

Sveučilište u Zagrebu

Agronomski fakultet

Zoran Bahat i Domagoj Stepinac

**Nedostatak željeza kod biljaka s različitim mehanizmima  
usvajanja željeza, „case study“: kukuruz i uljana repica**

Zagreb, 2011.

Ovaj rad je izrađen na Sveučilištu u Zagrebu, Agronomskom fakultetu, Zavodu za ishranu bilja, pod vodstvom prof.dr.sc. Milana Poljaka i predan je na natječaj za dodjelu Rektorove nagrade u akademskoj godini 2010/2011.

## Sadržaj

1. Uvod .....	1
3. Pregled literature .....	3
3.1. Biljni biogeni elementi .....	3
3.2. Željezo .....	9
3.2.1. Željezo u tlu .....	9
3.2.2. Fiziološki mehanizmi usvajanja željeza .....	10
3.2.3. Uloga željeza u biljnom organizmu .....	12
3.3. Utjecaj pristupačnosti hranjiva na morfološke karakteristike korijena .....	15
5. Rezultati .....	23
5.1. Utjecaj tretmana željezom na koncentracije željeza u korijenu i nadzemnim organima kukuruza i uljane repice .....	23
5.2. Utjecaj tretmana željezom na relativni sadržaj klorofila (CCI) u listu kukuruza i uljane repice .....	27
5.3.1. Utjecaj tretmana željezom na duljinu korijena kukuruza i uljane repice .....	29
5.3.3. Utjecaj tretmana željezom na ukupni volumen korijena kukuruza i uljane repice .....	33
5.4. Utjecaj tretmana željezom na omjer suhe mase korijena i nadzemnih organa kukuruza i uljane repice .....	35
6. Rasprava .....	38
7. Zaključci .....	43
8. Literatura .....	45
Sažetak .....	49
Summary .....	51

## 1. Uvod

Zbog svoje nezamjenjive metaboličke funkcije u redukciji ribonukleotida i molekularnog dušika te transportnom sustavu elektrona u procesima fotosinteze i disanja, željezo (Fe) predstavlja esencijalno biljno hranjivo (Guerinot i Yi, 1994). Željezo ima središnju ulogu u transportnom sustavu elektrona u procesu fotosinteze, a također je sastavni dio hem enzima i sudjeluje u sintezi klorofila, stoga je važan čimbenik rasta biljke i stvaranja prinosa (Lemanceu i sur., 2009). Simptomi nedostatka željeza vezani su uz njegovu metaboličku funkciju, a Bergmann (1992) navodi da simptomi nedostatka ni jednog drugog hranjiva nisu toliko tipični i nezamjenjivi kao što je to slučaj kod nedostatka željeza.

Željezo je četvrti element po zastupljenosti u Zemljinoj kori i većina tala je bogata željezom (Marschner, 1995). No željezo se u tlu nalazi u obliku slabo topivih željeznih oksida/hidroksida (Mengel i sur., 2006). Na pristupačnost željeza utječu topivost (Lindsay, 1979) i brzina otapanja (Kramer i sur., 2006) Fe-oksida, -oksihidroksida i hidroksida. Na topivost i brzinu otapanja Fe-oksida/hidroksida najviše utječe pH tla, s najnižim vrijednostima pri neutralnom do blago alkalnom pH (7,4 - 8,5) (Lindsay i Schwab, 1982). Uz pH, na aktivnost željeznih minerala utječu i oksido-reduktivni procesi i koncentracija helatizirajućih tvari (Lemanceu i sur. 2009). Poljoprivredna tla su vrlo često deficitarna biljkama pristupačnim željezom zbog aerobnih uvjeta u oraničnom sloju i neutralnog pH, pogodnog za uzgoj poljoprivrednih kultura (Lindsay, 1979; Marschner, 1995). Problemi nedostatka željeza javljaju se na oko 30 % svjetskih obradivih površina (Mori, 1999).

Biljke su sposobne mijenjati pH, redoks potencijal i koncentraciju helatizirajućih tvari u rizosferi te time utjecati na dostupnost i primanje željeza (Lemanceu i sur. 2009). Marschner i Römheld (1994) navode da su biljke razvile dva filogenetski različita mehanizma kojima povećavaju topivost, mobilizaciju i primanje željeza, tzv. Strategiju I i Strategiju II.

Dikotiledone i negraminejske monokotiledone koriste Strategiju I, koja se temelji na redukciji željeza u rizosferi. U uvjetima nedostatka željeza ove biljke povećavaju izlučivanje  $H^+$  iona u rizosferu, povećavaju kapacitet redukcije  $Fe^{3+}$  na površini plazmamembrane stanica korijena te usvajaju  $Fe^{2+}$  pomoću specifičnih željeznih transportera u plazmamembrani stanica korijena (Chaney i sur., 1972). Graminejske (por. *Poaceae*) monokotiledone u uvjetima nedostatka željeza povećavaju sintezu i izlučivanje Fe-helatizirajućih tvari, poznatih pod nazivom fitosiderofori, u rizosferu. Te tvari otapaju i heliraju  $Fe^{3+}$  te stvaraju  $Fe^{3+}$ -fitosiderofor komplekse koje korijen usvaja pomoću specifičnih transportera u plazmamembrani korijenovih stanica (Römheld i Marschner, 1986).

Pristupačnost pojedinih biljnih hranjiva u tlu utječe na formiranje i rast korijena biljaka (Ford i Lorenzo, 2001). Hranjiva poput dušika, fosfora, kalija i željeza mogu utjecati na formiranje lateralnog korijenja, razvoj korijenovih dlačica, promjer korijena, kut rasta korijena i druge morfološke karakteristike korijena (López-Bucio i sur., 2003).

## **2. Opći i specifični ciljevi rada**

Cilj ovog pokusa bio je utvrditi reakcije biljaka s različitim mehanizmima usvajanja željeza, kukuruza (*Zea mais* L.) i uljane repice (*Brassica napus ssp. oleifera* L.), na suboptimalnu ishranjenost željezom. Pokus je postavljen u komorama rasta Agronomskog fakulteta u Zagrebu. Biljke uljane repice (Strategija I) i kukuruza (Strategija II) uzgajane su na hranjivim otopinama s 0, 25, 50 i 100  $\mu M L^{-1}$  Fe-EDTA. Pokusom je praćen utjecaj nedostatka željeza na usvajanje i translokaciju željeza, dinamiku rasta i morfološke karakteristike korijena, relativni sadržaj klorofila te odnos suhe mase nadzemnih organa i korijena tijekom prva četiri tjedna rasta kukuruza i uljane repice.

### **3. Pregled literature**

#### **3.1. Biljni biogeni elementi**

Za normalan rast i razvoj biljaka potrebno je sedamnaest esencijalnih elemenata. (Pevalek-Kozlina, 2003). Pod pojmom esencijalni element podrazumjeva se element bez kojeg biljka nije u mogućnosti završiti svoj životni ciklus; čija se funkcija ne može zamijeniti nekim drugim elementom; te da je element izravno uključen u metabolizam biljke kao komponenta enzima ili enzimatskih reakcija (Arnon i Stout, 1939). Esencijalni elementi su prema svojoj funkciji i zastupljenosti u biljnom organizmu podijeljeni u skupinu makroelemenata (makrohranjiva) i mikroelemenata (mikrohranjiva) (Marschner, 1995). Makroelemnti uglavnom izgrađuju organsku tvar ili sudjeluju u osmoregulaciji te ih stoga biljka treba u većim količinama, dok mikroelementi uglavnom ulaze u sastav enzima i biljka ih treba u malim količinama (Marschner, 1995). U skupinu makroelemenata ubrajamo elemente: ugljik (C), kisik (O<sub>2</sub>), vodik (H<sub>2</sub>), dušik (N<sub>2</sub>), kalij (K), fosfor (P), sumpor (S<sub>8</sub>), kalcij (Ca) i magnezij (Mg). U skupinu mikroelemenata ubrajamo elemente: željezo (Fe), mangan (Mn), bakar (Cu), cink (Zn) bor (B), molibden (Mo), klor (Cl) i nikal (Ni) (Marschner, 1995). Pri nedostatku esencijalnih elemenata u biljaka se, osim usporenog rasta, mogu uočiti i specifični simptomi (Pevalek-Kozlina, 2003).

##### **3.1.1. Fiziološka uloga biljnih biogenih elemenata**

Ugljik, kisik i vodik tri su nezamjenjiva sastojka organskih spojeva. Biljke primaju ugljik u obliku ugljikovog dioksida (CO<sub>2</sub>), a ugljik čini oko 44 % mase suhe tvari (Pevalek-Kozlina, 2003). Trioze fosfati kao primarni produkti fotosintetske asimilacije CO<sub>2</sub> u daljnjem metabolizmu služe kao kosturi za sintezu ugljikohidrata ili aminokiselina, potrebnih za rast i razvoj biljke (Foyer i sur. 1998). Stoga, vrlo važnu ulogu u sintezi i akumulaciji organske

tvari ima regulacija i koordinacija metaboličkih puteva asimilacije i čimbenika koji utječu na asimilaciju ugljika (Foyer i sur. 1998).

Biljke primaju kisik iz vode i atmosfere, a u biljci čini oko 44 % mase suhe tvari. Potrebne količine vodika biljka prima iz vode, a ovaj element čini 6 % mase suhe tvari biljke (Pevalek-Kozlina, 2003).

Dušik se nalazi na četvrtom mjestu po masi u suhoj tvari biljke (1 – 4 %) (Pevalek-Kozlina, 2003). Biljke primaju dušik u obliku nitratnog ( $\text{NO}_3^-$ ) i amonijskog ( $\text{NH}_4^+$ ) iona. Amonijski oblik dušika ugrađuje se u organsku tvar u korijenu, dok je nitratni oblik vrlo pokretan i prenosi se ksilemom te ulazi u vakuole stanica korijena, izboja ili skladišnih organa (Marschner, 1995). Da bi se ugradio u organsku tvar i ispunio svoju esencijalnu ulogu biljnog hranjiva, nitratni dušik se mora reducirati u amonijski oblik. Važnost redukcije i asimilacije nitrata za biljku, slična je važnosti redukcije i asimilacije  $\text{CO}_2$  u fotosintezi (Marschner, 1995). Dušik ulazi u sastav aminokiselina, nukleinskih kiselina i brojnih drugih spojeva. Oko polovice dušika u biljci te 70 % dušika u listovima nalazi se u kloroplastima (Marschner, 1995). Manjak dušika uzrokuje kržljiv rast, kloroze starih listova i druge simptome (Pevalek-Kozlina, 2003). Povećana ishranjenost dušikom odgađa senescenciju i potiče vegetativni rast te ima značajan utjecaj na morfologiju biljaka (Marschner, 1995). Povećana ishranjenost dušikom povećava odnos suhe tvari nadzemnih organa i korijena (Marschner, 1995).

Uz dušik, kalij je hranjivio kojeg biljka treba u najvećim količinama. Pri optimalnoj ishranjenosti, sadržaj kalija iznosi 2-5 % mase suhe tvari (Marschner, 1995). Biljka prima kalij u obliku kalijevih iona ( $\text{K}^+$ ) (Marschner, 1995). Kalij je najzastupljeniji kation u citoplazmi stanica i ima vrlo važnu ulogu u regulaciji osmotskog potencijala stanice (Marschner, 1995). Kalij ima važnu ulogu u regulaciji transpiracije, fotosinteze, aktivaciji enzima, sintezi proteina i floemskom transportu. Pri nedostatku kalija dolazi do pada turgora i

venuća biljke. Nedostatak kalija smanjuje otpornost biljaka na sušu, mraz i bolesti (Marschner, 1995).

Za optimalan rast biljke, koncentracija fosfora u suhoj tvari iznosi 0,3-50 % (Marschner, 1995). Biljke usvajaju fosfor u obliku fosfatnih ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ) iona. Za razliku od nitrata, fosfatni ion se ne reducira, već u biljci ostaje u obliku anorganskog fosfata ili jednostavnih fosfatnih estera (Marschner, 1995). Fosfor sudjeluje u izgradnji važnih strukturnih elemenata poput nukleinskih kiselina (DNK i RNK) i fosfolipidnih komponenti biomembrana (Marschner, 1995). Fosfatni esteri predstavljaju rezervu metaboličke energije stanice (Marschner, 1995). Nedostatak fosfora jače utječe na rast lista nego na sintezu kloroplasta i klorofila, stoga pri nedostatku fosfora biljke razvijaju sitno, tamno zeleno lišće, s čak povećanim sadržajem klorofila, no fotosintetska aktivnost takvog lišća je mnogo manja (Marschner, 1995). Nedostatak fosfora jače inhibira rast nadzemnih dijelova u odnosu na rast korijena, što dovodi do tipičnog smanjenja odnosa suhe tvari nadzemnih organa i korijena. Razlog smanjenja odnosa sadržaja suhe tvari između nadzemnih organa i korijena pri nedostatku fosfora javlja se zbog pojačane translokacije ugljikohidrata u korijen (Marschner, 1995).

Pri optimalnoj ishranjenosti biljaka, sadržaj sumpora iznosi 0,1-50 % mase suhe tvari. Biljke mogu usvajati sumporni dioksid ( $\text{SO}_2$ ) iz atmosfere, no najvažniji izvor sumpora za biljku jest sulfatni ion ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) kojeg usvaja korijen (Marschner, 1995). Prije ugradnje sumpora u aminokiseline, proteine i koenzime, sulfatni ion se mora reducirati (Marschner, 1995). Sumpor je sastavni dio aminokiselina cisteina i metionina te tripeptida glutationa. Glutation je snažan antioksidans i ima važnu ulogu u uklanjanju reaktivnih oblika kisika u kloroplastima (Marschner, 1995). U uvjetima nedostatka sumpora dolazi do poremećaja sinteze proteina, što je povezano s poremećajem alokacije suhe tvari te rasta i raspodjele biomase. Nedostatak sumpora izaziva inhibiciju sinteze klorofila, a time je blokirana i asimilacija ugljika (Bergmann, 1992). Nedostatak sumpora jače utječe na rast nadzemnih organa u odnosu na rast



korijena, što dovodi do smanjena odnosa suhe tvari nadzemnih organa i korijena (Marschner, 1995).

Sadržaj kalcija u biljci može biti vrlo visok i može iznositi do 10 % suhe tvari. Velik udio kalcija u biljci otpada na kalcij vezan u staničnim stijenkama (Marschner, 1995). Kalcij ima važnu ulogu u stabilizaciji pektinske frakcije središnje lamele te stabilizaciji i integritetu stanične membrane (Bergmann, 1992). Osim strukturne, kalcij ima važnu ulogu kao sekundarni glasnik u stanici (Marschner, 1995). Simptomi nedostatka kalcija očituju se kao nekroze vrhova i rubova mladih listova, nakon čega slijedi nekroza vršnih pupova. Simptomi se pojavljuju na mladim, meristemskim tkivima, gdje se odvijaju stanične diobe i stvaraju nove stanične stijenske (Bergmann, 1992).

Magnezij čini 0.1 – 0.8 % mase suhe tvari biljke (Pevalek – Kozlina, 2003). Fiziološka uloga magnezija proizlazi iz njegove sposobnosti stvaranja ionskih i kovalentnih veza (Marschner, 1995). Magnezij ima važnu ulogu u sintezi klorofila, hem enzima te u aktivaciji velikog broja enzima, uključujući i one potrebne za sintezu proteina (Marschner, 1995). U uvjetima nedostatka magnezija dolazi do smanjenja stope fotosinteze te do nakupljanja škroba u kloroplastu (Marschner, 1995). Karakterističan pokazatelj nedostatka magnezija su kloroze između žila, koje se najprije javljaju na starijim listovima (Pevalek – Kozlina, 2003). Pri nedostatku magnezija dolazi do akumulacije ugljikohidrata u lišću, što povećava sadržaj suhe tvari lista. Akumulacijom ugljikohidrata u listu, smanjuje se njihova translokacija u korijen, čime se inhibira rast korijena i povećava odnos suhe tvari nadzemnih organa i korijena (Marschner, 1995).

Mangan se u biljci javlja u tri oksidacijska oblika Mn(II), Mn(III) i Mn(IV), a dominira Mn(II) (Marschner, 1995). Zbog moguće promjene redoks potencijala, mangan ima važnu ulogu u redoks procesima (Marschner, 1995). Mangan je sastavni dio enzima u fotosustavu II (PS II) i enzima superoksid dismutase (SOD), a ima i ulogu kofaktora u aktivaciji brojnih drugih

enzima (Marschner, 1995). Mangan je izravno uključen u process fotosinteze i sudjeluje u fotolizi vode, tzv. Hillovoj reakciji, te kao donor elektrona pri asimilaciji CO<sub>2</sub> (Bergmann, 1992). U uvjetima nedostatka mangana dolazi do pada sinteze suhe tvari, intenziteta fotosinteze i sadržaja klorofila (Marschner, 1995). Najznačajniji simptom nedostatka mangana je intervenozna kloroza mlađeg lišća kod dikotiledona i zeleno-sive mrlje bazalnog lišća kod žitarica (Marschner, 1995).

Fiziološke funkcije bakra temelje se na njegovom svojstvu promjene redoks potencijala i (Marschner, 1995). Više od 50 % ukupne količine bakra u biljci nalazi se u kloroplastima u obliku plastocijanina (Cu-proteina) koji se nalazi u transportnom sustavu elektrona. Bakar je također povezan s enzimima uključenim u redoks reakcije, poput superoksid dismutaze, citokrom oksidaze i askorbat oksidaze (Marschner, 1995). Nedostatak bakra uzrokuje sterilnost polena (Marschner, 1995). Tipični simptomi nedostatka bakra su izbjeljivanje mladog lišća, nekroza apikalnog meristema, zbijen rast i tjeranje postranih izboja (Marschner, 1995).

Fiziološka uloga cinka proizlazi iz njegovog svojstva stvaranja čvrstih tetraedarskih struktura s N-, O-, a osobito S-ligandima te stoga ima važnu strukturnu i katalitičku ulogu u enzimskim reakcijama. Cink je sastavni dio brojnih enzima, npr. alkohol dehidrogenaze, alkalne fosfataze, RNK polimeraze, karboksiptidaze, fosfolipaze (Marschner, 1995). Karakterističan simptom nedostatka cinka je skraćivanje internodija i patuljast rast (formiranje rozete) te smanjenje površine lista (Marschner, 1995).

Od svih biljnih hranjiva najmanje je poznata fiziološka uloga bora u biljci. Bor ne ulazi u sastav enzima, niti je izravni aktivator enzima (Marschner, 1995). Smatra se da bor sudjeluje u transport šećera, sintezi stanične stijenke, lignifikaciji, metabolizmu ugljikohidrata, metabolizmu RNK, disanju, metabolizmu auksina, fenola i funkcioniranju membrana (Marschner, 1995).

Molibden ima katalitičku ili strukturnu ulogu u nekim enzimatskim sustavima poput nitrogenaze, nitrat reduktaze, ksantin oksidaze/dehidrogenaze te je izravno uključen u procese važne za fiksaciju i asimilaciju dušika te druge redoks reakcije (Marschner, 1995). U uvjetima nedostatka molibdena javljaju se simptomi slični nedostatku dušika, zaostajanje u rastu i kloroza mladog lišća (Marschner, 1995).

Biljke usvajaju klor u obliku aniona ( $\text{Cl}^-$ ) (Marschner, 1995). Klor je vrlo mobilan u tlu i u biljci, a u većim se količinama nalazi u kloroplastima i staničnom soku (Marschner, 1995). Klor ima važnu ulogu u regulaciji transpiracije, te zajedno s manganom u reakcijama fotolize vode (Marschner, 1995). Biljke se opskrbljuju kloridnim ionima iz različitih izvora (tlo, navodnjavanje, kiša, gnojiva) te se u pravilu ne pojavljuju simptomi nedostatka ovog hranjiva (Marschner, 1995).

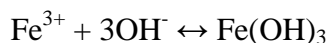
Nikal se u biljci pretežno javlja u dvovalentnom obliku  $\text{Ni(II)}$ , no ima svojstvo promjene redoks stanja te se može javiti u obliku  $\text{Ni(I)}$  i  $\text{Ni(II)}$  (Marschner, 1995). Nikal tvori stabilne komplekse s organskim ligandima, veže se s N-ligandima u tetrapirolovu strukturu enzima ureaze (Marschner, 1995).

## 3.2. Željezo

Željezo je esencijalno biljno hranjivo koje sudjeluje u nizu primarnih životnih funkcija (Marschner, 1995). U većini obradivih tala koncentracije biljci pristupačnog željeza su vrlo niske, zbog njegove niske topivosti u aerobnim uvjetima i pri pH vrijednostima optimalnim za uzgoj većine kultiviranog bilja (Lemanceu i sur., 2009). Problemi nedostatka željeza javljaju se na oko 30 % svjetskih obradivih površina (Mori, 1999). Biljke su razvile specifične mehanizme kojima povećavaju pristupačnost i usvajanje željeza (Lemanceu i sur., 2009).

### 3.2.1. Željezo u tlu

Željezo je četvrti element po zastupljenosti u Zemljinoj kori i većina tala je bogata željezom (Marschner, 1995). Željezo ima svojstvo promjene redoks potencijala, a u aerobnim uvjetima u tlu te pri pH vrijednostima optimalnim za uzgoj većine kultiviranog bilja, uglavnom se nalazi u Fe(III) redoks stanju, u oblicima stabilnih oksida, oksihidroksida i hidroksida (Lemanceu i sur., 2009). Koncentracije topivog željeza u tlu vrlo su niske u usporedbi s ukupnom količinom željeza u tlu (Mengel i sur., 2006). Pristupačnost željeza i ishranjenost biljke željezom rijetko su u vezi s ukupnom količinom željeza u tlu, već ovise o topivosti (Lindsay, 1979) i brzini otapanja (Kramer i sur., 2006) Fe(III)oksida (-oksida, -oksihidroksida i -hidroksida). Otapanje Fe(III)oksida opisuje jednažba (Lindsay, 1991):



Na ekvilibrij ove jednažbe tj. na topivost i brzinu otapanja željeza utječe pH, redoks potencijal i prisustvo helatizirajućih tvari (Lemanceu i sur., 2009).

S povišenjem pH vrijednosti otopine tla za jednu pH jedinicu, aktivnost  $\text{Fe}^{3+}$  iona u otopini tla se samnjuje 1000 puta (Mengel i sur., 2009). Pri visokom pH (7-9) stvaraju se Fe(III) oksidi, oksihidroksidi i hidroksidi ( $\text{Fe}(\text{OH})_2^+$ ,  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  i  $\text{Fe}(\text{OH})_4^-$ ) (Mengel i sur., 2006). Topivost

željeznih minerala najniža je pri pH 7,4 do 8,5 (Lindsay i Schwab, 1982). Koncentracije anorganskog željeza u otopini kiselih tala su relativno više u usporedbi s otopinom karbonatnih tala, u kojima su koncentracije željeza ekstremno niske (Mengel i sur., 2006).

U anaerobnim uvjetima dolazi do redukcije željeza i povećanja njegove topivosti. Tim procesom teško topivi željezni spojevi postaju topivi, a željezo u obliku  $\text{Fe}^{2+}$  ulazi u otopinu tla (Mengel i sur., 2006). Redukciju željeza u anaerobnim uvjetima provode anaerobne bakterije koje koriste željezne okside kao akceptore elektrona u procesu disanja (Munch i Ottow, 1983). U aerobnim uvjetima u tlu dolazi do oksidacije  $\text{Fe}^{2+}$  u  $\text{Fe}^{3+}$  čime se smanjuje topivost i biodostupnost željeza biljci (Mengel i sur., 2006).

Važno svojstvo željeza jest stvaranje kompleksa s organskim spojevima, tzv. sideroforima koje sintetiziraju bakterije, gljive i biljke (Mengel i sur., 2006). Siderofori imaju vrlo važnu ulogu u mobilnosti željeza u tlu i primanju željeza od strane biljke (Mengel i sur., 2006). Siderofori su organske molekule s visokim afinitetom za željezo. Siderofori izbijaju željezo iz minerala i heliraju ga u obliku Fe-siderofor kompleksa te time povećavaju njegovu topivost. Fe-siderofor kompleksi su vrlo topivi, a ujedno i vrlo stabilni pri različitim pH vrijednostima (Mengel i sur., 2006).

### **3.2.2. Fiziološki mehanizmi usvajanja željeza**

Biljke usvajaju željezo iz tla, putem korijena. Za normalan rast i razvoj biljke približno trebaju  $10^{-4}$  do  $10^{-8}$  M  $\text{Fe}^{3+}$ , dok je pri pH 7, u otopini tla prisutno samo  $10^{-17}$  M (Mori, 1999). Nedostatak željeza značajan je ograničavajući čimbenik poljoprivredne proizvodnje na oko 30% svjetskih obradivih površina (Mori 1999). Biljke su sposobne mijenjati pH, redoks potencijal i koncentraciju helatizirajućih tvari u rizosferi i time utjecati na dostupnost i primanje željeza (Lemanceu i sur., 2009). Biljke su razvile dva fiziološki različita mehanizma

primanja željeza koje u literaturi nalazimo pod nazivom Strategija I i Strategija II (Marschner i Römheld, 1994)

### **Strategija I**

Dikotiledone i ne travne monokotiledone razvile su mehanizam usvajanja željeza naziva Strategija I (Lemanceu i sur., 2009). Strategija I zasniva se na redukciji željeza u rizosferi. U uvjetima manjka željeza, biljke sa Strategijom I, u rizosferu izlučuju protone vodika ( $H^+$ ) reducirajuće ili helirajuće tvari, povećavaju kapacitet redukcije  $Fe^{3+}$  na površini korijena, te povećavaju broj i aktivnost željeznih transportera u plazmamembrani stanica korijena (Chaney i sur. 1972). Željezna (feri) reduktaza je enzim u plazmamembrani stanica korijena koji je odgovoran za tolerantnost biljaka na nedostatak željeza (Mori, 1999). Pokusi s *Arabidopsis frd1* (=fro2), mutantima koji ne stvaraju  $Fe^{3+}$ -helat reduktazu u uvjetima nedostatka željeza, potvrdili su da se prije usvajanja u stanicu, željezo mora reducirati (Yi i Guerinot, 1996). FRO 2 geni odgovorni za sintezu željezne reduktaze, pronađeni su i kod kultiviranog bilja, npr. graška (*Pisum sativum* L.) i rajčice (*Lycopersicon esculentum* Mill.) (Waters i sur., 2002). Također je pronađen IRT1 gen koji kodira specifične metalne transportere u membrani stanica (Eide i sur., 1996). Osim usvajanja željeza IRT1 regulira i usvajanje Mn, Zn, Cd i Co (Vert i sur., 2003). FRO2 i IRT1 su koregulirani transkripcijskim faktorom FIT te su za normalan rast potrebne sve tri komponente FRO2/IRT1/FIT, a pri nedostatku samo jedne od njih javlja se nedostatak željeza (Vert i sur., 2003).

Usvajanje željeza korijenom započinje tri dana nakon klijanja. Tijekom klijanja, mlada biljka mobilizira rezerve željeza iz sjemena (Lemanceau i sur., 2009).

## **Strategija II**

Kao prilagodbu na nedostatak željeza, trave su razvile mehanizam izlučivanja visokih koncentracija helatizirajućih tvari iz skupine mugineinskih kiselina, takozvanih fitosiderofora. Te tvari imaju sposobnost helatizacije  $Fe^{3+}$  u  $Fe^{3+}$ - fitosiderofor komplekse, koje korijenov sustav trava, specifičnim membranskim transporterima (YS1) prenosi preko membrane, bez redukcije željeza. Ovaj mehanizam se naziva Strategija II (Römheld i Marschner, 1986). Utvrđeno je da fitosiderofori strukturno pripadaju skupini nikotianamina (Lemanceau i sur., 2009). Nikotinamin je prekursor u biosintezi mugineinskih kiselina tj. fitosiderofora (MAs – a). Enzim nikotinamin sintaza sintetizira nikotinamin iz aminokiseline metionina (S-adenozilmetionin) (Lemanceau i sur., 2009). Povećanje sinteze i izlučivanja fitosiderofora javlja se kao reakcija na nedostatak željeza, a tolerantnost na nedostatak željeza u korelaciji je s količinom i vrstom fitosiderofora koji se luče (Negishi i sur., 2002). Usvajanje  $Fe^{3+}$ -fitosiderofor kompleksa odvija se pomoću specifičnih nosača u plazmamembrani stanica korijena. Za sintezu  $Fe^{3+}$ -fitosiderofor transportera odgovoran je gen ZmYS1 (Curie i sur., 2001).

Nozoye i sur. (2007) navode da nedostatak željeza kod riže aktivira gene odgovorne za usvajanje željeza već tijekom prva tri dana od početka klijanja, što ukazuje da se Strategija II kod trava aktivira ranije od Strategije I kod dikotiledona (Lemanceu i sur., 2009).

### **3.2.3. Uloga željeza u biljnom organizmu**

Važna karakteristika željeza je mogućnost promjene redoks stanja te stvaranje oktaedarskih kompleksa s različitim organskim ligandima. Ove karakteristike čine željezo vrlo značajnim elementom u biološkim redoks sustavima (Marschner, 1995). Željezo je važan dio prostetičkih skupina enzima, porfirinskih spojeva te ima važnu ulogu u sintezi klorofila (Pevalek-Kozlina, 2002).

Željezo je sastvni dio hem proteina (Marschner, 1995). Najpoznatiji hem proteini su citokromi, koji sadrže željezo-porfirinski kompleks kao prostetsku grupu. Citokromi su sastavni dio redoks sustava kloroplasta, mitohondrija te redoks sustava odgovornih za redukciju nitrata (Marschner, 1995). Ostali hem enzimi u kojima se nalazi željezo su katalaze i peroksidaze. Usljed nedostatka željeza pada aktivnost oba enzima (Marschner, 1995). Ovi enzimi igraju važnu ulogu u uklanjanju vodikovog peroksida ( $H_2O_2$ ) i sprečavanju peroksidacije struktura kloroplasta, u fotorespiraciji, te u polimerizaciji fenola i sintezi lignina (Marschner, 1995). Osim u strukturi hem enzima, željezo se nalazi i u ne hem enzimima. Željezo je sastavni dio enzima lipooksigenaze, odgovornog za peroksidaciju linolne i linolenske kiseline te važnog za stabilnost biomembrana (Marschner, 1995). Željezo je sastavni dio brojnih Fe-S proteina. U nehem proteinima, željezo se veže s tiolnom skupinom cisteina ili anorganskim sulfatom (Marschner, 1995). Najpoznatiji Fe-S protein je feredoksin, protein koji sudjeluje u transportnom sustavu elektrona (Marschner, 1995). Vrlo važni Fe-S proteini su i nitrat i sulfat reduktaza, enzimi koji sudjeluju u metabolizmu dušika i sumpora u biljci (Marschner, 1995). Željezo se nalazi i u brojnim drugim Fe-S proteinima s enzimskim djelovanjem, poput superoksid dismutaze, akonitaze, ksantin oksidaze i dr. (Marschner, 1995).

Željezo ima vrlo važnu ulogu u sintezi klorofila i u procesu fotosinteze (Marschner, 1995). Smanjeni sadržaj klorofila mladog lišća (kloroza), javlja se u uvjetima nedostatka željeza (Marschner, 1995). Prekursor u sintezi hema i klorofila je  $\delta$ -aminolevulinska kiselina (ALA), a koncentracija ALAe je regulirana željezom (Pushnik i Miller, 1989). Željezo sudjeluje i u sintezi protoklorofilida iz Mg-protoporfirina (Marschner, 1995). Posljedica fiziološke uloge željeza u sintezi klorofila jest da nedostatak željeza manje utječe na rast lista, broj stanica i broj kloroplasta u stanici, a više na veličinu kloroplasta i sadržaj proteina u kloroplastu (Marschner, 1995).



### 3.2.4. Simptomi nedostatka željeza

Kritična koncentracija željeza u lišću kreće se od 50 do 150 mg Fe kg<sup>-1</sup> suhe tvari (ST) (Marschner, 1995). Općenito, biljne vrste s C<sub>4</sub> tipom fotosinteze zahtjevaju više željeza u odnosu na biljake s C<sub>3</sub> tipom fotosinteze, ali su kritične koncentracije ispod kojih se javlja deficit željeza slične za obje skupine biljaka, oko 72 mg Fe kg<sup>-1</sup> ST kod C<sub>3</sub> i oko 66 mg Fe kg<sup>-1</sup> ST kod C<sub>4</sub> (Marschner, 1995). Lindsay (1974) navodi da većina kultura za normalan rast zahtjeva manje od 50 mg dostupnog Fe kg<sup>-1</sup> tla. Oranični sloj tla sadrži oko 20 000 mg ukupnog Fe kg<sup>-1</sup> tla, no količine biljci pristupačnog željeza pri uobičajenim pH tla su daleko ispod biljnih potreba Lindsay (1974). Nedostatak željeza javlja se diljem svijeta na karbonatnim tlima, u obliku tzv. vapnene kloroze (Marschner, 1995). Nedostatak željeza karakterizira redukcija sinteze klorofila i pojava kloroze (Mengel i sur., 2006). Simptomi su vidljivi u obliku međužilnog žućenja mladog lišća, dok žile zadržavaju zelenu boju. Kod žitarica se javlja tzv. prugasta kloroza zbog paralelne nervature njihovog lišća (Mengel i sur., 2006). Na razini kloroplasta, nedostatak željeza izaziva redukciju sinteze tilakoidnih membrane i smanjenje fotokemijskog kapaciteta (Spiller i Terry, 1980). Uz klorozu, nedostatak željeza izaziva redukciju rasta lista i korijena. Kod biljaka deficitarnih željezom dolazi do inhibicije sinteze proteina i rasta, što je razlog akumulacije aminokiselina i anorganskih aniona, osobito nitrata (Mengel i sur., 2006).

Bergmann (1992) navodi čimbenike koji izazivaju nedostatak željeza:

- Alkalna tla bogata kalcijevim i magnezijevim karbonatima, pH iznad 6 ograničava dostupnost željeza;
- Vapnenačka tla s akumuliranim bikarbonatnim ionima koji ometaju metabolizam korijena;

- Muljevita tla, zbog nedostatka kisika i visoke koncentracije ugljičnog dioksida i karbonata, što inhibira redukciju željeza na korijenu;
- Vrlo kisela tla kod kojih dolazi do metaboličke inhibicije usvajanje željeza;
- Tla s malo organske tvari, zbog niske količine heliranog željeza;
- Tla s visokom koncentracijom teških metala, poput kobalta, kroma, kadmija, mangana, nikla i cinka, koji inhibiraju usvajanje željeza;
- Tla učestalo gnojena velikim količinama fosfora, željezo se veže u netopive fosfatne spojeve;
- Ekstremne temperature, uglavnom hladno, vlažno vrijeme i niski intenzitet osvjetljenja;
- Inhibiran rast korijena, što izaziva slabije usvajanje željeza;
- Smanjena pokretljivosti  $Fe^{2+}$  u biljci, zbog imobilizacije željeza fosfatnim ionima, oksidacije željeza, formiranju organskih kompleksa;
- Virusne ili druge bolesti.

### **3.3. Utjecaj pristupačnosti hranjiva na morfološke karakteristike korijena**

Sposobnost prilagodbe biljaka na pristupačnost hranjiva od ključne je važnosti za njihov opstanak na Zemlji (López-Bucio i sur., 2003). Razvoj korijena, kao i nadzemnih organa, ne odvija se po unaprijed određenom modelu, već je vrlo plastičan i prilagođava se uvjetima sredine (Robinson, 1994). Tri su osnovna procesa koja značajno utječu na morfologiju korijenovog sustava. Diobom stanica primarnog korijenovog meristema stvaraju se nove stanice koje omogućuju nedeterminirani rast korijena; formiranjem lateralnog korijenja povećava se proraštenost tla korijenom; i formiranjem korijenovih dlačica povećava se ukupna površina primarnog i lateralnog korijenja (López-Bucio i sur., 2003). Morfološke

promjene korijena mogu značajno utjecati na usvajanje vode i hranjiva (López-Bucio i sur., 2003). Za svoj rast, korijenje treba hranjiva koja usvaja iz tla te asimilate kojima ga opskrbljuju fotosintetski aktivni nadzemni organi (López-Bucio i sur., 2003). Hranjiva poput nitrata, fosfata, sulfata i željeza mogu imati signalnu ulogu i aktivirati molekularne mehanizme odgovorne za diobu i diferencijaciju stanica te značajno utjecati na morfološke karakteristike korijena (López-Bucio i sur., 2003).

Dušik je jedan od najznačajnijih elemenata u ishrani bilja, a u tlu se uglavnom nalazi u obliku nitratnog ( $\text{NO}_3^-$ ) i amonijačnog iona ( $\text{NH}_4^+$ ) (Cruz-Ramírez i sur., 2009). Nedostatak dušika izaziva povećanje korijenovog sustava (ukupne mase, duljine i volumena) te dubine prodiranja korijena u tlo, čimbenika koji omogućuju primanje nitrata ispranih iz površinskih dijelova tla (Gastal i Lemaire, 2002). Distribucija nitrata i amonijaka u tlu nije jednolična već je heterogena u vremenu i prostoru. Korijenov sustav biljaka reagira na lokalno povećane koncentracije nitrata, no ne i na amonijak. Kad korijen naiđe na sloj tla bogat nitratima dolazi do intenzivnijeg rasta lateralnog korijenja dok primarni korijen ostaje nepromijenjen (Cruz-Ramírez i sur., 2009). Smatra se da lateralno korijenje posjeduje senzorni mehanizam koji prepoznaje povećanu lokalnu koncentraciju nitrata u tlu te omogućuje promjenu meristemske aktivnosti, dok takav mehanizam ne funkcionira kod primarnog korijena (Cruz-Ramírez i sur., 2009). Malamy i Ryan (2001) navode da pristupačnost dušika djeluje na morfologiju korijena na dva različita načina: prvi izazvan prepoznavanjem lokalnih količina pristupačnog dušika u tlu, a drugi sistemskom reakcijom biljke koja je pod utjecajem opće ishranjenosti biljke dušikom. Korijenov sustav ne reagira samo na opskrbljenost dušikom već i na oblik u kom se dušik nalazi (Cruz-Ramírez i sur., 2009). Rast korijena intenzivniji je kod biljaka kukuruza i rajčice ishranjenih amonijskim oblikom dušikom, dok oblik dušika ne utječe na rast nadzemnih organa ovih biljaka (Blomm i sur., 2003). Ishranjenost dušikom utječe i na duljinu

korijenovih dlačica, a Boot i Mensik (1990) navode da visoka opskrbljenost nitratima negativno utječe na razvoj korijenovih dlačica.

Fosfor je drugi najznačajniji čimbenik koji utječe na rast biljaka jer se fosfatni anioni u tlu nalaze u izrazito netopivim oblicima. Netopivost fosfata proizlazi iz njihovog afiniteta za katione poput  $\text{Ca}_2^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  i  $\text{Al}^{3+}$  te njihove brze asimilacije u od strane mikroorganizama (López-Bucio i sur., 2003). U uvjetima nedostatka fosfora različite biljne vrste razvijaju plići, vrlo razgranat korijenov sustav kojim intenzivnije proraštaju tlo (Ford i Lorenzo, 2001). Bijela lupina (*Lupinus albus* L.) je biljna vrsta prilagođena rastu na tlima siromašnim hranjivima te je korištena kao biljka model u istraživanjima utjecaja nedostatka hranjiva na rast i razvoj korijena (Neumann i Martinoia, 2002). U uvjetima nedostatka fosfora bijela lupina formira proteoidno korijenje. Proteoidno korijenje su klasteri velikog broja kratkog lateralnog korijenja koje izbija iz pericikla primarnog korijenja, a specijalizirano je za usvajanje fosfora (Neumann i Martinoia, 2002). Proteoidno korijenje ima determinirani rast te nakon nekoliko dana diobe i rasta stanica, stanice diferenciraju i stvaraju veliki broj korijenovih dlačica (Neumann i Martinoia, 2002). Povećana sposobnost primanja fosfora kod proteoidnog korijenja, u odnosu na korijenje nedeterminiranog rasta, proizlazi iz njihove povećane apsorptivne površine, izlučivnja organskih kiselina i fosfataze te povećane aktivnosti specifičnih fosfornih transportera (Neumann i Martinoia, 2002).

Istraživanja provedena na *Arabidopsis thaliana* ukazuju da se neki mehanizmi prilagodbe bijele lupine na nedostatak fosfora mogu javiti i kod drugih biljnih vrsta (López-Bucio i sur., 2003). Nedostatak fosfora kod *Arabidopsis* izaziva redukciju rasta primarnog korijena, intenzivnije formiranje lateralnog korijenja i razvoj većeg broja, duljih korijenovih dlačica (Cruz-Ramírez i sur., 2009).

Biljke primaju sumpor iz tla u obliku sulfatnog iona ( $\text{SO}_4^-$ ), no 95 % sumpora u tlu je vezano u organskoj tvari te nije izravno dostupan biljkama (Cruz-Ramírez i sur., 2009). U uvjetima

slabe opskrbljenosti sumporom, neke biljke povećavaju kapacitet za primanje i asimilaciju sumpora putem epiderme korijena, korijenovih dlačica i korteksa (Cruz-Ramírez i sur., 2009). Povećanje kapaciteta za primanje sumpora vezano je uz aktivaciju gena odgovornih za sintezu sulfatnih transportera u plazmamembrani stanica korijena (Rae i Smith, 2002) kao i remobilizacije sulfata u biljci (Maruyama-Nakashita i sur., 2003). U uvjetim slabije opskrbljenosti sulfatnim ionima, *Arabidopsis thaliana* razvijaj razgranat korijenov sustav (Lopez-Bucio i sur., 2003). Jači nedostatak sumpora izaziva promjene u alokaciji suhe tvari u korist korijenja (Cruz-Ramírez i sur., 2009).

Kalij ima značajnu ulogu u adaptaciji biljke na uvjete stresa. Biljke mogu akumulirati kalij u korijenu u koncentracijama većim od 100 mM, iako se njegove koncentracije u tlu kreću između 0,1-6 mM (Cruz-Ramírez i sur., 2009).

Nedostatak kalija izaziva inhibiciju rasta, zbog njegovog osmoregulatorskog učinka i narušenog odnosa ugljikohidrata i dušika do kojeg dolazi zbog inhibicije sinteze i transporta proteina (Cruz-Ramírez i sur., 2009). U uvjetima nedostatka kalija dolazi do povećanja broja i aktivnosti kalijevih transportera u plazmamembrani stanica epiderme korijena i korijenovih dlačica (Véry i Sentenac, 2003). Promjene u morfologiji korijenovog sustava pri nedostatku kalija proučavane su na ječmu (*Hordeum vulgare* L.). Nedostatak kalija kod ječma izaziva smanjenje broja i duljine lateralnog korijenja (Shin i Stachtman, 2004).

Biljke su razvile dva fiziološki različita mehanizma primanja željeza, čija se aktivnost pojačava u uvjetima nedostatka željeza (Marschner i Römheld, 1994). Utvrđeno je da nedostatak željeza utječe na brojnost korijenovih dlačica (Cruz-Ramírez i sur., 2009). Kod nekih biljnih vrsta npr. *Casuarina glauca*, nedostatak željeza izaziva formiranje proteoidnog korijenja (Arahaou i Diem, 1997). U uvjetima nedostataka željeza kod klijanaca *Arabidopsis thaliana* više od 50 % epidermalnih stanica formira korijenove dlačice, dok kod starijeg primarnog i lateralnog korijenja samo 37 % epidermalnih stanica diferencira u korijenove

dlačice (Cruz-Ramírez i sur., 2009). Porast broja korijenovih dlačica povećava aktivnu površinu korijena, potrebnu za usvajanje željeza (Cruz-Ramírez i sur., 2009). Nedostatak željeza izaziva inhibiciju elongacije korijena te zadebljanje korijenovog vrha i formiranje korijenovih dlačica (Marschner, 1995).

#### 4. Materijali i metode

Pokus je postavljen u komorama rasta Agronomskog fakulteta u Zagrebu sa zadanim uvjetima 16/8 h, 24/20 °C, odnosa dan/noć i 75 % relativne vlage zraka. Sjeme kukuruza, hibrid PR36K67 i uljane repice, hibrid Rex, površinski je sterilizirano 1,5 % natrijevim hipokloritom, tijekom 5 minuta i 75 % etilnim alkoholom, tijekom 10 minuta, zatim je isprano destiliranom vodom i naklijavano na konstantno vlaženom filterpapiru. Nakon 7 dana naklijavanja, ujednačeno razvijeni klijanci presađeni su na konstantno prozračivane hranjive otopine s tretmanima željezom (Slika 1). Hranjive otopine mijenjane su jednom tjedno. Za uzgoj biljaka korištena je hranjiva otopina slijedećeg sastava ( $\text{mM L}^{-1}$ ):  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  2,  $\text{KNO}_3$  1,5,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  50,  $\text{MgSO}_4$  1,5; te ( $\mu\text{M L}^{-1}$ ):  $\text{BO}_3^-$  46,25,  $\text{Mn}^{2+}$  9,1,  $\text{Zn}^{2+}$  0,76,  $\text{Cu}^{2+}$  0,32 i  $\text{Mo}^{6+}$  4,95. Pokus je postavljen po slučajnom bloknom rasporedu u tri ponavljanja s tri tretmana željezom (25, 50 i 100  $\mu\text{M Fe-EDTA L}^{-1}$ ) i kontrolom (0  $\mu\text{M Fe-EDTA L}^{-1}$ ). Svaki tretman bio je zastupljen sa 32 biljke svake vrste. Mjerenja rasta i morfoloških karakteristika korijena, relativnog sadržaja klorofila, suhe mase korijena i nadzemnih organa, te koncentracije željeza u korijenu i nadzemnim organima provedena su svakih 7 dana tijekom 4 tjedna uzgoja, na 6 biljaka svake vrste po tretmanu.



Slika 1. Klijanci kukuruza na hranjivim otopinama

Rast i morfološke karakteristike (duljina, površina, volumen) korijena određivane su skeniranjem i analizom skeniranih slika pomoću WinRhizo scannera (Slika 2) i softwarea (Slika 3) (WinRhizo 2009 Reg., Regent Instruments Canada Inc.).

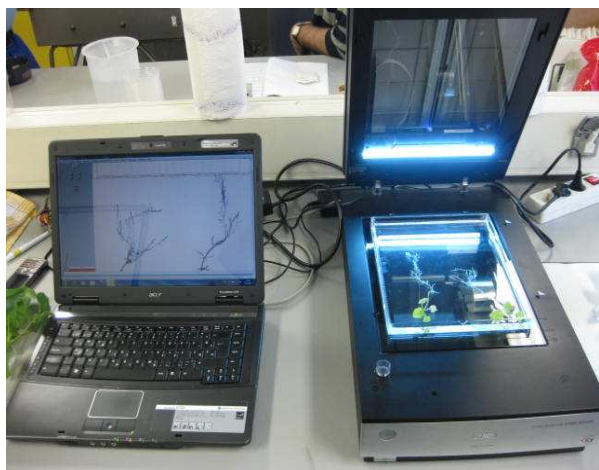
Suha masa korijena i nadzemnih organa biljaka određivana je mjerenjem mase biljnih organa nakon sušenja u sušioniku na 70 °C do konstantne mase (Slika 4).

Relativni sadržaj klorofila (CCI) mjenen je na najmlađem, fiziološki potpuno razvijenom listu, pomoću klorofil metra (Chlorophyll content meter CCM-200, Opti-Sciences, Inc.). Mjerenja su provedena na 6 biljaka po tretmanu tako što je na listu pojedine biljke tri puta izmjerena CCI vrijednost.

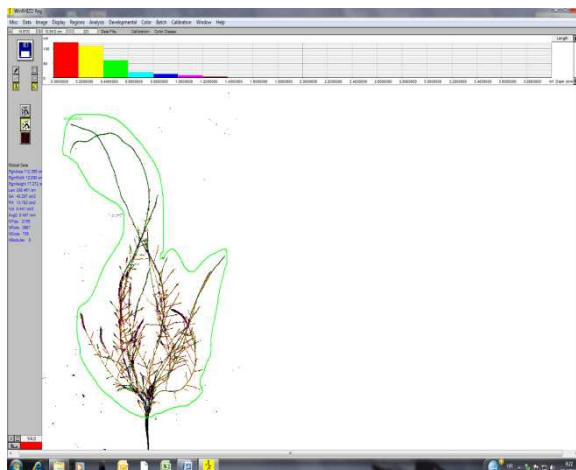
Analiza koncentracije željeza u biljnom tkivu provedena je nakon sušenja i mljevenja uzoraka te digestije u mikrovalnoj pećnici (Milestone 1200 Mega Microwave Digester) s nitratnom (HNO<sub>3</sub>) i perklornom (HClO<sub>4</sub>) kiselinom. Koncentracija željeza (Fe) u suhoj tvari biljaka (ST) određena je atomskom apsorpcijskom spektrometrijom (slika 5) (AOAC, 1995).

Podaci su statistički obrađeni u SAS programskom paketu (SAS 9.3.1., SAS Institute Inc. Cary, NC, USA, 2002/2003) analizom varijance (ANOVA), a srednje vrijednosti su uspoređivane Duncan's multiple range testom kada je F test bio signifikantan na razini  $p \geq 0.05$ .

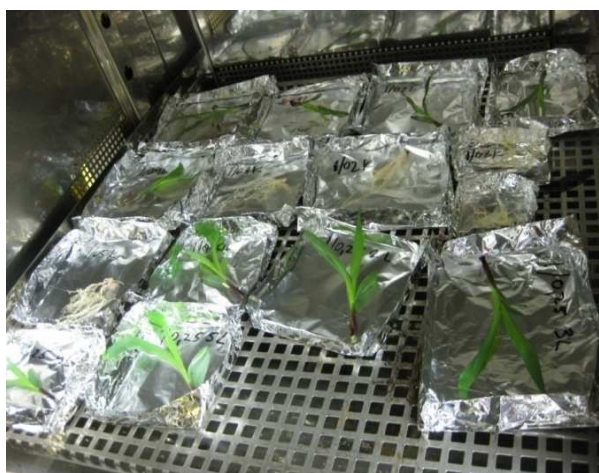




Slika 2. WinRhizo scanner (skeniranje korijena)



Slika 3. WinRhizo software (analiza korijena)



Slika 4. Sušenje biljaka u sušioniku



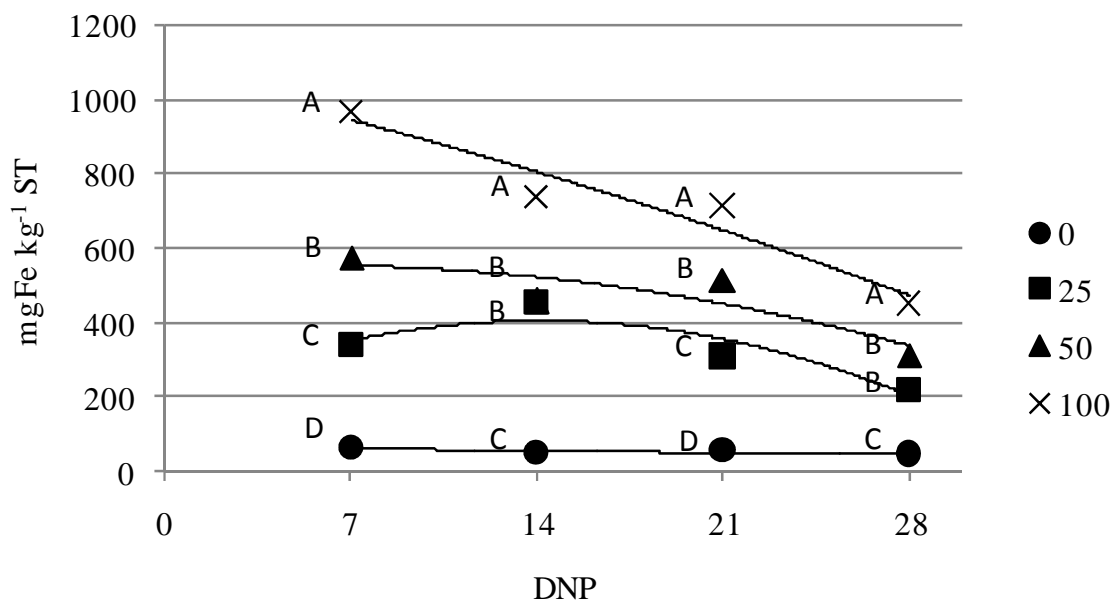
Slika 5. Atomski apsorpcijski spektrometar

## 5. Rezultati

### 5.1. Utjecaj tretmana željezom na koncentracije željeza u korijenu i nadzemnim organima kukuruza i uljane repice

Utjecaj tretmana željezom na koncentracije željeza u suhoj tvari (ST) korijena kukuruza određen je 7, 14, 21 i 28 dana nakon presađivanja (DNP), prikazan je grafikonom 1.

Grafikon 1. Koncentracija željeza u ST korijena kukuruza uzgajanog na Fe tretmanima (0, 25, 50 i 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$ ) 7, 14, 21 i 28 DNP:



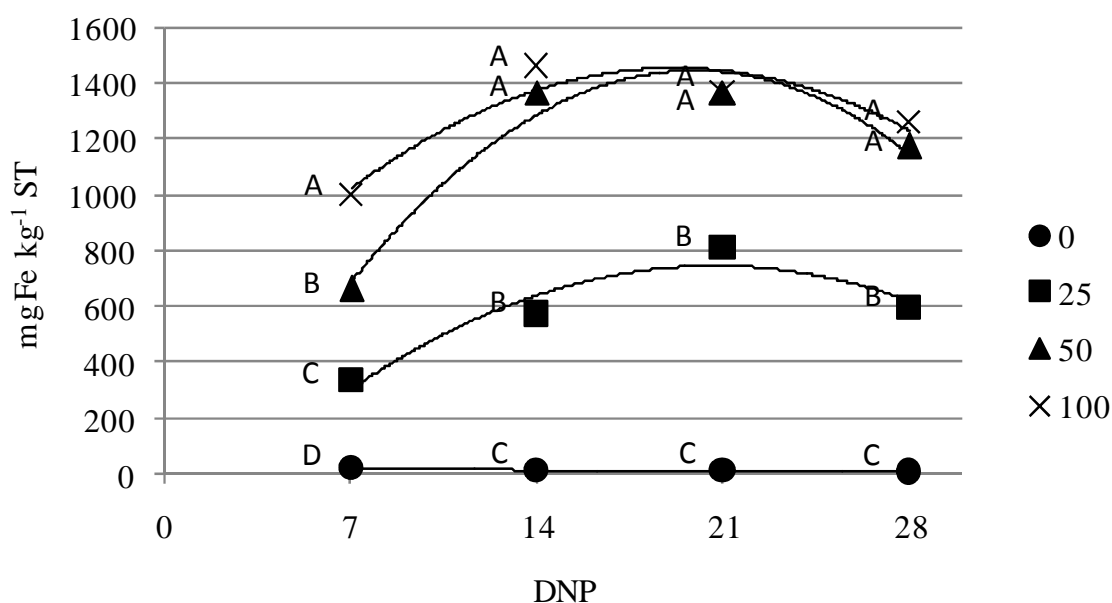
Različitim slovima označene su statistički značajne razlike u srednjim vrijednostima koncentracije željeza u korijenu kukuruza (7, 14, 21 i 28 DNP), a istim slovima označene su srednje vrijednosti koje se nisu statistički razlikovale na razini  $p \geq 0,05$  ( $n=3$ ).

Statistički značajno najveće koncentracije željeza u svim mjerenjima, 964,8  $\text{mg kg}^{-1}$  ST (7 DNP) 739,4  $\text{mg kg}^{-1}$  ST (14 DNP), 713,6  $\text{mg kg}^{-1}$  ST (21 DNP) i 452,6  $\text{mg kg}^{-1}$  ST (28 DNP), utvrđene su u korijenu biljaka kukuruza uzgajanih na tretmanu 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$ , dok su najmanje koncentracije utvrđene u kontroli, 63,8  $\text{mg kg}^{-1}$  ST (7 DNP), 50,4  $\text{mg kg}^{-1}$  ST (14 DNP), 53,5  $\text{mg kg}^{-1}$  ST (21 DNP) i 48,7  $\text{mg kg}^{-1}$  ST (28 DNP). Koontencije željeza u

korijenu biljaka tretmana 25 i 50  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$  statistički su se značajno razlikovale 7 DNP (338,4 i 577,0  $\text{mg kg}^{-1}$  ST) i 21 DNP (309,9 i 516,2  $\text{mg kg}^{-1}$  ST).

Utjecaj tretmana željezom na koncentraciju željeza u korijenu uljane repice 7, 14, 21 i 28 dana nakon presađivanja (DNP), prikazan je grafikonom 2.

Grafikon 2. Koncentracija željeza u korijenu uljane repice uzgajane na Fe tretmanima (0, 25, 50 i 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$ ) 7, 14, 21 i 28 DNP:

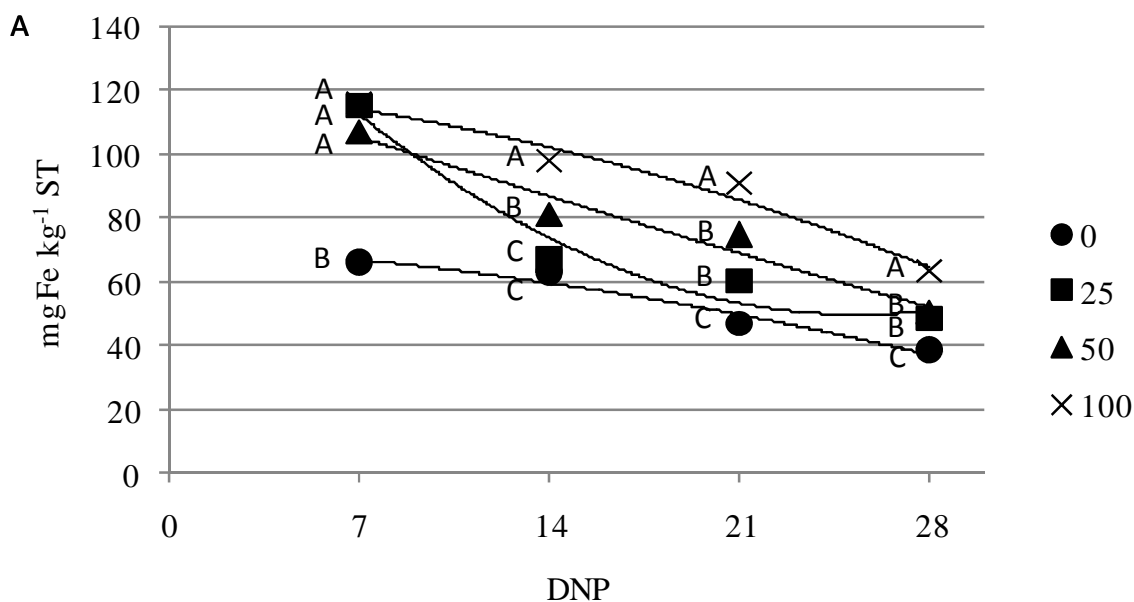


Različitim slovom označene su statistički značajne razlike u srednjim vrijednostima koncentracije željeza u korijenu uljane repice (7, 14, 21 i 28 DNP), a istim slovom označene su srednje vrijednosti koje se nisu statistički razlikovale na razini  $p \geq 0,05$  ( $n=3$ ).

Statistički značajno najveće koncentracije željeza 7 DNP utvrđene su u korijenu biljaka uljane repice uzgajanih na tretmanu 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$  (1002,6  $\text{mg kg}^{-1}$  ST). U mjerenjima 14, 21 i 28 DNP statistički značajno najveće koncentracije željeza utvrđene su u korijenu biljaka tretmana 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$  (1464,6, 1367,5 i 1263,2  $\text{mg kg}^{-1}$  ST) i 50  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$  (1368,7, 1367,3 i 1175,4  $\text{mg kg}^{-1}$  ST). Statistički značajno najmanje koncentracije željeza utvrđene su u korijenu biljaka kontrole, 20,6  $\text{mg kg}^{-1}$  ST (7 DNP), 14,9  $\text{mg kg}^{-1}$  ST (14 DNP), 11,6  $\text{mg kg}^{-1}$  ST (21 DNP), 11,3  $\text{mg kg}^{-1}$  ST (28 DNP).

Utjecaj tretmana željezom na koncentraciju željeza u nadzemnim organima kukuruza 7, 14, 21 i 28 dana nakon presađivanja (DNP), prikazan je grafikonom 3.

Grafikon 3. Koncentracija željeza u nadzemnim organima kukruza uzgajanog na Fe tretmanima (0, 25, 50 i 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$ ) 7, 14, 21 i 28 DNP:

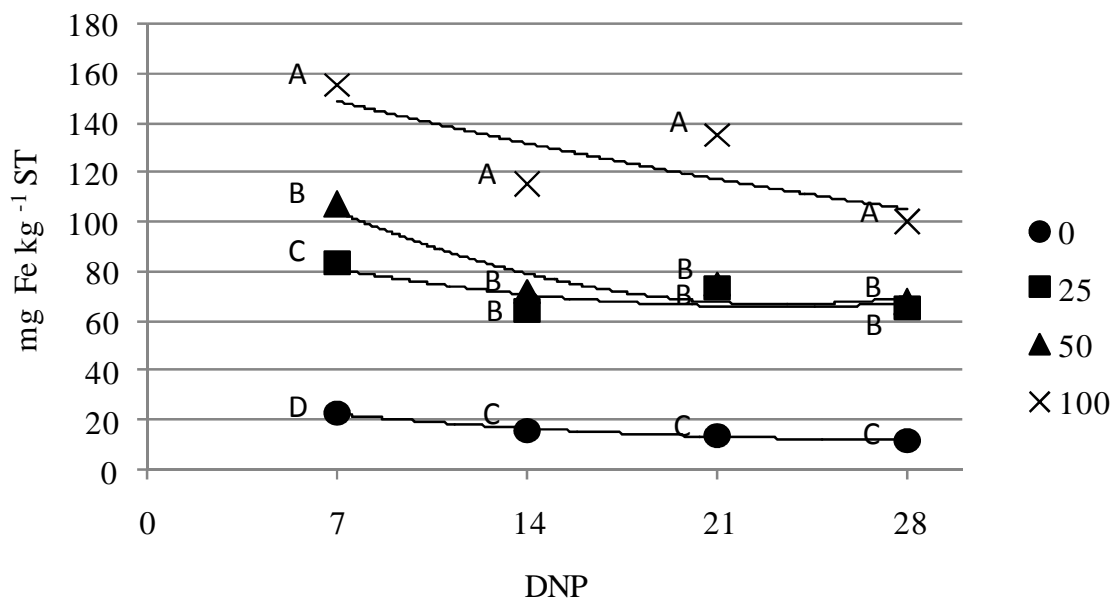


Različitim slovima označene su statistički značajne razlike u srednjim vrijednostima koncentracije željeza u nadzemnim organima kukuruza (7, 14, 21 i 28 DNP), a istim slovima označene su srednje vrijednosti koje se nisu statistički razlikovale na razini  $p \geq 0,05$  ( $n=3$ ).

Statistički značajne razlike koncentracije željeza u nadzemnih organa kukuruza utvrđene su 7 DNP između biljaka kontrole (66,1  $\text{mg kg}^{-1}$  ST) i biljaka Fe tretmana 25 (115,3  $\text{mg kg}^{-1}$  ST), 50 (107,2  $\text{mg kg}^{-1}$  ST) i 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$  (116,2  $\text{mg kg}^{-1}$  ST). U mjerenjima (14, 21 i 28 DNP) statistički značajno najveće koncentracije željeza utvrđene su u nadzemnim organima kukuruza uzgajanog na tretmanu 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$  (97,8, 90,8 i 63,2  $\text{mg kg}^{-1}$  ST). Statistički značajno najmanje koncentracije željeza u nadzemnim organima kukuruza utvrđene su kod biljaka kontrole (62,9  $\text{mg kg}^{-1}$  ST) i tretmana 25  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$  (66,8  $\text{mg kg}^{-1}$  ST), 14 DNP, te kontrole (46,9 38,5  $\text{mg kg}^{-1}$  ST) 21 i 28 DNP.

Utjecaj tretmana željezom na koncentraciju željeza u nadzemnim organima uljane repice 7, 14, 21 i 28 dana nakon presađivanja (DNP), prikazan je grafikonom 4.

Grafikon 4. Koncentracija željeza u nadzemnim organima uljane repice uzgajane na Fe tretmanima (0, 25, 50 i 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$ ) 7, 14, 21 i 28 DNP:



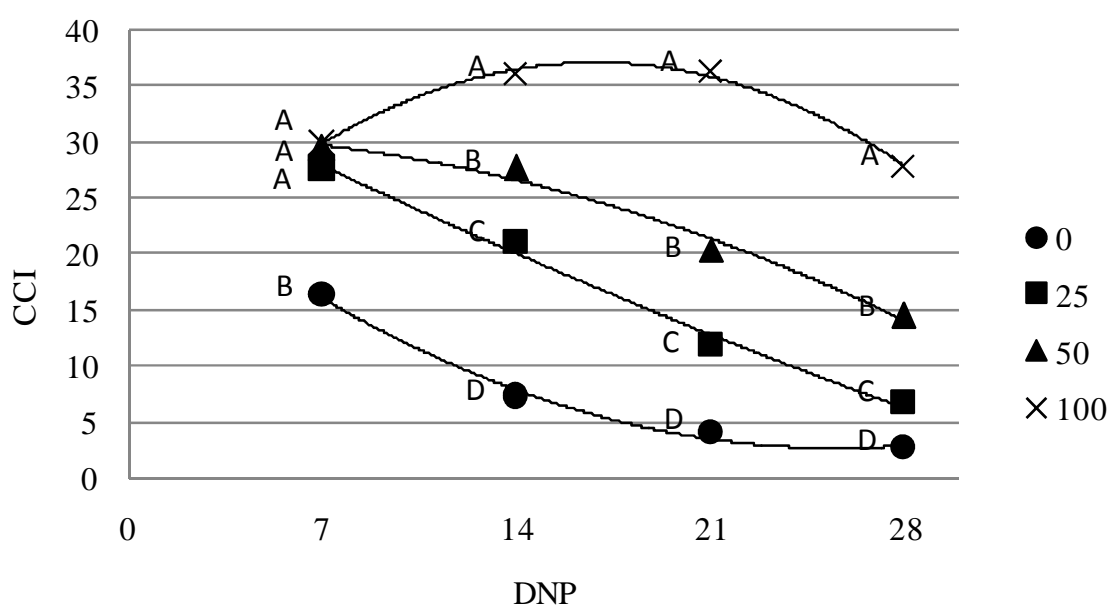
Različitim slovima označene su statistički značajne razlike u srednjim vrijednostima koncentracije željeza u nadzemnim organima uljane repice (7, 14, 21 i 28 DNP), a istim slovima označene su srednje vrijednosti koje se nisu statistički razlikovale na razini  $p \geq 0,05$  ( $n=3$ ).

Statistički značajno najveće koncentracije željeza u svim mjerenjima, 154,9  $\text{mg kg}^{-1}$  ST (7 DNP) 115,3  $\text{mg kg}^{-1}$  ST (14 DNP), 134,7  $\text{mg kg}^{-1}$  ST (21 DNP) i 100,0  $\text{mg kg}^{-1}$  ST (28 DNP), utvrđene su u nadzemnim organima biljaka uzgajanih na tretmanu 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$ , dok su najmanje utvrđene u kontroli, 22,5  $\text{mg kg}^{-1}$  ST (7 DNP), 16,0  $\text{mg kg}^{-1}$  ST (14 DNP), 13,8  $\text{mg kg}^{-1}$  ST (21 DNP), 11,9  $\text{mg kg}^{-1}$  ST (28 DNP). Koncentracije željeza u korijenu biljaka tretmana 25 i 50  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$  statistički su se značajno razlikovale 7 DNP (83,1 i 107,0  $\text{mg kg}^{-1}$  ST).

## 5.2. Utjecaj tretmana željezom na relativni sadržaj klorofila (CCI) u listu kukuruza i uljane repice

Utjecaj tretmana željezom na relativni sadržaj klorofila (CCI) u listu kukuruza 7, 14, 21 i 28 dana nakon presađivanja (DNP), prikazan je grafikonom 5.

Grafikon 5. Dinamika relativnog sadržaja klorofila (CCI) u listu kukuruza uzgajanog na Fe tretmanima (0, 25, 50 i 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$ ) 7, 14, 21 i 28 DNP:



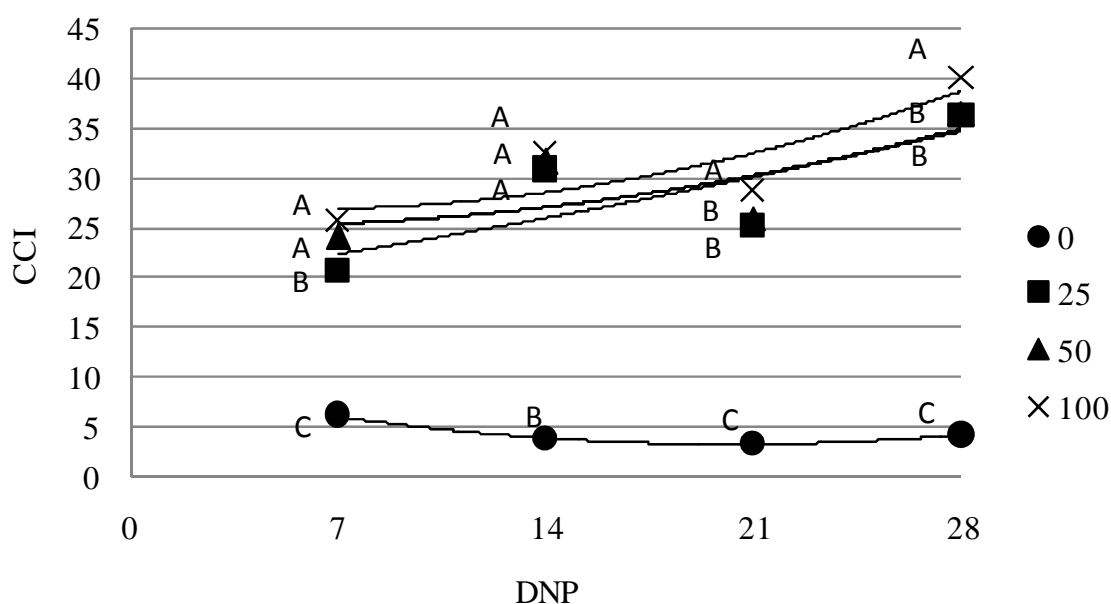
Različitim slovima označene su statistički značajne razlike u srednjim vrijednostima CCI-a u listu kukuruza po mjerenjima (7, 14, 21 i 28 DNP), a istim slovima označene su srednje vrijednosti koje se nisu statistički razlikovale na razini  $p \geq 0,05$  ( $n=54$ ).

Statistički značajne razlike u relativnom sadržaju klorofila utvrđene su 7 DNP, između biljaka kontrole (16,3) i biljaka uzgajanih na tretmanima 25, 50 i 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$  (27,6, 29,4, odnosno 29,9). Najveće statistički značajne vrijednosti CCI-a izmjerene su kod biljaka tretmana 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$  14 (36,1), 21 (36,3) i 28 DNP (27,7). Vrijednosti CCI-a pokazale su silazni trend kod biljaka kontrole, gdje su se kretale od 16,3, 7 DNP do 2,6, 28 DNP, kao i kod biljaka uzgajanih u tretmanima 25 i 50  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$  gdje su se kretale od 27,6 do 6,6, odnosno od 29,4

do 14,4, od 7 do 28 DNP. Izmjerene vrijednosti CCI-a kod tretmana s  $100 \mu\text{M Fe L}^{-1}$  imale su uzlazni trend u prva tri mjerenja, 29,9 (7 DNP), 36,1 (14 DNP) i 36,3 (21 DNP), a u zadnjem mjerenju (28 DNP) su se smanjile na 27,7.

Utjecaj tretmana željezom na relativni sadržaj klorofila (CCI) u listu uljane repice 7, 14, 21 i 28 dana nakon presađivanja (DNP) biljaka na tretmane, prikazan je grafikonom 6.

Grafikon 6. Dinamika relativnog sadržaja klorofila (CCI) u listu uljane repice uzgajane na Fe tretmanima ( $0, 25, 50$  i  $100 \mu\text{M Fe L}^{-1}$ ) 7, 14, 21 i 28 DNP:



Različitim slovom označene su statistički značajne razlike u srednjim vrijednostima CCI-a u listu uljane repice po mjerenjima (7, 14, 21 i 28 DNP), a istim slovom označene su srednje vrijednosti koje se nisu statistički razlikovale na razini  $p \geq 0,05$  ( $n=54$ ).

Statistički značajno najniža CCI vrijednosti u svim mjerenjima utvrđene su kod biljaka kontrole. Statistički značajno najviše CCI vrijednosti 21 i 28 DNP utvrđene su kod biljaka tretmana  $100 \mu\text{M Fe L}^{-1}$  (28,7 i 40,1). Nisu utvrđene statistički značajne razlike vrijednosti CCI-a između biljaka tretmana 50 i  $100 \mu\text{M Fe L}^{-1}$ , 7 DNP te između biljaka tretmana 25, 50 i  $100 \mu\text{M Fe L}^{-1}$ , 14 DNP. Vrijednosti CCI-a pokazale su uzlazni trend kod svih Fe tretmana i kretale su se od 20,7 do 36,3 kod tretmana  $25 \mu\text{M Fe L}^{-1}$ , od 24,0 do 36,5 kod tretmana  $50 \mu\text{M Fe L}^{-1}$ .

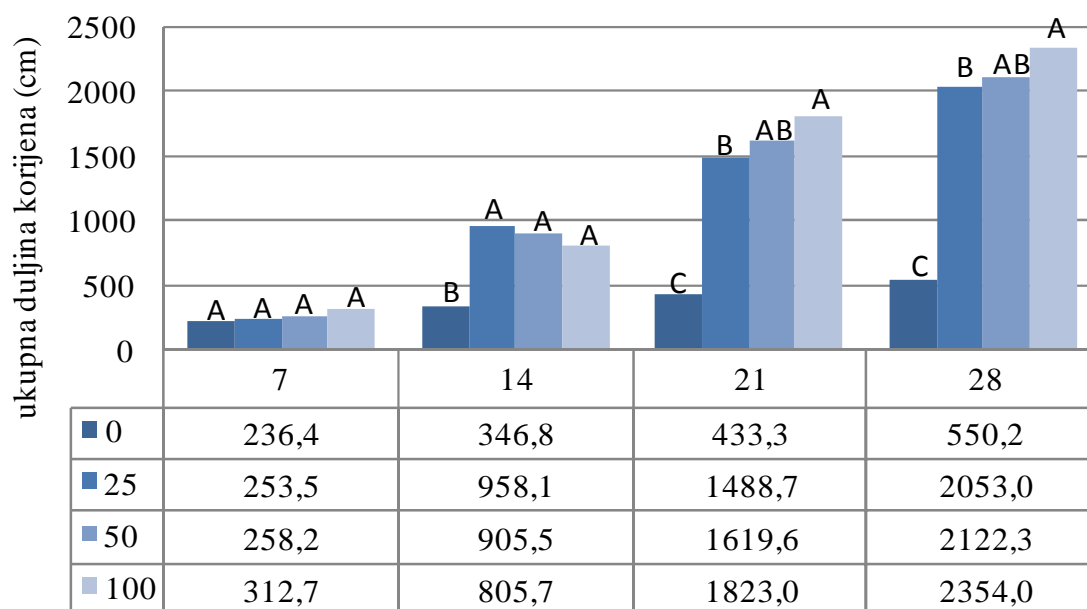
Fe L<sup>-1</sup> i od 25,7 do 40,1, kod tretmana 100 μM Fe L<sup>-1</sup>, u razdoblju od 7 do 28 DNP. Kod biljaka kontrole, CCI vrijednosti pokazale su silazni trend te su se kretale od 6,1 (7 DNP) do 3,1 (28 DNP).

### 5.3. Utjecaj tretmana željezom na morfološke karakteristike korijena kukuruza i uljane repice

#### 5.3.1. Utjecaj tretmana željezom na duljinu korijena kukuruza i uljane repice

Utjecaj tretmana željezom na ukupnu duljinu korijena kukuruza 7, 14, 21 i 28 dana nakon presađivanja (DNP), prikazan je grafikonom 7.

Grafikon 7. Izmjerena ukupna duljina korijena kukuruza uzgajanog na Fe tretmanima (0, 25, 50 i 100 μM Fe L<sup>-1</sup>) 7, 14, 21 i 28 DNP:



Različitim slovom označene su statistički značajne razlike ukupne duljine korijena kukuruza po mjerenjima (7, 14, 21 i 28 DNP), a istim slovima su označene vrijednosti koje se nisu statistički razlikovale na razini  $p \geq 0,05$  ( $n=18$ ).

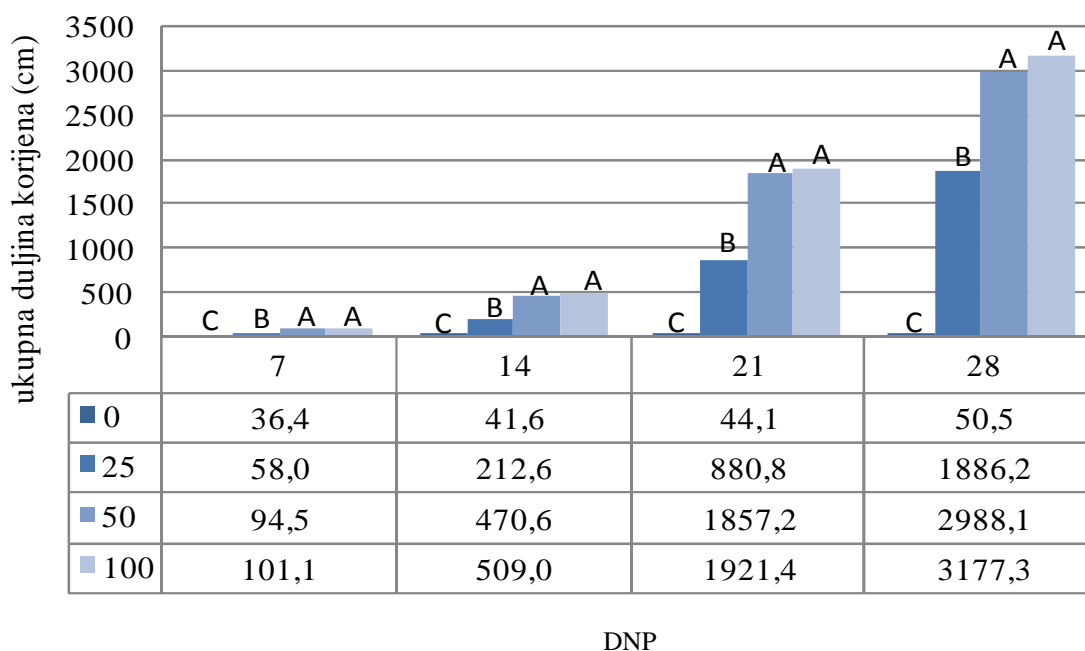
Statistički značajne razlike ukupne duljine korijena kukuruza 14 DNP utvrđene su između biljaka tretmana 25 (958,1 cm), 50 (905,5 cm) i 100 μM Fe L<sup>-1</sup> (805,7 cm) i biljaka kontrole



(346,8 cm). Statistički značajne razlike ukupne duljine korijena 21 i 28 DNP utvrđene su između biljaka svih Fe tretmana i kontrole te između biljaka tretmana s 25 i 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$ . Ukupno najdulji korijenov sustav, 28 DNP, razvile su biljke tretmana 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$  (2354,0 cm), a najkraći, biljke kontrole (550,2 cm).

Utjecaj tretmana željezom na ukupnu duljinu korijena uljane repice 7, 14, 21 i 28 dana nakon presađivanja (DNP), prikazan je grafikonom 8.

Grafikon 8. Izmjerena ukupna duljina korijena uljane repice uzgajane na Fe tretmanima (0 25, 50 i 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$ ) 7, 14, 21, 28 DNP:



Različitim slovima označene su statistički značajne razlike ukupne duljine korijena uljane repice po mjerenjima (7, 14, 21 i 28 DNP), a istim slovima su označene vrijednosti koje se nisu statistički razlikovale na razini  $p \geq 0,05$  ( $n=18$ ).

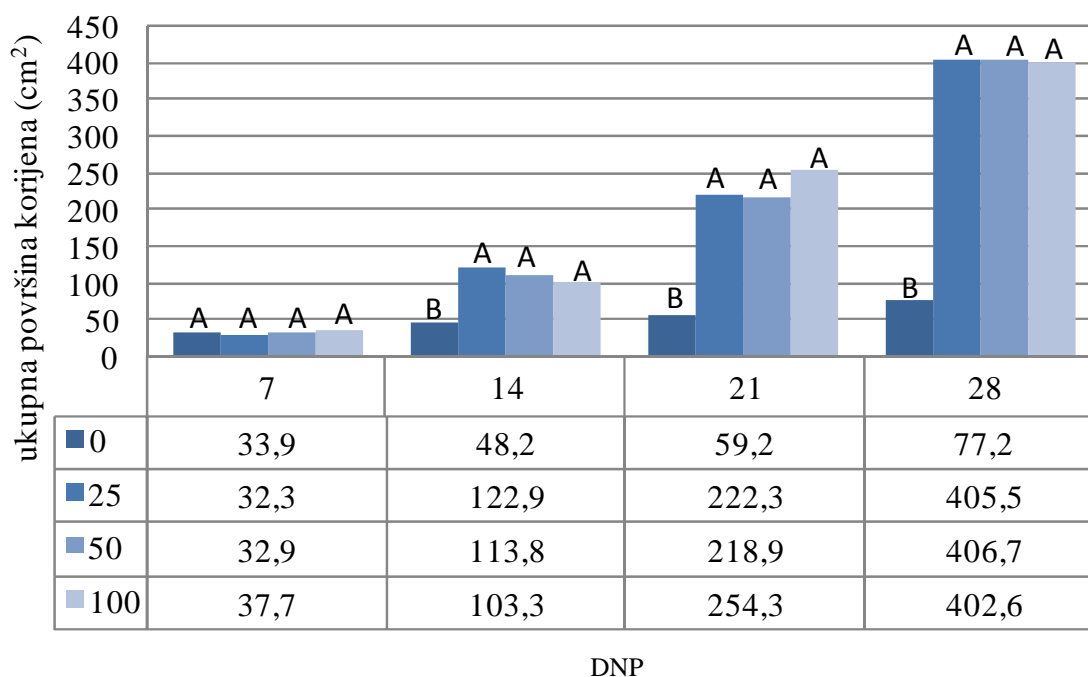
Statistički značajne razlike ukupne duljine korijena uljane repice utvrđene su u svim mjerenjima (7, 14, 21 i 28 DNP), između biljaka svih Fe tretmana i biljaka kontrole te između tretmana 25 i tretmana 50 i 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$ . Nije utvrđena statistički značajna razlika ukupne duljine korijena između biljaka tretmana 50 i 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$ , no najdulji korijenov sustav

razvile su biljke tretmana  $100 \mu\text{M Fe L}^{-1}$ , 101,1 cm (7DNP), 509,0 cm (14 DNP), 1921,4 cm (21 DNP) i 3177,3 cm (28 DNP).

### 5.3.2. Utjecaj tretmana željezom na ukupnu površinu korijena kukuruza i uljane repice

Utjecaj tretmana željezom na ukupnu površinu korijena kukuruza 7, 14, 21 i 28 dana nakon presađivanja (DNP), prikazan je grafikonom 9.

Grafikon 9. Izmjerena ukupna površina korijena kukuruza uzgajanog na Fe tretmanima (0, 25, 50 i  $100 \mu\text{M Fe L}^{-1}$ ) 7, 14, 21, 28 DNP:

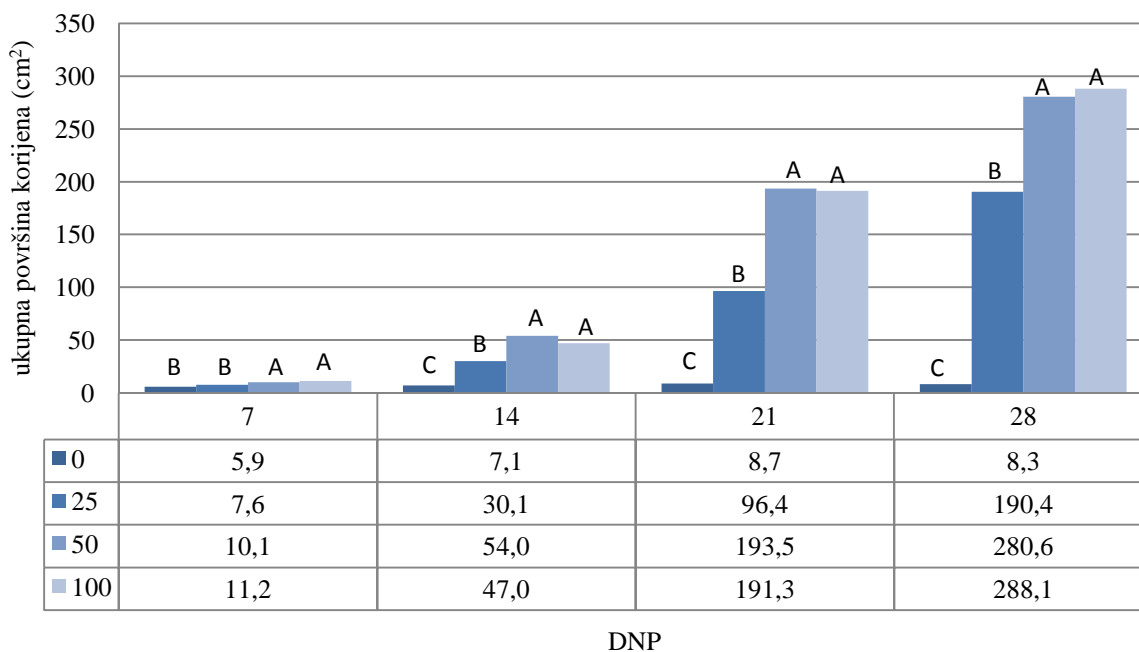


Različitim slovom označene su statistički značajne razlike ukupne površine korijena kukuruza po mjerenjima (7, 14, 21 i 28 DNP), a istim slovom su označene vrijednosti koje se nisu statistički razlikovale na razini  $p \geq 0,05$  ( $n=18$ ).

Statistički značajne razlike ukupne površine korijena kukuruza utvrđene su 14, 21 i 28 DNP između biljaka tretmana 25, 50 i  $100 \mu\text{M Fe L}^{-1}$  i kontrole. Ukupna površina korijena biljaka tretmana 25, 50 i  $100 \mu\text{M Fe L}^{-1}$  nije se statistički značajno razlikovala ni u jednom mjerenju.

Utjecaj tretmana željezom na ukupnu površinu korijena uljane repice 7, 14, 21 i 28 dana nakon presađivanja (DNP), prikazan je grafikonom 10.

Grafikon 10. Izmjerena ukupna površina korijena uljane repice uzgajane na Fe tretmanima (0, 25, 50 i 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$ ), 7, 14, 21, 28 DNP:



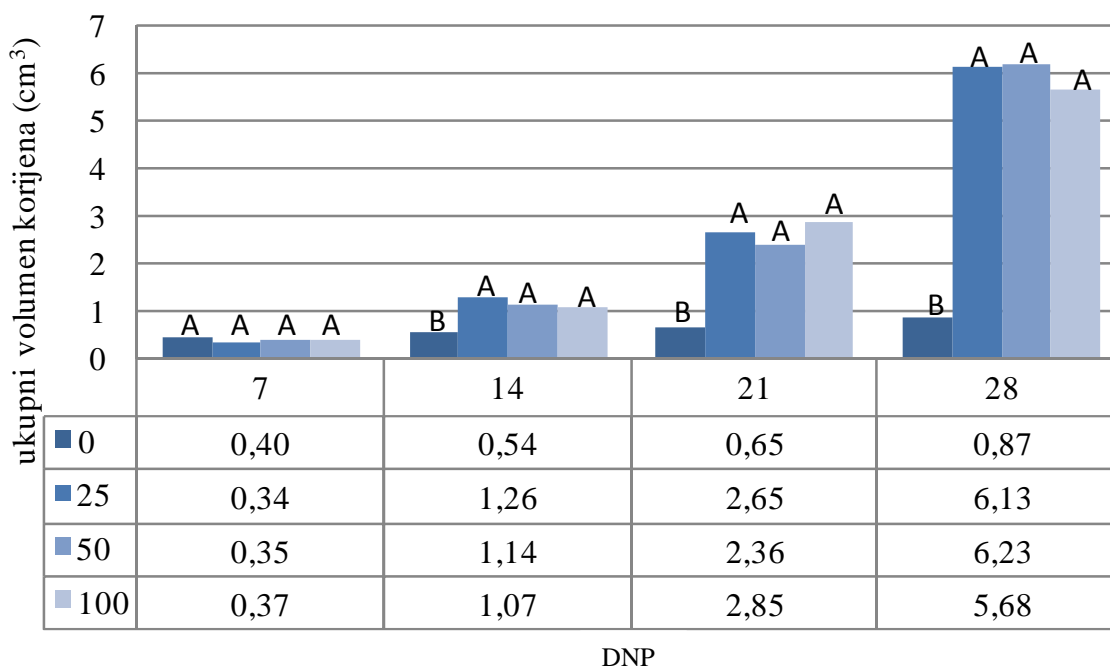
Različitim slovima označene su statistički značajne razlike ukupne površine korijena uljane repice po mjerenjima (7, 14, 21 i 28 DNP), a istim slovima su označene vrijednosti koje se nisu statistički razlikovale na razini  $p \geq 0,05$  ( $n=18$ ).

Ukupna površina korijena biljaka tretmana 50 i 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$  nije se statistički značajno razlikovala tijekom cijelog perioda pokusa, dok su statistički značajne razlike utvrđene između biljaka ova dva tretmana i biljaka tretmana 25  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$  te kontrole. Najveću ukupnu površinu korijena u svim mjerenjima (7, 14, 21 i 28 DNP) razvile su biljke uljane repice uzgajane na tretmanima 50 i 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$ .

### 5.3.3. Utjecaj tretmana željezom na ukupni volumen korijena kukuruza i uljane repice

Utjecaj tretmana željezom na ukupni volumen korijena kukuruza 7, 14, 21 i 28 dana nakon presađivanja (DNP), prikazan je grafikonom 11.

Grafikon 11. Izmjeren ukupni volumen korijena kukuruza uzgajanog na Fe tretmanima (0 25, 50 i 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$ ) 7, 14, 21, 28 DNP:

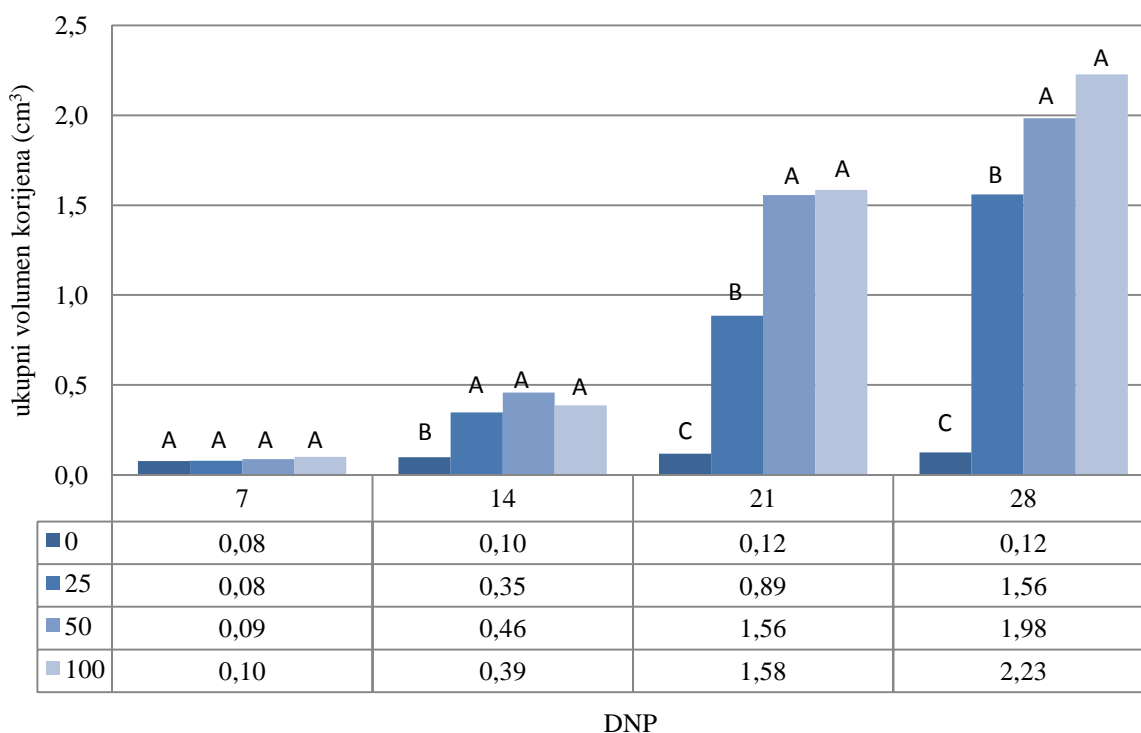


Različitim slovima označene su statistički značajne razlike ukupnog volumena korijena kukuruza po mjerenjima (7, 14, 21 i 28 DNP), a istim slovima su označene vrijednosti koje se nisu statistički razlikovale na razini  $p \geq 0,05$  ( $n=18$ ).

Statistički značajne razlike ukupnog volumena korijena kukuruza utvrđene su 14, 21 i 28 DNP između biljaka kontrole i tretmana 25, 50 i 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$ . Ukupni volumen korijena biljaka tretmana 25, 50 i 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$  nije se statistički značajno razlikovao tijekom cijelog pokusa.

Utjecaj tretmana željezom na ukupni volumen korijena uljane repice 7, 14, 21 i 28 dana nakon presađivanja (DNP), prikazan je grafikonom 12.

Grafikon 12. Izmjeren ukupni volumen korijena uljane repice uzgajane na Fe tretmanima (0, 25, 50 i 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$ ) 7, 14, 21, 28 DNP:



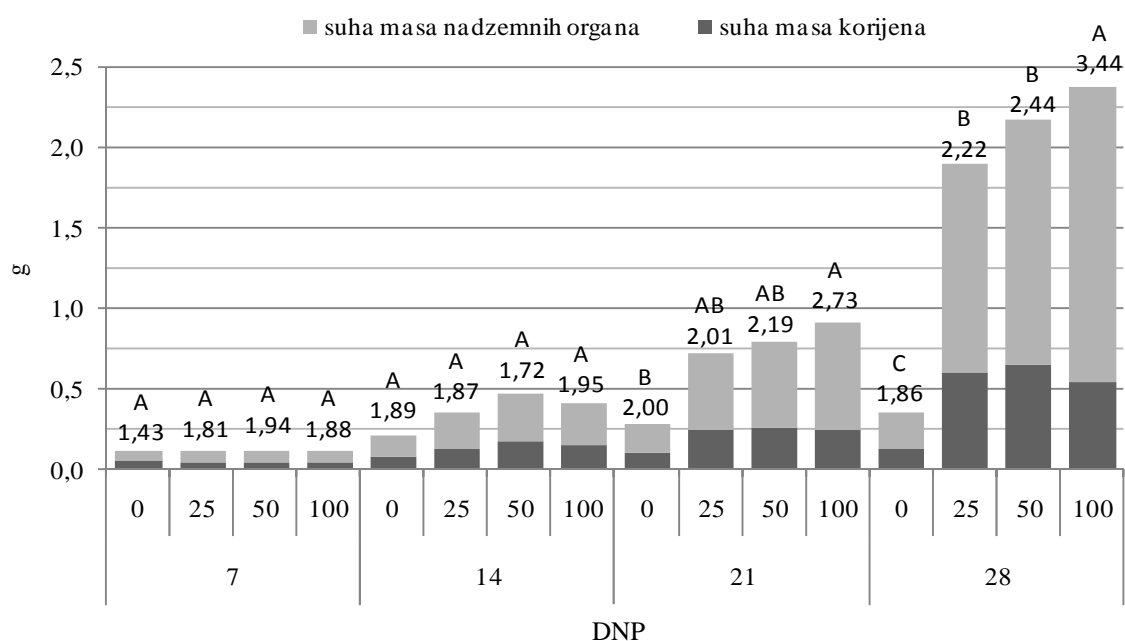
Različitim slovim označene su statistički značajne razlike ukupnog volumena korijena uljane repice po mjerenjima (7, 14, 21 i 28 DNP), a istim slovim su označene vrijednosti koje se nisu statistički razlikovale na razini  $p \geq 0,05$  ( $n=18$ ).

Ukupni volumen korijena biljaka tretmana 50 i 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$  nije se statistički značajno razlikovao tijekom cijelog perioda pokusa, dok su statistički značajne razlike utvrđene između biljaka ova dva tretmana i biljaka tretmana 25  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$ , 21 i 28 DNP, te kontrole 14, 21 i 28 DNP. Najveći ukupni volumen korijena u svim mjerenjima (7, 14, 21 i 28 DNP) razvile su biljke uljane repice uzgajane na tretmanima 50 i 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$ .

#### 5.4. Utjecaj tretmana željezom na omjer suhe mase korijena i nadzemnih organa kukuruza i uljane repice

Utjecaj tretmana željezom na omjer suhe mase nadzemnih organa i korijena kukuruza 7, 14, 21 i 28 dana nakon presađivanja (DNP), prikazan je grafikonom 13.

Grafikon 13. Omjer suhe mase nadzemnih organa i korijena kukuruza uzgajanog na Fe tretmanima (0 25, 50 i 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$ ) 7, 14, 21 i 28 DNP:

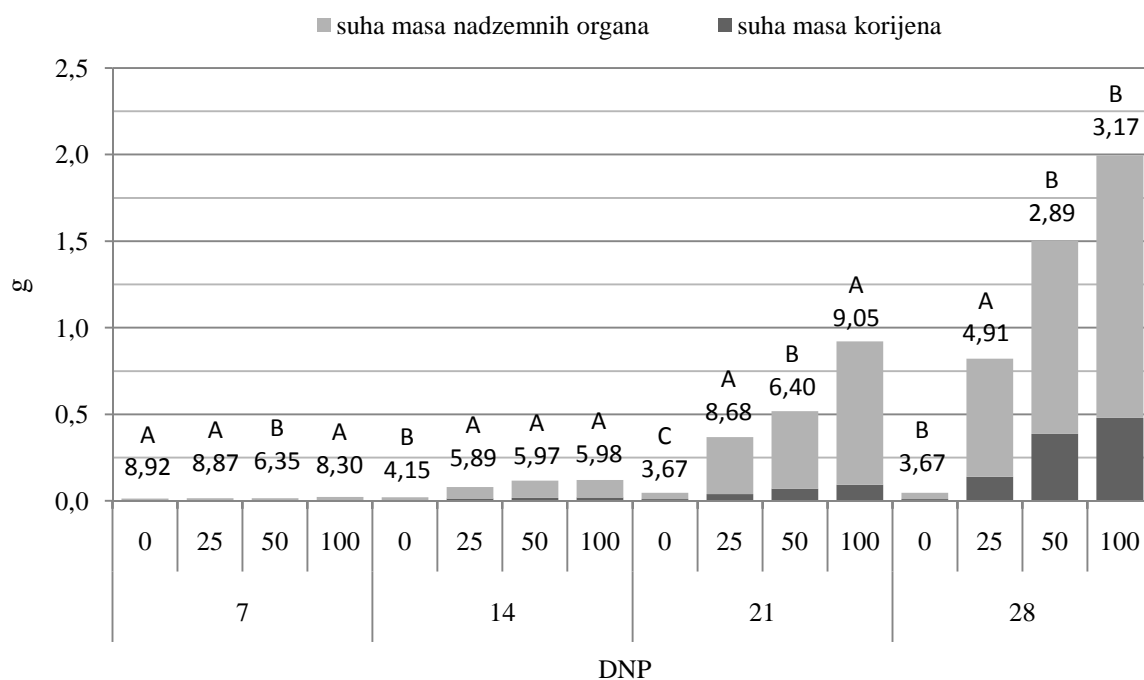


Različitim slovom označene su statistički značajne razlike u omjeru suhe mase nadzemnih organa i korijena kukuruza po mjerenjima (7, 14, 21 i 28 DNP), a istim slovom su označene vrijednosti koje se nisu statistički razlikovale na razini  $p \geq 0,05$  ( $n=18$ ).

Statistički značajne razlike omjera suhe mase nadzemnih organa i korijena kukuruza utvrđene su 21 DNP između biljaka kontrole i tretmana  $100 \mu\text{M Fe L}^{-1}$ , a 28 DNP nisu utvrđene statistički značajne razlike omjera suhe mase nadzemnih organa i korijena jedino između biljaka tretmana 25 i  $50 \mu\text{M Fe L}^{-1}$ . Najveći omjer suhe mase nadzemnih organa i korijena tijekom svih mjerenja, osim 7 DNP, imale su biljke tretmana  $100 \mu\text{M Fe L}^{-1}$  1,95 (14 DNP), 2,73 (21 DNP) i 3,44 (28 DNP).

Utjecaj tretmana željezom na omjer suhe mase nadzemnih organa i korijena uljane repice 7, 14, 21 i 28 dana nakon presađivanja (DNP), prikazan je grafikonom 14.

Grafikon 14. Omjer suhe mase nadzemnih organa i korijena uljane repice uzgajane na Fe tretmanima (0 25, 50 i 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$ ) 7, 14, 21 i 28 DNP:



Različitim slovima označene su statistički značajne razlike u omjeru suhe mase nadzemnih organa i korijena uljane repice po mjerenjima (7, 14, 21 i 28 DNP), a istim slovima su označene vrijednosti koje se nisu statistički razlikovale na razini  $p \geq 0,05$  ( $n=18$ ).

Statistički značajne razlike omjera suhe mase nadzemnih organa i korijena uljane repice utvrđene su 14 DNP između biljaka kontrole i biljaka svih Fe tretmana. U trećem mjerenju (21 DNP) nisu utvrđene statistički značajne razlike u omjeru suhe mase nadzemnih organa i korijena između biljaka tretmana 25 i 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$ , dok su se statistički razlikovali omjeri suhe mase biljaka ovih tretmana i biljaka kontrole te biljaka tretmana 50  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$ , kao i međusobno biljaka kontrole i tretmana 50  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$ . U četvrtom mjerenju (28 DNP) statistički značajno najveći omjer suhe mase nadzemnih organa i korijena razvile su biljke

tretmana  $25 \mu\text{M Fe L}^{-1}$  (4,91), dok se omjer suhe mase nadzemnih organa i korijena biljaka kontrole (3,67), biljaka tretmana  $50 \mu\text{M Fe L}^{-1}$  (2,89) i  $100 \mu\text{M Fe L}^{-1}$  (3,17) nisu statistički značajno razlikovali.



## 6. Rasprava

Statistički značajno najveće koncentracije željeza u korijenu kukuruza utvrđene su kod biljaka tretmana  $100 \mu\text{M Fe L}^{-1}$ , u svim mjerenjima (964,8, 739,4, 713,6 i 452,6 mg Fe  $\text{kg}^{-1}$  ST) (Grafikon 1), dok su kod uljane repice statistički značajno najveće koncentracije željeza utvrđene u korijenu biljaka tretmana  $100 \mu\text{M Fe L}^{-1}$ , 7 DNP (1002,6 mg Fe  $\text{kg}^{-1}$  ST), te 50 i  $100 \mu\text{M Fe L}^{-1}$ , 14 (1368,7 i 1464,6 mg Fe  $\text{kg}^{-1}$  ST), 21 (1367,3 i 1367,5 mg Fe  $\text{kg}^{-1}$  ST) i 28 DNP (1175,4 i 1263,2 mg Fe  $\text{kg}^{-1}$  ST) (Grafikon 2). Statistički značajno najveće koncentracije željeza u listu obje kulture utvrđene su kod biljaka tretmana  $100 \mu\text{M Fe L}^{-1}$ , u svim mjerenjima, osim 7 DNP kod kukuruza, kada nije utvrđena statistički značajna razlika koncentracije željeza u listu biljaka uzgajanih na tretmanima 25, 50 i  $100 \mu\text{M Fe L}^{-1}$  (115,3, 107,2 i 116,2 mg Fe  $\text{kg}^{-1}$  ST). Koncentracije željeza u listu kukuruza kretale su se od 116,2 (7 DNP) do 63, 2 mg Fe  $\text{kg}^{-1}$  ST (28 DNP) (Grafikon 3), a u listu uljane repice od 154,9 (7 DNP) do 100 mg Fe  $\text{kg}^{-1}$  ST (28 DNP) (Grafikon 4). Veće koncentracije željeza u korijenu u odnosu na list, utvrđene su kod obje kulture, u svim mjerenjima kod biljaka svih tretmana, osim kontrole. Kod biljaka uljane repice nisu utvrđene statistički značajne razlike u koncentraciji željeza u korijenu biljaka tretmana 50 i  $100 \mu\text{M Fe L}^{-1}$  14, 21 i 28 DNP, dok su u nadzemnim organima biljaka tretmana  $100 \mu\text{M Fe L}^{-1}$  tijekom cijelog pokusa utvrđene statistički značajno veće koncentracije željeza u usporedbi s drugim tretmanima. Hell i Stephan (2003) navode da usvajane željeza započinje na apoplastu stanica epiderme korijena, a nakon toga željezo difundira kroz slobodni apoplastni prostor do plazmaleme, gdje dolazi do redukcije ili dehelatizacije željeza. Željezo koje je stiglo do plazmaleme ne mora biti u cijelosti usvojeno, već se u aerobnim uvjetima oksidira i veže u obliku oksida ili fosfatnih soli na apoplast. Takvo apoplastno željezo može činiti do 95 % ukupnog željeza u korijenu biljaka uzgajanih na hidroponu (Hell i Stephan, 2003). Marschner (1995) navodi da biljke s C4 tipom fotosinteze imaju veće zahtjeve za željezom u usporedbi s biljkama s C3 tipom fotosinteze,

iako su im kritične koncentracije ispod kojih se javljaju simptomi nedostatka slične i iznose oko 72 mg Fe kg<sup>-1</sup> ST kod C3 i oko 66 mg Fe kg<sup>-1</sup> ST kod C4 biljaka. Prema ovom kriteriju, nedostatak željeza kod kukuruza, biljke s C4 tipom fotosinteze, osim kod biljaka kontrole, javio se 21 i 28 DNP kod biljaka tretmana 25 μM Fe L<sup>-1</sup>, kada su utvrđene koncentracije u listu iznosile, 60,2 i 48,3 mg Fe kg<sup>-1</sup> ST, te 28 DNP kod biljaka tretmana 50 i 100 μM Fe L<sup>-1</sup> (50,7 i 63,2 mg Fe kg<sup>-1</sup> ST). Bergmann (1992) navodi da je optimalna koncentracija željeza u listu kukuruza 330 mg kg<sup>-1</sup> ST. Kod uljane repice, osim kod biljaka kontrole, koncentracije manje od 72 mg Fe kg<sup>-1</sup> ST utvrđene su 14 i 28 DNP kod biljaka tretmana 25 μM Fe L<sup>-1</sup> (64,2 i 65,3 mg Fe kg<sup>-1</sup> ST) i 28 DNP kod biljaka tretmana 50 μM Fe L<sup>-1</sup> (67,83). Cramer (1990) navodi da mlado, fiziološki potpuno razvijeno lišće uljane repice u fazi rozete sadrži 50-80 mg Fe kg<sup>-1</sup> ST. Utvrđena koncentracija željeza u korijenu i nadzemnim organima, kod biljaka svih tretmana, osim kontrole, više su kod uljane repice u odnosu na kukuruz. Bergmann (1992) navodi da su u dosadašnjim istraživanjima, na ječmu, pšenici, zobi, kukuruzu, sirku, suncokretu, rajčici i soji, dikotiledone vrste pokazale veću efikasnost usvajanja željeza u odnosu na monokotiledone.

Marschner (1995) navodi da podaci o ukupnoj koncentraciji željeza u listu imaju ograničenu upotrebu u procjeni ishranjenosti biljaka željezom, jer ukupna koncentracija željeza ne mora odgovarati koncentraciji fiziološki aktivnog željeza. No isto tako navodi da kod biljaka uzgajanih u kontroliranim uvjetima postoji jaka pozitivna korelacija između ukupne koncentracije željeza i sadržaja klorofila u listu. Veza između ukupne koncentracije željeza u listu i relativnog sadržaja klorofila (CCI) vidljiva je i u ovom pokusu. Statistički značajne razlike u relativnom sadržaju klorofila najčešće su utvrđene kod biljaka tretmana s Fe koji su se međusobno statistički značajno razlikovali u koncentraciji željeza u listu. Najveće, statistički značajne, CCI vrijednosti kod kukuruza izmjerene su kod biljaka tretmana 100 μM Fe L<sup>-1</sup>, 14, 21 i 28 DNP (36,1, 36,3 i 27,2) dok u prvom mjerenju, 7 DNP, nisu utvrđene

statistički značajne razlike CCI-a između biljaka tretmana 25, 50 i 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$  (27,6, 29,4 i 29,9) (Grafikon 4). Najviše, statistički značajne, vrijednosti CCI-a, 21 i 28 DNP izmjerene su kod biljaka uljane repice uzgajne na tretmanu 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$  (28,7 i 40,1). Nisu utvrđene statistički značajne razlike CCI vrijednosti između biljaka uljane repice uzgajane na tretmanima 50 i 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$  (24,0 i 25,7), 7 DNP, te između biljaka tretmana 25, 50 i 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$  (30,8, 31,6 i 32,4), 14 DNP (Grafikon 5). U istraživanjima procjene ishranjenosti kukuruza dušikom, mjerenjem relativnog sadržaja klorofila, Lazarević i sur. (2011) smatraju CCI vrijednosti iznad 30 pokazateljem dobre ishranjenosti usjeva starog 30 dana. Blake-Kiff i sur. (1998) u svojim istraživanjima ishranjenosti uljane repice sumporom i dušikom, navode CCI vrijednosti iznad 40 kao referentne za dobro ishranjen usjev. Prema ovim pokazateljima, dovoljno ishranjenima možemo smatrati biljke kukuruza uzgajane na tretmanu sa 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$ , 7, 14 i 21 DNP (29,9, 36,1 i 36,3), te biljke uljane repice uzgajane na tretmanu sa 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$ , 28 DNP (40,1). Vrijednosti CCI-a od 7 do 28 DNP pokazivale su silazni trend kod biljaka kukuruza svih tretmana, dok su rasle kod biljaka uljane repice.

López-Bucio i sur. (2003) navode da hranjiva poput nitrata, fosfata, sulfata i željeza mogu imati signalnu ulogu i aktivirati molekularne mehanizme odgovorne za diobu i diferencijaciju stanica te značajno utjecati na morfološke karakteristike korijena. Marschner (1995) navodi da nedostatak željeza utječe na morfološke i fiziološke promjene korijena. Pod fiziološkim promjenama smatra aktivaciju mehanizama odgovornih za usvajanje željeza Strategijom I ili Strategijom II. Marschner (1995) navodi da nedostatak željeza kod biljaka sa Strategijom I uzrokuje inhibiciju elongacije korijena, a da do toga ne dolazi kod biljaka sa Strategijom II. U ovom pokusu došlo je do smanjenja ukupne duljine korijena kod biljaka uzgajanih na tretmanima s nižim koncentracijama željeza i kod uljane repice (Strategija I), ali i kod kukuruza (Strategija II). No, statistički značajne razlike ukupne duljine korijena tretmana 25 i tretmana 50 i 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$  kod biljaka uljane repice javile su se već 14 DNP (Grafikon 8), a

kod kukuruza 21 DNP (Grafikon 7). Također, razlike ukupne duljine korijena između biljaka kukuruza uzgajanih na tretmanima 25 i 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$ , 28 DNP iznose 301 cm, te su mnogo manje u usporedbi s razlikama ukupne duljine korijena između biljaka uljane repice uzgajanih na ovim tretmanima, koje 28 DNP iznose 1291,1 cm. Razlike ukupne površine i volumena korijena biljaka različitih tretmana manje su izražene. Nisu utvrđene statistički značajne razlike ukupne površine (Grafikon 9) i volumena (Grafikon 11) korijena između biljaka kukuruza uzgajanih na Fe tretmanima. Kod uljane repice statistički značajne razlike površine korijena utvrđene su između biljaka kontrole i biljaka Fe tretmana kao i između biljaka tretmana 25  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$  te biljaka tretmana 50 i 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$  (Grafikon 10). Ukupni volumen korijena uljane repice statistički se značajno razlikovao 14 DNP između biljaka kontrole i Fe tretmana, a 21 i 28 DNP između biljaka kontrole i Fe tretmana te između biljaka tretmana 25  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$  te biljaka tretmana 50 i 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$  (Grafikon 12). Značajne razlike u duljini korijena između pojedinih Fe tretmana, a istovremeni izostanak značajnijih razlika u površini i volumenu može se objasniti pojačanim formiranjem korijenovih dlačica kod biljaka uzgajanih u tretmanima s nižim koncentracijama željeza (25 i 50  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$ ). Marschner (1995) navodi da nedostatak željeza potiče formiranje korijenovih dlačica, a Cruz-Ramírez i sur. (2009) navode da se time značajno povećava ukupna površina korijena.

Nedostatak željeza uzrokuje smanjenje količine škroba i drugih šećera u listu (Marschner 1995). Osim smanjenja količine klorofila, nedostatak željeza smanjuje i intenzitet fotosinteze po jedinici klorofila (Sharma i Sanwal, 1992). Ericsson (1995) navodi da na distribuciju suhe mase najviše utječu pristupačnost hranjiva i asimilacija ugljičnog dioksida, no da značajnu ulogu imaju i pristupačnost vode, osvjetljenje i fenofaza. Statistički značajne razlike omjera suhe mase nadzemnih organa i korijena kukuruza utvrđene su 21 DNP između biljaka kontrole i tretmana 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$ , a 28 DNP nisu utvrđene statistički značajne razlike omjera suhe mase nadzemnih organa i korijena jedino između biljaka tretmana 25 i 50  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$

(Grafikon 13). Statistički značajno najveći omjer suhe mase nadzemnih organa i korijena uljane repice 21 DNP utvrđen je kod biljaka uzgajanih na tretmanima 100 (9,05) i 25  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$  (8,68), dok je statistički najmanji omjer utvrđen kod biljaka kontrole (3,67). U četvrtom mjerenju (28 DNP), statistički značajno najveći omjer suhe mase nadzemnih organa i korijena utvrđen je kod biljaka tretmana 25  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$  (4,91), dok između biljaka kontrole i biljaka tretmana 50 i 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$  nisu utvrđene statistički značajne razlike. Thornley (1972) iznosi teoriju da nadzemni organi imaju prioritet u opskrbi asimilatima, a korijen ima prioritet u opskrbi hranjivima pa se u slučaju nedostatka ugljikohidrata veća količina asimilata zadržava u nadzemnim organima i time se povećava omjer suhe mase nadzemni organi : korijen, a u slučaju nedostatka hranjiva javlja se obrnuti proces. Prema ovoj teoriji može se zaključiti da nedostatak željeza jače utječe na rast korijena kukuruza, te je zbog toga kod biljaka tretmana 25 i 50  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$  došlo do smanjenja omjera suhe mase nadzemnih organa i korijena u odnosu na biljke tretmana 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$ . Kod uljane repice najveći omjer suhe mase nadzemnih organa i korijena 28 DNP utvrđen je kod biljaka tretmana 25  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$ , te se može zaključiti da nedostatak željeza jače utječe na intenzitet fotosinteze, zbog čega se asimilati zadržavaju u nadzemnim organima te dolazi do povećanja omjera suhe mase nadzemnih organa i korijena.

## 7. Zaključci

Analizom biljnog materijala utvrđena je koncentracija željeza u korijenu i nadzemnim organima biljaka kukuruza i uljane repice. Korijen i nadzemni organi uljane repice uzgajane na Fe tretmanima sadržavali su veće koncentracije željeza u odnosu na korijen i nadzemne organe kukuruza, što ukazuje na veću sposobnost uljane repice (Strategije I) za usvajanjem željeza. Korijenje obiju kultura sadržavalo je veće koncentracije željeza u odnosu na nadzemne organe što ukazuje na činjenicu da velik dio željeza ostaje vezan na apoplastu korijena te se ne transportira u nadzemne organe.

Tretmani željezom i ukupna koncentracija željeza u nadzemnim organima kukuruza i uljane repice utjecala je na relativni sadržaj klorofila. Usporedbom izmjerenih vrijednosti relativnog sadržaja klorofila s rezultatima drugih autora može se zaključiti da se nedostatak željeza, u vidu smanjenja relativnog sadržaja klorofila, nije javio samo kod biljka tretmana  $100 \mu\text{M Fe L}^{-1}$ , kod kukuruza, 7, 14 i 21 DNP, a kod uljane repice, 28 DNP.

Nedostatak željeza izaziva redukciju ukupne duljine korijena obje kulture, no jače je utjecao na dužinski rast korijena uljane repice. Statistički značajno smanjenje ukupne duljine korijena biljaka uzgajanih na tretmanima  $25$  i  $50 \mu\text{M Fe L}^{-1}$  u odnosu na biljke tretmana  $100 \mu\text{M Fe L}^{-1}$  utvrđene su 14 DNP, kod uljane repice, a 21 DNP, kod kukuruza, te je između biljaka uljane repice uzgajanih na različitim Fe tretmanima došlo do značajnije redukcije duljine korijen nego kod biljaka kukuruza. Redukcija ukupne površine i volumena korijena biljaka uzgajanih na tretmanima s nižim koncentracijama željeza mnogo su manje izražene od redukcije ukupne duljine korijena, kod obje kulture, a osobito kod kukuruza. Razlog tome je pojačano formiranje korijenovih dlačica kao najizraženije morfološke promjene korijena pri nedostatku željeza.

Najveće razlike suhe mase nadzemnih organa i korijena kukuruza utvrđene su kod biljaka tretmana  $100 \mu\text{M Fe L}^{-1}$ , a statistički su se značajno razlikovale od biljaka kontrole, 21 DNP,

te od biljaka kontrole i ostalih Fe tretmana 28 DNP. Najveće razlike suhe mase nadzemnih organa i korijena uljane repice utvrđene su kod biljaka tretmana  $25 \mu\text{M Fe L}^{-1}$  28 DNP. Takva alokacija suhe mase ukazuje da se pri nedostatku željeza kod kukuruza potiče razvoj korijena, te se asimilati translociraju u korijen i smanjuje se omjer suhe mase nadzemnih organa i korijena. Nedostatak željeza kod uljane repice više utječe na intenzitet fotosinteze i sintezu kloroplasta, te se asimilati troše na sintezu klorofila i povećanje fotosintetskog aparata, zbog čega se povećeva omjer suhe mase nadzemnih organa i korijena. U prilog ovom zaključku idu i rezultati mjerenja morfoloških karakteristika korijena te relativnog sadržaja klorofila. Gdje je nedostatak željeza uzrokovao manje razlike u duljini, površini i volumenu korijena kod kukuruza, u odnosu na uljanu repicu, a s druge strane tijekom mjerenja, kod uljane repice je utvrđen stalni porast, a kod kukuruza pad, relativnog sadržaja klorofila biljaka svih Fe tretmana.

## 8. Literatura

1. Arahou M., Diem H. G. (1997). Iron deficiency induces cluster (proteoid) root formation in *Causarina glauca*. *Plant and Soil* 196: 71-79.
2. Arnon D. I., Stout P. R. (1939). The essentiality of certain elements in minute quantity for plants with special reference to copper. *Plant Physiology* 14: 371-375.
3. Bergmann W., (1992). *Nutritional Disorders of Plants: Development, Visual and Analytical Diagnosis*. Fischer Verlag, Jena ISBN 3-334-60422-5.
4. Blake-Kalff M., Harrison K. R., Hawkesford M. J., Zhao F. J., McGrath S. P. (1998). Distribution of sulphur within oilseed rape leaves in response to sulphur deficiency during vegetative growth. *Plant Physiology* 118: 1337–1344.
5. Bloom A. J., Jackson L. E., Smart D. R. (1993). Root growth as a function of ammonium and nitrate in the root zone. *Plant Cell Environment* 16:199-206.
6. Boot R. G. A., Mensink M. (1990). Size and morphology of root systems of perennial grasses from contrasting habitats as affected by nitrogen supply. *Plant and Soil* 129: 291–299.
7. Chaney R. L., Brown J. C., Tiffin L. O. (1972). Obligatory reduction of ferric chelates in iron uptake by soybeans. *Plant Physiology* 50: 208-213.
8. Cramer N. (1990). *Raps: Anbau und Verwertung*. Ulmer Verlag, Stuttgart.
9. Cruz–Ramírez A., Calderon–Vázquez C., Herrera–Estrella L. (2009). Effect of Nutrient Availability on Root System Development. *Annual Plant Reviews* 37: 288–324.
10. Curie C., Panaviene Z., Loulergue C., Dellaporta S. L., Briat J. F., Walker E. L. (2001). Maize *yellow stripe1* encodes a membrane protein directly involved in Fe(III) uptake. *Nature* 409: 346 – 349.
11. Eide D., Broderius M., Fett J., Guerinot M. L. (1996). A novel iron-regulated metal transporter from plants identified by functional expression in yeast. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 93: 5624-5628.
12. Ericsson T. (1995). Growth and shoot: root ratio of seedling in relation to nutrient availability. *Plant and Soil* 168-169: 205–214.
13. Ford B., Lorenzo H. (2001). The nutritional control of root development. *Plant and Soil* 232: 51–68.



14. Foyer C. H., Valadier M. H., Migge A., Becker T. W. (1998). Drought induced effects on nitrate reductase activity and mRNA and on the coordination of nitrogen and carbon metabolism in maize leaves. *Plant Physiology* 117, 283–292.
15. Gastal F., Lemaire G. (2002). N uptake and distribution in crops: an agronomical and ecophysiological perspective, *Journal of Experimental Botany* 53: 789–799.
16. Guerinot M. L., Yi Y. (1994). Iron: nutritious, noxious and not readily available. *Plant Physiology* 104: 815–820.
17. Hell R., Stephan U. W. (2003). Iron uptake, trafficking and homeostasis in plants. *Planta* 216: 541–551.
18. Kramer S. M., Crowley D., Kretschmar R. (2006). Geochemical aspects of phytosiderophore-promoted iron acquisition by plants. *Advances in Agronomy* 91: 1-46.
19. Lazarević B., Rubinić V., Bensa A. (2011). Leaf relative chlorophyll content and plant sap nitrate-nitrogen concentration as indicators for predicting nitrogen status in maize (*Zea mais* L.). *Növénytermelés (Crop Production)* in press.
20. Lemanceau P., Bauer P., Kraemer S., Briat J. F. (2009). Iron dynamics in the rhizosphere as a case study for analyzing interaction between soils plants and microbes. *Plant and Soil* 321: 513–535.
21. Lindsay W. L. (1974). Role of chelation in micronutrient availability. Iz: carson E. W. (1974) *The Plant Root and Its Environment*, University Press of Virginia. 507-524.
22. Lindsay W. L. (1979). *Chemical equilibria in soils*. Wiley & Sons, New York. ISBN 0-471-02704-9
23. Lindsay W. L. (1991). Iron oxide solubilization by organic matter and its effect on iron availability. Iz: Chen Y. i Hadar Y. (1991). *Iron Nutrition and Interactions in Plants* Kluwer Academic Publishers, ISBN 0-7923-1095-0.
24. Lindsay W. L., Schwab A. P. (1982). The chemistry of iron in soils and its availability to plants. *Journal of Plant Nutrition* 5: 821-840.
25. López-Bucio J., Cruz-Ramírez A., Herrera-Estrella L. (2003). The role of nutrient availability in regulating root architecture. *Current Option in Plant Biology* 6: 280 - 287.
26. Malamy J. E., Ryan K. S. (2001). Environmental regulation of lateral root initiation in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 127: 899 – 909.

27. Marschner H., (1995). Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic press Inc. San Diego CA 92101. ISBN 0-12-473542-8
28. Marschner H., Römheld V. (1994). Strategies of plants for acquisition of iron. *Plant and Soil*. 165: 261-274.
29. Mengel K., Kirkly E. A., Kosegarten H., Appel T. (2006). Principles of Plant Nutrition 5<sup>th</sup> edition. Kluwer Academic Publishers. ISBN 079237150X.
30. Mori S. (1999). Iron acquisition by plants. *Current Option in Plant Biology* 2: 250–253.
31. Munch J. C. i Ottow J. C. G. (1983). Bacterial reductions of amorphous and crystalline iron oxides. *Science du Sol*. 3/4: 205-125.
32. Negishi T., Nakanishi H., Yazaki J., Kishimoto N., Fujii F., Shimbo K., Yamamoto K., Sakata T., Sasaki T., Kikuchi S., Mori S., Nishizawa N. K. (2002). cDNA microarray analysis of gene expression during Fe- deficiency stress in barley suggests that polar transport of vesicles is implicated in phytosiderophore secretion in Fe-deficient barley roots. *The Plant Journal* 30: 83–94.
33. Neumann G., Martinoia E. (2002). Cluster roots - an underground adaptation for survival in extreme environments. *Trends Plant Science*. 7: 162-167
34. Nozoye T., Inoue H., Takahashi M., Ishimaru Y., Nakanishi H., Mori S., Nishizawa N. K. (2007). The expression of iron homeostasis-related genes during rice germination. *Plant Molecular Biology* 64: 35-47
35. Pevalek – Kozlina B. (2003). *Fiziologija bilja*. Profil International Zagreb, Kaptol 25. ISBN 953-200-775-x.
36. Pushnik J. C., Miller G. W. (1989). Iron regulation of chloroplast photosynthetic function: mediation of PS I development. *Journal of Plant Nutrition* 12: 407-421.
37. Rae A. L., Smith F. W. (2002). Localisation of expression of a high-affinity sulfate transporter in barley roots. *Planta* 215: 565-568.
38. Robinson D. (1994). The responses of plants to non-uniform supplies of nutrients. *New Phytologist* 127: 635–674.
39. Römheld V., Marschner H. (1986). Mobilization of iron in the rhizosphere of different plants species. Iz: Tinker A., Läuchli A. "Advances in Plant Nutrition" Vol. 2 B. Prager Scientific, New York, 155-204.
40. Sharma S., Sanwal G. G. (1992). Effect of Fe deficiency on the photosynthetic system of maize. *Journal of Plant Physiology* 140: 527-530.

41. Shin R., Stachtman D. P. (2004). Hydrogen peroxide mediates plant root cell response to nutrient deprivation. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 101: 8827-8832.
42. Spiller S., Terry N. (1980). Limiting factors in photosynthesis II. Iron stress diminishes photochemical capacity by reducing the number of photosynthetic units. *Plant Physiology* 65: 121-125.
43. Thornley J. H. M. (1972). Balanced quantitative model for root:shoot ratios in vegetative plants. *Annals of Botany* 36: 431-441.
44. Vert G. A., Briant J. F., Curie C. (2003). Dual regulation of the arabidopsis high-affinity root iron uptake system by local and long-distance signals. *Plant Physiology* 132: 796-804.
45. Véry A.-A., Sentenac H. (2003). Molecular mechanisms and regulation of  $K^+$  transport in higher plants. *Annual Reviews of Plant Biology* 54: 575-603.
46. Waters B. M., Blevins D. G., Eide D. J. (2002). Characterization of FRO1, a pea ferric-chelate reductase involved in root iron acquisition. *Plant Physiology* 129: 85-94.
47. Yi Y., Guerinot M. L. (1996). Genetic evidence that induction of root Fe (III) chelate reductase activity is necessary for iron uptake under iron deficiency. *Plant Journal* 10: 835 – 844.

## **Nedostatak željeza kod biljaka s različitim mehanizmima usvajanja željeza, „case study“: kukuruz i uljana repica**

Zoran Bahat i Domagoj Stepinac

### **Sažetak**

Željezo je esencijalno biljno hranjivo koje sudjeluje u sintezi klorofila, hem proteina i enzima, transportnom sustavu elektrona u fotosintezi i disanju, te njegov nedostatak dovodi do značajnih fizioloških poremećaja u biljci. Željezo je četvrti element po zastupljenosti u Zemljnoj kori, no u tlu se nalazi u teško dostupnim oblicima za biljke. Na topivost željeznih oksida i hidroksida i njegovu biodostupnost biljkama najviše utječe pH tla i redoks procesi u tlu. Biljke su razvile mehanizme kojima povećavaju topivost i biodostupnost željeza u tlu, dikotiledone i negraminejske monokotiledone su razvile tzv. Strategiju I, a gramineje su razvile tzv. Strategiju II. Uz ove, fiziološke prilagodbe, biljke imaju sposobnost prilagodbe morfololoških karakteristika korijena u cilju povećanja usvajanja teško dostupnih hranjiva. Cilj ovog pokusa bio je utvrditi reakcije biljaka s različitim mehanizmima usvajanja željeza, kukuruza (*Zea mais* L.) i uljane repice (*Brassica napus ssp. oleifera* L.), na suboptimalnu ishranjenost željezom. Pokus je postavljen u komorama rasta Agronomskog fakultet u Zagrebu. Biljke kukuruza (Strategija II) i uljane repice (Strategija I) uzgajane su na hranjivim otopinama s 0, 25, 50 i 100  $\mu\text{M L}^{-1}$  Fe-EDTA. Pokusom je praćen utjecaj nedostatka željeza na usvajanje i translokaciju željeza, dinamiku rasta i morfološke karakteristike korijena, relativni sadržaj klorofila te omjera suhe mase nadzemnih organa i korijena tijekom prva četiri tjedna rasta kukuruza i uljane repice. Korijen i nadzemni organi uljane repice uzgajane na Fe tretmanima sadržavali su veće količine željeza u odnosu na korijen i nadzemne organe kukuruza, što može ukazivati na veću sposobnost uljane repice (Strategije I) za usvajanjem

željeza. Smanjenje relativnog sadržaja klorofila kao rezultat nedostatka nije se javilo samo kod biljka tretmana  $100 \mu\text{M Fe L}^{-1}$ , kod kukuruza, 7, 14 i 21 dana nakon presađivanja (DNP), a kod uljane repice, 28 DNP. Nedostatak željeza izaziva redukciju dužinskog rasta korijena, ali manje utječe na površinu i volumen korijena zbog formiranja korijenovih dlačica kod biljka deficitarnih željezom. Nedostatak željeza kod kukuruza ima značajniji utjecaj na rast korijena te smanjuje omjer suhe mase nadzemnih organa i korijena, a kod uljane repice značajnije utječe na fotosintetski aparat te povećava omjer suhe mase nadzemnih organa i korijena.

**Ključne riječi:** nedostatak željeza, mehanizam usvajanja, morfološke karakteristike korijena, klorofil, odnos korijen/nadzemni dio.

**Iron deficiency on plants with the different iron acquisition mechanisms, case study:  
maize and oilseed rape**

Zoran Bahat i Domagoj Stepinac

**Summary:**

Iron is essential plant nutrient which is necessary for the synthesis of chlorophyll, heme proteins and enzymes, and has important function in photosynthesis and respiration electron transport chain. Iron is fourth element in Earth's crust, but in the soil it is in forms that are scarcely available to the plants. Solubility of iron oxides and hydroxides depends on soil pH and redox potential. Plants have developed mechanisms for enhancing iron solubility and bioavailability. Dicotyledones and non graminea monocotyledones have developed Strategy I, and graminea monocotyledones have developed Strategy II. Besides these physiological adaptation, for the acquisition of scarcely available nutrients, plants can modify their root morphology. The aim of this experiment was to determine the effects of suboptimal iron nutrition on plants with different iron acquisition mechanisms, maize (*Zea mais* L.) and oilseed rape (*Brassica napus ssp. olifera* L.). The experiment was conducted in growth chamber on the Faculty of Agriculture in Zagreb. Maize (Strategy II) and oilseed rape (Strategy I) plants were grown on nutrient solution with different iron concentrations, 0, 25, 50 i 100  $\mu\text{M L}^{-1}$  Fe-EDTA. During the experiment, the influence of iron deficiency on iron acquisition and translocation within the plant, dynamics of root growth and morphology, leaf relative chlorophyll content and shoot:root dry weight ratio, were observed. Roots and shoots of oilseed rape plants contained greater concentrations of iron in comparison to roots and shoots of maize, which can indicate greater ability of oilseed rape (Strategy I) for iron acquisition. The observed reduction of relative chlorophyll content on iron-deficient plants did not appear only on maize plants grown in 100  $\mu\text{M Fe L}^{-1}$  at 7, 14 i 21 days after planting

(DAP), and on oilseed rape plants grown in  $100 \mu\text{M Fe L}^{-1}$  at 28 DAP. Iron deficiency caused reduction of root elongation, but has less influence on reduction of root area and root volumen due to enhanced root hair formation in iron-deficient plants. Iron deficiency on maize has greater influence on root growth and reduce shoot:root dry weight ratio, on the other hand iron deficiency on oilseed rape has greater influence on photosynthetic apparatus, and increases shoot:root dry weight ratio.

**Key words:** iron deficiency, absorption mechanism, root morphological characteristics, chlorophyll, root to shoot ratio.