prot.; *Tablica 20*). Interakcija termina analize i varijante gnojidbe (AxB, $P \leq 0,0111$) je imala značajan utjecaj na GPXs. Uzimajući u obzir samo rezultate dobivene nakon tretmana, može se uočiti da je značajan utjecaj na GPXs imala varijanta gnojidbe ($P \leq 0,0018$) i interakcija gnojidbe i tretmana biostimulatorima (AxB, $P \leq 0,0308$; *Tablica 21*). GPXs je pri reduciranoj gnojidbi bila značajno veća ($1,647 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ prot.) nego pri standardnoj gnojidbi ($1,300 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ prot.).

5.2.3.7. Aktivnost katalaze

Ukupna aktivnost katalaze (CATu) u listu je nakon tretmana ($3,220 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1}$ sv.t.) bila 17% veća nego na početku pokusa ($2,662 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1}$ sv.t., *Tablica 20*). Pri reduciranoj gnojidbi CATu je bila značajno veća nego pri standardnoj gnojidbi i ukupno gledajući podatke prije i poslije tretmana ($P \leq 0,0122$) i gledajući samo podatke nakon tretmana ($P \leq 0,0057$).

Varijanta gnojidbe je također imala značajan utjecaj na specifičnu aktivnost katalaze (CATs) i ukupno ($P < 0,0121$; *Tablica 20*) i uzimajući u obzir podatke dobivene samo nakon tretmana ($P \leq 0,0002$; *Tablica 21*). U oba slučaja CATs je bila veća pri reduciranoj gnojidbi. Utjecaj interakcije termina analize i varijante gnojidbe je bio značajan uzimajući podatke prije i poslije tretmana (AxB, $P \leq 0,0359$; *Tablica 20*), dok je interakcija varijante gnojidbe i tretmana biostimulatorima bila značajna uzimajući u obzir samo podatke nakon tretmana (AxB; $P \leq 0,0062$; *Tablica 21*). Kombinacija biostimulatora ($5,663 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ prot.) je nakon tretmana značajno povećala CATs, kako u odnosu na kontrolu ($4,161 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ prot.) tako i u odnosu na pojedinačne tretmane biostimulatorima (Viva - $4,451 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ prot. ; Megafol - $4,535 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ prot.).

5.2.3.8. Aktivnost askorbat peroksidaze

Ukupna aktivnost askorbat peroksidaze (APXu) u listu je nakon tretmana ($0,200 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1}$ sv.t.) bila 20% veća nego na početku pokusa ($0,160 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1}$ sv.t.; *Tablica 20*). Interakcija varijante gnojidbe i tretmana biostimulatorima imala je značajan utjecaj na APXu,

uzimajući u obzir rezultate prije i poslije tretmana (BxC, $P \leq 0,0143$) i uzimajući u obzir samo rezultate nakon tretmana (AxB, $P \leq 0,0405$). Tretman biostimulatorima je imao značajan utjecaj na APXu i ukupno ($P \leq 0,0154$) i uzimajući samo podatke dobivene nakon tretmana ($P \leq 0,0256$). Tretman Megafolom je kod biljaka inducirao najveću APXu (*Tablice 20 i 21*).

Specifična aktivnost askorbat peroksidaze (APXs) u listovima je nakon tretmana ($2,450 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ prot.}$) bila 46% veća nego na početku pokusa ($1,325 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ prot.}$; *Tablica 20*). Značajan utjecaj na APXs imale su interakcije termina analize i varijante gnojidbe (AxB; $P \leq 0,0265$), termina analize i tretmana biostimulatorima (AxC; $P \leq 0,0029$) kao i sam tretman biostimulatorima ($P \leq 0,0040$). Najveća APXs bila je u listovima biljaka tretiranih Megafolom, uzimajući rezultate dobivene prije i poslije tretmana, ali i uzimajući samo rezultate nakon tretmana (*Tablice 20 i 21*).

5.2.3.9. Aktivnost glutation reduktaze

Ukupna aktivnost glutation reduktaze (GRu) je nakon tretmana ($2,727 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ sv.t.}$) bila 40% veća nego na početku pokusa ($1,626 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ sv.t.}$; *Tablica 20*). Varijanta gnojidbe nije imala značajan utjecaj na GRu u listu, no značajan utjecaj imali su tretman biostimulatorima ($P \leq 0,0140$) te interakcija termina analize i tretmana biostimulatorima (AxC; $P \leq 0,0170$). GRu kod pojedinačnih tretmana biljaka Megafolom ($2,442 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ sv.t.}$) i Vivom ($2,326 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ sv.t.}$) bila je značajno veća nego kod kontrole ($1,863 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ sv.t.}$) i tretmana kombinacijom biostimulatora ($2,076 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ sv.t.}$). Nakon tretmana, utjecaj biostimulatora na GRu je također bio značajan ($P \leq 0,0066$), pri čemu je najmanja GRu bila u listovima kontrolnih biljaka ($2,083 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ sv.t.}$), a najveća u listovima biljaka tretiranih Megafolom ($3,239 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ sv.t.}$).

Nakon tretmana, specifična aktivnost glutation reduktaze (GRs; $3,319 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ prot.}$) je bila 60% veća nego na početku pokusa ($1,335 \Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ prot.}$; *Tablica 20*). Tretman biostimulatorima je imao značajan utjecaj na GRs i ako se uzmu u obzir rezultati prije i poslije tretmana i prema rezultatima nakon tretmana (*Tablica 20 i 21*). U oba slučaja, najveću GRs su imali listovi biljaka tretiranih Megafolom, a najnižu listovi kontrolnih biljaka.

Tablica 20. Ukupne (u) i specifične (s) aktivnosti gvajakol peroksidaze (GPX), katalaze (CAT), askorbat peroksidaze (APX) i glutation reduktaze (GR) u listu jagoda pod utjecajem termina analize (A), razine gnojidbe (B) i tretmana biostimulatorima (C) u proljetnom pokusu. (ANOVA, F test; prosjeci označeni istim slovom (^{A,B,C}) se ne razlikuju prema LSD testu; $P=0,05$).

	GPXu	CATu	APXu	GRu	GPXs	CATs	APXs	GRs
	$\Delta A \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ sv.t.}$				$\Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ prot.}$			
Termin analize (A)								
Prije tretmana (A1)	0,720 ^B	2,662 ^B	0,160 ^B	1,626 ^B	1,098 ^B	5,093 ^A	1,325 ^B	1,335 ^B
Poslije tretmana (A2)	1,084 ^A	3,220 ^A	0,200 ^A	2,727 ^A	1,473 ^A	4,702 ^A	2,450 ^A	3,319 ^A
F test	260,33	34,46	30,15	112,85	47,36	2,25	88,81	190,36
P	<0,0001	0,0002	0,0004	<0,0001	<0,0001	0,1679	<0,0001	<0,0001
Varijanta gnojidbe (B)								
100% (B1)	0,842 ^B	2,792 ^B	0,176 ^A	2,116 ^A	1,199 ^B	4,489 ^B	1,796 ^A	2,203 ^A
50% (B2)	0,962 ^A	3,090 ^A	0,183 ^A	0,238 ^A	1,372 ^A	5,306 ^A	1,979 ^A	2,451 ^A
F test	28,34	9,76	0,88	1,39	10,11	9,81	2,35	2,98
P	0,0005	0,0122	0,3725	0,2679	0,0112	0,0121	0,1600	0,1186
Tretman biostimulatorima (C)								
Kontrola (C1)	0,850 ^B	2,940 ^A	0,169 ^B	1,863 ^C	1,209 ^A	4,706 ^A	1,569 ^B	1,721 ^C
Viva (C2)	0,862 ^B	2,932 ^A	0,181 ^B	2,326 ^{A,B}	1,292 ^A	4,811 ^A	1,856 ^B	2,388 ^B
Megafol (C3)	0,878 ^B	2,888 ^A	0,205 ^A	2,442 ^A	1,291 ^A	4,870 ^A	2,407 ^A	2,953 ^A
Viva+Megafol (C4)	1,020 ^A	3,000 ^A	0,165 ^B	2,076 ^{B,C}	1,350 ^A	5,203 ^A	1,719 ^B	2,246 ^B
F test	12,40	0,23	6,04	6,25	1,13	0,68	9,36	12,41
P	0,0015	0,8701	0,0154	0,0140	0,3889	0,5883	0,0040	0,0015
Interakcije								
(AxB) F test	34,36	4,39	4,34	0,91	10,15	6,07	7,02	4,02
P	0,0002	0,0656	0,0699	0,3645	0,0111	0,0359	0,0265	0,0759
(AxC) F test	13,10	2,60	2,96	5,84	2,00	2,94	10,23	15,73
P	0,0012	0,1166	0,0901	0,0170	0,1848	0,0916	0,0029	0,0006
(BxC) F test	4,50	5,29	6,19	2,80	2,91	2,22	3,51	1,38
P	0,0342	0,0229	0,0143	0,1012	0,0931	0,1547	0,0626	0,3091
(AxBxC) F test	4,45	3,21	1,93	2,60	2,58	1,64	0,98	0,48
P	0,0354	0,0761	0,1951	0,1162	0,1187	0,2477	0,4448	0,7014

Tablica 21. Ukupne (u) i specifične (s) aktivnosti gvajakol peroksidaze (GPX), katalaze (CAT), askorbat peroksidaze (APX) i glutation reduktaze (GR) u listu jagoda pod utjecajem varijante gnojidbe (A) i tretmana biostimulatorima (B) nakon završetka proljetnog pokusa. (ANOVA, F test; prosjeci označeni istim slovom (^{A,B,C}) se ne razlikuju prema LSD testu; P=0,05).

	GPXu	CATu	APXu	GRu	GPXs	CATs	APXs	GRs
	$\Delta A \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ sv.t.}$				$\Delta A \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ prot.}$			
Varijanta gnojidbe (A)								
100% (A1)	0,958 ^B	2,972 ^B	0,189 ^A	2,617 ^A	1,300 ^B	3,972 ^B	2,201 ^A	3,051 ^A
50% (A2)	1,211 ^A	3,468 ^A	0,211 ^A	2,838 ^A	1,647 ^A	5,432 ^A	2,700 ^A	3,588 ^A
F test	19,67	13,00	2,72	1,51	19,04	35,69	4,17	3,69
P	0,0016	0,0057	0,1333	0,2496	0,0018	0,0002	0,0715	0,0869
Tretman biostimulatorima (B)								
Kontrola (B1)	0,986 ^B	3,093 ^A	0,182 ^B	2,083 ^C	1,325 ^A	4,161 ^B	1,706 ^B	1,973 ^C
Viva (B2)	1,000 ^B	3,126 ^A	0,195 ^B	3,005 ^{A,B}	1,456 ^{A,B}	4,451 ^B	2,338 ^B	3,436 ^B
Megafol (B3)	1,028 ^B	3,166 ^A	0,244 ^A	3,239 ^A	1,465 ^{A,B}	4,535 ^B	3,469 ^A	4,597 ^A
Viva+Megafol (B4)	1,325 ^A	3,495 ^A	0,179 ^B	2,582 ^{B,C}	1,647 ^A	5,663 ^A	2,288 ^B	3,271 ^B
F test	8,00	1,82	5,03	7,99	2,76	7,30	9,10	14,79
P	0,0066	0,2133	0,0256	0,0066	0,1039	0,0088	0,0044	0,0008
Interakcija (AxB)								
F test	2,76	7,29	4,21	3,57	4,70	8,17	1,78	0,83
P	0,1038	0,0088	0,0405	0,0600	0,0308	0,0062	0,2203	0,5092

5.2.3.10. Korelacijske povezanosti između pokazatelja antioksidativnog statusa u listu pod utjecajem biostimulatora i reducirane gnojidbe

Prije tretmana je utvrđeno tek nekoliko značajnih korelacija između pokazatelja antioksidacijskog statusa lista (*Tablica 22*). CATu i GPXu bile su u pozitivnoj korelaciji s CATs i GPXs. Pozitivne korelacije su također bile prisutne između GPXs i GRs, CATu i TBARS te APXs i GRs. Od neenzimatskih pokazatelja značajna je bila negativna veza između koncentracija AA i PRO u listu.

Multipla korelacijska analiza podataka u istim biljkama nakon tretmana je pokazala veći broj značajnih korelacija (*Tablica 22*). Koncentracija AA je pozitivno korelirala s APXu i GRu, a koncentracija PRO s GPXu, CATu i CATs. Vrlo značajne korelativne povezanosti su utvrđene između koncentracije HP i GPXu, GPXs, CATu, CATs, APXu i TBARS. Korelacija koncentracije HP s TBARS u listu nakon tretmana je bila pozitivnog smjera, dok su ostale navedene korelacije bile negativnog smjera.

GPXu je pozitivno korelirala s GPXs i CATs. GPXs je bila u pozitivnoj korelaciji s CATs i negativnoj s TBARS. Osim negativne povezanosti APXu s koncentracijom HP, utvrđene su značajne pozitivne korelacije APXu i APXs, GRu i GRs te također negativna korelacija između APXu i TBARS. GRu je bila pozitivno povezana s koncentracijom AA u listu, te s APXu i GRs.

Uzevši u obzir oba termina analize antioksidativnog statusa lista, dobiven je vrlo veliki broj značajnih korelacija između ispitivanih pokazatelja. Koncentracija AA u listu je bila u značajnoj pozitivnoj vezi sa sadržajem PHE, CATu, APXs i GRs te negativnoj vezi s GPXs, APXu i GRu. Koncentracija PRO je pozitivno korelirala samo s CATu i CATs, dok je koncentracija HP korelirala pozitivno sa sadržajem PHE, GRu, GRs i TBARS. Sadržaj PHE u listu je bio pozitivno povezan s koncentracijom HP, GPXu, GRu, GRs i TBARS. GPXu je značajno pozitivno korelirala sa sadržajem PHE, GPXs, CATu, APXu, APXs, GRu, GRs i TBARS. GPXs je značajno pozitivno korelirala s APXu, GRs, GRu, CATu i TBARS. Aktivnost APXu je pokazala velik broj značajnih pozitivnih korelacija GPXs, APXs, GRu i GRs, GPXu i CAT. Osim prije navedenih korelacija APXs je također vrlo značajno pozitivno korelirala s GRu i GRs i TBARS. Aktivnost GRu je bila u značajnoj pozitivnoj korelaciji s GRs i TBARS. Također je i GRs je pokazala značajnu pozitivnu korelaciju s TBARS.

Tablica 22. Koeficijenti linearnih korelacija između pokazatelja antioksidativnog statusa u listu jagoda u proljetnom pokusu (* P≤0,05; ** P≤0,01).

Analiza prije tretmana		Analiza poslije tretmana		Oba termina analize	
x:y	r	x:y	r	x:y	R
AA:PRO	-0,721*	AA:APXu	0,781*	AA:PHE	0,563*
GPXu:GPXs	0,806*	AA:GRu	0,756*	AA:GPXs	-0,512*
GPXs:GRs	0,738*	PRO:GPXu	0,774*	AA:CATu	0,756**
CATu:CATs	0,857**	PRO:CATu	0,708*	AA:APXu	-0,806**
CATu:TBARS	0,826*	PRO:CATs	0,774*	AA:APXs	0,753**
APXs:GRs	0,789*	HP:GPXu	-0,746*	AA:GRu	-0,798**
		HP:GPXs	-0,857**	AA:GRs	0,756**
		HP:CATu	-0,741*	PRO:CATu	0,505*
		HP:CATs	-0,863**	PRO:CATs	0,675**
		HP:APXu	-0,706*	HP:PHE	0,888**
		HP:TBARS	0,956**	HP:CATs	-0,622**
		GPXu:GPXs	0,860**	HP:GRu	0,517*
		GPXu:CATs	0,816*	HP:GRs	0,507*
		GPXs:CATs	0,785*	HP:TBARS	0,945**
		GPXs:TBARS	-0,855**	PHE:GPXu	0,631**
		CATu:CATs	0,931**	PHE:GPXs	0,543*
		CATs:TBARS	-0,811*	PHE:CATu	0,601*
		APXu:APXs	0,850**	PHE:APXs	0,595*
		APXu:GRu	0,761*	PHE:GRu	0,774**
		APXu:GRs	0,748*	PHE:GRs	0,717**
		APXu:TBARS	-0,738*	PHE:TBARS	0,954**
		APXs:GRu	0,715*	GPXu:GPXs	0,929**
		APXs:GRs	0,943**	GPXu:CATu	0,795**
		GRu:GRs	0,844**	GPXu:APXu	0,503*
				GPXu:APXs	0,625**
				GPXu:GRu	0,717**
				GPXu:GRs	0,707**
				GPXu:TBARS	0,648**
				GPXs:CATu	0,530*
				GPXs:APXu	0,659**
				GPXs:APXs	0,720**
				GPXs:GRu	0,748**
				GPXs:GRs	0,741**
				GPXs:TBARS	0,536*
				CATu:CATs	0,530*
				CATu:APXu	0,595*
				CATu:APXs	0,613*
				CATu:GRu	0,712**
				CATu:GRs	0,664**
				CATu:TBARS	0,516*
				APXu:APXs	0,889**
				APXu:GRu	0,820**
				APXu:GRs	0,811**
				APXs:GRu	0,868**
				APXs:GRs	0,963**

Tablica 22. - nastavak

				APXs:TBARS	0,580*
				GRu:GRs	0,946**
				GRu:TBARS	0,710**
				GRs:TBARS	0,697**

5.2.4. Analize mineralnog sastava lista

Jedini značajan utjecaj na koncentraciju N ($P < 0,0001$), P ($P < 0,0001$) i K ($P < 0,0001$) u listovima je imao termin analize (Tablica 23). Nakon tretmana, koncentracija sva tri makroelementa (N-1,795%; P-0,275%; K-1,640%) je bila manja nego na početku pokusa (N - 2,590%; P - 0,340%; K - 2,068%).

Za razliku od koncentracija N, P i K, koncentracija Ca u listovima je nakon tretmana (0,648%) bila 3% veća nego na početku pokusa (0,629%; Tablica 23). Značajan utjecaj na koncentraciju Ca je imao tretman biostimulatorima ($P \leq 0,0058$), interakcija termina analize i tretmana biostimulatorima (AxC; $P \leq 0,0183$) te interakcija varijante gnojidbe i tretmana biostimulatorima (BxC; $P \leq 0,0298$). Najveće koncentracije Ca u listovima su izmjerene u biljkama tretiranim Megafolom (0,646 %) i kombinacijom biostimulatora (0,660%). Rezultati dobiveni mineralnom analizom lista nakon tretmana su pokazali da su na koncentraciju Ca u listovima značajan utjecaj imali tretman biostimulatorima ($P \leq 0,0344$) i interakcija varijante gnojidbe i tretmana biostimulatorima ($P \leq 0,0199$) (Tablica 24). Tretman Megafolom (0,662%) i kombinacijom biostimulatora (0,669%), značajno je povećao koncentraciju Ca u listovima u odnosu na kontrolu (0,621%), dok se koncentracija Ca u listovima tretiranim Vivom (0,639%) nije značajno razlikovala od kontrole.

Koncentracija Mg u listovima je nakon tretmana (0,350%) bila 20% manja nego na početku pokusa (0,436%; Tablica 23). Na koncentraciju Mg primijenjeni tretmani nisu imali statistički značajan utjecaj.

Sadržaj Fe je nakon tretmana ($89,52 \text{ mg kg}^{-1}$) bio 14% veći nego na početku pokusa ($77,13 \text{ mg kg}^{-1}$; Tablica 23). Značajan utjecaj na sadržaj Fe u listu su imali varijanta gnojidbe ($P \leq 0,0373$) te interakcija termina analize i varijante gnojidbe (A x B; $P \leq 0,0110$). Sadržaj Fe je pri reduciranoj gnojidbi ($87,94 \text{ mg kg}^{-1}$) bio značajno veći nego pri standardnoj gnojidbi ($78,70 \text{ mg kg}^{-1}$).

Sadržaj Mn i Cu je nakon tretmana (Mn-17,35 mg kg⁻¹; Cu-3,825 mg kg⁻¹) bio značajno manji nego na početku pokusa (Mn-21,29 mg kg⁻¹; Cu-7,197 mg kg⁻¹). Značajan utjecaj na sadržaj Mn imala je varijanta gnojidbe ($P \leq 0,0033$) te interakcija termina analize i varijante

gnojidbe (AxB; $P \leq 0,0454$), dok je na sadržaj Cu značajan utjecaj imala interakcija termina analize i tretmana biostimulorima (AxC; $P \leq 0,0006$) te interakcija termina analize, varijante gnojidbe i biostimulatora (AxBxC; $P \leq 0,0047$; *Tablica 23*). Rezultati dobiveni nakon tretmana su pokazali da je značajan utjecaj na sadržaj Cu imao tretman biostimulorima ($P \leq 0,0015$) te interakcija biostimulatora i gnojidbe (AxB; *Tablica 24*). Sadržaj Cu u listovima kontrolnih biljaka ($5,050 \text{ mg kg}^{-1}$) i biljaka tretiranih Vivom ($4,188 \text{ mg kg}^{-1}$) bio je značajno veći nego u listovima biljaka tretiranih Megafolom ($3,375 \text{ mg kg}^{-1}$) i kombinacijom biostimulatora ($2,688 \text{ mg kg}^{-1}$). Sadržaj Zn je bio značajno veći u listovima biljaka sa standardnom gnojidbom i ukupno uzimajući podatke dobivene prije i poslije tretmana ($P \leq 0,0353$) i samo podatke dobivene nakon tretmana ($P \leq 0,0236$; *Tablica 23 i 24*).

Tablica 23. Koncentracija makroelemenata (N, P, K, Ca, Mg) i sadržaj mikroelemenata (Fe, Mn, Cu, Zn) u listu jagode pod utjecajem termina analize (A), razine gnojidbe (B) i tretmana biostimulatorima (C) u proljetnom pokusu. (ANOVA, F test; prosjeci označeni istim slovom (^{A,B,C}) se ne razlikuju prema LSD testu; $P=0,05$).

	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Cu	Zn
	%			mgkg ⁻¹					
Termin analize (A)									
Prije tretmana (A1)	2,590 ^A	0,340 ^A	2,068 ^A	0,629 ^B	0,436 ^A	77,13 ^B	21,29 ^A	7,197 ^A	17,57 ^A
Poslije tretmana (A2)	1,795 ^B	0,275 ^B	1,640 ^B	0,648 ^A	0,350 ^B	89,52 ^A	17,35 ^B	3,825 ^B	20,54 ^A
F test	420,53	561,44	139,46	7,45	533,98	10,72	13,26	308,75	4,33
P	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0232	<0,0001	0,0096	0,0054	<0,0001	0,0673
Varijanta gnojidbe (B)									
100% (B1)	2,173 ^A	0,312 ^A	1,843 ^A	0,636 ^A	0,392 ^A	78,70 ^B	17,17 ^B	5,450 ^A	20,82 ^A
50% (B2)	2,212 ^A	0,309 ^A	1,865 ^A	0,641 ^A	0,394 ^A	87,94 ^A	21,47 ^A	5,572 ^A	17,29 ^B
F test	1,02	1,06	0,37	0,40	0,36	5,96	15,71	0,40	6,12
P	0,3398	0,3298	0,5559	0,5417	0,5653	0,0373	0,0033	0,5412	0,0353
Tretman biostimulatorima I									
Kontrola (C1)	2,229 ^A	0,310 ^A	1,874 ^A	0,634 ^{B,C}	0,393 ^{A,B}	87,51 ^A	19,06 ^A	6,006 ^A	18,20 ^A
Viva (C2)	2,159 ^A	0,312 ^A	1,869 ^A	0,614 ^C	0,385 ^B	79,06 ^A	20,04 ^A	5,363 ^B	18,64 ^A
Megafofol (C3)	2,201 ^A	0,309 ^A	1,856 ^A	0,646 ^{A,B}	0,394 ^{A,B}	85,96 ^A	19,29 ^A	5,375 ^B	20,70 ^A
Viva+Megafofol (C4)	2,182 ^A	0,311 ^A	1,817 ^A	0,660 ^A	0,400 ^A	80,76 ^A	18,89 ^A	5,300 ^B	18,69 ^A
F test	0,59	0,14	0,51	8,31	2,64	1,15	0,22	2,99	0,61
P	0,6389	0,9325	0,6856	0,0058	0,1131	0,3823	0,8824	0,0883	0,6235
Interakcije									
(AxB) F test	1,26	2,72	0,36	1,17	1,55	10,19	5,38	1,26	3,71
P	0,2913	0,1337	0,5613	0,3078	0,2445	0,0110	0,0454	0,2902	0,0861
(AxC) F test	0,99	2,84	0,52	5,69	3,18	2,27	0,32	15,85	0,78
P	0,4384	0,0978	0,6802	0,0183	0,0777	0,1497	0,8135	0,0006	0,5352
(BxC) F test	1,09	1,20	0,51	4,75	1,41	2,43	1,77	1,74	0,05
P	0,4035	0,3631	0,6826	0,0298	0,3023	0,1323	0,2232	0,2275	0,9843
(AxBxC) F test	3,55	1,39	0,21	3,16	1,50	1,17	0,97	8,88	0,04
P	0,0607	0,3086	0,8876	0,0788	0,2788	0,3751	0,4486	0,0047	0,9905

Tablica 24. Koncentracija makroelemenata (N, P, K, Ca, Mg) i sadržaj mikroelemenata (Fe, Mn, Cu, Zn) u listu jagode pod utjecajem varijante gnojidbe (A) i tretmana biostimulatorima (B) nakon završetka proljetnog pokusa. (ANOVA, F test; prosjeci označeni istim slovom (^{A,B,C}) se ne razlikuju prema LSD testu; $P=0,05$).

	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Cu	Zn
	%			mg kg ⁻¹					
Varijanta gnojidbe (A)									
100% (A1)	1,798 ^A	0,274 ^A	1,618 ^A	0,642 ^A	0,347 ^A	90,94 ^A	16,46 ^A	3,656 ^A	23,68 ^A
50% (A2)	1,793 ^A	0,276 ^A	1,662 ^A	0,654 ^A	0,354 ^A	88,09 ^A	18,24 ^A	3,994 ^A	17,40 ^B
F test	0,01	0,10	0,72	1,23	1,73	1,19	1,34	1,37	7,41
<i>P</i>	0,9385	0,7566	0,4189	0,2967	0,2209	0,3046	0,2768	0,2721	0,0236
Tretman biostimulatorima (B)									
Kontrola (B1)	1,789 ^A	0,279 ^A	1,664 ^A	0,621 ^B	0,344 ^A	91,34 ^{A,B}	17,36 ^A	5,050 ^A	18,16 ^A
Viva (B2)	1,813 ^A	0,280 ^A	1,619 ^A	0,639 ^{A,B}	0,352 ^A	93,78 ^A	18,69 ^A	4,188 ^{A,B}	19,70 ^A
Megafol (B3)	1,803 ^A	0,270 ^A	1,666 ^A	0,662 ^A	0,351 ^A	88,71 ^{A,B}	16,51 ^A	3,375 ^{B,C}	23,59 ^A
Viva+Megafol (B4)	1,778 ^A	0,270 ^A	1,613 ^A	0,669 ^A	0,354 ^A	84,24 ^B	16,83 ^A	2,688 ^C	20,71 ^A
F test	0,08	0,86	0,30	4,50	0,61	2,44	0,39	12,53	0,98
<i>P</i>	0,9706	0,4967	0,8213	0,0344	0,6235	0,1312	0,7635	0,0015	0,4440
Interakcija (AxB)									
F test	1,63	1,01	0,56	5,52	2,71	5,59	2,50	7,21	0,03
<i>P</i>	0,2503	0,4323	0,6522	0,0199	0,1078	0,0192	0,1254	0,0091	0,9933

5.2.4.1. Korelacijske povezanosti između komponenata mineralnog sastava lista i neenzimatskih antioksidansa u listu pod utjecajem biostimulatora i reducirane gnojidbe

Prije tretmana, koncentracija N je značajno pozitivno korelirala sa sadržajem Fe, a poslije tretmana s koncentracijom P (*Tablica 25.*). Podaci oba termina uzorkovanja su pokazali da je koncentracija N značajno pozitivno korelirala s koncentracijama makroelemenata P, K i Mg te sa sadržajem mikroelemenata Mn i Cu, dok je negativno korelirala s koncentracijama AA i HP te sadržajem PHE i TBARS. Koncentracija P u listu je prije tretmana bila u negativnoj vezi s koncentracijom PRO. Ukupno gledajući oba termina uzorkovanja koncentracija P imala je puno više značajnih korelacija s promatranim parametrima: bila je u pozitivnoj korelaciji s koncentracijama K i Mg te sadržajem Mn i Cu, a u negativnoj s koncentracijom AA, HP, sadržajem PHE, Zn i TBARS. Prije tretmana, koncentracija K je bila u negativnoj vezi s koncentracijama Ca i Mg u listu te s koncentracijom AA. Rezultati oba termina uzorkovanja

su pokazali da je koncentracija K bila u pozitivnoj vezi s koncentracijom Mg te sadržajem Mn i Cu, dok je u negativnoj vezi bila sa sadržajem Fe, Zn, PHE, koncentracijama AA, HP i TBARS. Prije tretmana, koncentracije Ca i Mg su bile u pozitivnoj korelaciji, a koncentracija Mg također je bila u pozitivnoj korelaciji sa sadržajem Cu i koncentracijom AA. Nakon tretmana mogla se uočiti značajna negativna veza između sadržaja Cu i PHE. Također, koncentracija Mg je bila značajno pozitivno korelirana sa sadržajem Mn i Cu, dok je negativno korelirala s koncentracijom HP, sadržajem PHE i TBARS. Negativna korelacija je utvrđena između sadržaja Mn i Cu te sadržaja Mn i TBARS, dok je pozitivna korelacija utvrđena između sadržaja Zn i koncentracije HP te sadržaja Zn i TBARS. Sadržaj Cu je bio u negativnoj vezi sa sadržajem Zn te također s koncentracijom HP, sadržajem PHE i TBARS.

Tablica 25. Koeficijenti linearnih korelacija između komponenata elementarnog sastava lista i neenzimatskih antioksidanasa u listu jagoda u proljetnom pokusu (* $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$).

Analiza prije tretmana		Analiza poslije tretmana		Oba termina analize	
x:y	r	x:y	r	x:y	R
N:Fe	0,858**	N:P	0,724*	N:P	0,967**
P:PRO	-0,771*	Cu:PHE	-0,718*	N:K	0,958**
K:Ca	-0,735*			N:Mg	0,977**
K:Mg	-0,825*			N:Mn	0,593*
K:AA	-0,732*			N:Cu	0,856**
Ca:Mg	0,889**			N:AA	-0,520*
Mg:Cu	0,735*			N:HP	-0,822**
Mg:AA	0,710*			N:PHE	-0,920**
				N:TBARS	-0,930**
				P:K	0,963**
				P:Mg	0,973**
				P:Mn	0,540*
				P:Cu	0,868**
				P:Zn	-0,503*
				P:AA	-0,541*
				P:HP	-0,796**
				P:PHE	-0,892**
				P:TBARS	-0,934**
				K:Mg	0,949**
				K:Fe	-0,505*
				K:Mn	0,542*
				K:Cu	0,835**
				K:Zn	-0,496*
				K:AA	-0,533*
				K:HP	-0,843**
				K:PHE	-0,933**
				K:TBARS	-0,947**
				Mg:Mn	0,511*
				Mg:Cu	0,862**
				Mg:HP	-0,869**
				Mg:PHE	-0,921**
				Mg:TBARS	-0,958**
				Mn:Cu	0,526*
				Mn:TBARS	-0,498*
				Cu:Zn	-0,605*
				Cu:HP	-0,747**
				Cu:PHE	-0,773**
				Cu:TBARS	-0,852**
				Zn:HP	0,554*
				Zn:TBARS	0,579*

5.2.4.2. Korelacijske povezanosti između komponenata mineralnog sastava lista i vegetativnih pokazatelja razvoja i priroda pod utjecajem biostimulatora i reducirane gnojidbe

Koncentracija K u listu je bila u značajnoj pozitivnoj korelaciji s masom svježe tvari najrazvijenije troliske ($r=0,713^*$), dok je koncentracija Mg bila u vrlo značajnoj pozitivnoj vezi s masom nadzemnog dijela biljke ($r=0,860^{**}$).

5.2.5. Analize mineralnog sastava korijena

Na koncentraciju N i K u korijenu značajan utjecaj nije imala ni varijanta gnojidbe, ni tretman biostimulatorima, ni njihova kombinacija (*Tablica 26*).

Koncentracija P u korijenu biljaka je pri reduciranoj gnojidbi (0,256%) bila značajno manja nego pri standardnoj gnojidbi (0,246%). Najmanja koncentracija P je bila u korijenu biljaka tretiranih kombinacijom biostimulatora (0,238%).

Tretman biostimulatorima je imao značajan učinak na koncentraciju Ca ($P \leq 0,0059$) i Mg ($P \leq 0,0092$) u korijenu, dok je na koncentraciju Mg značajan utjecaj imala i interakcija varijante gnojidbe i biostimulatora ($A \times B$; $P \leq 0,0003$; *Tablica 26*). Koncentracija Ca je pri svim varijantama tretmana biostimulatorima bila veća (Viva – 1,011%, Megafol – 1,149%; kombinacija – 1,417%) nego u korijenu kontrolnih biljaka (0,953%). Koncentracija Mg je u korijenu biljaka tretiranih kombinacijom biostimulatora bila značajno manja (0,309%) nego u korijenu kontrolnih biljaka (0,324%).

Sadržaji Fe, Mn i Zn su pri reduciranoj gnojidbi bili značajno manji nego pri standardnoj gnojidbi ($P \leq 0,0286$; $P \leq 0,0316$; $P \leq 0,0182$). Na sadržaj Cu u korijenu varijanta gnojidbe nije imala značajan utjecaj.

Tablica 26. Koncentracija makroelemenata (N, P, K, Ca, Mg) i sadržaj mikroelemenata (Fe, Mn, Cu, Zn) u korijenu jagode pod utjecajem varijante gnojidbe (A) i tretmana biostimulatorima (B) nakon završetka proljetnog pokusa. (ANOVA, F test; prosjeci označeni istim slovom (^{A,B,C}) se ne razlikuju prema LSD testu; $P=0,05$).

	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Cu	Zn
	%			mg kg ⁻¹					
Varijanta gnojidbe (A)									
100 % (A1)	1,246 ^A	0,256 ^A	0,544 ^A	1,056 ^A	0,317 ^A	975,4 ^A	35,32 ^A	18,26 ^A	40,18 ^A
50 % (A2)	1,219 ^A	0,246 ^B	0,536 ^A	1,209 ^A	0,320 ^A	517,7 ^B	27,35 ^B	18,15 ^A	35,62 ^B
F test	1,32	6,55	0,10	4,50	1,70	6,77	6,46	0,01	8,30
P	0,2804	0,0308	0,7544	0,0629	0,2242	0,0286	0,0316	0,9301	0,0182
Tretman biostimulatorima (B)									
Kontrola (B1)	1,240 ^A	0,258 ^A	0,563 ^A	0,953 ^A	0,324 ^A	984,5 ^A	36,75 ^A	18,70 ^A	35,60 ^A
Viva (B2)	1,194 ^A	0,258 ^A	0,514 ^A	1,011 ^B	0,323 ^A	918,2 ^{A,B}	28,76 ^A	17,58 ^A	37,50 ^A
Megafol (B3)	1,243 ^A	0,250 ^{A,B}	0,540 ^A	1,149 ^B	0,318 ^A	697,1 ^{A,B}	31,31 ^A	17,73 ^A	38,45 ^A
Viva+Megafol (B4)	1,254 ^A	0,238 ^B	0,542 ^A	1,417 ^B	0,309 ^B	386,4 ^B	28,51 ^A	18,81 ^A	40,04 ^A
F test	1,35	5,83	0,76	8,28	7,19	2,35	1,49	0,30	1,37
P	0,3198	0,0171	0,5423	0,0059	0,0092	0,1403	0,2822	0,8256	0,3118
Interakcija (AxB)									
F test	1,34	3,55	0,97	3,39	18,85	1,27	3,18	0,31	1,35
P	0,3201	0,0610	0,4492	0,0673	0,0003	0,3433	0,0775	0,8194	0,3200

5.2.5.1. Korelacijske povezanosti između komponenata mineralnog sastava korijena i vegetativnih pokazatelja razvoja i priroda biljaka pod utjecajem biostimulatora i reducirane gnojidbe

Između komponenata mineralnog sastava korijena i vegetativnih pokazatelja razvoja i priroda jagoda pod utjecajem biostimulatora i reducirane gnojidbe u proljetnom pokusu, nije utvrđena niti jedna značajna korelacija, osim između pojedinih makro-i mikroelemenata u korijenu. Koncentracija P je bila u vrlo značajnoj negativnoj korelaciji s koncentracijom Ca ($r=-0,849^{**}$) te u vrlo značajnoj pozitivnoj korelaciji sa sadržajem Fe ($r=0,942^{**}$). Koncentracija Ca je bila u značajnoj negativnoj vezi s koncentracijom Mg ($r=-0,768^{*}$) i vrlo značajnoj negativnoj vezi sa sadržajem Fe ($r=-0,891^{**}$). Značajna pozitivna veza utvrđena je između sadržaja Fe i Mn ($r=0,772^{*}$).

5.2.6. Analize kvalitativnih svojstava ploda

5.2.6.1. Reducirajući šećeri

Nakon tretmana, sadržaj reducirajućih šećera (RŠ; 5,248%) je bio 23% veći nego na početku pokusa (4,055%; *Tablica 27*). Najveći sadržaj RŠ je bio u plodovima biljaka tretiranih Vivom (4,816%) te se on statistički značajno razlikovao samo od sadržaja RŠ u kontrolnim biljkama (4,544%).

5.2.6.2. Ukupna titracijska kiselost

Ukupna kiselost (UK) plodova jagoda je na početku pokusa (0,801%) bila 36% veća nego nakon tretmana (0,512%; *Tablica 27*). Značajan utjecaj na UK nisu imali ni varijanta gnojidba, ni tretman biostimulatorima ni njihova međusobna interakcija, kako ukupno gledajući rezultate dobivene prije i poslije tretmana, tako ni uzimajući u obzir samo rezultate nakon tretmana (*Tablica 27 i 28*).

5.2.6.3. pH vrijednost

Nakon tretmana, pH vrijednost u plodovima (3,729) je bila 8% veća nego na početku pokusa (3,449; *Tablica 27*). Nijedan od ispitivanih faktora nije značajno utjecao na pH vrijednost u plodovima.

5.2.6.4. Ukupni fenoli

Sadržaj ukupnih fenola (PHE) u plodovima je nakon tretmana (0,695 mg g⁻¹ sv.t.) bio 17% veći nego na početku pokusa (0,580 mg g⁻¹ sv.t.; *Tablica 27*). Jedini značajan utjecaj na sadržaj PHE je imala varijanta gnojidbe ($P \leq 0,0107$) i to samo nakon tretmana (*Tablica 28*). Sadržaj PHE u plodovima je pri reduciranoj gnojidbi (0,744 mg g⁻¹ sv.t.) bio značajno veći nego pri standardnoj gnojidbi (0,646 mg g⁻¹ sv.t.; *Tablica 28*).

5.2.6.5. Ukupni antocijanini

Sadržaj ukupnih antocijanina (AC) u plodovima je nakon tretmana (478,7 mg kg⁻¹ sv.t.) bio 55% veći nego na početku pokusa (213,3 mg kg⁻¹ sv.t.; *Tablica 27*). Varijanta gnojidbe i tretman biostimulatorima nisu značajano utjecali na sadržaj AC u plodovima.

5.2.6.6. Ukupna antioksidativna aktivnost

Ukupna antioksidativna aktivnost (UAA) je na početku pokusa (30,53%) bila 8% veća nego na kraju pokusa (28,23%; *Tablica 27*). Varijanta gnojidbe i tretman biostimulatorima nisu značajano utjecali na UAA u plodovima.

5.2.6.7. Askorbinska kiselina

Sadržaj askorbinske kiseline (AA) u plodovima jagoda je nakon tretmana (55,71 mg/100 g sv.t.) bio 5% manji nego na početku pokusa (58,73 mg/100 g sv.t. *Tablica 27*). Varijanta gnojidbe i tretman biostimulatorima nisu značajano utjecali na sadržaj AA u plodovima.

5.2.6.8. Nitrati

Sadržaj nitrata u plodu se nakon tretmana nije značajno promijenio u odnosu na početak pokusa (*Tablica 27*). Na sadržaj nitrata značajan utjecaj nije imala ni varijanta gnojidbe ni tretman biostimulatorima ni njihova interakcija, kako ukupno uzimajući u obzir oba termina uzorkovanja, tako i samo nakon tretmana (*Tablica 27 i 28*).

Tablica 27. Kvalitativna i kemijska svojstva plodova jagoda (reducirajući šećeri (RŠ), kiselost (UK), pH, ukupni fenoli (PHE), antocijanini (AC), ukupna antioksidativna aktivnost (UAA), askorbinska kiselina (AA) i nitrati) pod utjecajem termina analize (A), razine gnojidbe (B) i tretmana biostimulatorima (C) u proljetnom pokusu. (ANOVA, F test; prosjeci označeni istim slovom (^{A,B,C}) se ne razlikuju prema LSD testu; $P=0,05$).

	RŠ % prir.inverta	UK % limunske kiseline	pH	PHE mg g ⁻¹ sv.t.	AC mg kg ⁻¹ sv.t.	UAA %	AA mg/100g sv.t.	nitrati mgkg ⁻¹
Termin analize (A)								
Prije tretmana (A1)	4,055 ^B	0,801 ^A	3,449 ^B	0,580 ^B	213,3 ^B	30,53 ^A	58,73 ^A	223,8 ^A
Poslije tretmana (A2)	5,248 ^A	0,512 ^B	3,729 ^A	0,695 ^A	478,7 ^A	28,23 ^B	55,71 ^B	209,4 ^A
F test	232,74	289,98	249,59	22,58	1214,54	8,55	14,61	3,58
<i>P</i>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0010	<0,0001	0,0169	0,0041	0,0910
Varijanta gnojidbe (B)								
100% (B1)	4,582 ^A	0,654 ^A	3,582 ^A	0,614 ^A	340,0 ^A	29,39 ^A	56,94 ^A	215,9 ^A
50% (B2)	4,720 ^A	0,658 ^A	3,596 ^A	0,661 ^A	352,1 ^A	9,37 ^A	57,50 ^A	217,2 ^A
F test	3,12	0,07	0,66	3,80	2,51	0,00	0,50	0,03
<i>P</i>	0,1112	0,7999	0,4373	0,0831	0,1476	0,9898	0,4958	0,8730
Tretman biostimulatorima (C)								
Kontrola (C1)	4,544 ^B	0,664 ^A	3,559 ^A	0,645 ^A	337,1 ^A	30,29 ^A	57,69 ^A	208,8 ^A
Viva (C2)	4,816 ^A	0,672 ^A	3,591 ^A	0,616 ^A	336,7 ^A	27,45 ^B	58,42 ^A	216,3 ^A
Megafol (C3)	4,611 ^{A,B}	0,639 ^A	3,611 ^A	0,617 ^A	360,6 ^A	30,61 ^A	56,27 ^A	218,8 ^A
Viva+Megafol (C4)	4,634 ^{A,B}	0,649 ^A	3,595 ^A	0,671 ^A	349,7 ^A	29,17 ^{A,B}	56,50 ^A	222,5 ^A
F test	2,22	0,75	1,50	1,14	2,26	3,32	1,65	0,58
<i>P</i>	0,1554	0,5499	0,2786	0,3859	0,1501	0,0709	0,2466	0,6403
Interakcije								
(AxB) F test	0,02	0,55	0,01	4,33	0,65	0,00	2,69	0,03
<i>P</i>	0,8888	0,4784	0,9179	0,0672	0,4399	0,9836	0,1353	0,8730
(AxC) F test	2,40	0,48	0,28	0,70	0,90	1,50	0,54	0,84
<i>P</i>	0,1350	0,7030	0,8396	0,5735	0,4767	0,2807	0,6650	0,5069
(BxC) F test	3,01	1,11	0,92	1,24	0,21	0,15	1,24	0,32
<i>P</i>	0,0868	0,3948	0,4674	0,3525	0,8876	0,9246	0,3514	0,8138
(AxBxC) F test	2,29	0,84	0,55	0,75	1,37	0,34	0,59	1,06
<i>P</i>	0,1475	0,5076	0,6596	0,5478	0,3126	0,7999	0,6359	0,4147

Tablica 28. Kvalitativna i kemijska svojstva plodova jagoda (reducirajući šećeri (RŠ), kiselost (UK), pH, ukupni fenoli (PHE), antocijanini (AC), ukupna antioksidativna aktivnost (UAA), askorbinska kiselina (AA) i nitrati) pod utjecajem razine gnojidbe (A) i tretmana biostimulatorima (B) nakon završetka proljetnog pokusa. (ANOVA, F test; prosjeci označeni istim slovom (^{A,B,C}) se ne razlikuju prema LSD testu; $P=0,05$).

	RŠ % prir. inverta	UK % limunske kiseline	pH	PHE mg g ⁻¹ sv.t.	AC mg kg ⁻¹ sv.t.	UAA %	AA mg/100g sv.t.	nitrati mg kg ⁻¹ sv.t.
Varijanta gnojidbe (A)								
100% (A1)	5,173 ^A	0,516 ^A	3,721 ^A	0,646 ^B	475,8 ^A	28,23 ^A	54,79 ^A	208,1 ^A
50% (A2)	5,323 ^A	0,508 ^A	3,737 ^A	0,744 ^A	481,7 ^A	28,24 ^A	56,64 ^A	210,6 ^A
F test	0,67	0,28	0,58	10,30	0,23	0,00	3,07	0,05
P	0,4331	0,6113	0,4647	0,0107	0,6446	0,9969	0,1139	0,8304
Tretman biostimulatorima (B)								
Kontrola (B1)	5,090 ^A	0,508 ^A	3,694 ^A	0,718 ^A	474,5 ^A	30,15 ^A	56,24 ^{A,B}	198,8 ^A
Viva (B2)	5,498 ^A	0,522 ^A	3,744 ^A	0,646 ^A	462,5 ^A	25,09 ^B	57,69 ^A	211,3 ^A
Megafol (B3)	5,060 ^A	0,497 ^A	3,750 ^A	0,673 ^A	500,9 ^A	29,23 ^{A,B}	54,16 ^B	220,0 ^A
Viva+Megafol (B4)	5,344 ^A	0,520 ^A	3,728 ^A	0,744 ^A	477,0 ^A	28,48 ^{A,B}	54,76 ^{A,B}	207,5 ^A
F test	1,32	0,56	1,40	2,06	1,69	2,03	2,22	0,60
P	0,3258	0,6550	0,3049	0,1759	0,2386	0,1800	0,1552	0,6287
Interakcija (AxB)								
F test	0,16	0,06	0,84	1,75	0,80	0,24	1,21	0,35
P	0,9180	0,9796	0,5062	0,2267	0,5268	0,8670	0,3617	0,7912

5.2.6.9. Korelacijske povezanosti između ispitivanih pokazatelja kvalitete ploda, koncentracije K i N u listu te priroda pod utjecajem biostimulatora i reducirane gnojidbe

Prije tretmana, sadržaj RŠ bio je u značajnoj negativnoj vezi sa sadržajem nitrata u plodu (Tablica 29). Vrijednosti pH u plodu bile su u značajnoj negativnoj vezi s UK i vrlo značajnoj pozitivnoj vezi sa sadržajem AC. Nakon tretmana, utvrđene su samo dvije značajne negativne korelacije i to između sadržaja RŠ i UAA te između UK u plodu i koncentracije K u listu. Statističke analize ukupnih podataka (i prije i nakon tretmana), pokazale su velik broj korelacija. Sadržaj RŠ je bio u negativnoj vezi s UK, sadržajem AA, koncentracijom K i N u listu te s UAA u plodu, a u pozitivnoj vezi s pH, sadržajem PHE i AC u plodu. Vrlo značajna negativna veza utvrđena je između UK i pH te između UK i sadržaja PHE i AC, dok je vrlo značajna pozitivna veza utvrđena između UK i sadržaja AA, te koncentracije K i N u listu. Značajna pozitivna veza utvrđena je između UK i UAA. Vrijednosti pH u plodu su vrlo

značajno pozitivno korelirale sa sadržajem PHE i AC u plodu. S druge strane, pH vrijednost ploda je negativno korelirala sa sadržajem AA u plodu, koncentracijama K i N u listu te s UAA u plodu. Sadržaj PHE je vrlo značajno pozitivno korelirao sa sadržajem AC u plodu, a negativno s koncentracijama K i N u listu. Negativne korelacije utvrđene su između sadržaja AC i AA u plodu, te između sadržaja AC i UAA, sadržaja nitrata i koncentracije K i N u listu. UAA i sadržaj AA u plodu su bili u pozitivnoj korelaciji s koncentracijama K i N u listu. Koncentracija N u listu također je bila u pozitivnoj korelaciji sa sadržajem nitrata u plodu.

Tablica 29. Koeficijenti linearnih korelacija između ispitivanih pokazatelja kvalitete ploda, koncentracije K i N u listu te priroda u proljetnom pokusu (* $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$).

Analiza prije tretmana		Analiza poslije tretmana		Oba termina analize	
x:y	r	x:y	R	x:y	R
RŠ:NO ₃	-0,713*	RŠ:UAA	-0,707*	RŠ:UK	-0,888**
UK:pH	-0,810*	UK:K ₁	-0,797*	RŠ:pH	0,916**
pH:AC	0,868**			RŠ:PHE	0,707**
				RŠ:AC	0,921**
				RŠ:AA	-0,594**
				RŠ:NO ₃	-0,623**
				RŠ:K ₁	-0,914**
				RŠ:N ₁	-0,915**
				RŠ:UAA	-0,656**
				UK:pH	-0,984**
				UK:PHE	-0,725**
				UK:AC	-0,986**
				UK:AA	0,676**
				UK: K ₁	0,965**
				UK: N ₁	0,959**
				UK:UAA	0,545*
				pH:PHE	0,689**
				pH:AC	0,982**
				pH:AA	-0,708**
				pH: K ₁	-0,961**
				pH: N ₁	-0,950**
				pH:UAA	-0,614*
				PHE:AC	0,747**
				PHE: K ₁	-0,726**
				PHE: N ₁	-0,731**
				AC:AA	-0,709**
				AC:NO ₃	-0,499*
				AC: K ₁	-0,974**
				AC: N ₁	-0,973**
				AC:UAA	-0,540*
				AA: K ₁	0,685**
				AA: N ₁	0,670**
				NO ₃ : N ₁	0,567*
				K ₁ :UAA	0,584*
				N ₁ :UAA	0,549*

5.2.6.10. Korelacijske povezanosti između neenzimatskih pokazatelja antioksidativnog statusa lista i ispitivanih pokazatelja kvalitete ploda pod utjecajem biostimulatora i reducirane gnojidbe

Prije tretmana značajna negativna korelacija utvrđena je između koncentracije AA i PRO u listu, a vrlo značajna negativna korelacija između sadržaja PHE u listu i plodu (*Tablica 30*). Poslije tretmana utvrđena je samo jedna vrlo značajna korelacija i to između koncentracije PRO u listu i sadržaja PHE u plodu. Analize koje su obuhvaćale oba termina uzorkovanja pokazale su nešto veći broj korelacija među ispitivanim parametrima. Koncentracija AA u listu bila je u pozitivnoj vezi sa sadržajem PHE u listu i AC u plodu, a u negativnoj vezi sa sadržajem AA u plodu. Sadržaj PHE u listu je bio u vrlo značajnoj negativnoj korelaciji sa sadržajem AA i UAA u plodu, a u pozitivnoj korelaciji sa sadržajem PHE i AC u plodu. Sadržaj AA u plodu je bio u vrlo značajnoj negativnoj korelaciji sa sadržajem AC u plodu, dok je sadržaj AC u plodu bio u značajnoj negativnoj korelaciji s UAA. Značajna pozitivna veza utvrđena je između koncentracije PRO u listu i sadržaja PHE u plodu te sadržaja PHE i AC u plodu.

Tablica 30. Koeficijenti linearnih korelacija između neenzimatskih pokazatelja antioksidativnog statusa lista (l) i ispitivanih pokazatelja kvalitete ploda (p) u proljetnom pokusu (* $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$).

Analiza prije tretmana		Analiza poslije tretmana		Oba termina analize	
x:y	r	x:y	R	x:y	r
AA _l :PRO	-0,721*	PRO:PHE _p	0,863**	AA _l :PHE _l	0,563*
PHE _l :PHE _p	-0,856**			AA _l :AA _p	-0,513*
				AA _l :AC _p	0,563*
				PHE _l :AA _p	-0,664**
				PHE _l :PHE _p	0,557*
				PHE _l :AC _p	0,925**
				PHE _l :UAA	-0,631**
				PRO:PHE _p	0,536*
				AA _p :AC _p	-0,709**
				PHE _p :AC _p	0,747**
				AC _p :UAA	-0,540*

6. RASPRAVA

Utjecaj biostimulatora i reducirane gnojidbe na vegetativne pokazatelje rasta biljaka jagoda

Rast biljaka je složeni morfo-fiziološki proces kojim se povećava broj, veličina i masa pojedinih biljnih tkiva i organa, dok se pod razvojem podrazumijevaju kvalitativne promjene u biljnom organizmu s posljedičnom smjenom razvojnih stadija. Mjerenjem i analizom određenih morfoloških i fizioloških pokazatelja može se definirati brzina rasta i ocijeniti intenzitet životnih procesa u biljkama, o kojima ovisi krajnja produktivnost usjeva ili nasada. Svi fiziološki procesi tijekom rasta i razvoja se odvijaju pod utjecajem unutrašnjih i vanjskih činitelja. Oni mogu imati stimulativno ili inhibitorno djelovanje na biljku, u čemu sudjeluju brojne fiziološki aktivne tvari. Komercijalni biostimulatori se uglavnom smatraju stimulatorima rasta jer svojim sastojcima poboljšavaju usvajanje i iskorištenje hraniva te pomažu biljkama u obrani od stresa uslijed nepovoljnih okolišnih činitelja. Među različitim funkcionalnim komponentama u sastavu biostimulatora često se nalaze huminske kiseline i ekstrakti algi, aminokiseline, mikroelementi i različite organske tvari koje pripadaju biljnim hormonima rasta ili imaju njima slično djelovanje.

Parađiković i sur. (2009.) su utvrdili da biostimulator Radifarm značajno povećava masu nadzemnog dijela presadnica kadife te autori zaključuju da je primjena ovog biostimulatora u uzgoju presadnica kadife preporučljiva zbog povoljnog djelovanja na rast i razvoj mladih biljaka. U istraživanju koje su proveli Jelačić i sur. (2007.), biostimulatori Megafol i Viva značajno su povećali visinu biljke, broj izbojaka i masu svježe tvari klijanaca ružmarina.

U proljetnom pokusu u ovom istraživanju, primjena biostimulatora nije imala značajan utjecaj na masu nadzemnog dijela biljke i masu suhe tvari najrazvijenije troliske (*Tablica 17*). Međutim, masa svježe tvari najrazvijenije troliske biljaka tretiranih Megafolom i Vivom bila je veća nego kod kontrolnih biljaka i biljaka tretiranih kombinacijom Vive i Megafola, pri čemu je samo tretman Megafolom imao statistički značajan učinak. Budući da biostimulatori korišteni u ovom istraživanju sadržavaju huminsku kiselinu (Viva) i aminokiseline (Megafol i Viva), moguće je da su za pozitivan utjecaj biostimulatora na pokazatelje rasta biljaka jagoda bile odgovorne upravo te komponente. U istraživanju koje su proveli Zhang i Schmidt (2000.) utvrđeno je da biostimulatori koji sadrže huminsku kiselinu poboljšavaju rast engleskog ljulja

te autori smatraju da se taj pozitivan učinak ne može objasniti samo nutritivnom komponentom biostimulatora, već i poboljšanjem hormonalnog statusa samih biljaka. Pri tretmanu biljaka graha huminskom kiselinom (2000 ppm) i aminokiselinama (2000 ppm) utvrđeno je značajno povećanje morfoloških parametara (visina biljke, broj izbojaka i listova po biljci) i priroda (El-Ghamry i sur., 2009.). Eyheraguibel i sur. (2008.) su utvrdili da huminske kiseline imaju pozitivan utjecaj na rast i mineralnu ishranu kukuruza, što povezuju s boljim usvajanjem vode i hraniva. U istraživanju utjecaja biostimulatora Grow-Plex SP (na bazi huminskih kiselina) i NPK gnojiva na rajčicu, utvrđeno je da isti nisu utjecali na visinu biljke i broj izbojaka, dok su značajno povećali broj listova te masu svježih i suhih tvari biljke (Abdel-Mawgoud i sur., 2007.).

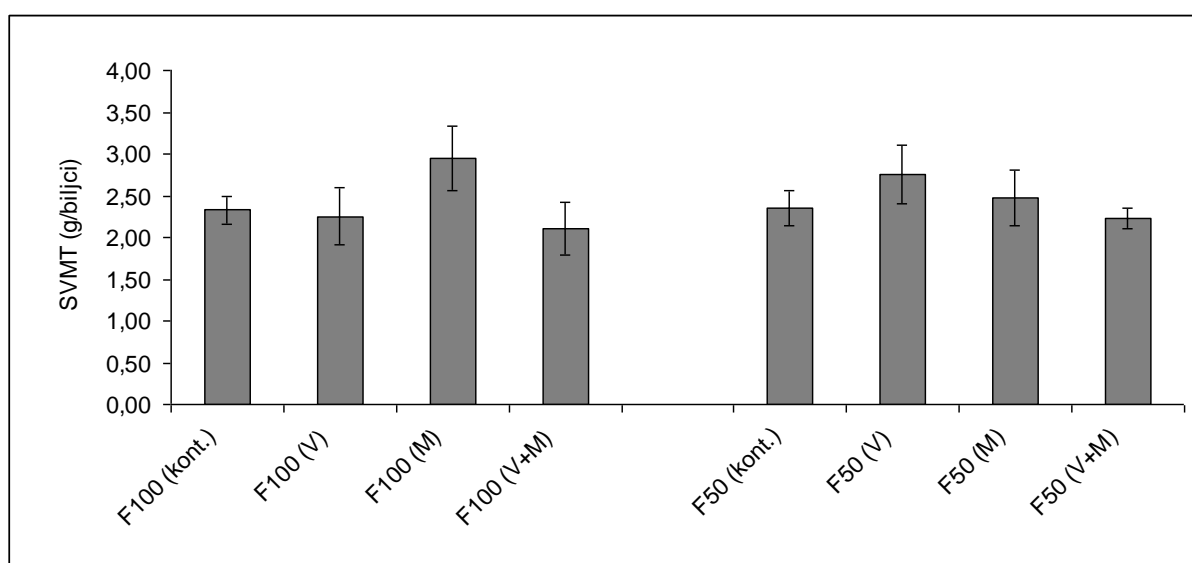
U jesenskom pokusu u ovom istraživanju, očekivani pozitivan utjecaj biostimulatora na porast biljaka izostao je kod svih ispitivanih vegetativnih pokazatelja (*Tablica 2*), što se može tumačiti značajno drugačijim uvjetima za rast i razvoj (skraćenje dana, slabljenje intenziteta osvjetljenja) i pripremom relativno mladih biljaka za prijelaz u fazu zimskog mirovanja nakon prvog plodonošenja.

Provedeno istraživanje je sadržavalo dvije razine gnojidbe najznačajnijim makroelementima u fazi plodonošenja jagoda, tj. dušikom i kalijem. Osim standardne gnojidbe, primijenjena je i 50% niža gnojidba kako bi se ispitalo u kojoj mjeri raspoloživost hraniva utječe na rast, razvoj i produktivnost jagoda u plasteničkom uzgoju, u fazi plodonošenja. Naime, jedan od ciljeva istraživanja je bio ispitati mogućnost racionalizacije gnojidbe primjenom biostimulatora, čime bi se moglo znatno smanjiti opterećenje okoliša, do kojeg dolazi zbog gubitka gnojiva perkolacijom iz supstrata u vanjsku sredinu. U istraživanju koje je proveo Akande (2006.) na šćiru (*Amaranthus cruentus*), najveći utjecaj na različite morfološke parametre (broj listova, visina biljke i lisna površina) imala je interakcija biostimulatora i mineralne gnojidbe. Isti autor navodi da se varijanta samostalne primjene biostimulatora (kao zamjene za mineralno gnojivo) nije pokazala tako učinkovitom kao varijanta u kojoj su primijenjena samo NPK gnojiva.

Analizom rezultata u proljetnom i jesenskom pokusu je utvrđeno da varijanta gnojidbe (100% i 50%) nije imala značajan utjecaj na nadzemnu masu biljke, masu svježih tvari najrazvijenije troliske kao niti na masu suhih tvari najrazvijenije troliske (*Tablice 2 i 17*). Ovi rezultati pokazuju da racionalizacija gnojidbe u fazi plodonošenja nema značajan utjecaj na intenzitet razvoja nadzemnih vegetativnih dijelova jagode, čiji je kapacitet sinteze organske tvari presudan za generativnu fazu tj. plodonošenje i tvorbu priroda.

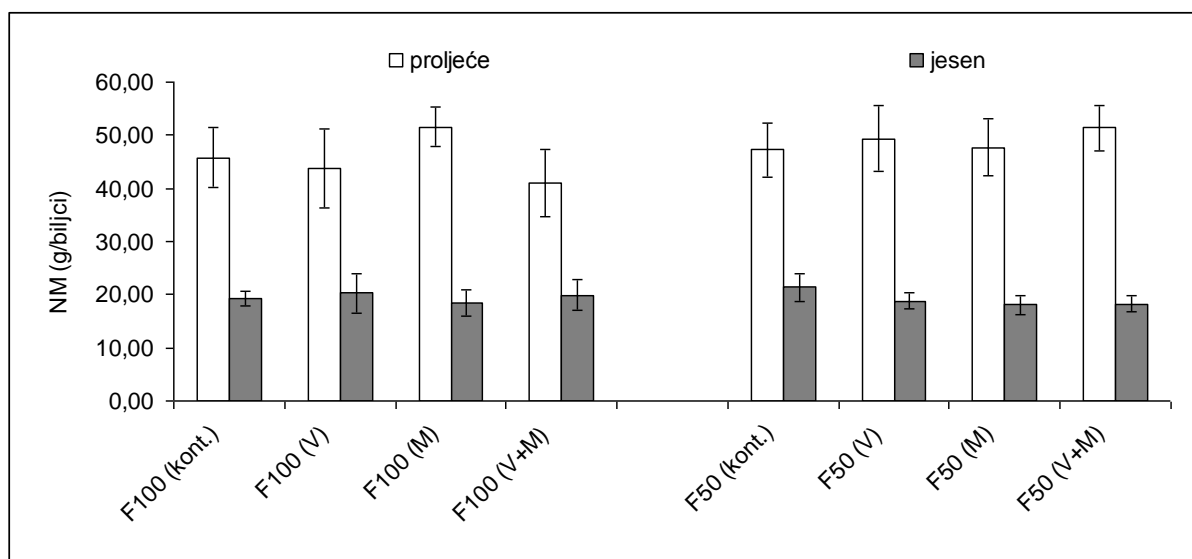
Treba naglasiti da je za razvoj mladih biljaka jagoda nakon sadnje vrlo značajna mjera primjene gnojiva fertirigacijom, naročito pri uzgoju u supstratima i posudama malog volumena, gdje je kapacitet usvajanja korijenom ograničen. Kako i razvoj korijena ovisi o asimilatima iz nadzemnog dijela biljke, "source-sink" odnosi u ranom vegetativnom porastu imaju značajnu ulogu za rast i razvoj mladih biljaka.

Masa svježe tvari najrazvijenije troliske je u proljetnom pokusu bila pod značajnim utjecajem interakcije varijante gnojidbe i biostimulatora: kod biljaka tretiranih Megafolom bila je značajno povećana samo pri 100%-tnoj gnojidbi, dok je na varijanti reducirane gnojidbe stimulativni efekt Megafola izostao (*Slika 11*).



Slika 11. Masa svježe tvari najrazvijenije troliske (SVMT; g/biljci) u proljetnom pokusu pri 100% gnojidbi (F100) i 50% gnojidbi (F50) kod kontrolnih biljaka (kont.), biljaka tretiranih Vivom (V), Megafolom (M) i kombinacijom Vive i Megafola (V+M). Na stupcima je označena standardna devijacija.

U jesenskom i proljetnom pokusu vrijednosti nadzemne mase biljke su se jako razlikovale, što je i očekivano, budući da se u jesenskom pokusu radilo o mladim biljkama, a u proljetnom o biljkama koje su nakon prezimljavanja imale znatno duži vegetativni stadij. Biljke u proljetnom pokusu su bile na početku tretmana stare deset mjeseci (druga vegetacijska godina), dok su biljke u jesenskom pokusu na početku tretmana bile stare tri mjeseca (prva vegetacijska godina). Najveća prosječna masa nadzemnog dijela biljke utvrđena je u proljetnom pokusu u varijanti standardne gnojidbe (F100) uz primjenu Megafola, dok su očekivano najmanje mase vegetativnih nadzemnih dijelova biljke utvrđene u jesenskom pokusu pri reduciranoj gnojidbi (F50; *Slika 12*), pri čemu utjecaj biostimulatora nije bio značajan (*Tablica 2*).



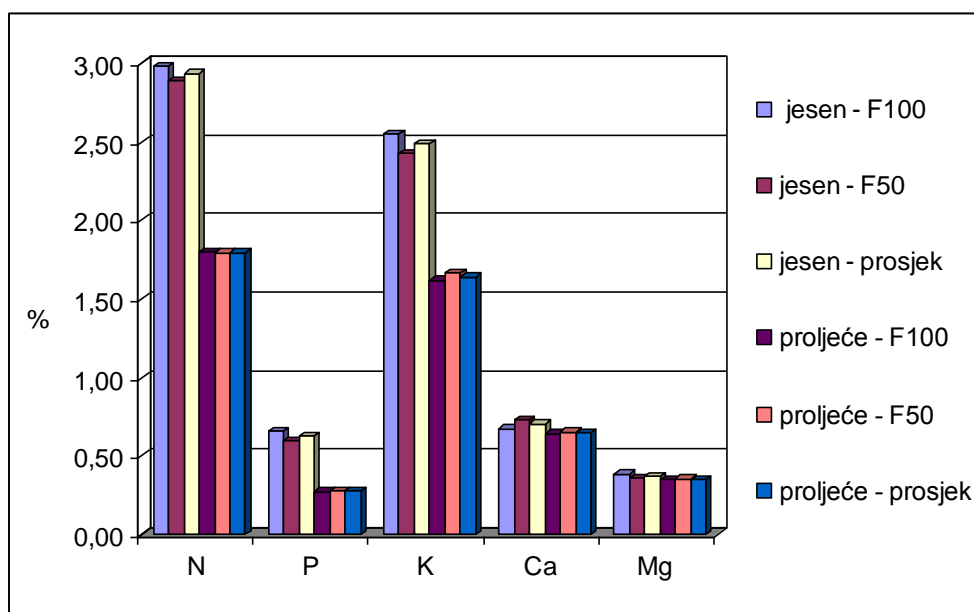
Slika 12. Masa nadzemnog dijela biljke (NM; g/biljci) u proljetnom i jesenskom pokusu pri 100% gnojidbi (F100) i 50% gnojidbi (F50) kod kontrolnih biljaka (kont.), biljaka tretiranih Vivom (V), Megafolom (M) i kombinacijom Vive i Megafola (V+M). Na stupcima je označena standardna devijacija.

Povezanost morfoloških pokazatelja rasta biljaka s razinom opskrbljenosti biljke hranivima bila je značajna samo u nekoliko utvrđenih korelacija. U proljetnom pokusu, koncentracija K u listu je bila u značajnoj pozitivnoj korelaciji s masom svježe tvari najrazvijenije troliske ($r=0,713^*$), dok je Mg bio u vrlo značajnoj pozitivnoj vezi s masom nadzemnog dijela biljke ($r=0,860^{**}$). U jesenskom pokusu, vrlo značajna korelacija negativnog smjera bila je ona između koncentracije K u supstratu i mase nadzemnog dijela biljke ($r=-0,886^{**}$), odnosno veća količina K zaostala je u supstratu kod biljaka s manjom nadzemnom masom, što upućuje na slabije iskorištenje primijenjenog gnojiva i veću mogućnost njegova gubitka u okoliš perkolacijom. Nadalje, masa svježe tvari najrazvijenije troliske je bila u značajnim pozitivnim vezama s koncentracijom P ($r=0,835^*$), K ($r=0,768^*$) i Mg ($r=0,717^*$) u listu. Masa suhe tvari najrazvijenije troliske je bila u značajnoj pozitivnoj vezi s koncentracijom N ($r=0,752^*$) i P ($r=0,712^*$) u korijenu, što upućuje na to da su bolja opskrbljenost i kapacitet usvajanja N i P korijenom rezultirali većom akumulacijom suhe tvari u listu. Masa svježe tvari najrazvijenije troliske je bila u vrlo značajnoj pozitivnoj vezi s koncentracijom K ($r=0,863^{**}$) te u značajnoj pozitivnoj vezi s koncentracijom Ca ($r=0,755^*$) i Zn ($r=0,768^*$) u korijenu. Koncentracija K u korijenu također je značajno pozitivno utjecala na masu nadzemnog dijela biljke ($r=0,752^*$). Navedene korelacije između koncentracija K u listu i korijenu te morfoloških pokazatelja rasta dokazuju značaj K za rast biljke i sintezu organske tvari u fotosintetski aktivnim tkivima te za sadržaj vode u tkivima.

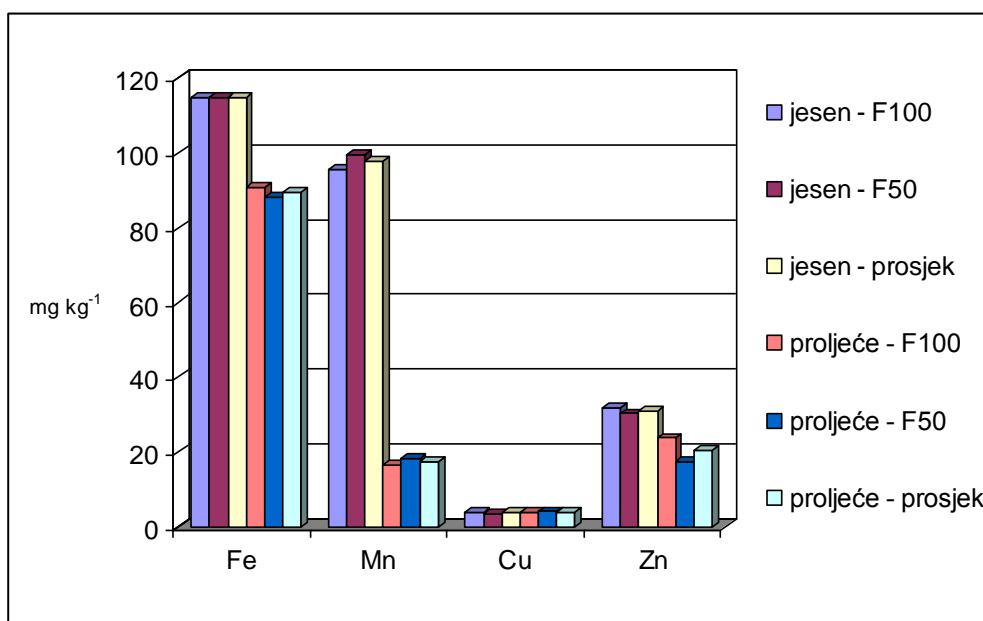
Utjecaj biostimulatora na intenzitet usvajanja hraniva u interakciji s razinom gnojidbe

Prema Lacertosa i sur. (2007.), analize mineralnog sastava lista i tla pouzdano su oruđe za praćenje nutritivnih potreba i planiranje gnojidbe jagoda u svrhu povećanja priroda i kvalitete plodova, uz primjereno održanje plodnosti tla i smanjenje opterećenja okoliša. Desmet i sur. (2009.) smatraju da optimizacija dušične gnojidbe prije i za vrijeme cvatnje kod sorte Elsanta ima utjecaja na zametanje cvjetova i kasniji razvoj, pri čemu je smanjenje dušika prije cvatnje pogodovalo zametanju cvjetova. Slične rezultate su sa sortom Toyonoka dobili Yamasaki i Yano (2009.). Navedena istraživanja upućuju na mogućnost smanjenja gnojidbe jagoda dušikom u razdoblju pred cvatnju i plodonošenje.

Koncentracija makroelemenata te većine mikroelemenata u suhoj tvari lista jagode pokazuje sezonsku dinamiku, uz veći sadržaj ranije u vegetacijskom ciklusu, s izuzetkom Ca, Fe i B (Domínguez i sur., 2009.). U ovom istraživanju su najveće razlike između mladih biljaka u jesenskom pokusu i starijih biljaka u proljetnom pokusu utvrđene kod koncentracija N, K i P u suhoj tvari lista (*Slika 13*). Ovi makroelementi su bili prisutni u znatno većoj koncentraciji u mladim biljkama (jesenski pokus). S druge strane, koncentracije Ca i Mg se nisu značajno razlikovale između mladih i starijih biljaka.



Slika 13. Koncentracije makroelemenata u listu jagoda u jesenskom i proljetnom pokusu po varijantama gnojidbe (F100 - standardna gnojidba; F50 - 50% manja gnojidba s N i K u razdoblju plodonošenja).



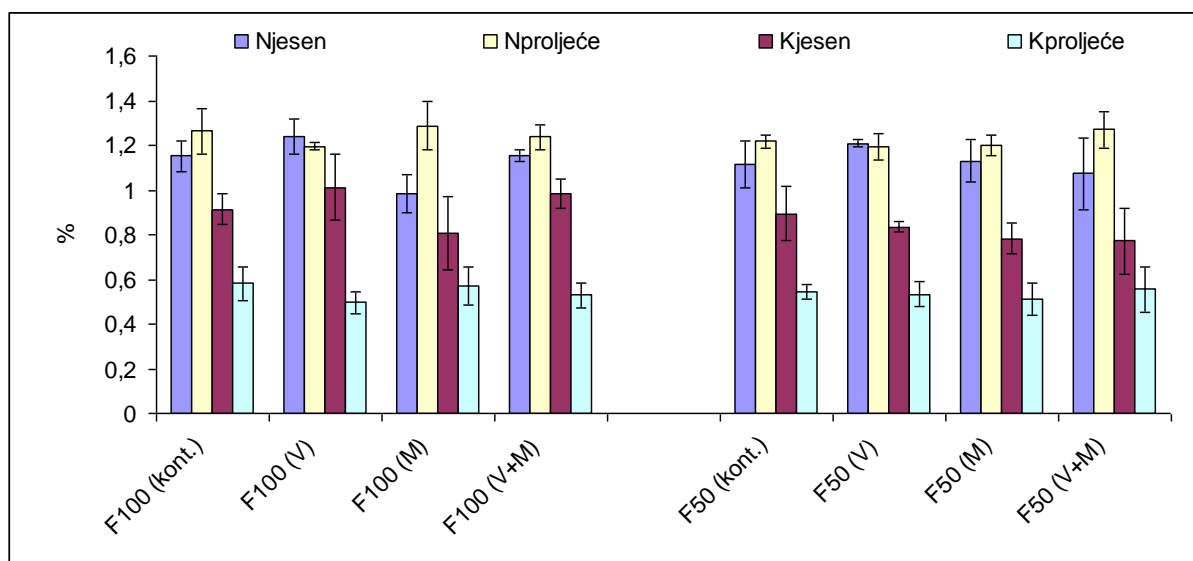
Slika 14. Sadržaji mikroelemenata u listu jagoda u jesenskom i proljetnom pokusu po varijantama gnojidbe (F100 - standardna gnojidba; F50 - 50% manja gnojidba s N i K u razdoblju plodonošenja).

Sadržaji mikroelemenata u listu su se također razlikovali ovisno o starosti biljaka, a najveća razlika je bila utvrđena kod Mn te Fe, čiji su sadržaji bili izrazito veći u mladim biljkama (*Slika 14*). Ristow i sur. (2009.) su utvrdili da pri primjeni standardne i do 2,5x povećane NPK gnojidbe kod dvije sorte jagoda pri uzgoju u tlu, nema razlike u koncentraciji elemenata u listu. Usporedbom s graničnim koncentracijama makroelemenata u listu jagode (Pritts, 1998.; Bergman, 1983.), koncentracija N u proljetnom pokusu (*Tablica 23*) ukazuje na njegov mali nedostatak (manje od 2,5% prema Bergman, 1983.), a u jesenskom pokusu (*Tablica 8*) prelazi granice optimalnog raspona (2,8% odnosno 3,2%). Koncentracija K u listu je u oba pokusa bila u granicama optimalnih vrijednosti (1,5 – 2,5%, prema Bergman, 1983.). To upućuje na zaključak da reduciranom gnojidbom u razdoblju plodonošenja u cjelini nije došlo do značajnijeg nedostatka N i/ili K, jer nisu uočeni simptomi jačeg nedostatka ovih hraniva. Također, u oba pokusa je utvrđena vrlo značajna pozitivna korelacija između koncentracije N i K u listu jagoda (jesenski pokus: $r=0,929^{**}$; proljetni pokus: $r=0,958^{**}$).

Obzirom na primijenjene varijante gnojidbe u feno-fazi plodonošenja, mineralni sastav biljnog materijala pokazuje da se i reduciranom gnojidbom mogu zadovoljiti potrebe biljke za hranivima u tom razdoblju. Prema analizama mineralnog sastava lista i korijena, u najvećem broju slučajeva nije bilo značajne razlike u koncentraciji hraniva između varijanata gnojidbe

(list - *Tablice 23 i 24* za proljetni pokus; *Tablice 8 i 9* za jesenski pokus; korijen – *Tablice 11 i 26*). Varijante gnojidbe u proljetnom pokusu nisu značajno utjecale na koncentracije N i K u korijenu jagoda, dok je u jesenskom pokusu reducirana gnojidba značajno smanjila koncentraciju K u korijenu (*Tablice 11 i 26; Slika 15*). Koncentracija P u korijenu je u proljetnom pokusu bila manja kod reducirane gnojidbe (*Tablica 26*).

Tretman biostimulatorima ukupno je imao značajan utjecaj na koncentraciju N i P u korijenu jagoda u jesenskom pokusu ($N - P \leq 0,0204$; $P - P \leq 0,0211$; *Tablica 11*). Najveća koncentracija N i P izmjerena je u korijenu biljaka jagoda tretiranih Vivom, no te se vrijednosti nisu statistički značajno razlikovale od kontrolnih biljaka. Istodobno, supstrat je nakon tretmana Vivom sadržavao najnižu koncentraciju nitrata ($15,63 \text{ mg kg}^{-1}$) (*Tablica 1*). Koncentracija P u korijenu je kod biljaka tretiranih Megafolom i kombinacijom biostimulatora bila značajno manja nego u netretiranim biljkama. U proljetnom pokusu je tretman kombinacijom biostimulatora (Viva+Megafol) također značajno negativno utjecao na koncentraciju P u korijenu (*Tablica 26*).



Slika 15. Koncentracije N i K u korijenu jagoda u jesenskom i proljetnom pokusu pri 100% gnojidbi (F100) i 50% gnojidbi (F50) kod kontrolnih biljaka (kont.), biljaka tretiranih Vivom (V), Megafolom (M) i kombinacijom Vive i Megafola (V+M). Na stupcima je označena standardna devijacija.

U istraživanju koje su proveli Rathore i sur. (2009.), primjena biostimulatora na bazi ekstrakta morskih algi poboljšala je primanje hraniva (N, P, K i S) kod slame i zrna soje (*Glycine max*). Također, tretman K-humatom klijanaca istočnjačke tuje (*Thuja orientalis* L.) u istraživanju Zaghloul i sur. (2009.) je imao pozitivan utjecaj na parametre rasta i usvajanje N,

P i K, djelujući na poboljšanu apsorpciju ili translokaciju spomenutih hraniva. Prema Malcom i Vanghan (1999.), huminska kiselina održava visoku aktivnost kisele fosfataze što dovodi do povećanog primanja fosfora od strane biljaka. Utvrđeno je da huminska kiselina ima djelovanje slično hormonima, jer je vrlo vjerojatno da se biljni regulatori rasta kao npr. IAA mogu adsorbirati na humate koji tada sinergistički djeluju na razvoj biljaka (Arancon i sur., 2003.). Biostimulatori koji sadrže huminsku kiselinu mogu imati utjecaj na hormonalni status biljke, kao što je utvrđeno u istraživanju Abdel-Mawgoud i sur. (2007.), gdje je tretman biljaka rajčice biostimulatorom Grow-Plex SP povećao koncentraciju auksina (IAA), citokinina (ZR) i giberelina (GA_3). Osim što djeluju indirektno na primanje hraniva preko hormonalnog statusa biljke, biostimulatori također mogu direktno djelovati na primanje hraniva u biljku. Glavna pokretačka sila za usvajanje hraniva je elektrokemijski gradijent na biomembranama, za stvaranje kojeg je odgovoran enzim H^+ -ATP-aza (Gilroy i Jones, 2000.). Glavnu ulogu u regulaciji enzimske aktivnosti H^+ -ATP-aze imaju IAA (Tanimoto, 2005.) i polisaharidi koji su važni za vezivanje 14-3-3 proteina na H^+ -ATP-azu, a potrebni su za njenu aktivaciju fosforilacijom (Camoni i sur., 2006.). Stoga se može pretpostaviti da Viva, budući da sadrži polisaharide i huminsku kiselinu, može utjecati na aktivnost ATP-aze koja regulira transport iona i na taj način stimulira usvajanje hraniva. Do slične pretpostavke došli su i Mugnai i sur. (2008.). Funkcija biostimulatora u stimulaciji usvajanja hraniva utvrđena je i na razini korijena (Vernieri i sur., 2006.) i na razini lista (Mancuso i sur., 2006.). U jesenskom pokusu, međutim, nije bilo statistički značajnog utjecaja biostimulatora na koncentraciju Ca u listu (*Tablica 9*), dok je u proljetnom pokusu tretman biostimulatorima bio značajan samo za koncentraciju Ca u pozitivnom i Cu u negativnom smislu (*Tablica 24*). Povećana koncentracija Ca u listu je utvrđena u tretmanu s Megafolom i kombinacijom biostimulatora. U proljetnom pokusu su sve varijante biostimulatora pozitivno utjecale na akumulaciju Ca u korijenu jagode, a usporedo je tretman Megafolom i Vivom smanjio koncentraciju Ca u supstratu u odnosu na kontrolu (*Tablica 16*). S obzirom na važnu ulogu Ca za kvalitetu ploda, pozitivno djelovanje biostimulatora na usvajanje Ca može biti od velikog značaja u drugoj sezoni plodonošenja jagoda.

Primijenjene razine gnojidbe nisu značajno utjecale na koncentraciju Ca i Mg u korijenu biljaka jagoda ni u proljetnom (*Tablica 26*) niti u jesenskom pokusu (*Tablica 11*). U oba pokusa je utvrđena negativna korelacija između koncentracija Ca i Mg u korijenu (jesenski pokus: $r=-0,747^*$, proljetni pokus: $r=-0,768^*$), što prema Locascio i Saxena (1967.) te prema Faust (1989.) ukazuje na mogući antagonizam pri usvajanju i akropetalnom kretanju spomenutih elemenata. Međutim, prema analizama mineralnog sastava lista jagoda u ovom

istraživanju taj antagonizam nije utvrđen. U istraživanju gnojidbe jagoda različitim dozama i vrstama K-soli (sulfat, klorid, bikarbonat), Lisjak i sur. (2008.) nisu ustanovili značajnost utjecaja gnojidbe s K na koncentraciju Ca u suhoj tvari lista, dok je u slučaju Mg utvrđeno značajno smanjenje kod primjene veće doze K. Navedeni autori su istraživanja proveli u vertikalnom uzgoju sorte Elsanta u plasteniku u jesenskom razdoblju, pri čemu je gnojidba primjenjivana na vrh vertikale s 8 posuda po 4 biljke. U jesenskom pokusu našeg istraživanja je koncentracija K u listu jagoda bila u negativnoj korelaciji s Ca i u pozitivnoj korelaciji s Mg, dok u proljetnom pokusu u biljkama nakon tretmana K nije korelirao s navedenim elementima mineralne ishrane. Može se pretpostaviti da su ovako različiti odnosi koncentracija K, Ca i Mg u suhoj tvari lista jagode sorte Elsanta uvjetovani specifičnostima uzgoja i eksperimentalnim uvjetima, kao što su doza i oblik pojedinog hraniva.

Vrijednosti sadržaja mikroelemenata u korijenu i u listu općenito su bile veće u biljkama nakon jesenskog pokusa (*Tablica 11 i 9*). Značajnost korelacija u proljetnom pokusu između Ca i mikroelemenata u listu nije potvrđena, za razliku od jesenskog pokusa kada su utvrđene vrlo značajne pozitivne korelacije Ca:Fe ($r=0,680^{**}$) i Ca:Mn ($r=0,687^{**}$). Značajnost tih korelacija potvrđena je i u istraživanju Khayyat i sur. (2009.) na biljkama jagoda u uvjetima solnog stresa.

Prema Sarli i sur. (2009.), suvremene gnojidbene tehnike u kontekstu eko-kompatibilne poljoprivrede uključuju stupnjevito smanjenje primjene kemijskih gnojiva i sintetskih proizvoda, koji u slučaju nepravilne primjene mogu postati izvori onečišćenja okoliša. González i Acuña (2009.) su na temelju analize mineralnog sastava lista jagode sorte Camarosa, nakon dvogodišnjeg pokusa na vulkanskom tlu, zaključili da jagode mogu postići standardni urod i bez primjene gnojiva u godini zasnivanja nasada jer su negnojene biljke imale normalne razine P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Mn i B, a N i Zn nešto ispod kritičnih vrijednosti za list, ali bez pojave simptoma nedostatka. Također, broj odbačenih plodova je bio veći na varijanti sa standardnom gnojidbom.

Obzirom na potencijalni ekološki značaj primjene biostimulatora, može se zaključiti da je na temelju sadržaja zaostalih nitrata u supstratu nakon završetka eksperimentalnog razdoblja u jesenskom pokusu (*Tablica 1*), folijarno primijenjeni Megafol mladim biljkama predstavljao dodatni izvor lako pristupačnog organskog dušika. Naime, u varijanti s tim biostimulatorom je utvrđen najveći sadržaj nitrata u supstratu, dok je u tretmanu s Vivom, koja je primijenjena zalijevanjem, sadržaj nitrata u supstratu bio najmanji, a koncentracija N i K u korijenu biljaka najveća. Nameće se pretpostavka da je tretman Vivom stimulirao usvajanje nitratnog N kao i K iz hranjive otopine u supstratu preko korijena. U proljetnom pokusu, u kojem su tretirane

biljke bile stare 10 mjeseci, nisu utvrđene značajne razlike u sadržaju nitrata u supstratu pojedinih varijanata primjene biostimulatora (*Tablica 16*), vjerojatno uslijed potencijalnih rezervi N u biljkama iz prethodnog dijela vegetacije i manje izraženog utjecaja biostimulatora na usvajanje hraniva. Stoga je s aspekta smanjenja gubitaka pri gnojidbi te smanjenja opterećenja okoliša nitratima, preporučljiva primjena biostimulatora u prvoj godini plodonošenja, kada su N i K od izuzetnog značaja za rast i produktivnost jagode u uvjetima plastičkog uzgoja u tresetnom supstratu.

Utjecaj biostimulatora i gnojidbe na antioksidativni status lista jagode

Tehnika hidroponskog uzgoja jagoda zahtijeva veliko početno novčano ulaganje te poznavanje rasta i ishrane biljaka. Sorte jagoda trenutno dostupne na tržištu zahtijevaju sukcesivna istraživanja koja bi u konačnici dala nove spoznaje o uspješnim prilagodbama na kontrolirane uvjete uzgoja (Takeda, 2000.). Prema Kempler (2004.), Elsanta je najpopularnija sorta jagoda kratkog dana, te je jedna od najtraženijih na tržištu u UK zbog svoje sposobnosti prilagodbe na različite tipove tla i supstrata, kao i mogućnosti postizanja visokog priroda uz odgovarajuću kvalitetu ploda. Pri uzgoju biljaka u zaštićenim prostorima poput staklenika i plastenika, ukoliko se primjenjuju različiti inertni supstrati ili supstrati na bazi treseta, važna je dinamika doziranja hraniva kroz sustav navodnjavanja jer je u takvim uvjetima, za razliku od uzgoja u tlu, status hraniva u supstratu određen svojstvima supstrata. Prije svega, to se odnosi na vododržuću sposobnost supstrata, jer suhi supstrat ima veliku poroznost uslijed čega može doći do značajnog gubitka hranjive otopine perkolacijom. U takvim uvjetima, kada se smjenjuju faze vrlo niske i vrlo visoke vlažnosti u zoni korijena, može doći do osmotskog i solnog stresa uslijed lokalno povećane koncentracije hraniva. Utvrđeno je da se u uvjetima solnog stresa kod tolerantnih genotipova jagoda aktiviraju antioksidacijski mehanizmi koji uključuju sintezu prolina i drugih osmoprotektanata, neutralizaciju slobodnih kisikovih radikala antioksidacijskim enzimima i različitim sekundarnim produktima metabolizma (fenolni spojevi, antocijanini, vitamini) (Turhan i sur., 2008.). Zbog svega navedenog, da bi biljke mogle maksimalno iskoristiti dostupna hraniva bez pojave oksidacijskog stresa, potrebno je pažljivo prilagođavati koncentraciju hranjive otopine i ukupnu razinu gnojidbe, u skladu s razvojnim stadijem biljke, temperaturom okoline i intezitetom osvjetljenja. U ovom istraživanju, jedan od ciljeva je bio utvrditi antioksidativni status listova jagode, u uvjetima

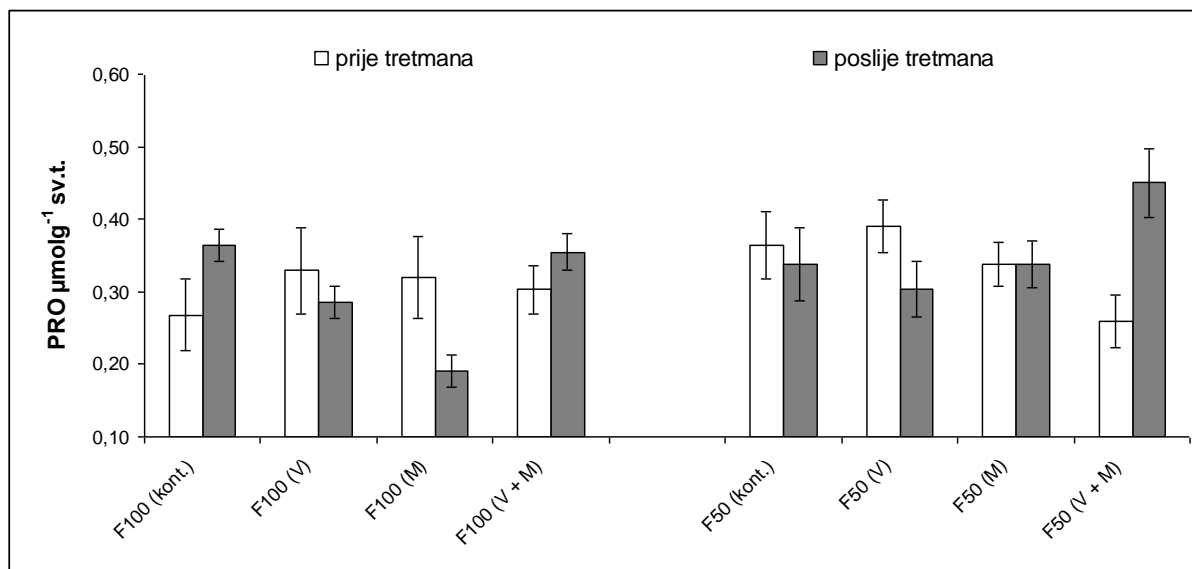
različite gnojidbe N i K u fazi plodonošenja, kao i potencijalni kapacitet biostimulatora za smanjenje stresa u biljkama.

Nakupljanje aminokiseline prolina smatra se jednim od glavnih pokazatelja osmotskog stresa (Ashraf i Foolad, 2007., Verbruggen i Hermans, 2008.). Međutim, u okviru ovog istraživanja, iako je pojava solnog stresa bila očekivana, koncentracija slobodnog prolina u listovima nije bila značajno povišena, što ukazuje da biljke nisu bile izložene solnom stresu. Štoviše, u jesenskom pokusu, koncentracija PRO je nakon tretmana bila značajno manja nego na početku pokusa (0,306 u odnosu na 0,493 $\mu\text{mol g}^{-1}$ sv.t., *Tablica 3*), dok se u proljetnom pokusu koncentracija slobodnog PRO nakon tretmana nije značajno promijenila (*Tablica 18*). Poznato je da translokacija aminokiselina u biljne meristeme, tkiva u razvoju i reproduktivne organe podržava njihov rast i razvoj (Kavi Kishor i sur., 2005.). Stoga se smanjenje koncentracije slobodnog prolina u listu mladih, intenzivno rastućih biljaka jagoda u jesenskom pokusu može objasniti njegovim iskorištenjem u sintezi proteina potrebnih za rast i razvoj mladih biljaka.

U jesenskom pokusu se nakon tretmana mogao uočiti značajan utjecaj gnojidbe ($P \leq 0,0021$), pri čemu je koncentracija PRO bila značajno manja pri reduciranoj gnojidbi (*Tablica 4*). Robinson i Hodges (1977.) su utvrdili da je u listovima livadne vlasulje gnojidba s N bila u pozitivnoj korelaciji sa sadržajem pojedinih aminokiselina, između ostalih i prolina, bez obzira na izvor dušika koji je bio primijenjen. U istraživanju koje je provela Atanasova (2008.) dobivena je pozitivna korelacija između razine gnojidbe s N i koncentracije aminokiselina u listu kupusa. U jesenskom pokusu u našem istraživanju, također je utvrđena pozitivna korelacija između koncentracije PRO i N u listu ($r=0,904^{**}$; *Tablica 10*).

U proljetnom pokusu, koncentracija PRO pri reduciranoj gnojidbi bila je u listovima biljaka tretiranih kombinacijom biostimulatora Vive i Megafola značajno veća nego u kontrolnim biljkama i biljkama tretiranim pojedinačnim biostimulatorima (*Slika 16*). Rethwisch i sur. (2004.) navode da Megafol sadrži velik broj aminokiselina, među kojima i prolin te stoga tretman Megafolom za biljku predstavlja egzogeni izvor prolina. S druge strane, jedan od glavnih sastojaka Vive je huminska kiselina, uz koju također sadrži i različite aminokiseline te vitamine. Analizom ekstrakta huminske kiseline utvrđeno je da oni sadrže auksine (Muscolo i sur., 1998.) i poliamine putrescin, spermidin i spermin (Young i Chen, 1997.). U istraživanju Saruhan i sur. (2006.) utvrđeno je da egzogena aplikacija poliamina (putrescina i spermidina) uzrokuje akumulaciju prolina i reducirajućih šećera u listovima biljke *Ctenanthe setosa*. Jiménez-Bremont i sur. (2006.) su utvrdili pozitivan utjecaj aplikacije

poliamina na koncentraciju prolina u listu graha. Pojedinačno primijenjeni biostimulatori Viva i Megafol, međutim, nisu imali pozitivan utjecaj na koncentraciju PRO u listovima jagode te se stoga može pretpostaviti da je pozitivan utjecaj koji su ovi biostimulatori imali kada su primijenjeni u kombinaciji posljedica sinergijskog učinka njihovih komponenata.



Slika 16. Koncentracija prolina (PRO; $\mu\text{mol g}^{-1}$ sv.t.) u proljetnom pokusu pri 100 % gnojidbi (F100) i 50 % gnojidbi (F50) kod kontrolnih biljaka (kont.), biljaka tretiranih Vivom (V), Megafolom (M) i kombinacijom Vive i Megafola (V+M). Na stupcima je označena standardna devijacija.

Askorbinska kiselina je važan antioksidans koji zajedno s ostalim komponentama antioksidativnog sustava štiti biljne stanice od štetnog djelovanja oksidativnog stresa, no smatra se da ona također ima ulogu i u produžnom rastu stanica i kontroli staničnih dioba (Smirnoff, 1996.). U oba se pokusa, jesenskom i proljetnom, koncentracija AA u listu nakon trodnevnog tretmana značajno povećala, no na povećanje koncentracije značajan utjecaj nisu imali ni tretman biostimulatorima niti različite razine gnojidbe (*Tablice 3 i 18*). Visoke koncentracije AA u listu u fazi plodonošenja u oba pokusa vjerojatno su barem djelomično rezultat njene intenzivne biosinteze u listovima uslijed povećanih potreba za ovom kiselinom u rastućim plodovima. Naime, utvrđeno je da plodovi u ekspanzivnoj fazi razvoja sadrže visoke koncentracije askorbinske kiseline (Yahia i sur., 2001.; Li i sur., 2008.). Askorbinska kiselina se u plodove transportira floemom iz listova koji su njen glavni izvor (Franceschi i Tarlyn, 2002.).

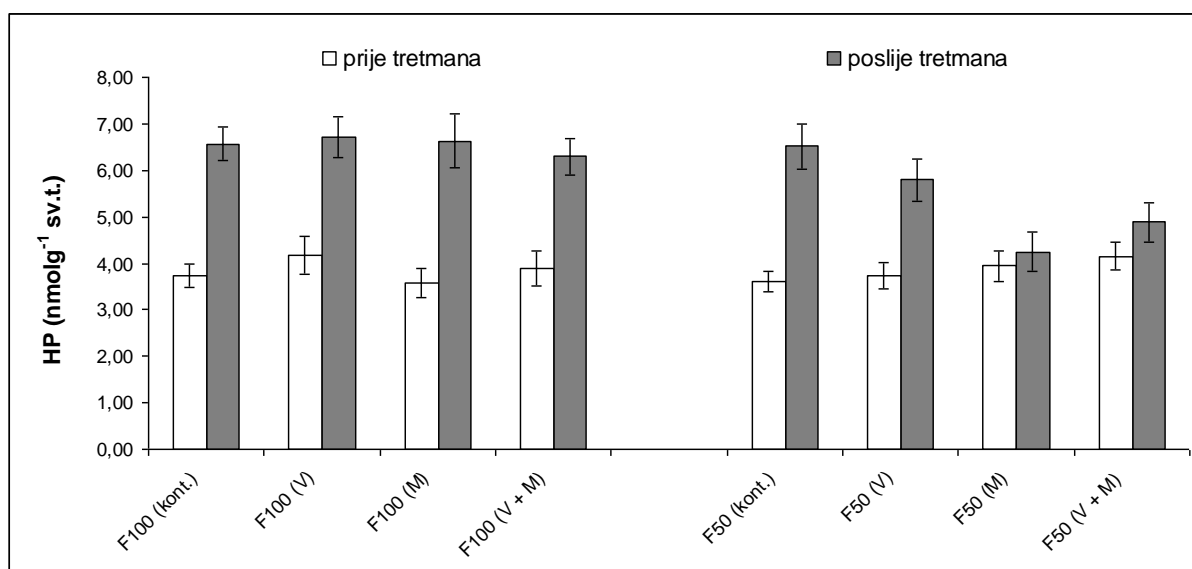
Uzimajući u obzir oba termina uzorkovanja, koncentracija AA je u listu značajno pozitivno korelirala sa sadržajem PHE, i u proljetnom (*Tablica 22*; $r=0,563^*$) i u jesenskom pokusu

(Tablica 7; $r=0,898^{**}$). Također, pozitivna korelacija utvrđena je između koncentracije PRO i sadržaja PHE u plodu u proljetnom pokusu (Tablica 22; $r=0,536^*$) te koncentracije PRO i sadržaja AC u plodu u jesenskom pokusu (Tablica 7; $r=0,883^{**}$). Randhir i Shetty (2007.) su utvrdili da kod graha tretman askorbinskom kiselinom potiče sintezu fenola stimulacijom fenilpropanoidnog puta. Autori su također utvrdili pozitivnu korelaciju između sinteze fenola i aktivnosti enzima glukoza-6-fosfat dehidrogenaze koja vjerojatno ima ulogu u mobilizaciji šećera prema fenilpropanoidnom putu. Tretman askorbinskom kiselinom također je uzrokovao značajno povećanje koncentracije prolina, vjerojatno preko stimulacije pentoza fosfatnog puta kojim se proizvodi NADPH potreban za njegovu biosintezu. To je u skladu s modelom koji povezuje prolin i pentoza fosfatni put, odnosno pentoza fosfatni put i fenilpropanoidni put (Shetty i Wahlqvist, 2004.). Prema ovom modelu, biosinteza prolina zajedno s pentoza fosfatnim putem stimulira sintezu NADPH₂ i šećernih fosfata za anaboličke puteve, kao što su putevi biosinteze fenola ili putevi uključeni u antioksidativni odgovor biljke. Stoga se može pretpostaviti da su pozitivne korelacije AA i PHE, PRO i PHE te PRO i AC posljedica navedenih složenih metaboličkih puteva. Ovi putevi imaju vitalnu ulogu u održavanju stanične homeostaze, koja je ključni signalni element prilagodbe biljke na stresne uvjete i važan faktor modulacije enzimskog antioksidativnog odgovora u biljnim stanicama.

U proljetnom pokusu, koncentracija vodikovog peroksida (HP) u listovima bila je nakon tretmana značajno veća nego na početku pokusa ($5,955 \text{ nmol g}^{-1}\text{sv.t.}$ nakon tretmana u odnosu na $3,851 \text{ nmol g}^{-1}\text{sv.t.}$ prije tretmana, $P<0,0001$, Tablica 18). Ova povećana koncentracija HP vjerojatno je posljedica nedostatka dušika u listovima koji je u proljetnom pokusu utvrđen kod obje varijante gnojidbe. Shin i Schachtman (2004., 2005.) su utvrdili da manjak K uzrokuje akumulaciju vodikovog peroksida u korijenu i listovima kod vrste *Arabidopsis thaliana* i kukuruza te da manjak N kod *Arabidopsis thaliana* dovodi do akumulacije vodikovog peroksida u korijenu. Kod kukuruza u hidroponskom uzgoju nedostatak N također dovodi do akumulacije vodikovog peroksida u listovima (Kumar Tewari i sur., 2004.). Tretman Megafolom i kombinacijom biostimulatora kod 50% varijante gnojidbe značajno je smanjio koncentraciju HP u odnosu na kontrolne biljke i tretman Vivom (Slika 17). Ovo smanjenje koncentracije HP kod biljaka tretiranih biostimulatorima pri reduciranoj gnojidbi vjerojatno je posljedica pozitivnog učinka kojeg su Megafol i njegova kombinacija s Vivom imali na cjelokupni fiziološki status biljke, a time i na njenu otpornost na oksidacijski stres.

Analize mineralnog sastava su pokazale da u jesenskom pokusu biljke nisu bile izložene nedostatku dušika. Istodobno, koncentracija HP u kontrolnim biljkama nakon pokusa nije bila

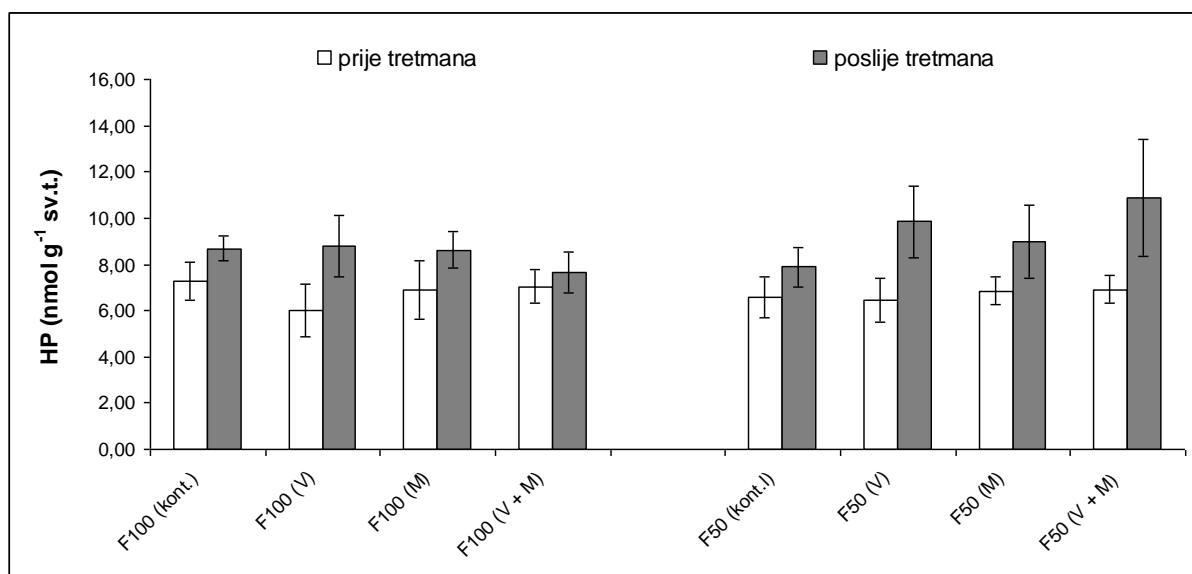
značajno povećana te također nije utvrđeno značajno povećanje lipidne peroksidacije u listovima. Međutim, koncentracija HP u jesenskom pokusu bila je značajno povećana pri pojedinačnom tretmanu Vivom i Megafolom kod obje varijante gnojidbe i pri tretmanu kombinacijom Vive i Megafola kod reducirane gnojidbe (*Slika 18*). Ove povećane razine HP mogu se tumačiti stimulativnim učinkom biostimulatora na metaboličke procese intenzivno rastućih mladih biljaka u prvoj vegetacijskoj sezoni. Naime, vodikov peroksid u biljnim stanicama normalno nastaje tijekom različitih procesa kao što su fotosinteza i stanično disanje, ali i tijekom procesa učvršćivanja stanične stijenke (Schopfer, 1996., Šlesak i sur., 2007.). S druge strane, vodikov peroksid može imati ulogu signalne molekule tijekom rasta i razvoja biljke (Šlesak i sur., 2007.; Quan i sur., 2008.).



Slika 17. Koncentracija vodikovog peroksida (HP; nmol g⁻¹ sv.t.) u proljetnom pokusu pri 100% gnojidbi (F100) i 50% gnojidbi (F50) kod kontrolnih biljaka (kont.), biljaka tretiranih Vivom (V), Megafolom (M) i kombinacijom Vive i Megafola (V+M). Na stupcima je označena standardna devijacija.

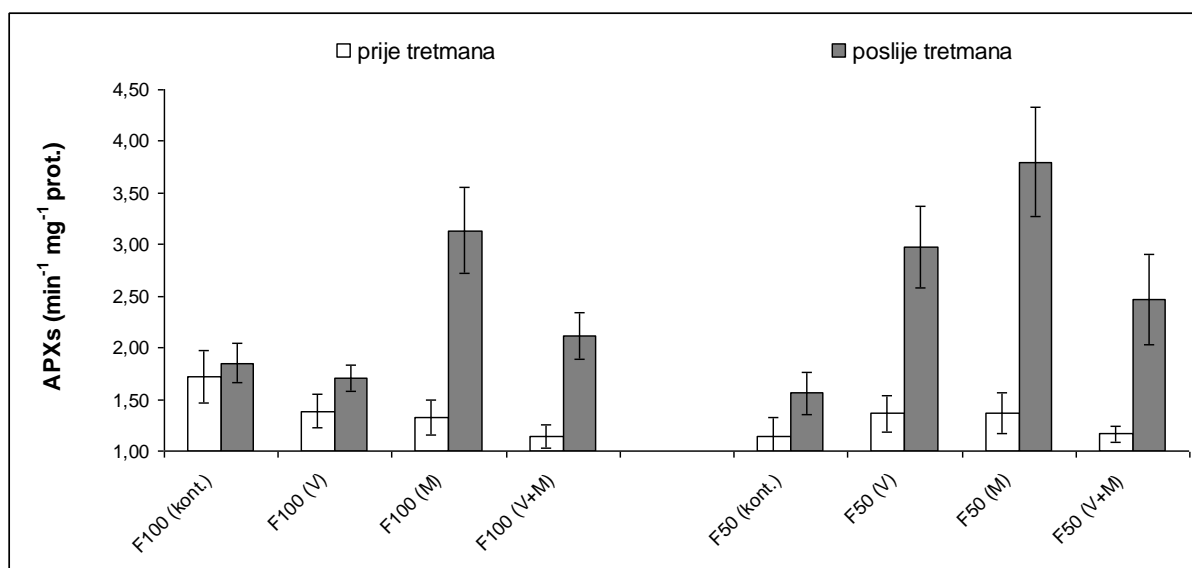
Aktivnost antioksidativnih enzima u listovima se znatno razlikovala u jesenskom i proljetnom pokusu, što je vjerojatno posljedica različitog metaboličkog statusa biljaka zbog njihove različite starosti. Aktivnosti antioksidativnih enzima su u mladim biljkama u jesenskom pokusu općenito bile znatno veće nego u starijim biljkama u proljetnom pokusu (*Tablice 5 i 20*). Tendenciju opadanja antioksidativne aktivnosti sa starošću listova utvrdili su Yamane i sur. (2009.) kod riže, što su povezali sa smanjenom otpornošću biljaka na oksidativni stres. U istraživanju koje su proveli Dertinger i sur. (2003.) na duhanu, utvrđeno je da aktivnosti antioksidativnih enzima dostižu svoj maksimum na početku razvoja listova te da se starenjem lista smanjuju. Autori stoga smatraju da je antioksidativni kapacitet povezan s

metabolizmom biljke i da njegovo slabljenje sa starošću biljke nije uzrok, već posljedica starenja same biljke.

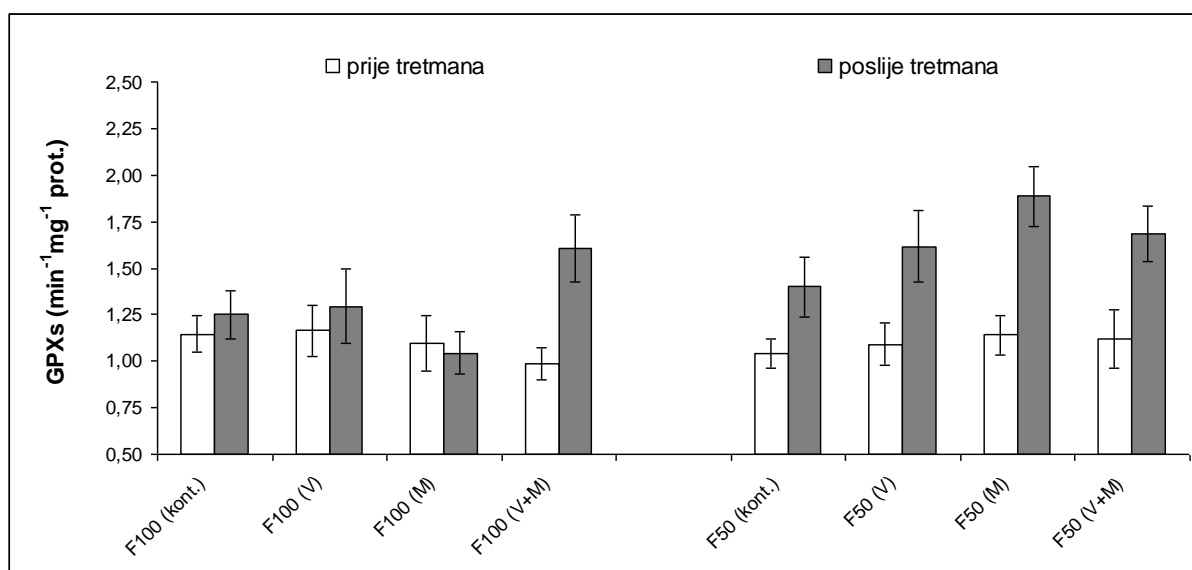


Slika 18. Koncentracija vodikovog peroksida (HP; nmol g⁻¹ sv.t.) u jesenskom pokusu pri 100% gnojidbi (F100) i 50% gnojidbi (F50) kod kontrolnih biljaka (kont.), biljaka tretiranih Vivom (V), Megafolom (M) i kombinacijom Vive i Megafola (V+M). Na stupcima je označena standardna devijacija.

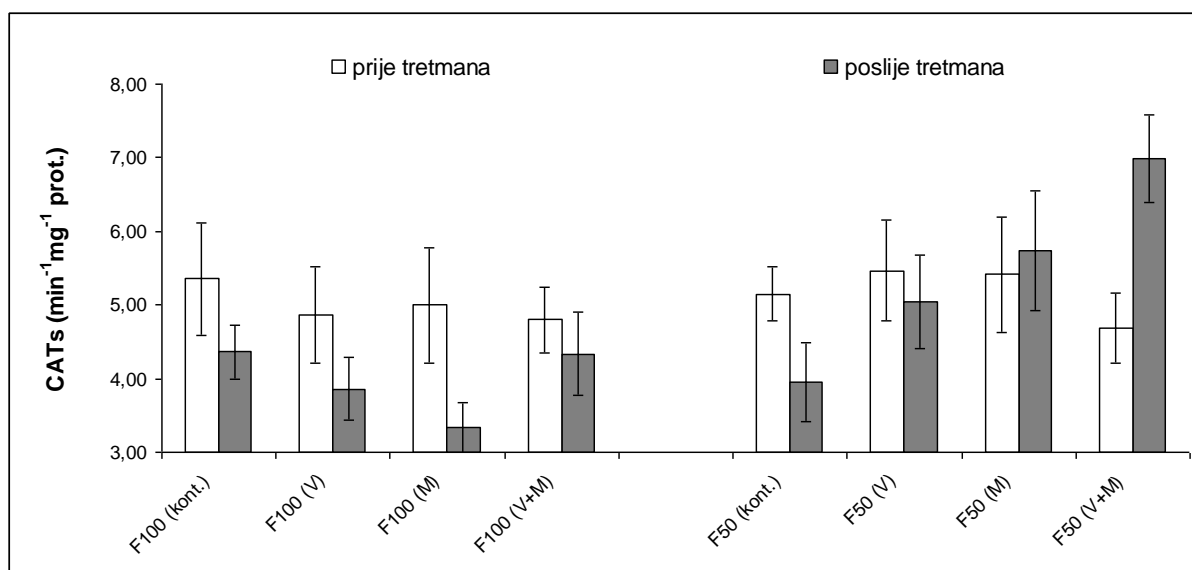
U jesenskom pokusu, specifične aktivnosti gvajakol peroksidaze (GPXs) i glutation reduktaze (GRs) se nakon tretmana nisu značajno promijenile. S druge strane, specifične aktivnosti askorbat peroksidaze (APXs) i katalaze (CATs) su bile značajno povećane, no na njih nisu utjecali ni varijanta gnojidbe, niti tretman biostimulatorima (*Tablica 5*). Tretman biostimulatorima imao je značajan pozitivan utjecaj samo na GRs: tretman Megafolom i kombinacijom biostimulatora značajno je povećao GRs u listovima u odnosu na kontrolu (*Tablica 6*). U proljetnom su pokusu nakon tretmana bile značajno povećane APXs, GPXs i GRs (*Tablica 20*). Aktivnost navedena tri antioksidativna enzima bila je u biljkama tretiranim biostimulatorima značajno veća nego u kontrolnim biljkama, a utjecaj biostimulatora na povećanje aktivnosti bio je znatno snažniji pri reduciranoj gnojidbi (*Slike 19-22*). CATs je u biljkama tretiranim Megafolom i kombinacijom Vive i Megafola bila značajno veća nego u kontrolnim biljkama, ali samo pri reduciranoj gnojidbi (*Slika 21*).



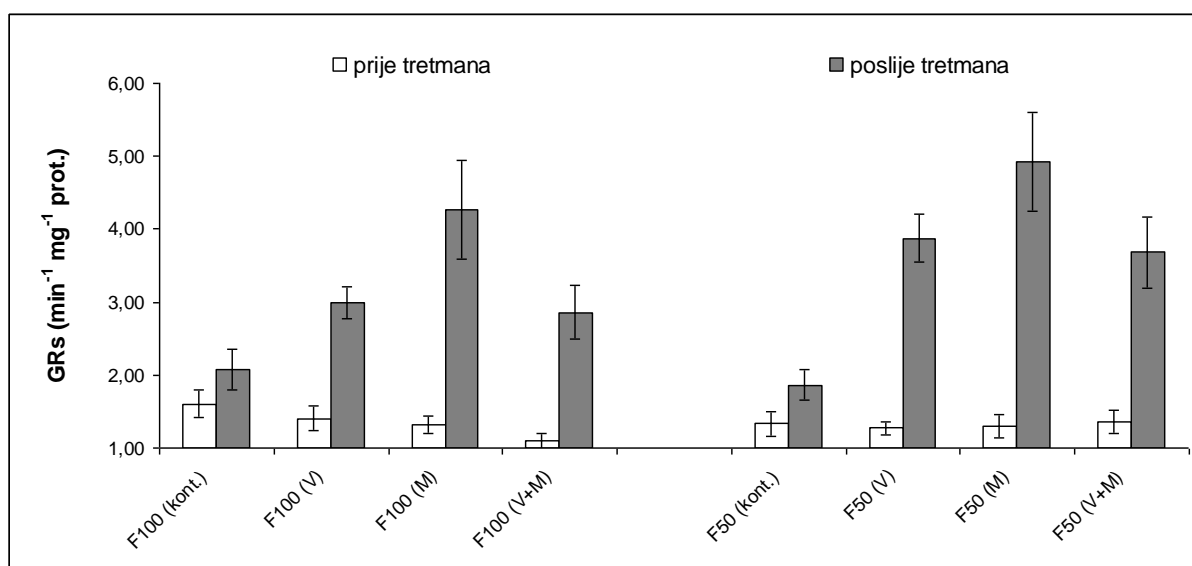
Slika 19. Specifične aktivnosti askorbat peroksidaze (APXs; min⁻¹mg⁻¹ prot.) u proljetnom pokusu pri 100% gnojidbi (F100) i 50% gnojidbi (F50) kod kontrolnih biljaka (kont.), biljaka tretiranih Vivom (V), Megafolom (M) i kombinacijom Vive i Megafola (V+M). Na stupcima je označena standardna devijacija.



Slika 20. Specifične aktivnosti gvajakol peroksidaze (GPXs; min⁻¹mg⁻¹ prot.) u proljetnom pokusu pri 100% gnojidbi (F100) i 50% gnojidbi (F50) kod kontrolnih biljaka (kont.), biljaka tretiranih Vivom (V), Megafolom (M) i kombinacijom Vive i Megafola (V+M). Na stupcima je označena standardna devijacija.



Slika 21. Specifične aktivnosti katalaze (CAT; $\Delta A \text{ min}^{-1}\text{mg}^{-1} \text{ prot.}$) u proljetnom pokusu pri 100% gnojidbi (F100) i 50% gnojidbi (F50) kod kontrolnih biljaka (kont.), biljaka tretiranih Vivom (V), Megafolom (M) i kombinacijom Vive i Megafola (V+M). Na stupcima je označena standardna devijacija.



Slika 22. Specifične aktivnosti glutathione reductaze (GR; $\Delta A \text{ min}^{-1}\text{mg}^{-1} \text{ prot.}$) u proljetnom pokusu pri 100% gnojidbi (F100) i 50% gnojidbi (F50) kod kontrolnih biljaka (kont.), biljaka tretiranih Vivom (V), Megafolom (M) i kombinacijom Vive i Megafola (V+M). Na stupcima je označena standardna devijacija.

Utjecaj biostimulatora na aktivnost antioksidativnih enzima bio je znatno veći u proljetnom pokusu, što je vjerojatno odraz pozitivnog učinka biostimulatora na metabolički odgovor biljke u uvjetima poremećaja ishrane dušikom. Prema Kandlbinder i sur. (2004.) smanjenje nutritivnog statusa može na biljku imati dva suprotna razvojna i metabolička učinka: 1)

tijekom adaptacijskog odgovora biljke koordinacijskim djelovanjem usporavaju rast na razini svakog pojedinog organa, dok metabolička aktivnost ostaje u vrijednostima jednakim onima u biljkama s dostatnom ishranom, 2) dolazi do poremećaja u razvoju i funkcijama same biljke, odnosno biljka je izložena stresu. Prema Cakmak (2005.a), kod različitih biljnih vrsta pri nedostatku N dolazi do smanjenja iskorištenja svjetlosne energije i posljedično tomu povećane potrebe za zaštitom od fotooksidativnih oštećenja, a ovi su učinci još izraženiji u kombinaciji s nekim okolišnim stresom. S druge strane, u listovima s nedostatkom K zbog poremećaja u fiksaciji CO₂ te smanjenog iskorištenja asimilata u listovima, neizbježna je povećana produkcija ROS-a što u konačnici također dovodi do fotooksidativnih oštećenja (Cakmak, 2005.b). U istraživanju Kim i sur. (2010.) je utvrđeno da kod vrste *Arabidopsis thaliana* uslijed nedostatka K dolazi do povećanja aktivnosti RCI3 (prirodnika razreda III peroksidaza), što upućuje na to da je ova peroksidaza komponenta signalnog puta uključenog u odgovor biljke na niske koncentracije K u korijenu.

Povećane aktivnosti antioksidativnih enzima uslijed izloženosti stresnim uvjetima koreliraju s povećanom otpornošću na stres (Allen, 1995.; Gechev i sur., 2002.). U istraživanju Feitosa de Vasconcelos i sur. (2009.), u biljkama kukuruza izloženim suši nakon tretmana jednim od tri ispitivana biostimulatora, aktivnosti superoksid dismutaze i askorbat peroksidaze bile povećane, dok se aktivnost katalaze nije promijenila. Istraživanje koje su proveli Kauffman III i sur. (2007.) pokazalo je da egzogena, uzastopna primjena biostimulatora FOLIAR-a u kontroliranim uvjetima uzgojne komore poboljšava metabolički odgovor engleskog ljujla na stres uslijed visokih temperatura. U istraživanju koje su proveli Górnik i sur. (2007.), tretman biostimulatorom Asahi SL povećao je otpornost vinove loze na stres uzrokovan visokim temperaturama i sušom te je pozitivno djelovao na rast u slijedećoj vegetacijskoj sezoni. U proljetnom pokusu, tretman biostimulatorima je u većini slučajeva pozitivno djelovao na aktivnost antioksidativnih enzima te tako poboljšao antioksidativni status biljke u uvjetima blagog poremećaja ishrane dušikom. Tretman biostimulatorima u plasteničkom uzgoju jagoda u opisanim eksperimentalnim uvjetima mogao bi se stoga preporučiti s aspekta poboljšanja antioksidativnog statusa biljke, a time i bolje tolerancije na moguće stresne činitelje koji se javljaju u ovakvom tipu uzgoja (solni stres, stres zbog visokih temperatura, suša i sl.).

Utjecaj primjene biostimulatora i gnojidbe na visinu priroda i kvalitativna svojstva ploda jagoda

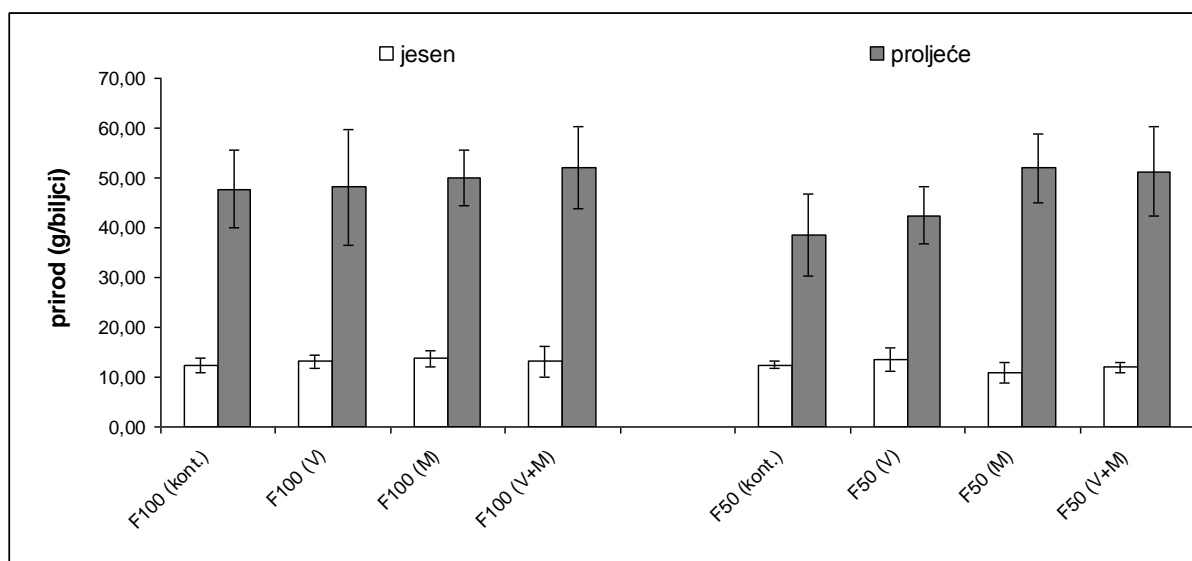
Dosadašnja istraživanja pokazala su da primjena biostimulatora može imati pozitivan utjecaj na prirod jagoda. U istraživanju koje su proveli Masny i sur. (2004.), biostimulator Goëmar BM 86® je u dvogodišnjem nasadu jagoda sorte Elkat povećao prirod za 17,7%, dok je kod jednogodišnjih biljaka prirod bio veći za 52,7%. Jadcuk-Tobjasz (2004.) je utvrdio da biostimulator Goëmar BM 86® povećava prirod jagoda sorte Elsanta, pri čemu se smanjuje tvrdoća ploda, ali nema utjecaja na masu ploda ili osjetljivost na sivu plijesan. U istraživanju koje su proveli Roussos i sur. (2009.), tretman stimulatorom rasta koji je sadržavao ekstrakt algi i biljne hormone značajno je povećao prirod i veličinu plodova jagoda. Arancon i sur. (2003.) su utvrdili da preparat na bazi huminske kiseline značajno povećava razvoj korijena i broj plodova jagode.

U proljetnom pokusu, prirod jagoda je bio oko 80% veći od priroda u jesenskom pokusu (*Slika 23*). Znatno manji prirod u jesenskom pokusu bio je očekivan, budući da su biljke bile mlade (u prvoj vegetacijskoj sezoni) te im je vegetativni dio bio znatno slabije razvijen nego kod starijih biljaka u proljetnom pokusu.

U proljetnom pokusu pri standardnoj gnojidbi, prirod biljaka tretiranih biostimulatorom nije se razlikovao od priroda kontrolnih biljaka (*Slika 23*). Međutim, pri reduciranoj gnojidbi prirod kontrolnih biljaka je bio značajno manji nego pri standardnoj gnojidbi, dok se prirod biljaka tretiranih Megafolom i kombinacijom Megafola i Vive nije značajno razlikovao od priroda kontrolnih biljaka pri standardnoj gnojidbi. Sveukupno, ako se zanemari utjecaj gnojidbe, najveći prirod je utvrđen kod primjene kombinacije biostimulatora (51,68 g/biljci) te je bio značajno veći od priroda kontrolnih biljaka (43,16 g/biljaci), dok je prirod biljaka tretiranih pojedinačnim biostimulatorima je bio između ove dvije vrijednosti. (*Tablica 17*).

Pozitivan učinak koji je biostimulator Megafol primijenjen pojedinačno ili u kombinaciji s Vivom imao na prirod, mogao bi biti uvelike određen, s jedne strane činjenicom da je bogat aminokiselinama, a s druge strane, time što se primijenjuje folijarno. Naime, aminokiseline koje se primjenjuju folijarno za biljku su vrlo dostupni izvori građevnog materijala za sintezu proteina i kao takve direktno ulaze u metabolizam biljaka. Nadalje, utvrđeno je da folijarna primjena kombinacije aminokiselina i huminske kiseline povećava koncentraciju klorofila u listovima graha što može utjecati na povećanje intenziteta fotosinteze, a posljedično i na povećanje sadržaja asimilata (El-Ghamry i sur., 2009.). O akumulaciji asimilata u listu i

njihovoj translokaciji u generativne organe ovisi intenzitet formiranja ploda, a time i visina priroda., pri čemu je za transport asimilata floemom važan status K u biljci.



Slika 23. Prirod (g/biljci) u jesenskom i proljetnom pokusu pri 100% gnojidbi (F100) i 50% gnojidbi (F50) kod kontrolnih biljaka (kont.), biljaka tretiranih Vivom (V), Megafolom (M) i kombinacijom Vive i Megafola (V+M). Na stupcima je označena standardna devijacija.

U jesenskom pokusu, utjecaj primijenjenih biostimulatora na prirod nije bio značajan. (Tablica 2; Slika 23). Utjecaj biostimulatora vjerojatno nije došao do izražaja zbog dobre opskrbljenosti biljke hranivima, odnosno zbog suviška hraniva u supstratu u odnosu na zahtjeve metabolizma biljke. Naime, u jesenskom pokusu, biljke su bile slabije razvijene te vjerojatno nisu bile u mogućnosti iskoristiti puni volumen supstrata maksimalno zasićenog hranjivom otopinom.

Tretman biostimulatorima nije imao značajan utjecaj na pokazatelje kvalitete ploda ni u jesenskom ni u proljetnom pokusu. Međutim, budući da se primjenom biostimulatora Megafola i kombinacije Vive i Megafola u drugoj sezoni plodonošenja produktivnost jagoda pri reduciranoj gnojidbi može održati na istoj razini kao i pri standardnoj gnojidbi, primjena ovih biostimulatora može se preporučiti s ekološkog aspekta, odnosno zbog mogućnosti znatnog smanjenja opterećenja okoliša procjednim nitratima.

Značajne korelacije mineralnog sastava lista i korijena s prirod biljaka nisu utvrđene ni u jesenskom ni u proljetnom pokusu. Korelacije između makroelemenata prisutnih u vegetativnim dijelovima biljke i priroda jagode nisu još dovoljno razjašnjene i dostupni podaci često su kontradiktorni. Yavari i sur. (2008.) su utvrdili značajnu pozitivnu korelaciju P i K u listu s veličinom ploda i prirod jagoda. S druge strane, veličina ploda jagode se

može čak i reducirati pri obilnoj opskrbi s K (Keutgen i Pawelzik, 2008.). Slično tomu, Bould i sur. (1966.) su u istraživanju utjecaja gnojidbe N, K i P na sortu jagoda Royal Sovereign utvrdili da je koncentracija K u listu značajno negativno korelirala s prirodom jagoda.

Plod jagoda je iznimno cijenjen kao funkcionalna hrana zbog visokog sadržaja askorbinske kiseline i fenola koji doprinose značajnom antioksidativnom potencijalu ploda. U istraživanju 7 sorti jagoda, u plodovima sorte Elsanta izmjerene su najviše vrijednosti askorbinske kiseline (65,86 mg/100 g sv.t.; Voća i sur., 2008.). Slične vrijednosti sadržaja askorbinske kiseline utvrđene su u našem istraživanju u jesenskom pokusu (*Tablice 12 i 13*), dok su u proljetnom pokusu ove vrijednosti bile nešto niže (*Tablice 27 i 28*). Razlike u sadržajima askorbinske kiseline u plodu između proljetnog i jesenskog pokusa vjerojatno su posljedica razlika u metaboličkom statusu biljaka. Naime, u jesenskom pokusu se radilo o mladim biljkama, što je uz činjenicu da je dužina vegetacijskog ciklusa u jesen bila relativno kratka, dovelo do stvaranja plodova manje mase pa je vjerojatno stoga i sadržaj askorbinske kiseline u plodu bio veći.

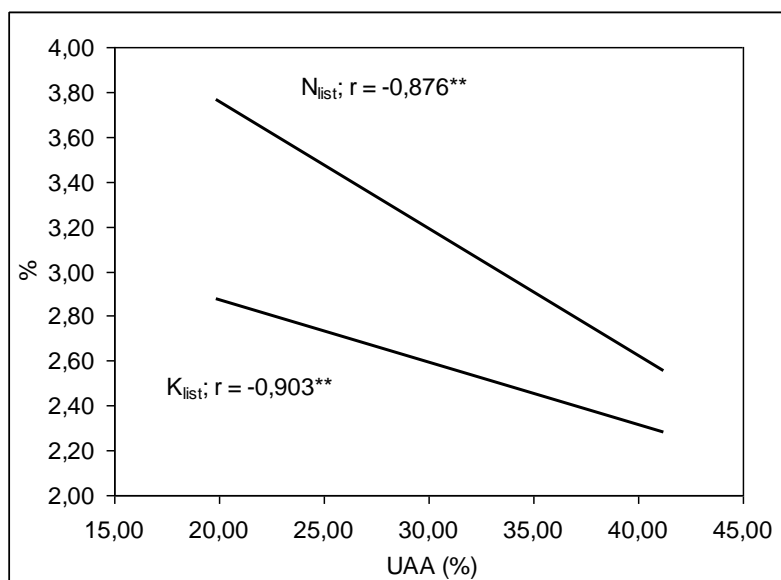
I u jesenskom i u proljetnom pokusu sadržaj PHE pri reduciranoj gnojidbi je bio značajno veći nego pri standardnoj gnojidbi (*Tablice 13 i 28*). U istraživanju utjecaja gnojidbe na vinovu lozu, Delgado i sur. (2006.) su utvrdili negativnu korelaciju između sadržaja N i K u listu te ukupnih fenola i antocijanina u plodu te su pretpostavili da visoki sadržaj N i K narušava biosintezu fenola. Pri tome smatraju da do smanjenja koncentracije fenola ne mora doći ako je pri gnojidbi odnos N i K uravnotežen. S druge strane, u istraživanju Anttonen i sur. (2006.) reducirana gnojidba je u plodovima jagode povećala sadržaj flavonola i elagične kiseline od 19% do 57%. Niža razina gnojidbe dušikom također je povećala sadržaj fenola u plodovima breskve (Fauriel i sur., 2007.). Jedno od mogućih objašnjenja za povećanu sintezu flavonoida uslijed nedostatka N je povećanje aktivnosti enzima fenilalanin-amonij-lijaze (PAL) koji katalizira deaminaciju fenilalanina pri čemu nastaje cimetna kiselina, koja se usmjerava u biosintezu flavonoida, i amino-skupina, koja ulazi u metabolizam aminokiselina (Stewart i sur., 2001.; Juszczuk i sur., 2004.; Kováčik i Bačkor, 2007.).

Povećanje sadržaja PHE i AC u plodovima jagoda u proljetnom pokusu te smanjenje sadržaja AC i nepromijenjen sadržaj PHE u jesenskom pokusu, vjerojatno su također posljedica statusa hraniva i to prvenstveno N. U proljetnom pokusu bio je prisutan manji nedostatak dušika što je vjerojatno uzrok povećanju sadržaja PHE i AC. S druge strane, jagode su u jesenskom pokusu imale optimalne količine dušika (čak i suvišak) te je vjerojatno zbog toga i sadržaj AC u plodovima bio manji. Ovi rezultati pokazuju da se reduciranom

gnojdbom, uz veliku uštedu gnojiva i znatno smanjenje opterećenja okoliša nitratima, mogu dobiti plodovi bogatiji fenolima, što je od osobite važnosti za nutritivnu vrijednost ploda.

U proljetnom pokusu je koncentracija K u listu pozitivno korelirala sa sadržajem AA u plodu, za razliku od jesenskog pokusa kod kojeg ova korelacija nije bila značajna. Lester i sur. (2007.) su utvrdili da u plodovima tikve folijarna gnojdba K povećava sadržaj askorbinske kiseline. Općenito, poboljšanje statusa K u biljkama rezultira poboljšanom asimilacijom CO₂ u listu, boljom translokacijom asimilata iz listova u plodove te povećanom aktivnošću enzima i dostupnošću supstrata za biosintezu askorbinske kiseline. Također, koncentracija K je uz pH gradijent važan pokretački mehanizam za akumulaciju askorbinske kiseline u sitastim cijevima floema, kojim se askorbinska kiselina efikasno translocira iz listova u brzorastuća nefotosintetizirajuća tkiva (Franceschi i Tarlyn, 2002.). Askorbinska kiselina je u obliku konjugata utvrđena u floemu plodova vrste *Cucurbita pepo* (Hancock i sur., 2008.) te u vaskularnom tkivu plodova jabuke sorte Gala (Li i sur., 2008.).

Multipla regresijska analiza u jesenskom pokusu pokazala je negativnu korelaciju između N i K u listu i UAA u plodu (Tablica 15; Slika 24), dok u proljetnom pokusu multipla regresijska analiza nije bila značajna.



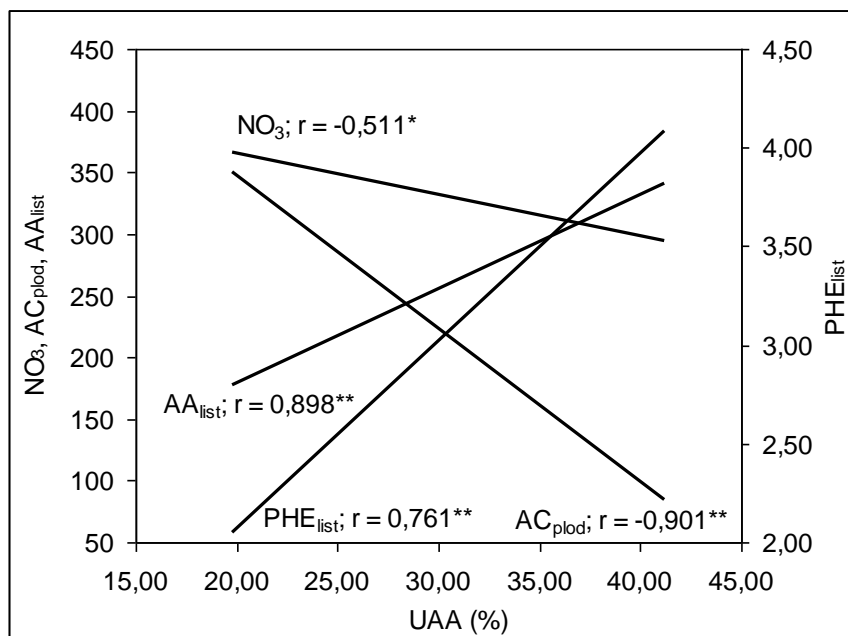
Slika 24. Korelacije između ukupne antioksidativne aktivnosti u plodu (UAA) i koncentracija N i K u listu u jesenskom pokusu.

U oba pokusa, proljetnom i jesenskom, UAA u plodu je negativno korelirala sa sadržajem AC u plodu, no nije značajno korelirala sa sadržajem AA i ukupnih PHE. Kod različitih vrsta

voća utvrđeno je da antioksidativna aktivnost pozitivno korelira sa sadržajem ukupnih fenola (Khanizadeh i sur., 2007.; Pantelidis i sur., 2007.; Du i sur., 2009.). Međutim, u plodovima šest kultivara jagoda (Don, Idea, Camarosa, Onda, Sveva i Patty), Scalzo i sur. (2005.) su utvrdili negativnu korelaciju između sadržaja fenola i antioksidativnog kapaciteta. Isti autori pretpostavljaju da bi ova negativna korelacija mogla biti posljedica vrlo visokog sadržaja askorbinske kiseline u plodu te smatraju da bi upravo ona mogla biti odgovorna za glavnu antioksidativnu aktivnost. Suprotno tomu, prema istraživanju koje su proveli Kalt i sur. (1999.), udio askorbinske kiseline u ukupnom antioksidativnom kapacitetu različitog bobičastog voća, među ostalim i jagode, je zanemariv (0,4 - 9,4%). Ferreyra i sur. (2007.) su utvrdili da antioksidativni kapacitet plodova jagoda sorte Selva pozitivno korelira sa sadržajima fenola i askorbinske kiseline, ali ne i sa sadržajem antocijanina. Slične rezultate dobili su i Cheel i sur. (2007.) kod jagode sorte Chandler. Prema istraživanju Cordenunsi i sur. (2002.), sadržaji antocijanina i askorbinske kiseline u plodovima različitih sorti jagoda (Toyonoka, Pajaro, Mazi, Dover, Campineiro i Oso Grande) su u negativnoj korelaciji. Tako plodovi sorte Campineiro imaju najveći sadržaj askorbinske kiseline i istodobno najniži sadržaj antocijanina, dok je u plodovima sorti Mazi i Dover taj odnos obrnut. Autori smatraju da antioksidativnu aktivnost ploda određuje ona komponenta čiji je sadržaj u plodu veći. Roussos i sur. (2009.) su utvrdili da antioksidativni kapacitet u plodu jagoda sorte Camarosa ovisi o kombiniranom efektu koncentracije AA, svakog pojedinog antocijanina, ukupnih PHE, flavonoida i ukupnih antocijanina.

U jesenskom pokusu, multiple regresijske analize temeljene na podacima oba termina uzorkovanja ploda, pokazale su značajnu povezanost UAA ploda s neenzimatskim antioksidansima u listu (AA, PHE) i pokazateljima kvalitete ploda (pH, sadržaj AC, RŠ, nitrata i UK; *Tablica 14; Slika 25*). Pozitivne korelacije između UAA ploda i sadržaja AA i PHE u listu (*Slika 25*) pokazuju da kod biljaka čiji listovi sadrže više antioksidansa, plodovi imaju veću UAA. Između UAA i UK je utvrđena pozitivna korelacija, dok je korelacija između UAA i sadržaja AC te pH vrijednosti bila negativna (*Tablica 14; Slika 25*). Pozitivnu korelaciju između antioksidativne aktivnosti i ukupne kiselosti te negativnu korelaciju između ukupne antioksidativne aktivnosti i pH vrijednosti utvrdio je i Orak (2007.) u crvenim kultivarima grožđa. Sadržaj RŠ je bio u pozitivnoj korelaciji s pH i sadržajem AC u plodu, a u negativnoj korelaciji s UK i UAA, što pokazuje da usporedo s nakupljanjem antocijanina i šećera tijekom sazrijevanja ploda dolazi do smanjenja sadržaja ukupnih kiselina, ali i smanjenja UAA.

Također, veći sadržaj nitrata u plodu u jesenskom pokusu je bio u vezi s manjom UAA (Slika 25). U proljetnom pokusu multiple regresijske analize nisu pokazale značajnu povezanost UAA u plodu i neenzimatskih antioksidansa u listu.



Slika 25. Korelacije između ukupne antioksidativne aktivnosti u plodu (UAA) i antioksidansa u listu (PHE, AA) te nitrata (NO₃) i antocijanina (AC) u plodu, u jesenskom pokusu.

7. ZAKLJUČCI

1. U oba pokusa, jesenskom i proljetnom, varijanta gnojidbe (standardna i reducirana) nije imala značajan utjecaj na pokazatelje vegetativnog rasta i razvoja biljaka, što pokazuje da postoji mogućnost racionalizacije gnojidbe s N i K u fazi plodonošenja, bez značajnog negativnog utjecaja manje dostupne količine ovih hraniva na rast i razvoj nadzemnih vegetativnih dijelova biljke.
2. U proljetnom pokusu, tretman Megafolom je značajno povećao masu svježe tvari najrazvijenije troliske, i to samo pri standardnoj gnojidbi. U jesenskom pokusu, biostimulatori nisu utjecali na pokazatelje vegetativnog rasta, što je vjerojatno posljedica značajno drugačijih uvjeta za rast i razvoj biljaka te pripreme mladih biljaka za prijelaz u fazu zimskog mirovanja nakon prvog plodonošenja.
3. Koncentracija N u listu je u proljetnom pokusu kod obje varijante gnojidbe bila nešto niža od literaturnih optimalnih vrijednosti, dok je u jesenskom pokusu prelazila granicu optimalnog raspona. Koncentracija K u listu je u oba pokusa bila u granicama optimalnih vrijednosti.
4. U jesenskom pokusu, u supstratu biljaka tretiranih Megafolom je utvrđen najveći sadržaj nitrata, dok je pri tretmanu s Vivom, koja je primijenjena zalijevanjem, sadržaj nitrata u supstratu bio najmanji, a koncentracija N i K u korijenu najveća. Ovi rezultati pokazuju da je folijarno primijenjeni Megafol mladim biljkama predstavljao dodatni izvor lako pristupačnog organskog dušika, dok je tretman Vivom stimulirao usvajanje nitratnog N i K iz hranjive otopine u supstratu preko korijena. U proljetnom pokusu nisu utvrđene značajne razlike u sadržaju nitrata u supstratu pojedinih varijanata primjene biostimulatora, vjerojatno uslijed potencijalnih rezervi N u biljkama iz prethodnog dijela vegetacije i manje izraženog utjecaja biostimulatora na usvajanje hraniva. Stoga je s aspekta smanjenja gubitaka pri gnojidbi te smanjenja opterećenja okoliša nitratima preporučljiva primjena biostimulatora u prvoj godini plodonošenja,

kada su N i K od izuzetnog značaja za rast i produktivnost jagode u uvjetima plasteničkog uzgoja u tresetnom supstratu.

5. U jesenskom pokusu nije bilo statistički značajnog utjecaja biostimulatora na koncentraciju Ca u listu i korijenu. U proljetnom pokusu, tretman Megafolom i kombinacijom biostimulatora povećao je koncentraciju Ca u listovima, a sve su varijante biostimulatora pozitivno utjecale na akumulaciju Ca u korijenu. Istodobno, tretman Megafolom i Vivom smanjio je koncentraciju Ca u supstratu u odnosu na kontrolu. Dobiveni rezultati pokazuju da, s obzirom na važnu ulogu Ca za kvalitetu ploda, pozitivno djelovanje biostimulatora na usvajanje Ca može biti od velikog značaja u drugoj sezoni plodonošenja jagoda.
6. U jesenskom pokusu, koncentracija PRO je nakon tretmana bila značajno manja nego na početku pokusa, dok se u proljetnom pokusu koncentracija slobodnog PRO nakon tretmana nije značajno promijenila. Ovi rezultati pokazuju da biljke ni u proljetnom niti u jesenskom pokusu nisu bile izložene solnom stresu.
7. U oba pokusa, proljetnom i jesenskom, na koncentraciju AA u listu značajan utjecaj nisu imali ni tretman biostimulatorima niti različite razine gnojidbe.
8. U proljetnom pokusu, koncentracija HP u listovima bila je nakon tretmana značajno veća nego na početku pokusa. Ova povećana koncentracija HP vjerojatno je posljedica manjeg nedostatka dušika u listovima koji je u proljetnom pokusu utvrđen kod obje varijante gnojidbe. Tretman Megafolom i kombinacijom biostimulatora kod reducirane gnojidbe značajno je smanjio koncentraciju HP u odnosu na kontrolne biljke i tretman Vivom. U jesenskom pokusu, koncentracija HP u listovima kontrolnih biljaka nije bila značajno povećana, ali je do značajnog povećanja došlo pri pojedinačnom tretmanu Vivom i Megafolom kod obje varijante gnojidbe i pri tretmanu kombinacijom Vive i Megafola kod reducirane gnojidbe.
9. Antioksidativni status lista je ovisio o starosti biljke: aktivnosti antioksidativnih enzima u mlađim biljkama (u jesenskom pokusu) bile su znatno veće nego u starijim biljkama (u proljetnom pokusu).

10. U proljetnom su pokusu nakon tretmana bile značajno povećane APXs, GPXs i GRs. Aktivnost navedena tri antioksidativna enzima je u listovima biljaka tretiranih biostimulatorima bila značajno veća nego kod kontrolnih biljaka, a utjecaj biostimulatora je bio znatno izraženiji pri reduciranoj gnojidbi. CATs je u biljkama tretiranim Megafolom i kombinacijom Vive i Megafola bila značajno veća nego u kontrolnim biljkama, ali samo pri reduciranoj gnojidbi. U jesenskom pokusu, tretman Megafolom i kombinacijom biostimulatora značajno je povećao samo GRs.
11. Utjecaj biostimulatora na aktivnost antioksidativnih enzima je bio znatno veći u proljetnom pokusu što je vjerojatno odraz pozitivnog učinka biostimulatora na metabolički odgovor biljke u uvjetima poremećaja ishrane dušikom. Stoga bi se tretman biostimulatorima u plasteničkom uzgoju jagoda u opisanim eksperimentalnim uvjetima mogao, s aspekta poboljšanja antioksidativnog statusa biljke, a time i bolje tolerancije na moguće stresne činitelje koji se javljaju u ovakvom tipu uzgoja, preporučiti u drugoj sezoni plodonošenja.
12. U proljetnom pokusu pri standardnoj gnojidbi, prirod biljaka tretiranih biostimulatorima se nije razlikovao od priroda kontrolnih biljaka. Međutim, pri reduciranoj gnojidbi prirod kontrolnih biljaka je bio značajno manji nego pri standardnoj gnojidbi, dok se prirod biljaka tretiranih Megafolom i kombinacijom Megafola i Vive nije značajno razlikovao od priroda kontrolnih biljaka pri standardnoj gnojidbi. Ukoliko se zanemari utjecaj gnojidbe, najveći prirod je utvrđen kod primjene kombinacije biostimulatora. U jesenskom pokusu je prirod pri reduciranoj gnojidbi bio isti kao i pri standardnoj. Istodobno, primijenjeni biostimulatori nisu značajno utjecali na prirod, vjerojatno zbog dobre opskrbljenosti biljke hranivima.
13. U prikazanim eksperimentalnim uvjetima, primijenjeni tretmani biostimulatorima nisu značajnije utjecali na pokazatelje kvalitete ploda, ni u jesenskom niti u proljetnom pokusu.
14. U jesenskom pokusu je reducirana gnojidba rezultirala manjim sadržajem nitrata u plodovima, a povisila sadržaj PHE i UAA u plodovima. Značajno veći sadržaj PHE u plodu pri reduciranoj gnojidbi utvrđen je i u proljetnom pokusu. Ovi rezultati pokazuju da se reduciranom gnojidbom, uz veliku uštedu gnojiva i znatno smanjenje opterećenja

okoliša nitratima, mogu dobiti i nutritivno kvalitetniji plodovi, bez značajnijeg smanjenja priroda.

15. Budući da su biostimulatori preparati na bazi biljnih ekstrakata i nemaju štetnih sporednih efekata na zdravlje ljudi, nameće se potreba za daljnjim istraživanjima njihovog mehanizma djelovanja, naročito vezano za konačnu kvalitetu biljnih proizvoda i s ciljem što manjeg opterećenja okoliša. Stoga pozitivni rezultati primjene biostimulatora u plasteničkom uzgoju jagoda u okviru provedenih eksperimentalnih uvjeta upućuju na daljnja istraživanja kako ispitivanih, tako i drugih komercijalnih biostimulatora u različito dizajniranim eksperimentima (drugačiji uvjeti uzgoja, druge koncentracije biostimulatora, različite vrste biljaka), u svrhu što boljeg znanstveno utemeljenog poznavanja njihovog mehanizma djelovanja i praktične primjene u integriranoj poljoprivrednoj proizvodnji.

8. LITERATURA

Abdel-Mawgoud, A.M.R., El-Greadly, N.H.M., Helmy, Y.I., Singer, S.M. (2007.): Responses of tomato plants to different rates of humic-based fertilizer and NPK fertilization. *Journal of Applied Sciences Research*, 3(2): 169-174.

Aebi, H. (1984.): Catalase *in vitro*. *Methods in Enzymology*, 105: 121-126.

Ahmad, P., Jaleel, C.A., Azooz, M.M., Nabi, G. (2009.): Generation of ROS and non-enzymatic antioxidants during abiotic stress in plants. *Botany Research International*, 2(1): 11-20.

Akande, M.O. (2006.): Effect of organic root plus (biostimulant) on the growth, nutrient content and yield of amaranthus. *African Journal of Biotechnology*, 5 (10): 871-874.

Allen, R.D. (1995.): Dissection of oxidative stress tolerance using transgenic plants. *Plant Physiology*, 107:1049-1054.

Allen, V.G., Pond, K.R., Saker, K.E., Fontenot, J.P., Bagley, C.P., Ivy, R.L., Evans, R.R., Schmidt, R.E., Fike, J.H., Zhang, X., Ayad, J.Y., Brown, C.P., Miller, M.F., Montgomery, J.L., Mahan, J., Wester, D.B., Melton C. (2001.): Tasco: Influence of a brown seaweed on antioxidants in forages and livestock-A review. *Journal of Animal Science*, 79: E21-E31.

Anderson, J.V., Hess, J.L., Chevone, B.I. (1990.): Purification, characterization, and immunological properties for two isoforms of glutathione reductase from Eastern White pine needles. *Plant Physiology*, 94: 1402-1409.

Anderson, J.V., Chevone, B.I., Hess, J.L. (1992.): Seasonal variation in the antioxidant system of Eastern White pine needles. *Plant Physiology*, 98: 501-508.

Anttonen, M.J., Hoppula, K.I., Nestby, R., Verheul, M.J., Karjalainen, R.O. (2006.): Influence of fertilization, mulch color, early forcing, fruit order, planting date, shading,

growing environment, and genotype on the contents of selected phenolics in strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 (7): 2614 -2620.

Arancon, N.Q., Lee, S., Edwards, C.A., Atiyeh, R. (2003.): Effects of humic acids derived from cattle, food and paper-waste vermicomposts on growth of greenhouse plants. *Pedobiologia*, 47: 741–744.

Arora, A., Sairam, R.K., Srivastava, G.C. (2002.): Oxidative stress and antioxidative system in plants. *Current Science*, 82(10):1227-1238.

Asada, K. (1992.): Ascorbate peroxidase – a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. *Physiologia Plantarum*, 85: 235-241.

Ashraf, M., Foolad, M.R. (2007.): Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, 59: 206–216.

Ashraf, M. (2009.): Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Biotechnology Advances*, 27: 84–93.

Atanasova, E. (2008.): Effect of nitrogen sources on the nitrogenous forms and accumulation of amino acid in head cabbage. *Plant, Soil and Environment*, 54(2):66–71.

Barata-Soares, A.D., Gomez, M.L.P.A., Henrique de Mesquita, C., Lajolo, F.M. (2004.): Ascorbic acid biosynthesis: a precursor study on plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 16(3):147-154.

Bates, L.S., Waldern, R.P., Teare, I.D. (1973.): Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39: 205–207.

Bendritter, M., Maupoil, V., Vergely, C., Dalloz, F., Briot, F., Rochette, L. (1998.): Studies by electron paramagnetic resonance of the importance of iron in the hydroxyl scavenging properties of ascorbic acid in plasma: effects of iron chelators. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 12: 510-516.

Bergman, W. (1983.): Ernährungsstörungen bei Kulturpflanzen, VEB Gustav Fisher Verlag, Jena, Germany.

Bhattacharjee, S. (2005.): Reactive oxygen species and oxidative burst: roles in stress, senescence and signal transduction in plants. *Current Science*, 89: 1113–1121.

Bodannes, R.S., Chan, P.C. (1979.): Ascorbic acid as a scavenger of singlet oxygen. *FEBS Letters*, 105(2): 195-196.

Bordignon jr., C.L., Francescato, V., Nienow, A.A., Calvete, E., Reginatto F.H. (2009.): Influence of the extraction solution pH on the content of anthocyanins in strawberry fruits. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 29(1): 183-188.

Bould, C., Bradfield, E.G., Redmond, W.J. (1966.): A factorial NPK field experiment with strawberry, *var.* Royal Sovereign. *The Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 41(2): 165-178.

Bradford, M.M. (1976.): A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.

Cakmak, I. (2005.a): Role of mineral nutrients in tolerance of crop plants to environmental stress factors. In: *Fertigation: Optimizing the utilization of water and nutrients. Fertigation Proceedings: Selected papers of the IPI-NATESC-CAU-CAAS. International Symposium on Fertigation, Beijing, China, 20-24 September 2005: 35-48.*

Cakmak, I. (2005.b): The role of potassium in alleviating detrimental effects of abiotic stresses in plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 168: 521–530.

Camoni, L., Marra, M., Garufi, A., Visconti, S., Aducci, P. (2006.): The maize root plasma membrane H⁺-ATPase is regulated by a sugar induced transduction pathway. *Plant and Cell Physiology*, 47: 743–747.

Cheel, J., Theoduloz, C., Rodriguez, J.A., Caligari, P.D.S., Schmeda-Hirschmann, G. (2007.): Free radical scavenging activity and phenolic content in achenes and thalamus from *Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis*, *F.vesca* and *F.x ananassa* cv. Chandler. Food Chemistry, 102: 36–44.

Cordenunsi, B.R., Oliveira do Nascimento, J.R., Genovese, M.I., Lajolo, F.M. (2002.): Influence of cultivar on quality parameters and chemical composition of strawberry fruits grown in Brazil. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50: 2581-2586.

Csizinszky, A.A. (2003.): Response of 'Florida 47' tomato to soil and foliar-applied biostimulants and N and K rates. 116. Annual meeting of the Florida state horticultural society, Program and abstract book, str. 125.

Dąbrowska, G., Kata, A., Goc, A., Szechyńska-Hebda, M., Skrzypek, E. (2007.): Characteristics of the plant ascorbate peroxidase family. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica, 49(1): 7–17.

Delgado, R., González, M., Martín, P. (2006.): Interaction effects of nitrogen and potassium fertilization on anthocyanin composition and chromatic features of Tempranillo grapes. International Journal of Vine and Wine Science, 40(3): 141-150.

Dertinger, U., Schaz, U., Schulze, E.-D. (2003.): Age-dependence of the antioxidative system in tobacco with enhanced glutathione reductase activity or senescence-induced production of cytokinins. Physiologia Plantarum, 119: 19–29.

Desmet, E.M., Verbraeken, L., Baets, W. (2009.): Optimisation of nitrogen fertilisation prior to and during flowering process on performance of short day strawberry 'Elsanta'. ISHS Acta Horticulturae , 842: 675-678.

Domínguez, A., Martínez, E., Trigo, A., Alonso, D., García, R., Sánchez, R., Ghorbel, R. and Tomás, J. (2009.): Seasonal changes in leaf mineral content may affect foliar diagnostic in strawberry. ISHS Acta Horticulturae, 842 :147-150.

Družić, J., Voća, S., Čmelik, Z., Dobričević, N., Duralija, B., Skendrović Babojelić, M. (2006.): Utjecaj sustava uzgoja na kakvoću plodova jagode sorte Elsanta. *Pomologia Croatica*, 12(4): 255-262.

Du, G., Li, M., Ma, F., Liang, D. (2009.): Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and vitamin C in *Actinidia* fruits. *Food Chemistry*, 113: 557–562.

Dubravec K., Dubravec I. (1989.): Naše kultivirano bilje. Znanje, Zagreb: 60 str.

Edwards, E.A., Enard, C., Gary Creissen, G.P., Mullineaux, P.M. (1993.): Synthesis and properties of glutathione reductase in stressed peas. *Planta*, 192 (1): 137-143.

El-baky, A., Hanaa, H., Amal, M.A., Hussein, M.M. (2003.): Influence of salinity on lipid peroxidation, antioxidant enzymes and electrophoretic patterns of protein and isoenzymes in leaves of some onion cultivars. *Asian Journal of Plant Science*, 2(8): 633-638.

El-Ghamry, A.M., Abd El-Hai, K.M., Ghoneem, K.M. (2009.): Amino and humic acids promote growth, yield and disease resistance of faba bean cultivated in clayey soil. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(2): 731-739.

Eyheraguibel, B., Silvestre, J., Morard, P. (2008.): Effects of humic substances derived from organic waste enhancement on the growth and mineral nutrition of maize. *Bioresource Technology*, 99: 4206-4212.

Fauriel, J., Bellon, S., Plenet, D., Amiot, M.-J. (2007.): On-farm influence of production patterns on total polyphenol content in peach. In: 3rd QLIF Congress, Hohenheim, Germany, March 20-23, 2007 (Archived at http://orgprints.org/view/projects/int_conf_qlif2007.html)

Faust, M. (1989.): Physiology of temperate zone fruit trees. John Wiley & Sons, New York: str. 89.

Feitosa de Vasconcelos, A.C., Zhang, X., Ervin, E.H., Kiehl, J. (2009.): Enzymatic antioxidant responses to biostimulants in maize and soybean subjected to drought. *Scientia Agriculturae (Piracicaba, Braz.)*, 66 (3): 395-402.

Ferreira, R.M., Viña, S.Z., Mugridge, A., Chaves, A.R. (2007.): Growth and ripening season effects on antioxidant capacity of strawberry cultivar Selva. *ISHS Scientia Horticulturae*, 112: 27–32.

Franceschi, V.R., Tarlyn, N.M. (2002.): L-Ascorbic acid is accumulated in source leaf phloem and transported to sink tissues in plants. *Plant Physiology*, 130: 649–656.

Foyer, C., Lelandais, M., Galap, C., Kunert, K.J. (1991.): Effects of elevated cytosolic glutathione reductase activity on the cellular glutathione pool and photosynthesis in leaves under normal and stress conditions. *Plant Physiology*, 97: 863-872.

Foyer, C.H., Lopez-Delgado, H., Dat, J.F., Scott, I.M. (1997.): Hydrogen peroxide- and glutathione associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signaling. *Physiologia Plantarum*, 100: 241-254.

Foyer, C.H., Noctor, G. (2003.): Redox sensing and signaling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. *Physiologia Plantarum*, 119: 355–364.

García, A.L., Franco, J.A., Nuria, N., Madrid Vicente, R. (2006.): Influence of amino acids in the hydroponic medium on the growth of tomato plants. *Journal of Plant Nutrition*, 29(12): 2093-2104.

Gechev, T., Gadjev, I., Van Breusegem, F., Inzé, D., Dukiandjiev, S., Toneva, V., Minkov, I. (2002.): Hydrogen peroxide protects tobacco from oxidative stress by inducing a set of antioxidant enzymes. *Cellular and Molecular Life Science*, 59: 708–714.

Generalić, I., Skroza, D., Katalinić, V. (2009.): *Kemija mediteranskog voća i tehnologija prerade*. Kemijsko-tehnološki fakultet, Sveučilište u Splitu, 37 str.

Gilroy, S., Jones, D.L. (2000.): Through form to function: root hair development and nutrient uptake. *Trends in Plant Science*, 5: 56–60.

Giuffrida, F., Leonardi, C., Noto, G. (2001.): Response of soilless grown strawberry to different salinity levels in the nutrient solution. *Acta Horticulturae*, 559: 675-680.

González, M.I., Acuña, A. (2009.): A strawberry crop can achieve standard yields without fertilization in the establishment year. *ISHS Acta Horticulturae*, 842: 95-98.

Górnik, K., Grzesik, M., Mika, A. (2007.): Improvement of grapevines rooting and growth of plants under stress conditions by Asahi SL. *Folia Horticulturae*, 19(2): 57-67.

Guo, Z., Ou, W., Lu, S., Zhong, Q. (2006.): Differential responses of antioxidative system to chilling and drought in four rice cultivars differing in sensitivity. *Plant Physiology and Biochemistry*, 44: 828-836.

Hancock, R.D., Chudek, J.A., Walker, P.G., Pont, S.D.A., Viola, R. (2008.): Ascorbic acid conjugates isolated from the phloem of *Cucurbitaceae*. *Phytochemistry* 69: 1850-1858.

Heath, R.L., Packer, L. (1968.): Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I-Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125: 189-198.

Hiraga, S., Sasaki, K., Ito, H., Ohashi, Y., Matsui, H. (2001.): A large family of class (III) plant peroxidases. *Plant Cell Physiology*, 42: 462-468.

Hoover E., Rosen C., Luby J., Wold-Burkness S. (2008.): Commercial strawberry production in Minnesota. University of Minnesota Extension, M1238: 1-11.

Jadczyk Tobjasz, E. (2004.): Goëmar BM 86® w uprawie truskawki. *OWK*, 7: 26.

Jelačić, S., Beatović, D., Lakić, N., Vujošević, A. (2007.): The effect of natural biostimulators and slow-disintegrating fertilizers on the quality of rosemary seedlings (*Rosmarinus officinalis* L.). *Journal of Agricultural Sciences*, 52(2): 85-94.

Jiménez-Bremont, J.F., Becerra-Flora, A., Hernández-Lucero, E., Rodríguez-Kessler, M., Acosta-Gallegos, J.A., Ramírez-Pimentel, J.G. (2006.): Proline accumulation in two bean

cultivars under salt stress and the effect of polyamines and ornithine. *Biologia Plantarum*, 50 (4): 763-766.

Jiménez, A., Hernandez, J.A., del Rio, L.A., Sevilla, F. (1997.): Evidence for the presence of ascorbate-glutathione cycle in mitochondria and peroxisomes of pea leaves. *Plant Physiology*, 114: 275-284.

Juszczuk, I.M., Wiktorowska, A., Malusá, E., Rychter, A.M. (2004.): Changes in the concentration of phenolic compounds and exudation induced by phosphate deficiency in bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant and Soil* 267: 41–49.

Kafkafi, U., Xu, G., Imas, P., Magen H., Tarchitzky, J. (2001.): Potassium and chloride in crops and soils: The role of potassium chloride fertilizer in crop nutrition. *IPI Research Topics* No. 22: 60-91.

Kalt, W., Forney, C.F., Martin, A., Prior, R.L. (1999.): Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47 (11): 4638-4644.

Kant, S., Kafkafi, U. (2002.): Potassium and abiotic stresses in plants. In: *International Symposium on Importance of Potassium in Nutrient Management for Sustainable Crop Production in India*, New Delhi, India, 233-251.

Kandlbinder, A., Finkemeier, I., Wormuth, D., Hanitzsch, M., Dietz, K.-J. (2004.): The antioxidant status of photosynthesizing leaves under nutrient deficiency: redox regulation, gene expression and antioxidant activity in *Arabidopsis thaliana*. *Physiologia Plantarum*, 120(1): 63 – 73.

Kauffman III, G.L., Kneivel, D. P., Watschke, T.L. (2007.): Effects of a biostimulant on the heat tolerance associated with photosynthetic capacity, membrane thermostability, and polyphenol production of perennial ryegrass. *Crop Science* 47: 261–267.

Kaur, N., Gupta, A.K. (2005.): Signal transduction pathways under abiotic stresses in plants. *Current Science*, 88 (11): 1771- 1780.

Kavi Kishor, P.B., Sangam, S., Amrutha, R.N., Sri Laxmi, P., Naidu, K.R., Rao, K.R.S.S., Sreenath R., Reddy, K.J., Theriappan, P., Sreenivasulu, N. (2005.): Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Current Science*, 88(3): 424-438.

Kempler, C. (2004.): "Out-of-Season" greenhouse production of raspberry and strawberry. *ISHS Acta Horticulturae*, 633:459-465.

Keutgen, A.J., Pawelzik, E. (2008): Quality and nutritional value of strawberry fruit under long term salt stress. *Food Chemistry*, 107: 1413–1420.

Khanizadeh, S., Tsao, R., Rekika, D., Yang, R., DeEll, J. (2007.): Phenolic composition and antioxidant activity of selected apple genotypes. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 5 (1): 61-66.

Khayyat, M., Rajaei, S., Sajjadinia, A., Eshghi, S., Tafazoli, E. (2009.): Calcium effects on changes in chlorophyll contents, dry weight and micronutrients of strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) plants under salt-stress conditions. *Fruits*, 64(1): 53-59.

Kim, M.J., Ciani, S., Schachtman, D.P. (2010.): A peroxidase contributes to ROS production during *Arabidopsis* root response to potassium deficiency. *Molecular Plant*, 3(2): 420-427.

Koussevitzky, S., Suzuki, N., Huntington, S., Armijo, L., Sha, W., Cortes, D., Shulaev, V., Mittler, R. (2008.): Ascorbate peroxidase 1 plays a key role in the response of *Arabidopsis thaliana* to stress combination. *The Journal of Biological Chemistry*, 283(49): 34197–34203.

Kováčik, J., Bačkor, M. (2007.): Changes of phenolic metabolism and oxidative status in nitrogen-deficient *Matricaria chamomilla* plants. *Plant Soil*, 297: 255-265.

Lacertosa, G., Lateana, V., Montemurro, N., Palazzo, D., Vanadia S. (2007.): Soil fertility and plant nutritional status of strawberry in the Basilicata Region, Southern Italy In: *Improved Crop Quality by Nutrient Management* 86 (4): 159-162.

Kumar Tewari, R., Kumara, P., Tewaria, N., Srivastava, S., Sharma P.N. (2004.): Macronutrient deficiencies and differential antioxidant responses—influence on the activity and expression of superoxide dismutase in maize. *Plant Science*, 166(3): 687-694.

Lanauskas, J., Uselis, N., Valiuškaite, A., Viškelis, P. (2006.): Effect of foliar and soil applied fertilizers on strawberry healthiness, yield and berry quality. *Agronomy Research*, 4: 247-250.

Lee, J., Durst, R.W., Wrolstad, R.E., Barnes, K.W., Eisele, T., Giusti, M.M., Hache, J., Hofsommer, H., Koswig, S., Krueger, D.A., Kupina, S., Martin, S.K., Martinsen, B.K., Miller, T.C., Paquette, F., Ryabkova, A., Skrede, G., Trenn, U., Wightman, J.D. (2005.): Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study. *Journal of AOAC International*, 88(5): 1269-1278.

Lester, G.E., Jifon, J.L., Stewart, W.M. (2007.): Foliar potassium improves cantaloupe marketable and nutritional quality. *Better Crops*, 91(1): 24-25.

Lester, G.E., Jifon, J.L., Makus, D.J. (2010.): Impact of potassium nutrition on food quality of fruits and vegetables: A condensed and concise review of the literature. *Better Crops*, 94(1): 18-21.

Li, M.-J., Ma, F.-W., Zhang, M., Pu, F. (2008.): Distribution and metabolism of ascorbic acid in apple fruits (*Malus domestica* Borkh cv. Gala). *Plant Science*, 174: 606-612.

Liang, Y., Lu, J., Zhang, L., Wu, S., Wu, Y. (2003.): Estimation of black tea quality by analysis of chemical composition and colour difference of tea infusions. *Food Chemistry*, 80: 283-290.

Lila, M.A. (2004.): Anthocyanins and human health: An *in vitro* investigative approach. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 5: 306–313.

Lisjak, M., Stanisavljević, A., Špoljarević, M., Đurđević, B. (2008.): Potassium rate and accompanying anions impact on potassium, calcium and magnesium uptake by strawberries in soilless culture. *Cereal Research Communications*, 36 (Suppl. 5 Part 1): 483-486.

Lisjak, M., Špoljarević, M., Agić, D., Andrić, L. (2009.): Praktikum iz fiziologije bilja. Poljoprivredni fakultet u Osijeku, on-line priručnik:
http://www.pfos.hr/~dsego/ispitna_literatura/praktikum_fiziologije_bilja.pdf

Liszakay, A., Kenk, B., Schopfer, P. (2003.): Evidence for the involvement of cell wall peroxidase in the generation of hydroxyl radicals mediating extension growth. *Planta*, 217: 658- 667.

Locascio, S.J., Saxena, G.K. (1967.): Effects of potassium source and rate and nitrogen rate on strawberry tissue composition and fruit yield. *Florida Agricultural Experiment Stations Journal Series 2843*: 173-176.

Luwe, M. (1996.): Antioxidants in the apoplast and symplast of beech (*Fagus sylvatica* L.) leaves: seasonal variations and responses to changing ozone concentrations in air. *Plant Cell and Environment*, 19: 321-328.

Masny, A., Basak, A., Zurawicz, E. (2004.): Effects of foliar applications of Kelpek SL and Goëmar BM 86® preparations on yield and fruit quality in two strawberry cultivars. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 12: 23-27.

Maini, P. (2006.): The experience of the first biostimulant, based on aminoacids and peptides: a short retrospective review on the laboratory researches and the practical results. Ed. Centro Scientifico Italiano dei Fertilizzanti, *Fertilitas Agrorum*, 1(1): 29-43.

Malcom, R.L., Vaughan, D. (1999.): Humic substances and phosphatase activities in plant tissues. *Soil Biochemistry*, 11:253-259.

Mancuso, S., Azzarello, E., Mugnai, S., Briand, X. (2006.): Marine bioactive substances (IPA extract) improve ion fluxes and water stress tolerance in potted *Vitis vinifera* plants. *Advances in Horticultural Science*, 20: 156–161.

Matysik, J., Alia, J., Bhalu, B., Mohanty, P. (2002.): Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants. *Current Science*, 82(5): 525–532.

Meloni, D.A., Oliva, M.A., Martinez, C.A., Cambraia, J. (2003.): Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. *Environmental and Experimental Botany*, 49(1): 69-76.

Miloš, T. (1997.): *Jagoda*. Naklada Jurčić, Zagreb: 220 str.

Mittler, R. (2002.): Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7(9): 405-410.

Morita, S., Kaminaka, H., Masumura, T., Tanaka, K. (1999.): Induction of rice cytosolic ascorbate peroxidase mRNA by oxidative stress; the involvement of hydrogen peroxide in oxidative stress signalling. *Plant and Cell Physiology*, 40(4): 417- 422.

Mugnai, S., Azzarello, E., Pandolfi, C., Salamagne, S., Briand, X., Mancuso, S. (2008.): Enhancement of ammonium and potassium root influxes by the application of marine bioactive substances positively affects *Vitis vinifera* plant growth. *Journal of Applied Phycology*, 20(2): 177-182.

Mukherjee, S.P., Choudhuri, M.A. (1983.): Implications of water stress-induced changes in the levels of endogenous ascorbic acid and hydrogen peroxide in *Vigna* seedlings. *Physiologia Plantarum*, 58: 166-170.

Muscolo, A., Cutrupi, S., Nardi S. (1998.): IAA detection in humic substances. *Soil Biology and Biochemistry*, 30(8/9): 1199-1201.

Nair, A.S., Abraham, T.K., Jaya, D.S. (2008.): Studies on the changes in lipid peroxidation and antioxidants in drought stress induced cowpea (*Vigna unguiculata* L.) varieties. *Journal of Environmental Biology*, 29(5): 689-691.

Nakajima, J., Tanaka, I., Seo, S., Yamazaki, M., Saito, K. (2004.): LC/PDA/ESI-MS profiling and radical scavenging activity of anthocyanins in various berries. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2004(5): 241–247.

Nakano, Y., Asada, K. (1981.): Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22: 867-880.

Noctor, G., Foyer, C.H. (1998.): Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annual Reviews of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49: 249-279.

Orak, H.H. (2007.): Total antioxidant activities, phenolics, anthocyanins, polyphenol oxidase activities of selected red grape cultivars and their correlations. *ISHS Scientia Horticulturae*, 111: 235–241.

Pantelidis, G.E., Vasilakakis, M., Manganaris, G.A., Diamantidis, GR. (2007.): Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. *Food Chemistry*, 102: 777–783.

Parađiković, N., Kraljićak, Ž. (2008.): Zaštićeni prostori – plastenici i staklenici. Sveučilište J.J. Strossmayer, Poljoprivredni fakultet, Osijek: 31 str.

Parađiković, N., Vinković, T., Teklić, T., Guberac, V., Milaković, Z. (2008a): Primjena biostimulatora u proizvodnji presadnica rajčica. Zbornik radova 43. hrvatskog i 3. međunarodnog simpozija agronoma (Proceedings 43rd Croatian and 3rd International Symposium on Agriculture) / Pospišil, M (ur.). - Opatija : Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zagreb, 435-438.

Parađiković, N., Vinković, T., Radman, D. (2008b.): Utjecaj biostimulatora na klijavost sjemena cvjetnih vrsta. *Sjemenarstvo*, 25: 25-33.

Parađiković, N., Zeljković, S., Đurić, G., Vinković, T., Mustapić-Karlić, J., Kanižai, G., Iljkić, D. (2009.): Rast i razvoj kadife (*Tagetes erecta* L.) pod utjecajem volumena supstrata i tretmana biostimulatorom. Zbornik radova 44. hrvatskog i 4. međunarodnog simpozija

agronoma. Lončarić, Z.; Marić, S. (ur.). Osijek: Sveučilište J. J. Strossmayera, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek: 786-790.

Passardi, F., Penel, C., Dunand, C. (2004.): Performing the paradoxical: how plant peroxidases modify the cell wall. *Trends in Plant Science*, 9: 534-540.

Passardi, F., Cosio, C., Penel, C., Dunand, C. (2005.): Peroxidases have more functions than a Swiss army knife. *Plant Cell Reports*, 24: 255-265.

Pevalek Kozlina, B. (2002.): Fiziologija bilja. Udžbenik Sveučilišta u Zagrebu, Profil International, Zagreb: 179 str.

Poincelot, P.R. (1993.): The use of a commercial organic biostimulant for bedding plant production. *Journal of Sustainable Agriculture*, 3(2): 99-110.

Pourcel, L., Routaboul, J.-M., Cheynier, V., Lepiniec, L., Debeaujon, I. (2006.): Flavonoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological functions. *Trends in Plant Science*, 12(1): 29-36.

Pritts (1998.): Soil and nutrient management. Chapter 7. In: *Strawberry production guide*. M. Pritts i D. Handley (eds.). NRAES-88. Ithaca, NY, USA.

Quaggiotti, S., Rupert, B., Pizzeghello, D., Francioso, O., Tugnoli, V., Nardi, S. (2004.): Effect of low molecular size humic substances on nitrate uptake and expression of genes involved in nitrate transport in maize (*Zea mays* L.). *Journal of Experimental Botany*, 55(398): 803-813.

Quan, L.-J., Zhang, B., Shi, W.-W., Li, H.-Y. (2008.): Hydrogen peroxide in plants: a versatile molecule of the reactive oxygen species network. *Journal of Integrative Plant Biology*, 50(1): 2-18.

Randhir, R., Shetty, K. (2007.): Elicitation of the proline-linked pentose phosphate pathway metabolites and antioxidant enzyme response by ascorbic acid in dark germinated fava bean sprouts. *Journal of Food Biochemistry*, 31: 485-508.

Rathore, S.S., Chaudhary, D.R., Boricha, G.N., Ghosh, A., Bhatt, B.P., Zodape, S.T., Patolia, J.S. (2009.): Effect of seaweed extract on the growth, yield and nutrient uptake of soybean (*Glycine max*) under rainfed conditions. *South African Journal of Botany*, 75: 351–355.

Rethwisch, M.D., Reay, M., Cox, T., Grudovich, J., Wellman, J., Hawpe, E. (2004.): Effects of Megafol and Calcium Metalosate® applications at early bloom on April 2003 planted DPL555BR cotton. *Arizona Cotton Report (P-138)*, 2004: 44-49.

Rice-Evans, C., Miller, N.J., Paganga, G. (1997.): Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, 2(4): 152-159.

Ristow, N.C., Carpenedo, S., Trevisan, R., Antunes, L.E.C., da Silva Freire, C.J. (2009.): Response of different levels of NPK on strawberry production. *ISHS Acta Horticulturae*, 842: 287-290.

Robinson, P.W., Hodges, C.F. (1977.): Effect of nitrogen fertilization on free amino acid and soluble sugar content of *Poa pratensis* and on infection and disease severity by *Drechslera sorokiniana*. *Phytopathology*, 67: 1239-1244.

Romero-Puertas, M.C., Corpas, F.J., Sandalio, L.M., Leterrier, M., Rodríguez-Serrano, M., del Río, L.A., Palma, J.M. (2006.): Glutathione reductase from pea leaves: response to abiotic stress and characterization of the peroxisomal isozyme. *New Phytologist*, 170: 43–52.

Roussos, P.A., Denaxa, N.-K., Damvakaris, T. (2009.): Strawberry fruit quality attributes after application of plant growth stimulating compounds. *Scientia Horticulturae*, 119: 138–146.

Sarli, G., De Lisi, A., Montesano, V., Schiavone, D. (2009.): Evaluation of biostimulating products on strawberry in Southern Italy. *ISHS Acta Horticulturae*, 842: 805-808.

Saruhan, N., Turgut-Terzi, R., Kadioglu, A. (2006.): The effects of exogenous polyamines on some biochemical changes during drought stress in *Ctenanthe setosa* (rosc.) eichler. *Acta Biologica Hungarica*, 57(2): 221-229.

Sato, Y., Murakami, T., Funatsuki, H., Matsuba, S., Saruyama, H., Tanida, M. (2001.): Heat shock-mediated APX gene expression and protection against chilling injury in rice seedlings. *Journal of Experimental Botany*, 52 (354): 145-151.

Scalzo, J., Politi, A., Pellegrini, N., Mezzetti, B., Battino, M. (2005.): Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. *Nutrition*, 21: 207-213.

Schopfer, P. (1996.): Hydrogen peroxide-mediated cell-wall stiffening in vitro in maize coleoptiles. *Planta*, 199(1): 43-49.

Shetty, K., Wahlqvist, M. (2004.): A model for the role of the proline-linked pentosephosphate pathway in phenolic phytochemical biosynthesis and mechanism of action for human health and environmental applications. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 13(1): 1-24.

Shin, R., Schachtman, D.P. (2004.): Hydrogen peroxide mediates plant root response to nutrient deprivation. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 101: 8827–8832.

Shin, R., Berg, R.H., Schachtman, D.P. (2005.): Reactive oxygen species and root hairs in *Arabidopsis* root response to nitrogen, phosphorus and potassium deficiency. *Plant Cell Physiology* 46(8): 1350–1357.

Siegel, B.Z., Galston, W. (1967.): The peroxidase of *Pisum sativum*. *Plant Physiology*, 42: 221-226.

Ślesak, I., Libik, M., Karpinska, B., Karpinski, S., Miszalski, Z. (2007.): The role of hydrogen peroxide in regulation of plant metabolism and cellular signalling in response to environmental stresses. *Acta Biochimica Polonica*, 54(1): 39-50.

Smirnoff, N. (1996.): The function and metabolism of ascorbic acid in plants. *Annals of Botany*, 78: 661-669.

Smirnoff, N. (2000.): Ascorbate biosynthesis and function in photoprotection. *Philosophical Transactions of the Royal Society*, 355: 1455-1464.

Srinivas, V., Balasubramanian, D. (1995.): Proline is a protein-compatible hydrotrope. *Langmuir*, 11: 2830-2833.

Stewart, A.J., Chapman, W., Jenkins, G.I., Graham, I., Martin, T., Crozier, A. (2001.): The effect of nitrogen and phosphorus deficiency on flavonol accumulation in plant tissues. *Plant, Cell and Environment*, 24: 1189-1197.

Stintzing, F.C., Carle, R. (2004.): Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food and in human nutrition. *Trends in Food Science and Technology*, 15: 19-38.

Szabados, L., Savouré, A. (2009.): Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science*, 15(2): 89-97.

Tagliavini, M., Baldi, E., Nestby, R., Raynal-Lacroix, C., Lieten, P., Salo, T., Pivot, D., Lucchi, P.L., Baruzzi, G., Faedi, W. (2004.): Uptake and partitioning of major nutrients by strawberry plants. *Acta Horticulturae*, 649: 197-200.

Takeda, F. (2000.): Out-of-season greenhouse strawberry production in soilless substrate. *Advances in Strawberry Research*, 18: 4-15.

Tandoğan, B., Ulusu, N.N. (2006.): Kinetic mechanism and molecular properties of glutathione reductase. *FABAD Journal of Farmacological Science*. 31: 230-237.

Tanimoto, E. (2005.): Regulation of root growth by plant hormones. Roles for auxin and gibberellin. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 24:249–265.

Tattini, M., Gravano, E., Pinelli, P., Mulinacci, N., Romani, A. (2000.): Flavonoids accumulate in leaves and glandular trichomes in *Phillyrea latifolia* exposed to solar irradiation. *New Phytologist*, 148: 69-77.

Tattini, M., Galardi, C., Pinelli, P., Massai, R., Remorini, D., Agati, G. (2004.): Differential accumulation of flavonoids and hydroxycinnamates in leaves of *Ligustrum vulgare* under excess light and drought stress. *New Phytologist*, 163: 547-561.

Turhan, E., Gulen, H., Eris, A. (2008.): The activity of antioxidative enzymes in three strawberry cultivars related to salt-stress tolerance. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30: 201–208.

Veitch, N.C. (2004.): Horseradish peroxidase: a modern view of a classic enzyme. *Phytochemistry* 65: 249-259.

Verbruggen, N., Hermans, C. (2008.): Proline accumulation in plants: a review. *Amino Acids*, 35: 753–759.

Vernieri, P., Malorgio, F., Tognoni, F. (2002.): Use of biostimulants in production of vegetable seedlings. *Colture Protette*, 31(1): 75-79.

Vernieri, P., Borghesi, E., Ferrante, A., Magnani, G. (2005.): Application of biostimulants in floating system for improving rocket quality. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 3(3&4): 86-88.

Vernieri, P., Borghesi, E., Tognoni, F.A., Ferrante, G., Piaggese, S.A. (2006.): Use of biostimulants for reducing nutrient solution concentration in floating system. *ISHS Acta Horticulturae*, 718: 477-484.

Vinković, T., Parađiković, N., Teklić, T., Štolfa, I., Guberac, V., Vujić, D. (2009.): Utjecaj biostimulatora na rast i razvoj rajčice (*Lycopersicon esculentum* Mill.) nakon presađivanja. Zbornik radova 44. hrvatskog i 4. međunarodnog simpozija agronoma / Lončarić, Z ; Marić S (ur.). - Osijek : Sveučilište J. J. Strossmayera, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek, 459-463.

Voća, S., Dobričević, N., Dragović-Uzelac, V., Duralija, B., Družić, J., Čmelik, Z., Skendrović Babojelić, M. (2008.): Fruit quality of new Early ripening strawberry cultivars in Croatia. *Food Technology and Biotechnology*, 46(3): 292–298.

Wang, H., Cao, G., Prior, R.L. (1997.): Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 304-309.

Welinder, K.G. (1992.): Superfamily of plant, fungal and bacterial peroxidases. *Current Opinion in Structural Biology* 2: 388–393.

Willkenes, H., Inzé, D., Van Montagu, M., Van Camp, W. (1995.): Catalases in plants. *Molecular Breeding*, 1: 207-228.

Yabuta, Y., Maruta, T., Yoshimur, K., Ishikawa, T., Shigeoka, S. (2004.): Two distinct redox signaling pathways for cytosolic APX induction under photooxidative stress. *Plant and Cell Physiology*, 45(11): 1586-1594.

Yahia, E.M., Contreras-Padilla, M., Gonzalez-Aguilar, G. (2001.): Ascorbic acid content in relation to ascorbic acid oxidase activity and polyamine content in tomato and bell pepper fruits during development, maturation and senescence. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 34: 452-457.

Yamane, K., Mitsuya, S., Kawasaki, M., Taniguchi, M., Miyake, H. (2009.): Antioxidant capacity and damages caused by salinity stress in apical and basal regions of rice leaf. *Plant Production Science*, 12(3): 319-326.

Yamasaki, A., Yano, T. (2009.): Effect of supplemental application of fertilizers on flower bud initiation and development of strawberry; possible role of nitrogen. *ISHS Acta Horticulturae*, 842: 765-768.

Yavari, S., Eshghi, S., Tafazoli, E., Yavari, S. (2008.): Effects of various organic substrates and nutrient solution on productivity and fruit quality of strawberry "Selva" (*Fragaria × ananassa* DUCH.). *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 16: 167-178.

Yoshimura, K., Yabuta, Y., Ishikawa, T., Shigeoka, S. (2000.): Expression of spinach ascorbate peroxidase isoenzymes in response to oxidative stresses. *Plant Physiology*, 123: 223–233.

Young, C.C., Chen, L.F. (1997.): Polyamines in humic acid and their effect on radical growth of lettuce seedlings. *Plant and Soil*, 195: 143–149.

Zaghloul, S.M., Fatma El-Quesni, E.M., Mazhar, A.A.M. (2009.): Influence of potassium humate on growth and chemical constituents of *Thuja orientalis* L. seedlings. *Ozean Journal of Applied Sciences*, 2(1): 73-78.

Zhang, X., Schmidt, R.E. (1997.): Biostimulating turfgrasses. *Grounds Maintenance* November, 1999: 15–32.

Zhang, X., Schmidt, R.E. (2000.): Hormone-containing products' impact on antioxidant status of tall fescue and creeping bentgrass subjected to drought. *Crop Science*, 40: 1344–1349.

Zhang, X., Ervin, E.H., Schmidt, R.E. (2003.): Plant growth regulators can enhance the recovery of Kentucky bluegrass Sod from heat injury. *Crop Science*, 43: 952–956.

Zhang, X., Ervin, E.H. (2004.): Cytokinin-containing seaweed and humic acid extracts associated with creeping bentgrass leaf cytokinins and drought resistance. *Crop Science*, 44: 1737–1745.

www.inra.fr/hyppz/DESSINS/8039045.gif

<http://www.hargreavesplants.com>

http://ec.europa.eu/environment/ozone/lisbon_conference.htm

FAOSTAT (<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>)

www.valagro.com: Chemical composition of Viva® and Megafol®

Oxford Biomedical Research: Glutathione reductase assay kit. Spectrophotometric assay for glutathione reductase. Product No. FR 19:

<http://www.oxfordbiomed.com/objects/catalog/products/extras/FR19.pdf>

9. ŽIVOTOPIS

Ivna Štolfa rođena je 9. travnja 1981. godine u Našicama. Nakon završenog srednjoškolskog obrazovanja upisala je Pedagoški fakultet u Osijeku, smjer biologija i kemija gdje je i diplomirala 27. veljače 2004. godine, te stekla zvanje diplomiranog profesora biologije i kemije.

Od 01. rujna 2004. godine zaposlena je na Odjelu za biologiju u Osijeku kao znanstveni novak. Od tada do 15. travnja 2009. godine radila je kao suradnik na znanstveno istraživačkom projektu MZT-a (073 - 0731674 – 0841), glavnog istraživača izv. prof. dr. sc. Vere Cesar, dok je od 15. travnja 2009. godine nadalje suradnik na znanstveno istraživačkom projektu MZT-a (285 - 1193080 – 2151) glavnog istraživača doc. dr. sc. Enriha Merdića.

Poslijediplomski studij Molekularne i stanične biologije upisala je 2005. godine na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu u Zagrebu te je, nakon položenih svih 18 ispita, upisala 2009. godine Sveučilišni poslijediplomski interdisciplinarni doktorski studij "Zaštita prirode i okoliša" u Osijeku.

U nastavnom radu pristupnica je sudjelovala u izvođenju vježbi na kolegijima Biologija stanice, Molekularna biologija, Fizikalni temelji instrumentalnih metoda u biologiji, Anatomija biljaka, Molekularna ekofiziologija biljaka, Hortikultura i Stablašice.

Ivna Štolfa objavila je šest radova citiranih u CC bazi podataka kao koautor, te je sudjelovala na 10 međunarodnih skupova kao autor ili koautor.

Član je Hrvatskog društva za biljnu biologiju.

10. POPIS RADOVA**Izvorni znanstveni i pregledni radovi u CC časopisima**

1. Viljevac, Marija; Dugalić, Krunoslav; **Štolfa, Ivna**; Đermić, Edyta; Cvjetković, Bogdan; Sudar, Rezica; Kovačević, Josip; Cesar, Vera; Lepeduš, Hrvoje; Jurković, Zorica. Biochemical basis of apple leaf resistance to *Erwinia amylovora* infection. Food Technology and Biotechnology. 47 (2009), 3; 281-287.
2. Lepeduš, Hrvoje; **Štolfa, Ivna**; Radić, Sandra; Ćurković Perica, Mirna; Pevalek-Kozlina, Branka; Cesar, Vera. Photosynthetic electron transport and superoxide dismutase activity during natural senescence of maple leaves. Croatica Chemica Acta. 81 (2008), 1; 97-103.
3. Teklić, Tihana; Engler, Meri; Cesar, Vera; Lepeduš, Hrvoje; Paradiković, Nada; Lončarić, Zdenko; **Štolfa, Ivna**; Marotti, Tatjana; Mikac, Nevenka; Žarković, Neven. Influence of excess copper on lettuce (*Lactuca sativa* L.) grown in soil and nutrient solution. Journal of Food, Agriculture and Environment. 6 (2008), 3-4; 439-444.
4. Teklić, Tihana; Hancock, John T.; Engler, Meri; Paradiković, Nada; Cesar, Vera; Lepeduš, Hrvoje; **Štolfa, Ivna**; Bešlo, Drago. Antioxidative responses in radish (*Raphanus sativus* L.) plants stressed by copper and lead in nutrient solution and soil. Acta Biologica Cracoviensia series Botanica. 50 (2008), 2; 79-86.
5. Vinković, Tomislav; Paradiković, Nada; Lepeduš, Hrvoje; **Štolfa, Ivna**; Teklić, Tihana. Oxidative stress in radish plants grown on soils with different Cu and Pb level. Cereal Research Communications. 36 (2008), Supplement 5 Part 3; 1519-1522.
6. Lepeduš, Hrvoje; Jozić, Marko; **Štolfa, Ivna**; Pavičić, Nikola; Hackenberger, Branimir K.; Cesar, Vera. Changes in Peroxidase Activity in the Peel of Unshiu Mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) Fruit with Different Storage Treatments. Food technology and Biotechnology. 43 (2005), 1; 71-77.

Znanstveni radovi u drugim časopisima

1. Cesar, Vera; **Štolfa, Ivna**; Maurović, Sanja; Parađiković, Nada; Lepeduš, Hrvoje. Differential appearance of vacuolar polyphenols in Black pine (*Pinus nigra*) needles in response to the lowering of SO₂ in the air. *Acta Botanica Hungarica*. 50 (2008), 3-4; 326-335.
2. Špoljarević, Marija; **Štolfa, Ivna**; Lisjak, Miroslav; Stanisavljević, Aleksandar; Vinković, Tomislav; Agić, Dejan; Parađiković, Nada; Teklić, Tihana; Engler, Meri; Klešić, Katica. Strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) leaf antioxidative response to biostimulators and reduced fertilization with N and K. *Poljoprivreda (Osijek)*. 16 (2010) , 1; 50-56.

Znanstveni radovi u zbornicima skupova s međunarodnom recenzijom

1. Vinković, Tomislav; Parađiković, Nada; Teklić, Tihana; **Štolfa, Ivna**; Guberac, Vlado; Vujić, Dinko. Utjecaj biostimulatora na rast i razvoj rajčice (*Lycopersicon esculentum* Mill.) nakon presađivanja. Zbornik radova 44. hrvatskog i 4. međunarodnog simpozija agronoma / Lončarić, Zdenko ; Marić Sonja (ur.). Osijek : Sveučilište J. J. Strossmayera, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek, 2009. 459-463
2. Lisjak, Miroslav; Teklić, Tihana; Engler, Meri; Parađiković, Nada; Cesar, Vera; Lepeduš, Hrvoje; **Štolfa, Ivna**; Bešlo, Drago; Lončarić, Zdenko; Hancock, John T. Physiological responses in two radish cultivars exposed to copper and lead stress. Proceedings of the 17th International Symposium of CIEC: Plant nutrient management under stress conditions / Abdalla, F.E., Abdel-Maguid, A.A. (ur.). Giza, Egypt : El-Zaiem Press, 2008. 27-32
3. Mustapić-Karlić, Jadranka; **Štolfa, Ivna**; Vinković, Tomislav; Parađiković, Nada; Teklić, Tihana; Tkalec, Monika; Cesar, Vera; Lepeduš, Hrvoje. Utjecaj osvjetljenja na lignifikaciju cvjetne stapke gerbera (*Gerbera jamesonii* L.) Zbornik radova 45. hrvatskog i 5. međunarodnog simpozija agronoma / Marić, Sonja ; Lončarić, Zdenko (ur.). Osijek : Poljoprivredni fakultet Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, 2010. 172-176.

4. Stanislavljević, Aleksandar; Lisjak, Miroslav; Špoljarević, Marija; Vinković, Tomislav; Agić, Dejan; **Štolfa, Ivna**; Welzer, Filip; Parađiković, Nada; Teklić, Tihana. Utjecaj biostimulatora na produktivnost jagoda pri uzgoju na foliji. Zbornik radova 45. hrvatskog i 5. međunarodnog simpozija agronoma / Marić, Sonja ; Lončarić, Zdenko (ur.). Osijek : Poljoprivredni fakultet Sveučilišta J.J. Strossmayera u Osijeku, 2010. 1138-1142.

Sažeci u zbornicima skupova

1. Begović, Lidija; Mlinarić, Selma; **Štolfa, Ivna**; Parađiković, Nada; Šimić, Domagoj; Cesar, Vera; Lepeduš, Hrvoje. Functional and molecular adjustment of PSII in bleached leaves of silver maple. Book of abstracts of the HDBMB 2008, Congress of the Croatian Society of Biochemistry and Molecular Biology / Strelec, Ivica; Glavaš-Obrovac, Ljubica (ur.). Osijek : Croatian Society of Biochemistry and Molecular Biology, 2008. 66-67

2. Mlinarić, Selma; Antunović, Jasenka; **Štolfa, Ivna**; Cesar, Vera; Lepeduš, Hrvoje. Diurnal changes of Rubisco LSU accumulation and photosynthetic efficiency during maturation of common fig leaves. Book of abstracts of the HDBMB 2008, Congress of the Croatian Society of Biochemistry and Molecular Biology / Strelec, Ivica; Glavaš-Obrovac, Ljubica (ur.). Osijek: Croatian Society of Biochemistry and Molecular Biology, 2008. 111-112

3. Viljevac, Marija; Dugalić, Krunoslav; **Štolfa, Ivna**; Jurković, Zorica; Cvjetković, Bogdan; Sudar, Rezica; Kovačević, Josip; Cesar, Vera; Lepeduš, Hrvoje. Biochemical basis of apple leaf resistance on *Ervinia amylovora* infection. Book of abstracts of the HDBMB 2008, Congress of the Croatian Society of Biochemistry and Molecular Biology / Strelec, Ivica ; Glavaš-Obrovac, Ljubica (ur.). Osijek : Croatian Society of Biochemistry and Molecular Biology, 2008. 140-141

4. Užarević, Zvonimir; **Štolfa, Ivna**; Parađiković, Nada; Cesar, Vera; Lepeduš, Hrvoje. Regulacija razine vodikovog peroksida u prerano ostarjelim listovima srebrnog javora (*Acer saccharinum* L.). 2. hrvatski botanički kongres, Knjiga sažetaka / Britvic, Mihaela; Škvorc, Željko (ur.). Zagreb, 2007. 124-125

5. Žuna Pfeiffer, Tanja; **Štolfa, Ivna**; Hoško, Marina; Krstulović, Ante; Žanić, Mate; Pavičić, Nikola; Cesar, Vera; Lepeduš, Hrvoje. Usporedba strukture i funkcije dva kultivara

masline. 2. hrvatski botanički kongres, Knjiga sažetaka / Britvec, Mihaela ; Škvorc, Željko (ur.). Zagreb, 2007. 126-127

6. Lepeduš, Hrvoje; **Štolfa, Ivna**; Radić, Sandra; Pevalek-Kozlina, Branka; Cesar, Vera.

The role of photosynthesis and antioxidative enzymes in regulation of hydrogen peroxide level in senescing Maple leaves. Kongres hrvatskog društva za biokemiju i molekularnu biologiju prigodom 30. obljetnice osnutka uz međunarodno sudjelovanje: knjiga sažetaka = Congress of the Croatian Society of Biochemistry and Molecular Biology on the occasion of the 30th Anniversary with international participation: book of abstracts / Kovarik, Zrinka (ur.). Zagreb: Hrvatsko društvo za biokemiju i molekularnu biologiju, 2006. 111-112

7. **Štolfa, Ivna**; Lepeduš, Hrvoje; Cesar, Vera; Ljubešić, Nikola. Leaf anatomy and photosynthetic apparatus functioning of red and green laeves from single tree of "Crimson King" Norway maple. Proceedings, 2nd Croatian Congress on Microscopy with International Participation / Gajović, Srećko (ur.). Zagreb: Hrvatsko društvo za elektronsku mikroskopiju, 2006. 212-213

8. Lepeduš, Hrvoje; Gaća, Vlatka; **Štolfa, Ivna**; Kovač, Spomenka; Cesar, Vera. Lipid peroxidation and antioxidative response during chloroplast biogenesis in developing leaves of Norway maple (*Acer platanoides* L.). Oxygen metabolism, ROS & redox signalling in plants / Kerry, B.R. (ur.). Bristol: University of the West of England, 2005.

9. Lepeduš, Hrvoje; **Štolfa, Ivna**; Cesar, Vera. Dimensions and areas of mesophyll cells during spruce needle development. Prvi hrvatski botanički simpozij Knjiga sažetaka / Mitić, Božena ; Šoštarić, Renata (ur.). Zagreb: Hrvatsko botaničko društvo, 2004. 131-132

10. Lepeduš, Hrvoje; Cesar, Vera; Ljubešić, Nikola; **Štolfa, Ivna**. Vacuolar polyphenols in developing needles of spruce // Proceedings - 6th Multinational Congress on Microscopy - European Extension / Milat, Ognjen; Ježek, Davor (ur.). Zagreb: Croatian Society for Electron Microscopy, 2003. 295-296

POPIS KORIŠTENIH KRATICA

AA – askorbinska kiselina
AA_l – askorbinska kiselina u listu
AA_p – askorbinska kiselina u plodu
AAS – atomski apsorpcijski spektrofotometar
AC – ukupni antocijanini
AC_p – ukupni antocijanini u plodu
APX - askorbat peroksidaza
APXu – ukupna aktivnost askorbat peroksidaze
APXs – specifična aktivnost askorbat peroksidaze
BSA – albumin goveđeg seruma
CAT – katalaza
CATu – ukupna aktivnost katalaze
CATs – specifična aktivnost katalaze
CBB – Coomassie briljant plavo
EC - električni konduktivitet
GPX – gvajakol peroksidaza
GPXu – ukupna aktivnost gvajakol peroksidaze
GPXs – specifična aktivnost gvajakol peroksidaze
GR – glutation reduktaza
GRu – ukupna aktivnost glutation reduktaze
GRs – specifična aktivnost glutation reduktaze
GSSG – oksidirani glutation
GSH – reducirani glutation
HP – vodikov peroksid
K_l – kalij u listu
N_l – dušik u listu
NM – masa nadzemnog dijela biljke
PHE – ukupni fenoli
PHE_p – ukupni fenoli u plodu
PHE_l – ukupni fenoli u listu
PRO – prolin
ROS – reaktivne kisikove jedinke
RŠ – reducirajući šećeri
SMT- masa suhe tvari najrazvijenije troliske
SVMT – masa svježe tvari najrazvijenije troliske
TBARS – intenzitet lipidne peroksidacije
UAA – ukupna antioksidativna aktivnost
UK – ukupna kiselost