

Влияние на биостимулаторите върху качеството на ябълкови плодове

Мира Милинкович^{1*}, Вера Райчевич², Светлана М. Паунович¹,
Йелена Томич¹, Жаклина Караклаич-Стаич¹

¹Изследователски институт по овощарство, Чачак. ул. "Краля Петра I" 9,
32000 Чачак, Сърбия

²Белградски университет. Селскостопански факултет,
ул. Немажина 6, 11080 Белград, Сърбия

Influence of Biostimulators on the Quality of Apple Fruits

Mira Milinković^{1*}, Vera Raičević², Svetlana M. Paunović¹,
Jelena Tomić¹, Žaklina Karaklajić-Stajić¹

¹Fruit Research Institute Cacak, Kralja Petra I/9, 32000 Cacak, Serbia

²University of Belgrade. Faculty of Agriculture,
Nemanjina 6, 11080 Belgrade, Serbia

*e-mail: miramilinkovic@yahoo.com

Original scientific paper

РЕЗЮМЕ

Проучено е влиянието на почвени биоторове върху съдържанието на захари, макро и микроелементи и тежки метали в плодовете на ябълкови сортове Айдаред и Ред Чиф. И при двата сорта са измерени по-ниски стойности на съдържанието на разтворими твърди вещества (SSC), общи захари (TS), инвертни захари (IS), захароза и по-високо ниво на титруема киселинност (TA), както и повишена абсорбция на Ca, Mg, Na, P, Cu, Mn. При сорт Айдаред, освен споменатите елементи, е повишена абсорбцията на K и Fe, а влиянието на

SUMMARY

The influence of the application of soil biofertilizers on the content of sugar, macro, microelements and heavy metals in the fruits of the apple cv. Idared and Red Chief was analysed. In both cultivars, lower values of soluble solids content (SSC), total sugars (TS), inverted sugars (IS), sucrose and higher titratable acidity (TA) were measured, as well as increased absorption of Ca, Mg, Na, P, Cu, Mn.

In cv. Idared, in addition to the mentioned elements, the absorption of K and Fe was increased, and the influence of biofertilizers contributed

биоторовете допринася за понижаване на усвояването на Pb, Ni, Cr. По-високото съдържание на Ca в третиранията, позволява по-благоприятно съотношение K/Ca, което допринася за по-дълго съхранение на плодовете.

Биоторовете със специфично съчетание от бактерии влияят върху оползотворяването на високото микробно биоразнообразие и имат стимулиращо въздействие върху усвояването на хранителни вещества от почвата и оптимизиране на съдържанието им в ябълковите плодове.

Ключови думи: биостимулатори, ябълки, макро и микроелементи, тежки метали

УВОД

За да отговорят на нарастващото търсене на храна в резултат на непрекъснатото нарастване на световното население, селскостопанските производители проучват различни стратегии за подхранване на културите. Според оценките на FAO търсенето на селскостопански продукти ще нарасне до 60% до 2030 г. (Mia and Shamsuddin, 2010).

Подобряването на производството при запазване на околната среда е едно от най-големите предизвикателства през 21 век (Berg, 2009). За правилния растеж и развитие на растението е нужно оптималното присъствие на 17 основни елемента, сред които азот (N), фосфор (P) и калий (K), необходими в относително големи количества (Mishra and Dash, 2014).

Основните хранителни вещества, необходими за правилния растеж на културите в природата, присъстват в неразтворими или сложни форми.

Някои микроорганизми ги

to the reduction of the absorption of Pb, Ni, Cr.

The higher Ca content in the treatments enabled a more favorable K/Ca ratio, which contributes to a longer storage of fruits.

Biofertilizers with specific consortia of bacteria influenced the utilization of high microbial biodiversity and had a stimulating effect on the uptake of nutrients from the soil and the optimization of their content in apple fruits.

Key words: biostimulators, apple, macro and microelements, heavy metals

INTRODUCTION

To meet the growing demand for food resulting from the continual expansion of the world's population, farmers are exploring different crop nutrition strategies.

According to FAO estimates, demand for agricultural products will rise to 60% by 2030 (Mia and Shamsuddin, 2010).

Improving production while preserving the environment is one of the biggest challenges in the 21st century (Berg, 2009).

For the proper growth and development of the plant, the optimal presence of 17 basic elements is necessary, among which nitrogen (N), phosphorus (P) and potassium (K) are needed in relatively large quantities (Mishra and Dash, 2014).

Essential nutrients needed for proper crop growth in nature are present in insoluble or complex forms.

Certain microorganisms make

правят разтворими и достъпни за растенията. Биоторовете са екологични, рентабилни, нетоксични и лесни за прилагане; подпомагат поддържането на структурата на почвата и биоразнообразието на земеделските земи. Биоторовете са вещества, съдържащи различни микроби, имащи способността да подобряват усвояването на хранителни вещества от растенията чрез колонизиране на ризосферата и да направят хранителните вещества лесно достъпни за власинките на корените на растенията (Dasgupta et al., 2021). Микробите могат да взаимодействат с културните растения и да подобряват техния имунитет, растеж и развитие.

Доказано е, че те ускоряват растежа на кореновата система, удължават нейния живот, разграждат вредните вещества, увеличават оцеляването на разсада и съкращават времето на цъфтеж (Youssef and Eissa, 2014).

Следователно те служат като добър заместител на химическите торове (Deepali and Gangwar, 2010; Thomas and Singh, 2019).

Концентрацията на тежки метали в почвата и околната среда се е увеличила през последните години в резултат на човешката дейност, при това те не се разграждат от бактерии или други организми, като по този начин остават в околната среда за неопределено време (Ammar et al., 2022). В съвременното производство на ябълки, приемът на тежки метали от почвата към ядливите части е важен въпрос, особено като се има предвид тяхната токсичност, не възможност за биоразтворимост и натрупване като най-опасните характеристики, които пряко засягат здравето на

them soluble and available to plants. Biofertilizers are environmentally friendly, cost-effective, non-toxic and easy to apply; help maintain land structure and agricultural land biodiversity.

Biofertilizers are the substances containing variety of microbes having the capacity to enhance plant nutrient uptake by colonizing the rhizosphere and make the nutrients easily accessible to plant root hairs (Dasgupta et al., 2021).

Microbes can interact with the crop plants and enhance their immunity, growth, and development.

They have been shown to accelerate the growth of the root system, prolong its lifespan, break down harmful substances, increase seedling survival and shorten the flowering time (Youssef and Eissa, 2014).

Therefore, they serve as a good substitute for chemical fertilizers (Deepali and Gangwar, 2010; Thomas and Singh, 2019).

The concentration of heavy metals in the soil and in the environment has increased in recent years as a result of human activities and they are not broken down by bacteria or other organisms thus remaining in the environment indefinitely (Ammar et al., 2022).

In the modern apple production, heavy metal intake from soil to edible parts is an important issue, especially considering their toxicity, bioincompatibility, and accumulation as the most dangerous characteristics that directly affect consumer health.

потребителите. Използването на подобрани биоторове може да намали усвояването на определени вредни и опасни вещества.

В настоящето проучване е изследвано въздействието на приложените микроби върху биохимичните свойства на ябълковите плодове.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Изследванията са извършени в ябълкови насаждения със сортове Айдаред и Ред Чиф, отглеждани конвенционално през 2021 г. Насаждението с Айдаред е създадено през 2015г., а с Ред Чиф през 2017г. в Топола (Централна Сърбия).

При основното торене е приложена формула 12:12:17 (Elixir Suprime 800 kg/ha), а при подхранването KAN (27%N) в количество 300 kg ha⁻¹.

Биоторовете са внесени чрез пръскане по повърхността на почвата: Bioplug 6l/ha; Biofor Active 5l/ha; Biofor BioP-5l/ha (фирма Biofor system d.o.o) в период с температура на почвата над 10°C.

Защитата (на насажденията) от болести и неприятели е извършена съгласно стандартната защитна програма.

Плодовете са избрани визуално в същия етап на развитие и от подобни места.

В периода на интензивна беритба, когато повечето плодове са във фаза пълна зрялост за изследвания сорт, са извършени химични анализи за определяне на биохимичните показатели и съдържанието на макро, микроелементи и тежки метали в ябълковите плодове. Всички анализи са извършени в лабораторията за химически изследвания на Изследователски институт по овощарство, Чачак.

The use of certain selected biofertilizers can reduce the absorption of certain harmful and dangerous substances.

In our research, the effect of applied microbes on the biochemical properties of apple fruits was studied.

MATERIAL AND METHODS

The tests were performed in the plantations of apple cv. Idared and Red Chief conventional production in 2021.

Plantation of apples cv. Idared was founded in 2015, and Red Chief in 2017 in Topola (Central Serbia).

In the basic fertilization, the formulation 12:12:17 (Elixir Suprime 800 kg/ha) was applied, and in the top dressing KAN (27%N) in the amount of 300 kg ha⁻¹.

Biofertilizers were applied by spraying over the soil surface: Bioplug 6l/ha; Biofor Active 5l/ha; Biofor BioP-5l/ha (Biofor system d.o.o) in the period when the soil temperature was above 10°C.

Protection (of plantations) from diseases and pests was carried out according to the standard protection program.

The fruits were selected visually and were at the same stage of development and from similar locations in the bushes. During the period of intensive harvesting, when most fruits are in the phase of full maturity for the tested variety, chemical analyses were performed in order to determine the biochemical parameters and content of macro, microelements and heavy metals in apple fruits. All analyses were performed in the Laboratory for Chemical Testing of the Fruit Research Institute, Čačak.

Биохимичен анализ на плодове

Проби от ябълкови плодове са събрани в етап на пълна зрялост в три повторения, от всеки вариант на експеримента, и след това използвани за изследване на химичния състав. Съдържанието на разтворими твърди вещества (РТВ) в плодовете е определено с ръчен рефрактометър (Hanna instruments, Германия). Съдържанието на сухо вещество се определя чрез сушене при 105°C до достигане на постоянно тегло. Титруемата киселинност (ТК) се определя чрез неутрализиране на плодovия екстракт с 0.1 N NaOH до pH 8.2, като се използва фенолфталеин като индикатор. Киселинността се изразява като mg ябълчена киселина/100 g пряно тегло.

Съдържанието на захароза, инвертни захари и общи захари се определят по метода на Luff-Schoorl (Tanner and Brunner, 1979).

Съдържание на макро, микроелементи и тежки метали (Ca, Mg, Na, K, Cu, Zn, Mn, Fe, Pb, Ni, Cr) в малинови плодове

Съдържанието на макро и микроелементи е регулирано чрез модифициран метод (Moraisa et al., 2017). Отчитането е извършено с уред AAS, Perkin-Elmer, PinAAcle 500 (САЩ 2018), а стойностите са изразени в mg kg⁻¹ от пряното тегло на пробата, докато съотношението К: Са е определено чрез изчисление.

Статистически анализ

Всеки вариант на експеримента беше анализиран в три повторения и резултатите бяха представени като средна и стандартна грешка. Данните бяха анализирани чрез еднопосочен анализ на дисперсията (ANOVA), за да се изследват разликите между сортовете, като се използва

Biochemical analyses of fruits

Samples of apple fruits were collected at the stage of full maturity in three replicates, from each variant of the experiment, and then used to test the chemical composition.

The Soluble solid content (SSC) of the fruit was determined on a manual refractometer (Hanna instruments, Germany).

The dry matter content was determined by drying at 105°C until constant mass.

Titrateable acidity (TA) was determined by neutralization of fruit extract with 0.1 N NaOH to pH 8.2, using phenolphthalein as indicator.

Acidity was expressed as mg citric acid 100 g⁻¹ fresh weight.

Sucrose, inverted sugars, and total sugars content were determined by Luff-Schoorl method (Tanner and Brunner 1979).

Content of macro, microelements and heavy metals (Ca, Mg, Na, K, Cu, Zn, Mn, Fe, Pb, Ni, Cr) in the fruits of raspberry

The content of microelements and heavy metals was analysed using modified method (Moraisa et al., 2017). Readings were performed on AAS, Perkin-Elmer, PinAAcle 500 (USA 2018), and values were expressed in mg kg⁻¹ of dry weight of the sample.

Statistical analysis

Each variant of the experiment was analysed in three replicates, and the results were presented as mean and standard error.

Data were analysed by one-way analysis of variance (ANOVA) to examine differences among the cultivars, using Statistica 7 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA).

Statistica 7 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, САЩ). Сравненията по двойки между различни параметри бяха извършени с помощта на теста на Дънкан ($p < 0.05$).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Съдържанието на разтворими твърди вещества е добър показател за количеството на захар в ябълките, тъй като е основното разтворимо твърдо вещество (РТВ) в плодовете (Nour et al., 2010).

Съотношението на захарите варира в зависимост от плода и сорта (Wu et al., 2007) и влияе върху вкуса. Основната киселина в ябълките е ябълчната киселина (Ackermann et al., 1992; Colaric et al., 2007). Киселинността е важен компонент на плодския вкус и в комбинация с РТВ допринася за цялостното органолептично качество.

Резултатите от първичните метаболити (Таблица 1) показват повишено съдържание на РТВ, общи захари, инвертна захар, захароза при контрола в сравнение с третираната. Съдържанието на титруемата киселинност (ТК) е пониско в контролата, което е следствие от влиянието на биоторовете върху по-бавното узряване и степента на зрялост на плодовете.

Киселинността на плодовете варира в рамките на сорта, а не в рамките на третирането. ТК може да бъде важен инструмент за прогнозиране на вкуса на ябълките (Moog et al., 2008). Това също може да бъде важно за оценката на качеството на плодовете, тъй като потребителите често имат различни предпочитания към ябълки с кисел или сладък вкус (Nour et al., 2010).

Плодовете на Айдаред са с

The pairwise comparisons between different parameters were performed out using Duncan's test ($p < 0.05$).

RESULTS AND DISCUSSION

Soluble solids content is a good indicator of sugar content of apples, as it is the major soluble solid in fruits (Nour et al., 2010).

The ratio of sugars varies depending on the fruit and the cultivar (Wu et al., 2007) and influences taste. The principle acid in apples is malic acid (Ackermann et al., 1992; Colaric et al., 2007). Acidity is an important component of fruit flavour and in combination with SSC, contributes to overall organoleptic quality.

The results of primary metabolites (Table 1) show increased content of SSC, total sugars, inverted sugars, sucrose on control compared to treatments.

In accordance with the above, the TA content is lower in the control, which is a consequence of the influence of biofertilizers on slower ripening and the degree of fruit maturity.

The acidity of the fruit varies within the variety, not within the treatment. TA may be an important tool in predicting the taste of apples (Moor et al., 2008).

This may also be important during the assessment of fruit quality, since consumers often have distinct preferences for acid or sweet-tasting apples (Nour et al., 2010).

The cultivar Idared fruits have

по-високо съдържание на РТВ, общи захари, инвертна захар, захароза, а плодовете на Ред Чийф имат повишена ТК при контролата и третирането, което е сортова характеристика. Подобни резултати за съдържанието на РТВ и ТК в сорт Айдаред са определени от Milošević et al. (2019). Разликите в резултатите между авторите са в киселинния метаболизъм, причинен от специфичното естество на торовете, както и други причини, като различни агроклиматични условия, сортовата специфичност *per se* (генотип), начинът на отглеждане и възрастта на дървото (Milošević and Milošević, 2017).

higher content of SSC, total sugars, inverted sugars, sucrose, and cv. Red Chief fruits have increased TA on control and treatment, which is a varietal characteristic.

Similar results of SSC and TA content in the cultivar Idared were determined by Milošević et al. (2019).

Differences in results between authors are in acid metabolism caused by the specific nature of fertilizers, as well as other reasons such as diverse agroclimatic conditions, the cultivar factor *per se* (genotype), cropping method, and tree age (Milošević and Milošević, 2017).

Таблица 1. Първични метаболити в ябълкови плодове
Table 1. Primary metabolites in apple fruits

Сорт Variety	Обработки Treatments	pH	SSC	TA	Общи захари Total sugars	Инвертни захари Inverted sugars	Захароза Sucrose
					%		
Idared	контрола control	3.49± 0.02c	13.40± 0.07c	0.43± 0.01a	10.45± 0.04b	7.73± 0.04c	2.58± 0.03b
	обработка treatment	3.54± 0.02c	12.67± 0.19d	0.46± 0.01a	9.12± 0.02d	7.48± 0.03c	1.56± 0.02d
Red Chief	контрола control	4.29± 0.05a	19.50± 0.15a	0.17± 0.01b	13.58± 0.05a	10.68± 0.17a	2.75± 0.03a
	обработка treatment	4.07± 0.18b	14.25± 0.35b	0.21± 0.02b	10.17± 0.21c	8.04± 0.21b	1.92± 0.08c
ANOVA		**	**	**	**	**	**

Използването на биоторове повишава съдържанието на P, Ca, Mg, Na и в двата сорта, а пониското съдържание на K позволява по-благоприятно съотношение на K/Ca и K+Mg/Ca, което се отразява на продължителността на съхранение и издръжливостта на плодовете.

Съдържанието на P в плодовете при третирания е 1234,2-1468,0 mg/kg, Ca 40.0-43.7 mg/kg, Mg 32.6-44.6 mg/kg, Na 17.5-32.6 mg/kg, K 889,0-965,3 mg/kg, K/Ca съотношение 22.1-22.2 и K+Mg/Ca 23.04-23.11. При

The use of biofertilizers increased the content of P, Ca, Mg, Na in both cultivars, and the lower content of K enabled a more favorable ratio of K/Ca and K+Mg/Ca, which affects the length of fruit storage and health safety.

The content of P in fruits on treatments is 1234.2-1468.0 mg/kg, Ca 40.0-43.7 mg/kg, Mg 32.6-44.6 mg/kg, Na 17.5-32.6 mg/kg, K 889.0-965.3 mg/kg, K/Ca ratio 22.1-22.2 and K+Mg/Ca 23.04-23.11.

In the variants without the use of

вариантите без използване на биоторове съдържанието на тези хранителни елементи е значително по-ниско. Плодовете на Ред Чиф приемат по-ниско количество на макронутриенти в сравнение с Айдаред (Таблица 2).

Milinković et al. (2021) заявиха, че при ябълковите плодове, ако съотношението K/Ca е по-високо от 30, а при някои сортове над 25 и дори 20, възникват физиологични заболявания и съответно по-малък потенциал за съхранение на плодовете. Третиранията показват по-ниско съотношение на K/Ca и K+Mg/Ca в сравнение с контролата, което потенциално влияе върху запазването на качеството на плодовете по време на съхранение.

biofertilizers, the content of these nutrients is significantly lower.

The fruits of cv. Red Chief adopted a lower content of macronutrients compared to cv. Idared (Table 2).

Milinković et al. (2021) stated that in apple fruits, if the K/Ca ratio is higher than 30, and in some varieties higher than 25, and even 20, physiological diseases occur and, accordingly, less fruit storage potential.

The treatments showed a lower ratio of K/Ca and K+Mg/Ca compared to the control, which potentially affects the preservation of fruit quality during storage.

Таблица 2. Съдържание на макроелементи в ябълкови плодове
Table 2. Content of macroelements in apple fruits

Сорт Variety	Обработки Treatments	P	Ca	Mg	Na	K	K/Ca	K+Mg/ Ca
		mg/kg					ratio	
Idared	контрола control	1019.3 ±3.35d	27.7± 0.67c	37.2± 0.28b	14.3± 0.17c	1157.1± 2.21a	41.8± 0.92a	43.12± 1.76a
	обработка treatment	1468.0 ±2.32a	43.7± 0.39a	44.6± 0.13a	32.6± 0.42a	965.3± 3.89b	22.1± 0.80c	23.11± 0.83c
Red Chief	контрола control	1062.5 ±5.40c	25.1± 0.26d	23.4± 0.47d	13.1± 0.19d	745.6± 3.10d	29.7± 0.76b	30.63± 0.66b
	обработка treatment	1234.2 ±2.03b	40.0± 0.54b	32.6± 0.40c	17.5± 0.22b	889.0± 6.29c	22.2± 0.54c	23.04± 0.59c
ANOVA		**	**	**	**	**	**	**

Плодовете от сорт Айдаред, отгледани върху почва, обработена с биотор имат по-високо съдържание на Cu и Mn в сравнение с контролата (Таблица 3). Съдържанието на Fe в плодовете на Айдаред и в двата варианта на опита (3.50-3.78 mg/kg) е значително по-високо в сравнение с Ред Чиф.

Съдържанието на Zn е по-ниско при третиране в сравнение с контролата.

The cultivar Idared fruits grown on soil treated with biofertilizer have a higher content of Cu and Mn compared to the control (Table 3).

The Fe content in cv. Idared fruits in both variants of the experiment (3.50-3.78 mg/kg) is significantly higher compared to cv. Red Chief.

Zn content is lower on treatments compared to control.

Таблица 3. Съдържание на микроелементи в ябълковите плодове
Table 3. Content of microelements in apple fruits

Сорт Variety	Обработки Treatments	Cu	Zn	Mn	Fe
		mg/kg			
Idared	контрола control	0.06±0.003d	0.68±0.019a	0.26±0.003d	3.78±0.074a
	обработка treatment	0.41±0.004a	0.50±0.015b	0.41±0.016a	3.50±0.010b
Red Chief	контрола control	0.15±0.003c	0.53±0.004b	0.31±0.003c	0.42±0.008d
	обработка treatment	0.18±0.003b	0.42±0.004c	0.35±0.005b	0.54±0.012c
ANOVA		**	**	**	**

Ефектът от биотора е свързан с понижаването на съдържанието на Pb, Ni, Cr спрямо контролата и при двата изследвани сорта (Таблица 4).

A particularly significant effect of the biofertilizer is the reduction of the content of Pb, Ni, Cr in relation to the control in both tested cultivars (Table 4).

Таблица 4. Съдържание на тежки метали в ябълкови плодове
Table 4. Content of heavy metals in apple fruit

Сорт Variety	Обработки Treatments	Pb	Ni	Cr
Idared	контрола control	0.055±0.002a	0.056±0.002a	0.092±0.003a
	обработка treatment	0.023±0.001d	0.033±0.002c	0.031±0.002c
Red Chief	контрола control	0.041±0.001b	0.061±0.001a	0.073±0.001b
	обработка treatment	0.031±0.001c	0.039±0.002b	0.021±0.002d
ANOVA		**	**	**

Растенията натрупват метали от почвата по време на растеж и тъй като те не са биоразградими същите могат да навлязат в хранителната верига, което може да доведе до повишен прием от хора, причинявайки сериозно заболяване (Jabeen et al., 2010).

Цинкът, медта, желязото, хромът и кобалтът са важни и стават токсични само във високи концентрации (Radivojevic et al., 1999). Поради това е важно да се следят количествата на т металите в почвата плодoвете и плодoвите продукти.

Американската агенция за

Plants accumulate metals from the soil during growth and as metals are not biodegradable they can enter the food chain which may lead to increased human intake causing serious illness (Jabeen et al., 2010).

Zinc, copper, iron, chromium and cobalt are essential and become toxic only in high concentrations (Radivojevic et al., 1999).

It is thus important to monitor metals in soil, fruit and fruit products.

The US EPA has

опазване на околната среда (EPA) препоръчва прием на Cr от 1.5 mg/kg/ден. Приемът на Ni чрез храна при възрастни е 0.100 до 0.300 mg на ден (Haber et al., 2017; ATSDR 2018), а според телесното тегло приемът му е ограничен до 0.020 mg/kg телесно тегло на ден (Haber et al., 2017; US-EPA, IRIS9).

Регламент (ЕО) № 1881/2006 за изменение ограничава приема на Pb до 0.10 mg/kg телесно тегло за деца и 0.20 mg/kg телесно тегло за възрастни. В настоящето изследване са измерени ниски стойности на Pb (0.023-0.055 mg/kg), Ni (0.033-0.061 mg/kg) и Cr (0.021-0.092 mg/kg) в пресни ябълкови плодове.

ИЗВОДИ

Според резултатите от изследванията, съдържанието на сухо вещество и различни форми на захар е по-високо в контролния вариант, а прилагането на биоторове е повлияло за забавянето на узряването на плодовете. Разликата в киселинността на плодовете е повлияна от различните обработки и същевременно от характеристиките на изследваните сортове.

Установено е значително влияние на прилагането на биотора върху увеличаването на съдържанието на P, Ca, Mg, Na и в двата сорта, а по-ниското съдържание на K позволява благоприятно съотношение на K/Ca и K+Mg/Ca. Във вариантите без използване на биоторове, съдържанието на тези хранителни вещества е значително по-ниско, като също така се забелязва, че плодовете на Ред Чиф са приели по-ниско съдържание на макроелементи в сравнение с Айдаред.

recommended that a Cr intake of 1.5 mg/kg/day is allowed.

The intake of Ni through food in adults is 0.100 to 0.300 mg per day (Haber et al., 2017; ATSDR 2018), and according to body weight its intake is limited to 0.020 mg/kg bw per day (Haber et al., 2017; US- EPA, IRIS9).

Amending Regulation (EC) No. 1881/2006 limited the intake of Pb to 0.10 mg/kg body weight for children and 0.20 mg/kg body weight for adults. In our research, low values of Pb (0.023-0.055 mg/kg), Ni (0.033-0.061 mg/kg) and Cr (0.021-0.092 mg/kg) contents were measured in fresh apple fruits.

CONCLUSIONS

Based on the results of the research, the content of dry matter and different forms of sugar is higher in the control variant, and the application of biofertilizers influenced the delayed ripening of fruits.

The difference in fruit acidity was influenced by different treatments and at the same time by the characteristics of the examined varieties.

A significant influence of biofertilizer application on the increase of P, Ca, Mg, Na content in both cultivars was determined, and the lower content of K enabled a more favorable ratio of K/Ca and K+ Mg/Ca.

In the variants without the use of biofertilizers, the content of these nutrients is significantly lower, and it is also noticeable that the fruits of cv. Red Chief adopted a lower content of macronutrients compared to cv. Idared.

Плодовете от сорт Айдаред, отгледани върху почва, третирана с биотор, имат по-високо съдържание на Cu и Mn в сравнение с контролата, докато съдържанието на Fe в плодове от Айдаред и в двата варианта на опита е значително по-високо в сравнение с Ред Чиф. Съдържанието на Zn е по-ниско при третиранията в сравнение с контролата. Ефектът от биотора се изразява в понижаване на съдържанието на Pb, Ni, Cr спрямо контролата и при двата изследвани сорта. Всичко гореизложено показва значителното положително влияние от прилагането на биоторове в ябълковите градини чрез въздействието върху повишаване на усвояването на хранителни вещества, намаляване на усвояването на вредни и опасни вещества и устойчивост на качеството на плодовете в условията на съхранение.

The cultivar Idared fruits grown on soil treated with a biofertilizer have a higher content of Cu and Mn compared to the control, while the Fe content in cv. Idared fruits in both variants of the experiment is significantly higher compared to cv. Red Chief.

Zn content is lower on treatments compared to control.

A particularly significant effect of the biofertilizer is the reduction of the content of Pb, Ni, Cr in relation to the control in both tested cultivars.

All the above indicates a significant positive effect of the application of biofertilizers in apple orchards through the impact on increasing the uptake of nutrients, reducing the uptake of harmful and hazardous substances and the sustainability of fruit quality in storage conditions.

БЛАГОДАРНОСТИ

Настоящето проучване е подкрепено от Министерството на образованието, науката и технологичното развитие на Република Сърбия, Договор № 451-03-68/2022-14/200215 и компания Biofor System d.o.o.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia, Contract No. 451-03-68/2022-14/200215 and Biofor System d.o.o.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. **Ackermann, J., M. Fischer and R. Amadó,** 1992. Changes in sugars, acids and amino acids during ripening and storage of apples (cv. Glockenapfel). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 1131–1134.
2. **Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR),** Toxicological Profile for Nickel. Available online: <https://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp15.pdf> (accessed on 24 April 2022).
3. **Ammar, E. E., A. A., A. Aioub, A. E. Elesawy, A. M. Karkour, M. S. Mouhamed, A. A. Amer and N. A. EL-Shershaby,** 2022. Algae as Bio-fertilizers: Between current situation and future prospective. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29, 3083–3096.
4. **Berg, G.,** 2009. Plant–microbe interactions promoting plant growth and health: Perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 84, 11–18.

5. **Colaric, M., F. Štampar and M. Hudina**, 2007. Content levels of various fruit metabolites in the 'Conference' pear response to branch bending. *Scientia Horticulturae*, 113, 261–266.
6. **Commission Regulation (EU)** No 2015/1005 of 25 June 2015 Amending Regulation (EC) No. 1881/2006 as Regards Maximum Levels of Lead in Certain Foodstuffs. Available online: <https://eur-lex.europa.eu/legalcontent/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32015R1005&from=EN> (accessed on 24 April 2022).
7. **Dasgupta, D., K. Kumar, R. Miglani, R. Mishra, A. Kumari Panda and S. Singh Bisht**, 2021. Microbial biofertilizers: Recent trends and future outlook. *Recent Advancement in Microbial Biotechnology, Agricultural and Industrial Approach*, p. 12–6.
8. **Deepali, G. K. and K. Gangwar**, 2010. Biofertilizers: An Ecofriendly Way to Replace Chemical Fertilizers. Available online: <https://www.krishisewa.com/articles/organic-agriculture/237-biofertilizer-substitute-chemical.html> (accessed on 27 February 2022).
9. **Haber, L.T., H. K.Bates, B.C. Allen, M. J. Vincent and A. R. Oller**, 2017. Derivation of an oral toxicity reference value for nickel. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 87, S1–S18.
10. **Jabeen, S., M.T. Shah, S. Khan and M.Q. Hayat**, 2010. Determination of major and trace elements in ten important folk therapeutic plants of Haripur basin, Pakistan. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4, 559–566.
11. **Mia, M. B. and Z. Shamsuddin**, 2010. Rhizobium as a crop enhancer and biofertilizer for increased cereal production. *African Journal of Biotechnology*, 9, 6001–6009.
12. **Milinković, M., S.M. Paunović, J.Tomić and D.Vranić**, 2021. Effect of 1-methylcyclopropene on storage of pear 'Williams'. Book of Proceedings of XII International Scientific Agricultural Symposium "Agrosym 2021", Jahorina (Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina), 542–548.
13. **Milošević, T. and N. Milošević**, 2017. Influence of mineral fertilizer, farmyard manure, natural zeolite, and their mixture on fruit quality and leaf micronutrient levels of apple trees. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 48, 539–548.
14. **Milošević, T., N. Milošević and J. Mladenović**, 2019. Tree vigor, yield, fruit quality, and antioxidant capacity of apple (*Malus × domestica* Borkh.) influenced by different fertilization regimes: preliminary results. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 43, 48–57.
15. **Mishra, P. and D. Dash**, 2014. Rejuvenation of biofertilizer for sustainable agriculture and economic development. *Consilience*, 41–61.
16. **Moor, U., K. Karp, P. Pöldma and M. Starast**, 2008. Influence of preharvest calcium treatments on apple soluble solids, titratable acids and vitamin C content at harvest and after storage. *Acta Horticulturae* 768, 49–55.
17. **Morais, D. R., M. E. Rotta, C. S. Sargi, E. G. Bonafe, R. M. Suzuki, N. E. Souza, M. Matsushita and V. J. Visentainer**, 2017. Proximate Composition, Mineral Contents and Fatty Acid Composition of the Different Parts and Dried Peels of Tropical Fruits Cultivated in Brazil. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 28 (2), 308–318.
18. **Nickel, Soluble Salts.** Available online: https://cfpub.epa.gov/ncea/iris2/chemicalLanding.cfm?substance_nmbr=271

(accessed on 24 April 2022).

19. **Nour, V., I. Trandafir and M. E. Ionica**, 2010. Compositional characteristics of fruits of several apple (*Malus domestica* Borkh.) cultivars. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 38, 228–233.
20. **Radivojevic, R. and V. N. Bashkin**, 1999. Practical Environmental Analysis. *The Royal of Chemistry, Cambridge*, United Kingdom.
21. **Tanner, H. and H. R. Brunner**, 1979. Getränke Analytik. Verlag Heller Chemie, Schwäbisch Hall, Germany.
22. **Thomas, L. and I. Singh**, 2019. Microbial Biofertilizers: Types and Applications. In *Biofertilizers for Sustainable Agriculture and Environment*, Springer, Berlin/Heidelberg, Germany, 1–19.
23. **United States, Environmental Protection Agency**, Integrated Risk Information System (US-EPA, IRIS).
24. **United States, Environmental Protection Agency**, Integrated Risk Information System (US-EPA, IRIS). Nickel, Soluble Salts. Available online: https://cfpub.epa.gov/ncea/iris2/chemicalLanding.cfm?substance_nmbr=271 (accessed on 24 April 2018).
25. **Wu, J., Gao, H., Zhao Liao X., Chen, F., Wang Z. and H. Xiaosong**, 2007. Chemical compositional characterization of some apple cultivars. *Food Chemistry*, 103, 1, 88–93.
26. **Youssef, M. and M. Eissa**, 2014. Biofertilizers and their role in management of plant parasitic nematodes. A review. *Journal of Biotechnology and Pharmaceutical Research*, 5, 1.