

## INTENZITET FOTOSINTEZE I VEGETATIVNI RAST HRASTA LUŽNJAKA (*Quercus robur* L.) U POKUSNOM NASADU

### PHOTOSYNTHESIS INTENSITY AND VEGETATIVE GROWTH OF PEDUNCULATE OAK (*Quercus robur* L.) IN COMMON-GARDEN EXPERIMENT

Željko ŠKVORC\*, Krunoslav SEVER\*, Jozo FRANJIĆ\*,  
Daniel KRSTONOŠIĆ\*, Milan POLJAK\*\*

**SAŽETAK:** U radu je analiziran utjecaj mikrostaništa na fiziološke značajke i vegetativni rast hrasta lužnjaka. Istraživanje je provedeno na dvije pokusne plohe koje se odlikuju različitim kemijskim značajkama, sadržajem vlage i temperaturom tla. Cilj rada bio je utvrditi utjecaj različitih kemijskih značajki tla na vegetativni rast i intenzitet fotosinteze hrasta lužnjaka, kao i odnos koncentracije klorofila i intenziteta fotosinteze. Biljke uzrasle na tlu s većom koncentracijom humusa, dušika, fosfora i kalija imaju veći intenzitet fotosinteze, veću koncentraciju klorofila te bolji vegetativni rast. Zbog povoljnog odnosa volumetrijskog sadržaja vlage u tlu i vodnog potencijala istraživanih biljaka, njihov značajniji utjecaj na fiziološke i vegetativne značajke hrasta lužnjaka nije utvrđen. Rezultati ukazuju na visoku pozitivnu korelaciju između indeksa ukupnih klorofila u proljetnim listovima i većine fizioloških te vegetativnih značajki istraživanih biljaka.

**Ključne riječi:** kemijski sastav tla, sadržaj klorofila, indeks lisne površine, visinski prirast, debljinski prirast

#### UVOD – Introduction

Utjecaj raznih tipova okolišnoga stresa na šumsko drveće najčešće se manifestira kroz otežano usvajanje mineralnih hraniva. To rezultira smanjenom učinkovitosti fotosintetskih pigmenta u staničju lista (Bacci i dr. 1998) i produkcijom nedovoljne količine ugljikohidrata potrebne za normalan vegetativni razvoj (Jimez i dr. 1997; Mohammed i dr. 1997). Zbog naglog porasta koncentracije karotenoida u odnosu na klorofil koji je podložan nagloj destrukciji uslijed djelovanja stresnih čimbenika, dolazi do promjene u odnosu ukupnih klorofila i karotenoida u listu, što se često koristi kao indikator stresa (Hendry i Pirce 1993). U tom slučaju listovi u krošnji stabla najčešće prijevremeno izgube zelenu boju i požute. Navedeni simptomi najčešće ukazuju na neadekvatnu ishranjenosti biljke s dušikom,

odnosno na nedostatak dušika u tlu (Seletković 2006). Uloga dušika kao biljnoga hraniva povezana je s mnogobrojnim fiziološkim procesima odgovornima za uspješan rast i razvoj biljaka. Primjerice, dušik je esencijalan element odgovoran za neometano odvijanje fotosintetskog procesa i vegetativnog rasta biljke, ponajprije zbog uloge u sintezi klorofila i pojedinih proteina kao što je ribuloza-1,5-bisfosfat karboksilaza (Rubisco) koji je odgovoran za asimilaciju CO<sub>2</sub> (Lawlor 2001).

S obzirom na važnu ulogu klorofila kao osnovnog fotosintetskog pigmenta povezanog s vitalnošću biljke, tijekom posljednjih nekoliko desetljeća razvijena je brza, nedestruktivna metoda klorofilometrije kojom je moguće procijeniti sadržaj klorofila u staničju lista (Loh i dr. 2002; Cate i Perkins 2003; Jifon 2005; Pinkard i dr. 2006). Metoda klorofilometrije temelji se na primjeni raznih tipova optičkih klorofilmetara kao što su SPAD-502 (Minolta crop. Ramsey, N. J.), CCM-200 (Opti-sciences, Tyngsboro, Mass.), CM-1000 (Spectrum Technologies, Plainfield Ill) i dr. koji rade po vrlo sličnom načelu (Jifon 2005).

\* Izv. prof. dr. sc. Željko Škvorc, Krunoslav Sever, dipl. ing. šum., prof. dr. sc. Jozo Franjić, Daniel Krstonošić, dipl. ing. šum., Šumarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska 23, 10 000, Zagreb

\*\* Prof. dr. sc. Milan Poljak, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska 25, 10 000, Zagreb

U svrhu procjene raznih tipova okolišnoga stresa metoda klorofilometrije uspješno se primjenjuje kod mnogih poljoprivrednih usjeva (Marquand i Tip-ton 1987; Dweyer i dr. 1994; Chapman i Barretto 1997) i nekih vrsta šumskoga drveća (Loh i dr. 2002; Cate i Perkins 2003; Jifon 2005; Pinkard i dr. 2006; Percival i dr. 2008). Uz to, metoda je pronašla svoju primjenu i prilikom utvrđivanja ishranjenosti biljaka s dušikom. U tu svrhu, metodu je moguće primijeniti zahvaljujući bliskoj povezanosti između sadržaja klorofila u staničju lista i koncentracije dušika koji je ondje najvećim dijelom sastavni dio molekula klorofila (Lambert i dr. 2003). U listovima nekih vrsta šumskoga drveća kao što su hrast lužnjak, obična bukva i gorski javor, utvrđene su visoke korelacije između klorofilnog indeksa očitana pomoću klorofilmetra i stvarnih koncentracija klorofila, karotenoida i dušika (Percival i dr. 2008).

#### MATERIJAL I METODE – Materials and methods

U proljeće 2008. godine s vegetativno razmnoženim jedinkama hrasta lužnjaka (klonovima) u dobi od jedne godine osnovan je klonski test u rasadniku "Brestje" kojim gospodari javno poduzeće Hrvatske šume d.o.o. Ukupna površina pokusne plohe iznosi 0,48 ha. Istraživanje je provedeno tijekom vegetacijskog razdoblja

U dosadašnjim istraživanjima šumskoga drveća utvrđene su značajne razlike u intenzitetu fotosinteze i vegetativnom razvoju s obzirom na različite stanišne prilike. Te razlike najčešće su uvjetovane – dužinom trajanja ljetnih suša i visokim temperaturama (Liu-kang i Baldocch i 2003), intenzitetom osvjetljenja (Hees 1997), te razlikama između sušnih i vlažnih godina (Leuschren i dr. 2001).

Ovo istraživanje provedeno je u pokusnom nasadu hrasta lužnjaka u kojemu je tijekom dva vegetacijska razdoblja vizualno uočena slabija vitalnost biljaka koje rastu na jednom dijelu pokusne plohe. Cilj ovoga rada je (1) utvrditi utjecaj mikrostaništa na intenzitet fotosinteze i vegetativni rast hrasta lužnjaka, (2) utvrditi vezu između indeksa sadržaja ukupnih klorofila u listu i intenziteta fotosinteze te vegetativnog rasta hrasta lužnjaka.

2010. godine na biljakama u dobi od četiri godine. U klonskom testu nalazilo se 145 klonova s ukupno 375 rameta, posađenih u međusobnom razmaku od  $2,5 \times 2,5$  metra. Više informacija o načinu i razlozima osnivanja klonskog testa donose Franjić i dr. (2009).

#### Biljni materijal i dizajn pokusa – Plant material and design of field trial

Sredinom dva vegetacijska razdoblja u srpnju i kolovozu 2008. i 2009. godine vizualno je uočena kloroza listova na biljakama koje rastu na jednom dijelu pokusne plohe, dok na ostatku pokusne plohe kloroza nije uočena.

Na temelju vizualnih razlika u boji listova izdvojene su manje plohe "klorotična" i kontrola (bez klo-

roze), međusobno udaljene oko 30 m. Na svakoj istraživanoj plohi nalazilo se osam biljaka tj. ukupno 16 biljaka. Ukupna prosječna visina istraživanih biljaka prije početka istraživanja iznosila je  $1,96 \pm 0,44$  m, a promjer debla mjereno na 30 cm iznad tla, iznosio je 2,5 cm.

#### Kemijske značajke tla – Chemical properties of soil

Radi utvrđivanja razlika u kemijskim značajkama tla između dviju istraživanih ploha uzorci su prikupljeni na dubini 0–30 cm. Reakcija tla određena je potencijometrijski pomoću pH metra HACH EC 30 u suspenziji tla i vode odnosno tla i nKCl. Humus je određen metodom po Tjurin-u, a ukupni dušik meto-

dom po Kjendahl-u. Sadržaj fiziološki aktivnoga fosfora i kalija utvrđen je Al-metodom. Fosfor je očitao na UV/VIS spektrofotometru PE Lambda 1A, dok je kalij određen izravno iz filtrata na plamenom fotometru Eppendorf.

#### Meteorološke prilike – Weather conditions

Na istraživanim plohama postavljena je po jedna automatska meteorološka postaja. Tijekom vegetacijskoga razdoblja na obje postaje istovremeno su mjereni temperatura tla na dubini od 15 cm i volumetrijski sadr-

žaja vlage u tlu na dubini između 10 i 30 cm. Na jednoj od meteoroloških postaja bilježene su dnevne vrijednosti temperature zraka, relativne vlažnosti zraka i količine oborina.

#### Vegetativni rast biljaka – Vegetative plant growth

Prije (sredinom ožujka) i nakon vegetacijskoga razdoblja (sredinom studenoga) istraživanim biljkama izmjereno je promjer debla na visini od 30 cm iznad tla i visina. Istovremeno na svakoj biljci utvrđen je broj pri-

marnih grana kojima je izmjerena dužina i promjer na udaljenosti 2 cm od debla. Na temelju tako prikupljenih podataka izračunat je visinski i debljinski prirast biljaka, te debljinski i dužinski prirast primarnih grana

svake biljke. Na početku vegetacijskoga razdoblja na primarnim je granama utvrđen broj proljetnih izbojaka s pripadajućim listovima. Sredinom vegetacijskoga razdoblja utvrđen je broj ljetnih izbojaka sa pripadajućim listovima koji su razvijeni u lipnju i srpnju. Na temelju broja i površine listova, te projekcije površine krošnje na tlo izračunat je indeks lisne povr-

šine za svako stablo. Indeks lisne površine (LAI) izračunat je nakon pojave proljetnih izbojaka i potpunog razvoja njihovih listova, što se odnosi na sredinu vegetacijskoga razdoblja te ponovo nakon pojave ljetnih izbojaka i potpunog razvoja njihovih listova, krajem vegetacijskoga razdoblja.

### Intenzitet fotosinteze i indeks sadržaja ukupnih klorofila u listovima

#### *Leaves photosynthesis intensity and chlorophyll content index*

Izmjere intenziteta fotosinteze i indeksa sadržaja ukupnih klorofila obavljene su početkom rujna, istovremeno na proljetnim i ljetnim listovima. Izmjere su obavljene između 9:00 i 12:00 sati na tri slučajno odabrana i potpuno razvijena lista iz srednjeg dijela krošnje koji zauzimaju četvrtu poziciju gledano od vrha izbojka. Intenzitet fotosinteze mjeren je pomoću prijenosnog uređaja LCpro+ (ADC BioScientific, 2007). Svaki list tijekom izmjere intenziteta fotosinteze bio je

izložen intenzitetu osvjetljenja od  $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , koncentraciji  $\text{CO}_2$  od  $380 \pm 10 \mu\text{mol mol}^{-1}$  i temperaturi zraka od  $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Indeks sadržaja ukupnih klorofila utvrđen je na temelju pet izmjera po jednom listu na slučajno odabranom mjestu izbjegavajući glavnu lisnu žilu. Izmjera je obavljena pomoću klorofilmetra CCM-200 (Opti-Sciences, Tyngsboro, MA).

#### Vodni potencijal – *Water potential*

Pomoću prijenosne komore za izmjeru vodnog potencijala (PMS Instruments, Corvallis, Ore) obavljena je izmjera vodnog potencijala u listovima ( $\Psi$ ) istraživanih biljaka. Izmjera je obavljena u tri navrata, sredinom srpnja i kolovoza te početkom rujna. Za izmjeru je oda-

bran jedan list po stablu iz vršnoga dijela krošnje, na kojemu je odmah obavljena izmjera. Vodni potencijal u listovima je mjeren dva puta dnevno, prije zore ( $\Psi_{\text{pd}}$ ) između 4:00 i 5:00 sati, te u podne ( $\Psi_{\text{md}}$ ) između 12:00 i 13:00 sati.

#### Statistička analiza – *Statistical analysis*

Razlike između vrijednosti dobivenih mjerenjem na klorotičnim i kontrolnim biljkama testirane su primjenom t-testa.

Odnos između indeksa relativnoga sadržaja klorofila i fizioloških te vegetativnih značajki istraživanih

biljaka utvrđen je regresijskom analizom. Statističke analize provedene su programskim paketom Statistica 7.1. (StatSoft, Inc. 2006).

### REZULTATI – Results

Kemijske značajke tla istraživanih ploha prikazane su u tablici 1. Na klorotičnoj plohi tlo je jako kisele reakcije, a na kontrolnoj plohi kisele reakcije. Klorotična ploha ističe se jako slabom opskrbljenosti dušikom, dok je kontrolna ploha dobro do umjereno opskrbljena dušikom. Sadržaj fiziološki aktivnoga fos-

fora na klorotičnoj plohi je ekstremno nizak, dok je kontrolna ploha srednje opskrbljena s fiziološki aktivnim fosforom. Na obje istraživane plohe opskrbljenost pristupačnim kalijem na donjoj je granici srednje opskrbljenosti. Sadržaj humusa na istraživanim ploham je vrlo nizak, posebice na klorotičnoj plohi.

Tablica 1. Kemijske značajke tla na klorotičnoj i kontrolnoj plohi  
*Table 1. Chemical traits of soil on the chlorotic and control plot*

Ploha – Plot	pH		%		mg 100 g <sup>-1</sup> tla	
	H <sub>2</sub> O	nKCl	humus	N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O
Klorotična – <i>Chlorotic</i>	5,82	4,28	0,52	0,06	0,90	14,0
Kontrolna – <i>Control</i>	6,63	5,36	1,79	0,10	15,95	15,0

Meteorološke prilike tijekom istraživanog razdoblja, volumetrijski sadržaj vlage u tlu, te temperatura tla na istraživanim ploham prikazani su u tablici 2. Na klorotičnoj plohi utvrđen je veći volumetrijski sadržaj vlage u tlu, kao i više temperature tla u odnosu na kontrolnu plohu.

Statistički značajna razlika izmjerenih vrijednosti vodnoga potencijala biljaka uzraslih na istraživanim ploham utvrđena je samo prilikom podnevnog mjerenja tijekom srpnja. U kolovozu i rujnu statistički značajne razlike izmjerenih vrijednosti vodnoga potencijala nisu utvrđene (tablica 3).

Tablica 2. Meteorološke prilike, sadržaj vlage i temperature tla na klorotičnoj i kontrolnoj plohi tijekom vegetacijskoga razdoblja (vrijednosti označene različitim slovima statistički su značajno različite na razini  $p < 0,05$  prema t-testu).

Table 2. Weather conditions, soil moisture and temperature on the chlorotic and control plot during the growing season (values marked with the different letter are significant at  $p < 0,05$  according t-test).

Mjesec Month	Temperatura zraka – Air temperature (°C)	Relativna vlažnost zraka – Relative humidity (%)	Oborine – Precipitation (mm)	Volumetrijski sadržaj vlage u tlu – Volumetric content of soil moisture (%)		Temperatura tla – Soil temperature (°C)	
				Klorotična ploha Chlorotic plot	Kontrolna ploha Control plot	Klorotična ploha Chlorotic plot	Kontrolna ploha Control plot
4.	11,5	65,4	56,5	33,6 <sup>a</sup>	27,5 <sup>b</sup>	11,4 <sup>a</sup>	11,2 <sup>a</sup>
5.	15,8	70,4	138,7	31,7 <sup>a</sup>	25,8 <sup>b</sup>	16,4 <sup>a</sup>	15,4 <sup>b</sup>
6.	19,7	67,1	96,7	30,2 <sup>a</sup>	26,9 <sup>b</sup>	20,5 <sup>a</sup>	19,4 <sup>a</sup>
7.	22,7	65,3	65,7	20,5 <sup>a</sup>	21,0 <sup>a</sup>	24,7 <sup>a</sup>	22,3 <sup>b</sup>
8.	20,4	74,6	150,7	25,9 <sup>a</sup>	25,0 <sup>a</sup>	22,8 <sup>a</sup>	21,0 <sup>b</sup>
9.	14,6	82,4	188,5	32,0 <sup>a</sup>	28,8 <sup>b</sup>	17,1 <sup>a</sup>	17,5 <sup>a</sup>

Tablica 3. Vrijednosti vodnoga potencijala mjenjenoga tijekom vegetacijskog razdoblja na klorotičnoj i kontrolnoj plohi (vrijednosti označene različitim slovima statistički su značajno različite na razini  $p < 0,05$  prema t-testu).

Table 3. Values of water potential ( $\Psi$ ) measured during the growing season on the chlorotic and control plot (values marked with the different letter are significant at  $p < 0,05$  according t-test).

Ploha Plot	$\Psi_{7_{pd}}$	$\Psi_{7_{md}}$	$\Psi_{8_{pd}}$	$\Psi_{8_{md}}$	$\Psi_{9_{pd}}$	$\Psi_{9_{md}}$
	MPa					
Klorotična Chlorotic	-0,14 ± 0,04 <sup>a</sup>	-0,78 ± 0,18 <sup>a</sup>	-0,18 ± 0,06 <sup>a</sup>	-0,44 ± 0,23 <sup>a</sup>	-0,09 ± 0,05 <sup>a</sup>	-0,42 ± 0,13 <sup>a</sup>
Kontrolna Control	-0,19 ± 0,08 <sup>a</sup>	-1,08 ± 0,26 <sup>b</sup>	-0,15 ± 0,04 <sup>a</sup>	-0,53 ± 0,18 <sup>a</sup>	-0,08 ± 0,05 <sup>a</sup>	-0,39 ± 0,13 <sup>a</sup>

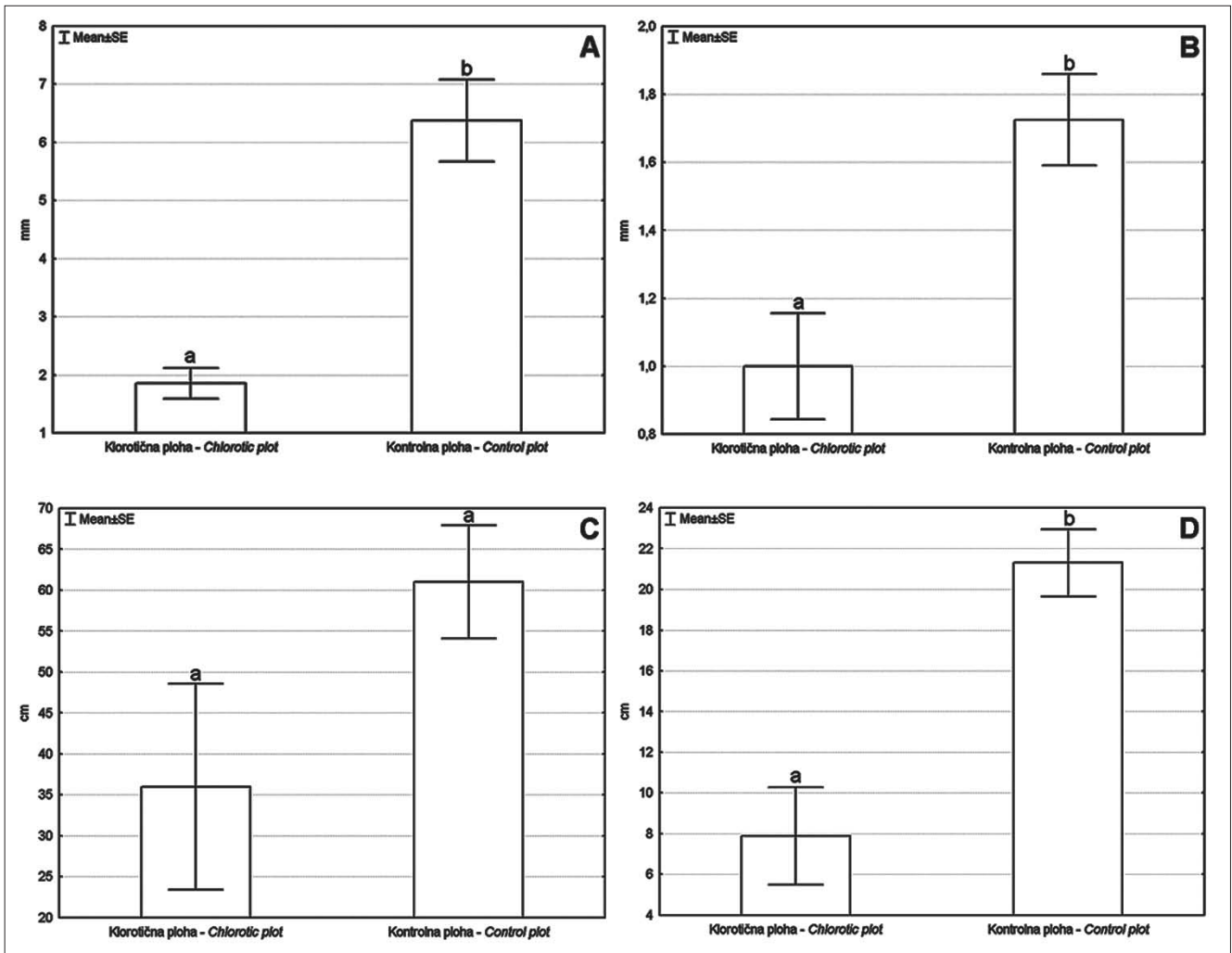
Tablica 4. Razlike u vrijednostima parametara vegetativnoga rasta između klorotične i kontrolne plohe (vrijednosti označene različitim slovima statistički su značajno različite na razini  $p < 0,05$  prema t-testu).

Table 4. Differences in values of the parameters of vegetative growth between chlorotic and control plot (values marked with the different letter are significant at  $p < 0,05$  according t-test).

Parametri vegetativnog rasta Parameters of vegetation growth	Ploha – Plot	
	Klorotična Chlorotic	Kontrolna Control
Broj primarnih grana – Number of primary branches	19 ± 3 <sup>a</sup>	24 ± 7 <sup>a</sup>
Broj proljetnih izbojaka – Number of spring shoots	130 ± 46 <sup>a</sup>	204 ± 41 <sup>b</sup>
Broj listova na proljetnim izbojcima – Number of leaves on spring shoots	966 ± 486 <sup>a</sup>	1821 ± 490 <sup>b</sup>
Broj ljetnih izbojaka – Number of summer shoots	8 ± 9 <sup>a</sup>	40 ± 14 <sup>b</sup>
Broj listova na ljetnim izbojcima – Number of leaves on summer shoots	77 ± 80 <sup>a</sup>	604 ± 344 <sup>b</sup>
Ukupna površina proljetnih listova (m <sup>2</sup> ) – Total area of spring leaves (m <sup>2</sup> )	2,1 ± 0,9 <sup>a</sup>	5,1 ± 1,1 <sup>b</sup>
Ukupna površina ljetnih listova (m <sup>2</sup> ) – Total area of summer leaves (m <sup>2</sup> )	0,2 ± 0,2 <sup>a</sup>	1,4 ± 0,8 <sup>b</sup>

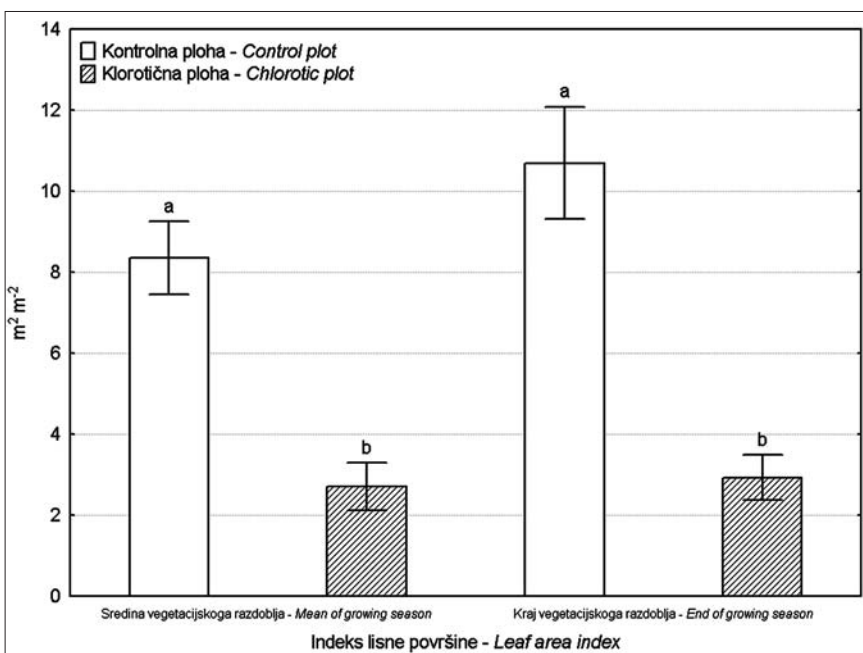
Svi parametri vegetativnoga rasta istraživanih biljaka uzraslih na kontrolnoj plohi imaju statistički značajno veće vrijednosti u odnosu na biljke uzrasle na klorotičnoj plohi, izuzev broja primarnih grana koji se između istraživanih ploha statistički značajno ne razlikuje (tablica 4). Debljinski prirast debla i primarnih grana kao i dužinski prirast primarnih grana također je statistički značajno veći na kontrolnoj u odnosu na klorotičnu plohu, dok se visinski prirast debla između ploha statistički značajno ne razlikuje (slika 1).

Indeks lisne površine istraživanih biljaka mjeren sredinom i krajem vegetacijskoga razdoblja statistički je značajno veći na kontrolnoj u odnosu na klorotičnu plohu (slika 2).



Slika 1. Debljinski prirast debla (A) i primarnih grana (B), te visinski prirast debla (C) i dužinski prirast primarnih grana (D) između klorotične i kontrolne plohe (vrijednosti označene različitim slovima statistički su značajno različite na razini  $p < 0,05$  prema t-testu).

Figure 1 Differences in stem diameter increment (A), diameter increment of primary branches (B), height increment of the trunk (C) and length increment of primary branches (D) between the chlorotic and control plot (values marked with the different latter are significant at  $p < 0,05$  according t-test).

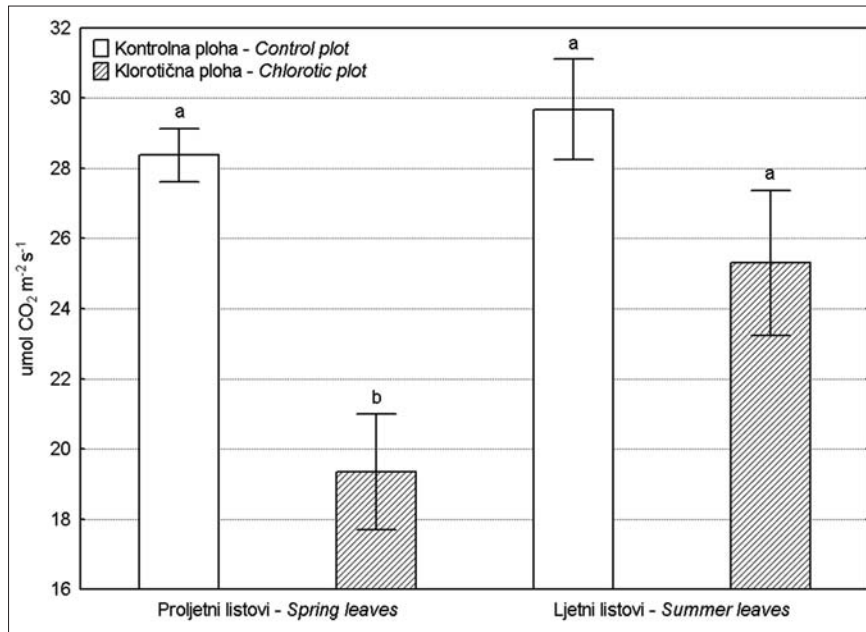


Slika 2. Vrijednosti indeksa lisne površine između klorotične i kontrolne plohe sredinom i krajem vegetacijskoga razdoblja (vrijednosti označene različitim slovima statistički su značajno različite na razini  $p < 0,05$  prema t-testu).

Figure 2 Values of leaf area index between the chlorotic and the control plot in the middle and end of vegetation season (values marked with the different latter are significant at  $p < 0,05$  according t-test).

Intenzitet fotosinteze mjeren na proljetnim listovima istraživanih biljaka statistički se značajno razlikuje između kontrolne i klorotične plohe. Na kontrolnoj plohi iznosio je  $28,4 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , dok je na klorotičnoj plohi intenzitet fotosinteze iznosio  $19,3 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Izmjerene vrijednosti intenziteta fotosinteze na ljetnim listovima statistički se značajno

nisu razlikovale između istraživanih ploha, no unatoč tomu, na kontrolnoj plohi vrijednosti su bile također veće u odnosu na klorotičnu plohu (slika 3). Vrijednosti indeksa sadržaja ukupnih klorofila u listovima istraživanih biljaka statistički se značajno razlikuju s obzirom na istraživane plohe bilo da je sadržaj klorofila mjeren na proljetnim ili ljetnim listovima (slika 4).

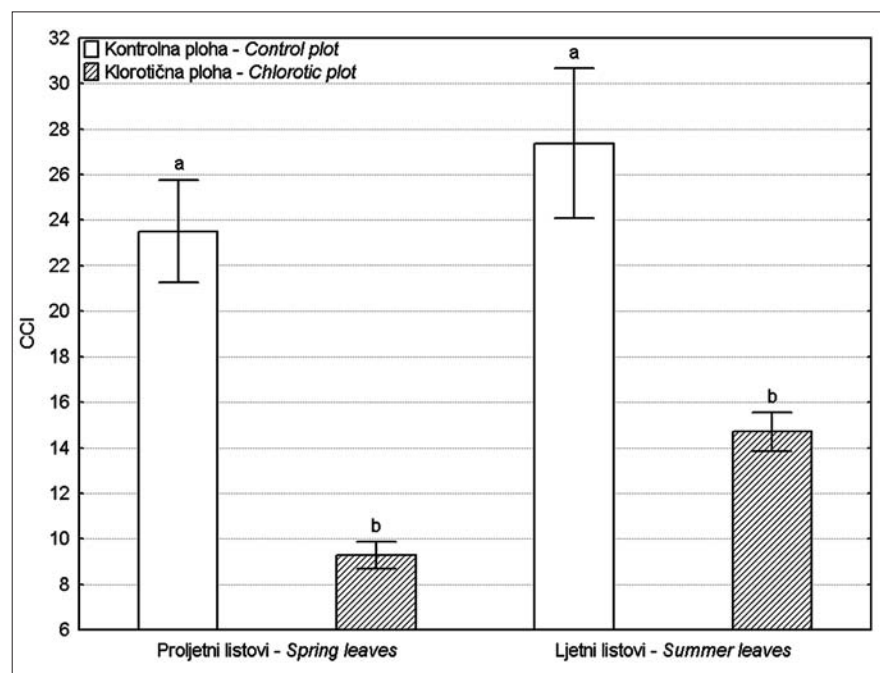


Slika 3. Vrijednosti intenziteta fotosinteze na klorotičnoj i kontrolnoj plohi izmjerenih na proljetnim i ljetnim listovima (vrijednosti označene različitim slovima statistički su značajno različite na razini  $p < 0,05$  prema t-testu).

Figure 3 Values of the intensity of photosynthesis in chlorotic and control plots measured in the spring and summer leaves (values marked with the different latter are significant at  $p < 0,05$  according t-test).

Slika 4. Vrijednosti indeksa relativnog sadržaja klorofila (CCI) na klorotičnoj i kontrolnoj plohi izmjerenih na proljetnim i ljetnim listovima (vrijednosti označene različitim slovima statistički su značajno različite na razini  $p < 0,05$  prema t-testu).

Figure 4 Values of the chlorophyll content index (CCI) in chlorotic and control plots measured in the spring and summer leaves (values marked with the different latter are significant at  $p < 0,05$  according t-test).



Regresijskom analizom utvrđena je visoka pozitivna korelacija između indeksa sadržaja ukupnih klorofila izmjerenoga na proljetnim listovima istraživanih biljaka s intenzitetom fotosinteze, indeksom lisne površine, debljinskim prirastom stabla te dužinskim i debljinskim prirastom primarnih grana (tablica 5). Veza između indeksa sadržaja ukupnih klorofila i vi-

sinskog prirasta stabla nije utvrđena. Vrijednosti indeksa sadržaja klorofila izmjerenoga na ljetnim listovima uglavnom imaju slabiju korelaciju s vegetativnim značajkama istraživanih biljaka u odnosu na vrijednosti indeksa klorofila izmjerenoga na proljetnim listovima (tablica 5).

Tablica 5. Koeficijenti korelacije između indeksa relativnog sadržaja klorofila u listovima (CCI) te fizioloških i vegetativnih značajki.

Table 5 The correlation coefficients between chlorophyll content index in the leaves (CCI) and the physiological and vegetative traits.

Fiziološke i vegetativne značajke istraživanih biljaka <i>Physiological and vegetative traits of the investigated plants</i>	CCI proljetnih listova <i>CCI of spring leaves</i>	CCI ljetnih listova <i>CCI of summer leaves</i>
	$r^2$	
Intenzitet fotosinteze ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) <i>Intensity of photosynthesis (<math>\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}</math>)</i>	0,74	0,54
LAI sredinom vegetacijskog razdoblja ( $\text{m}^2 \text{ m}^{-2}$ ) <i>LAI in the middle of vegetation period (<math>\text{m}^2 \text{ m}^{-2}</math>)</i>	0,70	-
LAI krajem vegetacijskog razdoblja ( $\text{m}^2 \text{ m}^{-2}$ ) <i>LAI on the end of vegetation period (<math>\text{m}^2 \text{ m}^{-2}</math>)</i>	0,77	0,81
Visinski prirast stabla (cm) <i>Height increment of tree (cm)</i>	ns	ns
Debljinski prirast stabla (mm) <i>Diameter increment of trees (mm)</i>	0,59	ns
Dužinski prirast primarnih grana (cm) <i>Increment of length of primary branches (cm)</i>	0,62	0,38
Debljinski prirast primarnih grana (mm) <i>Diameter increment of primary branches (mm)</i>	0,65	0,29

ns – korelacija nije statistički značajna na razini  $p < 0,05$  / correlation is not significant at  $p < 0,05$

## RASPRAVA – Discussion

Rezultati istraživanja ukazuju kako se klorotična i kontrolna ploha razlikuju s obzirom na kemijske značajke tla, sadržaj vlage u tlu i temperaturu tla (tablice 1 i 2). S obzirom da je na obje plohe volumetrijski sadržaj vlage u tlu bio prilično visok (tablica 2) može se pretpostaviti da vlaga u tlu nije imala značajniji utjecaj na fiziološke procese i rast istraživanih biljaka. To dodatno potvrđuju vrijednosti vodnoga potencijala mjerenog tijekom vegetacijskoga razdoblja koje ukazuju kako istraživane biljke nisu bile pod utjecajem sušnoga stresa. Prema Epronu i Dreyeru (1993) ozbiljan sušni stres koji negativno utječe na intenzitet fotosinteze kod hrasta lužnjaka javlja se kada se vrijednosti vodnoga potencijala mjenog pred zoru spuste do  $-2 \text{ MPa}$ . Prilikom našega istraživanja tako niske vrijednosti vodnoga potencijala nisu zabilježene (tablica 3).

Na temelju dobivenih rezultata može se pretpostaviti da su razlike u kemijskim značajkama tla imale odlučujući utjecaj na ishranjenost biljaka, odnosno na intenzitet fotosinteze. Veći intenzitet fotosinteze utvrđen je kod biljaka uzraslih na kontrolnoj plohi koja se odlikuje većom koncentracijom humusa i dušika u tlu u odnosu na klorotičnu plohu (tablica 1). U dosadašnjim istraživanjima utvrđeno je da su vrijednosti indeksa klorofila usko povezane s koncentracijom dušika u listu hrasta lužnjaka (Percival i dr. 2008). S obzirom na veći indeks klorofila koji je utvrđen kod biljaka uzraslih na kontrolnoj plohi, možemo reći kako su one bile bolje ishranjene s dušikom (slika 4). Ekstremno niske vrijednosti fiziološki aktivnoga fosfora utvrđene

na klorotičnoj plohi (tablica 1) također mogu biti jedan od razloga slabijeg intenziteta fotosinteze, odnosno vegetativnoga rasta. Prema Lambersonu i dr. (2003) uslijed neadekvatne opskrbljenosti biljaka anorganskim fosfatima dolazi do nagomilavanja produkata fotosinteze u kloroplastima, te pada intenziteta fotosinteze. U tom slučaju hraniva se ne premještaju do vršnih i lateralnih meristema te dolazi do usporavanja vegetativnoga rasta.

Uspješan vegetativni rast šumskoga drveća usko je povezan s visokim intenzitetom fotosinteze i koncentracijom dušika u listovima (Evans 1989; Coll i dr. 2007; Parelle i dr. 2006). U skladu s rezultatima navedenih istraživanja i u našem slučaju uspješniji vegetativni rast utvrđen je na kontrolnoj plohi. To se ogleda u boljem visinskom i debljinskom prirastu debla, te debljinskom i dužinskom prirastu primarnih grana, kao i u broju proljetnih i ljetnih izbojaka s pripadajućim listovima (slika 1, tablica 4). Statistički značajno veći broj proljetnih i ljetnih izbojaka kod biljaka uzraslih na kontrolnoj plohi (tablica 4) ukazuje na njihovu sposobnost premiještanja veće količine hraniva iz starijih izbojaka prema izbojcima u fazi razvoja. Prema Le Hir i dr. (2005) razvoj ljetnih izbojaka kod hrasta lužnjaka uz okolišne čimbenike uvjetuje i premiještanje ugljikohidrata iz listova starijih izbojaka prema ljetnim izbojcima u razvoju. Broj listova na istraživanim biljkama statistički se značajno razlikuje između istraživanih ploha, u korist kontrolne plohe (tablica 4). To je vjerojatno uvjetovalo i statistički značajno veće vrijednosti

indeksa lisne površine na biljkama uzraslim na kontrolnoj plohi, bilo da se radi o indeksu lisne površine utvrđenom sredinom ili krajem vegetacijskoga razdoblja (slika 2). Iz tog razloga možemo reći kako je indeks lisne površine istraživanih biljaka također bio uvjetovan većom količinom dostupnoga hraniva proizvedenoga fotosintezom. Prema Larcher (2003) indeks lisne površine pozitivno korelira s intenzitetom fotosinteze i koncentracijom dušika u listovima na što ukazuju i rezultati našega istraživanja (tablica 5).

Naši rezultati ukazuju na jaku pozitivnu korelaciju između klorofilnog indeksa izmjenjenoga na proljetnim listovima i debljinskoga prirasta debela te dužinskoga i debljinskoga prirasta primarnih grana (tablica 5). To je u skladu s rezultatima istraživanja koja su proveli Weir i dr. (2007) prilikom čega je utvrđena visoka povezanost između produkcije biomase brzorastućih listača i klorofilnoga indeksa. Percival i dr. (2008) utvrdili su visoku pozitivnu korelaciju između klorofilnoga indeksa i učinkovitosti fotosinteze kod hrasta

lužnjaka. Našim je istraživanjem potvrđena visoka pozitivna korelacija između klorofilnog indeksa i intenziteta fotosinteze, bilo da se radi o proljetnim ili ljetnim listovima (tablica 5).

Nedostatak veze između klorofilnoga indeksa i visinskoga prirasta debela (tablica 5), kao i statistički neznčajna razlika između visinskoga prirasta debela na istraživanim plohama (slika 1) možda se može objasniti načinom alokacije dušika u krošnji stabla tijekom vegetacijskoga razdoblja. Primjerice, Ueda i dr. (2009) utvrdili su kod vrste *Quercus serrata* da se većina remobiliziranog dušika u krošnji tijekom vegetacijskoga razdoblja premješta u listove vršnih izbojaka, što uvelike pridonosi visinskom prirastu. Međutim, koncentracija dušika u tim listovima nije stabilna. Nakon što vršni izbojak postigne konačnu dužinu i listovi se potpuno razvijaju dolazi do premještanja dušika prema novom izbojku u fazi razvoja ili prema staničju u kojemu se skladište rezervna hranjiva.

#### ZAKLJUČCI – Conclusions

Rezultati istraživanja ukazuju da kemijske značajke tla utječu na fotosintetsku aktivnost i koncentraciju klorofila u listovima hrasta lužnjaka. Veće vrijednosti indeksa sadržaja ukupnih klorofila i intenziteta fotosinteze zabilježene su kod biljaka uzraslih na tlu s većom koncentracijom humusa, dušika, fosfora i kalija. Kod tih biljaka također je utvrđen i značajno bolji vegetativni rast. Pozitivne korelacije između indeksa sadržaja ukupnih klorofila u listovima i intenziteta fotosinteze te većine parametara vegetativnoga rasta ukazuju na mo-

gućnost uspješne primjene klorofilmetrije prilikom utvrđivanja vitalnosti hrasta lužnjaka.

Na poslijetku napominjemo kako je u budućnosti potrebno provesti slično istraživanje, te ga dodatno upotpuniti kemijskim analizama biljnoga materijala s ciljem utvrđivanja izravne povezanosti intenziteta fotosinteze, vegetativnog rasta i sadržaja klorofila s koncentracijom dušika i fosfora u listovima hrasta lužnjaka.

#### LITERATURA – References

- Bacci, L., M. De Vincenzi, B. Rapi, B. Arca, 1998. Two methods for the analysis of colorimetric components applied to plant stress monitoring. *Comp and Elec in Agriculture*, 19: 167–186.
- Cate, T.M., T.D. Perkins, 2003. Chlorophyll content monitoring in sugar maple (*Acer saccharum*). *Tree Physiol*, 23: 1077–1079.
- Chapman, S.C., H.J. Barretto, 1997. Using a chlorophyll meter to estimate specific leaf nitrogen of tropical maize during vegetative growth. *Agron. J.*, 89: 557–562.
- Coll, L., C. Messier, S. Delegrange, F. Berninger, 2007. Growth, allocation and leaf gas exchange of hybrid poplar plants in their establishment phase on previously forested sites: effect of different vegetation management techniques. *Ann Sci For*, 64: 275–285.
- Dweyr, L.M., A.M. Andersno, B.L. Ma, D.W. Stewart, M. Tollenaar, E. Gregorich, 1994. Quantifying the nonlinearity in chlorophyll meter response to corn leaf nitrogen concentration. *Can. J. Plan Sci.* 75: 179–182.
- Epron, D., E. Dreyer, 1993. Long-term of drought on photosynthesis of adult oak trees (*Quercus petraea* (Matt.) Lieb. and *Quercus robur* L.) in a natural stand. *New Phytology*, 125: 381–389.
- Evans, J.R. 1989. Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves C3 plants. *Oecologia*, 78: 9–19.
- Franjić, J., S. Bogdan, Ž. Škvorc, K. Sever, D. Krstonošić, 2009: Fenološka sinkroniziranost klonova hrasta lužnjaka iz klonskih sjemen-skih plantaža u Hrvatskoj. U: Matic, S., Anić, I., (ur.): Znanstveno savjetovanje “Šume hrasta lužnjaka u promijenjenim stanišnim i gospodarskim uvjetima”. Zbornik radova, 153–168. Zagreb.
- Hees, A.F.M. 1997. Growth and morphology of pedunculate oak (*Quercus robur* L.) and beech (*Fagus sylvatica* L.) seedlings in relation to shading and drought. *Ann Sci For*, 54: 9–18.



- Hendry, G. A. F., A.H. Pirce, 1993. Stress indicators: Chlorophylls and carotenoids, pp. 148–152. In Hendry, G.A.F., and J.P. Grime (Eds.). *Methods in Comparative Plant Ecology*. Chapman and Hall, London, U.K.
- Jifon, J.L. 2005. Growth environment and leaf anatomy affect nondestructive estimates of chlorophyll and nitrogen in *Citrus* sp. leaves. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 130: 152–158.
- Jimenez, M.S., A.M. Gonzalez-Rodriguez, D. Morales, M.C. Cid, A.R. Socorro, M. Cabalero, 1997. Evaluation of chlorophyll fluorescence as a tool for salt stress detection in roses. *Photosynthetica*, 33: 291–301.
- Lambers, H., Chapin, F. S., Pons, T.L. 2003. *Plant Physiological Ecology*. Springer, London, U.K.
- Larcher, W. 2005. *Physiological Plant Ecology*. 3<sup>rd</sup> Edition. Springer, London, U.K.
- Lawlor, D.W. 2001. *Photosynthesis*. 3<sup>rd</sup> Edition. Scientific Publishers Limited, Oxford, U.K.
- Le Hir, R., N. Leduc, E. Jeannette, J.D. Viéumont, S. Pelleschi-Travier, 2005. Variations in sucrose and ABA concentrations are concomitant with heteroblastic leaf shape changes in a rhythmically growing species (*Quercus robur*). *Tree Physiol*, 26: 229–238.
- Leuschner, C., K., Backes, D. Hertel, F. Schipka, U. Schmitt, O. Terborg, M. Runge, 2001. Drought responses at leaf, stem and fine root leaves of competitive *Fagus sylvatica* L. and (*Quercus petraea* (Matt.) Lieb. trees in dry and wet years. *For Ecol Manage*, 149: 33–46.
- Loh, F. C. W., J.C. Grabosky, N.L. Bassuk, 2002. Using the SPAD 502 meter to assess chlorophyll and nitrogen content of benjamin fig and cottonwood leaves. *HortTechnology*, 12: 682–686.
- Marquard, R.D., J.L. Tipton, 1987. Relationship between extractable chlorophyll and an in situ method to estimate leaf greenness. *HortScience*, 22: 1327–1329.
- Mohammed, G.H., T.L. Noland, W.C. Parker, R.G. Wagner, 1997. Pre-planting physiological stress assessment to forecast field growth performance of jack pine and black spruce. *For Ecol Manage*, 92: 107–117.
- Parelle, J., J.P. Roudaut, M. Ducrey, 2006. Light acclimation and photosynthetic response of beech (*Fagus sylvatica* L.) saplings under artificial shading or natural Mediterranean conditions. *Ann Sci For*, 63: 257–266.
- Percival, G.C., I.P. Keary, K. Noviss, 2008. The potential of a chlorophyll content SPAD meter to quantify nutrient stress in foliar tissue of Sycamore (*Acer pseudoplatanus*), English oak (*Quercus robur*), and European beech (*Fagus sylvatica*). *Arboriculture & Urban Forestry*, 34: 89–100.
- Pinkard, E.A., V. Patel, C. Mohammed, 2006. Chlorophyll and nitrogen determination for plantation-grown *Eucalyptus nitens* and *E. globules* using a non-destructive meter. *For Ecol Manage*, 223: 211–217.
- Seletković, I. 2006. Utjecaj gnojidbe dušikom, fosforom i kalijem na rast i razvoj sadnica hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.). *Disertacija*, 134 str., Zagreb.
- StatSoft, Inc., 2006. STATISTICA (data analysis software system), version 7.1. [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com)
- Ueda, M.U., E. Mizumachi, N. Tokuchi, 2009. Allocation of nitrogen within the crown during leaf expansion in *Quercus serrata* saplings. *Tree Physiol*, 10: 1–7.
- Weih, M., A.C. Rönnerberg-Wästljung, 2007. Shoot biomass growth is related to the vertical leaf nitrogen gradient in *Salix* canopies. *Tree Physiol*, 27: 1551–1559.
- Xu, L., D.D. Baldocchi, 2003. Seasonal trends in photosynthetic parameters and stomatal conductance of blue oak (*Quercus douglasii*) under prolonged summer drought and high temperature. *Tree Physiol*, 23: 865–877.

*SUMMARY: The effect of various types of environmental stress factors on forest trees is most often manifested through the reduced absorption of mineral nutrients. This results in lowered efficiency of photosynthetic pigments on the leaf's cellular level and production of insufficient amounts of carbohydrates necessary for normal vegetative growth. Due to sudden increase in concentration of carotenoids in relation to chlorophyll, which is susceptible to a sudden destruction under the effect of stress factors, a change takes place in the relative amounts of chlorophyll and carotenoids. Because of this, the lea-*

ves in the crown of a tree temporarily lose their green color and turn yellow, which is indicative of plant's lack of nitrogen nutrition, i.e. the nitrogen deficiency in the soil. The role of nitrogen as a plant nutriment is connected with numerous physiological processes responsible for successful growth and development of plants. For example, nitrogen is an essential element responsible for an uninterrupted continuation of photosynthetic process and vegetative plant growth, primarily because of its role in the synthesis of chlorophyll and certain proteins, such as ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase oxygenase (Rubisco), which is responsible for CO<sub>2</sub> assimilation. In the previous studies of forest trees, significant differences were determined in the intensity of photosynthesis and vegetative development regarding the diverse conditions in the habitats. These variations are usually due to the lengths of summer droughts and high temperatures, the intensity of illumination, and the differences between dry and wet years.

The aim of this study was to, (1) determine the effect of various chemical characteristics of the soil on the intensity of photosynthesis and the vegetative growth of pedunculate oak, (2) establish a connection between content index of the total amount of chlorophyll in the leaf, and the intensity of photosynthesis and the vegetative growth of pedunculate oak.

The study was conducted during the vegetative period in 2010, on 4-year-old plants, planted with 2 – 2,5 meters of space between plants. Based on visual differences in the leaf color, two plots have been set aside – the chlorotic and the control plots (without chlorosis). Each field contained 8 plants, i.e. 16 in total. The average height of the plants under study before the start amounted to  $1.96 \pm 0.44$  meters, and the diameter of the trunk 2.5 centimeters, measured 30 centimeters above ground.

In order to determine the differences in the soil's chemical characteristics between the two studied plots, the samples were taken on the depth of 0–30 centimeters. The soil reaction was determined with a potentiometer in the suspension of soil and water, i.e. soil and nKCl. Humus was determined by the Thorin method, and the total nitrogen level by the Kendahl method. The content of physiologically active phosphorus and potassium was determined by the Al-method.

The study determined height and diameter increment for the plants studied, and also height and diameter increment for primary branches of each plant. The number of spring and summer shoots with its attending leaves was also determined. Based on the number and surface area of leaves, as well as the projection of crown surface on the ground, index of leaf surface was calculated for each tree.

The measurements of photosynthesis intensity and the index of total chlorophyll content were performed early in September. The photosynthesis intensity was measured with the help of the infrared gas analyzer portable device LCpro + (ADC BioScientific). While taking photosynthesis intensity measurements, each leaf was subjected to illumination intensity of  $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , CO<sub>2</sub> concentration of  $380 \pm 10 \mu\text{mol mol}^{-1}$  and the air temperature of  $25 \pm 2$  °C. The chlorophyll content index was determined by using chlorophyll content meter CCM-200. By using a portable chamber for measuring water potential, the measurement of water potential was taken in the leaves ( $\Psi$ ) of plants under study.

The chemical characteristics of the soil in the test plots were shown in Table 1. There was an extremely acidic reaction in the chlorotic plot, and acidic in the control plot. The chlorotic plot was marked by an extremely low nitrogen supply, while the control plot had a medium to good nitrogen supply. The content of physiologically active phosphorus in the chlorotic plot was ex-

tremely low, while the control plot was averagely supplied with physiologically active phosphorus. Both plots under study featured accessible potassium levels on the lower margins of an average supply. The humus content in the studied plots was very low, especially in the chlorotic plot.

Statistically significant difference in the measured values of water potential of the plants grown in the plots was determined only during noon measuring throughout July. In August and September, statistically significant differences in the measured values of water potential were not determined (Table 3).

All the parameters of the vegetative growth of the plants under study which were grown on the control plot had statistically significant higher values compared to the plants grown on the chlorotic plot, except for the number of primary branches, which showed no statistically significant differences between the two studied plot trials (Table 4). Leaf surface index, value of which was taken in the middle and near the end of the vegetative cycle, was statistically significantly higher in the control plot than in the chlorotic plot (Figure 2).

There was statistically significant difference in the intensity of photosynthesis measured on spring leaves of studied plants between the control and the chlorotic plot. The intensity of photosynthesis on the control plot was  $28.4 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , while its value on the chlorotic plot was  $19.3 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Content index values of total chlorophyll in the leaves of the studied plants were statistically significantly different regarding the plots under study, no matter whether the measuring of chlorophyll content was conducted on spring or summer leaves (Figure 4).

Regression analysis determined a high positive correlation between the content index of total chlorophyll measured on spring leaves of studied plants with the intensity of photosynthesis, leaf surface index, tree's girth increment, and also length and girth increment in the primary branches (Table 5). The correlation between content index of total chlorophyll and tree's height increment was very weak.

The results of the study indicate that the soil's chemical characteristics have an effect on the photosynthetic activity and the concentration of chlorophyll in the leaves of pedunculate oak. The higher values of the total chlorophyll's content index and the intensity of photosynthesis were recorded for plants grown on the soil with a higher concentration of humus, nitrogen, phosphorus and potassium. Positive correlations between the content indexes of total chlorophyll in leaves and the intensity of photosynthesis, as well as most of the parameters of vegetative growth, indicate the possibility of successful application of chlorophyll measuring methods when determining vitality of particular trees and forest stands of pedunculate oak.

*Key words:* Chemical composition of soil, chlorophyll content, leaf area index, height increment, diameter increment