

Fiziološki odgovor obične bukve (*Fagus sylvatica* L.) u razvojnem stadiju ponika na različite tretmane mineralnim hranivima

Sviličić, Dimitrije Damir

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Forestry / Sveučilište u Zagrebu, Šumarski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:108:348342>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-09**



Repository / Repozitorij:

[University of Zagreb Faculty of Forestry and Wood Technology](#)



ŠUMARSKI FAKULTET SVEUČILIŠTA U ZAGREBU
ŠUMARSKI ODSJEK
DIPLOMSKI STUDIJ ŠUMARSTVA
UZGAJANJE I UREĐIVANJE ŠUMA S LOVNIM GOSPODARENJEM

DIMITRIJE DAMIR SVILIČIĆ

FIZIOLOŠKI ODGOVOR OBIČNE BUKVE (*Fagus sylvatica* L.)
U RAZVOJNOM STADIJU PONIKA NA RAZLIČITE
TRETMANE MINERALNIM HRANIVIMA

DIPLOMSKI RAD

ZAGREB, 2020.

ŠUMARSKI FAKULTET SVEUČILIŠTA U ZAGREBU

ŠUMARSKI ODSJEK

**FIZIOLOŠKI ODGOVOR OBIČNE BUKVE (*Fagus sylvatica* L.) U RAZVOJNOM
STADIJU PONIKA NA RAZLIČITE TRETMANE MINERALNIM HRANIVIMA**

DIPLOMSKI RAD

Diplomski studij: Šumarstvo, Uzgajanje i uređivanje šuma s lovnim gospodarenjem

Predmet: Ishrana bilja

Ispitno povjerenstvo: 1. Doc. dr. sc. Krunoslav Sever

2. Prof. dr. sc. Željko Škvorc

3. Doc. dr. sc. Danijel Krstonošić

Student: Dimitrije Damir Sviličić

JMBAG: 0068221527

Broj indeksa: 923/17

Datum odobrenja teme: 28. 04. 2019.

Datum predaje rada: 11.09. 2020.

Datum obrane rada: 25. 09. 2020.

Zagreb, rujan, 2020.

Dokumentacijska kartica

Naslov	Fiziološki odgovor obične bukve (<i>Fagus sylvatica</i> L.) u razvojnem stadiju ponika na različite tretmane mineralnim hranivima
Title	Physiological response of common beech (<i>Fagus sylvatica</i> L.) seedlings to different treatment of mineral nutritions
Autor	Dimitrije Damir Sviličić
Adresa autora	Ribarska 4, Vis
Mjesto izrade	Šumarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu
Vrsta objave	Diplomski rad
Mentor	Doc. dr. sc. Krunoslav Sever
Izradu rada pomogao	Prof. dr. sc. Željko Škvorc
Godina objave	2020.
Obujam	39 stranica, 5 slika, 1 tablica, 89 literaturnih referenci
Ključne riječi	Obična bukva (<i>Fagus sylvatica</i> L.), ishrana bilja, fiziološka reakcija, fotosinteza, dušik, fosfor, željezo, magnezij
Key words	Common beech (<i>Fagus sylvatica</i> L.), plant nutrition, physiological response, photosynthesis, nitrogen, phosphorus, iron, magnesium
Sažetak	<p>Kao jedna od ekološki i gospodarski najznačajnijih vrsta šumskog drveća u Europi i Hrvatskoj, obična bukva (<i>Fagus sylvatica</i> L.) važan je predmet istraživanja. U ovom radu fokus je stavljen na utjecaj nedostataka pojedinih mineralnih hraniva na fiziološku konstituciju klijanaca bukve.</p> <p>Klijanci bukve sakupljeni su u prirodnoj mješovitoj sastojini hrasta kitnjaka i ob. bukve u proljeće 2019. godine i presađeni u sterilni supstrat (agropertil). 30 klijanaca podijeljeno je nasumično u 5 tretmana. Kontrolni tretman (KO tretman) zalijevan je redovito s hranjivom otopinom koja je sadržavala sve elemente nužne za optimalnu ishranjenost. U ostalim tretmanima izostavljeni su dušik (–N tretman), fosfor (–P tretman), magnezij (–Mg tretman) ili željezo (–Fe tretman).</p> <p>Tijekom vegetacijskog razdoblja redovito su mjereni sljedeći parametri: stopa fotosinteze (A), provodljivost puči (g_s), intercelularna koncentracija CO₂ (c_i), indeks relativnog sadržaja klorofila u lišću (CCI) te indeks fotosintetske učinkovitosti (PI_{ABS}). Dobiveni rezultati ukazuju na važnost adekvatne ishranjenosti biljke s N, P i Mg za normalno funkcioniranje fotosintetskog aparata, budući da su –N, –P i –Mg tretmani bili značajno lošiji po svim parametrima od KO tretmana. Međutim, vrijednosti parametara –Fe i KO tretmana nisu se značajno razlikovale iako je poznata važnost uloge željeza u fotosintetskom procesu. Mogući razlog je da su klijanci sakupili dovoljnu zalihu željeza iz tla matične sastojine. Pretpostavka je da bi se u idućoj vegetacijskoj sezoni pokazali značajnije razlike jer su klijanci potrošili rezerve hraniva, no to je potrebno potkrijepiti daljnjim istraživanjem.</p>



IZJAVA O IZVORNOSTI RADA

OB ŠF 05 07

Revizija: 1

Datum: 25. 09. 2020.

„Izjavljujem da je moj diplomski rad izvorni rezultat mojega rada te da se u izradi istoga nisam koristio /la drugim izvorima osim onih koji su u njemu navedeni“.

Dimitrije Damir Sviličić

Zagreb, 25. 09. 2020.

Sadržaj

1. UVOD	1
1.1. Obična bukva (<i>Fagus sylvatica</i> L.).....	2
1.1.1. Morfologija.....	2
1.1.2. Ekološke značajke	3
1.2. Fotosinteza.....	4
1.2.1. Struktura fotosintetskog aparata.....	4
1.2.2. Svjetlosne reakcije fotosinteze	5
1.2.3. Reakcije u tami (Calvinov ciklus).....	6
1.2.4. Utjecaj mineralne ishrane na fotosintezu	6
1.3. Mineralna hraniva.....	7
1.3.1. Čimbenici koji utječu na usvajanje hraniva	10
1.3.2. Uloga i značaj pojedinih elemenata (N, P, Mg, Fe).....	12
1.3.2.1. Dušik (N).....	12
1.3.2.2. Fosfor (P).....	13
1.3.2.3. Magnezij (Mg).....	14
1.3.2.4. Željezo (Fe).....	15
2. CILJ ISTRAŽIVANJA	17
3. MATERIJALI I METODE	18
3.1. Biljni materijal i dizajn pokusa.....	18
3.2. Priprema hranivih otopina	18
3.3. Izmjera fizioloških značajki.....	19
3.4. Kemijske analize biljnoga materijala	19
3.5. Statistička analiza	20
4. REZULTATI I RASPRAVA.....	21
4.1. Ishranjenost bukovih klijanaca s mineralnim hranivima pod utjecajem različitih tretmana	21
4.2. Utjecaj mineralne ishrane na primarne i sekundarne reakcije fotosinteze	22
4.3. Utjecaj mineralne ishrane na provodljivost puči i intercelularnu koncentraciju CO ₂	24
4.4. Utjecaj mineralne ishrane na biosintezu klorofila	28
5. ZAKLJUČAK	31
6. LITERATURA	32

1. UVOD

Dominantna vrsta šumskoga drveća na području čitave Europe pa tako i Republike Hrvatske je obična bukva (Ellenberg, 1988). Od ukupno dva milijuna hektara šuma u Hrvatskoj, obična bukva u čistim i mješovitim sastojinama zauzima oko polovine šumske površine (Matić, 2003), što je čini najrasprostranjenijom edifikatorskom šumskom vrstom u Hrvatskoj. Osim što je dominantna površinom, neprocjenjive su i njene gospodarske i općekorisne funkcije, zbog čega predstavlja jednu od najznačajnijih vrsta šumskog drveća za hrvatsko šumarstvo.

U usporedbi s drugim vrstama drveća, koje su pogođene različitim negativnim interaktivnim utjecajima biotskih i abiotskih čimbenika, bukva pokazuje prilično dobru otpornost i stabilnost. Njena značajna oštećenost u Hrvatskoj procijenjena je na 9,2%, dok za jelu ta procjena iznosi 70,4%, hrast lužnjak 30,2%, i hrast kitnjak 26,3% (Seletković, Tikvić i Prpić, 2003), dok za poljski jasen, koji je u novije vrijeme izrazito zahvaćen pojavom odumiranja, ona iznosi 75,0% (Potočić i sur., 2017).

Međutim, Seletković i Potočić (2006) ukazuju na postojanje potencijalne ugroze za fiziološku kondiciju stabala, a time i za stabilnost šumskih ekosustava bukve i jele, uzrokovane neadekvatnom ishranom. Po njima, klimatske prilike značajno utječu na stanje ishrane – u njihovom je istraživanju posebno nepovoljan utjecaj suše utvrđen u koncentracijama fosfora, magnezija i kalija u lišću bukve, čije su se vrijednosti uglavnom kretale ispod graničnih. Slične trendove pokazuje i novije istraživanje (Talkner i sur., 2015) u sklopu programa ICP Forest, u kojem se pokazalo da postoji značajan pad koncentracije fosfora u lišću obične bukve na razini čitave Europe u proteklih 20 godina. Razloge tome autori pronalaze u zakiseljavanju šumskih tala, atmosferskoj depoziciji dušika te klimatskim promjenama. Također, u radu se spominje i smanjenje folijarne koncentracije kalcija i magnezija u istom periodu i na istim plohama.

Uz vodu, mineralna hraniva predstavljaju najznačajniji ekološki faktor koji djeluje limitirajuće na produktivnost staništa (Lambers, Chapin i Pons, 2008). Nadalje, za očekivati je da će se spomenuti negativni trendovi nastaviti i navedeni podaci ukazuju na važnost poznavanja fiziološkog odgovora obične bukve na nedostatak hraniva, što je i tema ovog diplomskog rada.

1.1. Obična bukva (*Fagus sylvatica* L.)

1.1.1. Morfologija

Uzevši u obzir njen veliki areal, za običnu bukvu opisan je relativno mali broj unutarvrstnih taksona. To se može zahvaliti njenim morfološkim značajkama, koje su vrlo stabilne i konstantne, u evolucijskom smislu konzervativne. U jugoistočnom dijelu Balkanskog poluotoka navodi se prisutnost mezijske bukve (*F. moesiaca* (K. Maly) Czebot), no njen taksonomski status je upitan – Trinajstić (2003), primjerice, zastupa gledište da ovaj takson ne bi trebao predstavljati zasebnu vrstu, već da je ekotip obične bukve.

Obična bukva raste kao stablo oko 40 (-48) metara visine i preko 1 (-2) metra promjera (Franjić i Škvorc, 2010), a rjeđe kao niže, samostojeće stablo kratka debla i bogate, široke krošnje; na većim nadmorskim visinama kao nisko krivudavo drveće, a na gornjoj granici šume kao grmovi čija visina ne prelazi 50 cm. Kora debla i grana je tanka, glatka, blijedo do olovno siva s tankim plutom bez ritidome. Iznimno, moguće su genetske aberacije kod var. *quercoides*, koje se manifestiraju značajno debljom i raspucanom korom, sličnom kao u hrasta (Trinajstić, 2003). Korijenov sustav je izrazito razvijen, srednje dubok i plitak. Pupovi su sa svijetlosmeđim ušiljenim ljuskama te tamnijim i trepavičastim rubnim dijelom (Franjić i Škvorc, 2010).

Listovi, naizmjeničnog i dvorednog rasporeda, jednostavni su i jajasto eliptični. Imaju kratak šiljasti vrh, klinastu do zaobljenu osnovu te cijeli i valoviti rub. Duž žila i u kutovima žila uočljive svilenkaste dlačice. Listovi su dugački 5-10 cm, široki 4-7 cm, a peteljka je dugačka 1-1,5 cm. Nervatura je perasto mrežasta, sa 5-7 parova paralelnih žila drugog reda (Idžojtić, 2009).

Bukva je jednodomna vrsta, a cvjetovi bukve su jednospolni i anemofilni. Cvjeta u travnju i svibnju, za vrijeme listanja. Muški cvjetovi građeni su od zvonastog perigona i 8-12 prašnika. Oko 15 cvjetova sakupljeno je u visećim, glavičastim dihajijama na 2-3 (-5) cm dugačkim dlakavim stapkama. Ženski cvjetovi su na kraćim stapkama (1-2 cm), plodnica je podrasla, 3-gradna i s 3 njuške. Po dva cvijeta sakupljena su u kuglastim dihajijama, koje su okružene 4-dijelnim ovojom obraslim nitastim ljuskama (kukulom). Nakon dozrijevanja u rujnu i listopadu, odrvenjela kupula otvara se na 4 dijela i oslobađa po dva zoohorna ploda. Plodovi su veličine 1-1,5 cm; smeđi, kožnati, sjajni, uzdužno trobridni i većinom jednosjemeni orasi, tzv. bukvice (Idžojtić, 2013).

1.1.2. Ekološke značajke

Obična bukva je eurivalentna vrsta, izrazito prilagodljiva s obzirom na toplinu, vlagu, svjetlost i svojstva tla (Seletković i sur., 2003). Otto (1994, prema Seletković i sur., 2003) smješta bukvu na prvo mjesto pri procjeni ekološkog potencijala, uzimajući u obzir parametre iz područja ekoloških zahtjeva, bioloških svojstava te otpornosti prema štetama.

U bukovim šumama vladaju različiti tipovi klime, no klima koja bukvi najbolje odgovara obilježena je umjereno toplim ljetima, velikom količinom oborina, kraćim zimama te prosječnim godišnjim temperaturama između 7 i 10 °C (Seletković i Tikvić, 2003). Klima u kojoj pridolazi je umjereno oceanska i blaža kontinentalna, prema Köppenovoj klasifikaciji obilježena blažim zimama, nedovoljno ostrim da oštete tanke ljuske bukvinih pupova, relativno blagim proljećima bez redovitog kasnog mraza koji bi mogao oštetiti mlado lišće i cvjetove te slabije izraženim ljetnim vrućinama i sušama (Seletković i sur., 2003).

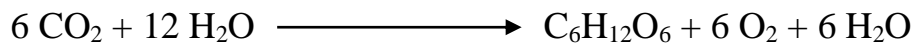
U kontinentalnom dijelu Hrvatske bukvu nalazimo u većem ili manjem udjelu u većini šumskih zajednica, a nalazimo je i kao primorsku bukovu šumu u mediteranskoj vegetacijskoj regiji (Seletković i sur., 2003). U kontinentalnom dijelu bukva raste u temeljnim zajednicama u većini vegetacijskih pojaseva – nalazimo je već u nizinskom pojasu kao primiješanu vrstu u šumi hrasta lužnjaka i običnoga graba, nešto više je zastupljena u brežuljastom pojasu, a najvažnija je vrsta brdskog pojasa te pretplaninskog pojasa, dok je u gorskom pojasu nalazimo u mješovitim zajednicama s jelom (Vukelić i Baričević, 2003).

Obična bukva je skiofit i podnosi najviše zasjene od svih europskih vrsta listopadnog drveća. Njena krošnja je, uz ostale dijelove, prilagodljiva u tome da nađe svjetlost, i bukva na pojavu svjetla reagira relativno brzo – ovisno o dobi stabla, iskrivljavanjem prema izvoru svjetla, produživanjem krošnje ili produživanjem grana prema otvoru sklopa sastojine (Seletković i sur., 2003).

Tla koja bukvi najbolje odgovaraju su svježija i duboka, dok ne podnosi previše suha tla niti mokra tla s visokim razinama podzemnih voda. Dubina i vlažnost tla više su povezane s boljim uzrastom bukovih stabala nego kemijski potencijal tla: njeni zahtjevi za biogenim elementima u tlu relativno su skromni, što se očituje njenom prisutnošću na različitim tipovima tala, koji se međusobno znatno razlikuju mineralnim sastavom (Seletković i sur., 2003).

1.2. Fotosinteza

Fotosinteza je proces kojim zelene biljke iz ugljikovog dioksida i vode koristeći svjetlosnu energiju stvaraju ugljikohidrate uz oslobađanje kisika. To je jedini biološki proces kojim se anorganske tvari mogu pretvarati u organske i kao takav od iznimne je važnosti ne samo za opstanak i razvoj biljaka, već i za sveukupan život na Zemlji. Pojednostavljeno, može se prikazati sljedećom jednadžbom:



Fotosinteza je složeni proces i sastoji se od vrlo mnogo uzastopnih stadija ili procesa. Najopćenitije, proces fotosinteze može se podijeliti u dva stadija. Prvi stadij čine svjetlosne reakcije ili primarni procesi fotosinteze, koji označavaju procese primanja svjetlosne energije i njenog pretvaranja u kemijsku energiju u obliku molekula ATP-a i NADPH. Drugi stadij čine reakcije tame ili sekundarni procesi fotosinteze koji se nazivaju još i Calvinov ciklus i koji obuhvaćaju reakcije redukcije ugljikovog dioksida i sintetiziranja ugljikohidrata uz upotrebu ATP-a i NADPH koji su rezultati svjetlosnih reakcija (Pevalek-Kozlina, 2003).

1.2.1. Struktura fotosintetskog aparata

Odvijanje fotosinteze zbiva se u kloroplastima, a oni su najbrojniji u mezofilu lista. Kloroplasti su, poput mitohondrija, ograđeni unutrašnjom i vanjskom membranom. Unutrašnja membrana okružuje stromu koja sadrži ribosome, kružnu DNA, topljive enzime i tilakoide, što omogućuje kloroplastima da sami sintetiziraju mnoge svoje proteine. Tilakoidi su membranske strukture, a nakupine tilakoida čine granume koji su međusobno povezani stroma-tilakoidama.

Tilakoidne membrane su nepropusne za većinu iona i molekula. Debljina im je oko 7 nm, a sastoje se od približno jednakih količina lipida i proteina. U fosfolipidni matriks tilakoidne membrane uronjene su komponente nužne za pretvorbu energije, koje uključuju fotosisteme I i II, citokrome, plastocijanine, plastokinone, ferodeksine, razne enzime i dr.

Pigmenti se u tilakoidnim membranama nalaze u nakupinama od nekoliko stotina molekula organiziranih u tzv. svjetlosne sustave ili fotosisteme. Fotosistem se sastoji od nekoliko stotina antenskih molekula pigmenata koje služe za hvatanje i provođenje svjetlosne energije do molekule klorofila *a* u reakcijskom središtu. U reakcijskom središtu energija pokreće reakciju oksidacije klorofila, a izbačeni visokoenergizirani elektron se prenosi na specijaliziranu molekulu, *primarni akceptor elektrona*, koji se pritom reducira. U tilakoidnim membranama prisutni su fotosistem I i fotosistem II. U oba fotosistema se u reakcijskom

središtu nalaze identične molekule klorofila *a*, ali povezane s različitim proteinima, što djeluje na raspodjelu njihovih elektrona i odgovorno je za malu razliku u apsorpcijskom spektru. U fotosustavu I klorofil *a* maksimalno apsorbira svjetlost valne duljine 700 nm i označava se kao P700, a u fotosustavu II maksimalna apsorpcija svjetla događa se pri valnoj duljini od 680 nm (P680).

Osnovna struktura klorofila je porfirinski prsten koji čine četiri pirolska prstena međusobno povezana metilnim skupinama. U središtu porfirinskog sustava nalazi se polivalentni ion magnezija (Mg^{2+}) koji je povezan s atomima dušika u pirolskim prstenovima. Za četvrti pirolski prsten esterskom vezom je vezan alkohol fitol s 20 C-atoma. Tim repom klorofil se pričvršćuje za proteine u membrani. Razlika između klorofila *a* i *b* je ta što klorofila na drugom pirolskom prstenu ima metilnu skupinu, a klorofil *b* aldehidnu skupinu.

Djelotvoran spektar fotosinteze ne poklapa se s djelotvornim spektrom klorofila *a* zbog toga što on nije jedini pigment koji sudjeluje u fotosintezi. Iako samo klorofil *a* može neposredno sudjelovati u svjetlosnim reakcijama, i drugi pigmenti mogu apsorbirati svjetlost, ali oni prenose energiju na klorofil *a* koji se onda ponaša kao da je on primio foton. U pomoćne pigmente spadaju klorofil *b*, karotenoidi i ksantofili (Pevalek-Kozlina, 2003).

1.2.2. Svjetlosne reakcije fotosinteze

Kao što je spomenuto, svjetlosne reakcije podrazumijevaju pretvorbu Sunčeve energije u kemijsku energiju u obliku molekula ATP-a i NADPH. Taj se proces odvija tokom elektrona – prijenosom elektrona i protona između različitih molekularnih kompleksa smještenih u tilakoidnim membranama. Taj tok elektrona može biti ciklički, kakav je kod nekih eukariota i primitivnih fotosintetskih bakterija, i neciklički, kakav je kod biljaka.

U procesu necikličkog toka elektrona prvo dolazi do fotolize vode. Molekula vode u fotosistemu II cijepa se na dva H^+ iona, dva elektrona i jedan atom kisika. Molekula O_2 oslobađa se u atmosferu kroz puči, a protoni i elektroni sudjeluju u necikličkoj fotofosforilaciji. Visokoenergizirani elektron se iz reakcijskog središta fotosistema II prenosi do primarnog akceptora elektrona, a potom preko niza spojeva koji se mogu reverzibilno oksidirati i reducirati, do fotosistema I. Taj niz uključuje molekule plastokinona, kompleks citokroma (b_{559} c_{552}) i plastocijanin. Na fotosistemu I dolazi do ponovne ekscitacije elektrona koji prelazi na ferodeksin pa na $NAPD^+$ -reduktazu, koja predaje elektron molekuli $NADP^+$. Na taj način nastaje NADPH koji kao izvor visokoenergiziranih elektrona odlazi u Calvinov ciklus.

Fotolizom vode u tilakoidnom prostoru stvara se višak protona, a zbog koncentracijskog gradijenta između tilakoidnog prostora i strome kloroplasta odvija se difuzija protona. Ta difuzija pokreće enzim ATP-azu koja sintetizira molekule ATP-a koje služe kao izvor energije u Calvinovom ciklusu (Pevalek-Kozlina, 2003).

1.2.3. Reakcije u tami (Calvinov ciklus)

Calvinov ciklus može se rastaviti na tri stadija. Ciklus započinje prvom fazom – fiksacijom ugljikovog dioksida – u kojoj se molekula CO₂ vezuje na molekulu ribuloze-1,5-difosfata (RuBP) djelovanjem enzima RUBISCO, čime nastaje nestabilni spoj od šest ugljikovih atoma koji se brzo hidralizira u dvije molekule 3-fosfoglicerata s po tri ugljikova atoma. U idućoj fazi, fazi redukcije ugljikovog dioksida, 3-fosfoglicerat koji je rezultat prvog stadija uz pomoć ATP-a iz svjetlosnih reakcija fosforilira se do 1,3-difosfoglicerata, koji se dalje uz pomoć NADPH₂ reducira do gliceraldehid-3-fosfata. U trećoj, posljednjoj fazi, fazi regeneracije RuBP, dio molekula gliceraldehid-3-fosfata izlazi iz ciklusa i služi za sintezu glukoze, a ostatak nastavlja ciklus transformirajući se ponovno u ribulozu-1,5-difosfat koji služi kao akceptor za molekule CO₂ u novom krugu Calvinova ciklusa (Škvorc, Franjić i Sever, 2013).

1.2.4. Utjecaj mineralne ishrane na fotosintezu

Učinci neadekvatne ishrane na fotosintezu su složeni, a mogu imati direktne ili indirektne posljedice. Nedostatak esencijalnih hraniva, ali i njihov disbalans mogu smanjiti stopu neto fotosinteze kroz smanjivanje sinteze klorofila, smanjivanje aktivnosti karboksilaze i drugih enzima, narušen kapacitet transportnog lanca elektrona, povećanu respiraciju i smanjenu provodljivost puči. Dugoročno gledajući, ukupna stopa fotosinteze može biti reducirana i uslijed smanjene lisne površine (Pallardy, 2008).

Budući da je više od polovice ukupnog dušika lista sadržano u fotosintetskom aparatu, a većina ostatka indirektno povezana sa fotosintetskom funkcijom, stopa fotosinteze izražena u $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (A_{max}) očekivano pada i to linearno sa smanjenjem sadržaja dušika u listu po jedinici površine (mmol m^{-2}) (Lambers i sur., 2008). Objedinjujući spoznaje velikog broja provedenih istraživanja, Pallardy (2008) navodi kako su glavni razlozi opadanja intenziteta fotosinteze uslijed deficijencije dušika rezultat smanjenog broja i veličine listova (Linder i Rook, 1984) te reduciranog palisadnog tkiva (Kozlowaki i Keller, 1996) i smanjene provodljivosti puči za CO₂ (Natr, 1975). Također, uslijed deficijencije dušika dugovječnost

listova i vremenski okvir u kojem su fotosintetski aktivni opadaju (Linder i Rook, 1984). Fiziološke posljedice manjka dušika uključuju smanjenu sintezu klorofila (Natr, 1975) i učinkovitost karboksilacije uz narušenu aktivnost enzima Rubisco (Tan i Hogan, 1995). Ekološki čimbenici kao što su količina svjetla, koncentracija CO₂, temperatura i dostupnost vode imaju modificirajući učinak prema posljedicama ishranjenosti dušikom na fotosintezu (Pallardy, 2008).

Istražujući fotosintetske odgovore primorskog bora na ishranjenost fosforom, Loustau (1999) navodi da su glavni učinci nedostatka fosfora smanjenje maksimalne brzine karboksilacije (aktivnosti RUBISCA), maksimalne stope prijenosa elektrona te prividne kvantne efikasnosti transporta elektrona. Iako je zabilježena korelacija između deficita fosfora i smanjene provodljivosti puči, limitirajući učinak na fotosintezu nije zabilježen.

Laing i sur. (2000) u istraživanju na *Pinus radiata* utvrdili su da deficit magnezija uz visoki intenzitet osvjetljenja dovodi do fotoinhibicije fotosinteze deaktivirajući reakcijske centre, usprkos zaštitnim procesima protiv svjetlosnog stresa. To dovodi do specifične kloroze gornje polovine krošnje.

Budući da je željezo sastavni dio ferodoksina i citokroma, koji su esencijalne sastavnice sustava transporta elektrona, njegov manjak uzrokuje kloroze i niske stope fotosinteze (Keller i Koch, 1962; u Pallardy, 2008).

1.3. Mineralna hraniva

Mineralne hranjive tvari neprekidno kruže kroz organizme i okoliš. Primanje i ugradnja u biljne organizme (asimilacija) ključni je korak ugradnje mineralnih tvari u čitavu biosferu (Pevalek-Kozlina, 2003). Biljke za svoj rast i razvoj koriste brojne elemente, od kojih je 17 neophodnih ili esencijalnih. Pevalek-Kozlina (2003) navodi podjelu Arnona i Stouta prema kojoj element mora zadovoljavati sljedeće kriterije da bi bio neophodan: (1) mora biti potreban tijekom cijelog životnog ciklusa biljke, (2) mora imati posebnu funkciju koju ne može obavljati drugi element, (3) mora imati neposrednu ulogu u biljnom metabolizmu, odnosno mora biti potreban za obavljanje specifične fiziološke funkcije, te (4) mora biti potreban za više od dvije biljne vrste.

Dalje se esencijalni elementi dijele na makroelemente (C, H, O, N, P, K, S, Ca, Mg i Fe) i mikroelemente (B, Mn, Zn, Cu, Mo, Cl i Ni), ovisno o količini potrebnoj za biljku, a ne u smislu njihovog značaja. Ostali elementi svrstavaju se u kategoriju korisnih ili beneficijalnih elemenata (Co, Na, Si, Al, Se, V, Ti, La, Ce), koji u optimalnim uvjetima

nemaju fiziološku ulogu, ali imaju povoljan utjecaj u lošijim uvjetima rasta, ili u kategoriju nekorisnih ili toksičnih elemenata (Cr, Cd, U, Hg, Pb, As itd.) (Vukadinović i Vukadinović, 2011).

Biljke imaju više načina za usvajanje hraniva. Glavni je način, koji će u ovom poglavlju biti detaljnije opisan, usvajanje preko korijena. Međutim, za vodene biljke, mahovine i neke epifite značajno je usvajanje hraniva preko lišća. Također, do hranjivih tvari biljke mogu doći i stupajući u simbiotske ili parazitske odnose, a biljke mesožderke konzumirajući svoj plijen (Lambert i sur., 2008).

Usvajanje hraniva korijenom je višefazni mehanizam koji se jednim dijelom odvija pasivno (bez utroška energije), a drugim dijelom uglavnom aktivno (uz utrošak energije). Moguće ga je podijeliti u tri etape:

I. Prijenos hraniva iz tla na površinu korijena i/ili u njegovu neposrednu blizinu

Kako korijen raste, povećavaju se njegova aktivna površina i volumen tla kojeg zahvaća. Na taj način korijen dolazi u kontakt s više hraniva, no ta količina ipak nije dovoljna za adekvatnu opskrbu biljke. Nadalje, ona hraniva koja se u otopini tla nalaze u visokim koncentracijama, u uvjetima visoke vlage i intenziteta transpiracije do korijena pristižu masovnim strujanjem vode, tzv. *mass flow*. Kako korijen usvaja hraniva, u njegovoj neposrednoj blizini dolazi do opadanja koncentracije hraniva i sniženja elektrokemijskog potencijala tog područja. Posljedično tome, odvija se proces difuzije i nova hraniva pritječu iz područja veće koncentracije u neposrednu blizinu korijena, u kojoj je koncentracija iona manja (Škvorec, Čosić i Sever, 2014). Međutim, učinkovitost mehanizma difuzije ograničena je na udaljenosti od 0,1 do 15 mm (Epstein, 1972; u Pallardy, 2008).

Vrlo mali dio hraniva direktno je dostupan biljkama putem navedenih mehanizama jer se manje od 0,02% ukupnih mineralnih tvari nalazi u otopini tla. Većina mineralnih tvari, oko 98%, nalazi se u obliku teško topivih karbonata i fosfata. Manji dio (2%) je adsorptivno vezan za koloidne čestice tla, a to su uglavnom pozitivno nabijeni ioni vezani na negativno nabijene sekundarne minerale tla. Te minerale korijen može mobilizirati u otopinu tla izlučujući protone koji ih zamjenjuju na adsorpcijskim kompleksima (proces izmjene kationa) ili izlučujući organske kiseline koje povećavaju topivost fosfata i karbonata. Oslobođeni ioni teških metala mogu se prevesti u kompleksne spojeve (helate), čime se olakšava njihovoprimanje (Pevalek-Kozlina, 2003).

II. Ulazak hraniva u slobodni prostor korijena (apoplast)

Na poprečnom presjeku korijena uočljiv je središnji cilindar s provodnim elementima ksilema i floema. Između središnjeg cilindra i vanjske kore stoji endodermalni sloj stanica s nepropusnim Kasparijevim pojasom od suberiniziranih staničnih stjenki. Takva anatomska građa dopušta pasivno kretanje vode s hranivima samo do spomenute endoderme. Slobodni prostor korijena ili apoplast čine intercelularni prostori i stanične stjenke primarne kore korijena i korijenovih dlačica. U tom prostoru, koji čini svega 4-6% ukupne zapremnine korijena, voda se s otopljenim tvarima kreće bez utroška energije, difuzijom (Vukadinović i Vukadinović, 2011). Slobodan prostor je za nabijene čestice podijeljen u dva dijela: u *prostor slobodan za vodu* gdje ioni difundiraju do izjednačenja s ionima u otopini tla, i u *Donnanov prostor*, gdje su ioni fizički vezani za naboje staničnih stjenki. Dakle, ova faza usvajanja hraniva nije selektivna jer biljka nema kontrolu nad kretanjem hraniva kroz slobodan prostor korijena, ali je reverzibilna, što znači da se tvari iz korijena mogu ponovno isprati. Budući da se Donnanov prostor naslanja na staničnu membranu (plazmalemu), daljnji prolazak iona je selektivan prijenos (Pevalek-Kozlina, 2003).

III. Prijelaz hraniva kroz plazmalemu u unutrašnjost stanice (simplast)

Biološke membrane nisu puke pregrade, već igraju aktivnu ulogu u kontroliranju prometa i tvari u biljnoj stanici. Ta uloga se zasniva na njihovoj selektivnoj propusnosti, koja podrazumijeva relativno lagano propuštanje vode i malih nepolarnih molekula (O_2 , CO_2), ali uvelike ograničava kretanje većih molekula, a posebno onih s nabojem, kao što su ioni i šećeri. Prijenos takvih tvari omogućuju specifični transportni proteini uronjeni u mozaičnu strukturu fosfolipida. Tri su osnovna tipa takvih proteina: kanali, nosači i crpke (Škvorc i sur., 2014).

Kanali i proteinski nosači posreduju u pasivnom prijenosu tvari kroz membranu (difuzijom ili olakšanom difuzijom) niz gradijent elektrokemijskog potencijala. Kanali su transmembranski proteini koji djeluju kao selektivne pore u membrani. Njihova selektivnost, odnosno specifičnost prijenosa, ovisi o veličini pore i električnom naboju u njihovoj unutrašnjosti. Prijenos tvari kroz kanale je vrlo brz (10^8 iona po sekundi), a ograničen je na ione i vodu. Pri prijenosu posredovanom proteinskim nosačima tvar se veže na specifično mjesto proteina, slično vezanju supstrata na enzim. Ovo vezanje dovodi do konformacijskih promjena proteina, uslijed kojih se tvar prenosi na drugu stranu membrane. Brzina prijenosa nosačem značajno je manja od one kroz kanale. Membranski proteini koji sudjeluju u

aktivnom prijenosu nazivaju se crpkama ili pumpama. Primarni aktivni prijenos povezan je s metaboličkim izvorom energije, npr. hidrolizom ATP-a te brojnim redoks reakcijama. S druge strane, energija za sekundarni aktivni prijenos češće potječe od protonskog gradijenta nego od hidrolize ATP-a, što znači da ga indirektno pokreću crpke. Sekundarni aktivni transport zaslužan je za primanje većine mineralnih hranjivih tvari. (Pevalek-Kozlina, 2003).

1.3.1. Čimbenici koji utječu na usvajanje hraniva

Količina i vrsta hraniva koja biljke usvajaju ovise o genotipu i variraju od vrste do vrste, ali i unutar iste vrste. Ovise također i o prisutnosti mikorize, o metabolizmu korijena te o okolišnim uvjetima kao što su plodnost tla i vlaga u tlu (Pallardy, 2008).

Vrsta i genotip od velike su važnosti kao predispozitori za značajne varijacije u usvajanju i iskorištavanju mineralnih hraniva među biljkama. Generalno, listače imaju veće zahtjeve i akumuliraju veću količinu hraniva nego što je to slučaj s četinjačama. Shodno tome, listače pridolaze na kvalitetnijim staništima, a četinjače dominiraju na siromašnijim staništima i manje plodnim tlima (Škvorc i sur., 2014). U eksperimentu u kojem je šest europskih vrsta drveća (hrast lužnjak, gorski jasen, bukva, breza, malolisna lipa i smreka) posađeno na šest različitih staništa dobiveni su rezultati koji ukazuju na to da sukonzentracije makrohraniva u lišću i deblu više ovisne o vrsti nego o staništu, iako su postojale značajne razlike između staništa u smislu kvalitete tla (Hagen-Thorn i sur., 2003). Također, od istraživanih vrsta, obična smreka, kao jedina četinjača, imala je značajno manje koncentracije hraniva, osim fosfora u lišću i kalcija u lišću i deblu. Pronađene su razlike i između provenijencija iste vrste. Istraživanje na običnom boru pokazalo je da postoje značajne razlike između 45 provenijencija u usvajanju i koncentracijama N, P, Na, Mg i B, koje su korelirale sa stopom vegetativnog rasta (Steinbeck, 1966; u Pallardy, 2008).

Mikoriza je simbioza između gljive i korijena više biljke. Povećanje unosa hraniva kod biljaka s mikoriznim odnosom događa se prvenstveno uslijed povećanja absorptivne površine. Hife simbiotske gljive dopiru do dijelova tla koji nisu zahvaćeni korijenom i zahvaljujući malim dimenzijama ulaze u prostore između čestica tla koji su nedostupni korijenu. Bowen i Theodorou (1967; u Pallardy, 2008) procjenjuju da je volumen tla kojeg zahvaća korijen s mikorizom 10 puta veći nego kod korijena bez mikorize. Osim toga, gljive u tlo izlučuju kiseline koje povećavaju topivost nekih mineralnih tvari.

Jedna biljka može u isto vrijeme biti u mikoriznom odnosu s više gljiva, a gljive istovremeno mogu inficirati više jedinki iste ili različitih vrsta biljaka. To je značajno jer se na

taj način u šumskoj sastojini stvara mreža putem koje se ugljikohidrati i mineralna hraniva mogu izmjenjivati između različitih jedinki, što utječe na mnoge procese u ekosustavima. Gljiva od biljke dobiva ugljikohidrate, a trošak biljke može iznositi između 8 i 20% ukupnih produkata fotosinteze. Iz tog razloga biljke na vrlo bogatim tlima ne ulaze u simbiotske odnose s gljivama, a u nekim slučajevima odnos između gljive i biljke može postati čak i parazitski gdje gljiva i dalje uzima ugljikohidrate, a biljka nema koristi od gljive pa nastoji suzbiti infekciju (Škvorc i sur., 2014).

Metabolizam korijena značajan je za promet hranjivih tvari jer osigurava metaboličku energiju u obliku ATP-a za aktivni transport iona. Dakle, okolišni faktori kao što su temperatura i aeracija tla utječu na usvajanje hraniva iz razloga što ubrzavaju ili usporavaju metabolizam korijena. Uz opadanje koncentracije kisika, koji je uvjet za respiraciju, sa 90% na 50% u otopini tla, bilježi se značajan pad usvajanja P, K, Ca i Mg kod *Pinus elliottii* (Shoulders i Ralston, 1975; u Pallardy, 2008). Povećanje temperature tla sa 5 na 25 °C povećava iznos transpiracije korijena za 3-5 puta, a to doprinosi bržem usvajanju hraniva (Pallardy, 2008).

Plodnost tla povoljno utječe na apsorpciju mineralnih tvari –biljke apsorbiraju više hraniva što je tlo plodnije. Mobilnost hraniva i stopa difuzije iona povećavaju se s većom koncentracijom hraniva u otopini tla. Ukupne količine mineralnih tvari u tlu ovise o ulazima i izlazima iz sustava. Ulaz ili povećanje količina hraniva događa se uslijed atmosferskih depozicija, trošenja stijena i primarnih minerala (ovisno o vrsti stijena, klimi, vegetaciji, topografiji), razgradnje organske tvari i izlučivanja korijena. Mineralna hraniva izlaze iz sustava tla ispiranjem, iznošenjem biomase (listinca ili cijelih stabala) i erozijom, a određene količine dušika gube se amonifikacijom i denitrifikacijom (Pallardy, 2008). Također, pH tla značajno utječe na dostupnost hraniva biljkama.

Koncentracija hraniva u tlu i njihova dostupnost biljkama ne utječu samo na ukupnu suhu tvar, već i na raspodjelu suhe tvari između podzemnog i nadzemnog dijela biljke i to na način da veća koncentracija utječe na veći rast nadzemnog dijela i obrnuto. Primjerice, kod zelene duglazije stare 40 godina na produkciju korijena otpada 23% godišnje količine suhe tvari ako su stabla rasla na plodnom tlu, dok je na produkciju korijena u neplodnom tlu otpalo čak 53% suhe tvari producirane u jednoj godini (Keyes i Grier, 1981; u Pallardy, 2008).

Vlaga u tlu može dvojako utjecati na primanje hraniva. U slučaju deficita vode u tlu, pokretljivost iona u tlu je smanjena, kao i površina kontakta korijena s vodom u tlu, čime

nestaju uvjeti koji osiguravaju pritjecanje iona do korijena bilo difuzijom ili masovnim strujanjem vode. Daljnjim isušivanjem potpuno se zaustavlja usvajanje mineralnih hraniva (Pallardy, 2008). Peuke i Rennenberg (2004) u istraživanju provedenom na klijancima bukve podvrgnutim simulaciji trodne ljetne suše nalaze da je suša najviše utjecala na koncentraciju fosfora i fosfata, koja je značajno smanjena u svim tkivima. U slučaju prekomjerne vlažnosti tla ili poplave, kod biljaka koje su intolerantne na poplave dolazi do smanjenog unosa dušika, fosfora i kalija stoga što anaerobni uvjeti onemogućuju normalno odvijanje respiracije, zbog čega nema dovoljno energije za aktivan prijenos hraniva. Zbog povećane propustljivosti membrana korijenskih stanica dolazi i do gubitka iona iz stanica ispiranjem. Također, plavljena tla stvaraju nepovoljne uvjete za nastanak i razvoj mikoriznih gljiva, što je još jedan od uzroka smanjene mogućnosti apsorpcije hraniva (Pallardy, 2008).

1.3.2. Uloga i značaj pojedinih elemenata (N, P, Mg, Fe)

1.3.2.1. Dušik (N)

Dušik je jedan od najrasprostranjenijih elemenata u prirodi. Najveća količina dušika prisutna je u atmosferi, no biljke ga usvajaju u mineralnom obliku i zbog toga se svrstava u skupinu mineralnih elemenata. Dušik se u tlu nalazi u organskim i anorganskim spojevima. Organski dio predstavljaju humus i nepotpuno razloženi biljni i životinjski ostaci (Vukadinović i Vukadinović, 2011). Da bi dušik prešao u oblik u kojemu ga biljke mogu primiti, mora proći proces mineralizacije posredstvom mikroorganizama. Osim toga, dušik može dospjeti u tlo biološkom fiksacijom atmosferskog dušika i drugim prirodnim procesima, koji su najvećim dijelom posljedica munja (Pevalek-Kozlina, 2003).

Velika većina dušika u tlo dopijeva biološkom fiksacijom. Nju provode organizmi – bakterije i cijanobakterije – koji posjeduju enzimski sustav nitrogenaze. One mogu biti slobodne u tlu ili u simbiotskom odnosu s nekim vrstama biljaka. Krajnji produkt fiksacije dušika je amonijak, koji se postepeno ugrađuje u organske spojeve (Pevalek-Kozlina, 2003).

Biljke primaju dušik najvećim dijelom u obliku nitratnih i amonijevih iona, NO_3^- i NH_4^+ . Drvenaste vrste većinom preferiraju primanje amonijevih iona (Pallardy, 2008). Suha tvar biljaka sadrži prosječno 2-5% dušika (Vukadinović i Vukadinović, 2011). Najviše koncentracije dušika nalaze se u fiziološki najaktivnijim tkivima – u listovima i meristemskim staničjima, kao što su kambij te vrhovi izbojaka i korijena (Pallardy, 2008).

Dušik je u biljkama sastavni dio mnogih organskih spojeva koji igraju iznimnu ulogu u fiziologiji čitave biljke. Takvi su spojevi aminokiseline, proteini, nukleinske kiseline i spojevi

sekundarnog metabolizma biljke, kao što su alkaloidi (Mengel i sur., 2001). Iz tog je razloga njegova uloga u biljnom metabolizmu nezamjenjiva.

Osnovni pokazatelj nedostatka dušika u biljkama je smanjena stopa rasta. Uslijed nedostatka dušika biljke ostaju niskog rasta, tankih i izduženih stabljika te malih listova. Pogođen je i rast korijena, te posebice njegovo grananje, no omjer duljine korijena i visine izdanka uglavnom je povećan (Mengel i sur., 2001). Također, uslijed nedostatka dušika sinteza klorofila je smanjena, što rezultira klorozom listova. Važno je naglasiti kako kloroza zahvaća čitavu površinu lista i javlja se ranije kod starijih listova te često čini prvi simptom nedostatka dušika (Pevalek-Kozlina, 2003). Kada je biljka duže vrijeme i intenzivnije pogođena nedostatkom dušika, javlja se nekroza listova ili dijelova listova (Mengel i sur., 2001).

Suvišak dušika kod biljaka također rezultira negativnim posljedicama, od kojih su najizraženije i najčešće neotpornost na bolesti i sušu te pad količine i kakvoće prinosa kod nekih biljaka (Vukadinović i Vukadinović, 2011). Flückiger i Braun(1999), primjerice, nalaze kako povećanje koncentracije dušika uz smanjenje koncentracije fosfora predstavlja disbalans uslijed kojega su biljke sklonije napadima štetnika.

1.3.2.2. Fosfor (P)

Fosfor je nemetal koji se u prirodi, tlu i biljkama javlja u peterovalentnom obliku. Sadržaj u litosferi mu je vrlo promjenjiv (0,02-0,15%) jer ulazi u sastav velikog broja različito topivih minerala, ali se nalazi i vezan u organskoj tvari tla (Vukadinović i Vukadinović, 2011). Najvažniji minerali fosfora iz matičnih stijena su kalcijevi fosfati (uglavnom apatit) te željezovi i aluminijski fosfati. Iako se vrijednosti ukupnih količina fosfora u tlu kreću od 0,04-0,03%, a u humusnim tlima mogu biti i znatno veće, količina fosfatnih iona u otopini tla je mala i kreće se do 1 mg u litri vodene faze tla (Baule i Fricker, 1970). Interakcija fosfora (P_i) s aluminijem, željezom i kalcijem stvara teško topive kompleksne anorganske spojeve, a takva se fiksacija intenzivira sa sniženjem pH vrijednosti tla. Daljnji razlog nedostupnosti fosfora za biljke leži u činjenici da preko 80% posto zalihe fosfora u tlu može biti u organskom obliku (Raghothama, 2005). Dostupnost fosfora iz organskih frakcija ovisi o mikrobiološkoj aktivnosti, a uvjet mobilizacije je omjer C i P koji je manji od 200:1 (Baule i Fricker, 1970).

Biljke usvajaju fosfor isključivo u anionskom obliku i to kao $H_2PO_4^-$ i HPO_4^{2-} , a ugrađuju ga, za razliku od dušika, u organsku tvar bez redukcije. Koncentracija fosfora u biljkama prosječno je 0,3-0,5%. Reprodukcijski dijelovi i mlađa tkiva sadrže relativno više

anorganskog fosfora i u skladu s tim najveće potrebe za fosforom su na početku vegetacijske sezone i kod prijelaza iz vegetacijske u reprodukciju fazu života. Pokretljivost fosfora dobra je u oba smjera (Vukadinović i Vukadinović, 2011).

Uloga fosfora u biljnom metabolizmu od velike je važnosti jer čini ključnu komponentu energije metabolizma i biosinteze nukleinskih kiselina i membrana. Kao dio nukleotida (ATP), fosfor igra nezamjenjivu ulogu u reakcijama prijenosa energije, a kao dio fosfolipida čini važnu komponentu bioloških membrana. Fosfati grade poveznice između ribonukleozida u makromolekulama DNA i RNA. Nadalje, uslijed fosforilacije i defosforilacije mijenjaju se temeljne funkcije proteina, a ti procesi su važni za interakciju između proteina (Raghothama, 2005).

Nedostatak fosfora česta je pojava, a simptomi se najprije zapažaju u tamnozelenoj boji lista koja prelazi u crvenkastu. Biljke se odlikuju slabijim rastom, listovi su manji i kasne u razvoju kao i cvjetanje i zrioba (Vukadinović i Vukadinović, 2011).

Istraživanje na običnoj bukvi (Zavišić i Polle, 2017) dovodi do spoznaje da mehanizmi prilagodbe bukve na uvjete smanjene količine fosfora u tlu uključuju smanjen rast i veći odnos biomase prema fosforu. Nadalje, heterotrofna tkiva (deblo i korijenje) pokazuju određenu fleksibilnost prema sadržaju fosfora i u njima je koncentracija bila značajno niža nego u dobro ishranjenih biljaka, a zbog preferencijalne alokacije u listovima je zabilježen marginalan pad sadržaja fosfora, što ukazuje na očuvanje fotosintetske aktivnosti.

1.3.2.3. Magnezij (Mg)

Podrijetlo magnezija u tlu uglavnom je iz primarnih minerala silikata i mnogih bazičnih minerala, ali i iz sekundarnih magnezita i dolomita. Nakon raspadanja minerala ion Mg^{2+} se veže na adsorpcijski kompleks ili iznova tvori sekundarne minerale. Magnezij je vrlo rasprostranjen element i čini 2,1% litosfere, a u tlu je njegov udio 0,1-1,0%, s tim da u karbonatnim tlima taj postotak može biti znatno veći. Organske rezerve magnezija beznačajne su u ishrani bilja i vrlo mala količina Mg^{2+} nalazi se u otopini tla. Značajan izvor magnezija za biljke predstavlja njegov izmjenjivi oblik koji zauzima do 20% adsorpcijskog kompleksa tla (Vukadinović i Vukadinović, 2011).

Prosječna koncentracija magnezija u biljkama iznosi 0,1-1,0% suhe tvari. Od ukupnog magnezija u biljkama prosječno 50% je slobodno, što ion Mg^{2+} čini značajnim elektrolitom. Jedini organski spoj čiji je magnezij konstitucijski element je klorofil i on sadrži 15% ili više od ukupnog magnezija u biljci (Vukadinović i Vukadinović, 2011).

Magnezij je aktivator velikog broja enzima (peptidaze, dehidrogenaze, karboksilaze i dr.) i kofaktor je gotovo svih enzima koji kataliziraju reakcije fosforiliranih supstrata te je neposredno uključen u metabolizam energije. Značajnu ulogu ima u fotosintezi gdje sudjeluje kao aktivni centar klorofila, aktivator je ribuloza-difosfat-karboksilaze i utječe na protonski gradijent između tilakoida i strome kloroplasta, a također djeluje na dekarboksilaze Krebsovog ciklusa. Važan je i kod agregacije i stabilizacije ribosoma u biosintezi proteina. Prijenos aminokiselina s amino-acil-RNK na polipeptidni lanac aktiviran je magnezijem (Vukadinović i Vukadinović, 2011).

Budući da je magnezij relativno mobilan u biljci i prenosi se floemom, simptomi nedostatka pojavljuju se prvo na starijem lišću, a potom i na mlađem. Simptomi su vezani uz razgradnju klorofila, a manifestiraju se kao tipične, interkostalne (međužilne) kloroze, što znači da su žile zelene, a prostor između njih svijetlozelen. Kod jačeg nedostatka lišće dobiva prvo narančastu, zatim crvenu i purpurnu boju te dijelovi lista prelaze u nekrotične površine, dok lisne žile još neko vrijeme ostaju zelene (Vukadinović i Vukadinović, 2011). Drugi, manje očiti simptomi na staničnoj i molekularnoj razini uključuju stvaranje granularnih inkluzija na mitohondrijima, dezintegriranje membrana kloroplasta, povećano stvaranje etilena te smanjenu otpornost na mraz (Sigel i Sigel, 1990).

1.3.2.4. Željezo (Fe)

Podrijetlo željeza u tlu vezano je uz brojne primarne i sekundarne minerale. Sadrže ga karbonati, oksidi, sulfidi, a najznačajniji su hematit (α -Fe₂O₃) i getit (α -FeOOH). Rezerve u tlu su najvećim dijelom anorganske prirode i ukupni sadržaj željeza obično je između 0,5 i 4,0% (prosječno 3,2%). U ionskom obliku nalazi se kao kation Fe³⁺ ili Fe²⁺ u izrazito kiseloj sredini. Organske rezerve željeza u nekim tlima mogu biti značajne, i to kao Fe-oksi-hidroksi spojevi i Fe-kelati. Porastom kiselosti i uz prisutnost fosfora nastaju vrlo teško pristupačni fosfati željeza, dok se u lužnatoj sredini željezo nalazi u obliku teško topljivih oksida.

Biljke usvajaju željezo kao ione Fe³⁺, Fe²⁺ ili u obliku kelata. Usvajanje je povezano s redukcijom pa kod nedostatka željeza u tlu biljke korijenom izlučuju fenole i druge reducirajuće agense. Koncentracija željeza u suhoj tvari najčešće je između 50 i 1000 ppm, od čega se oko 80% nalazi u stromi kloroplasta vezano na proteine i kao rezerva u obliku fitoferitina, a 9-19% Fe u listu je vezano kao kem-Fe (citokromi, proksidaze, katalaze) ili Fe-S-proteini (ferodeksin). Pokretljivost željeza je u biljci osrednja do loša, a premještanje ometa prisutnost Ca(HCO₃)₂ (Vukadinović i Vukadinović, 2011).

Kao kritična komponenta proteina i enzima, željezo igra značajnu ulogu u biološkim procesima fotosinteze, sinteze klorofila, respiracije, asimilacije dušika, sinteze DNA i sl. Također, važan je i kao kofaktor enzima potrebnih za sintezu hormona (etilena, lipoksigenaze i abscizinske kiseline) (Rout i Sahoo, 2015). U nedostatku željeza smanjuje se broj fotosintetskih jedinica (PS I) i molekula citokroma f, a opada i koncentracija karotenoida.

Kloroza se rijetko javlja kao stvarni nedostatak željeza, već je uglavnom uvjetovana njegovom inaktivacijom tj. prelaskom u oblik koji je nepristupačan biljci. Tipični manjak očituje se interkostalnom (međužilnom) klorozom prvo mlađih listova, a zatim dolazi do pojave nekroze i opadanja lišća. Korijen je kraći i zadebljao. Toksično djelovanje željeza ogleda se u inhibiciji vegetacijskog rasta, tamnom, plavozelenom lišću i mrkoj boji korijena (Vukadinović i Vukadinović, 2011).

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Ovo istraživanje provedeno je s ciljem otkrivanja na koji način nedostaci pojedinih mineralnih hraniva utječu na fiziološku konstituciju i/ili fotosintetsku aktivnost klijanaca obične bukve. U različitim tretmanima pratio se odgovor klijanaca na nedostatak dušika (N), fosfora (P), magnezija (Mg) i željeza (Fe) u kontekstu utjecaja na sljedeće fiziološke parametre: indeks fotosintetske učinkovitosti (PI_{ABS}), stopa fotosinteze (A), provodljivost puči (g_s), intercelularna koncentracija CO_2 (C_i) te indeks relativnog sadržaja klorofila u lišću (CCI).

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Biljni materijal i dizajn pokusa

Klijanci obične bukve na kojima je provedeno istraživanje porijeklom su iz jedne srednjodobne prirodne mješovite šumske sastojine hrasta kitnjaka i obične bukve. Sastojina u kojoj se pristupilo uzorkovanju klijanaca (pažljivom iskapanju klijanaca s ciljem minimalnog oštećenja njihova korijena) sastavni je dio Nastavno-pokusnog šumskog objekta „Dotrščina“, kojim gospodari Šumarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Svi iskopani klijanci imali su pravilno razvijene i zdrave supke te po dva mlada lista u početnoj fazi razvoja. Prosječna visina tako uzorkovanih klijanaca iznosila je 104,9 mm, promjer na vratu korijena iznosio je 1,83 mm, a prosječna dužina korijena 78,3 mm.

Netom nakon iskapanja (17. travnja 2019. godine) klijanci su preneseni u laboratorij gdje im je korijenje pažljivo isprano destiliranom vodom. Nakon toga, klijanci su presađeni u plastične kontejnere dimenzija 10x10x20 cm prethodno ispunjene agroperlitom neutralne pH reakcije kao sterilnim supstratom za uzgoj biljaka koji u sebi ne sadrži nikakve elemente biljne ishrane.

Nakon presadnje, po šest kontejnera s pripadajućim klijancima bilo je raspoređeno u pet skupina (budućih tretmana). Prema tome, istraživanje je provedeno na ukupno 30 klijanaca. Različiti tretmani podrazumijevali su zalijevanje klijanaca s prethodno pripremljenim hranivim otopinama. Hraniva otopina kojom su zalijevani klijanci u kontrolnom tretmanu sadržavala je sve esencijalne makro i mikro elemente biljne ishrane (KO tretman). S druge strane, hranive otopine s kojima su zalijevani klijanci u ostala četiri tretmana sadržavale su sve esencijalne makro i mikro elemente biljne ishrane, izuzev dušika (–N tretman), fosfora (–P tretman), magnezija (–Mg tretman) i željeza (–Fe tretman).

Zalijevanje klijanaca obavljeno je manualno u skladu s gore opisanim dizajnom pokusa sa 100 ml odgovarajuće hranive otopine po kontejneru/klijancu svakih sedam dana, u razdoblju od trenutka presadnje do kraja vegetacijskog razdoblja 2019. godine.

3.2. Priprema hranivih otopina

Polu modificirana Hoaglandova otopina pripremljena je pomoću KNO_3 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, KH_2PO_4 , MgSO_4 , Fe-helata i ostalih mikroelemenata (Hogland i Arnon 1950). Tako pripremljena hraniva otopina s kojom su zaljevani klijanci u KO tretmanu sadržavala je sljedeće koncentracije makro i mikro elemenata biljne ishrane: K (3 mM L^{-1}), Ca ($2,5 \text{ mM L}^{-1}$),

¹), nitratni oblik N (7,5 mM L⁻¹), P (0,5 mM L⁻¹), Mg (0,1 mM L⁻¹), Fe (0,1 mM L⁻¹), B (0,04 mM L⁻¹), Mn (9 μM L⁻¹), Zn (0,8 μM L⁻¹), Cu (0,3 μM L⁻¹), Mo (0,1 μM L⁻¹). U hranivu otopinu kojom su zalijevani klijanci u –N tretmanu umjesto KNO₃ i Ca (NO₃)₂ dodani su K₂SO₄ i CaCl₂. U hranivu otopinu s kojom su zalijevani klijanci u –P tretmanu umjesto KH₂PO₄ dodan je K₂SO₄. Hranivim otopinama s kojima su zalijevani klijanci u –Mg i –Fe tretmanima izuzeti su MgSO₄, odnosno Fe-helat.

3.3. Izmjera fizioloških značajki

Izmjera fizioloških značajki klijanaca obavljena je po prilici svakih sedam dana od trenutka kada je na svim klijancima lišće bilo potpuno razvijeno (22. svibnja 2019. godine) do trenutka kada je lišće bilo uzorkovano s ciljem utvrđivanja njegovih morfoloških i kemijskih značajki (16. listopada 2019.). Izuzetak predstavlja razdoblje od 31. srpnja do 28. kolovoza 2019. godine kada izmjere nisu obavljane.

Intenzitet izmjene plinova između biljke i okolne atmosfere mjeren je pomoću prijenosnog LCpro+ uređaja (ADC BioScientific, 2007) s ciljem utvrđivanja stope fotosinteze, tj. asimilacije CO₂ (A), provodljivosti puči za H₂O (g_s) te intercelularne koncentracije CO₂ (C_i). Navedene izmjere obavljane su između 10:00 i 11:00 sati na jednom listu po svakom od ukupno 30 klijanaca uključenih u istraživanje. Tijekom izmjere izmjene plinova svaki je list bio izložen intenzitetu osvjetljenja od 1000 μmol m⁻² s⁻¹, koncentraciji CO₂ od 400 ± 10 μmol mol⁻¹ i temperaturi zraka od 25 ± 2 °C.

Indeks fotosintetske učinkovitosti (PI_{ABS}) mjeren je pomoću prijenosnog uređaja za izmjeru fluorescencije klorofila *a* (Pocket PEA, Hansatech Instruments Ltd., Norfolk, UK). Navedena izmjera obavljena je na jednom listu po svakom od ukupno 30 klijanaca uključenih u istraživanje između 11:00 i 12:00 sati. Prije mjerenja dio lista na kojemu je izmjera obavljena bio je prilagođen uvjetima tame (najmanje 30 minuta).

Indeks sadržaja ukupnih klorofila u lišću (CCI) mjeren je pomoću prijenosnog klorofilmetra CCM-200 (Opti-Sciences, Tyngsboro, MA). Izmjera je obavljena na dva lista po svakom od 30 klijanaca uključenih u istraživanja, na pet slučajno odabrana mjesta po svakom listu izbjegavajući glavnu lisnu žilu.

3.4. Kemijske analize biljnoga materijala

Nakon uzorkovanja lišća i utvrđivanja njegove mase u svježem i suhom stanju te specifične lisne površine ono je podvrgnuto kemijskoj analizi s ciljem utvrđivanja

ishranjenosti istraživanih klijanaca makro i mikro hranivima. Zbog relativno male mase lišća u suhom stanju unutar svakog tretmana bilo je moguće oformiti samo jedan uzorak koji se sastojao od ukupno 12 listova. Prema tome, kemijska analiza lišća obavljena je na ukupno pet uzoraka od kojih je svaki pripadao po jednom tretmanu.

Uzorkovano lišće sušeno je na 105 °C do konstantne težine. Nakon toga, lišće svakog pojedinog uzorka je samljeveno i homogenizirano. Iz određene količine suhe tvari tako pripremljenih uzoraka utvrđena je koncentracija N metodom po Kjendalhu. Koncentracija P utvrđena je spektrofotometrijski uz prethodnu digestiju koncentriranom HNO₃ i HClO₄. Koncentracija K utvrđena je na plamenfotometru uz prethodnu digestiju koncentriranom HNO₃ i HClO₄. Koncentracije Ca, Mg, Fe, Zn, Mn i Cu utvrđene su atomskom apsorpcijskom spektrofotometrijom uz prethodnu digestiju koncentriranom HNO₃ i HClO₄. Navedene analize provedene su prema razvijenim i standardiziranim protokolima od strane AOAC (2015).

3.5. Statistička analiza

Utjecaj tretmana na fiziološke značajke istraživanih klijanaca ispitan je pomoću ANOVA-e. Tukey-ev post-hoc test proveden je s ciljem utvrđivanja signifikantnih razlika između tretmana. Analiza je provedena programskim paketom Statistica 7.1. (StatSoft, Inc. 2006).

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Ishranjenost bukovih klijanaca s mineralnim hranivima pod utjecajem različitih tretmana

Tablica 1. Koncentracija dušika (N), fosfora (P), magnezija (Mg), željeza (Fe), kalija (K), kalcija (Ca), Cinka (Zn), Mangana (Mn) i Bakra (Cu) u suhoj tvari lišća tretiranih klijanaca.

Tretman <i>Treatment</i>	N (%)	P (%)	Mg (%)	Fe (ppm)	K (%)	Ca (%)	Zn (ppm)	Mn (ppm)	Cu (ppm)
KO	2.11	0.19	0.27	71.10	1.03	2.37	15.61	174.60	7.72
-N	1.66	0.24	0.30	67.90	0.81	1.98	16.61	212.00	8.45
-P	1.95	0.10	0.29	66.80	0.71	1.91	14.16	236.40	7.92
-Mg	1.89	0.22	0.18	73.90	0.58	1.80	14.89	228.30	8.31
-Fe	2.01	0.20	0.23	65.90	0.93	1.68	14.08	319.90	7.95

Koncentracije N u rasponu 1,90 – 2,50%, a P i Mg u rasponu 0,15 – 0,30% u suhoj tvari lišća obične bukve ukazuju na njezinu optimalnu ishranjenost sa spomenutim mineralnim hranivima (Bergmann, 1993). Podatak o koncentraciji Fe u suhoj tvari lišća obične bukve (uključujući i ostale srodne vrste) koji bi ukazivao na njezinu optimalnu ishranjenost sa Fe u nama dostupnoj literaturi nije bilo moguće pronaći. Međutim, općenito gledano koncentracija Fe u suhoj tvari koja ukazuje na optimalnu ishranjenost biljaka s Fe može imati vrlo širok raspon, čak 50 – 150 ppm (Vukadinović i Vukadinović, 2011). Prema tome, pod utjecajem –N i –P tretmana došlo je do suboptimalne ishranjenosti istraživanih klijanaca s N i P. Na to ukazuje usporedba koncentracije N (1,66%) i P (0,10%) u suhoj tvari njihova lišća (Tablica 1) sa gore navedenim graničnim vrijednostima. U –Mg i –Fe tretmanu koncentracije Mg (0,18%) i Fe (65,90 ppm) u suhoj tvari lišća istraživanih klijanaca bile su niže u odnosu ostale tretmane (Tablica 1). Međutim, na temelju njihove usporedbe s graničnim vrijednostima moguće je pretpostaviti da –Mg i –Fe tretman nisu rezultirali suboptimalnom ishranjenošću klijanaca s Mg i Fe, premda je koncentracija Mg od 0,18% bila vrlo blizu donje granice optimalne ishranjenosti.

Prema gore navedenom, utjecaj svih tretmana očekivano se odrazio na mineralnu ishranu istraživanih klijanaca. To potvrđuje najniža koncentracija N u –N tretmanu, P u –P tretmanu, Mg u –Mg tretmanu i Fe u –Fe tretmanu dok je u KO tretmanu koncentracija svih hraniva bila u granicama optimalne ishranjenosti (Tablica 1).

Ishranjenost istraživanih klijanaca s ostalim mineralnim hranivima (K, Ca, Zn, Mn i Cu) u svim je tretmanima uglavnom bila optimalna, izuzev K s kojim su bili optimalno ishranjeni jedino klijanci u KO tretmanu (Tablica 1). To potvrđuju granične vrijednosti

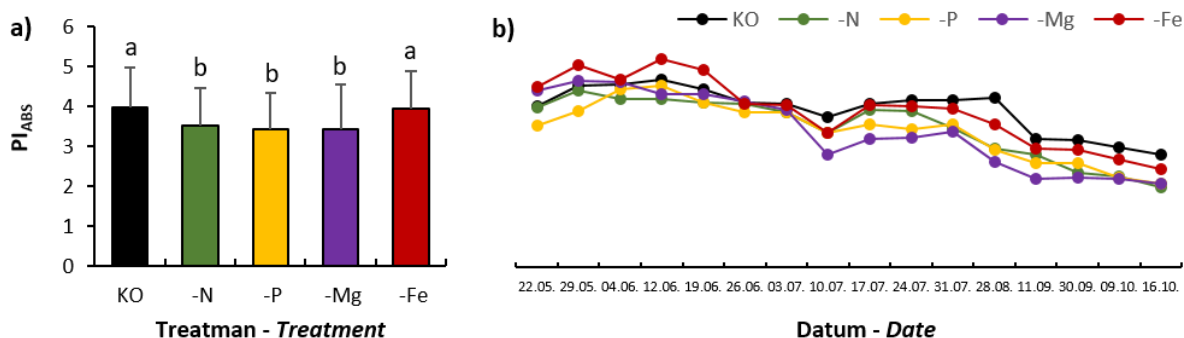
koncentracije K (1,0 – 1,50%), Ca (0,30 – 1,50%), Zn (15 – 50 ppm), Mn (35 – 100 ppm) i Cu (5 -12 ppm) u suhoj tvari lišća obične bukve koje ukazuju na njezinu optimalnu ishranjenost spomenutim mineralnim hranivima (Bergmann, 1993).

4.2. Utjecaj mineralne ishrane na primarne i sekundarne reakcije fotosinteze

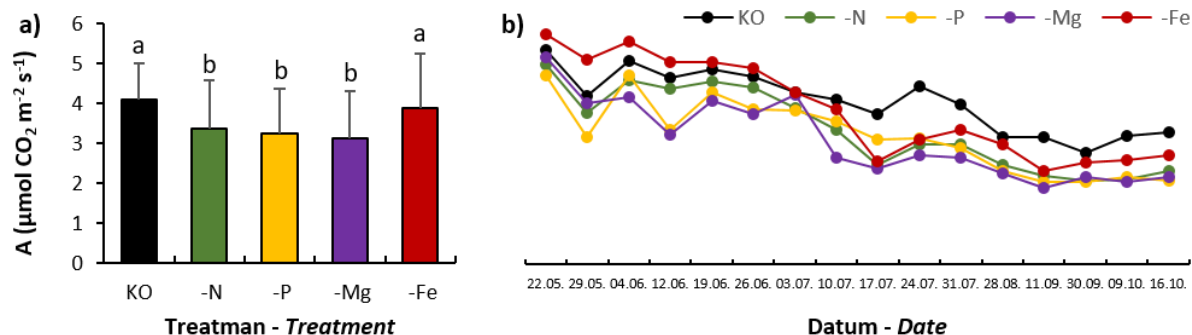
Kako je spomenuto, reakcije fotosinteze započinju primarnim (svijetlim) reakcijama u kojima se stvara energija potrebna za odvijanje sekundarnih (tamnih) reakcija, čiji je krajnji produkt glukoza iz koje se sintetiziraju ostali organski spojevi nužni za normalan rast i razvoj biljaka.

U ovom je radu odgovor svijetlih reakcija fotosinteze kod bukovih klijanaca na KO, –N, –P, –Mg i –Fe tretman opisan pomoću indeksa fotosintetske učinkovitosti (PI_{ABS}). U novijoj literaturi PI_{ABS} se opisuje kao vrlo prikladan i osjetljiv parametar koji vrlo dobro procjenjuje funkcionalnost fotosintetskog aparata pod utjecajem različitih biotskih i abiotskih stresora (Appenroth i sur., 2001, Strauss i sur., 2006, Gonçalves i sur., 2007). Prednost PI_{ABS} u odnosu na slične parametre (npr. Fv/Fm) ogleda se u tome što on predstavlja multiparametarski izraz koji uzima u obzir učinkovitost svih glavnih fotokemijskih procesa koji čine svijetle reakcije fotosinteze. To obuhvaća apsorpciju i hvatanje pobuđene energije, transport elektrona duž transportnog lanca elektrona i rasipanje viška pobuđene energije (Lepeduš i sur., 2012).

S druge strane, cjelokupan odgovor fotosinteze što uključuje interaktivan odgovor svijetlih i tamnih reakcija fotosinteze bukovih klijanaca na KO, –N, –P, –Mg i –Fe tretman opisan je stopom fotosinteze (A), što u biti predstavlja stopu asimilacije CO_2 . Prema tome, A predstavlja količinu CO_2 koja se od strane biljke na određenoj površini lista kroz puči usvoji u određenoj jedinici vremena.



Slika 1. Prosječne vrijednosti (prikaz a) i sezonski trend (prikaz b) indeksa fotosintetske učinkovitosti (PI_{ABS}) bukovih klijanaca tretiranih s kompletnom hranivom otopinom (KO) i hranivim otopinama u kojima su izostavljeni dušik (-N), fosfor (-P), magnezij (-Mg) i željezo (-Fe).



Slika 2. Prosječne vrijednosti (prikaz a) i sezonski trend (prikaz b) stope fotosinteze (A) bukovih klijanaca tretiranih s kompletnom hranivom otopinom (KO) i hranivim otopinama u kojima su izostavljeni dušik (-N), fosfor (-P), magnezij (-Mg) i željezo (-Fe).

Prema našim rezultatima, klijanci iz KO tretmana imali su signifikantno višu PI_{ABS} i A u odnosu na klijance iz -N, -P i -Mg tretmana, što u odnosu na -Fe tretman nije utvrđeno (Slika 1a i 2a). Međutim, klijanci iz KO tretmana u drugom dijelu vegetacijskoga razdoblja (nakon sredine srpnja) svoju su PI_{ABS} i A održavali višima u odnosu na klijance iz ostalih tretmana (Slika 1b i 2b). Prema tome, moguće je pretpostaviti da su klijanci iz -N, -P, -Mg i -Fe tretmana do sredine vegetacijskoga razdoblja potrošili zalihe N, P, Mg i Fe uskladištene u supkama ili parenhimu debalaca, a uslijed nemogućnosti njihova daljnjeg usvajanja iz supstrata nisu mogli održavati svoju PI_{ABS} i A na razini klijanaca iz KO tretmana. Takav rezultat potvrđuje važnu ulogu N, P, Mg i Fe u fotosintetskom procesu bukovih klijanaca koja se može ogledati u regulaciji cijelog niza fizikalno-kemijskih procesa uključenih u svijetle i/ili tamne reakcije fotosinteze.

Signifikantno niža PI_{ABS} i A kod bukovih klijanaca iz -N tretmana u odnosu na KO tretman (Slika 1a i 2a) može biti posljedica niže koncentracije proteinskih kompleksa uključenih u transport elektrona prilikom odvijanja svijetlih reakcija fotosinteze i/ili niže koncentracije enzima koji sudjeluju u Calvinovom ciklusu, a posebno enzima RUBISCO (Evans, 1989).

Kod klijanaca iz -P tretmana u odnosu na klijance iz KO tretmana također je utvrđena signifikantno niža PI_{ABS} i A (Slika 1a i 2a). Takav rezultat u skladu je s rezultatima ranije provedenih istraživanja prema kojima su kod biljaka loše ishranjenih s P utvrđeni lošija sposobnost pretvorbe svjetlosne u kemijsku energiju, sporiji prijenos elektrona i usporena sinteza ATP-a i NADPH što je sve skupa rezultira nižom stopom fiksacije CO_2 (Jacob i

Lawlor, 1993). Uz to, poznato je da P utječe na aktivaciju cijelog niza enzima uključenih u Calvinov ciklus koji izravno i/ili neizravno sudjeluju u fiksaciji i/ili redukciji CO₂ (Richter i Rao, 2005). To je također moglo pridonijeti opadanju A kod klijanaca iz –P tretmana u odnosu na klijance iz KO tretmana (Slika 2a).

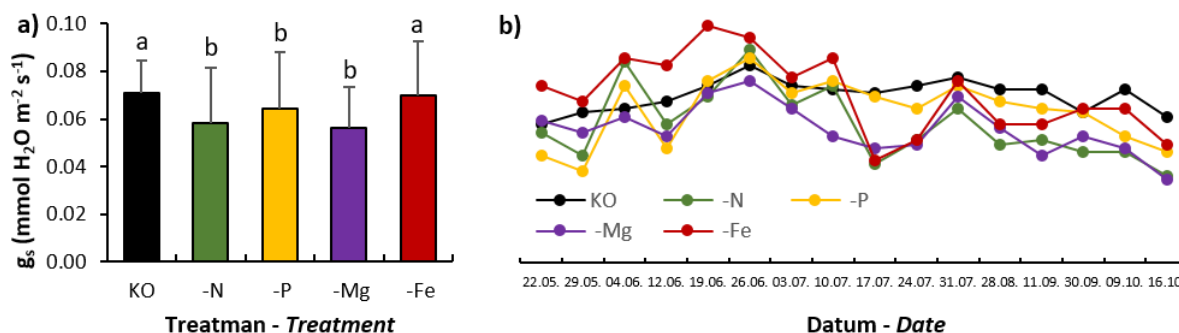
Kao i u prethodna dva slučaja, klijanci iz –Mg tretmana u odnosu na KO tretman imali su signifikantno nižu PI_{ABS} i A (Slika 1a i 1b) što je u skladu s prilično niskom koncentracijom Mg u lišću klijanaca iz –Mg tretmana koja je bila na donjoj granici optimalne ishranjenosti (Tablica 1). S obzirom da Mg predstavlja centralni dio molekule klorofila koje grade fotosustave odgovorne za prikupljanje svjetlosti koja se kasnije pretvara u kemijsku energiju nužnu za fiksaciju CO₂ u Calvinovu ciklusu (Taiz i Zeiger, 2010) takav rezultat nije iznenađujući. Uz to, lošija ishranjenost biljaka s Mg obično rezultira opadanjem koncentracije enzima RUBISCO u stromi kloroplasta te njegovim niskim stupnjem aktivacije (Peng i sur., 2015) što kod velikog broja biljnih vrsta rezultira niskom stopom fotosinteze (Lasa i sur., 2000; Yuguan i sur., 2009; Tang i sur., 2012; Jezek i sur., 2015; Li i sur., 2017.). Prema tome, naši su rezultati u skladu s rezultatima ranijih istraživanja prema kojima Mg igra važnu ulogu u svijetlim i/ili tamnim reakcijama fotosinteze što se u konačnici može negativno odraziti na stopu asimilacije CO₂ (Laing i sur., 2000; Yang i sur., 2012; Trankner i sur., 2016).

Prema dosadašnjim spoznajama suboptimalna ishranjenost biljaka s Fe ima izrazito negativan utjecaj na cjelokupan fotosintetski proces uključujući svijetle i tamne reakcije, što je u literaturi vrlo dobro dokumentirano (Bertamini i sur., 2001 i 2002; Jiang i sur., 2007; Rout i Sahoo, 2015). Prema našim rezultatima, pod utjecajem –Fe tretmana u odnosu na KO tretman nije došlo do signifikantnog opadanja prosječnih vrijednosti PI_{ABS} i A (Slika 1a i 2a). Prema tome, moguće je pretpostaviti da su istraživani klijanci uspjeli iz tla usvojiti i uskladištiti dovoljnu količinu željeza tijekom početne faze svoga razvoja i/ili je tijekom istraživanja retranslocirati iz supki u lišće što im je bilo dostatno za normalno funkcioniranje tijekom cijelog vegetacijskog razdoblja.

4.3. Utjecaj mineralne ishrane na provodljivost puči i intercelularnu koncentraciju CO₂

Provodljivost puči

Prva prepreka atmosferskom CO₂ prilikom ulaska u list predstavljaju stanice zapornice koje reguliraju otvorenost puči. Prema literaturnim podacima, od svih mineralnih hraniva najznačajniju ulogu u procesu otvaranja i zatvaranja puči ima K (Barker i Pilbeam, 2007).



Slika 3. Prosječne vrijednosti (prikaz a) i sezonski trend (prikaz b) provodljivosti puči (g_s) bukavih klijanaca tretiranih s kompletnom hranivom otopinom (KO) i hranivim otopinama u kojima su izostavljeni dušik (-N), fosfor (-P), magnezij (-Mg) i željezo (-Fe).

Prema tome, signifikantno nižu provodljivost puči (g_s) kod klijanaca iz -N, -P i -Mg tretmana u odnosu na klijanca iz KO tretmana (Slika 3a) moguće je objasniti niskom koncentracijom K u lišću ispod granice optimalne ishranjenosti (Tablica 1). Izuzetak predstavlja -Fe tretman u kojem su bukovi klijanca imali podjednaku g_s kao i klijanca iz KO tretmana (Slika 3a) unatoč nešto nižoj koncentraciji K u lišću klijanaca iz -Fe tretmana koja također sugerira neadekvatnu ishranjenost s K (Tablica 1).

Uz K^+ ione vrlo važnu ulogu u mehanizmu otvaranja i zatvaranja puči ima i apcizinska kiselina (ABA) koja se smatra biljnim hormonom stresa koji regulira rast, zatvaranje puči, sintezu proteina i druge biokemijske procese u stresnim uvjetima. Prema trenutnim spoznajama Fe ima važnu ulogu u biosintezi ABA (Nambara i Marion-Poll, 2005; Qin i Zeveart, 2002; Taylor i sur., 2000; Thompson i sur., 2007; Xiong i Zhu, 2003). Prema tome, u slučaju loše ishranjenosti s Fe, u biljkama je obično prisutna niska koncentracija ABA koja tada ne može u potpunosti zaustaviti prijenos K^+ iona u stanice zapornice što rezultira sporim i/ili nepotpunim zatvaranjem puči (Pantin i sur., 2013; Tombesi i sur., 2015) što u konačnici rezultira konstantnim održavanjem visoke provodljivosti puči (g_s) i transpiracije. Prethodno navedeno u određenoj mjeri objašnjava relativno visoku g_s kod klijanaca iz -Fe tretmana koja se nije signifikantno razlikovala u odnosu na g_s klijanaca iz KO tretmana (Slika 3a).

Prijenos K^+ iona kroz plazmatske membrane stanica koje grade puči (stanice zapornice i stanice susjednice) odvija se kroz K^+ kanale čija učinkovitost prijenosa K^+ iona u ili iz stanice ovisi o prisutnosti nitratnog (NO_3^-) i klorovog (Cl^-) iona te sintezi malata u citosolu (Tränkner i sur., 2018). Prema tome, uz K^+ , i NO_3^- ion (jedan oblik dušičnoga hraniva) ima određenu ulogu u procesu otvaranja i zatvaranja puči. U skladu s tim, rezultati ranijih istraživanja

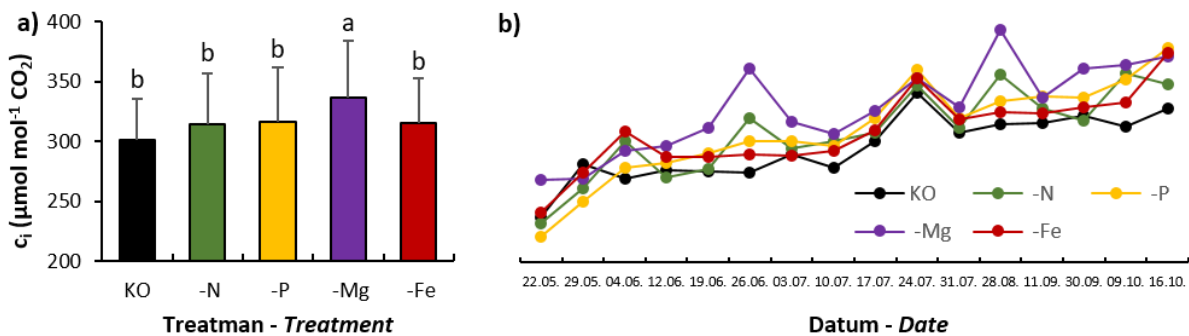
provedenih na brojnim biljnim vrstama, uključujući i šumsko drveće, ukazuju da adekvatna ishranjenost biljaka s N pozitivno utječe na g_s , odnosno da pod utjecajem loše ishranjenosti biljaka s N dolazi do opadanja g_s (Eller i sur., 2016; Sun i sur., 2016). Naš rezultat u skladu je s prethodno navedenim što potvrđuje najlošija ishranjenost klijanaca s N u –N i –Mg tretmanu (Tablica 1) koji su ujedno imali i najnižu g_s (Slika 3a).

Sveukupno gledano, klijanci iz –N, –P i –Mg tretmana imali su signifikantno nižu g_s u odnosu na klijance iz KO i –Fe tretmana (Slika 3a). Takav rezultat usporediv je s rezultatima ranijih istraživanja prema kojima loša ishranjenost biljaka s N i P negativno utječe na funkcionalnost aquaporina (proteinskih kanala specijaliziranih za prijenos vode kroz plazmatske membrane) uslijed čega dolazi do snažnog opadanja g_s (Carvajal i sur., 1996, Eller i sur., 2016). Prema tome, moguće je pretpostaviti da u slučaju loše ishranjenosti s N i/ili P voda ne može slijediti K^+ ione prilikom njihova ulaska u stanice zapornice zadovoljavajućom brzinom što rezultira sporim porastom turgorskog tlaka, usporenim otvaranjem puči i niskom g_s .

Prema jednom dijelu literaturnih podataka Mg nema značajniju ulogu u mehanizmu otvaranja i/ili zatvaranja puči (Tränkner i sur., 2018) što je potkrijepljeno rezultatima ranijih istraživanja prema kojima lošija ishranjenost biljaka s Mg nema negativnog utjecaja na g_s i/ili intercelularnu koncentraciju CO_2 (Lasa i sur., 2000, Tang i sur., 2012, Yang i sur., 2012). Međutim, postoje i literaturni navodi prema kojima Mg utječe na veliki broj fizioloških procesa povezanih s vodnim statusom biljaka (Carvajal i sur., 1999, Rao i sur., 1987, Barker i Pilbeam, 2007). U našem slučaju, utjecaj ishranjenosti bukovih klijanaca s Mg na g_s i/ili cjelokupnu fotosintetsku aktivnost nije moguće realno procijeniti jer koncentracija Mg u lišću klijanaca iz svih tretmana ukazuje na njihovu dobru ishranjenost s Mg. Međutim, klijanci iz –Mg tretmana imali su nešto nižu koncentraciju Mg u lišću nego klijanci iz ostalih tretmana (Tablica 1). Uz to, klijanci iz –Mg tretmana ujedno su imali i najnižu g_s (Slika 3a) te najvišu intercelularnu koncentraciju CO_2 (Slika 4a) što ide u prilog postojanju određene uloge Mg u regulaciji vodne ravnoteže kod bukovih klijanaca.

Kod klijanaca iz svih tretmana najviše vrijednosti g_s zabilježene su sredinom vegetacijskoga razdoblja (krajem lipnja i početkom srpnja) nakon čega je g_s počela blago opadati (Slika 3b). Takav rezultat u skladu je s rezultatima ranijih istraživanja provedenih na običnoj bukvi prema kojima g_s u drugom dijelu vegetacijskoga razdoblja polagano opada što se povezuje sa raznovrsnim oštećenjima stomatalnog aparata i otežanog otvaranja puči (Gale i sur., 2007, Pflug i sur., 2018).

Intercelularna koncentracija CO₂



Slika 4. Prosječne vrijednosti (prikaz a) i sezonski trend (prikaz b) intercelularne koncentracije CO₂ (c_i) bukovich klijanaca tretiranih s kompletnom hranivom otopinom (KO) i hranivim otopinama u kojima su izostavljeni dušik (-N), fosfor (-P), magnezij (-Mg) i željezo (-Fe).

Prema rezultatima našeg istraživanja, najnižu c_i imali su klijanci iz KO tretmana koja se nije značajno razlikovala u odnosu na -N, -P i -Fe tretman. Međutim, c_i kod klijanaca iz -Mg tretmana bila je značajno viša u odnosu na ostale tretmane (Slika 4a). Tako visoka c_i kod klijanaca iz -Mg tretmana ukazuje da bi Mg mogao imati važnu ulogu u provodljivosti mezofila kod obične bukve. Međutim, u obzir treba uzeti činjenicu da su klijanci iz -Mg tretmana bili optimalno ishranjeni s Mg ali su ujedno bili najlošije ishranjeni s K (Tablica 1) čija je uloga u provodljivosti mezofila za CO₂ mnogo bolje dokumentirana nego uloga Mg. U literaturi trenutno nije moguće pronaći podatke o izravnom utjecaju ishranjenosti biljaka s Mg na provodljivost njihova mezofila (Tränkner i sur., 2018). Međutim, neizravan utjecaj loše ishranjenosti biljaka s K i Mg na provodljivost mezofila najčešće se dovodi u vezu s anatomskom građom lišća (Pettigrew, 1999; Gerardeaux i sur., 2010; Jin i sur., 2011; Lu i sur., 2016) i/ili koncentracijom otopljenih šećera u lišću (Cakmak i sur., 1994; Lavon i sur., 1995; Gerardeaux i sur., 2010). Naime, pod utjecajem loše ishranjenosti biljaka s Mg i/ili K dolazi do produkcije tanjeg lišća koje ima malu zapreminu intercelularnih prostora, a ujedno je građeno i od velikog broja malih stanica što sve skupa negativno utječe na provodljivost mezofila za CO₂. Anatomsku građu lišća koja nepovoljno utječe na provodljivost mezofila moguće je determinirati na temelju povišene specifične lisne mase (Syvertsen i sur., 1995; Hanba i sur., 1999). Prema našim rezultatima specifična lisna masa (SLM) bukovich klijanaca u svim je tretmanima bila podjednaka (podatak nije prikazan). Prema tome, u našem slučaju anatomska građa lišća vjerojatno nije imala značajnijeg utjecaja na izazivanje razlika u c_i i/ili provodljivosti mezofila za CO₂.

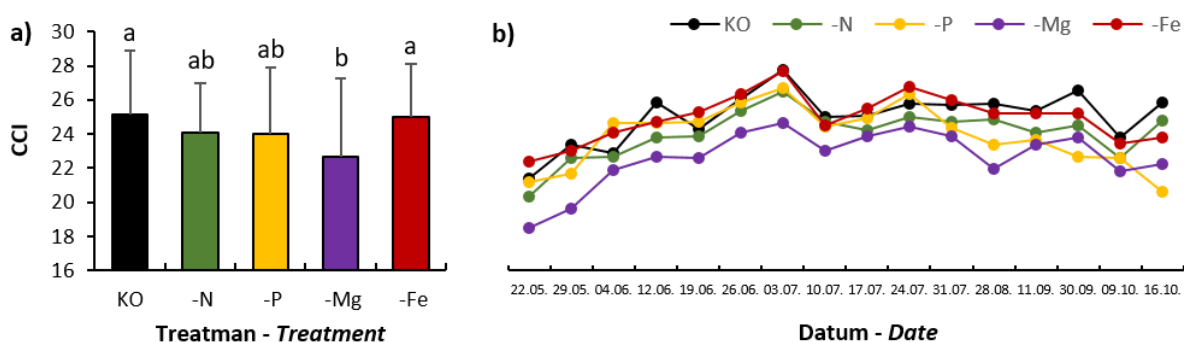
U lišću biljaka koje su lošije ishranjene s K i/ili Mg dolazi do nakupljanja nestrukturnih ugljikohidrata zbog njihova otežanog premještanja floemom što također negativno utječe na difuziju CO₂ kroz mezofil lišća (Cakmak i sur., 1994; Lavon i sur., 1995). S jedne strane, K⁺ ioni predstavljaju vrlo važnu osmotski aktivnu tvar u floemskom soku koja uz saharozu i amino spojeve regulira transport otopljenih tvari floemom (Lalonde i sur., 2003). S druge strane, Mg regulira rad enzima H⁺-ATPaze (adenozintrifosfataze) odgovornoga za održavanje protonskog gradijenta između stanica floema koji također ima značajan utjecaj na transport otopljenih tvari floemom (Hanstein i sur., 2011). Prema tome, loša ishranjenost biljaka s K i/ili Mg usporava transport otopljenih tvari floemom i rezultira nakupljanjem saharoze u mezofilu lišća što negativno utječe na njegovu provodljivost za CO₂ (Carroll i sur., 2014, Holttta i sur., 2017). Upravo to bi mogao biti jedan od glavnih razloga prilično visokih vrijednosti c_i (Slika 4a i b) i/ili slabe provodljivosti mezofila za CO₂ kod bukovih klijanaca iz -Mg tretmana koji su bili nešto lošije ishranjeni s Mg i K u odnosu na klijance iz ostalih tretmana (Tablica 1).

Kako je već ranije spomenuto, u literaturi je vrlo teško pronaći podatke o izravnom utjecaju mineralnih hraniva na provodljivost mezofila. Njihov se utjecaj na provodljivost mezofila najčešće objašnjava u kontekstu indirektnog utjecaja na cijeli niz biokemijskih procesa koji se odvijaju u lišću (Von Caemmerer i Evans, 1991; Warren, 2004). Primjerice, prema nekim istraživanjima povećana koncentracija K u lišću pozitivno utječe na aktivnost enzima ugljične anhidraze (Mohammad i Naseem, 2006) koji katalizira povezivanje CO₂ i H₂O u karbonatnu kiselinu što pozitivno utječe na difuziju CO₂ kroz citosol i stromu kloroplasta prema enzimu RUBISCO (Berghuijs i sur., 2017). Uz to, valja napomenuti da provodljivost mezofila uz anatomsku građu lišća i/ili nakupljanje otopljenih tvari u lišću ovisi i o ekspresiji proteina kao što su već ranije spomenuti aquaporini koji uvelike olakšavaju prelazak CO₂ kroz plazmatske membrane stanica koje tvore mezofil lišća (Wang i sur., 2016). S obzirom da je njihova ekspresija, aktivnost i prisutnost u plazmatskim membranama u pozitivnoj korelaciji s koncentracijom N, P i K u lišću biljaka (Kanai i sur., 2011; Wang i sur., 2016) nije iznenađujuće da su klijanci iz KO tretmana (koji su bili prilično dobro ishranjeni s N, P i K) imali najnižu c_i (Slika 4a i b) što prema Flexas i sur., (2008) sugerira na dobru provodljivost mezofila za CO₂.

4.4. Utjecaj mineralne ishrane na biosintezu klorofila

Biosintetski put klorofila sastoji se od niza reakcija koje se odvijaju u plastidima (kloroplastima), a cijeli put se može podijeliti u četiri faze (Taiz i Zeiger, 2010). U prvoj fazi

sintetizira se δ -aminolevulininska kiselina (δ -ALA) čiju stopu sinteze kontrolira Fe (Pushnik i sur., 1984). Prema tome, uredna sinteza δ -ALA uvelike ovisi o adekvatnoj ishranjenosti biljke s Fe, a koncentracija klorofila često korelira sa koncentracijom Fe u lišću (Rout i Sahoo, 2015). U konačnici, krajnji produkt prve faze su molekule porfobilinogena (PBG) koje nastaju kondenzacijom δ -ALA (Taiz i Zeiger, 2010). Druga faza obuhvaća cijeli niz kemijskih reakcija pod čijom kontrolom iz molekula porfobilinogena nastaje protoporfirin IX (Taiz i Zeiger, 2010). U trećoj fazi dolazi do umetanja magnezijeva iona (Mg^{2+}) u protoporfirin IX pri čemu nastaje prstenasti sustav bogat dvostrukim konjugiranim vezama sa labavo vezanim elektronima (Taiz i Zeiger, 2010). Prema tome, niska koncentracija klorofila u lišću predstavlja uobičajeni odgovor biljaka na neadekvatnu ishranjenost s Mg (Mengutay i sur., 2013, Faust i Schubert, 2016, Trankner i sur., 2016). U zadnjoj, četvrtoj fazi biosintetskog puta dolazi do sinteze klorofila *a* iz kojega se naknadno sintetizira klorofil *b* (Rüdiger, 2002).



Slika 5. Prosječne vrijednosti (prikaz a) i sezonski trend (prikaz b) klorofilnoga indeksa (CCI) bukovih klijanaca tretiranih s kompletnom hranivom otopinom (KO) i hranivim otopinama u kojima su izostavljeni dušik (-N), fosfor (-P), magnezij (-Mg) i željezo (-Fe).

Prema našim rezultatima najniži indeks sadržaja ukupnih klorofila u lišću (CCI) imali su upravo klijaneci u $-Mg$ tretmanu (Slika 5a i b) što je u skladu s rezultatima ranijih istraživanja prema kojima se uobičajeni odgovor biljaka na neadekvatnu ishranjenost s Mg ogleda u niskoj koncentraciji klorofila (Mengutay i sur., 2013; Faust i Schubert, 2016, Trankner i sur., 2016). Za razliku od CCI-a u $-Mg$ tretmanu koji je bio značajno niži u odnosu na KO tretman, CCI u $-Fe$ tretmanu nije bio značajno niži u odnosu na KO tretman (Slika 6a). Takav bi rezultat mogao sugerirati da su klijaneci iz svih tretmana bili podjednako dobro ishranjeni s Fe (Tablica 1) što je moglo rezultirati izostankom značajnih razlika između $-Fe$ i KO tretmana s obzirom na CCI. Klijaneci iz $-N$ i $-P$ tretmana imali su podjednak CCI koji je bio nešto niži u odnosu na KO tretman, ali ne

signifikantno (Slika 5a). S obzirom na to i trenutne spoznaje o utjecaju N i P na biosintezu klorofila, takav rezultat moguće je interpretirati na dva načina. S jedne strane, razina ishranjenosti klijanaca vrste *Larix olgensis* s N i P pozitivno korelira sa stopom sinteze δ -ALA, PBG i koncentracijom klorofila u lišću (Wu i sur., 2006). To je u skladu s našim rezultatima, prema kojima bukovi klijanci iz KO tretmana imaju nešto viši CCI u odnosu na –N i –P tretman (Slika 5a). S druge strane, neadekvatna ishranjenost klijanaca vrste *Fraxinus mandshurica* sa P nije imala negativnog utjecaja na biosintezu klorofila i njihovu ukupnu fotosintetsku aktivnost (Wu i sur., 2004). To je također u skladu s našim rezultatima prema kojima se CCI u KO i –P tretmanu nije signifikantno razlikovao (Slika 5a).

5. ZAKLJUČAK

Dobiveni rezultati u skladu su s prijašnjim istraživanjima i potvrđuju povezanost između ishrane bukovih klijanaca s N, P, Mg, Fe i parametara koji opisuju njihovu fotosintetsku aktivnost. Klijanci iz KO tretmana (tretmana kompletnom hranivom otopinom) pokazali su najbolje performanse u svim parametrima fotosintetske aktivnosti. Nadalje, koncentracije N, P, Mg i Fe u suhoj tvari lišća bile su očekivano najniže u tretmanima u kojima su se ta hraniva uskraćivala, iako –Mg i –Fe tretman nisu rezultirali suboptimalnom ishranjenošću klijanaca s Mg i Fe. Generalno, očekivale su se značajnije razlike između kontrolnog i ostalih tretmana, a to se može pripisati činjenici da su klijanci prije iskapanja rasli na prirodnom staništu te da su u tom periodu uspjeli prikupiti zalihe mineralnih hraniva u debalcu i supkama koji su koristili kasnije za vrijeme tretmana. Pretpostavka, koja bi se mogla ispitati daljnjim istraživanjima, je da bi razlike u fiziološkoj i morfološkoj konstituciji u idućoj vegetacijskoj sezoni bile izraženije jer bi klijanci potrošili nakupljene zalihe hraniva.

6. LITERATURA

1. Appenroth, K. J., Stöckel, J., Srivastava, A., i Strasser, R. J. (2001). Multiple effects of chromate on the photosynthetic apparatus of *Spirodela polyrhiza* as probed by OJIP chlorophyll a fluorescence measurements. *Environmental Pollution*, 115(1), 49-64.
2. Barker, A. i Pilbeam, D. (2007): Handbook of plant nutrition. CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton, FL.
3. Baule, H. i Fricker, C. (1970). *The fertilizer treatment of forest trees*. München: BLV Verlagsgesellschaft.
4. Berghuijs, H. N., Yin, X., Ho, Q. T., Retta, M. A., Verboven, P., Nicolai, B. M., i Struik, P. C. (2017). Localization of (photo) respiration and CO₂ re-assimilation in tomato leaves investigated with a reaction-diffusion model. *PLoS one*, 12(9), e0183746.
5. Bergmann, W. (1993). Ernährungsstörungen bei Kulturpflanzen. Entstehung, visuelle und analytische Diagnose. Gustav Fischer Verlag Jena, 1-835.
6. Bertamini, M., Muthuchelian, K., i Nedunchezian, N. (2002). Iron deficiency induced changes on the donor side of PS II in field grown grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Pinot noir) leaves. *Plant science*, 162(4), 599-605.
7. Bertamini, M., Nedunchezian, N., i Borghi, B. (2001). Effect of iron deficiency induced changes on photosynthetic pigments, ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase, and photosystem activities in field grown grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Pinot noir) leaves. *Photosynthetica*, 39(1), 59-65.
8. Cakmak, I., Hengeler, C., i Marschner, H. (1994). Partitioning of shoot and root dry matter and carbohydrates in bean plants suffering from phosphorus, potassium and magnesium deficiency. *Journal of Experimental Botany*, 45(9), 1245-1250.
9. Carroll, N. J., Jensen, K. H., Parsa, S., Holbrook, N. M., i Weitz, D. A. (2014). Measurement of flow velocity and inference of liquid viscosity in a microfluidic channel by fluorescence photobleaching. *Langmuir*, 30(16), 4868-4874.
10. Carvajal, M., Cooke, D. T., i Clarkson, D. T. (1996). Responses of wheat plants to nutrient deprivation may involve the regulation of water-channel function. *Planta*, 199(3), 372-381.
11. Carvajal, M., Martinez, V., i Cerda, A. (1999). Influence of magnesium and salinity on tomato plants grown in hydroponic culture. *Journal of plant nutrition*, 22(1), 177-190.

12. Chen, W. R., Zheng, J. S., Li, Y. Q., i Guo, W. D. (2012). Effects of high temperature on photosynthesis, chlorophyll fluorescence, chloroplast ultrastructure, and antioxidant activities in fingered citron. *Russian Journal of Plant Physiology*, 59(6), 732-740.
13. Ellenberg, H. H. (1988). *Vegetation ecology of central Europe*. Cambridge: University Press.
14. Eller, F., Jensen, K., i Reisdorff, C. (2017). Nighttime stomatal conductance differs with nutrient availability in two temperate floodplain tree species. *Tree physiology*, 37(4), 428-440.
15. Evans, J. R. (1989). Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C 3 plants. *Oecologia*, 78(1), 9-19.
16. Evans, J., i Poorter, H. (2001). Photosynthetic acclimation of plants to growth irradiance: the relative importance of specific leaf area and nitrogen partitioning in maximizing carbon gain. *Plant, Cell & Environment*, 24(8), 755-767.
17. Faust, F., i Schubert, S. (2016). Protein synthesis is the most sensitive process when potassium is substituted by sodium in the nutrition of sugar beet (*Beta vulgaris*). *Plant Physiology and Biochemistry*, 107, 237-247.
18. Flexas, J., M. Ribas-Carbó, A. Dijaz-Espejo, J. Galmés i H. Medrano, (2008). Mesophyll conductance to CO₂: current knowledge and future prospects. *Plant, cell & environment*, 31(5), 602-621.
19. Flückiger, W. i Braun, S. (1999). Nitrogen and its effect on growth, nutrient status and parasite attacks in beech and Norway spruce. *Water, Air, and Soil Pollution*, 116 (1-2), 99-110.
20. Franjić, J. i Škvorc, Ž. (2010). *Šumsko drveće i grmlje Hrvatske*. Zagreb: Šumarski fakultet.
21. Gallé, A., Haldimann, P. i Feller, U. (2007): Photosynthetic performance and water relations in young pubescent oak (*Quercus pubescens*) trees during drought stress and recovery. *New Phytol*, 174: 799 – 810.
22. Gerardeaux, E., Jordan-Meille, L., Constantin, J., Pellerin, S., i Dingkuhn, M. (2010). Changes in plant morphology and dry matter partitioning caused by potassium deficiency in *Gossypium hirsutum* (L.). *Environmental and Experimental Botany*, 67(3), 451-459.
23. Gonçalves, J. F., Santos Jr, U. M., Nina Jr, A. R., i Chevreuil, L. R. (2007). Energetic flux and performance index in copaiba (*Copaifera multijuga* Hayne) and mahogany

- (*Swietenia macrophylla* King) seedlings grown under two irradiance environments. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 19(3), 171-184.
24. Hagen-Thorn, A., Armolaitis, K., Callesen, I. i Stjernquist, I. (2004). Macronutrients in tree stems and foliage: a comparative study of six temperate forest species planted at the same sites. *Annals of Forest Science*, 61 (6), 489-498.
 25. Hanba, Y. T., Miyazawa, S. I., i Terashima, I. (1999). The influence of leaf thickness on the CO₂ transfer conductance and leaf stable carbon isotope ratio for some evergreen tree species in Japanese warm-temperate forests. *Functional Ecology*, 13(5), 632-639.
 26. Hanstein, S., Wang, X., Qian, X., Friedhoff, P., Fatima, A., Shan, Y., Feng, K. i Schubert, S. (2011). Changes in cytosolic Mg²⁺ levels can regulate the activity of the plasma membrane H⁺-ATPase in maize. *Biochemical Journal*, 435(1), 93-101.
 27. Hölttä, T., Lintunen, A., Chan, T., Mäkelä, A., i Nikinmaa, E. (2017). A steady-state stomatal model of balanced leaf gas exchange, hydraulics and maximal source–sink flux. *Tree physiology*, 37(7), 851-868.
 28. Idžojtić, M. (2009). *Dendrologija – List*. Zagreb: Šumarski fakultet.
 29. Idžojtić, M. (2013). *Dendrologija : cvijet, češer, plod, sjeme*. Zagreb: Šumarski fakultet.
 30. Jacob, J., i Lawlor, D. W. (1993). Extreme phosphate deficiency decreases the in vivo CO₂/O₂ specificity factor of ribulose 1, 5-bisphosphate carboxylase-oxygenase in intact leaves of sunflower. *Journal of Experimental Botany*, 44(11), 1635-1641.
 31. Jezek, M., Geilfus, C. M., Bayer, A., i Mühling, K. H. (2015). Photosynthetic capacity, nutrient status, and growth of maize (*Zea mays* L.) upon MgSO₄ leaf-application. *Frontiers in Plant Science*, 5, 781.
 32. Jiang, C. D., Gao, H. Y., Zou, Q., i Shi, L. (2007). Effects of iron deficiency on photosynthesis and photosystem II function in soybean leaf. *Zhi wu Sheng li yu fen zi Sheng wu xue xue bao = Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 33(1), 53-60.
 33. Jin, S. H., Huang, J. Q., Li, X. Q., Zheng, B. S., Wu, J. S., Wang, Z. J., Lia, G. H. i Chen, M. (2011). Effects of potassium supply on limitations of photosynthesis by mesophyll diffusion conductance in *Carya cathayensis*. *Tree physiology*, 31(10), 1142-1151.
 34. Kanai, S., Moghaieb, R. E., El-Shemy, H. A., Panigrahi, R., Mohapatra, P. K., Ito, J., Nguyen, T. N., Saneoka, H. i Fujita, K. (2011). Potassium deficiency affects water

- status and photosynthetic rate of the vegetative sink in green house tomato prior to its effects on source activity. *Plant science*, 180(2), 368-374.
35. Laing, W., Greer, D., Sun, O., Beets, P., Lowe, A. i Payn, T. (2000). Physiological impacts of Mg deficiency in *Pinus radiata*: growth and photosynthesis. *The New Phytologist*, 146 (1), 47-57.
 36. Lalonde, S., Tegeder, M., Throne-Holst, M., Frommer, W. B., i Patrick, J. W. (2003). Phloem loading and unloading of sugars and amino acids. *Plant, Cell & Environment*, 26(1), 37-56.
 37. Lambers, H., Chapin III, F. S. i Pons, T. L. (2008). *Plant Physiological Ecology*. London: Springer.
 38. Lasa, B., Frechilla, S., Aleu, M., González-Moro, B., Lamsfus, C., i Aparicio-Tejo, P. M. (2000). Effects of low and high levels of magnesium on the response of sunflower plants grown with ammonium and nitrate. *Plant and soil*, 225(1-2), 167-174.
 39. Lavon, R., Goldschmidt, E. E., Salomon, R., i Frank, A. (1995). Effect of potassium, magnesium, and calcium deficiencies on carbohydrate pools and metabolism in citrus leaves. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 120(1), 54-58.
 40. Lepeduš, H., Brkić, I., Cesar, V., Jurković, V., Antunović, J., Jambrović, A., Brkić, D. i Šimić, D. (2012). Chlorophyll fluorescence analysis of photosynthetic performance in seven maize inbred lines under water-limited conditions. *Periodicum biologorum*, 114(1), 73-76.
 41. Li, C. P., Qi, Y. P., Zhang, J., Yang, L. T., Wang, D. H., Ye, X., ... i Chen, L. S. (2017). Magnesium-deficiency-induced alterations of gas exchange, major metabolites and key enzymes differ among roots, and lower and upper leaves of *Citrus sinensis* seedlings. *Tree physiology*, 37(11), 1564-1581.
 42. Loustau, D., Brahim, M. B., Gaudillère, J. P. i Dreyer, E. (1999). Photosynthetic responses to phosphorus nutrition in two-year-old maritime pine seedlings. *Tree Physiology*, 19 (11), 707-715.
 43. Lu, Z., Lu, J., Pan, Y., Lu, P., Li, X., Cong, R., i Ren, T. (2016). Anatomical variation of mesophyll conductance under potassium deficiency has a vital role in determining leaf photosynthesis. *Plant, Cell & Environment*, 39(11), 2428-2439.
 44. Matic, S. (2003). *Proslov*. U Matic, S. (Ur.), *Obična bukva u Hrvatskoj*, Zagreb: Hrvatske šume.
 45. Mengel, K., Kirkby, E. A., Kosegarten, H. i Appel, T. (2001). *Principles of plant nutrition* (397-434). Dordrecht: Springer Science+Buisness Media.

46. Mengutay, M., Ceylan, Y., Kutman, U. B., i Cakmak, I. (2013). Adequate magnesium nutrition mitigates adverse effects of heat stress on maize and wheat. *Plant and soil*, 368(1-2), 57-72.
47. Mohammad, F., i Naseem, U. (2006). Effect of K application on leaf carbonic anhydrase and nitrate reductase activities, photosynthetic characteristics, NPK and NO₃ contents, growth, and yield of mustard. *Photosynthetica*, 44(3), 471-473.
48. Nambara, E., i Marion-Poll, A. (2005). Abscisic acid biosynthesis and catabolism. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 56, 165-185.
49. Pallardy, S. G. (2008). *Physiology of woody plants*. Academic Press.
50. Pantin, F., Monnet, F., Jannaud, D., Costa, J. M., Renaud, J., Muller, B., Simonneau, T. i Genty, B. (2013). The dual effect of abscisic acid on stomata. *New Phytologist*, 197(1), 65-72.
51. Peng, H. Y., Qi, Y. P., Lee, J., Yang, L. T., Guo, P., Jiang, H. X., i Chen, L. S. (2015). Proteomic analysis of *Citrus sinensis* roots and leaves in response to long-term magnesium-deficiency. *BMC genomics*, 16(1), 253.
52. Pettigrew, W. T. (1999). Potassium deficiency increases specific leaf weights and leaf glucose levels in field-grown cotton. *Agronomy Journal*, 91(6), 962-968.
53. Peuke, A. D. i Rennenberg, H. (2004). Carbon, nitrogen, phosphorus, and sulphur concentration and partitioning in beech ecotypes (*Fagus sylvatica* L.): phosphorus most affected by drought. *Trees*, 18 (6), 639-648.
54. Pevalek-Kozlina, B. (2003). *Fiziologija bilja*. Zagreb: Profil International.
55. Pflug, E. E., Buchmann, N., Siegwolf, R. T., Schaub, M., Rigling, A., i Arend, M. (2018). Resilient leaf physiological response of European beech (*Fagus sylvatica* L.) to summer drought and drought release. *Frontiers in Plant Science*, 9, 187.
56. Potočić, N. i sur. (2017). *Oštećenost šumskih ekosustava Republike Hrvatske*. Jastrebarsko: Hrvatski šumarski institut.
57. Pushnik, J. C., Miller, G. W., i Manwaring, J. H. (1984). The role of iron in higher plant chlorophyll biosynthesis, maintenance and chloroplast biogenesis. *Journal of Plant Nutrition*, 7(1-5), 733-758.
58. Qin, X., i Zeevaart, J. A. (2002). Overexpression of a 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase gene in *Nicotiana plumbaginifolia* increases abscisic acid and phaseic acid levels and enhances drought tolerance. *Plant physiology*, 128(2), 544-551.;
59. Raghothama, K. G. (2005). Phosphorus and plant nutrition: an overview. *Phosphorus: Agriculture and the environment*, 46, 353-378.

60. Richter, A. M. i I. M. Rao (2005). *Role of Phosphorus in Photosynthetic Carbon Metabolism*. U: M. Pessaraki (ur.), *Handbook of Photosynthesis*. 3izd., Boca Raton: Taylor and Francis group.
61. Roth, V., T. Dubravac, I. Pilaš, M. Ocvirek (2005). Prilog poznavanju rasadničke proizvodnje obične bukve (*Fagus sylvatica* L.). *Rad. Šumar. inst.* 40 (2). 207-214.
62. Rout, G. R. i Sahoo, S. (2015). Role of iron in plant growth and metabolism. *Reviews in Agricultural Science*, 3, 1-24.
63. Seletković, Z. i Potočić, N. (2006). Stanje ishrane obične bukve (*Fagus sylvatica* L.) i obične jele (*Abies alba* Mill.) na području Medvednice. *Radovi*, (iz. br. 9), 117-125.
64. Seletković, Z. i Tikvić, I. (2003). *Opće klimatske prilike u arealu obične bukve u Hrvatskoj*. U Matić, S. (Ur.). *Obična bukva u Hrvatskoj*, Zagreb: Hrvatske šume.
65. Seletković, Z., Tikvić, I. i Prpić, B. (2003). *Ekološka konstitucija obične bukve*. U Matić, S. (Ur.), *Obična bukva u Hrvatskoj*, Zagreb: Hrvatske šume.
66. Sigel, H. i Sigel, A. (Ur.). (1990). *Metal ions in biological systems: Volume 26: Compendium on Magnesium and Its Role in Biology: Nutrition and Physiology*. New York: CRC Press.
67. Strauss, A. J., Krüger, G. H. J., Strasser, R. J., i Van Heerden, P. D. R. (2006). Ranking of dark chilling tolerance in soybean genotypes probed by the chlorophyll a fluorescence transient OJIP. *Environmental and experimental botany*, 56(2), 147-157.
68. Sun, J., Ye, M., Peng, S., i Li, Y. (2016). Nitrogen can improve the rapid response of photosynthesis to changing irradiance in rice (*Oryza sativa* L.) plants. *Scientific reports*, 6(1), 1-10.
69. Syvertsen, J. P., Lloyd, J., McConchie, C., Kriedemann, P. E., i Farquhar, G. D. (1995). On the relationship between leaf anatomy and CO₂ diffusion through the mesophyll of hypostomatous leaves. *Plant, Cell & Environment*, 18(2), 149-157.
70. Škvorc, Ž., Čosić, T. i Sever, K. (2014). *Ishrana bilja*. Interna skripta. Zagreb: Šumarski fakultet.
71. Taiz, L., Zeiger, E. (2010). *Plant Physiology*, Inc. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates.
72. Talkner, U., Meiwes, K. J., Potočić, N., Seletković, I., Cools, N., De Vos, B. i Rautio, P. (2015). Phosphorus nutrition of beech (*Fagus sylvatica* L.) is decreasing in Europe. *Annals of forest science*, 72 (7), 919-928.
73. Tang, N., Li, Y., i Chen, L. S. (2012). Magnesium deficiency–induced impairment of photosynthesis in leaves of fruiting *Citrus reticulata* trees accompanied by

- up-regulation of antioxidant metabolism to avoid photo-oxidative damage. *Journal of plant nutrition and soil science*, 175(5), 784-793.
74. Taylor, I. B., Burbidge, A., i Thompson, A. J. (2000). Control of abscisic acid synthesis. *Journal of experimental Botany*, 51(350), 1563-1574.
75. Thompson, A. J., Mulholland, B. J., Jackson, A. C., McKee, J. M., Hilton, H. W., Symonds, R. C., Sonneveld, T., Burbidge, A., Stevenson, P. i Taylor, I. B. (2007). Regulation and manipulation of ABA biosynthesis in roots. *Plant, cell & environment*, 30(1), 67-78.
76. Tombesi, S., Nardini, A., Frioni, T., Soccolini, M., Zadra, C., Farinelli, D., Poni, S. i Palliotti, A. (2015). Stomatal closure is induced by hydraulic signals and maintained by ABA in drought-stressed grapevine. *Scientific reports*, 5(1), 1-12.
77. Tränkner, M., Jákli, B., Tavakol, E., Geilfus, C. M., Cakmak, I., Dittert, K., i Senbayram, M. (2016). Magnesium deficiency decreases biomass water-use efficiency and increases leaf water-use efficiency and oxidative stress in barley plants. *Plant and Soil*, 406(1-2), 409-423.
78. Tränkner, M., Tavakol, E., i Jákli, B. (2018). Functioning of potassium and magnesium in photosynthesis, photosynthate translocation and photoprotection. *Physiologia plantarum*, 163(3), 414-431.
79. Trinajstić, I. (2003). *Taksonomija, morfologija i rasprostranjenost obične bukve*. U Matić, S. (Ur.), *Obična bukva u Hrvatskoj*, Zagreb: Hrvatske šume.
80. von Caemmerer, S i Evans J. R. (1991). Determination of the average partial pressure of CO₂ in chloroplasts from leaves of several C₃ plants. *Aust Journal of Plant Physiology*, 18: 287-305.
81. Vukadinović, V. i Vukadinović, V. (2011). *Ishrana bilja*. Osijek: Poljoprivredni fakultet u Osijeku.
82. Vukelić, J. i Baričević, D. (2003). *Šumske zajednice obične bukve u Hrvatskoj*. U Matić, S. (Ur.), *Obična bukva u Hrvatskoj*, Zagreb: Hrvatske šume.
83. Wang, M., Ding, L., Gao, L., Li, Y., Shen, Q., i Guo, S. (2016). The interactions of aquaporins and mineral nutrients in higher plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(8), 1229.
84. Warren, C. R. (2004). The photosynthetic limitation posed by internal conductance to CO₂ movement is increased by nutrient supply. *Journal of Experimental Botany*, 55(406), 2313-2321.

85. Wu, C., Wang, Z., Sun, H., i Guo, S. (2006). Effects of different concentrations of nitrogen and phosphorus on chlorophyll biosynthesis, chlorophyll a fluorescence, and photosynthesis in *Larix olgensis* seedlings. *Frontiers of Forestry in China*, 1(2), 170-175.
86. Xiong, L., i Zhu, J. K. (2003). Regulation of abscisic acid biosynthesis. *Plant physiology*, 133(1), 29-36.
87. Yang, G. H., Yang, L. T., Jiang, H. X., Li, Y., Wang, P., i Chen, L. S. (2012). Physiological impacts of magnesium-deficiency in Citrus seedlings: photosynthesis, antioxidant system and carbohydrates. *Trees*, 26(4), 1237-1250.
88. Yuguan, Z., Min, Z., Luyang, L., Zhe, J., Chao, L., Sitao, Y., ... i Fashui, H. (2009). Effects of cerium on key enzymes of carbon assimilation of spinach under magnesium deficiency. *Biological trace element research*, 131(2), 154-164.
89. Zavišić, A. i Polle, A. (2018). Dynamics of phosphorus nutrition, allocation and growth of young beech (*Fagus sylvatica* L.) trees in P-rich and P-poor forest soil. *Tree physiology*, 38 (1), 37-51.