Utjecaj solnog stresa na količinu klorofila u listu graha

Dorothy Ward, 7. razred

Osnovna škola Ljudevita Gaja, Osijek
Mentor: *Martina Sušjenka*

SAŽETAK

Stresni uvjeti za rast biljaka poput zaslanjenosti tla, opskrbe biljaka vodom, ekstremnih temperatura i poremećaja u mineralnoj ishrani biljaka postaju sve veći problem u proizvodnji biljaka u svijetu. Usko povezani s klimatskim promjenama i onečišćenjem okoliša, nameću potrebu ciljanih istraživanja u pravcu boljeg poznavanja genetskog potencijala otpornosti na stres kod biljaka i poboljšanja tehnologije uzgoja kod osjetljivih biljnih vrsta. Grah (*Phaseolus vulgaris* L.) pripada grupi glikofita, biljnih vrsta koje su vrlo osjetljive na solni stres, stoga su u ovom istraživanju bile uključene dvije sorte graha, Cranberry i Canelinni. Mlade biljke graha su uzgojene u perlitu iz sjemena te su u fazi prvog para listova uronjene korijenom u 12 otopina različitih anorganskih soli koncentracije 0,2 %, tijekom 48 h u kontroliranim uvjetima svjetla, vlage zraka i temperature u fitotronu. Kontrolna varijanta su bile biljke u demineraliziranoj vodi, a tretmani solnog stresa su obuhvaćali otopine različitih vodotopljivih klorida, sulfata i nitrata. Nakon tretmana u listovima je analiziran relativan sadržaj klorofila (SPAD) nedestruktivnom metodom pomoću klorofilmetra. Analizom varijance i LSD testom je potvrđena značajnost utjecaja sorte odnosno tretmana solnim stresom. Najnegativniji utjecaj na biljke je imala otopina litij klorida te zbog uvelosti lišća u toj varijanti nije bilo moguće pouzdano izmjeriti SPAD vrijednost klorofilmetrom. Ostale varijante solnog stresa su smanjile sadržaj klorofila u odnosu na kontrolne biljke različitim intenzitetom, ovisno o sorti, pri čemu je najmanji sadržaj klorofila kod obje sorte dobiven u varijanti s kalij sulfatom. Sorta Canelinni je pokazala veću varijabilnost u reakciji na pojedine vrste soli u odnosu na sortu Cranberry. Dobiveni rezultati pokazuju da je klorofilmetar dobar instrument za procjenu solnog stresa kod biljaka te upućuju na potrebu analize sadržaja soli u tlu i izbor tolerantnih biljnih genotipova.

Ključne riječi: *ekofiziologija bilja; fotosintetski pigmenti; okolišni stres; glikofite; Phaseouls vulgaris* L.

UVOD

Poljoprivredna proizvodnja je ugrožena zbog povećane zaslanjenosti tla što je posljedica prekomjernih gnojidbi i klimatskih promjena (Nouri i sur., 2017). Prirodna zaslanjenost tla je uzrokovana prirodnim procesima poput trošenja stijena i nakupljanja soli dospjelih u tlo kišom, a podrijetlom iz mora (Tester i Davenport, 2003; Reynolds i sur., 2005). Negativan utjecaj zaslanjenosti na razvoj i metabolizam biljaka dovodi do fizioloških i morfoloških promjena uglavnom zbog visoke koncentracije iona u tkivima te smanjenja usvajanja vode i hraniva (Raggi i sur., 2024). Autori ističu da solni stres dovodi do smanjenja sadržaja suhe tvari u korijenu i izdanku, čak i pri niskim koncentracijama soli. Ovaj problem pogađa otprilike 20 % poljoprivrednih površina (Qadir i sur., 2014). Zaslanjenost tla dovodi do pojave solnog stresa u biljkama. Solni stres je složen proces koji uključuje osmotski stres, učinak specifičnih elemenata i nedostatak pojedinih hraniva, stoga utječe na brojne fiziološke i biokemijske mehanizme povezane s rastom i razvojem biljke (Sairam i sur., 2002). Uslijed osmotskog stresa dolazi do manje pristupačnosti vode biljci zbog većih kocentracija soli u tlu, supstratu ili hranjivoj otopini. Učinak specifičnih elemenata, odnosno njihovih iona, predstavlja nakupljanje iona u tkivu biljaka što može imati toksično djelovanje, odnosno može poremetiti usvajanje drugih elemenata (Stanisavljević i sur., 2009).

Fotosinteza je jedan od najvažnijih procesa u biljkama te je on kod mladih biljaka vrlo osjetljiv na okolišni stres (Mlinarić, 2013). Proces fotosinteze u zelenim dijelovima biljaka u stresnim uvjetima može biti značajno smanjen, što je vidljivo usporavanjem rasta, uvenućem i smanjenjem sadržaja fotosintetskih pigmenata. Među njima su klorofil a i b najvažniji jer omogućavaju pretvorbu svjetlosne

Autori zadržavaju autorska prava te časopisu daju pravo prvog objavljivanja rada u skladu s licencijom CC BY 4.0, koja dopušta drugima dijeljenje rada uz navođenje autorstva i izvornog mjesta objavljivanja rada u časopisu.

energije u kemijsku energiju hrane, odnosno ugljikohidrata (Bendelja i sur., 2024). Prema Rao i sur. (2001), fotosinteza u listovima je povezana sa sadržajem klorofila po jedinici površine lista te autori smatraju da je SPAD klorofilmetar korisno sredstvo za ocjenu genetskih razlika u kapacitetu fotosinteze.

Mineralne tvari koje biljka usvaja iz okoliša, a potrebne su za njen rast i razvoj (biljna hranjiva), imaju različit značaj za biljke te se ovisno o količini koje biljka treba tijekom svog života te se dijele na makro i mikroelemente. Dušik (N), fosfor (P), kalij (K), sumpor (S), kalcij (Ca) i magnezij (Mg) se nazivaju makroelementima (makrohranjiva, makronutrijenti) jer ih biljka zahtijeva u velikim količinama te je njihov udio u kemijskom sastavu biljaka veći od 0,1 %. Dušik, fosfor, sumpor i kalij se u biljnoj proizvodnji često dodaju gnojidbom jer su potrebe biljaka za tim elementima uglavnom veće od količina pristupačnih u tlu. Uz navedene makroelemente, uočeno je da biljke imaju sposobnost upijati i druge elemente poput litija. Litij se koristi za proizvodnju različitih elektroničkih uređaja (litij-ionske baterije) te se naziva „bijelim zlatom“ ili „naftom 21. stoljeća“ zbog sve veće proizvodnje električnih automobila (Shahzad i sur., 2016). U istraživanju Behr i Zorb (2023) na primjeru šećerne repe dokazano je kako postoji mala tolerancija na litij te da poveći sadržaj litija dovodi do truljenja listova. Autori smatraju da bi u bliskoj budućnosti onečišćenje tla litijem moglo postati ozbiljan ekološki problem za biljnu proizvodnju. Prema Garcia-Daga i sur. (2025), mehanizmi kretanja litijevih kationa od korijena do nadzemnih dijelova biljaka poput listova i sjemena još uvijek nisu detaljno istraženi.

Alkalijski metal natrij (Na) može imati i koristan i štetan utjecaj na rast biljaka, ovisno o koncentraciji i toleranciji biljne vrste, a kalij (K) je jedan od esencijalnih nutrijenata i biljke ga uglavnom trebaju u velikim količinama. Kao i natrij, kalij pripada alkalijskim metalima (1. skupina periodnog sustava elemenata), a u tlu i biljkama se nalazi kao jednovalentni kation K^+. Aktivator je oko 60 enzima u biljkama te je uključen u sinteze proteina, ugljikohidrata, lipida i nukleinskih kiselina. Također utječe na vodni potencijal biljnih stanica i otpornost biljaka na nedostatak vode i niske temperature. Nenormalno visok omjer natrijevih i kalijevih kationa i visoka ukupna koncentracija soli inaktivira enzime i inhibira sintezu proteina (Pevalek-Kozlina, 2003).

Kalcij (Ca) i magnezij (Mg) su zemnoalkalijski metali iz 2. grupe periodnog sustava. Kalcij je slabo pokretljiv u biljkama ali ima puno fizioloških funkcija. Nasuprot kalciju, pokretljivost magnezija u biljkama je velika, sudjeluje u građi klorofila i aktivaciji velikog broja enzima (> 300) kao njihov kofaktor. Na djelovanje navedenih zemnoalkalijskih metala utječe i odnos njihove koncentracije prema kaliju. Kalcijevi i magnezijevi kationi te sulfatni anion u nekim područjima pridonose salinitetu tla (Pevalek-Kozlina, 2003).

Klor (Cl) ima koncentraciju u suhoj tvari biljaka manju od 0,1 % što ga čini mikroelementom, iako ga mnoge biljke usvajaju u 10–100 puta većim količinama (Colmenero-Flores i sur., 2019). Klor je nemetal iz 17. skupine periodnog sustava elemenata (halogeni elementi), čija uloga u biljkama još uvijek nije dovoljno poznata. Ono što se zna jest da visoke koncentracije kloridnih iona (Cl^-) u supstratu mogu biti vrlo štetne za biljku. Višak kloridnih iona smanjuje usvajanje drugih neophodnih aniona (nitrata, fosfata, sulfata i dr.), sprječava diobu stanica i često izaziva klorozu listova.

Mahajan i Tuteja (2005) smatraju solni stres glavnim okolišnim stresom i značajnom prijetnjom biljnoj proizvodnji. Kao naročito osjetljive biljne vrste, poznate kao glikofite, autori navode rižu, kukuruz, soju i grah. Grah (*Phaseolus vulgaris* L.) je namirnica s visokom nutritivnom vrijednosti, ali i ljekovitim svojstvima, stoga ima važno mjesto u ljudskoj prehrani. Osim što je vrlo važna za čovjeka, upotrebljava

se i kao stočna hrana i sirovina u industriji. Grah je jednogodišnja zeljasta biljka čije se sorte odlikuju značajnim morfološkim razlikama u tipu rasta i obilježjima sjemena (veličina, oblik, boja), te vremenu sazrijevanja (duljina vegetacije od 65 do 140 dana). Nutritivna vrijednost graha ovisi o čimbenicima kao što su podrijetlo, genotip i uvjeti okoliša tijekom vegetacije. Optimalne temperature za uzgoj graha su 18–25 °C, a za sjetvu temperatura tla treba biti viša od 15 °C (Carović-Stanko i sur., 2022).

Sve veća povezanost klimatskih poremećaja i zaslanjivanja tla s pojavom solnog stresa u biljkama nas je motivirala da istražimo mogući utjecaj različitih soli na klorofile u biljkama graha kao pokazatelje poremećaja u procesu fotosinteze.

Ciljevi ovog istraživanja su:

- utvrditi postoje li razlike u reakciji pojedinih sorti graha na primijenjene tretmane solnog stresa;
- ocijeniti reakciju biljke na solni stres putem mjerenja relativnog sadržaja klorofila u listovima.

Polazi se od hipoteze da će se utvrditi značajne razlike između sorata u reakciji na primijenjene solne tretmane. Također, u odnosu na netretirane biljke, očekuje se značajan negativan utjecaj pojedinih vrsta soli na sadržaj klorofila u listu mladih biljaka graha. Pretpostavlja se da sadržaj klorofila i njegovo mjerenje klorofilmetrom može biti pouzdan pokazatelj stresa u biljkama, u zadanim eksperimentalnim uvjetima. Varijanta solnog tretmana i sorta su bile nezavisne varijable a izmjereni sadržaj klorofila je bio zavisna varijabla.

METODE RADA

Ovo istraživanje je provedeno jednim dijelom u suradnji s vanjskom ustanovom, čiji su analitički kapaciteti kao i pomoć stručnih laboratorijskih djelatnika značajno doprinijeli u provođenju istraživanja.

U prvoj fazi istraživanja odabrane su dvije sitnozrne sorte graha – Cranberry (šareno zrno) i Canelinni (bijelo zrno) (slika 1), čije je sjeme kratko dezinficirano alkoholom (etanol 70 %), isprano i složeno na filter papir namočen destiliranom vodom. Ukupno je od svakog kultivara pripremljeno 5 filter papira sa po 50 sjemenki. Zasijani filter papir je zamotan u tuljak, stavljen u okomitom položaju u prozirnu plastičnu vrećicu s oznakom sorte te je tako pripremljeno sjeme držano u komori za uzgoj biljaka („walk-in“ fitotron), na naklijavanje u trajanju 7 dana, uz 16 h svjetla i 8 h tame dnevno, na temperaturama 16 °C (u tami) i 24 °C (pod svjetlom). Nakon toga utvrđen je broj normalnih klijanaca prema kriterijima opisanim u Pravilniku o metodama uzorkovanja i ispitivanja kvalitete sjemena (Narodne novine, 2025) i obzirom da je klijavost bila veća od 50 %, sjeme se moglo koristiti za uzgoj biljaka potrebnih za pokus sa solnim stresom.

Za istraživanje utjecaja solnog stresa sorta je određena kao faktor A - Cranberry (A1) i Canelinni (A2), te je iz mase sjemena izdvojeno po 250 neoštećenih zrna od svake sorte. Sjeme je nakon kratke sterilizacije s 30 % etanolom složeno u redove na naklijavanje u sobnim uvjetima u plastičnim posudama (volumen 8 L) s perlitom i navlaženo demineraliziranom vodom. Sjeme je nakon toga prekriveno tankim slojem perlita (oko 1 cm). Tijekom faze naklijavanja voda je svakodnevno dodavana prskanjem po površini a osim dnevnog svjetla nije korišteno dodatno osvjetljenje, uz prosječnu temperaturu 16 °C (+/- 4 °C). Nakon pojave klicinih listića na površini perlita, korišteno je dodatno osvjetljenje stolnom svjetiljkom sa žaruljom od 100 W.



Slika 1 Cranberry (šareno zrno) - lijevo, Canelinni (bijelo zrno) - desno

U fazi razvijenog prvog para listova (16 – 18 dana od sjetve u perlit), potpuno zdrave i normalno razvijene biljke su uz pomoć tekuće vode cijele pažljivo izvađene iz perlita i korijenom uronjene u plastične kivete volumena 50 mL, u 40 mL demineralizirane vode (kontrola) odnosno 12 otopina (faktor B) različitih anorganskih soli (kloridi: NaCl, KCl, $MgCl_2$, $CaCl_2$, LiCl; sulfati: Na_2SO_4, K_2SO_4, $MgSO_4x7H_2O$; nitrati: $NaNO_3$, KNO_3, $Mg(NO_3)_2x6H_2O$, $Ca(NO_3)_2$), iste početne masene koncentracije 2 g/L (0,2 %) (tablica 1). Navedene soli su odabrane zbog dobre topljivosti u vodi (Habuš i sur., 2018).

Tablica 1 Kemijska i fizikalna svojstva primjenjenih otopina soli (tretmani, faktor B; EC – električna provodljivost otopine ili konduktivitet)

Tretman (faktor B)	Kemijska formula soli	Molekulska masa	Molaritet (mM/L)	EC (mS/cm)
B1	NaCl	58,44	34	3,80
B2	KCl	74,55	27	3,60
B3	$MgCl_2$	95,21	21	4,05
B4	$CaCl_2$	110,98	18	3,44
B5	LiCl	42,39	47	3,54
B6	Na_2SO_4	142,04	14	2,87
B7	K_2SO_4	174,26	11	3,13
B8	$MgSO_4x7H_2O$	246,47	8	1,31
B9	$NaNO_3$	84,99	23	2,54
B10	KNO_3	101,11	20	2,59
B11	$Mg(NO_3)_2x6\ H_2O$	256,40	8	1,63
B12	$Ca(NO_3)_2$	164,10	12	1,85

Sve varijante tretmana otopinama soli kao i kontrola su postavljene u tri ponavljanja (kivete), s tri biljke u svakoj kiveti. Tako pripremljene biljke su ostavljene 48 h u fitotronu, uz maksimalno svjetlo 16 h i 8 h tame dnevno. Temperatura uz svjetlo je zadana na 24 °C, a u mraku 16 °C, uz održavanje vlage zraka na 75 %. Nakon 48 h tretmana, mjeren je relativni sadržaj klorofila pomoću klorofilmetra Konica Minolta SPAD-502Plus (slika 2), u svakom listu po ponavljanju (6 listova po kiveti), čiji prosjek je rezultat mjerenja za pojedino ponavljanje. Klorofilmetar je prijenosni instrument za neinvazivno mjerenje relativnog sadržaja klorofila u listu na principu razlike u optičkoj gustoći pri dvije valne duljine svjetlosti (650 i 940 nm; Süß i sur., 2015), s rasponom očitanja SPAD vrijednosti od 0 do 99,9.



Slika 2 Klorofilmetar

Prosjeci SPAD očitanja za svaki tretman i sortu su prikazani grafikonom, a značajnost utjecaja sorte i varijante soli je ocjenjena analizom varijance i F testom („one-way“ i „two-way“ ANOVA), koristeći LSD test za ocjenu značajnosti razlika između prosječnih vrijednosti sorti odnosno tretmana, uz prag značajnosti $p < 0,05$. Varijanta solnog tretmana i sorta su bile nezavisne varijable, a izmjereni sadržaj klorofila je bio zavisna varijabla.

REZULTATI

Nakon 48 h u fitotronu, biljke graha su izvađene iz kiveta s otopinama soli te je pomoću klorofilmetra analiziran relativni sadržaj klorofila (SPAD). Biljke u varijanti s otopinom litijeva klorida (B5) su bile skoro potpuno dehidrirane (slika 3) te u njihovim listovima nije bilo moguće precizno izmjeriti SPAD vrijednost. Prema rezultatima statističke obrade podataka, utvrđena je značajna razlika u sadržaju klorofila u prosjeku za sve ostale tretmane između sorte A1 (Cranberry) i A2 (Canelinni), pri čemu je prosječna vrijednost SPAD kod sorte Cranberry (A1; 38,7) bila značajno veća nego kod sorte Canelinni (A2; 37,7). U grupi kloridnih soli, NaCl i KCl su kod sorte Canelinni imali jači negativan učinak na sadržaj klorofila u usporedbi sa sortom Cranberry (slika 4). Sortne razlike kod magnezijeva i kalcijeva klorida (B3 i B4) nisu utvrđene tj. kod obje sorte je jači negativan učinak bio u varijanti B4. Kod sulfatnih soli, tretman B6 (Na_2SO_4) je podjednako snizio sadržaj klorofila kod obje sorte, dok su razlike između sorata bile izraženije kod B7 (K_2SO_4) i B8 ($MgSO_4x7H_2O$). U grupi nitratnih soli, prosječne SPAD vrijednosti su bile niže u svim varijantama kod sorte Canelinni, u odnosu na sortu Cranberry, kao i na kontrolne biljke.

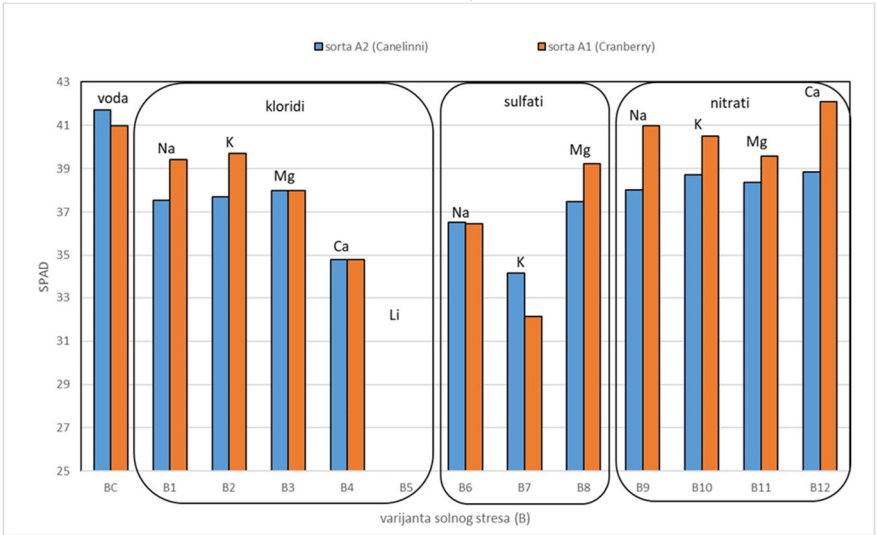
Sorta Cranberry je imala najmanju vrijednost SPAD u tretmanu B7 (K_2SO_4; slika 4), a najveću u tretmanu B12 ($Ca(NO_3)_2$). Najmanji sadržaj klorofila u listu sorte Canelinni je utvrđen također u tretmanu B7, a najveći u kontroli (BC). Prema LSD testu (tablica 2), SPAD vrijednost je bila značajno manja u tretmanima B4 ($CaCl_2$), B6 (Na_2SO_4) i B7 (K_2SO_4), u odnosu na netretirane biljke, kod sorte Cranberry. Pad sadržaja klorofila u ostalim varijantama solnog stresa kod ove sorte nije bio statistički značajan. Kod sorte Canelinni, sadržaj klorofila je bio značajno manji nego u kontroli kod većine otopina soli, s izuzetkom tretmana B10 (KNO_3) i B12 ($Ca(NO_3)_2$).

Tablica 2 Značajnost razlika između prosjeka pojedinih varijanti solnog stresa u sadržaju klorofila u listu dvije sorte graha (LSD test – *least significant difference*, razina značajnosti p < 0,05.; tretmani označeni različitim slovima se međusobno značajno razlikuju)

Varijanta solnog stresa (B)	Sorta (A)	
	Cranberry (A1)	Canelinni (A2)
BC -kontrola	AB	A
B1 - NaCl	ABC	BC
B2 - KCl	ABC	BC
B3 - $MgCl_2$	BC	B
B4 - $CaCl_2$	C	CD
B5 - LiCl	-	-
B6 - Na_2SO_4	C	BCD
B7 - K_2SO_4	D	D
B8 - $MgSO_4$ x7H_2O	ABC	BC
B9 - $NaNO_3$	AB	B
B10 - KNO_3	AB	AB
B11 - $Mg(NO_3)_2$x6H_2O	ABC	BC
B12 - $Ca(NO_3)_2$	A	AB



Slika 3 Izgled biljaka nakon 48 h izlaganja solnom stresu – lijevo kontrola u vodi (BC), desno tretman otopinom LiCl (B5)
Autor: Ward D., 2025.



Slika 4 Relativni sadržaj klorofila (SPAD) u listu dvije sorte graha (A1- Cranberry, A2 - Canelinni) ovisno o varijanti solnog stresa (BC – kontrola, voda; B1- NaCl; B2 – KCl; B3 - $MgCl_2$; B4 - $CaCl_2$; B5 – LiCl; B6 - Na_2SO_4; B7 - K_2SO_4; B8 - $MgSO_4$x7H_2O; B9 - $NaNO_3$; B10 - KNO_3; B11 - $Mg(NO_3)_2$x6H_2O; B12 - $Ca(NO_3)_2$)

RASPRAVA

Prema rezultatima brojnih radova u kojima je analiziran relativni sadržaj klorofila u različitim biljnim vrstama, primjena klorofilmetra za neinvazivnu analizu sadržaja klorofila, prikladan je način procjene sadržaja suhe tvari i koncentracije dušika u biljkama (Teklić i sur., 2009; Xiong i sur., 2015). Štoviše,

Yamamoto i sur. (2002) smatraju da je mjerenje sadržaja klorofila u listovima pomoću klorofilmetra prikladnije od ekstraktivnih metoda, za istraživanja u području fotosinteze ili starenja biljaka. Izmjerene vrijednosti SPAD u fazi prvog para listova graha, bile su značajno niže u većini primijenjenih solnih tretmana u odnosu na kontrolne biljke. Vidljiva dehidracija biljaka u tretmanu s LiCl (B5) pojavila se već nakon 24 h od početka tretmana, te je nakon planiranih 48 h tretmana bilo nemoguće izmjeriti pouzdane SPAD vrijednosti u tim biljkama (slike 4 i 5). To upućuje na vrlo štetno djelovanje primjenjene koncentracije Li^+, jer u ostalim otopinama kloridnih soli nije bilo tako izraženog venuća. Simptomi venuća vjerojatno nastaju zbog osmotskog efekta solnog stresa, odnosno biljka zaostaje u rastu i dehidrira zbog manje količine slobodnih molekula vode u otopini soli, slabijeg upijanja vode korijenom te transporta vode provodnim tkivom u nadzemne dijelove biljke, kod kojih gubitak vode procesom transpiracije doprinosi venjenju. Također, prema Kaymakanovoj i sur. (2008), poremećeni osmotski procesi kod mladih biljaka graha se mogu povezati s toksičnim efektima Cl^-, SO_4^{2-} i Na^+. U istraživanju Gama i sur. (2021), kod svih 5 korištenih sorti graha, fotosinteza, intenzitet transpiracije i provodljivost puči su smanjeni pod utjecajem solnog stresa izazvanog s NaCl. Prema Herak Čustić i sur. (2025), toksični učinci Li kod biljaka se očituju zastojem u rastu jer litij negativno utječe na različite fiziološke procese. Buendía-Valverde i sur. (2024) zaključuju da na usvajanje i nakupljanje Li u biljkama utječu različiti činitelji, uključujući koncentraciju iona u mediju rasta biljaka, kemijski oblik Li, biljnu vrstu i starost biljke, kao i način primjene i trajanje izloženosti biljke.

U cjelini, svi kloridi su smanjili relativan sadržaj klorofila u odnosu na netretirane biljke (BC), kod obje sorte (slika 4). Isto tako u varijantama sulfatnih soli utvrđen je značajan pad sadržaja klorofila, s najmanjim vrijednostima kod obje sorte u tretmanu s K_2SO_4 (B7). Obzirom da su K i S makroelementi koje biljke trebaju u količinama koje nisu biljkama dostupne u svim tipovima tla, pripadaju hranivima koja se u intenzivnoj biljnoj proizvodnji dodaju u tlo gnojidbom. Solni stres može biti posljedica njihovog nakupljanja u tlu kod prevelike primjene gnojiva ili u uvjetima slabe opskrbe biljaka vodom, što povećava osmotsku vrijednost vodene faze tla. U istraživanju Kaymakanove i sur. (2008), simptomi dehidracije kod biljaka graha su bili izraženiji u tretmanu sa Na_2SO_4 u usporedbi s tretmanom NaCl. Autori pretpostavljaju da je dobiveni efekt dehidracije posljedica više koncentracije Na^+ kod tretmana s Na_2SO_4. U ovom istraživanju, NaCl je bio štetniji za klorofile kod sorte A2 u usporedbi sa sortom A1, dok je štetan utjecaj Na_2SO_4 otopine bio jači u odnosu na NaCl, bez značajne razlike između sorata. Varijanta B8 ($MgSO_4x7H_2O$) rezultirala je značajno manjim sadržajem klorofila u usporedbi s kontrolom jedino kod sorte Canellini (A2). Obzirom da je Mg sastavna komponenta klorofila, iznenađuje manji sadržaj klorofila kod svih Mg soli u odnosu na kontrolu, kod sorte Canellini. Također, ova sorta je pokazala značajno manji sadržaj klorofila i u otopinama nitratnih soli, bez značajnih razlika između nitratnih varijanata (B9 - B12), što je neočekivano jer su sadržaj N i klorofila u listu uobičajeno u pozitivnom međuodnosu. Upravo zbog takvih spoznaja, klorofilmetar se preporučuje kao instrument za brzu i jednostavnu procjenu sadržaja N u biljci radi prihrane biljaka dušikom u biljnoj proizvodnji, međutim kod takve namjene klorofilmetra treba uzeti u obzir svojstva građe listova kod različitih biljnih vrsta, kao i okolišne uvjete koji mogu utjecati na mjerenje SPAD (Xiong i sur. 2015). Kod sorte Cranberry, u nitratnim otopinama su SPAD vrijednosti bile značajno veće u odnosu na sortu Canelinni, bez statistički značajne razlike u odnosu na kontrolu, što potvrđuje značaj sorte odnosno genetske osnove, u reakciji graha na solni stres. U cjelini, utvrđen relativni sadržaj klorofila u listu mladih biljaka graha u ovom istraživanju je bio najveći kod sorte Cranberry u varijanti otopine B12 - $Ca(NO_3)_2$, uz izmjerenu SPAD vrijednost 42,1.

ZAKLJUČCI

Dobiveni rezultati u ovom istraživanju upućuju na sljedeće zaključke:

- genotipovi graha se mogu značajno razlikovati u toleranciji solnog stresa čiji intenzitet ovisi o vrsti soli i koncentraciji otopine
- obje ispitivane sorte pokazale su značajnu varijabilnost u sadržaju klorofila pri tretmanima korištenih soli u odnosu na netretirane biljke, međutim kod sorte Cranberry su razlike između pojedinih vrsta soli bile manje izražene u usporedbi sa sortom Canellini;
- fiziološki poremećaji u biljkama u uvjetima zaslanjenosti supstrata u zoni korijena se mogu detektirati različitim analitičkim postupcima, a mjerenje relativnog sadržaja klorofilmetra je u ovom istraživanju bilo pouzdan način provjere je li pojedina vrsta soli štetna za mlade biljke graha
- najintenzivniji stres i najmanja tolerancija soli je utvrđena u varijanti s LiCl gdje su nakon 48h obje sorte izgledale potpuno uvenulo tako da se sadržaj klorofila nije mogao pouzdano izmjeriti;
- kod ostalih primijenjenih otopina soli najveći negativni utjecaj soli na sadržaj klorofila u listu kod obje sorte imale su otopine sulfatnih soli;
- prije sjetve graha na nekom tlu bilo bi preporučljivo analizom tla provjeriti ukupan sadržaj i pristupačnost navedenih soli biljkama te, u slučaju povišenog sadržaja u tlu, uzgajati tolerantne sorte.

ZAHVALA

Zahvaljujem se Fakultetu agrobiotehničkih znanosti i sturčnom vodstvu Katedre za fiziologiju i ishranu bilja za pomoć prilikom izrade praktičnog dijela rada te sve komentare, prijedloge i ideje tijekom pisanja rada.

LITERATURA

Bakhat H. F., Rasul K., Farooq A. B. U., Hammad H. M., Afzal S., Abbas S., Shah G. M., Rabbani F., Fahad S., Ondrasek G., Rashid M. I. 2025. Soil lithium affects carrot growth by changing cations concentrations and physiological attributes. Plant Soil Environment 71: 259–268.

Behr J. H., Zörb C. 2023. Interactive effect of lithium on concentration of alkali cations in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) under saline conditions. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 186: 38–49.

Bendelja D., Domjanović Horvat D., Garašić D., Lukša Ž., Budić I., Culjak Đ., Gudić M. 2024. Zaštita od hladnoće. U: Ćorić Grgić S. i Povalec M., Priroda 6. Školska knjiga, Zagreb, str. 52–69.

Bimurzayev N., Sari H., Kurunc A., Doganay K. H., Asmamaw M. 2021. Efects of diferent salt sources and salinity levels on emergence and seedling growth of faba bean genotypes. Scientific Reports 11: 18198.

Buendía-Valverde M. d. l. L., Gómez-Merino F. C., Fernández-Pavía Y. L., Mateos-Nava R. A., Trejo-Téllez L. I. 2024. Lithium: An element with potential for biostimulation and biofortification approaches in plants. Horticulturae 10: 1022.

Carović-Stanko K., Lazarević B., Gunjača J., Vidak M. 2022. Čarobni grah. Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Znanstveni centar izvrsnosti za bioraznolikost i molekularno oplemenjivanje bilja (ZCI CroP-BioDiv). 123 str.

Colmenero-Flores J. M., Franco-Navarro J. D., Cubero-Font P., Peinado-Torrubia P., Rosales M. A. 2019. Chloride as a beneficial macronutrient in higher plants: new roles and regulation. International Journal of Molecular Sciences 20(19): 4686.

Gama P. B. S., Inanaga S., Tanaka K., Nakazawa R. 2021. Physiological response of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings to salinity stress. International Journal of Anatomy and Physiology 10 (4): 001–010.

Garcia-Daga S., Fischer S., Gilliham M. 2025. Lithium in plants. New Phytologist 248: 1639–1654.

Habuš D., Stričević D., Liber S. 2018. Opća kemija 2 udžbenik kemije za drugi razred gimnazije. Školska knjiga, Zagreb.

Herak Čustić M., Petek M., Palčić I., Herak-Kramberger C. M. 2025. Ishrana bilja u hortikulturi, krajobrazu i kvaliteti hrane. Školska knjiga, Zagreb.

Kaymakanova M., Stoeva N., Mincheva, T. 2008. Salinity and its effects on the physiological response of bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Journal of Central European Agriculture 9: 749–755.

Kranner I., Seal C. E. 2013. Salt stress, signalling and redox control in seeds. Functional Plant Biology 40(9): 848–859.

Mahajan S., Tuteja N. 2005. Cold, salinity and drought stresses: An overview. Archives of Biochemistry and Biophysics 444(2): 139–158.

Mlinarić S. 2013. Fotosintetska učinkovitost i antioksidativni odgovor mladih i razvijenih listova smokve (*Ficus carica* L.) u uvjetima svjetlosnog stresa. Doktorski rad, Osijek.

Munns R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. Plant Cell and Environment 25(2): 239–250.

Narodne novine. 2025. Pravilnik o metodama uzorkovanja i ispitivanja kvalitete sjemena. Narodne novine 76: 15–46. https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2025_05_76_992.html, pristupljeno 2.2.2026.

Nouri M. Z., Toorchi M., Komatsu S. 2011. Proteomics approach for identifying abiotic stress responsive proteins in soybean. U: Sudarić A., Soybean - Molecular Aspects of Breeding. InTech, Rijeka, str. 187–214.

Pevalek-Kozlina B. 2003. Fiziologija bilja. Profil, Zagreb.

Raggi L., Caproni L., Ciancaleoni S., D'Amato R., Businelli D., Negri V. 2024. Investigating the genetic basis of salt-tolerance in common bean: a genome-wide association study at the early vegetative stage. Scientific Reports 14: 5315.

Rao R. C., Talwar H. S., Wright G. C. 2001. Rapid assessment of specific leaf area and leaf nitrogen in peanut (*Arachis hypogaea* L.) using a chlorophyll meter. Journal of Agronomy and Crop Science 186: 175–182.

Reynolds M. P., Mujeeb-Kazi A., Sawkins M. 2005. Prospects for utilising plant-adaptive mechanisms to improve wheat and other crops in drought- and salinity-prone environments. Annals of Applied Biology 146(2): 239–259.

Sairam R. K., Veerabhadara Rao K., Srivastava G. C. 2002. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Science 163(5): 1037–1046.

Shahzad B., Tanveer M., Hassan W., Shah A. N., Anjum S. A., Cheema S. A., Ali I. 2016. Lithium toxicity in plants: Reasons, mechanisms and remediation possibilities - A review. Plant Physiology and Biochemistry 107: 104–115.

Singh H., Bruce D. 2016. Electrical conductivity and pH guide for hydroponics. https://extension.okstate.edu/fact-sheets/electrical-conductivity-and-ph-guide-for-hydroponics.html, pristupljeno 4.2.2026.

Stanisavljević A., Lisjak M., Vinković T., Špoljarević M., Karakaš M., Teklić T., Ćosić T. 2009. Prolin u listu jagode kao indikator solnog stresa. U: Lončarić Z. i Marić S., Zbornik radova 44. Hrvatskog & 4. međunarodnog simpozija o poljoprivredi. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek, str. 94–98.

Süß A., Danner M., Obster C., Locherer M., Hank T., Richter K. 2015. Measuring leaf chlorophyll content with the Konica Minolta SPAD-502Plus – Theory, measurement, problems, interpretation. EnMAP Field Guides Technical Report, GFZ Data Services.

Špoljarević M. 2016. Fiziološki odgovor kultivara soje na abiotski stres. Disertacija. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku. Fakultet agrobiotehničkih znanosti, Osijek.

Teklić T., Vratarić M., Sudarić A., Kovačević V., Vukadinović V., Bertić B. 2009. Relationships among chloroplast pigments concentration and chlorophyllmeter readings in soybean under influence of foliar magnesium application. Communications in Soil Science and Plant Analysis 40 (1-6): 706–725.

Tester M., Davenport R. 2003. Na^+ tolerance and Na^+ transport in higher plants. Annals of Botany 91(5): 503–527.

Tobe K., Li X., Omasa K. 2004. Effects of five different salts on seed germination and seedling growth of *Haloxilon ammodendron* (Chenopodiaceae). Seed Science Research 14: 345–353.

Vavetić L. 2016. Makroelementi u tlu i biljci. Završni rad (sveučilišni), Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti, Zavod za biljnu proizvodnju i biotehnologiju, Osijek.

Xiong D., Chen J., Yu T., Gao W., Ling X., Li Y., Peng S., Huang J. 2015. SPAD-based leaf nitrogen estimation is impacted by environmental factors and crop leaf characteristics. Scientific Reports 5: 13389.

Yamamoto A., Nakamura T., Adu-Gyamfi J., Saigusa M. 2002. Relationship between chlorophyll content in sorghum and pigeonpea determined by extraction method and by chlorophyll meter (SPAD-502). Journal of Plant Nutrition 25(10): 2295–2301.