

Biokemijski odgovor lista na stres suše kod tradicijskih kultivara krumpira

Rovišan, Lorena

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:204:669466>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-22**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

**BIOKEMIJSKI ODGOVOR LISTA NA STRES SUŠE KOD
TRADICIJSKIH KULTIVARA KRUMPIRA**

ZAVRŠNI RAD

Lorena Rovišan

Zagreb, rujan, 2024.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

Preddiplomski studij:
Biljne znanosti

**BIOKEMIJSKI ODGOVOR LISTA NA STRES SUŠE KOD
TRADICIJSKIH KULTIVARA KRUMPIRA**

ZAVRŠNI RAD

Lorena Rovišan

Mentor: izv. prof. dr. sc. Ivanka Habuš Jerčić

Zagreb, rujan, 2024.
SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA STUDENTA
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Lorena Rovišan**, JMBAG 0178125424, izjavljujem da sam samostalno izradila/izradio završni rad pod naslovom:

BIOKEMIJSKI ODGOVOR LISTA NA STRES SUŠE KOD TRADICIJSKIH KULTIVARA KRUMPIRA

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica/jedini autor ovoga završnog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj završni rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga završnog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata/upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____

Potpis studenta / studentice

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI ZAVRŠNOG RADA

Završni rad studenta/ice **Lorena Rovišan**, JMBAG 0178125424, naslova

BIOKEMIJSKI ODGOVOR LISTA NA STRES SUŠE KOD TRADICIJSKIH KULTIVARA KRUMPIRA

mentor je ocijenio ocjenom _____.

Završni rad obranjen je dana _____ pred povjerenstvom koje je prezentaciju ocijenilo ocjenom _____, te je student/ica postigao/la ukupnu ocjenu

_____.

Povjerenstvo:

potpisi:

1. izv. prof. dr.sc Ivanka Habuš Jerčić

2. _____ član

3. _____ član

Sadržaj

1. Uvod.....	1
1.1. Cilj istraživanja.....	1
2. Krumpir	2
3. Suša	4
3.1. Definicija suše.....	4
3.2. Utjecaj suše na krumpir	5
4. Antioksidacijski enzimi i antioksidativni obrambeni sustav.....	6
4.1. Superoksid dismutaza (SOD)	6
4.2. Peroksidaza (POX)	7
4.3. Vodikov peroksid (H ₂ O ₂).....	8
5. Utjecaj osmotske regulacije i prolina	9
6. Malondialdehid (MDA)	10
7. Pigmenti lista (klorofil a, klorofil b i karotenoidi)	11
8. Materijali i metode	12
8.1. Tijek istraživanja	12
8.2. Kemijske analize	13
8.2.1. Određivanje sadržaja superoksid dismutaze (SOD) u listu.....	13
8.2.2. Određivanje sadržaja nesecifičnih peroksidaza (POX) u listu.....	13
8.2.3. Određivanje sadržaja vodikovog peroksida (H ₂ O ₂) u listu	14
8.2.4. Određivanje sadržaja prolina u listu.....	14
8.2.5. Određivanje sadržaja malondialdehida (MDA) u listu	15
8.2.6. Analiza klorofila i karotenoida	15
9. Rezultati i rasprava	17
9.1. Superoksid dismutaza	18
9.2. Peroksidaza	19
9.3. Prolin	21

9.4.	Vodikov peroksid	22
9.5.	Melondialdehyd.....	23
9.6.	Klorofil a.....	26
9.7.	Klorofil b.....	27
9.8.	Karotenoidi.....	28
10.	Zaključak	29
11.	Popis literature.....	30
	Životopis	37

Sažetak

Završnog rada studenta/ice **Lorena Rovišan**, naslova

BIOKEMIJSKI ODGOVOR LISTA NA STRES SUŠE KOD TRADICIJSKIH KULTIVARA KRUMPIRA

Suša negativno utječe na biljke mijenjajući morfološke, fiziološke i metaboličke procese. Biljke izložene suši smanjuju relativni sadržaj vode u lišću, što utječe na stabilnost membrane i fotosintetske aktivnosti, a posljedično se povećava sinteza reaktivnih kisikovih vrsta (ROS), peroksidacija lipida i oštećenje membrane. Kako bi smanjile utjecaj suše biljke nakupljaju topive šećere, prolin te povećavaju enzimsku antioksidativnu aktivnost. Cilj ovog istraživanja je utvrditi utjecaj suše na sadržaj vodikovog peroksida, fotosintetskih pigmenata, prolina, malondialdehida te aktivnost antioksidacijskih enzima u listu pet tradicijskih kultivara krumpira. Stres suše značajno je utjecao na povećanje aktivnosti antioksidacijskih enzima te povećanje sadržaja prolina, vodikovog peroksida, malondialdehida te fotosintetskih pigmenata u listovima analiziranih kultivara krumpira.

Ključne riječi: suša, krumpir, antioksidacijski enzimi, biljni pigmenti

Summary

Of the final work - student **Lorena Rovišan**, entitled

BIOCHEMICAL RESPONSE OF LEAF TO DROUGHT STRESS IN TRADITIONAL CULTIVARS OF POTATO

Drought negatively affects plants by changing morphological, physiological and metabolic processes. Plants exposed to drought reduce the relative water content in leaves, which affects membrane stability and photosynthetic activity, and consequently increases the synthesis of reactive oxygen species (ROS), lipid peroxidation and membrane damage. In order to reduce the impact of drought, plants accumulate soluble sugars, proline and increase enzymatic antioxidant activity. The aim of this research was to determine the effect of drought on the content of hydrogen peroxide, photosynthetic pigments, proline, malondialdehyde and the activity of antioxidant enzymes in the leaves of five traditional potato cultivars. Drought stress significantly increased the activity of antioxidant enzymes and increased the content of proline, hydrogen peroxide, malondialdehyde and photosynthetic pigments in potato leaves of tested cultivars.

Keywords: drought, stress, antioxidant enzymes, photosynthetic pigments

1. Uvod

Krumpir (*Solanum tuberosum* L.) poznata je i važna kultura koja se uzgaja diljem svijeta. Smatra se osnovnom namirnicom u ljudskoj prehrani zbog svojeg bogatog hranjivog sastava te je četvrta kultura po proizvodnji u svijetu (Aksoy i sur. 2021.). Zbog plitkog korijenovog sustava vrlo je osjetljiv na okolišne stresove i klimatske promjene koje su sve intenzivnije. Suša je jedan od okolišnih, abiotskih stresova koji čini najveće probleme u proizvodnji krumpira, ali i svim ostalim biljkama u uzgoju. Stres suše narušava normalan rast biljaka, remeti vodne odnose i narušava regulaciju vode zbog čega se smanjuje učinkovitost korištenja vode (Farooq i sur. 2012.). Relativni sadržaj vode u listu se smanjuje, dolazi do zatvaranja puči, a posljedično se smanjuje intenzitet fotosinteze, oštećuju se membrane i dolazi do neuravnotežene aktivnosti enzima. Stres uzrokovan sušom najčešće dovodi do smanjenja prinosa uzgajane kulture. Na biljci se vide negativne morfološke, fiziološke i metaboličke promjene uzrokovane sušom (Hasanuzzaman i sur. 2013.).

Biljke imaju niz fizioloških i biokemijskih odgovora u cilju smanjenja negativnih posljedica i preživljenja perioda stresa izazvanog zbog suše. Suša potiče stvaranje reaktivnih kisikovih vrsta (ROS) koji dovode do oksidativnog stresa (Hussain i sur. 2019.). Na molekularnoj razini ključni znak koji pokazuje da biljka prolazi stres izazvan sušom je upravo nakupljanje ROS-a, uz to superoksida (O_2^-) i vodikovog peroksida (H_2O_2) (Hasanuzzaman i sur. 2013.). Biljke su stvorile mehanizme kojima pokušavaju održati normalnu homeostazu stanica u nepovoljnim uvjetima. Sastoje se od enzimatskih i neenzimatskih sustava kojima uklanjaju ROS i smanjuju negativne posljedice suše. Uz to nakupljaju topive šećere i prolin kako bi se snizio osmotskih potencijal u stanicama čime se zadržava voda u stanicama.

Antioksidativni enzimi poput superoksid dismutaze (SOD), peroksidaze (POX) i katalaze (CAT) ključni su za biljku koja prolazi stres uzrokovan sušom jer služe kao prva linija obrane, minimaliziraju štetu koju uzrokuje oksidativni stres (Xu i sur. 2011.) Kako bi se uspješno borili sa oksidativnim stresom njihov sadržaj se povećava. Oni uz malondialdehid (MDA) predstavljaju najvažnije biomarkere oksidativnog stresa (Šurina 2018.).

1.1. Cilj istraživanja

Cilj ovog istraživanja je utvrditi utjecaj suše na sadržaj antioksidacijskih enzima, prolina, malondialdehida, H_2O_2 te fotosintetskih pigmenata u listu pet tradicijskih kultivara krumpira.

2. Krumpir

Krumpir (*Solanum tuberosum* L.) je jednogodišnja zeljasta biljka koja pripada porodici pomoćnica (*Solanaceae*). Spada u grupu gomoljastih kultura za proizvodnju šećera, alkohola i škroba. U svijetu postoji više od 5000 sorti krumpira, 4500 je porijeklom iz Južne Amerike, a poznato je i preko 100 divljih vrsta (Rondon i sur. 2022.). Dijeli se na dvije osnovne podvrste, a to su: *Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum* koji je tetraploidan, uzgaja se diljem svijeta te *Solanum tuberosum* subsp. *andigena* kao diploid koji se uglavnom uzgaja u Andama u Sjevernoj Americi (Organisation for Economic Cooperation and Development 1997.).

Prema podacima iz FAOSTAT-a iz 2022. godine, krumpir se smatra četvrtom najzastupljenijom poljoprivrednom kulturom, nakon pšenice, riže i kukuruza. U svijetu krumpir zauzima površinu od približno 18 milijuna hektara, u Europi 4,06 milijuna hektara, a u Hrvatskoj 7,370 tisuća hektara. Proizvodnja ove kulture u svijetu iznosi 374,777,763 milijuna tona, u Europi 98,112,779 tona, dok je to u Hrvatskoj svega 103,400 tona (FAOSTAT 2022.). Ova kultura uzgaja se u gotovo svim zemljama svijeta, a njeni najveći proizvođači su: Kina koja je u 2022. godini imala prinos od 95,6 milijuna tona, Indija sa 56,2 milijuna tona, Ukrajina sa 20,9 milijuna tona, Rusija sa 18,9 milijuna tona i peti najveći proizvođač je SAD sa 17,8 milijuna tona (FAOSTAT 2022.). Pospišil (2020.) navodi kako su u Hrvatskoj prinosi krumpiri dosta niski u usporedbi sa vodećim zemljama Europe (15,1 t/ha za rani i 20,9 t/ha za kasni krumpir). Međutim neki proizvođači uspijevaju postići prinos i do 35 t/ha, a uz navodnjavanje i do 40 t/ha.

Od šezdesetih godina prošlog stoljeća prinos krumpira je povećan za 100 milijuna tona (sa 270 milijuna do današnjih 370 milijuna tona) zbog konstantnog rada oplemenjivača na potencijalu prinosa. U istom tom periodu površine pod krumpirom smanjile su se za 5 milijuna hektara (sa 22,14 na 17,3 milijuna hektara). Navedeni podaci upućuju na povećanje prinosa po jedinici površine (Waqar Nasir i Toth 2022. prema FAOSTAT).

Prema sastavu hranjivih tvari gomolj krumpira odmah je nakon soje po sadržaju proteina po hektaru te također nakon šećerne trske po sadržaju ugljikohidrata (Johnson i Lay 1974.).

Krumpir ima veliku gospodarsku važnost zbog široke mogućnosti primjene te velike hranjive vrijednosti. Osim za prehranu ljudi na koju otpada 2/3 njegove proizvodnje krumpir se koristi za hranidbu stoke, proizvodnju alkohola, bioetanola, u farmaceutskoj, tekstilnoj, drvenoj industriji i industriji papira (Pospišil 2010.).

Rasprostranjen je od kraja juga do kraja sjevera zbog svoje velike prilagodljivosti, no najviše mu odgovaraju područja umjerenog pojasa gdje nisu vrlo visoke temperature tijekom vegetacije te u takvim uvjetima ostvaruje najstabilnije prinose (Pospišil 2010.).

Kolarić (2015.) navodi da krumpir traži lakše tipove tla koju su rastresita, propusna, pjeskovita i pjeskovito – ilovasta tla mrvičaste strukture, bogata humusom, mineralnim i organskim tvarima te sa što dubljim oraničnim slojem. Optimalan pH tla za proizvodnju krumpira je 5,4 – 6,5. Nadalje, dobra opskrbljenost vodom jedan je od najvažnijih faktora koji utječu na visinu prinosa kod krumpira (Pospišil 2010.). Ova biljka tijekom vegetacije ima

promjenjive zahtjeve za vodom pa tako na samom početku vegetacija biljka crpi vodu iz zasađenog gomolja i tla, dok joj u fazi od nicanja do cvatnje potrebe za vodom nisu velike. Najveće potrebe za vodom ima u fazi od cvatnje do završetka formiranja nadzemne mase, a nedostatak vode u toj fazi direktno utječe na smanjenje prinosa. Nakon te faze potrebe za vodom postepeno padaju. Međutim i višak vode tijekom vegetacije može imati negativan utjecaj na biljku krumpira, jer pogoduje razvitku patogenih gljivica, posebice iz roda *Phytophthora* i *Alternaria* (*Phytophthora infestans* i *Alternaria solani*). Koliko će krumpir biti otporan na nedostatak vode, to jest sušu, ovisi u kojem periodu se ona javila i kolika je dužina vegetacije određene sorte.

3. Suša

3.1. Definicija suše

Prema svjetskoj meteorološkoj organizacija (WMO, 2024) suša se definira kao dugotrajno suho razdoblje u prirodnom klimatskom ciklusu koje se može pojaviti bilo gdje u svijetu. To je razdoblje ekstremno suhog vremena koje karakterizira dugotrajni izostanak oborina ispod određenog praga na većem području te to razdoblje traje dulje od mjesec dana (WMO 2020). Suša podrazumijeva uvjete u kojima dolazi do dugotrajnog izostanka ili značajnog izostanka oborina (WMO, UNESCO 2012), a javlja se u svim područjima na Zemlji. Kao jedna od prirodnih katastrofa, suša je među onim koje financijski donose najviše štete. Zbog nedostatka vode, globalno gospodarstvo godišnje potroši 500 milijardi dolara, a šteta od suša se na godišnjoj razini procjenjuje na novčanu štetu između 6 – 8 milijardi dolara. Njen utjecaj obuhvaća različite gospodarske sektore i ljude, a obično zahvaća veća područja, no ostale prirodne katastrofe (WMO 2024).

Zbog njenog sporog početnog razvoja, sušu je lakše i jednostavnije pratiti za razliku od ostalih prirodnih katastrofa. Kad krene razdoblje suše postoji dovoljno vremena za praćenje i promatranje trenutne temperature, promjene u oborinama te razinu i stanje površinskih i podzemnih voda.

Suša spada u abiotske stresove, a prema DHMZ-u postoje 4 tipa suše:

- meteorološka,
- hidrološka,
- agronomska i
- socio-ekonomska suša.

U ovome radu na sušu se gleda sa agronomskog stajališta. Agronomska suša definirana je kao kratkoročan deficit vode u površinskoj sloju tla koji se pojavljuje u kritičnom razdoblju razvoja biljaka. Na njene negativne posljedice dodatno utječu visok temperature, niska relativna vlažnost zraka i vjetar (DHMZ, 2024).

Stres koje biljke proživljavaju mijenja njihov rast, razvoj i metabolizam, a u konačnici može rezultirati sa smrću same biljke (Lawlor 2002.). Stres suše jedan je od najvećih problema u poljoprivrednoj proizvodnji danas, a najvjerojatnije i u budućnosti.

Česta izloženost biljaka biotskim i abiotskim stresovima rezultira negativnim posljedicama na njihov rast, razvoj i produktivnost (Hassan i Ali 2014.). Prilikom izlaganja stresu suše, biokemijske reakcije kao što su: zatvaranja puči na molekularnoj razini, smanjenje stope fotosinteze i povećanje reaktivnih kisikovih vrsta (ROS) negativno utječe na samu biljku, što u konačnici dovodi do smanjene produktivnosti biljke (Anjum i sur. 2017.). Tolerantnost biljaka na sušu je odgovor biljke na stres kako bi zadržala normalno funkcioniranje organizma pri nedovoljnoj količini vode. Biljke to ostvaruju osmotskom regulacijom akumulirajući određene vrste anorganskih i organskih osmolita. Veća važnost pridaje se organskim

osmolitima, kao što su proteini, betain, prolin i ugljikohidratnim osmolitima (šećer i šećerni alkoholi) (Kereša i sur.,2008.).

3.2. Utjecaj suše na krumpir

Suša utječe na morfološke, fiziološke, ekološke, biokemijske i molekularne karakteristike biljaka (Salehi Lisar i Bakhshayeshan – Agdam 2016.).

Nasir i Toth (2022.) navode kako je današnji krumpir osjetljiv na sušu te podložan gubitku prinosa zbog stresa izazvanog sušom. Osjetljivost na sušu kod krumpira prvenstveno proizlazi iz njegovog plitkog korijenovog sustava, no također ovisi i o razvojnoj fazi, morfologiji genotipa, trajanju i jačini stresa izazvanog sušom. Krumpir je kultura koja je poznata po osjetljivosti na sušu te čak i kraći nedostaci vode u vegetaciji rezultiraju smanjenom kvalitetom gomolja (Boguszewska i sur. 2010.).

Prvi znakovi na biljci da pati od nedostatka vode je smanjenje vegetativnog rasta (visine biljke, broja i veličine listova) (Deblonde i Ledent 2001.).

Kako bi izdržale razdoblja bez oborina biljke posjeduju razne fiziološke i molekularne mehanizme u svrhu smanjenja gubitka vode i održavanja stanične homeostaze (Seleiman i sur. 2021.). Zatvaranje puči je najvažniji od tih mehanizama te igra ključnu ulogu u smanjenju gubitka vode transpiracijom na način da regulira izmjenu plinova (Hepworth i sur. 2015.). Za vrijeme stresa izazvanog sušom, zatvaranje puči pomaže biljci da kontrolira gubitak vode, no također će smanjiti usvajanje CO₂, što direktno utječe na proces fotosinteze (Pirasteh-Anosheh i sur. 2016.). Osim toga biljke kada su izložene stresu nakupljaju reaktivne kisikove vrste (ROS – reactive oxygen species) koje dovode do oksidativnih oštećenja biljaka. Reaktivne kisikove vrste, kao što su superoksid i vodikov peroksid, vežu se za molekule kisika te time ostavljaju stanice bez kisika i uzrokuju njihovu smrt (Finkel i Holbrook 2000.). Mjesta u stanicama u kojima se ROS primarno stvara jesu kloroplasti, mitohondriji, peroksisomi, apoplasti i stanična membrana (Singh i sur. 2019.). Premda ROS nastaju u biljci kao dio njenog normalnog staničnog metabolizma, kada se nakuplja u prekomjernim količinama oštećuju ugljikohidrate, lipide, proteine i DNA (Raja i sur. 2017.).

4. Antioksidacijski enzimi i antioksidativni obrambeni sustav

Budući da se biljke ne mogu kretati, to jest da su sesilni organizmi, posjeduju obrambene mehanizme koje aktiviraju kad nastupe stresni uvjeti, a u svrhu zaštite od štetnog djelovanja ROS-a. Biljke posjeduju antioksidativni obrambeni sustav koji im pomaže nositi se sa prekomjernom proizvodnjom ili nakupljanjem kisikovih radikala. Pod reaktivnim kisikovim vrstama podrazumijeva se nakupljanje dioksigena (O_2), superoksida (O_2^-), vodikovog peroksida (H_2O_2) i hidroksil radikala (OH) (Hasanuzzaman i sur. 2012.).

Antioksidacijski mehanizmi nisu ograničeni samo na stanične organele, već se u manjim količinama nalaze u citoplazmi i apoplastu (Antunović 2013.). Navedeni obrambeni sustav sastoji se od antioksidacijskih molekula u što spadaju askorbinska kiselina, glutation i tokoferol te antioksidacijskih enzima kao što su superoksid dismutaza (SOD), katalaza (CAT) i peroksidaze (POXs) (Boguszezwska i sur., 2010.).

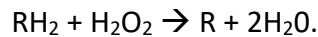
Antioksidacijski enzimi koji čine antioksidativni obrambeni sustav, a kataliziraju razgradnju ROS-a su: superoksid dismutaza (SOD), katalaza (CAT), askorbat peroksidaza (APX), monodehidroaskorbat reduktaza (MDHAR), dehidroaskorbat reduktaza (DHAR), glutation reduktaza (GR), glutation S-transferaza (GST), glutation peroksidaza (GPX) i peroksidaze (POX). Neenzimatski spojevi koje biljka koristi su askorbata (AsA), glutationa (GSH), karotenoida i tokoferola (Hasanuzzaman i sur. 2012.).

4.1. Superoksid dismutaza (SOD)

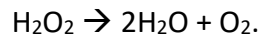
Superoksid dismutaza (SOD) je vrsta enzima koji kataliziraju dismutaciju (reakcija u kojoj se reaktant pretvara u dva različita produkta) O_2 u H_2O_2 . Točnije, oksidirani oblik superoksid dismutaze prvo će reagirati sa jednim ionom superoksida kojem će produkt biti O_2 , čime enzim prelazi u reducirani oblik. Taj reducirani oblik enzima reagirat će sa dodatnim ionom superoksida, a tada će kao produkt nastati H_2O_2 , a enzim se oksidira (Mildner 2014.). Ti enzimi stoga predstavlja prvu liniju obrane protiv ROS-a (Caverzan i sur. 2016.). Oni mogu biti vezani na metalni ion (Cu/Zn, Mn, Fe i Ni).

Većina drugih organizama ima samo jedan tip SOD-a u različitim staničnim dijelovima, dok biljke imaju više oblika svakog tipa kodiranih sa strane više od jednog gena. To ukazuje na složenost antioksidativne obrane kod biljka. Uz prethodno navedeno, biljke proizvode male neenzimske antioksidativne spojeve, a služe kao sekundarna obrana. To su primjerice, kao i prethodno navedeni; glutationi, askorbati, tokoferoli, flavanoidi, alkaloidi i karotenoidi u većim koncentracijama sposobnim za neutralizaciju ROS-a. Dismutacija koju provodi SOD nije u potpunosti povoljna, zato što vodikov peroksid koji nastaje može reagirati s metalnim ionom čime se stvara toksični hidroksid. Međutim katalaza (CAT) će taj vodikov peroksid (H_2O_2) razgraditi na kisik (O_2) i vodu (H_2O). Katalaza se uglavnom nalazi u peroksisomima, a ondje se također nalaze brojni enzimi koji proizvode H_2O_2 (Scandalios 2005.).

Pri niskim koncentracijama H₂O₂, CAT djeluje „peroksidacijski“, što znači da razni donori vodika mogu oksidirati:



Suprotno od toga, pri visokim koncentracijama, CAT razgrađuje iznimnom brzinom koristeći „katalitičku“ reakciju gdje H₂O₂ djeluje kao akceptor i donor vodika:



Sličnost između superoksid dismutaze i katalaze je u tome što obje provode redoks-reakcije u kojoj je supstrat O²⁻ (superoksidni anion) za SOD i H₂O₂ (vodikov peroksid) za CAT istovremeno reduksijsko i oksidacijsko sredstvo, dok su za peroksidaze potrebna različita reduksijska sredstva, ovisno o tome za što su namijenjene (Scandalios 2005.).

U istraživanju Antunović (2013.) koje je provedeno na ječmu (*Hordeum vulgare* L.) nije utvrđena statistički značajna razlika u aktivnosti enzima SOD-a, iako mu je aktivnost tijekom suše bila smanjena.

Kiranmai i sur. (2018.) izolirali su gen MuWRKY3 iz *Macrotyloma uniflorum* L. prilagođenog suši te pojačali njegovu ekspresiju u kikirikiju (*Arachis hypogea* L.). Transgene biljke pokazale su povećanu aktivnost SOD-a 3 – 5 puta što ukazuje na povećanu toleranciju na sušu. Istraživanje Shafi i sur. (2017.) na transgenim biljkama krumpira ukazuje na značajnu aktivnost SOD-a u usporedbi sa divljim vrstama. Te biljke su imale pojačanu toleranciju na slanost tla. Li i sur. (2017.) utvrdili su da je SOD najosjetljiviji enzim u suši, stoga ga smatraju glavnim zaštitnim enzimom prilikom prilagodbe krumpira na stres suše.

4.2. Peroksidaza (POX)

Peroksidaze su enzimi koji se nalaze u svim živim organizmima, uključujući prokariote i gljive (Ričko 2009.). Njihova uloga je kataliziranje oksidacije određenih staničnih tvari (npr. fenolnih spojeva, askorbinske kiseline, glutationa i dr.) koristeći vodikov peroksid ili organski hidroperoksid kao supstrat tj. oksidacijsko sredstvo (Gaspar i sur. 1991.). Glavnina peroksidaza može oksidirati širok raspon supstrata na račun H₂O₂, iako različitim brzinama (Christensen i sur. 1998.). U usporedbi sa katalazom, peroksidaze imaju mnogo veći afinitet za H₂O₂ i nalaze se u svim staničnim djelovima (Ričko 2009.). S obzirom na fiziološku ulogu i supstratnu specifičnost postoje dvije grupe POX-a (Asada 1992.).

Prvu grupu čine nespecifične peroksidaze koje koriste H₂O₂ za razne oksidacijske reakcije, a karakterizira ih slaba supstratna specifičnost (Gaspar i sur. 1991.). U tu grupu spadaju gvajakol (GPOX) i pirogalol-peroksidaze (PPO). Gvajakol, to jest pirogalol u in vitro uvjetima mogu služiti kao donori elektrona (Ričko 2009.). Drugoj grupi POX-a glavna uloga je uklanjanje H₂O₂, organskih hidroperoksida i lipidnih peroksida. Cilj im je spriječiti nastajanje vrlo reaktivnih radikala. Drugu grupu čine askorbat (APOX) i glutation-peroksidaza (GPX)

(Antunović 2013.). Za redukciju H_2O_2 u H_2O , biljke najčešće koriste askorbat kao reducirajući supstrat (Asada 1992.). Povećana aktivnost POX-a zabilježena je kao odgovor biljaka na razne faktore stresa, uključujući teške metale (Díaz i sur. 2001.). Istraživanje Li i sur. (2017.) utvrdilo je pojačanu aktivnost POX-a za vrijeme umjerene suše, ublažavajući oštećenja uzrokovana sušom. Rezultati istraživanja Batool i sur. (2020.) također pokazuje pojačanu aktivnost POX-a za vrijeme suše. Maksimalna je bila za vrijeme jakog stresa, a smanjena pri slabijem stresu suše. Pojačana aktivnost POX-a pozitivno utječe na otpornost biljke krumpira na stres suše, a posljedično i na stabilniji prinos.

4.3. Vodikov peroksid (H_2O_2)

Donedavno H_2O_2 je promatran uglavnom kao toksični stanični metabolit. Nedavna istraživanja potvrdila su da je H_2O_2 signalna molekula bitna u biljnom odgovoru na različite faktore stresa (Neill i sur. 2002.). Prilikom regularnih metaboličkih procesa H_2O_2 nastaje Mehler-ovom reakcijom u kloroplastima, prijenosom elektrona u mitohondrijima te fotorespiracijom u peroksisomima (Neill i sur. 2002.). Stresni uvjeti stimuliraju nastanak većih količina H_2O_2 (Neill i sur. 2002.). Mogući procesi nastanka H_2O_2 su putem enzimatskih reakcija, npr. aktivnošću NADPH-oksidadze smještene u plazmatskoj biomembrani ili, peroksidaznom aktivnošću u staničnoj stijenci. Također nastaje aktivnošću drugih oksidaza, među ostalima ksantin-oksidadze i amin-oksidadze (Neill i sur. 2002.). Vodikov peroksid slobodno difundira u stanicama, a njegov prijenos iz apoplasta može biti olakšan prolaskom kroz membranske kanale peroksiporine (Neill i sur. 2002.).

H_2O_2 koji se stvara tijekom abiotičkog stresa smatra se ključnim za signalizaciju koja omogućuje biljkama da se zaštite od stresa, slično kao što je njegova uloga u interakcijama između biljaka i patogena (Kuźniak i Urbanek 2000.).

Angon i sur. (2022.) su u svom opsežnom preglednom radu utvrdili da kada su biljke (različite biljne vrste) izložene pojedinačnom stresu zbog slanosti ili suše, kao i kombiniranom stresu, njihov sadržaj H_2O_2 i MDA se povećava u usporedbi s kontrolnim uvjetima. Do sličnih rezultata su došli i Ulusu i sur. (2022.) koji su utvrdili značajan porast sadržaja H_2O_2 kod buhača nakon 10 dana izloženosti stresu suše.

5. Utjecaj osmotske regulacije i prolina

Osmotska regulacija (OR) označava smanjenje osmotskog potencijala u stanici kao posljedica aktivne akumulacije mnogih vrsta anorganskih i organskih spojeva (Fang i Xiong 2015.). Bašić (2023.) navodi kako će veće usvajanje vode, rast turgora i otvaranje puči biti ostvareno pri manjem, to jest negativnijem osmotskom potencijalu. Navedeno snižavanje osmotskog potencijala moguće je akumulacijom kompatibilnih osmotski aktivnih tvari (osmoprotektanata). Kao odgovor na stres suše te tvari će se krenuti nakupljati u većim količinama. Jedna od kompatibilnih osmotski aktivnih tvari je prolin.

S obzirom da spomenuta tvar smanjuje osmotski potencijal u listu, a da ne utječe na turgor, stanicama lista je omogućeno prikupljanje više vode iz tla te održavanje vode u listu za vrijeme stresa suše (Sprenger i sur. 2016.).

Prolin je aminokiselina koja se sintetizira u lisnim tkivima biljaka koje trpe stres izazvan sušom. Skupa sa šećerom u lišću naglo metabolizira, dok se oporavlja od stresa (Kameli i Lasel 1993.). Prolin može poslužiti kao signalna molekula koja regulira funkcije mitohondrija, utječe na rast ili smrt stanica te potiče ekspresiju određenih gena, što može značajno utjecati na oporavak biljke (Obidiegwu i sur. 2015.).

U radu Chen i sur. (2019.) na temu učinaka suše i rehidracije na fiziološke odgovore *Artemisia halodendron* L. zamijećeno je povećanje sadržaja prolina za vrijeme jake suše (također POX-a, CAT-a, toplivih proteina i šećera), a on igra važnu ulogu u obrambenom mehanizmu što biljkama daje mogućnost da bolje podnesu stres suše. Brojna istraživanja su utvrdila značajno povećanje sadržaja prolina u suši. Tako je utvrđeno značajno povećanje sadržaja prolina u stresu suše kod genotipova riže (Dien i sur. 2019), pamuka (Parida i sur. 2008.) i pšenice (Sultan i sur. 2012.).

6. Malondialdehid (MDA)

Zbog raznih čimbenika stresa (npr. suša) biljke doživljavaju lipidnu peroksidaciju membrana kojoj je krajnji produkt većinom malondialdehid (MDA). MDA je ključni pokazatelj oštećenja sustava membrana te se koristi kao indikator otpornosti biljaka na stres. Stres uzrokuje povećanu lipidnu peroksidaciju membrana, a time se i sadržaj MDA povećava. Zbog toga dolazi do unakrsnog povezivanja i denaturacije nukleinskih kiselina i proteina, čime se ubrzava proces starenja (Qiu i sur. 2024.).

Rezultati istraživanja Mihaljević i sur. (2021.) pokazuju da je viša koncentracija MDA u biljkama jabuke pogođenih sušom povezana sa višim sadržajem H_2O_2 . Intenzitet MDA i H_2O_2 povećavao se s intenzitetom suše. Istraživanje Jiao i sur. 2012. utvrdilo je da stres suše značajno povećava sadržaj MDA u listovima mladica krumpira, a time i relativnu propusnost membrane.

7. Pigmenti lista (klorofil a, klorofil b i karotenoidi)

Klorofil a (zeleni pigmenti) i klorofil b (žuti pigmenti) su dvije vrste klorofila koji proizvode energiju u fotosustavima I. i II. Klorofil a je primarni fotosintetski pigment, reakcijski je centar antena, sastoji se od osnovnih proteina koji vežu klorofil i karotenoide, dok je klorofil b pomoćni pigment koji skuplja energiju i prenosi na klorofil a (Roca i sur. 2016, prema Orsák i sur. 2023.). Karotenoidi su žuti, narančasti i crveni pigmenti. Imaju važnu ulogu u fotosintetskim i nefotosintetskim tkivima gdje skupljaju svjetlost ili djeluju kao signalne molekule, prekursori aroma te privlače oprašivače (Nisar i sur. 2015.).

Abiotski stres, uz prethodno navedeno, može dovesti do smanjenja fotosinteze, zatvaranja puči i uzrokovati gubitak fotosintetskih pigmenata ukoliko su mu biljke izložene kratkom vremenskom periodu (Li i sur. 2017.). Međutim ukoliko su biljke izložene duljem vremenskom periodu stresu suše sadržaj klorofila se povećava (Li i sur. 2019). Čini se da je povećanje zelenila lišća (veći sadržaj klorofila) u suši svojstvo negativno povezana s otpornošću na sušu kod krumpira za razliku od pšenice (Yang i sur. 2001.) ili kukuruza (Young i sur. 2004.). Rolando i sur. (2015.) utvrdili su da je smanjenje lisne površine u suši odgovorno za veću koncentraciju klorofila po jedinica površine lamine koja uzrokuje efekt odgođenog starenja.

U istraživanju Li i sur. (2019.) genotipovi koji kod kojih je utvrđeno povećanje sadržaja klorofila u suši imali su veće oštećenje membrane od kontrolnih biljaka (veći MDA), dok je odgođeno starenja lišća bila povezano s manjim oštećenjem membrane s većom oksidativnom obranom (POX).

8. Materijali i metode

U ovom istraživanju korišteno je pet hrvatskih tradicijskih kultivara krumpira. Tradicijski kultivari koji su korišteni u ovom istraživanju su; „Brinjak“, „Križpolje“, „Lipice žuti“, „Plitvički“ i „Poli“. Navedeni kultivari prikupljeni su na području Republike Hrvatske u sklopu Nacionalnog programa očuvanja i održive uporabe za hranu i poljoprivredu u Republici Hrvatskoj. Istraživani kultivari pohranjeni su u Nacionalnu banku biljnih gena i evidentirani u Hrvatskoj bazi podataka o biljnim genetskim izvorima.

8.1. Tijek istraživanja

Od po 15 biljaka svakog genotipa zasađeno je u tegle i uzgajane su 47 dana u komori rasta u normalnim uvjetima (slika 8.1.1.). Uvjeti u komori rasta tokom rasta, a i kasnije prilikom izlaganja stresu suše bili su isti. Dan je trajao 16 sati, dok je noć trajala 8 sati. Temperatura zraka u komori tokom dana iznosila je 23°C, dok je tokom noći iznosila 19°C.



Slika 8.1.1. Krumpir u komori rasta prije početka stresa suše

Nakon perioda rasta i razvoja bez utjecaja suše uslijedilo je razdoblje od 56 dana u kojem je osam biljaka svakog kultivara (ukupno 40 biljaka) izloženo stresu suše i zalijevano na 60% utvrđenog ukupnog poljskog kapaciteta tla za vodu. Ostalih sedam biljaka svakog kultivara (ukupno 35 biljaka) predstavljale su kontrolne biljke, zalijevane su normalno i nisu bile izložene stresu suše. 49 dana nakon početka stresa suše uzeti su uzorci lista za biokemijske analize. Uzeta su tri uzorka sa kontrolnih biljaka i tri uzorka sa biljaka u stresu suše (ukupno 30 uzoraka) za svaki kultivar. Listovi su liofilizirani i pohranjeni na nisku temperaturu. Uzorci su smljeveni u fini prah te su na njima vršene kemijske analize.

8.2. Kemijske analize

8.2.1. Određivanje sadržaja superoksid dismutaze (SOD) u listu

Za određivanja sadržaja SOD-a u ovome radu korištena je spektrofotometrijska metoda detekcije koja se temelji na upotrebi nitro plavog tetrazolijskog klorida (NBT) kao supstrata, prema Giannopolites i Ries (1977.). U prisutnosti superoksidnih radikala, NBT se reducira u neotopiv, plavo obojeni formazan koji se pokazuje apsorpcijski maksimum na valnoj duljini od 560 nm. Ukoliko je prisutan SOD, redukcija samoga NTB-a je inhibirana. Aktivnosti SOD-a izražava se kao ona količina enzima koja uzrokuje 50% inhibicije redukcije NBT-a pri 560 nm u prisutnosti riboflavina na svjetlu.

Dan prije analize izrađen je pufer za izdvajanje proteina (pH 7,0). Pripremljeno je 50 ml pufera koji se sastoji od 1,583 ml 1 M otopine K_2HPO_4 i 0,963 ml 1M otopine KH_2PO_4 , dodano 500 μ l 10 mM EDTA (etilendiaminotetraoctena kiselina) i 49 mg Na-askorbata (44 mg askorbinske kiseline) i nadopunjeno je do 50 ml reH_2O . Otopina čuvana na temperaturi od 4 °C. Uz to za određivanje sadržaja SOD-a pripremljen je pufer za mjerenje aktivnosti SOD-a. Za 200 ml pufera odpipetirano je 9,08 ml 1 M otopine K_2PO_4 i 0,92 1 M otopine KH_2PO_4 , dodano je 2 ml 10 mM EDTA, 0,388 g metionina, 127 mg NBT-a te je nadopunjeno do 200 ml reH_2O . Također je otopljen 2%-tni polivinil-polipirrolidon (PVPP-veže polifenole koji bi mogli smetati pri reakciji) u deH_2O .

Za određivanje SOD-a izvagano je 100 mg uzorka te je homogenizirano u 1 ml hladnog pufera za izdvajanje proteina (pH 7,0) i dodano je 200 μ l PVPP-a. Nakon toga je izvršena centrifugacija uzorka 20 min pri 29 000 x g pri temperaturi od 4 °C. Nakon što je završeno centrifugiranje uzorci su stavljeni u hladno te je izuzet ekstrakt od taloga. Za mjerenje SOD-a pomiješan je volumen ekstrakta i pufer za izdvajanje proteina (pH 7,0) ukupnog volumena 0,1 ml. U kivetu je stavljeno 2,9 ml pufera za mjerenje aktivnosti SOD-a (pH 7,8) i 0,1 ml ekstrakta pomiješanog sa puferom te je dodan riboflavin (2 μ M). Uzorci su zatim pomiješani i stavljeni 10 min ispod izvora svjetla te je bila pokrenuta reakcija koja je zaustavljena zamračivanjem uzoraka. Spektrofotometar je prije očitavanje uzorak podešen na nultu vrijednost slijepom probom koja je označena slovom A. Kada je izvršeno podešavanje na nultu vrijednost očitavane su vrijednosti uzoraka i izrađena je krivulja aktivnosti.

8.2.2. Određivanje sadržaja nesecifičnih peroksidaza (POX) u listu

Nespecifične peroksidaze (POX) određivane su pomoću spektrofotometra. Za izvedbu mjerenja peroksidaza napravljen je 50 mM kalij-fosfatni pufer (pH 7,0). Izrađeno je 50 ml pufera u koji se pipetiralo 1,583 ml 1 M otopine K_2HPO_4 i 0,936 1 M otopine KH_2PO_4 te je nadopunjeno deH_2O do 50 ml. Pufer za mjerenje aktivnosti POX-a sastojao se od 50 mM KP-pufera, 18 mM gvajakol i 5 mM H_2O_2 . Za 50 ml pufera za mjerenje aktivnosti POX-a dodano je

100,65 μl gvajakola, 25,5 μl 30% H_2O_2 te je nadopunjeno 50 mM KP-puferom (pH 7,0) do 50 ml. U kivetu za određivanje POX-a dodano je 950 μl pufera za mjerenje aktivnosti POX-a i dodano je 10 μl uzorka. Apsorbancija je mjerena spektrofotometrom svakih 15 s tijekom 2,5 min pri valnoj duljini od 470 nm.

8.2.3. Određivanje sadržaja vodikovog peroksida (H_2O_2) u listu

Količinu H_2O_2 određena je prema metodi Sergijev i sur. (1997). Za pripremu ekstrakta izvagano je 30 mg suhog lisnog tkiva u koji je dodano 1 mL 0,1%-tne trikloroctene kiseline (TCA) te vorteksirano. Dobiveni ekstrakt je potom centrifugiran 10 min na 13 000 rpm pri temperaturi od 4 $^{\circ}\text{C}$ te je odvojen supernatant. Za spektrofotometrijsko mjerenje količine vodikovog peroksida u plastičnu kivetu dodano 200 μL supernatanta, 250 μL 10 mM kalij-fosfatnog pufera (pH 7,0) i 1 mL 1M kalij jodida (KI). Za slijepu probu je umjesto supernatanta korišten ekstrakcijski pufer. Apsorbancija je mjerena spektrofotometrijski pri valnoj duljini 390 nm. Pomoću baždarnog dijagrama, izmjerenih apsorbancija uzoraka te mase svježeg tkiva izračunat je udio vodikovog peroksida i izražen kao ng H_2O_2 po mg suhog tkiva [ng mg^{-1} suhog tkiva].

8.2.4. Određivanje sadržaja prolina u listu

Sadržaj prolina određen je spektrofotometrijskom metodom prema Carillo i Gibon (2011.). Slijepa proba pripremljena je od 20 μl destilirane vode. Istraživanje je provedeno na slijedeći način. Prah usitnjenog uzorka mase 0,025 g pomiješan je s 1 ml hladnog 70%-tnog etanola te je dobivena smjesa pomiješana. U tako priređenu homogenu ekstrakcijsku smjesu dodano je 1 ml hladnog 70%-tnog etanola, nakon čega je provedeno centrifugiranje u trajanju od 10 min na 4 $^{\circ}\text{C}$ i maksimalnom broju okretaja. Alikvot od 500 μl centrifugiranog uzorka pomiješan je s 500 μl 60%-tne octene kiseline i 500 μl 1%-tnog ninhidrina. Dobivena smjesa stavljena je u termomikser (eng. thermoshaker) na temperaturu od 95 $^{\circ}\text{C}$ u trajanju od 20 min, a potom je stavljena na led u trajanju od 15 min. Smjesa je nakon toga centrifugirana u trajanju od 10 min pri 10 000 rpm te je na poslijetku spektrofotometrom izmjerena apsorbancija pri 520 nm.

Sadržaj prolina dobivena je prema slijedećoj jednadžbi:

$$\text{Prolin} = \frac{(\text{Abs}_{\text{ekstrakta}} - \text{slijepa proba})}{\text{nagib}} \times \frac{V_{\text{ekstrakta}}}{V_{\text{aliquota}}} \times \frac{1}{\text{DW}}$$

Gdje su:

Abs_{ekstrakta} = apsorbancija određena s ekstraktom

Slijepa proba (izražena apsorbancijom) i **nagib** (izražen kao apsorbancija/nmol) određeni su linearnom regresijom dobivene kalibracijske krivulje.

V_{ekstrakta} = ukupni volumen ekstrakta

V_{aliquota} = ukupni volumen uzorka korištenog u analizi

DW = količina ekstrahiranog biljnog materijala (izražena u mg)

8.2.5. Određivanje sadržaja malondialdehida (MDA) u listu

Lipidna peroksidacija je utvrđena mjerenjem koncentracije malondialdehida, prema metodi Health i Packer (1968). Za pripremu ekstrakta je izvagano 30 mg suhog lisnog tkiva uz dodatak 1 mL reakcijske smjese za lipidnu peroksidaciju. Reakcijsku smjesu čine 0,25% tiobarbituratske kiseline (TBA) i 10% trikloroetene kiseline (TCA). Uzorci su inkubirani 25 min na 95 °C u staklenim semimikroepiuvetama, a potom ohlađeni na ledu i centrifugirani 10 min na 13 000 rpm pri 4 °C. Odvojenom supernatantu se mjerila apsorbancija na valnim duljinama od 532 i 600 nm. Za slijepu probu korištena je čista reakcijska smjesa za lipidnu peroksidaciju. Stupanj lipidne peroksidacije izražen je kao koncentracija MDA odnosno μmol malondialdehida po g suhog tkiva [μmol g⁻¹ suhe tvari], prema jednadžbi: Sadržaj MDA = (A₅₃₂ – A₆₀₀).

8.2.6. Analiza klorofila i karotenoida

Određivanje klorofila i karotenoida započelo je mljevenjem uzoraka do puderaste konzistencije. Zatim je izvagano 0,01 g uzorka i stavljeno u epice. U svaku epicu dodano je 4 ml ekstrakcijskog otapala (3,2 ml acetona i 0,8 ml vode).

Uzorak s otapalom stavljen je u vorteks na pola sata, nakon čega je centrifugiran (5 minuta na 40C i 28 900 G). Dobivena otopina ispipetirana je u kivete te nadopunjena ekstrakcijskim otapalom. Apsorbancija klorofila i karotenoida utvrđivala se na UV-VIS spektrofotometru iz koje se izračunala njihova koncentracija pomoću sljedećih formula prema Niroula i sur. (2019.):

$$\text{Chl } a = 12.21 * A_{663} - 2.81 * A_{646}$$

$$\text{Chl } b = 20.13 * A_{646} - 5.03 * A_{663}$$

$$\text{Car} = 4.69 * A_{440.5} - 0.268 * (\text{Chl } a + \text{Chl } b)$$

Kao slijepa proba koristilo se ekstrakcijsko otapalo, te su za analizu korištene različite valne duljine:

1. klorofil *a* – 663 nm
2. klorofil *b* – 646 nm
3. karotenoidi – 440.5 nm

9. Rezultati i rasprava

Tablica 9.1. Rezultati analize varijance za antioksidacijske enzime

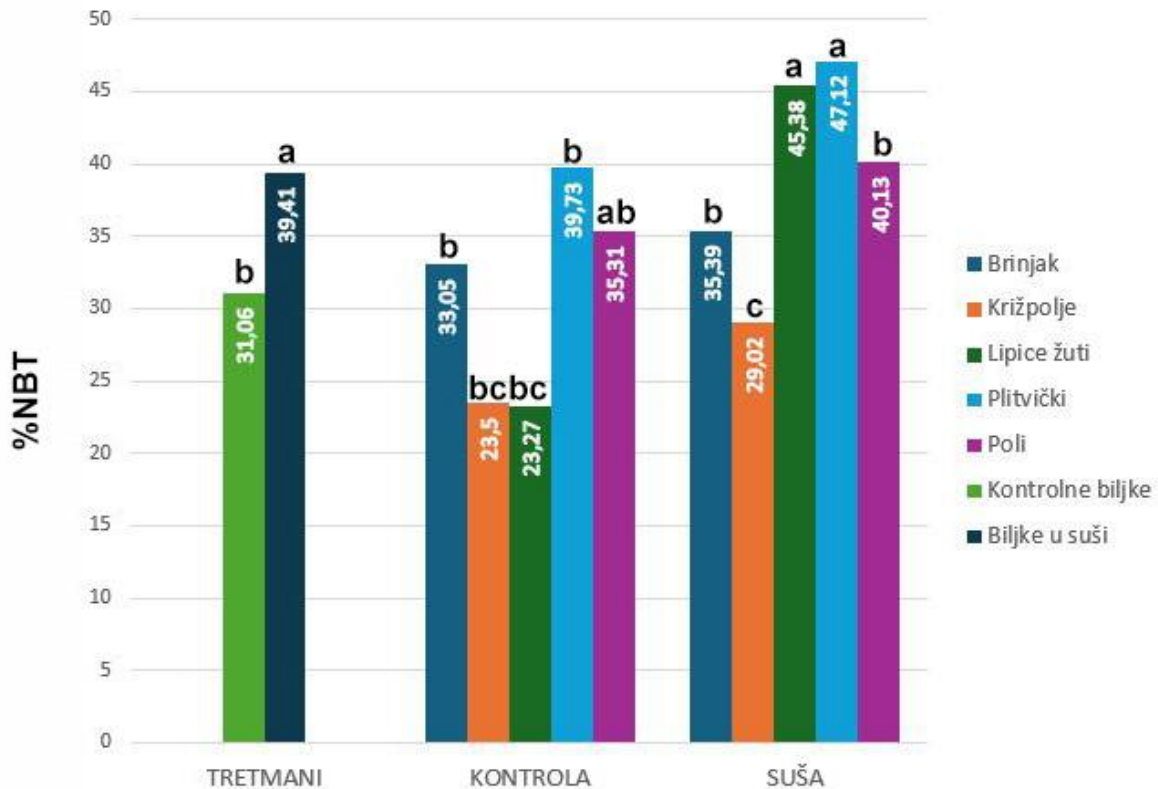
Antioksidacijski enzimi				
Izvor varijabilnosti	SOD		POX	
	F vrijednost	Pr > F	F vrijednost	Pr > F
Genotip (G)	105,94	***	95,63	***
Tretman (T)	237,86	***	109,11	***
Interakcija Genotip x Tretma (G x T)	40,06	***	17,02	***

*, **, *** F vrijednost značajna kod $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$; ns - nije značajno

U tablici 9.1. prikazani su rezultati analize varijance za antioksidacijske enzime (superoksid dismutaze (SOD) i peroksidaze (POX)).

Između genotipa, tretmana i kod interakcije genotip x tretman utvrđena je značajna razlika u aktivnosti oba analizirana antioksidacijska enzima.

9.1. Superoksid dismutaza



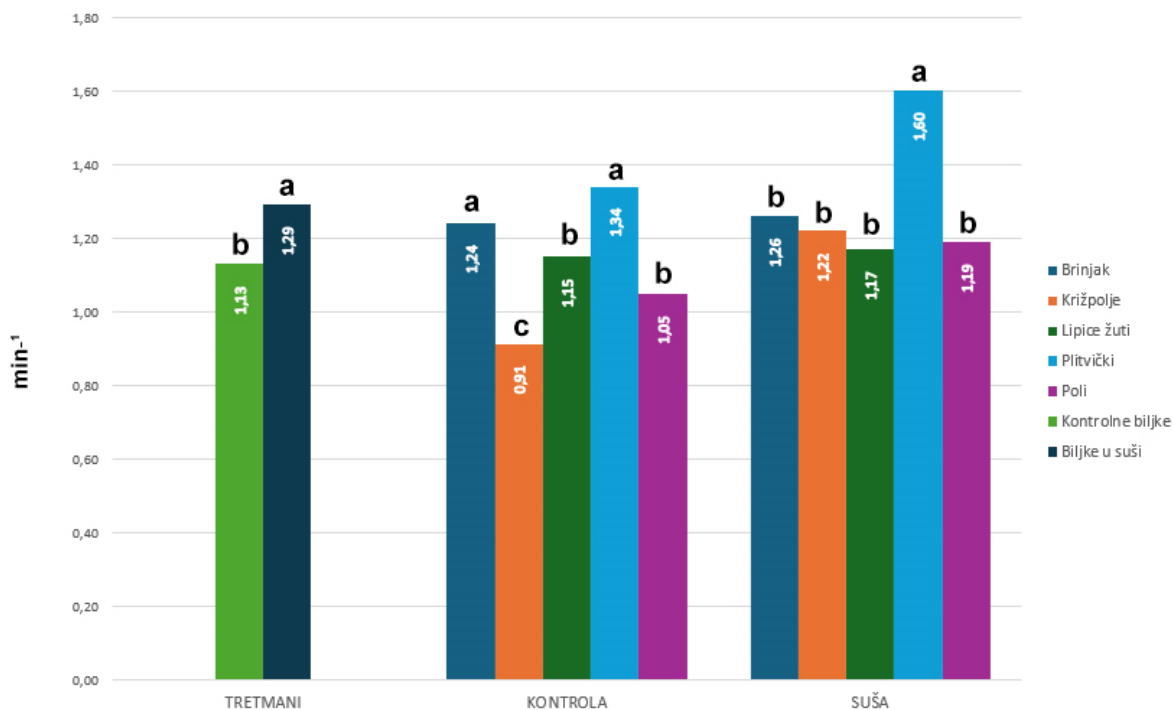
Grafikon 9.1.1. Interakcija genotip x tretman za aktivnost superoksid dismutaze kod kontrolnih biljaka i biljaka u stresu suše za svaki testirani genotip
Vrijednosti u stupcima unutar istog tretmana označene različitim slovom značajno se razlikuju kod $p \leq 0,05$

Graf 9.1.1. prikazuje rezultate interakcije genotip x tretman za superoksid dismutazu (SOD). Prikazane su prosječne vrijednosti SOD-a kontrolnih biljaka i biljaka u stresu suše za sve genotipove uključene u ovo istraživanje.

Prosječna vrijednost SOD-a u kontrolnim uvjetima iznosila je 31,06 %NBT dok je u sušnim uvjetima sadržaj bio za 27% veći i iznosio je 39,41 %NBT. Dobiveni rezultati ukazuju da suša utječe na povećanje sadržaja SOD-a u listu krumpira kod većine istraživanih genotipova. Rezultati ovog istraživanja sukladni su sa rezultatima istraživanja Boguszewska i sur. (2010.) na primjeru krumpira te su sukladni sa rezultatima istraživanja drugih autora koji su u svojim istraživanjima kod različitih kultura pod utjecajem stresa suše utvrdili povećanje aktivnosti SOD-a (Zlatev i sur. 2006., Abedi i Pakniyat 2010.).

Ukoliko promatramo pojedinačno kretanje sadržaja SOD-a kod testiranih genotipova, najveći sadržaj SOD-a u kontrolnim uvjetima utvrđen je kod kultivara Plitvički, a najmanji kod kultivara Lipice žuti i Križpolje. U sušnim uvjetima najveći porast aktivnosti SOD-a imali su kultivari Plitvički, zatim Lipice žuti, dok je najmanji sadržaj u sušnim uvjetima utvrđen kod kultivara Križpolje. Povećana aktivnost SOD-a povezuje se s tolerantnošću genotipova krumpira na sušu (Zheng i sur. 2023.).

9.2. Peroksidaza



Grafikon 9.2.1. Interakcija genotip x tretman za prosječnu aktivnost peroksidaze (POX) kontrolnih biljaka i biljaka u stresu suše za svaki testirani genotip

Vrijednosti u stupcima unutar istog tretmana označene različitim slovom značajno se razlikuju kod $p \leq 0,05$

Graf 9.2.1. prikazuje rezultate interakcije genotip x tretman za aktivnost peroksidaze (POX). Prikazane su prosječne vrijednosti peroksidaza kontrolnih biljaka i biljaka u stresu suše za sve genotipove uključene u ovo istraživanje.

Prosječna vrijednost peroksidaze u kontrolnim uvjetima iznosila je $1,13 \text{ min}^{-1}$, dok je u sušnim uvjetima sadržaj bio za 14% veći i iznosio je $1,29 \text{ min}^{-1}$. Dobiveni rezultati ukazuju da suša utječe na povećanje aktivnosti peroksidaza u listu krumpira. Rezultati ovog istraživanja u suglasnosti su sa rezultatima istraživanja drugih autora koji su u svojim istraživanjima kod različitih kultura pod utjecajem stresa suše utvrdili povećanje razine POX-a (Terzi i Kadioglu 2006., Mafakheri i sur. 2011.).

Najveći sadržaj POX-a kod testiranih genotipova u kontrolnim uvjetima utvrđen je kod kultivara Plitvički, dok je najmanji sadržaj utvrđen kod kultivara Križpolje. U sušnim uvjetima najveći porast aktivnosti POX-a imali su kultivari Križpolje i Plitvički, dok kod drugih kultivara nije bilo značajne promjene. Najmanji sadržaj u sušnim uvjetima utvrđen je kod kultivara Lipice žuti. Genotipovi kod kojih je utvrđeno značajno povećanje aktivnosti POX-a, prema istraživanju Hana (1997.), tolerantniji su na stres suše.

Tablica 9.2. Rezultati analize varijance za prolin, H₂O₂ i MDA

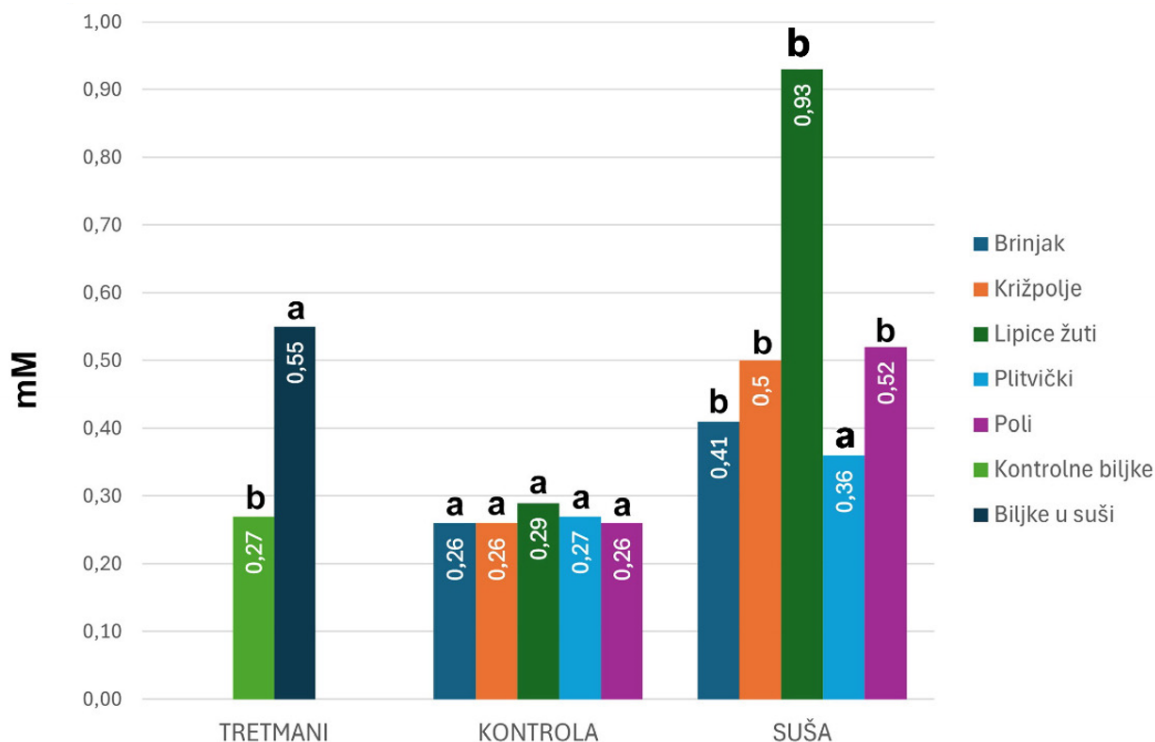
Izvor varijabilnosti	PROLIN		H ₂ O ₂		MDA	
	F vrijednost	Pr > F	F vrijednost	Pr > F	F vrijednost	Pr > F
Genotip (G)	27,66	***	33,08	***	67,13	***
Tretman (T)	188,87	***	52,81	***	88,35	***
Interakcija Genotip x Tretma (G x T)	22,74	***	30,48	***	4,09	**

*, **, *** F vrijednost značajna kod p<0,05, p<0,01, p<0,001; ns - nije značajno

U tablici 9.2. prikazani su rezultati analize varijance za prolin, vodikov peroksid (H₂O₂) i malondialdehida (MDA).

Između genotipova, tretmana i kod interakcije genotip x tretman utvrđena je značajna razlika u sadržaju prolina, vodikovog peroksida i malondialdehida.

9.3. Prolin



Grafikon 9.3.1. Interakcija genotip x tretman za sadržaj prolina kod kontrolnih biljaka i biljaka u stresu suše za svaki testirani genotip

Vrijednosti u stupcima unutar istog tretmana označene različitim slovom značajno se razlikuju kod $p \leq 0,05$

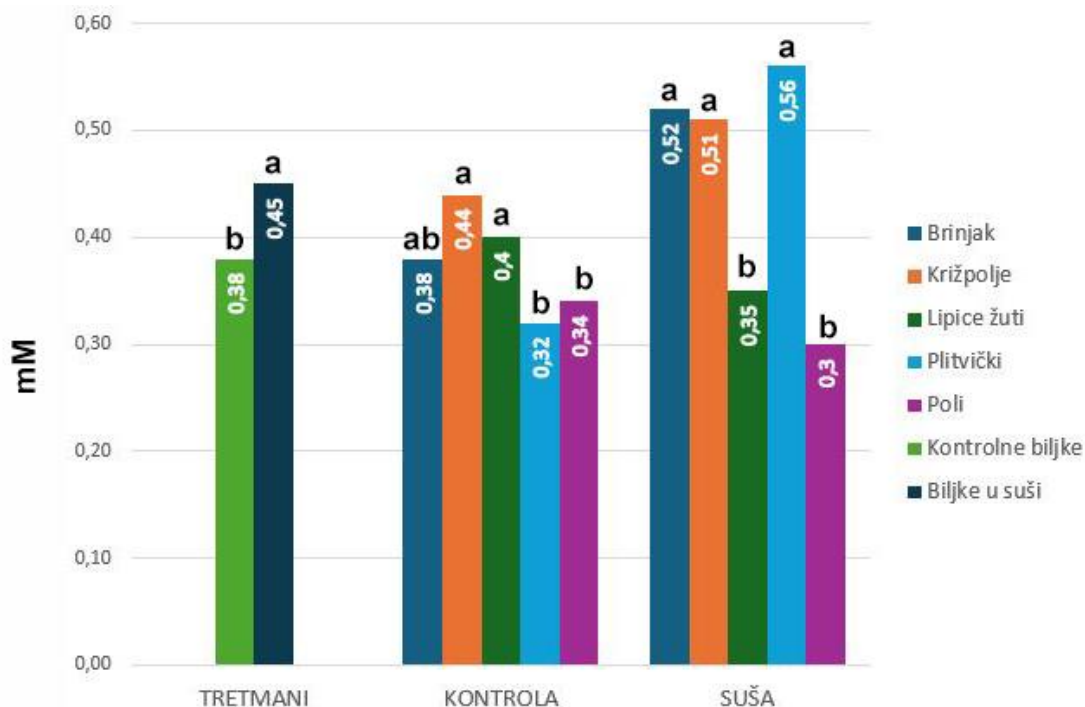
Graf 9.3.1. prikazuje rezultate interakcije genotip x tretman za prolin. Prikazane su prosječne vrijednosti prolina kontrolnih biljaka i biljaka u stresu suše za sve genotipove uključene u ovo istraživanje.

Prosječna vrijednost prolina u kontrolnim uvjetima iznosila je 0,27 mM, dok je u sušnim uvjetima sadržaj bio za 104% veći i iznosio je 0,55 mM. Dobiveni rezultati ukazuju da suša utječe na povećanje sadržaja prolina u listu krumpira.

Rezultati ovog istraživanja u suglasnosti su sa rezultatima istraživanja drugih autora koji su u svojim istraživanjima kod različitih kultura pod utjecajem stresa suše utvrdili povećanje sadržaja prolina (Schafleitner i sur. 2007., Bayat i Moghadam 2019.).

Sadržaj prolina u kontrolnim uvjetima bio je podjednak kod svih testiranih genotipova. U sušnim uvjetima najveći sadržaj prolina imao je kultivar Lipice žuti, dok je najmanji sadržaj imao kultivara Plitvički. Prema Tayebimeigooni i sur. (2012.) genotipovi koji značajno ne povećavaju sadržaj prolina u uvjetima stresa suše ili slanosti tla ukazuju na tolerantnost na abiotički stres, što je najvjerojatnije povezano s kontroliranom sintezom prolina, što je iznimno zahtjevan energetski proces.

9.4. Vodikov peroksid



Grafikon 9.4.1. Interakcija genotip x tretman za prosječni sadržaj vodikovog peroksida kod kontrolnih biljaka i biljaka u stresu suše za svaki testirani genotip

Vrijednosti u stupcima unutar istog tretmana označene različitim slovom značajno se razlikuju kod $p \leq 0,05$

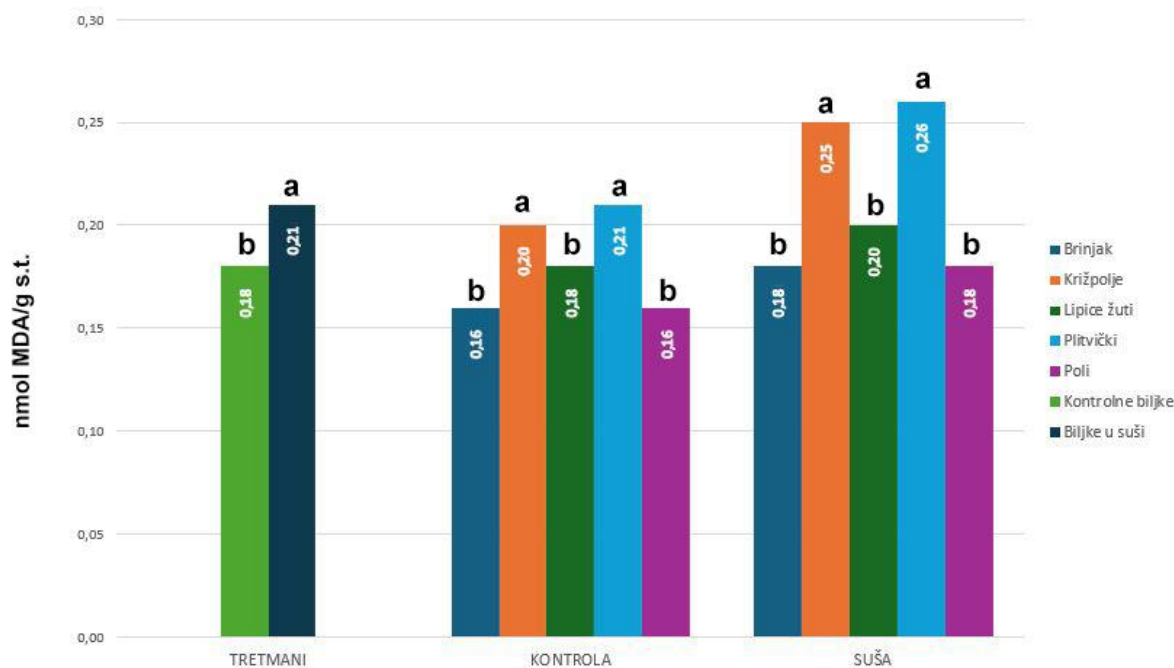
Graf 9.4.1. prikazuje rezultate interakcije genotip x tretman za vodikov peroksid (H_2O_2). Prikazane su prosječne vrijednosti H_2O_2 kontrolnih biljaka i biljaka u stresu suše za sve genotipove uključene u ovo istraživanje.

Prosječna vrijednost H_2O_2 u kontrolnim uvjetima iznosila je 0,38 mM, dok je u sušnim uvjetima sadržaj bio za 18% veći i iznosio je 0,45 mM. Dobiveni rezultati ukazuju da suša utječe na povećanje sadržaja H_2O_2 u listu krumpira kod većine istraživanih genotipova. Rezultati ovog istraživanja u skladu su sa radom Luna i sur. (2005.) gdje je također zabilježeno povećanje sadržaja vodikovog peroksida nakon smanjenog sadržaja vode u tlu.

Ukoliko promatramo pojedinačno kretanje sadržaja H_2O_2 kod testiranih genotipova, najveći sadržaj H_2O_2 u kontrolnim uvjetima utvrđen je kod kultivara Križpolje, dok je najmanji sadržaj utvrđen kod kultivara Plitvički. U sušnim uvjetima najveći porast sadržaja H_2O_2 imali su kultivari Plitvički, zatim Brinjak i Križpolje. Najmanji sadržaj u sušnim uvjetima utvrđen je kod kultivara Lipice žuti.

Različiti abiotski stresovi, uključujući sušu, potiču sintezu različitih vrsta reaktivnih kisikovih vrsta (ROS) kao što je H₂O₂, koje oštećuju lipide membrane (Koscy i sur. 2005), prema tome ne iznenađuje činjenica da upravo oni genotipovi koji imaju povećan sadržaj vodikovog peroksida imaju i značajno povećanje MDA zbog oštećenja membrane.

9.5. Melondialdehid



Grafikon 9.5.1. Interakcija genotip x tretman za prosječni melondialdehid kod kontrolnih biljaka i biljaka u stresu suše za svaki testirani genotip

Vrijednosti u stupcima unutar istog tretmana označene različitim slovom značajno se razlikuju kod $p \leq 0,05$

Graf 9.2.3. prikazuje rezultate interakcije genotip x tretman za melondialdehid (MDA). Prikazane su prosječne vrijednosti melondialdehida kontrolnih biljaka i biljaka u stresu suše za sve genotipove uključene u ovo istraživanje.

Prosječna vrijednost MDA u kontrolnim uvjetima iznosila je 0,18 nmol MDA/g suhe tvari, dok je u sušnim uvjetima sadržaj bio za 16% veći i iznosio je 1,29 nmol MDA/g suhe tvari. Dobiveni rezultati ukazuju da suša utječe na povećanje sadržaja MDA u listu krumpira. Rezultati ovog istraživanja u suglasnosti su sa rezultatima istraživanja drugih autora koji su u svojim istraživanjima kod različitih kultura pod utjecajem stresa suše utvrdili povećanje razine MDA (Guo i sur. 2018., Sofo i sur. 2004.).

Najveći sadržaj MDA kod testiranih genotipova u kontrolnim uvjetima utvrđen je kod kultivara Plitvički, dok je najmanji sadržaj utvrđen kod kultivara Brinjak i Poli. U sušnim uvjetima najveći porast aktivnosti MDA imali su kultivari Križpolje i Plitvički, dok kod drugih

kultivara nije bilo značajne promjene. Najmanji sadržaj u sušnim uvjetima utvrđen je kod kultivara Brinjak i Poli. Møller i sur. (2007.) u svom radu sugeriraju da viši sadržaj MDA uzrokuje ozbiljnije oksidativno oštećenje kod biljaka.

Tablica 9.3. Rezultati analize varijance za biljne pigmente

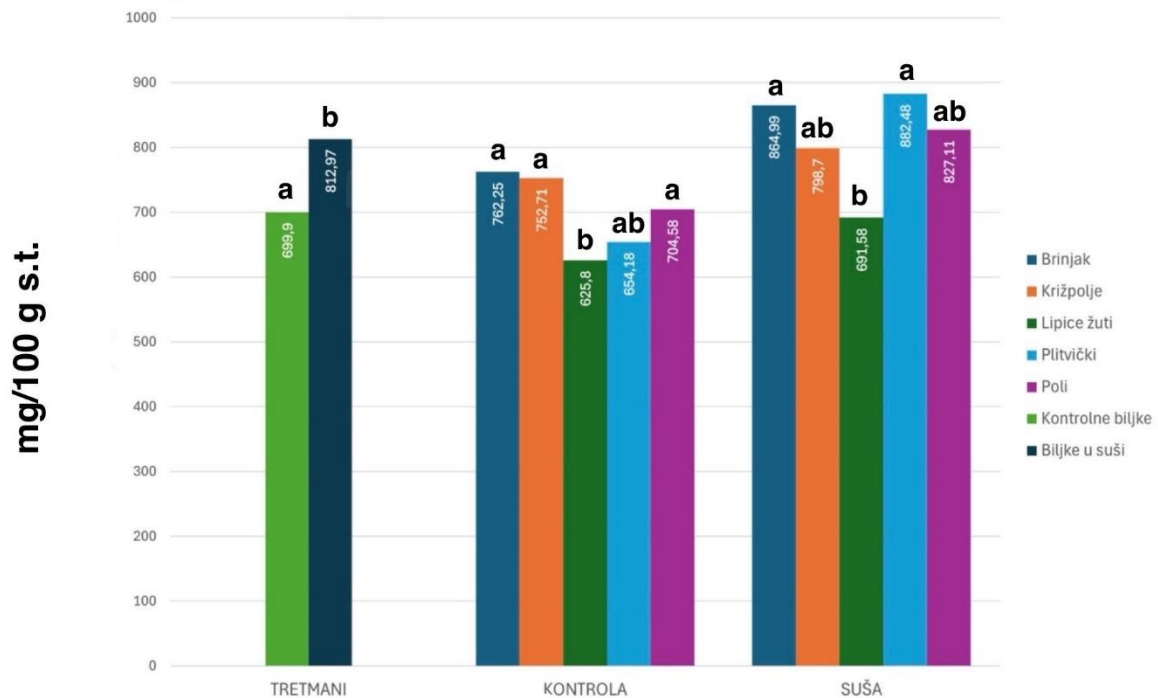
Izvor varijabilnosti	Pigmenti					
	Klorofil A		Klorofil B		Karotenoidi	
	F vrijednost	Pr > F	F vrijednost	Pr > F	F vrijednost	Pr > F
Genotip (G)	14,5	***	26,73	***	12,41	***
Tretman (T)	69,04	***	133,32	***	148,69	***
Interakcija Genotip x Tretman (G x T)	5,46	**	11,8	***	7,89	**

*, **, *** F vrijednost značajna kod $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$; ns - nije značajno

U tablici 9.3. prikazani su rezultati analize varijance za biljne pigmente (klorofil A, klorofil B i karotenoide).

Između genotipova, tretmana i kod interakcije genotip x tretman utvrđena je značajna razlika u sadržaju sva tri analizirana biljna pigmenta.

9.6. Klorofil a



Grafikon 9.6.1. Interakcija genotip x tretman za sadržaj klorofila a kod kontrolnih biljaka i biljaka u stresu suše za svaki testirani genotip

Vrijednosti u stupcima unutar istog tretmana označene različitim slovom značajno se razlikuju kod $p \leq 0,05$

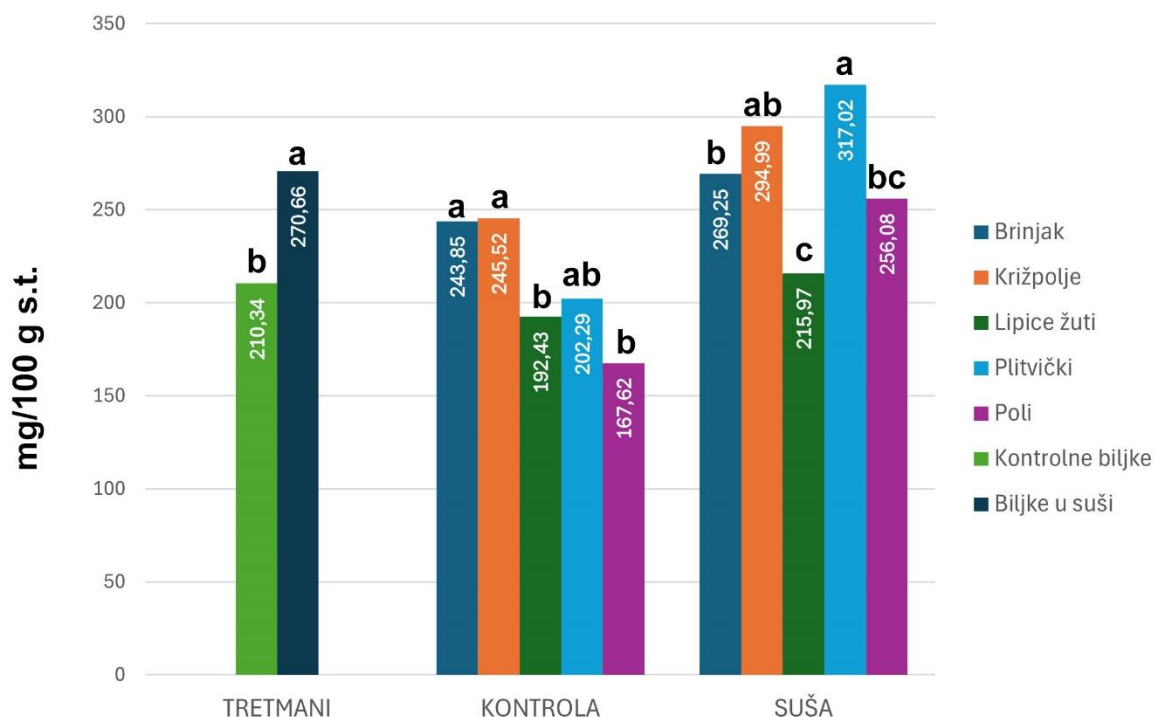
Graf 9.6.1. prikazuje rezultate interakcije genotip x tretman za klorofil a. Prikazane su prosječne vrijednosti klorofila a kontrolnih biljaka i biljaka u stresu suše za sve genotipove uključene u ovo istraživanje.

Prosječna vrijednost klorofila a u kontrolnim uvjetima iznosila je 699,90 mg klorofila a/100 g suhe tvari, dok je u sušnim uvjetima sadržaj bio za 16% veći i iznosio je 812,97 klorofila a/100 g suhe tvari. Dobiveni rezultati ukazuju da suša utječe na povećanje sadržaja klorofila a u listu krumpira. Rezultati ovog istraživanja u suglasnosti su sa rezultatima istraživanja Yang i sur. (2023.) koji su u svojem istraživanju na određenim sortama pšenice pod utjecajem stresa suše također utvrdili povećanje razine klorofila a. Međutim, dobiveni rezultati istraživanja nisu suglasni sa istraživanjima većine autora koji su na drugim kulturama zabilježili pad sadržaja klorofila a pod utjecajem stresa suše (Mafakheri i sur. 2010., Khayatnezhad i Gholamin 2012., Meher i sur. 2018.).

Pojedinačno promatrajući kretanje sadržaja klorofila a kod testiranih genotipova, najveći sadržaj klorofila a u kontrolnim uvjetima utvrđen je kod kultivara Brinjak, dok je najmanji utvrđen kod kultivara Lipice žuti. U sušnim uvjetima najveći porast sadržaja klorofila a imao je kultivar Plitvički i Brinjak, dok je najmanji imao kultivara Lipice žuti.

Prema Li i sur. (2019.) genotipovi koji kod dugotrajne umjerene suše imaju veći sadržaja klorofila po jedinici površine lišća (tzv. odgoda starenja), aktivnu antioksidativnu obranu imaju i veća oštećenja membrane.

9.7. Klorofil b



Grafikon 9.7.1. Interakcija genotip x tretman za sadržaj klorofila b kod kontrolnih biljaka i biljaka u stresu suše za svaki korišteni genotip

Vrijednosti u stupcima unutar istog tretmana označene različitim slovom značajno se razlikuju kod $p \leq 0,05$

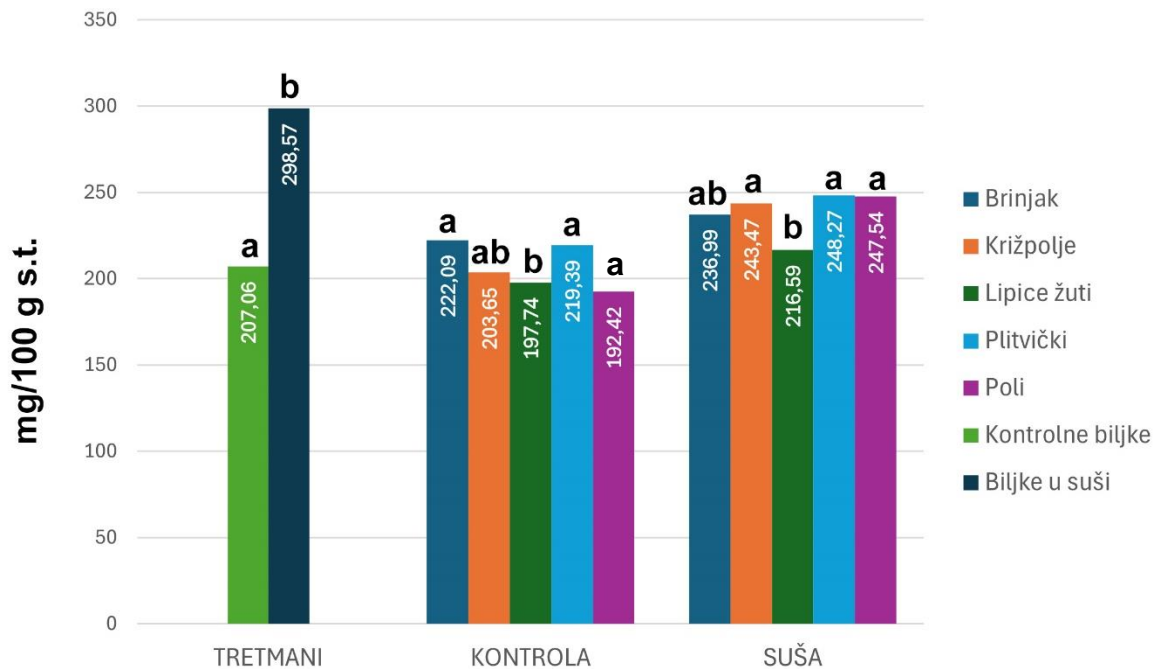
Graf 9.7.1. prikazuje rezultate interakcije genotip x tretman za klorofil b. Prikazane su prosječne vrijednosti klorofila b kontrolnih biljaka i biljaka u stresu suše za sve genotipove uključene u ovo istraživanje.

Prosječna vrijednost klorofila b u kontrolnim uvjetima iznosila je 210,34 mg klorofila a/100 g suhe tvari, dok je u sušnim uvjetima sadržaj bio za 29% veći i iznosio je 270,66 klorofila a/100 g suhe tvari. Dobiveni rezultati ukazuju da suša utječe na povećanje sadržaja klorofila b u listu krumpira. Rezultati ovog istraživanja u suglasnosti su sa rezultatima istraživanja autora koji su u svojim istraživanjima na hibridima iz roda *Vitis* pod utjecajem stresa suše utvrdili povećanje razine klorofila b (Rustioni i sur. 2021.).

Ukoliko pojedinačno promatramo kretanja sadržaja klorofila b kod testiranih genotipova najveći sadržaj klorofila b u kontrolnim uvjetima vidljiv je kod kultivara Križpolje i Brinjak. U

sušnim uvjetima najveći porast sadržaja klorofila b imao je kultivar Plitvički. Najmanji sadržaj u sušnim uvjetima utvrđen je kod kultivara Lipice žuti.

9.8. Karotenoidi



Grafikon 9.8.1. Interakcija genotip x tretman za sadržaj karotenoida kod kontrolnih biljaka i biljaka u stresu suše za svaki testirani genotip

Vrijednosti u stupcima unutar istog tretmana označene različitim slovom značajno se razlikuju kod $p \leq 0,05$

Graf 9.8.1. prikazuje rezultate interakcije genotip x tretman za karotenoide. Prikazane su prosječne vrijednosti karotenoida kontrolnih biljaka i biljaka u stresu suše za sve genotipove uključene u ovo istraživanje.

Prosječna vrijednost karotenoida u kontrolnim uvjetima iznosila je 207,06 mg karotenoida/100 g suhe tvari, dok je u sušnim uvjetima sadržaj bio za 44% veći i iznosio je 298,57 mg karotenoida/100 g suhe tvari. Dobiveni rezultati ukazuju da suša utječe na povećanje sadržaja karotenoida u listu krumpira. Rezultati ovog istraživanja u suglasnosti su sa rezultatima istraživanja drugih autora koji su u svojim istraživanjima kod različitih kultura pod utjecajem stresa suše utvrdili povećanje razine karotenoida (Zhang i sur. 2021., Mibei i sur. 2016.).

Najveći sadržaj karotenoida u kontrolnim uvjetima utvrđen je kod kultivara Brinjak i Plitvički. U sušnim uvjetima najveći sadržaj karotenoida imao je kultivar Plitvički, Poli i Križpolje. Najmanji sadržaj u sušnim uvjetima utvrđen je kod kultivara Lipice žuti.

10. Zaključak

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi utjecaj suše na sadržaj antioksidacijskih enzima, prolina, malondialdehida, vodikovog peroksida i fotosintetskih pigmenata u listu pet tradicijskih kultivara krumpira.

Inducirani stres suše utjecao je na povećanu aktivnost i sadržaj svakog analiziranog parametra. Na temelju dobivenih rezultata možemo zaključiti da stres suše značajno utječe na :

- povećanu aktivnost SOD-a kod krumpira. Najveće povećanje u aktivnosti u suši u odnosu na kontrolu utvrđeno je za kultivar „Lipice žuti“.
- povećanu aktivnost POX-a kod krumpira. Najveća aktivnost POX-a u suši utvrđena je kod kultivara „Plitvički“.
- povećanje sadržaja prolina kod krumpira. Kod kultivara „Lipice žuti“ utvrđen je najveći sadržaj prolina u biljci.
- povećanje sadržaja H₂O₂ kod krumpira. Najveći sadržaj H₂O₂ utvrđen je kod kultivara Plitvički.
- povećanje sadržaja MDA kod krumpira. Najveći sadržaj MDA utvrđen je kod kultivara „Plitvički“.
- povećanje fotosintetskih pigmenata, to jest klorofil a, klorofil b i karotenoida kod krumpira su ukazali da suša utječe na njihovo povećanje u listu. Kod kultivara „Plitvički“ utvrđen je najveći sadržaj klorofila a i b i karotenoida.

Na temelju dobivenih rezultata kultivar „Plitvički“ pokazao je u sušnim uvjetima najveću aktivnost superoksid dismutaze, peroksidaze, najveći sadržaj vodikovog peroksida, malondialdehida te pigmenata lista što ga prema tvrdnji Li i sur. (2019.) ubraja u genotipove osjetljive na sušu.

11. Popis literature

1. Abd Elhady S.A., El-Gawad H.G.A., Ibrahim M.F.M., Mukherjee S., Elkelish A., Azab E., Gobouri A.A., Farag R., Ibrahim H.A., El-Azm N.A. (2021). Hydrogen Peroxide Supplementation in Irrigation Water Alleviates Drought Stress and Boosts Growth and Productivity of Potato Plants. *Sustainability*. 899. <https://doi.org/10.3390/su13020899>
2. Abedi T., Pakniyat H., (2010). Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivars of oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*. 46: 10–15. <https://doi.org/10.17221/67/2009-CJGPB>
3. Aksoy E., Demirel U., Bakhsh A., Abu Bakar Zia M., Naeem M., Saeed F., Çalışkan S., Çalışkan M.E. (2021). Recent Advances in Potato (*Solanum tuberosum* L.) Breeding. In: Al-Khayri J.M., Jain S.M., Johnson D.V. (eds) *Advances in Plant Breeding Strategies: Vegetable Crops*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-66965-2_10
4. Angon P. B., Tahjib-Ul-Arif M., Samin S. I., Habiba U., Hossain M. A., Brestic M., (2022). How Do Plants Respond to Combined Drought and Salinity Stress?—A Systematic Review. *Plants*. 11(21). <https://doi.org/10.3390/plants11212884>
5. Antunović J. (2013). Utjecaj ekstremnog zasušivanja na biokemijske i fiziološke značajke klijanaca ječma (*Hordeum vulgare* L.) uzgojenih pri slabom i jakom osvjetljenju. Doktorski rad. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Sveučilište u Dubrovniku, Institut Ruđer Bošković, Osijek/Dubrovnik/Zagreb.
6. Anjum S. A., Ashraf U., Tanveer M., Khan I., Hussain S., Zohaib A., Wang L. (2017). Drought tolerance in three maize cultivars is related to differential osmolyte accumulation, antioxidant defense system, and oxidative damage. *Frontiers in Plant Science*. 8: 69.
7. Asada K. (1992). Ascorbate peroxidase – a hydrogen peroxide – scavenging enzyme in plants. *Plant and Cell Physiology*. 33(7): 641–657. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a078479>
8. Bašić P. (2023). Utjecaj suše na kvalitetu gomolja krumpira. Diplomski rad. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet
9. Batool T., Ali S., Seleiman M.F. 2020). Plant growth promoting rhizobacteria alleviates drought stress in potato in response to suppressive oxidative stress and antioxidant enzymes activities. *Sci Rep*. 10: 16975. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73489-z>
10. Bayat H., Moghadam A. N. (2019). Drought effects on growth, water status, proline content and antioxidant system in three *Salvia nemorosa* L. cultivars. *Acta Physiologiae Plantarum*. 41: 149. <https://doi.org/10.1007/s11738-019-2942-6>
11. Boguszewska D., Grudkowska M., Zagdańska B. (2010). Drought-Responsive Antioxidant Enzymes in Potato (*Solanum tuberosum* L.). *Potato Res*. 53: 373–382. <https://doi.org/10.1007/s11540-010-9178-6>
12. Carillo P., Gibon Y. (2011). PROTOCOL: Extraction and determination of proline. PrometheusWiki.

13. Caverzan A., Casassola A., Patussi Brammer S. (2016). Reactive Oxygen Species and Antioxidant Enzymes Involved in Plant Tolerance to Stress. *Abiotic and Biotic Stress in Plants - Recent Advances and Future Perspectives*. <http://dx.doi.org/10.5772/61368>.
14. Chen J., Zhao X., Zhang Y., Li Y., Luo Y., Ning Z., Wang R., Wang P., Cong A. (2019). Effects of Drought and Rehydration on the Physiological Responses of *Artemisia halodendron*. *Water*. 11: 793. <https://doi.org/10.3390/w11040793>
15. Christensen J. H., Bauw G., Welinder K. G., Van Montagu M., Boerjan W. (1998). Purification and characterization of peroxidases correlated with lignification in poplar xylem. *Plant physiology*. 118(1): 125–135. <https://doi.org/10.1104/pp.118.1.125>
16. Deblonde P.M.K., Ledent J.-F. (2001). Effects of Moderate Drought Conditions on Green Leaf Number, Stem Height, Leaf Length and Tuber Yield of Potato Cultivars. *European Journal of Agronomy*. 14(1): 31–41.
17. Díaz J., Bernal A., Pomar F., Merino F. (2001). Induction of shikimate dehydrogenase and peroxidase in pepper (*Capsicum annuum* L.) seedlings in response to copper stress and its relation to lignification. *Plant Science*. 161(1): 179-188. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(01\)00409-0](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00409-0)
18. Dien D.C., Mochizuki T., Yamakawa T. (2019). Effect of various drought stresses and subsequent recovery on proline, total soluble sugar and starch metabolisms in Rice (*Oryza sativa* L.) varieties. *Plant Production Science*. 22(4): 530-545.
19. Državni hidrometeorološki zavod (2024). DHMZ <https://meteo.hr/>
20. Fang Y., Xiong L. (2015). General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 72(4): 673-689.
21. Farooq M., Hussain M., Wahid A., Siddique K.H.M. (2012). Drought Stress in Plants: An Overview. In: Aroca, R. (eds) *Plant Responses to Drought Stress*. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-32653-0_1
22. Finkel. T., Holbrook N.J. (2000). Oxidants, Oxidative Stress and the Biology of Ageing. *Nature*. 408(6809): 239–247.
23. Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2022). FAOSTAT statistical database. [Rome] :FAO. <https://www.fao.org/faostat/en/#home>
<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>
24. Gaspar T., Penel C., Hagege D., Greppin H. (1991). Peroxidases in plant growth, differentiation and developmental processes. U: Lobarzewski J., Greppin H., Penel C. i Gaspar Th. (urednici): *Biochemical, Molecular and Physiological Aspects of Plant Peroxidases*, 249-280, University M. Currie-Sklodowska, Lublin, Poljska and University of Geneva, Ženeva, Švicarska.
25. Giannopolitis C.N., Ries S.K. (1977). Superoxide dismutase. I. occurrence in higher plants. *Plant Physiol*. 59: 309-314.
26. Guo Y.Y., Yu H.Y., Yang M.M., Kong D.S., Zhang Y.J. (2018). Effect of Drought Stress on Lipid Peroxidation, Osmotic Adjustment and Antioxidant Enzyme Activity of Leaves and

- Roots of *Lycium ruthenicum* Murr. Seedling. Russ J Plant Physiol. 65: 244–250. <https://doi.org/10.1134/S1021443718020127>
27. Han Y. H. (1997). Effect of high temperature and/or drought stress on the activities of SOD and POD of intact leaves in two soybean (*G. max*) cultivars. Soybean Genetics Newsletter. 24: 39-40.
 28. Hasanuzzaman M., Hossain M.A., Teixeira da Silva J.A., Fujita M. (2012). Plant Response and Tolerance to Abiotic Oxidative Stress: Antioxidant Defense Is a Key Factor. U: Bandi V., Shanker A., Shanker C., Mandapaka M. (Eds.). Crop Stress and its Management: Perspectives and Strategies.. Dordrecht: Springer, 261-315. https://doi.org/10.1007/978-94-007-2220-0_8
 29. Hasanuzzaman M., Nahar K., Gill S., Fujita M., (2014). Drought stress responses in plants, oxidative stress and antioxidant defense. Climate Change and Plant Abiotic Stress Tolerance. 209-249.
 30. Hassan F.A.S., Ali E.F. (2014). Impact of different water regimes based on class-A pan on growth, yield and oil content of *Coriandrum sativum* L. plant. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences. 13(2): 155-161.
 31. Hepworth C., Doheny-Adams T., Hunt L., Cameron D.D., Gray J.E. (2015). Manipulating stomatal density enhances drought tolerance without deleterious effect on nutrient uptake. New Phytologist. 208(2): 336–341. <https://doi.org/10.1111/nph.13598>
 32. Hussain S., Hasanuzzaman M., Hakeem K., Nahar K., Alharby H. (2019). Oxidative stress and antioxidant defense in plants under drought conditions. In M. Hasanuzzaman, K. Hakeem, K. Nahar, H. Alharby (Eds.). Plant abiotic stress tolerance. 155-172. Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-06118-0_9
 33. Jiao Z., Li Y., Li J., Xu X., Li H., Lu D., Wang J. (2012). Effects of Exogenous Chitosan on Physiological Characteristics of Potato Seedlings Under Drought Stress and Rehydration. Potato Res. 55: 293–301. <https://doi.org/10.1007/s11540-012-9223-8>
 34. Johnson V. A., Lay C. L. (1974). Genetic improvement of plant-protein. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 22(3): 558-566.
 35. Kameli A., Losel D.M. (1993). Carbohydrates and water status in wheat plants under water stress. New Phytologist. 125(4): 609–614.
 36. Kereša S., Barić M., Horvat M., Habuš Jerčić I. (2008). Mehanizmi tolerantnosti biljaka na sušu i njihova genska osnova kod pšenice. Pregledni znanstveni rad. Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. <https://hrcak.srce.hr/file/41176>
 37. Khayatnezhad M., Gholamin R., (2012). The effect of drought stress on leaf chlorophyll content and stress resistance in maize cultivars (*Zea mays*). African Journal of Microbiology Research. 6(12): 2844-2848.
 38. Kiranmai K., Lokanadha Rao G., Pandurangaiah M., Nareshkumar A., Amaranatha Reddy V., Lokesh U., Venkatesh B., Anthony Johnson A.; Sudhakar C. (2018). A novel WRKY transcription factor, MuWRKY3 (*Macrotyloma uniflorum* Lam. Verdc.) enhances drought stress tolerance in transgenic groundnut (*Arachis hypogaea* L.) plants. Front. Plant Sci. 9: 346.

39. Kocsy G., Laurie R., Szalai G., Szilagyi V., Simon-Sarkadi L., Galiba G., de Ronde J.A. (2005). Genetic manipulation of proline levels affects antioxidants in soybean subjected to simultaneous drought and heat stress. *Physiol. Plant.* 124: 227–235.
40. Kolarić A. (2015). Proizvodnja i način skladištenja konzumnog krumpira na OPG-u Kolarić. Završni rad. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet u Osijeku.
41. Kuźniak E., Urbanek H. (2000). The involvement of hydrogen peroxide in plant responses to stresses. *Acta Physiologiae Plantarum* 22(3): 195–203. <https://doi.org/10.1007/s11738-000-0076-4>
42. Lawlor D. W. (2002). Limitation to photosynthesis in water-stressed leaves: stomata vs. metabolism and the role of ATP. *Annals of Botany.* 89(7): 871–885.
43. Li J., Cang Z., Jiao F., Bai X., Zhang D., Zhai R. (2017). Influence of drought stress on photosynthetic characteristics and protective enzymes of potato at seedling stage. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences.* 16(1): 82–88. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2015.03.001>
44. Li J.H., Cang Z.M., Jiao F., Bai X.J., Zhang D., Zhai R.C. (2017). Influence of drought stress on photosynthetic characteristics and protective enzymes of potato and seedling stage. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences.* 16: 82–88.
45. Luna C. M., Pastori G. M., Driscoll S., Groten K., Bernard S., Foyer C. H. (2005). Drought controls on H₂O₂ accumulation, catalase (CAT) activity and CAT gene expression in wheat. *Journal of Experimental Botany.* 56(411): 417–423. <https://doi.org/10.1093/jxb/eri039>
46. Mafakheri A., Siosemardeh A., Bahramnejad B., Struik P. C., Sohrabi Y. (2011). Effect of drought stress and subsequent recovery on protein, carbohydrate contents, catalase and peroxidase activities in three chickpea (*Cicer arietinum*) cultivars. *Australian Journal of Crop Science.* 5(10): 1255–1260. <https://search.informit.org/doi/10.3316/informit.746357591676684>
47. Mafakheri A., Siosemardeh A.F., Bahramnejad B., Struik P.C., Sohrabi Y. (2010). Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars. *Australian Journal of Crop Science.* 4(8): 580-585.
48. Meher P.S., Reddy K.A., Rao D.M. (2018). Effect of PEG-6000 imposed drought stress on RNA content, relative water content (RWC), and chlorophyll content in peanut leaves and roots. *Saudi Journal of Biological Sciences.* 25(2): 285.
49. Meher P.S., Reddy K.A., Rao D.M. (2018). Effect of PEG-6000 imposed drought stress on RNA content, relative water content (RWC), and chlorophyll content in peanut leaves and roots. *Saudi Journal of Biological Sciences.* 25(2): 285.
50. Mibei E. K., Ambuko J., Giovannoni J. J., Onyango A. N., Owino W. O. (2016). Carotenoid profiling of the leaves of selected African eggplant accessions subjected to drought stress. *Food science & nutrition.* 5(1): 113–122. <https://doi.org/10.1002/fsn3.370>

51. Mihaljević I., Viljevac Vuletić M., Šimić D., Tomaš V., Horvat D., Josipović M., Zdunić Z., Dugalić K., Vuković D. (2021). Comparative Study of Drought Stress Effects on Traditional and Modern Apple Cultivars. *Plants*. 10: 561. <https://doi.org/10.3390/plants10030561>
52. Mildner B. (2014). Mitohondrijski prenositelji elektrona. Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematičkifakultet. https://www.pmf.unizg.hr/download/repository/14obk-p23-mitohondrijski_prenositelji_elektrona.pdf
53. Møller I.M., Jensen P.E., Hansson A. (2007). Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 58: 459–481.
54. Nasir M. W., Toth Z. (2022). Effect of Drought Stress on Potato Production: A Review. *Agronomy*. 12(3): 635. <https://doi.org/10.3390/agronomy12030635>
55. Neill S., Desikan R., Hancock J. (2002). Hydrogen peroxide signaling. *Current Opinion in Plant Biology*. 5(4): 388-395. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(02\)00288-6](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(02)00288-6)
56. Niroula A.M., Khatri S., Timilsina R., Khadka D., Khadka A., Ojha P. (2019). Profile of chlorophylls and carotenoids of wheat (*Triticum aestivum* L.) and barley (*Hordeum vulgare* L.) microgreens. *Journal of Food Science and Technology*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6525700/>
57. Nisar N., Li L., Lu S., Khin N.C., Pogson B.J. (2015). Carotenoid metabolism in plants. *Molecular Plant*. 8: 68–82.
58. Obidiegwu J., Bryan G., Jones G., Prashar A. (2015). Coping with drought: Stress and adaptive responses in potato and perspectives for improvement. *Frontiers in Plant Science*. 6: 542. doi: 10.3389/fpls.2015.00542
59. OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development). (1997). Consensus document on the biology of *Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum* (potato) (p. 38). Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris.
60. Orsák M., Kotíková Z., Hnilička F., Lachman J. (2023). Effect of long-term drought and waterlogging stress on photosynthetic pigments in potato. *Plant Soil Environ*. 69(4): 152-160. doi: 10.17221/415/2022-PSE.
61. Parida A.K., Dagaonkar V.S., Phalak M.S., Aurangabadkar L.P. (2008). Differential responses of the enzymes involved in proline biosynthesis and degradation in drought tolerant and sensitive cotton genotypes during drought stress and recovery. *Acta Physiologiae Plantarum*. 30(5): 619-627.
62. Pirasteh-Anosheh H., Saed-Moucheshi A., Pakniyat H., Pessarakli M. (2016). Stomatal responses to drought stress. 10.1002/9781119054450.ch3.
63. Pospišil A. (2010). Ratarstvo 1.dio. Zrinski d.d., Čakovec
64. Qiu H., Sun C., Dormatey R., Bai J., Bi Z., Liu Y., Liu Z., Wei J., Mao S., Yao P. (2024). Thiamethoxam Application Improves Yield and Drought Resistance of Potatoes (*Solanum tuberosum* L.). *Plants*, 13(4): 477. <https://doi.org/10.3390/plants13040477>
65. Raja V., Majeed U., Kang H., Andrabi K.I., John R. (2017.) Abiotic stress: Interplay between ROS, hormones and MAPKs. *Environ. Exp. Bot.* 137: 142–157.

66. Ričko N. (2009). Utjecaj cinka na kadmijem uzrokovane promjene u rastu i aktivnosti antioksidacijskih enzima u vodenoj leći. Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb.
67. Rolando J.L., Ramírez D.A., Yactayo W., Monneveux P., Quiroz R., (2015). Leaf greenness as a drought tolerance related trait in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Environ. Exp. Bot.* 110: 27–35. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2014.09.006>.
68. Rondon S. I., Carrillo C. C., Cuesta H. X., Navarro P. D., Acuña I. (2022). Latin America potato production: Pests and foes. In A. Alyokhin & J. E. P. Capinera (Eds.). *Insect pests of potato*. (pp.). Academic Press. 317-330.
69. Rustioni L., Bianchi D. (2021). Drought increases chlorophyll content in stems of *Vitis* interspecific hybrids. *Theor. Exp. Plant Physiol.* 33: 69–78. <https://doi.org/10.1007/s40626-021-00195-0>
70. Salehi-Lisar S. Y., Bakhshayeshan-Agdam H. (2016). Drought Stress in Plants: Causes, Consequences, and Tolerance. In *Drought Stress Tolerance in Plants*. Springer: Cham, Switzerland, 1: 1–16.
71. Scandalios J. G. (2005). Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research.* 38(7): 995–1014. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2005000700003>
72. Schafleitner R., Gaudin A., Gutierrez Rosales R. O., Aliaga C.A.A., Bonierbale M. (2007). Proline accumulation and real-time PCR expression analysis of genes encoding enzymes of proline metabolism in relation to drought tolerance in Andean potato. *Acta Physiologiae Plantarum.* 29(1): 19–26. <https://doi.org/10.1007/s11738-006-0003-4>
73. Seleiman M.F., Al-Suhaibani N., Ali N., Akmal M., Alotaibi M., Refay Y., Dindaroglu T., Abdul-Wajid H.H., Battaglia M.L. (2021). Drought Stress Impacts on Plants and Different Approaches to Alleviate Its Adverse Effects. *Plants.* 10(2): 259. <https://doi.org/10.3390/plants10020259>
74. Shafi A., Pal A.K., Sharma V., Kalia S., Kumar S., Ahuja P.S., Singh A.K. (2017). Transgenic potato plants overexpressing SOD and APX exhibit enhanced lignification and starch biosynthesis with improved salt stress tolerance. *Plant Mol. Biol. Rep.* 35: 504–518.
75. Singh A., Kumar A., Yadav S., Singh I.K. (2019). Reactive oxygen species-mediated signaling during abiotic stress. *Plant Gene.* 18: 100173.
76. Sofo A., Dichio B., Xiloyannis C., Masia A. (2004). Lipoxygenase activity and proline accumulation in leaves and roots of olive trees in response to drought stress. *Physiol Plant.* 121(1): 58-65.
77. Sprenger H., Kurowsky C., Horn R., Erban A., Seddig S., Rudack K., Kopka J. (2016). The drought response of potato reference cultivars with contrasting tolerance. *Plant, Cell and Environment.* 39: 2370–2389.
78. Sultan M.A.R.F., Hui L., Yang L.J., Xian Z.H. (2012). Assessment of drought tolerance of some *Triticum* L. species through physiological indices. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding.* 48(4): 178-184.

79. Šurina M. (2018). Antioksidacijski enzimi kao biomarkeri oksidacijskog stresa, Završni rad. Zagreb, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet.
80. Tayebimeigooni A., Awang Y., Mahmood M., Selamat A., Wahab Z. (2012). Leaf water status, proline content, lipid peroxidation and accumulation of hydrogen peroxide in salinized Chinese kale (*Brassica alboglabra*). *Journal of Food, Agriculture & Environment*. 10 (2).
81. Terzi R., Kadioglu A. (2006). Drought stress tolerance and the antioxidant enzyme system in *Ctenanthe setosa*. *Acta Physiologiae Plantarum*. 28(2): 179-186.
82. Ulusu F., Tumer K., Ulusu Y. (2022). Antioxidant responses to drought stress in pennyroyal (*Mentha pulegium* L.) *Journal of Scientific Reports-A*. 51: 26-48.
83. United Nations Office for Disaster Risk Reduction (UNDRR). (n.d.). Terminology: Hazardous events and disasters. <https://www.undrr.org/understanding-disaster-risk/terminology/hips/mh0035>
84. World Meteorological Organization (2024). WMO. <https://wmo.int/topics/drought>
85. Xu L., Han L., Huang B. (2011). Antioxidant Enzyme Activities and Gene Expression Patterns in Leaves of Kentucky Bluegrass in Response to Drought and Post-drought Recovery. *Journal of the American Society for Horticultural Science J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 136(4): 247-255. <https://doi.org/10.21273/JASHS.136.4.247>
86. Yang J., Zhang J., Wang Z., Zhu Q., Liu L. (2001). Water deficit-induced senescence and its relationship to the remobilization of pre-stored carbon in wheat during grain filling. *Agron. J.* 93 (1): 196–206. <https://doi.org/10.2134/agronj2001.931196x>.
87. Young T.E., Meeley R.B., Gallie D.R. (2004). ACC synthase expression regulates leaf performance and drought tolerance in maize. *Plant. J.* 40 (5): 813–825. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2004.02255>.
88. Zhang R.R., Wang Y.H., Li T., Tan G.F., Tao J.P., Su X.J., Xu Z.S., Tian Y.S., Xiong A.S. (2021). Effects of simulated drought stress on carotenoid contents and expression of related genes in carrot taproots. *Protoplasma*. 258(2): 379-390. doi: 10.1007/s00709-020-01570-5.
89. Zheng Z., Yang J., Wang X., Zhang N., Si H. (2023). Potato Stu-miR398b-3p Negatively Regulates Cu/Zn-SOD Response to Drought Tolerance. *Int. J. Mol. Sci.* 24: 2525. <https://doi.org/10.3390/ijms24032525>
90. Zlatev Z.S., Lidon F.C., Ramalho J.C., Yordanov I.T., (2006). Comparison of resistance to drought of three bean cultivars. *Biol Plant.* 50: 389–394. <https://doi.org/10.1007/s10535-006-0054-9>

Životopis

Lorena Rovišan rođena 03.08.2001. u Zagrebu. Pohađala je Područnu školu Velika Buna od 2008. do 2011. godine. Osnovnu školu Bukovac pohađala je od 2011. do 2016. godine. Srednju školu Ugostiteljsko – turističku učilište u Zagrebu, smjer turističko – hotelijerski komercijalist pohađala je u razdoblju od 2016. do 2020. godine. Upisala se na Agronomski fakultet, smjer Biljne znanosti 2020. godine. Trenutno završava 3. godinu preddiplomskog studija. Osim materinjeg hrvatskog jezika također tečno govori i piše engleski jezik.