

Fotosintetski odgovor bukovih klijanaca na suboptimalnu ishranjenost s mineralnim hranivima

Sever, Krunoslav; Sviličić, Dimitrije Damir; Karažija, Tomislav;
Lazarević, Boris; Škvorc, Željko

Source / Izvornik: **Šumarski list, 2021, 145, 225 - 238**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

<https://doi.org/10.31298/sl.145.5-6.2>

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:696107>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-21**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)



FOTOSINTETSKI ODGOVOR BUKOVIH KLIJANACA NA SUBOPTIMALNU ISHRANJENOST S MINERALNIM HRANIVIMA

PHOTOSYNTHETIC RESPONSE OF COMMON BEECH SEEDLINGS TO SUBOPTIMAL MINERAL NUTRITION

Krunoslav SEVER¹, Dimitrije Damir SVILIČIĆ², Tomislav KARAŽIJA³, Boris LAZAREVIĆ³ i Željko ŠKVORC¹

SAŽETAK

U ovom radu prikazani su rezultati izmjere parametara koji opisuju fotosintetsku aktivnost bukovih klijanaca pod utjecajem suboptimalne ishranjenosti s mineralnim hranivima. Cilj rada bio je približiti ovu problematiku šumarskoj praksi kroz raspravu dobivenih rezultata u kontekstu dosadašnjih spoznaja o utjecaju mineralne ishrane na fotosintetski proces šumskoga drveća. U rano proljeće 2019. godine bukovi klijanci porijeklom iz jedne prirodne mješovite sastojine hrasta kitnjaka i obične bukve presađeni su u sterilni supstrat (agroperlit). Nakon presađnje redovito su zalijevani (tretirani) kompletnom hranivom otopinom (KO tretman), odnosno hranivim otopinama u kojima su izostavljeni dušik (–N tretman), fosfor (–P tretman), magnezij (–Mg tretman) ili željezo (–Fe tretman). Na šest klijanaca unutar svakog od pet prethodno opisanih tretmana tijekom vegetacijskog razdoblja 2019. godine redovito su mjereni sljedeći parametri: stopa fotosinteze (A), provodljivost puči (g_s), intercelularna koncentracija CO_2 (c_i), indeks relativnog sadržaja klorofila u lišću (CCI) te indeks fotosintetske učinkovitosti (PI_{ABS}). Svi parametri bili su lošiji kod klijanaca iz –N, –P i –Mg tretmana u odnosu na klijance iz KO tretmana. Takav rezultat vjerojatno proizlazi iz fizioloških funkcija N, P i Mg koji sudjeluju u građi proteina i enzima, prometu i skladištenju energije te građi klorofila, što je sve skupa neophodno za uredno funkcioniranje cjelokupnog fotosintetskog procesa. Unatoč važnoj ulozi Fe u gotovo svim životnim procesima biljaka pa tako i fotosintezi svi mjereni parametri kod klijanaca iz –Fe i KO tretmana bili su podjednaki. Međutim, za razliku od N, P i Mg koji pripadaju skupini makrohraniva, Fe pripada skupini mikrohraniva, čije su koncentracije u biljnom tkivu relativno niske. Prema tome, moguće je pretpostaviti da su istraživani klijanci iz tla prirodne sastojine i/ili iz rezervi u sjemenu tijekom početne faze svoga razvoja uspjeli usvojiti i/ili mobilizirati dovoljnu količinu Fe koja im je bila dostatna za normalno funkcioniranje tijekom cijelog vegetacijskog razdoblja, bez obzira na kasniju primjenu tretmana. S obzirom na ovakav rezultat, inicijalno praćenje parametara fotosintetske aktivnosti bit će nastavljeno tijekom sljedećih nekoliko vegetacijskih razdoblja. U tom periodu planira se započeti s praćenjem dinamike vegetativnoga rasta, fenologije listanja i razvoja vizualnih simptoma pri suboptimalnoj ishranjenosti obične bukve s mineralnim hranivima s ciljem dodatnog približavanja ove problematike šumarskoj praksi.

KLJUČNE RIJEČI: *Fagus sylvatica*, obična bukva, klijanci, fotosinteza, mineralna hraniva

UVOD INTRODUCTION

Obična bukva (*Fagus sylvatica* L.) najrasprostranjenija je vrsta šumskoga drveća na području čitave Europe (Elle-

nberg i Leuschner 2014). U skladu s tim, obična bukva na području Republike Hrvatske zauzima polovicu ukupne šumske površine (Trinajstić 2003) na kojoj tvori cijeli niz čistih i/ili mješovitih šumskih sastojina (Vukelić i Baričević

¹ Doc. dr.sc. Krunoslav Sever, Prof. dr. sc. Željko Škvorc, Fakultet šumarstva i drvne tehnologije, Sveučilišta u Zagrebu, Zavod za šumarsku genetiku, dendrologiju i botaniku. Svetošimunska 25, HR 10000 Zagreb

² Dimitrije Damir Sviličić univ. bacc. ing. silv. Ribarska 4, 21480 Vis

³ Doc. dr. sc. Tomislav Karažija, Doc. dr. sc. Boris Lazarević, Agronomski fakultet, Sveučilište u Zagrebu. Zavod za ishranu bilja. Svetošimunska 25, HR-10000 Zagreb
Korespondencija: Krunoslav Sever, e-mail: ksever@sumfak.hr

2003) s visokom ekonomskom, ekološkom i socijalnom vrijednošću (Prpić 2003). U posljednje vrijeme kvalitetno gospodarstvo šumskim sastojinama za šumarsku struku postaje sve veći izazov, prvenstveno zbog negativnog utjecaja sveprisutnih klimatskih promjena na opstanak mladog naraštaja šumskog drveća (Saccone i dr. 2009), što uvelike remeti prirodnu obnovu šumskih sastojina (Anić i Mikac 2008, Simon i dr. 2017). Usljed toga, a s ciljem potpomaganja prirodne obnove šumskih sastojina tijekom posljednjih 30-ak godina u Republici Hrvatskoj rasadnička proizvodnja sadnog materijala svih vrsta šumskoga drveća, uključujući i običnu bukvu konstantno raste (Matić i dr. 2003, Roth i dr. 2005, Grahovac-Tremeski 2018). Uspjeh potpomognute obnove šumskih sastojina često puta ovisi o kvaliteti sadnog materijala uzgojenog u šumskim rasadnicima (Haase i dr. 2006). Kvalitetan sadni materijal podrazumijeva sadnice dobro razvijenoga korijenja i odgovarajuće visine (Haase 2007, Drvodelić i Oršanić 2019), što se u šumskim rasadnicima postiže poduzimanjem čitavog niza stručnih postupaka tijekom uzgoja sadnog materijala, uključujući njegovu prihranu s mineralnim gnojivima (Haase i dr. 2006, Seletković 2006, Schmal i dr. 2011, Uscola i dr. 2015). Prema rezultatima dosadašnjih istraživanja, kao i prema praktičnim iskustvima, jasno je da adekvatna prihrana sadnog materijala s odgovarajućim dozama i formulacijama mineralnih gnojiva uvelike potiče njegov vegetativni rast, kako nadzemnog tako i podzemnog dijela (Potočić i dr. 2009, Seletković i dr. 2011, Škvorc i dr. 2012, Sever i dr. 2016).

Međutim, na umu uvijek treba imati da mineralna hraniva na vegetativni rast i produkciju biomase utječu posredstvom fotosinteze, alokacije i stehiometrijskog efekta (Sardans i dr. 2015, Gessler i dr. 2017). To znači da mineralna hraniva koja usvoji iz tla, biljka najprije koristi za sintezu cijelog niza kemijskih spojeva (aminokiselina, nukleinskih kiselina, fosfolipida, vitamina, hormona, biljnih pigmenta i dr.) nužnih za normalno strukturiranje svog organizma, što je osnovni preduvjet neometanog odvijanja svih fizioloških procesa u biljci, uključujući i fotosintezu (Taiz i Zeiger 2010). U skladu s tim, brzina produkcije i/ili količina produciranih ugljikohidrata od strane biljaka, uključujući i šumsko drveće (u njezinu fotosintetskom procesu) pozitivno korelira s njihovim vegetativnim rastom i produkcijom ukupne biomase (Woodruff i Meinzer 2011), te njihovom sveukupnom otpornošću na biotski i/ili abiotski stres (Haase i dr. 2006, Schmal i dr. 2011, Villar-Salvador i dr. 2013, Uscola i dr. 2015).

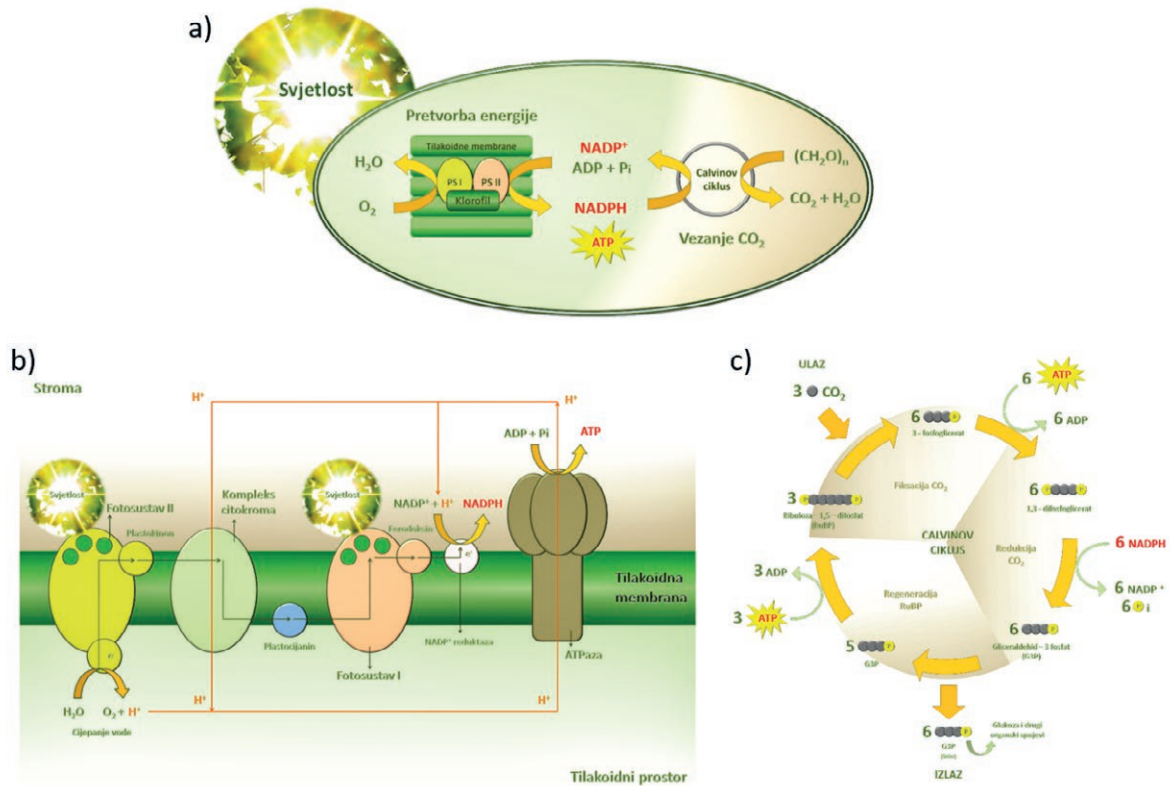
Najaktivnije fotosintetsko tkivo u biljci je mezofil lista. Stanice mezofila imaju veliki broj kloroplasta koji se odlikuju specifičnom strukturom koju definiraju tri različite membrane; vanjska, unutarnja i tilakoidna, te tri zasebna prostora; međumembranski, stromin i tilakoidni. Prema tomu, kloroplasti su obavijeni ovojnicom koju čine dvije mem-

brane, vanjska i unutrašnja, između kojih se nalazi međumembranski prostor. Tilakoidne membrane smještene su unutar kloroplasta i tvore cilindrične strukture (u obliku spljoštenih vrećica) koje se nazivaju tilakoidi, unutar kojih se nalazi tilakoidni prostor. Ostali prostor unutar kloroplasta, između ovojnice i tilakoida je stromin prostor koji je ispunjen tekućinom (stromom) koja sadrži ribosome, kružnu DNA i topive enzime (Pevalek-Kozlina 2003).

S obzirom da je poznavanje strukture kloroplasta osnovni preduvjet za razumijevanje fotosinteze u daljnjem dijelu teksta ukratko će biti opisana veza između strukturne građe kloroplasta i fotosintetskog procesa, kojega čine primarne (svjetlosne) i sekundarne (tamne) reakcije. U svjetlosnim reakcijama fotosinteze dolazi do apsorpcije Sunčeve energije od strane klorofila i ostalih fotosintetskih pigmenta uklopljenih u tilakoidne membrane te njezine pretvorbe u kemijsku energiju u obliku dva spoja, adenzin-trifosfata (ATP) i reduciranog nikotinamid-adenin-dinukleotid-fosfata (NADPH). Pomoću tih spojeva (ATP i NADPH) koji su proizvedeni u svjetlosnim reakcijama u tamnim reakcijama fotosinteze koje se odvijaju u stromi kloroplasta (poznatima i pod nazivom Calvinov ciklus) dolazi do vezanja atmosferskog ugljik-dioksida (CO_2) na supstrat, ribuloza-1,5-difosfat, u reakciji karboksilacije koju katalizira enzim ribuloza-1,5-difosfat-karboksilaza-oksigenaza (RUBISCO) što u konačnici rezultira sintezom ugljikohidrata (Slika 1).

Prema rezultatima dosadašnjih istraživanja niske koncentracije mineralnih hraniva u lišću šumskoga drveća mogu drastično smanjiti stopu fotosinteze i produkciju ugljikohidrata, što se negativno odražava na njegov vegetativni rast (Villar-Salvador i dr. 2013, Uscola i dr. 2015). Takav rezultat može biti posljedica: promjena u strukturnoj građi kloroplasta (Chen i dr. 2012, Aldesuquy 2014), poremećenju biosintezi klorofila (Chu i dr. 2006, Mengutay i dr. 2013, Faust i Schubert 2016), poremećenju mehanizmu zaštite i popravka oštećenog fotosintetskog aparata (Bascuñán-Godoy i dr. 2018, Tränkner i dr. 2018, Sitko i dr. 2019), otežanoj difuziji CO_2 iz atmosfere u stromu kloroplasta (Flexas i dr. 2008, Eller i dr. 2016, Sun i dr. 2016, Tränkner i dr. 2018) i smanjenom aktivnošću enzima RUBISCO (Evans 1989, Evans i Poorter 2001, Richter i Rao 2005, Tränkner i dr. 2018).

S obzirom na gore navedeno, cilj ovoga rada bio je ispitati fotosintetski odgovor bukovih klijanaca na suboptimalnu ishranjenost s dušikom (N), fosforom (P), magnezijem (Mg) ili željezom (Fe). Uz to, dobiveni rezultati raspravljani su u kontekstu dosadašnjih spoznaja o utjecaju mineralne ishrane šumskoga drveća na njegovu fotosintetsku aktivnost s ciljem dodatnog približavanja ove problematike šumarskoj praksi.



Slika 1. Shematski prikaz odvijanja primarnih (svjetlosnih) i sekundarnih (tamnih) reakcija fotosinteze unutar kloroplasta (prikaz a). U svjetlosnim reakcijama koje se odvijaju u tilakoidnim membranama dolazi do pretvorbe energije, uslijed čega se Sunčeva energija (svjetlost) pohranjuje u molekulama ATPa i NADPH (prikaz b). U tamnim reakcijama (Calvinovom ciklusu) koje se odvijaju u stromi kloroplasta ATP se koristi kao izvor energije, a NADPH kao izvor visokoenergiziranih elektrona potrebnih za vezanje i ugradnju CO₂ u organske spojeve (ugljikohidrate) pomoću enzima RUBISCO (prikaz c).

Figure 1. The primary (light) and secondary (dark) reactions of photosynthesis in chloroplast (figure a). In light reactions that take place in thylakoid membranes, solar energy (light) is converted to chemical energy and stored in ATP and NADPH molecules (Figure b). In dark reactions (Calvin cycle) that take place in stroma, ATP are used as a source of energy, and NADPH are used as a source of high-energy electrons required for the fixation and reduction of CO₂ by the enzyme RUBISCO into organic compounds (Figure c).

MATERIJALI I METODE MATERIAL AND METHODS

Biljni materijal i dizajn pokusa – *Plant material and experimental design*

Klijanci obične bukve na kojima je provedeno istraživanje porijeklom su iz srednjodobne prirodne mješovite 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“ s kojim gospodari Fakultet šumarstva i drvne tehnologije, 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 transportirani u laboratorij gdje im je korijenje pažljivo isprano destiliranom vodom. Nakon toga, presađeni su u plastične kontejnere (dimenzija 10 x 10 x 20 cm) koji su bili

prethodno ispunjeni agroperlitom neutralne pH reakcije kao sterilnim supstratom za uzgoj biljaka koji u sebi ne sadrži nikakva biljna hraniva.

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

Zalijevanje klijanaca obavljeno je manualno u skladu s gore opisanom 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.

Priprema hranivih otopina – *Preparation of nutrient solutions*

Polumodificirana Hoaglandova otopina pripremljena je pomoću KNO_3 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, KH_2PO_4 , MgSO_4 , Fe-helata i mikroelemenata (Hoagland i Arnon 1950). Tako pripremljena hraniva otopina s kojom su zalijevani klijanci u KO tretmanu sadržavala je sljedeće koncentracije makro i mikro elemenata biljne ishrane: K (3 mM L^{-1}), Ca ($2,5 \text{ mM L}^{-1}$), nitratni oblik N ($7,5 \text{ mM L}^{-1}$), P ($0,5 \text{ mM L}^{-1}$), Mg ($0,1 \text{ mM L}^{-1}$), Fe ($0,1 \text{ mM L}^{-1}$), B ($0,04 \text{ mM L}^{-1}$), Mn ($9 \text{ } \mu\text{M L}^{-1}$), Zn ($0,8 \text{ } \mu\text{M L}^{-1}$), Cu ($0,3 \text{ } \mu\text{M L}^{-1}$) i Mo ($0,1 \text{ } \mu\text{M L}^{-1}$). U hranivu otopinu s kojom su zalijevani klijanci u –N tretmanu umjesto KNO_3 i $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ dodani su K_2SO_4 i CaCl_2 . U hranivu otopinu s kojom su zalijevani klijanci u –P tretmanu umjesto KH_2PO_4 dodan je K_2SO_4 . Hranivim otopinama s kojima su zalijevani klijanci u –Mg i –Fe tretmanima izuzeti su MgSO_4 , odnosno Fe-helat.

Izmjera fizioloških značajki – *Measurement of physiological traits*

Izmjera fizioloških značajki klijanaca obavljena je 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 kemijskih značajki (16. listopada 2019.).

Intenzitet izmjene plinova između biljke i okolne atmosfere mjereno je pomoću prijenosnog LCpro+ uređaja (ADC BioScientific, Hoddeson, UK) s ciljem utvrđivanja stope fotosinteze, tj. asimilacije CO_2 (A), provodljivosti puči za H_2O (g_s) te intercelularne koncentracije CO_2 (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 $1000 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, koncentraciji CO_2 od $400 \pm 10 \text{ } \mu\text{mol mol}^{-1}$ i temperaturi zraka od $25 \pm 2 \text{ } ^\circ\text{C}$.

Indeks fotosintetske učinkovitosti (PI_{ABS}) mjereno 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) mjereno je pomoću prijenosnog optičkog klorofilmetra CCM-200 (Opti-Sciences, Tyngsboro, MA). Izmjera je obavljena na dva lista po svakom od 30 klijanaca uključenih u istraživanja, na pet slučajno odabranih mjesta po svakom listu izbjegavajući glavnu lisnu žilu.

Kemijske analize biljnoga materijala – *Chemical analysis of plant material*

Nakon uzorkovanja lišća (koje je u trenutku uzorkovanja bilo relativno zdravo bez vidljivih znakova starenja) i utvrđivanja njegove mase u svježem i suhom stanju, ono je podrvgnuto kemijskoj analizi s ciljem utvrđivanja njegova mineralnog sastava, odnosno ishranjenosti istraživanih klijanaca s 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 tomu, kemijska analiza lišća obavljena je na ukupno pet uzoraka, od kojih je svaki pripadao po jednom tretmanu.

Uzorkovano lišće sušeno je na $105 \text{ } ^\circ\text{C}$ do konstantne mase. Nakon toga, lišće svakog pojedinog uzorka je samljeveno i homogenizirano. Iz određene količine tako pripremljenih uzoraka utvrđena je koncentracija N metodom po Kjendahlju. Koncentracija P utvrđena je spektrofotometrijski uz prethodnu digestiju koncentriranom HNO_3 i HClO_4 . Koncentracija K utvrđena je na plamenfotometru uz prethodnu digestiju koncentriranom HNO_3 i HClO_4 . Koncentracije Ca, Mg, Fe, Zn, Mn i Cu utvrđene su atomskom apsorpcijskom spektrofotometrijom uz prethodnu digestiju koncentriranom HNO_3 i HClO_4 . Navedene analize provedene su prema razvijenim i standardiziranim protokolima od strane AOAC (2015).

Statistička analiza – *Statistical analysis*

Utjecaj tretmana na fiziološke i morfološke 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).

REZULTATI RESULTS

Utjecaj tretmana na mineralnu ishranu bukovich klijanaca – *Influence of treatments on mineral nutrition of beech seedlings*

Prema Bergmann (1993) na optimalnu ishranjenost obične bukve s mineralnim hranivima ukazuju granične vrijednosti koncentracije N (1,90 – 2,50 %), P (0,15 – 0,30 %), Mg (0,15 – 0,30 %), 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. Granične vrijednosti optimalne ishranjenosti obične bukve s Fe iznose 50 – 178 ppm (Van den Burg 1990). Na temelju usporedbe izmjerene koncentracije mineralnih hraniva u suhoj tvari lišća (Tablica 1) sa gore navedenim graničnim vrijednostima, evidentno je da je u KO tretmanu koncentracija svih hraniva bila u granicama optimalne ishranjenosti. S druge strane, najniža koncentracija

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 bukovih kljanaca tretiranih s kompletnom hranivom otopinom (KO) i hranivim otopinama u kojima su izostavljeni dušik (–N), fosfor (–P), magnezij (–Mg) i željezo (–Fe).

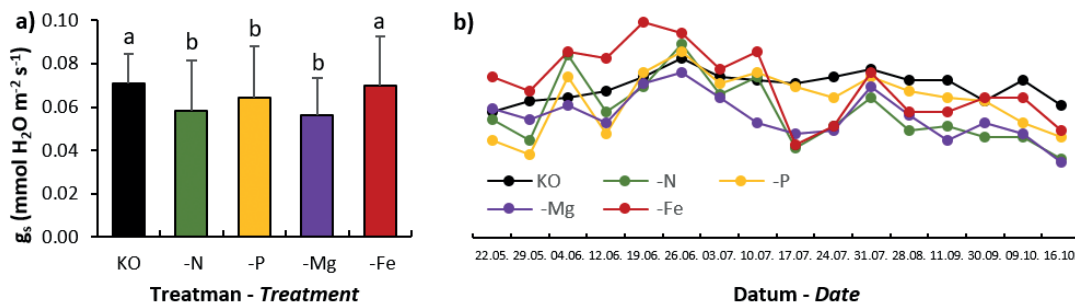
Table 1. Concentration of nitrogen (N), phosphorus (P), magnesium (Mg), iron (Fe), potassium (K), calcium (Ca), zinc (Zn), manganese (Mn) and copper (Cu) in dry matter of the leaves in treated beech seedlings with complete nutrient solution (KO) and nutrient solutions in which nitrogen (–N), phosphorus (–P), magnesium (–Mg) and iron (–Fe) were omitted.

Tretman Treatment	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

N zabilježena je u –N tretmanu, P u –P tretmanu, Mg u –Mg tretmanu i Fe u –Fe tretmanu (Tablica 1). Utjecaj tretmana očekivano se odrazio na mineralnu ishranu istraživanih kljanaca. Ishranjenost kljanaca s ostalim hranivima (Ca, Zn, Mn i Cu) u svim je tretmanima bila optimalna. Izuzev K s kojim su bili optimalno ishranjeni jedino klijanci u KO tretmanu (Tablica 1).

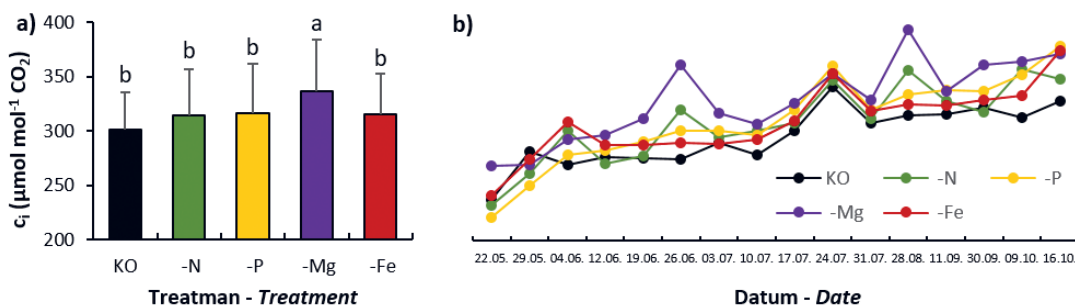
Utjecaj tretmana na provodljivost puči – Influence of treatments on stomatal conductance

Prosječna vrijednost g_s kod kljanaca iz KO tretmana bila je značajno viša u odnosu na klijance iz –N, –P i –Mg tretmana, što u odnosu na klijance iz –Fe tretmana nije utvrđeno (Slika 2a). Kretanje izmjerenih vrijednosti g_s kroz sezonu otkriva da su u prvom dijelu vegetacijskoga razdo-



Slika 2. Prosječne vrijednosti (prikaz a) i sezonski trend (prikaz b) provodljivosti puči (g_s) bukovih kljanaca tretiranih s kompletnom hranivom otopinom (KO) i hranivim otopinama u kojima su izostavljeni dušik (–N), fosfor (–P), magnezij (–Mg) i željezo (–Fe). Različita mala slova ukazuju na značajne razlike ($p < 0.05$) između tretmana.

Figure 2. Mean values (figure a) and seasonal trend (figure b) of stomatal conductance (g_s) in beech seedlings treated with complete nutrient solution (KO) and nutrient solutions in which nitrogen (–N), phosphorus (–P), magnesium (–Mg) and iron (–Fe) were omitted. Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$) between treatments.



Slika 3. Prosječne vrijednosti (prikaz a) i sezonski trend (prikaz b) intercelularne koncentracije CO_2 (c_i) bukovih kljanaca tretiranih s kompletnom hranivom otopinom (KO) i hranivim otopinama u kojima su izostavljeni dušik (–N), fosfor (–P), magnezij (–Mg) i željezo (–Fe). Različita mala slova ukazuju na značajne razlike ($p < 0.05$) između tretmana.

Figure 3. Mean values (figure a) and seasonal trend (figure b) of intercellular concentration of CO_2 (c_i) in beech seedlings treated with complete nutrient solution (KO) and nutrient solutions in which nitrogen (–N), phosphorus (–P), magnesium (–Mg) and iron (–Fe) were omitted. Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$) between treatments.

blja (do sredine srpnja) klijanci iz –Fe tretmana, a u drugom dijelu vegetacijskoga razdoblja (nakon sredine srpnja) klijanci iz KO tretmana svoju g_s uspjeli održati nešto višom u odnosu na klijance iz ostalih tretmana (Slika 2b).

Utjecaj tretmana na intercelularnu koncentraciju CO_2 – Influence of treatments on intercellular concentration of CO_2

Međusobna usporedba tretmana s obzirom na prosječne vrijednosti c_i (Slika 3a) i kretanje izmjerenih vrijednosti c_i tijekom cijelog vegetacijskog razdoblja (Slika 3b) ukazuju da su najnižu c_i imali klijanci iz KO tretmana, a najvišu klijanci iz –Mg tretmana. Uz to, klijanci iz –Mg tretmana imali su značajno višu c_i u odnosu na klijance iz ostalih tretmana čija se c_i nije značajno razlikovala (Slika 3a).

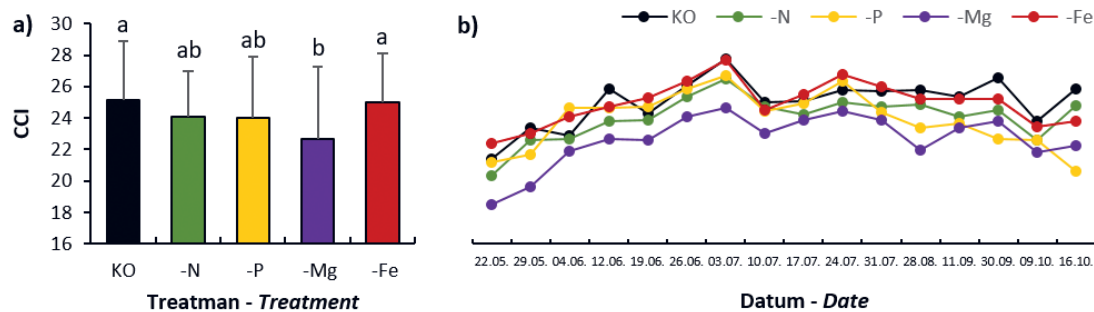
Utjecaj tretmana na indeks relativnog sadržaja klorofila – Influence of treatments on chlorophyll content index

Najvišu prosječnu vrijednost CCI-a imali su klijanci iz KO tretmana, a najnižu klijanci iz –Mg tretmana čiji je CCI

bio značajno niži samo u odnosu na KO i –Fe tretman (Slika 4a). Uz to, sezonski trend kretanja CCI-a otkriva da je CCI u –Mg tretmanu bio uglavnom niži nego u ostalim tretmanima tijekom cijelog vegetacijskog razdoblja (Slika 4b).

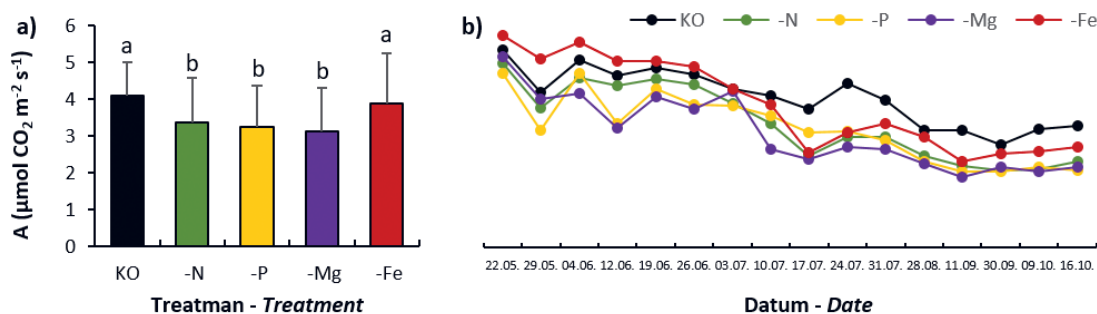
Utjecaj tretmana na indeks fotosintetske učinkovitosti i stopu fotosinteze – Influence of treatments on photosynthetic performance index and photosynthetic rate

Prosječne vrijednosti PI_{ABS} i A kod klijanaca iz KO tretmana bile su značajno više u odnosu na klijance iz –N, –P i –Mg tretmana, što u odnosu na klijance iz –Fe tretmana nije utvrđeno (Slika 5a i 6a). Kretanje izmjerenih vrijednosti PI_{ABS} i A tijekom cijelog vegetacijskog razdoblja otkriva da su u prvom dijelu vegetacijskog razdoblja (do sredine srpnja) klijanci iz –Fe tretmana, a u drugom dijelu vegetacijskoga razdoblja (nakon sredine srpnja) klijanci iz KO tretmana svoju PI_{ABS} i A uspjeli održavati nešto višima u odnosu na klijance iz ostalih tretmana (Slika 5b i 6b).



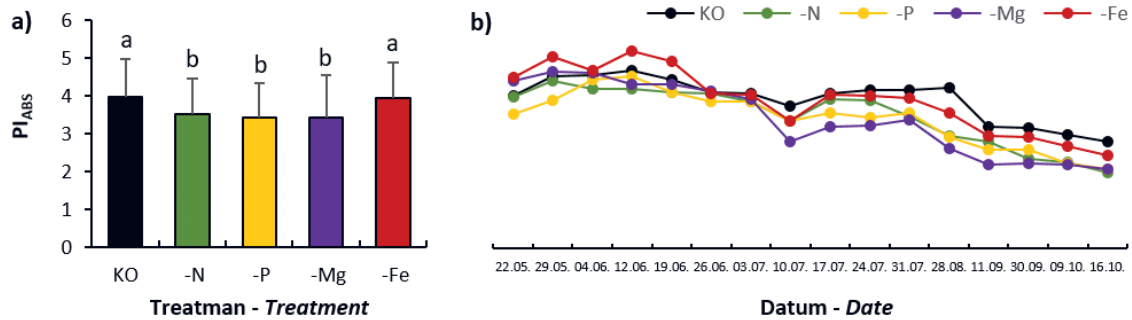
Slika 4. Prosječne vrijednosti (prikaz a) i sezonski trend (prikaz b) indeksa relativnog sadržaja klorofila (CCI) u lišću bukovih klijanaca tretiranih s kompletnom hranivom otopinom (KO) i hranivim otopinama u kojima su izostavljeni dušik (–N), fosfor (–P), magnezij (–Mg) i željezo (–Fe). Različita mala slova ukazuju na značajne razlike ($p < 0.05$) između tretmana.

Figure 4. Mean values (figure a) and seasonal trend (figure b) of chlorophyll content index (CCI) of beech seedlings treated with complete nutrient solution (KO) and nutrient solutions in which nitrogen (–N), phosphorus (–P), magnesium (–Mg) and iron (–Fe) were omitted. Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$) between treatments.



Slika 5. 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). Različita mala slova ukazuju na značajne razlike ($p < 0.05$) između tretmana.

Figure 5. Mean values (figure a) and seasonal trend (figure b) of the photosynthetic performance index (PI_{ABS}) of beech seedlings treated with complete nutrient solution (KO) and nutrient solutions in which nitrogen (–N), phosphorus (–P), magnesium (–Mg) and iron (–Fe) were omitted. Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$) between treatments.



Slika 6. Prosječne vrijednosti (prikaz a) i sezonski trend (prikaz b) stope fotosinteze (A) bukovich klijanaca tretiranih s potpunom hranivom otopinom (KO) i hranivim otopinama u kojima su izostavljeni dušik (-N), fosfor (-P), magnezij (-Mg) i željezo (-Fe). Različita mala slova ukazuju na značajne razlike ($p < 0.05$) između tretmana.

Figure 6. Mean values (figure a) and seasonal trend (figure b) of photosynthetic rate (A) of beech seedlings treated with complete nutrient solution (KO) and nutrient solutions in which nitrogen (-N), phosphorus (-P), magnesium (-Mg) and iron (-Fe) were omitted. Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$) between treatments.

RASPRAVA DISCUSSION

Utjecaj tretmana na mineralnu ishranu bukovich klijanaca – Influence of treatments on mineral nutrition of beech seedlings

Prema rezultatima kemijske analize biljnoga materijala utvrđena je redukcija (smanjenje) koncentracije N, P, Mg i Fe u suhoj tvari lišća sukladno primjenjenim tretmanima (Tablica 1). U skladu s tim, nešto lošija ishranjenost klijanaca s N, P i Mg negativno se odrazila na sve parametre koji u ovom radu opisuju funkcionalnost fotosintetskog aparata. To potvrđuju prosječne vrijednosti CCI, PI_{ABS}, A, g_s i c_i koje su u većini slučajeva bile značajno različite kod klijanaca iz -N, -P i -Mg tretmana s jedne strane u odnosu na klijanice iz KO tretmana s druge strane (Slike 2a, 3a, 4a, 5a i 6a). Za razliku od N, P i Mg nešto lošija ishranjenost klijanaca sa Fe nije imala značajnijeg utjecaja na funkcionalnost njihova fotosintetskog aparata. To potvrđuju prosječne vrijednosti CCI, PI_{ABS}, A, g_s i c_i koje se nisu značajno razlikovale kod klijanaca iz -Fe i KO tretmana (Slike 2a, 3a, 4a, 5a i 6a). Takav rezultat u skladu je s činjenicom da najniža koncentracija Fe u suhoj tvari lišća od 65,90 ppm što je utvrđeno u -Fe tretmanu (Tablica 1) nije bila ispod granične vrijednosti optimalne ishranjenosti za običnu bukvu koja prema Van den Burg (1990) iznosi 50 – 178 ppm. Izostanak očekivanog utjecaja -Fe tretmana na ishranjenost istraživanih klijanaca s Fe moguće je objasniti činjenicom da Fe za razliku od N, P i Mg pripada skupini mikro hraniva, čije su koncentracije u biljnom tkivu relativno niske. Moguće je pretpostaviti da su istraživani klijanici iz tla prirodne sastojine i/ili iz rezervi uskladištenih u sjemenu tijekom početne faze svoga razvoja uspjeli usvojiti i/ili mobilizirati dovoljnu količinu Fe koja im je bila dostatna za normalno funkcioniranje tijekom cijelog vegetacijskog razdoblja, bez obzira na kasniju primjenu naših tretmana.

Utjecaj tretmana na fotosintetsku aktivnost bukovich klijanaca – Influence of treatments on photosynthetic activity of beech seedlings

Stopa fotosinteze (A) predstavlja količinu CO₂ koja kroz puči na određenoj površini lista u određenoj jedinici vremena uđe u intercelularne prostore lista (Pandey i dr 2017). Pojednostavljeno rečeno, visoke vrijednosti A ukazuju na vrlo brzu i efikasnu fiksaciju CO₂ pomoću enzima RUBICO i potencijalnu produkciju velike količine ugljikohidrata. S jedne strane, brzina fiksacije CO₂ pomoću enzima RUBISCO ovisi o količini CO₂ koji se nalazi u stromi kloroplasta i brzini pritjecanja novih količina CO₂ u stromu, dok s druge strane ovisi o količini dostupne energije u obliku molekula ATP i NADPH proizvedenih u svjetlosnim reakcijama fotosinteze (Taiz i Zeiger 2010).

Svojevrsan uvid u brzinu pritjecanja CO₂ iz atmosfere do strome kloroplasta moguće je dobiti na temelju analize g_s i c_i, dok funkcionalnost svjetlosnih reakcija fotosinteze čiji su krajnji produkti molekule ATP i NADPH vrlo dobro opisuju CCI i PI_{ABS}. S obzirom na to, u daljem dijelu rasprave naši rezultati bit će prikazani u kontekstu dosadašnjih spoznaja o utjecaju mineralne ishrane na izmjerene parametre (g_s, c_i, CCI, PI_{ABS} i A) koji opisuju fotosintetsku aktivnost.

Provodljivost puči – Stomatal conductance

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). Kalijevi ioni (K⁺) predstavljaju glavnu anorgansku osmotski aktivnu tvar u biljnom tijelu koja pokreće turgorske promjene u stanicama zapornicama i na taj način regulira otvorenost puči. Uspješno gibanje stanica zapornica, odnosno učinkovitost otvaranja i zatvaranja puči ovisi o brzini izmjene velikih količina K⁺ iona između apoplasta, citosola i vakuole unutar

stanica zapornica (Roelfsema i Hedrich 2002, Andres i dr. 2014). Ulazak K^+ iona u vakuole stanica zapornica slijedi voda, uslijed čega dolazi do povećanja njihova turgora i otvaranja puči. Izlazak K^+ iona iz stanica zapornica također slijedi voda uslijed čega dolazi do smanjenja turgora i zatvaranja puči. Iz tog se razloga niska g_s kod biljaka loše ishranjenih s K najčešće dovodi u izravnu vezu sa otežanim otvaranjem puči (Zhao i Assman 2011, Misra i dr. 2015, Jakli i dr. 2017, Tränkner i dr. 2018). Prema tomu, niže koncentracije K u lišću mogu objasniti signifikantno nižu g_s kod klijanaca iz –N, –P i –Mg tretmana (koji su bili suboptimalno ishranjeni s K) u odnosu na klijance iz KO tretman (koji su bili optimalno ishranjeni s K).

Međutim, u –Fe tretmanu u kojem su klijanci također bili suboptimalno ishranjeni s K nije došlo do signifikantnog smanjenja g_s u odnosu na KO tretman (Tablica 1, Slika 2a). To ukazuje da K nije bio jedini uzročnik opadanja g_s u –N, –P i –Mg tretmanu, odnosno da uz K^+ ione vrlo važnu ulogu u mehanizmu otvaranja i zatvaranja puči kod obične bukve mogu imati N, P i Mg. Ta pretpostavka u skladu je s rezultatima ranijih istraživanja prema kojima suboptimalna ishranjenost biljaka s N, P i Mg utječe na velik broj fizioloških procesa povezanih s vodnim statusom biljaka i/ili regulacijom vodne ravnoteže u biljkama (Carvajal i dr. 1996 i 1999, Rao i dr. 1987, Barker i Pilbeam 2007, Eller i dr. 2016).

Primjerice, N i Mg imaju važnu ulogu u biosintezi klorofila koji u stanicama zapornicama pokreće fotosintezu što rezultira sintezom ugljikohidrata, odnosno šećera koji predstavljaju glavnu organsku osmotski aktivnu tvar koja u stanicama zapornicama pokreće turgorske promjene i na taj način regulira otvorenost puči (Taiz i Zeiger 2010). Opadanje osmotskog potencijala i/ili turgorskog tlaka u stanicama zapornicama rezultira njihovim potpunim ili djelomičnim zatvaranjem, što može biti izravna posljedica niske koncentracije šećera u njihovom staničnom soku zbog niske stope fotosinteze (Lawson 2009). Na taj način moguće je dodatno objasniti signifikantno nižu g_s kod klijanaca iz –N i –Mg tretmana u odnosu na KO tretman. S druge strane, P je izuzetno bitan za regulaciju energetskog potencijala biljnih stanica, uključujući i stanice zapornice (Richter i Rao 2005). Primjerice, ulazak K^+ iona u stanice zapornice regulira enzim H^+ATP aza (adenozintrifosfataza) za čiji je neometan rad potrebna dovoljna količina ATP-a čija pak sinteza ovisi o urednoj ishranjenosti biljke s P (Richter i Rao 2005). U slučaju loše ishranjenosti biljke s P dolazi do otežanog ulaska K^+ iona u stanice zapornice, što bi moglo rezultirati otežanim otvaranjem puči. Na taj način moguće je dodatno objasniti signifikantno nižu g_s kod klijanaca iz –P tretmana u odnosu na KO tretman.

U skladu s gore navedenim, izostanak signifikantnih razlika između –Fe i KO tretmana s obzirom na g_s (Slika 2a) moguće je objasniti prilično dobrom ishranjenošću klijanaca sa N, P i Mg u –Fe tretmanu (Tablica 1).

Na posljetku valja napomenuti kako su najviše vrijednosti g_s zabilježene sredinom vegetacijskoga razdoblja (krajem lipnja i početkom srpnja) kod klijanaca iz svih tretmana, nakon čega je g_s počela blago opadati (Slika 2b). Takav rezultat u skladu je s rezultatima ranijih istraživanja provedenima na običnoj bukvi prema kojima g_s u drugom dijelu vegetacijskoga razdoblja polagano opada, što se povezuje s otežanim otvaranjem puči uslijed raznovrsnih oštećenja stomatalnog aparata (Gallé i dr. 2007, Pflug i dr. 2018).

Intercelularna koncentracija CO_2 – Intercellular concentration of CO_2

Nakon što CO_2 iz atmosfere kroz puči uđe u intercelularne prostore lišća, CO_2 se otapa u vodi koja se nalazi u apoplastu staničnih stjenki. Nakon što prijeđe u tekuću fazu, CO_2 je u biljci (listu) prisutan kao otopljeni CO_2 ili hidrogenkarbonatni ion (HCO_3^-) i u tom se obliku dalje transportira kroz pore staničnih stjenki, plazmatske membrane, citosol i kloroplasne membrane, nakon čega ulazi u stromu kloroplasta, gdje se veže u molekule ugljikohidrata pomoću enzima RUBISCO. Na svom daljnjem putu kroz staničje lista do svog krajnjeg odredišta u stromi kloroplasta, CO_2 mora savladati cijeli niz prepreka koje stvaraju otpor njegovoj difuziji. U stručnoj literaturi taj otpor naziva se provodljivost mezofila (Tholen i Zhu 2011) koji je moguće kvantificirati na temelju razlike između parcijalnog tlaka CO_2 u intercelularnom prostoru lista i stromi kloroplasta u blizini enzima RUBISCO (Berghuijs i dr. 2017).

Prema Flexas i dr. (2008) visoka c_i često puta neizravno ukazuje na slabiju provodljivost mezofila. Najniža c_i kod klijanaca iz KO tretmana mogla bi ukazivati na najbolju provodljivost mezofila za CO_2 , dok bi najviša c_i kod klijanaca iz –Mg tretmana mogla ukazivati na najlošiju provodljivost mezofila za CO_2 (Slika 3a). U nama dostupnoj literaturi trenutno nije bilo moguće pronaći podatke o izravnom utjecaju ishranjenosti biljaka s Mg na provodljivost njihova mezofila. Međutim, klijanci iz –Mg tretmana u svom su lišću uz niske koncentracije Mg ujedno imali i vrlo niske koncentracije K (Tablica 1). Štoviše, neizravan utjecaj loše ishranjenosti biljaka s Mg i K na provodljivost mezofila za CO_2 u literaturi je prilično dobro dokumentiran, a najčešće se dovodi u vezu s anatomskom građom lišća (Pettigrew 1999, Gerardeaux i dr. 2010, Jin i dr. 2011, Lu i dr. 2016) i/ili koncentracijom otopljenih šećera u lišću (Cakmak i dr. 1994, Lavon i dr. 1995, Gerardeaux i dr. 2010). Pod utjecajem loše ishranjenosti biljaka s Mg i/ili K dolazi do produkcije tanjeg lišća koje ima malu zapremninu intercelularnih prostora, a ujedno je građeno od velikog broja malih stanica, što sve skupa negativno utječe na provodljivost mezofila za CO_2 (Claussen i dr. 1997, Giuliani i dr. 2013). Anatomsku građu lišća koja bi mogla nepovoljno utjecati na provodljivost mezofila moguće je determinirati na temelju specifične lisne mase (SLM), (Syvertsen i dr. 1995, Hanba i dr. 1999). Prema našim zapažanjima

SLM bukovih klijanaca u svim tretmanima bila je podjednaka (podatak nije prikazan). U našem slučaju razlike u c_i ili provodljivosti mezofila za CO_2 između tretmana vjerojatno nisu posljedica različite anatomske građe lišća.

Nakupljanje nestrukturnih ugljikohidrata u lišću zbog njihova otežanog premještanja floemom također negativno utječe na difuziju CO_2 kroz mezofil lišća, a povezano je sa suboptimalnom ishranjenošću biljaka s Mg i K (Cakmak i dr. 1994, Lavon i dr. 1995). U tom kontekstu, K^+ ioni koji uz saharozu i amino spojeve predstavljaju vrlo važnu osmotski aktivnu tvar u floemskom soku koja regulira transport otopljenih tvari floemom (Lalonde i dr. 2003). S druge strane, Mg regulira rad enzima H^+ -ATPaze (adenozintrifosfataze) odgovornoga za održavanje protonskog gradijenta između stanica floema, što također ima značajan utjecaj na transport otopljenih tvari floemom (Hanstein i dr. 2011). Prema tomu, loša ishranjenost biljaka s K i/ili Mg usporava transport otopljenih tvari floemom i rezultira nakupljanjem saharoze u mezofilu lišća, što negativno utječe na provodljivost mezofila za CO_2 (Carroll i dr. 2014, Hölttä i dr. 2017). Na taj način je u određenoj mjeri moguće objasniti prilično visoku c_i , odnosno slabu provodljivost mezofila za CO_2 kod bukovih klijanaca iz –Mg tretmana (Slika 3a) koji su u odnosu na klijance iz ostalih tretmana bili najlošije ishranjeni upravo s Mg i K (Tablica 1).

Utjecaj mineralnih hraniva na provodljivost mezofila najčešće se objašnjava u kontekstu njihova neizravnog utjecaja na čitav niz biokemijskih procesa koji se odvijaju u lišću (Evans i von Caemmerer 1996, 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 CO_2 i H_2O u karbonatnu kiselinu, što pozitivno utječe na difuziju CO_2 kroz citosol i stromu kloroplasta prema enzimu RUBISCO (Berghuijs i dr. 2017). Uz to, valja napomenuti da provodljivost mezofila uz anatomsku građu lišća i/ili nakupljanje otopljenih tvari u lišću ovisi o ekspresiji proteina koji uvelike olakšavaju prelazak CO_2 kroz plazmatske membrane stanica koje tvore mezofil lišća (Wang i dr. 2016). Ekspresija, aktivnost i prisutnost takvih proteina u plazmatskim membranama pozitivno korelira s koncentracijom N, P i K u lišću biljaka (Kanai i dr. 2011, Wang i dr. 2016). To bi moglo objasniti nešto nižu c_i kod klijanaca iz KO tretmana (koji su bili prilično dobro ishranjeni s N, P i K) u odnosu na ostale tretmane (Tablica 1 i Slika 3a) što prema Flexas i dr. (2008) ujedno sugerira na dobru provodljivost mezofila za CO_2 .

Indeks relativnog sadržaja klorofila – *Chlorophyll content index*

Prema rezultatima ranijih istraživanja CCI izmjeren pomoću optičkog klorofilmetra u visokoj je pozitivnoj korelaciji s koncentracijom i/ili sadržajem klorofila *a*, klorofila *b* i uku-

pnih klorofila u lišću velikog broja šumskoga drveća, pa tako i obične bukve (Cate i Perkins 2003, Jifon i dr. 2005, Percival i dr. 2008, Silla i dr. 2010, Sever i dr. 2018). U skladu s tim, sasvim je legitimno pretpostaviti da razlike između naših tretmana s obzirom na CCI ujedno predstavljaju različit sadržaj klorofila u lišću bukovih klijanaca. S obzirom da klorofilno-proteinski kompleksi čine okosnicu PS I i PS II unutar kojih se pokreću svjetlosne reakcije fotosinteze (Taiz i Zeiger 2010) u literaturi postoje dokazi o pozitivnoj korelaciji između koncentracije klorofila u lišću šumskoga drveća i parametara koji opisuju funkcionalnost svijetlih reakcija fotosinteze i/ili cjelokupnog fotosintetskog aparata (Percival i dr. 2008).

S ciljem jasne interpretacije dobivenog rezultata prema kojemu bukovi klijanci iz –N i –P tretmana imaju nešto niži, a klijanci iz –Mg tretmana signifikantno niži CCI u odnosu na klijance iz KO tretmana (Slika 4a) bitno je sažeto prikazati biosintetski put klorofila koji se odvija u plastidima (kloroplastima) a sastoji se od cijelog niza reakcija koje se mogu 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 dr. 1984). Uredna siteza δ -ALA uvelike ovisi o adekvatnoj ishranjenosti biljke s Fe, a koncentracija klorofila često korelira s koncentracijom Fe u lišću (Rout i Sahoo 2015). Prema našim rezultatima, nešto niža koncentracija Fe u lišću bukovih klijanaca nije imala negativan utjecaj na biosintezu klorofila, što potvrđuje podjednaka vrijednost CCI-a u –Fe i KO tretmanu (Slika 4a). U konačnici, krajnji produkt prve faze biosinteze klorofila su molekule porfobilinogena (PBG) koje nastaju kondenzacijom δ -ALA (Taiz i Zeiger 2010). Prema rezultatima ranijih istraživanja N i P također mogu utjecati na prvu fazu biosinteze klorofila što potvrđuje pozitivna korelacija između različitih razina ishranjenosti klijanaca vrste *Larix olgensis* s N i P s jedne strane i stope sinteze δ -ALA i PBG u njezinim iglicama s druge strane (Chu i dr. 2006). U našem slučaju, klijanci iz –N i –P tretmana imali su podjednak CCI koji je bio nešto niži u odnosu na klijance iz KO tretmana, ali ne signifikantno (Slika 4a) što je donekle u skladu s rezultatima prethodno spomenutog istraživanja. 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 s labavo vezanim elektronima (Taiz i Zeiger 2010). Prema našem rezultatu najniži CCI koji ukazuje na sadržaj klorofila u lišću imali su klijanci iz –Mg tretmana (Slika 4a). Takav rezultat u skladu je s rezultatima ranijih istraživanja prema kojima niska koncentracija klorofila u lišću predstavlja uobičajeni odgovor biljaka na neadekvatnu ishranjenost s Mg (Mengutay i dr. 2013, Faust i Schubert 2016, Tränkner i dr. 2016). U zadnjoj, četvrtoj fazi biosintetskog puta klorofila dolazi do sinteze klorofila *a* iz kojega se naknadno sintetizira klorofil *b* (Rüdiger 2002).

Indeks fotosintetske učinkovitosti i stopa fotosinteze – *Photosynthetic performance index and photosynthetic rate*

Odgovor svijetlih reakcija fotosinteze na različite tretmane mineralnim hranivima kod bukovich kljanaca opisan je pomoću PI_{ABS} za kojega se u literaturi navodi da je vrlo prikladan i osjetljiv parametar koji vrlo dobro procjenjuje funkcionalnost fotosintetskog aparata pod utjecajem različitih biotskih i abiotskih stresora (Appenroth i dr. 2001, Strauss i dr. 2006, Gonçalves i dr. 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 svjetlosne reakcije fotosinteze. To obuhvaća apsorpciju i hvatanje pobuđene energije, transport elektrona duž transportnog lanca elektrona i rasipanje viška pobuđene energije (Lepeduš i dr. 2012). S druge strane, cjelokupan fotosintetski odgovor bukovich kljanaca na različite tretmane mineralnim hranivima opisan je s A, što u biti predstavlja stopu asimilacije CO_2 koja je istovremeno utjecana brzinom pritjecanja CO_2 iz atmosfere do strome kloroplasta i količinom energije proizvedene u svjetlosnim reakcijama fotosinteze.

Prema našim rezultatima, kljanci iz KO tretmana imali su značajno višu PI_{ABS} i A u odnosu na kljance iz –N, –P i –Mg tretmana, što u odnosu na –Fe tretman nije utvrđeno (Slika 5a i 6a). Međutim, kljanaci iz KO tretmana u drugom dijelu vegetacijskoga razdoblja (nakon sredine srpnja) svoju su PI_{ABS} i A održavali višima u odnosu na kljance iz ostalih tretmana (Slika 5b i 6b). Moguće je pretpostaviti da su kljanci iz –N, –P, –Mg i –Fe tretmana do sredine vegetacijskoga razdoblja potrošili zalihe N, P, Mg i Fe uskladištene u supkama ili parenhimu deblaca, a uslijed nemogućnosti njihova daljnjeg usvajanja iz supstrata nisu mogli održavati svoju PI_{ABS} i A na razini kljanaca iz KO tretmana. Takav rezultat potvrđuje važnu ulogu N, P, Mg i Fe u fotosintetskom procesu bukovich kljanaca koja se ogleda u regulaciji cijelog niza fizikalno-kemijskih procesa uključenih u svjetlosne i/tamne reakcije fotosinteze.

Primjerice, poznato je da sadržaj N u lišću biljaka pozitivno korelira sa stopom asimilacije CO_2 , ponajprije iz razloga jer većina N koji se nalazi u lišću gradi proteine i enzime uključene u svjetlosne i tamne reakcije fotosinteze (Evans 1989, Evans i Poorter 2001). Značajno niža PI_{ABS} i A kod bukovich kljanaca iz –N tretmana u odnosu na KO tretman (Slika 5a i 6a) može biti posljedica niže koncentracije proteinskih kompleksa uključenih u transport elektrona prilikom odvijanja svjetlosnih reakcija fotosinteze i/ili niže koncentracije enzima koji sudjeluju u Calvinovom ciklusu, a posebno enzima RUBISCO o kojem ovisi brzina fiksacije i redukcije CO_2 (Evans 1989).

Kod kljanaca iz –P tretmana u odnosu na kljance iz KO tretmana također je utvrđena značajno niža PI_{ABS} i A (Slika 5a i 6a). Takav rezultat u skladu je s rezultatima ranije

provedenih istraživanja prema kojima je kod biljaka loše ishranjenih s P utvrđena slabija sposobnost pretvorbe svjetlosne u kemijsku energiju, sporiji prijenos elektrona i usporena sinteza ATP-a i NADPH što 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 CO_2 (Richter i Rao 2005) što je također moglo pridonijeti opadanju A kod kljanaca iz –P tretmana u odnosu na kljance iz KO tretmana (Slika 6a).

Kao i u prethodna dva slučaja, kljanci iz –Mg tretmana u odnosu na KO tretman imali su značajno nižu PI_{ABS} i A (Slika 5a i 6a) što je u skladu s prilično niskom koncentracijom Mg u lišću kljanaca iz –Mg tretmana koja je bila na donjoj granici optimalne ishranjenosti (Tablica 1). S obzirom da Mg predstavlja središnji dio molekule klorofila koje grade fotosustave odgovorne za prikupljanje svjetlosti koja se kasnije pretvara u kemijsku energiju nužnu za fiksaciju CO_2 u Calvinovu ciklusu (Taiz i Zeiger 2010) takav rezultat nije iznenađujuć. Uz to, lošija ishranjenost biljaka s Mg obično rezultira opadanjem koncentracije enzima RUBISCO u stromi kloroplasta te njegovim niskim stupnjem aktivacije (Peng i dr. 2015) što kod velikog broja biljnih vrsta rezultira niskom stopom fotosinteze (Lasa i dr. 2000, Yuguan i dr. 2009, Tang i dr. 2012, Jezek i dr. 2015, Li i dr. 2017). Prema tomu, naši su rezultati u skladu s rezultatima ranijih istraživanja prema kojima Mg igra važnu ulogu u svjetlosnim i/ili tamnim reakcijama fotosinteze što se u konačnici može negativno odraziti na stopu asimilacije CO_2 (Laing i dr. 2000, Yang i dr. 2012, Tränkner i dr. 2016).

Važnost Fe u metabolizmu biljaka ogleda se u činjenici da je Fe glavna komponenta biljnoga redoks sustava (Rout i Sahoo 2015), a ujedno je i važno kao sastavni dio velikoga broja proteina i enzima uključenih u fotosintetski proces (Bertamini i dr. 2001). Prema dosadašnjim spoznajama suboptimalna ishranjenost biljaka s Fe ima izrazito negativan utjecaj na cjelokupan fotosintetski proces uključujući svjetlosne i tamne reakcije, što je u literaturi vrlo dobro dokumentirano (Bertamini i dr. 2001 i 2002, Jiang i dr. 2007, Rout i Sahoo 2015). Prema našim rezultatima, pod utjecajem –Fe tretmana u odnosu na KO tretman nije došlo do značajnog opadanja prosječnih vrijednosti PI_{ABS} i A (Slika 5a i 6a). Moguće je pretpostaviti da su istraživani kljanci tijekom početne faze svoga razvoja uspjeli iz tla i/ili sjemena usvojiti dovoljnu količinu željeza, što im je bilo dostatno za normalno odvijanje fotosintetskoga procesa tijekom cijelog vegetacijskoga razdoblja.

ZAKLJUČAK CONCLUSIONS

Prema izmjerenim i analiziranim vrijednostima parametara fotosintetske aktivnosti (g_s , c_i , CCI, PI_{ABS} i A) pri koncen-

traciji N od 1,66 %, P od 0,10 % i Mg od 0,18 % u suhoj tvari lišća bukovih klijanaca došlo je do poremećaja ključnih fizioloških funkcija uključenih u regulaciju fotosintetske aktivnosti, što pri koncentraciji Fe od 65,90 ppm nije bio slučaj. Koncentracije N i P pri kojima je utvrđen poremećaj fizioloških funkcija bile su ispod graničnih vrijednosti optimalne ishranjenosti obične bukve s N (1,90 – 2,50 %) i P (0,15 – 0,30 %), dok je koncentracija Mg bila u granicama optimalne ishranjenosti obične bukve s Mg (0,15 – 0,30 %). Takav rezultat ukazuje na potencijalnu potrebu revizije graničnih koncentracija Mg u lišću klijanaca obične bukve koje bi ukazivale na njihovu optimalnu ishranjenost s Mg za razliku od općenito postavljenih graničnih vrijednosti od strane Bergmann (1993).

S obzirom da je ishranjenost klijanaca s Fe u –Fe tretmanu bila u granicama optimalne ishranjenosti za običnu bukvu (50 -178 ppm) moguće je pretpostaviti da su istraživani klijanci iz tla prirodne sastojine i/ili iz rezervi uskladištenih u sjemenu tijekom početne faze svoga razvoja uspjeli usvojiti i/ili mobilizirati dovoljnu količinu Fe za normalno funkcioniranje tijekom cijelog vegetacijskog razdoblja, bez obzira na kasniju primjenu našeg tretmana. Isto tako, valja napomenuti da je prilikom ovog istraživanja koncentracija hraniva u suhoj tvari lišća utvrđena samo u jednom uzorku. Iz tog razloga postoji potreba za dodatnim istraživanjem ove problematike, što se planira nastaviti tijekom sljedećih nekoliko vegetacijskih razdoblja. U tom periodu uz već započeto praćenje parametara fotosintetske aktivnosti planira se započeti s praćenjem dinamike vegetativnoga rasta, fenologije listanja i razvoja vizualnih simptoma pod utjecajem suboptimalne ishranjenosti obične bukve s mineralnim hranivima.

LITERATURA REFERENCES

- Aldesuquy, H. S., 2014: Seawater induced decline in photosynthesis as related to chloroplast ultra-structure in flag leaf of difference wheat cultivars during grain filling. *Phyton-annales Rei Botanica*, 54: 83 – 100 str.
- Andres, Z., J. Perez-Hormaeche, E. O. Leidi, K. Schlucking, L. Steinhorst, D. H. McLachlan, K. Schumacher, A. M. Hetherington, J. Kudla, B. Cubero, J. M. Pardo, 2014: Control of vacuolar dynamics and regulation of stomatal aperture by tonoplast potassium uptake. *Proc Natl Acad Sci*, 111: 1806 – 1814 str.
- Anić, I., S. Mikac, 2008: Prirodno pomlađivanje hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) na malim površinama. Zbornik sažetaka znanstvenog savjetovanja Šume hrasta lužnjaka u promijenjenim stanišnim i gospodarskim uvjetima U: S. Matić, I. Anić (ur.). Hrvatska akademija znanosti i umjetnosti, 10 – 11 str. Zagreb.
- Appenroth, K. J., J. Stöckel, A. Srivastava, R. J. Strasser, 2001: Multiple effects of chromate on the photosynthetic apparatus of *Spirodela polyrrhiza* as probed by OJIP chlorophyll a fluorescence measurements. *Environ Pollut*, 115: 49 – 64 str.
- Barker, A., D. Pilbeam, 2007: Handbook of plant nutrition. CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton, FL.
- Bascañán-Godoy, L., C. Sanhueza, C. E. Hernández, L. Cifuentes, K. Pinto, R. Álvarez, M. González-Teuber, L. A. Bravo, 2018: Nitrogen supply affects photosynthesis and photoprotective attributes during drought-induced senescence in quinoa. *Front. Plant Sci*, 9: 994 str.
- Berghuijs, H. N., X. Yin, Q. T. Ho, M. A. Retta, P. Verboven, B. M. Nicolai, P. C. Struik, 2017: Localization of (photo) respiration and CO₂ re-assimilation in tomato leaves investigated with a reaction-diffusion model. *PLoS one*, 12: 9, e0183746.
- Bergmann, W., 1993: Ernährungsstörungen bei Kulturpflanzen. Entstehung, visuelle und analytische Diagnose. Gustav Fischer Verlag Jena, 1 – 835 str.
- Bertamini, M., N. Nedunchezian, B. Borghi, 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: 59 – 65 str.
- Bertamini, M., K. Muthuchelian, N. Nedunchezian, 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: 599 – 605 str.
- Cakmak, I., C. Hengeler, H. Marschner, 1994: Partitioning of shoot and root dry matter and carbohydrates in bean plants suffering from phosphorus, potassium and magnesium deficiency. *J Exp Bot*, 45: 1245 – 1250 str.
- Carroll, N. J., K. H. Jensen, S. Parsa, N. M. Holbrook, D. A. Weitz, 2014: Measurement of flow velocity and inference of liquid viscosity in a microfluidic channel by fluorescence photobleaching. *Langmuir*, 30: 4868 – 4874 str.
- Carvajal, M., D. T. Cooke, D. T. Clarkson, 1996: Responses of wheat plants to nutrient deprivation may involve the regulation of water-channel function. *Planta*, 199: 372 – 381 str.
- Carvajal, M., V. Martínez, A. Cerdá, 1999: Influence of magnesium and salinity on tomato plants grown in hydroponic culture. *J Plant Nutr*, 22:1, 177 – 190 str.
- Cate, T. M., T. D. Perkins, 2003: Chlorophyll content monitoring in sugar maple (*Acer saccharum*). *Tree Physiol*, 23: 1077 – 1079 str.
- Chen, W. R., J. S. Zheng, Y. Q. Li, 2012: Effect of high temperature on photosynthesis, chlorophyll fluorescence, chloroplast ultra-structure, and antioxidant activities in fingered citron. *Russ J Plant Physiol*, 59: 732 – 740 str.
- Chu, W., W. Zhengquan, S. Hailong, G. Shenglei, 2006: Effects of different concentrations of nitrogen and phosphorus on biosynthesis, chlorophyll a fluorescence, and photosynthesis in *Larix olgensis* seedlings. *Front. For. China*, 2: 170 – 175 str.
- Claussen M., H. Lüthen, M. Blatt, M. Bottger, 1997: Auxin-induced growth and its linkage to potassium channels. *Planta*, 201: 227 – 234 str.
- Drvodelić, D., M. Oršanić, 2019: Izbor kvalitetne šumske sadnice poljskog jasena (*Fraxinus angustifolia* Vahl) za umjetnu obnovu i pošumljavanje. *Šumarski list*, 11–12: 577 – 585 str.
- Ellenberg, H., C. Leuschner, 2014: Vegetation Mitteleuropas mit den Alpen in ökologischer, dynamischer und historischer Sicht, 6th edition. Ulmer Verlag, Stuttgart, 1333 str.
- Eller, F., K. Jensen, C. Reisdorff, 2016: Nighttime stomatal conductance differs with nutrient availability in two temperate floodplain tree species. *Tree Physiol*, 37: 428 – 440 str.
- Evans, J. R., 1989: Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves C3 plants. *Oecologia*, 78: 9 – 19 str.
- Evans, J. R., S. von Caemmerer, 1996: Carbon dioxide diffusion inside leaves. *Plant physiol*, 110: 339 str.

- Evans, J. R., H. Poorter, 2001: Photosynthetic acclimation of plants to growth irradiance: the relative importance of specific leaf area and nitrogen partitioning in maximizing carbon gain. *Plant Cell Environ* 24: 755 – 767 str.
- Faust, F., S. Schubert, 2016: Protein synthesis is the most sensitive process when potassium is substituted by sodium in the nutrition of sugar beet (*Beta vulgaris*). *Plant Physiol Biochem*, 107: 237 – 247 str.
- Flexas, J., M. Ribas-Carbó, A. Dijaz-Espejo, J. Galmés, H. Medrano, 2008: mesophyll conductance to CO₂: current knowledge and future prospect. *Plant Cell Environ*, 31: 602 – 621 str.
- Gallé, A., P. Haldimann, U. Feller, 2007: Photosynthetic performance and water relations in young pubescent oak (*Quercus pubescens*) trees during drought stress and recovery. *New Phytol*, 174: 799 – 810 str.
- Gerardeaux, E., L. Jordan-Meille, J. Constantin, S. Pellerin, M. Dingkuhn, 2010: Changes in plant morphology and dry matter partitioning caused by potassium deficiency in *Gossypium hirsutum* (L.). *Environ Expl Bot*, 67: 451 – 459 str.
- Gessler, A., M. Schaub, N.G. McDowell, 2017: The role of nutrients in drought-induced tree mortality and recovery. *New Phytol*, 214: 513 – 520 str.
- Giuliani, R., N. Koteyeva, E. Voznesenskaya, M. A. Evans, A. B. Cousins G. E. Edwards, 2013: Coordination of leaf photosynthesis, transpiration, and structural traits in rice and wild relatives (Genus *Oryza*). *Plant Physiol*, 162: 1632 – 1651 str.
- Gonçalves, J. F., U. M. Santos Jr, A. R. Nina Jr, L. R. Chevreuil, 2007: Energetic flux and performance index in copaiba (*Copaifera multijuga* Hayne) and mahogany (*Swietenia macrophylla* King) seedlings grown under two irradiance environments. *Braz J Plant Physiol*, 19: 171 – 184 str.
- Grahovac-Tremski, M., 2018: Seedling production in nurseries of Croatian forests Ltd. 3th Natural resources, green technology and sustainable development. Book of abstracts. 165. str. Zagreb.
- Haase, D. L., 2007: Morphological and Physiological Evaluations of Seedling Quality. USDA Forest Service Proceedings RMRS P-50: 3 – 8 str.
- Haase, D. L., R. W. Rose, J. Trobaugh, 2006: Field performance of three stock sizes of Douglas-fir container seedlings grown with slow release fertilizer in the nursery growing medium. *New Forests*, 31: 1 – 24 str.
- Hanba, Y. T., S. I. Miyazawa, I. Terashima, 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. *Funct Ecol*, 13: 632 – 639 str.
- Hanstein, S., X. Wang, X. Qian, P. Friedhoff, A. Fatima, Y. Shan, K. Feng, S. Schubert, 2011: Changes in cytosolic Mg²⁺ levels can regulate the activity of the plasma membrane H⁺-ATPase in maize. *Biochem J*, 435: 93 – 101 str.
- Hoagland, D. R., D. I. Arnon, 1950: The water-culture method for growing plants without soil. *Calif Agric Exp Stn Circ*, 347: 1 – 32 str.
- Hölttä, T., A. Lintunen, T. Chan, A. Mäkelä, E. Nikinmaa, 2017: A steady-state stomatal model of balanced leaf gas exchange, hydraulics and maximal source–sink flux. *Tree physiol*, 37: 851 – 868 str.
- Jacob, J., D. W. Lawlor, 1993: Extreme phosphate deficiency decreases the in vivo CO₂/O₂ specificity factor of ribulose 1, 5-bisphosphate carboxylase-oxygenase in intact leaves of sunflower. *J Exp Bot*, 44: 1635 – 1641 str.
- Jakli, B., E. Tavakol, M. Trankner, M. Senbayram, K. Dittert, 2017: Quantitative limitations to photosynthesis in K deficient sunflower and their implications on water-use efficiency. *J Plant Physiol* 209: 20 – 30 str.
- Jezek, M., C. M. Geilfus, A. Bayer, K. H. Mühling, 2015: Photosynthetic capacity, nutrient status, and growth of maize (*Zea mays* L.) upon MgSO₄ leaf-application. *Front Plant Sci*, 5: 781 str.
- Jiang, C. D., H. Y. Gao, Q. Zou, L. Shi, 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: 53 – 60 str.
- Jifon, J. L., J. P. Syvertsen, E. Whaley, 2005: Growth environment and leaf anatomy affect nondestructive estimates of chlorophyll and nitrogen in *Citrus* sp. leaves. *J Amer Soc Hort Sci* 130: 152 – 158 str.
- Jin, S. H., J. Q. Huang, X. Q. Li, B. S. Zheng, J. S. Wu, Z. J. Wang, G. H. Lia, M. Chen, 2011: Effects of potassium supply on limitations of photosynthesis by mesophyll diffusion conductance in *Carya cathayensis*. *Tree Physiol*, 31: 1142 – 1151 str.
- Kanai, S., R. E. Moghaieb, H. A. El-Shemy, R. Panigrahi, P. K. Mohapatra, J. Ito, T. N. Nguyen, H. Saneoka, K. Fujita, 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 Sci*, 180: 368 – 374 str.
- Lasa, B., S. Frechilla, M. Aleu, B. González-Moro, C. Lamsfus, P. M. Aparicio-Tejo, 2000: Effects of low and high levels of magnesium on the response of sunflower plants grown with ammonium and nitrate. *Plant and soil*, 225: 167 – 174 str.
- Laing, W., D. Greer, O. Sun, P. Beets, A. Lowe, T. Payn, 2000: Physiological impacts of Mg deficiency in *Pinus radiata*: growth and photosynthesis. *New Phytol*, 146: 47 – 57 str.
- Lalonde, S., M. Tegeer, M. Throne-Holst, W. B. Frommer, J. W. Patrick, 2003: Phloem loading and unloading of sugars and amino acids. *Plant Cell Environ*, 26: 37 – 56 str.
- Lavon, R., E. E. Goldschmidt, R. Salomon, A. Frank, 1995: Effect of potassium, magnesium, and calcium deficiencies on carbohydrate pools and metabolism in citrus leaves. *J Am Soc Hort Sci*, 120: 54 – 58 str.
- Lawson, T., 2009: Guard cell photosynthesis and stomatal function. *New Phytol*, 181: 13 – 34 str.
- Lepeduš, H., I. Brkić, V. Cesar, V. Jurković, J. Antunović, A. Jambrović, D. Brkić, D. Šimić, 2012: Chlorophyll fluorescence analysis of photosynthetic performance in seven maize inbred lines under water-limited conditions. *Period Biol*, 114: 73 – 76 str.
- Li, C. P., Y. P. Qi, J. Zhang, L. T. Yang, D. H. Wang, X. Ye, ... L. S. Chen, 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 Physiol*, 37: 1564 – 1581 str.
- Lu, Z., J. Lu, Y. Pan, P. Lu, X. Li, R. Cong, T. Ren, 2016: Anatomical variation of mesophyll conductance under potassium deficiency has a vital role in determining leaf photosynthesis. *Plant Cell Environ*, 39: 2428 – 2439 str.
- Matic, S., M. Oršanić, I. Anić, 2003: Osnivanje šuma obične bukve. U: S. Matic (ur.), Obična bukva (*Fagus sylvatica* L.) u Hrvatskoj. Zagreb: Akademija šumarskih znanosti, Hrvatske šume d.o.o., Grad Zagreb, Gradski ured za poljoprivredu i šumarstvo, 307 – 325 str.
- Mengutay, M., Y. Ceylan, U. B. Kutman, I. Cakmak, 2013: Adequate magnesium nutrition mitigates adverse effects of heat stress on maize and wheat. *Plant and Soil*, 368: 57 – 72 str.
- Misra, B. B., B. R. Acharya, D. Granot, S. M. Assmann, S. Chen, 2015: The guard cell metabolome: functions in stomatal move-

- ment and global food security. *Front. Plant Sci.* 6: 334 str. doi: 10.3389/fpls.2015.00334
- Mohammad, F., U. Naseem, 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: 471 – 473 str.
 - Pandey J. K., S. K. Dash, B. Biswal, 2017: Loss in photosynthesis during senescence is accompanied by an increase in the activity of β-galactosidase in leaves of *Arabidopsis thaliana*: modulation of the enzyme activity by water stress. *Protoplasma*, 254: 1651 – 1659 str.
 - Peng, H. Y., Y. P. Qi, J. Lee, L. T. Yang, P. Guo, H. X. Jiang, L. S. Chen, 2015: Proteomic analysis of *Citrus sinensis* roots and leaves in response to long-term magnesium-deficiency. *BMC Genom*, 16: 253 str.
 - Percival, G. C., I. P. Keary, K. Noviss, 2008: The potential of a chlorophyll content SPAD meter to quantify nutrient stress in foliar tissue of Sycamore (*Acer pseudoplatanus*), English oak (*Quercus robur*), and European beech (*Fagus sylvatica*). *Arboric Urban For*, 34: 89 – 100 str.
 - Pettigrew, W. T., 1999: Potassium deficiency increases specific leaf weights and leaf glucose levels in field-grown cotton. *Agron J*, 91: 962 – 968 str.
 - Pevalak-Kozlina B., 2003: Fiziologija bilja. Profil, Zagreb, 568 str.
 - Pflug, E., N. Buchmann, R. T. W. Siegwolf, M. Schaub, A. Rigling, M. Arend, 2018: Resilient Leaf Physiological Response of European Beech (*Fagus sylvatica* L.) to Summer Drought and Drought Release. *Front Plant Sci*, 9: 187, doi:10.3389/fpls.2018.00187.
 - Potočić, N., I. Seletković, M. Čater, T. Čosić, M. Šango, M. Vedriš, 2009: Ekofiziološki odziv suncu izloženih sadnica obične bukve (*Fagus sylvatica* L.) pri različitim razinama gnojidbe. *Šumarski list*, 5–6: 280 – 289 str.
 - Prpić, B., 2003: Općekorisna uloga bukovih šuma. U: S. Matic (ur.), Obična bukva (*Fagus sylvatica* L.) u Hrvatskoj. Zagreb: Akademija šumarskih znanosti, Hrvatske šume d.o.o., Grad Zagreb, Gradski ured za poljoprivredu i šumarstvo, 213 – 221 str.
 - Pushnik, J. C., G. W. Miller, J. H. Manwaring, 1984: The role of iron in higher plant chlorophyll biosynthesis, maintenance and chloroplast biogenesis. *J Plant Nutr*, 7: 733 – 758 str.
 - Rao, I. M., J. Abadia, N. Terry, 1987: Leaf phosphate status and its effects on photosynthetic carbon partitioning and export in sugar beet. U: J. Biggins (ur.), Progress in Photosynthesis Research. Martinus Nijhoff/Dr W. Junk Publishers, 751 – 754 str.
 - Richter, A. M., I. M. Rao, 2005: Role of Phosphorus in Photosynthetic Carbon Metabolism. U: M. Pessaraki (ur.), Handbook of Photosynthesis. 3rd Edition. Taylor and Francis group, 846 str. Boca Raton.
 - Roelfsema, M. R. G., R. Hedrich, 2002: Studying guard cells in the intact plant: modulation of stomatal movement by apoplastic factors. *New Phytol*, 153: 425 – 431 str.
 - 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 str.
 - Rout, G. R., S. Sahoo, 2015: Role of iron in plant growth and metabolism. *Reviews in Agricultural Science*, 3: 1 – 24 str.
 - Saccone, P., S. Delzon, P. Jean-Philippe, B. Jean-Jacques, M. Richard, 2009: The role of biotic interactions in altering tree seedling responses to an extreme climatic event. *J Veg Sci*, 20: 403 – 414 str.
 - Sardans, J., R. Alonso, I. A. Janssens, J. Carnicer, S. Vereseglou, M. C. Rillig, M. Fernández-Martínez, T. G. M. Sanders, J. Peñuelas, 2015: Foliar and soil concentrations and stoichiometry of nitrogen and phosphorus across European *Pinus sylvestris* forests: relationships with climate, N deposition and tree growth. *Funct Ecol*, 30: 676 – 689 str.
 - Schmal, J. L., D. F. Jacobs, C. O'Reilly, 2011: Nitrogen budgeting and quality of exponentially fertilized *Quercus robur* seedlings in Ireland. *Eur J For Res*, 130: 557 – 567 str.
 - Seletković, I., 2006: Utjecaj gnojidbe dušikom, fosforom i kalijem na rast i razvoj sadnica hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.). Šumarski fakultet Zagreb. Disertacija, 134 str.
 - Seletković, I., N. Potočić, M. Šango, 2011: Primjenjivost preparata za folijarnu primjenu hungavit u svrhu povećanja kvalitete sadnica obične bukve (*Fagus sylvatica* L.) i hrasta lužnjaka (*Quercus pedunculata* L.) u rasadničkoj proizvodnji. *Šumarski list*, posebni broj: 239 – 247 str.
 - Sever, K., S. Bogdan, Ž. Škvorc, M. Z. Ostrogović Sever, J. Franjić, 2016: Estimation of leaf nitrogen concentrations in *Quercus robur* L. using the CCM-200 portable chlorophyll meter for different patterns of vegetative growth and acorn production. *New For*, 47: 513 – 527 str.
 - Sever, K., S. Bogdan, J. Franjić, Ž. Škvorc, 2018: Nedestruktivna procjena koncentracije fotosintetskih pigmenta u lišću hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.). *Šum. List*, 142 (5-6): 247 – 257 str.
 - Silla, F., A. González-Gil, M. E. González-Molina, S. Mediavilla, A. Escudero, 2010: Estimation of chlorophyll in *Quercus* leaves using a portable chlorophyll meter: effects of species and leaf age. *Ann For sci* 67:108. doi: 10.1051/forest/2009093
 - Simon, J., M. Dannenmann, R. Pena, A. Gessler, H. Rennenberg, 2017: Nitrogen nutrition of beech forests in a changing climate: importance of plant-soil-microbe water, carbon, and nitrogen interactions. *Plant Soil*, 418: 89 – 114 str.
 - Sitko, K., Ž. Gieroń, M., Szopiński, i dr., 2019: Influence of short-term macronutrient deprivation in maize on photosynthetic characteristics, transpiration and pigment content. *Sci Rep*, 9: 14181.
 - Strauss, A. J., G. H. J. Krüger, R. J. Strasser, P. D. R. Van Heerden, 2006: Ranking of dark chilling tolerance in soybean genotypes probed by the chlorophyll a fluorescence transient OJIP. *Environ Exp Bot*, 56: 147 – 157 str.
 - Sun, J., M. Ye, S. Peng, Y. Li, 2016: Nitrogen can improve the rapid response of photosynthesis to changing irradiance in rice (*Oryza sativa* L.) plants. *Sci Rep*, 6: 31305
 - Syvertsen, J. P., J. Lloyd, C. McConchie, P. E. Kriedemann, G. D. Farquhar, 1995: On the relationship between leaf anatomy and CO₂ diffusion through the mesophyll of hypostomatous leaves. *Plant Cell Environ*, 18: 149 – 157 str.
 - Škvorc, Ž., K. Sever, J. Franjić, D. Krstonošić, M. Poljak, 2012: Intenzitet fotosinteze i vegetativni rast hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) u pokusnom nasadu. *Šum List*, 136 (1-2): 7 – 17 str.
 - Taiz, L., Zeiger, E., 2010: Plant Physiology. Fourth Edition. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts.
 - Tang, N., Y. Li, L. S. Chen, 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. *J Plant Nutr Soil Sci*, 175: 784 – 793 str.
 - Tholen, D., X. G. D. Zhu, 2011: The mechanistic basis of internal conductance: a theoretical analysis of mesophyll cell photosynthesis and CO₂ diffusion. *Plant Physiol*, 156: 90 – 105 str.
 - Tränkner, M., B. Jákli, E. Tavakol, C. M. Geilfus, I. Cakmak, K. Dittert, M. Senbayram, 2016: Magnesium deficiency decreases biomass water-use efficiency and increases leaf water-use efficiency.

- ciency and oxidative stress in barley plants. *Plant and Soil*, 406: 409 – 423 str.
- Tränkner, M., E. Tavakol, B. Jákl, 2018: Functioning of potassium and magnesium in photosynthesis, photosynthate translocation and photoprotection. *Physiologia Plantarum*, 163: 414 – 431 str.
 - Trinajstić, I., 2003: Taksonomija, morfologija i rasprostranjenost obične bukve. U: S. Matić (ur.), *Obična bukva (Fagus sylvatica L.) u Hrvatskoj*. Zagreb: Akademija šumarskih znanosti, Hrvatske šume d.o.o., Grad Zagreb, Gradski ured za poljoprivredu i šumarstvo, 33 – 47 str.
 - Uscola, M., K. F. Salifu, J. A. Oliet, D. F. Jacobs, 2015: An exponential fertilization dose-response model to promote restoration of the Mediterranean oak *Quercus ilex*. *New For*, 46: 795 – 812 str.
 - Van den Burg, J., 1990: Foliar analysis for determination of tree nutrient status – a compilation of literature data. Literature 1985–1989. “De Dorschkamp”, Institute for Forestry and Urban Ecology. Wageningen, the Netherlands, 220 str.
 - Villar-Salvador, P., J. L. Peñuelas, J. L. Nicolás-Peragón, L. F. Benito, S. Domínguez-Lerena, 2013: Is nitrogen fertilization in the nursery a suitable tool for enhancing the performance of Mediterranean oak plantations? *New For*, 44: 733 – 751 str.
 - von Caemmerer, S., J. R. Evans, 1991: Determination of the average partial pressure of CO₂ in chloroplasts from leaves of several C₃ plants. *Aust J Plant Physiol* 18: 287 – 305 str.
 - Vukadinović, V., V. Vukadinović, 2011: Ishrana bilja. Poljoprivredni fakultet Osijek, Osijek, 442 str.
 - Vukelić, J., D. Baričević, 2003: Šumske zajednice obične bukve u Hrvatskoj. U: S. Matić (ur.), *Obična bukva (Fagus sylvatica L.) u Hrvatskoj*. Zagreb: Akademija šumarskih znanosti, Hrvatske šume d.o.o., Grad Zagreb, Gradski ured za poljoprivredu i šumarstvo, 87 – 107 str.
 - Wang, M., L. Ding, L. Gao, Y. Li, Q. Shen, S. Guo, 2016: The interactions of aquaporins and mineral nutrients in higher plants. *Int J Mol Sci*, 17: 1229 str.
 - Warren, C. R., 2004: The photosynthetic limitation posed by internal conductance to CO₂ movement is increased by nutrient supply. *J Exp Bot*, 55: 2313 – 2321 str.
 - Woodruff, d. R., F. C. Meinzer, 2011: Water stress, shoot growth and storage of non-structural carbohydrates along a tree height gradient in a tall conifer. *Plant Cell Environ*, 34: 1920 – 1930 str.
 - Yang, G. H., L. T. Yang, H. X. Jiang, Y. Li, P. Wang, L. S. Chen, 2012: Physiological impacts of magnesium-deficiency in Citrus seedlings: photosynthesis, antioxidant system and carbohydrates. *Trees*, 26: 1237 – 1250 str.
 - Yuguan, Z., Z. Min, L. Luyang, J. Zhe, L. Chao, Y. Sitao, D. Yanmei, L. Na, H. Fashui, 2009: Effects of cerium on key enzymes of carbon assimilation of spinach under magnesium deficiency. *Biol Trace Elem Res*, 131: 154 – 164 str.
 - Zhao, Z., S. M. Assmann, 2011: The glycolytic enzyme, phosphoglycerate mutase, has critical roles in stomatal movement, vegetative growth, and pollen production in *Arabidopsis thaliana*. *J Exp Bot*, 62: 5179 – 5189 str.

SUMMARY

This paper presents the results of measuring parameters that describe the photosynthetic activity of beech seedlings under suboptimal mineral nutrition. The aim of paper was to present the issue of mineral nutrition of forest trees to forestry practice through the discussion of the obtained results in the context of previous knowledge about the impact of mineral nutrition on the photosynthetic process of forest trees. In the early spring of 2019, beech seedlings originating from a natural mixed stand of sessile oak and common beech were transplanted into a sterile substrate (agropperlite). After transplanting, the seedlings were regularly watered (treated) with a complete nutrient solution (KO treatment), and nutrient solutions in which nitrogen (–N treatment), phosphorus (–P treatment), magnesium (–Mg treatment) or iron (–Fe treatment) were omitted. The following parameters were regularly measured on six seedlings within each of the five previously described treatments during the 2019 growing season: rate of photosynthesis (A), stomatal conductance (g_s), intercellular concentration of CO₂ (c_i), relative chlorophyll content index (CCI) and the photosynthetic performance index (PI_{ABS}). All parameters were worse in seedlings from –N, –P and –Mg treatment compared to seedlings from KO treatment. Such a result is probably due to the physiological functions of N, P and Mg that participate in the structure of proteins and enzymes, energy turnover and storage, and the structure of chlorophyll, which together are necessary for the proper functioning of the overall photosynthetic process. Despite the important role of Fe in all life processes of plant, including photosynthesis, all measured parameters in seedlings from –Fe and KO treatments were very similar.

However, unlike N, P and Mg which belong to the group of macronutrients, Fe belongs to the group of micronutrients whose concentrations in plant tissue are relatively low. Therefore, it is possible to assume that the investigated seedlings from natural stand soil and/or from seed reserves during the initial phase of their development could absorb and/or retranslocate enough Fe for normal functioning throughout the growing season, regardless of subsequent treatment. Given such a results, initial monitoring of photosynthetic activity parameters will be continued over the next few growing seasons. In this period, it is planned to start monitoring the vegetative growth dynamics, leaf phenology and the development of visual symptoms under suboptimal mineral nutrition of beech seedlings in order to further approximate this issue to forestry practice

KEY WORDS: *Fagus sylvatica*, beech, seedlings, photosynthesis, mineral nutrients