

Uloga fosfora u ublažavanju negativnoga utjecaja suše na fotosintezu i rast provenijencija obične bukve i hrasta kitnjaka

Antonia Vukmirović

Zavod za šumarsku genetiku, dendrologiju i botaniku, Sveučilište u Zagrebu Fakultet šumarstva i drvne tehnologije, Svetošimunska cesta 23, Zagreb, Hrvatska

Sveprisutne klimatske promjene značajno oblikuju šumske ekosustave diljem svijeta, osobito u umjerenim područjima Europe, gdje sve učestalije i intenzivnije suše, porast temperatura i promjene u obrascima oborina predstavljaju izazove za zdravlje i produktivnost šuma. Razumijevanje fizioloških, biokemijskih i morfoloških reakcija drveća na sušu i dostupnost hranjivih tvari ključno je za razvoj strategija gospodarenja šumama koje će očuvati otpornost i bioraznolikost ekosustava u uvjetima promjena. Ova doktorska disertacija usredotočuje se na dvije široko rasprostranjene listopadne vrste u Europi, običnu bukvu (*Fagus sylvatica* L.) i hrast kitnjak (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.), koje se razlikuju po mehanizmima otpornosti na sušu i ekološkim nišama. Bukva se često opisuje kao vrsta osjetljiva na sušu, dok kitnjak, održavajući izmjenu plinova i odgađajući zatvaranje puči, što je podržano dubljim korijenjem i većom morfološkom plastičnošću, pokazuje veću otpornost na sušu. Međutim, utjecaj suše na određenu vrstu je i pod utjecajem podrijetla (provenijencije) - genetskog i epigenetskog naslijeđa oblikovanog lokalnim klimatskim uvjetima - te dostupnosti hranjiva. U kontekstu hranjiva, fosfor (P) izravno i/ili neizravno regulira brojne važne fiziološke procese. Interaktivni učinci suše i gnojidbe, kao i unutarvrstna genetska varijabilnost, slabo su istraženi, osobito u kontekstu sve češćih negativnih utjecaja suše. Ova disertacija bavi se ispitivanjem morfoloških, fizioloških i biokemijskih odgovora bukve i kitnjaka iz dviju hrvatskih provenijencija pod kontroliranim uvjetima suše i tretmana gnojidbe fosforom, kako bi se bolje razumjele razlike i povezanosti između vrsta i provenijencija u uvjetima stresnih čimbenika. Proveden je pokus koji je uključivao 400 četverogodišnjih sadnica bukve i kitnjaka iz dviju hrvatskih provenijencija - Karlovac (KA) i Slavonski Brod (SB) - koje se razlikuju po klimatskim uvjetima, pri čemu je provenijencija KA iz vlažnijeg područja, ali je za vrijeme rasta istraživanog pomlatka u prirodnom staništu (2016. - 2020.) u njoj zabilježeno više jakih sušnih perioda nego u provenijenciji SB. Sa sadnicama je osnovan pokusni nasad u rasadniku Fakulteta šumarstva i drvne tehnologije Sveučilišta u Zagrebu. Posađene su u četiri velike drvene kutije napunjene standardiziranim supstratom te su gnojene fosforom na način da je u dvije kutije dodana umjereni koncentracija gnojiva (160 mg/L P₂O₅), a u dvije visoka koncentracija (300 mg/L P₂O₅). Na taj način dobivena su četiri tretmana: redovito zalijevanje s i bez gnojidbe fosforom, te suša s i bez gnojidbe fosforom. Tijekom vegetacijske sezone kontinuirano su mjerene fiziološke značajke: neto fotosinteza (A_{net}) i provodljivost puči (g_s) te fluorescencija klorofila, izražena indeksom fotosintetske učinkovitosti (PI_{abs}). Vodni status biljaka praćen je redovitom izmjerom vodnog potencijala u lišću (Ψ_{PD}). Vlažnost tla je praćena senzorima za vlagu na dubini od 5 do 20 cm. Biokemijske analize uključivale su sadržaj fosfora u lišću, fotosintetske pigmente (klorofil $a + b$, karotenoide), koncentraciju malondialdehida (MDA) kao pokazatelja lipidne peroksidacije i oksidativnog stresa, te aktivnosti antioksidativnih enzima - askorbat peroksidaze (APX), katalaze (CAT), peroksidaze (POD) i superoksid dismutaze (SOD) - izmjerene standardnim spektrofotometrijskim metodama. Na kraju sezone izmjereni su parametri rasta (promjer na vratu korijena, visine sadnica, duljine glavnog korijena, površine lista i raspodjele biomase (sitno korijenje, krupno korijenje, stabljika, lišće)). Također su analizirani mineralni sastav listova i kemijska svojstva supstrata. Podaci su statistički obrađeni

koristeći faktorijalnu ANOVA-u kako bi se ispitali učinci suše, gnojidbe fosforom i provenijencije te njihovih interakcija na sve mjerene značajke. Rezultati su pokazali značajni negativni utjecaj suše na sve mjerene fiziološke značajke, što je potvrđeno padom A_{net} , g_s , PI_{abs} i Ψ_{PD} , ukazujući na kombinirana stomatalna i ne-stomatalna ograničenja fotosinteze. Bukva je pokazala izraženiji pad fotosinteze i veća oksidacijska oštećenja (viši MDA), što je u skladu s njenom izohidričnom strategijom zatvaranja puči i smanjenja asimilacije ugljika. Suprotno tome, kitnjak je održao veću fotosintetsku aktivnost i pokazao morfološku plastičnost povećanjem omjera podzemnog (korijen) i nadzemnog dijela (stabljika, lišće), što ukazuje na anizohidrični odgovor. Ovi rezultati su u skladu s ranijim istraživanjima koja su pokazala veću otpornost kitnjaka na sušu zahvaljujući dubljem korijenju i održavanju izmjene plinova. Povećana aktivnost antioksidativnih enzima kod kitnjaka, posebno SOD-a i APX-a, ukazuje na učinkovitiji mehanizam uklanjanja reaktivnih vrsta kisika (ROS), ključan za smanjenje oksidativne štete izazvane sušom. Suprotno početnim očekivanjima, gnojidba fosforom nije dosljedno ublažila učinke suše. Obje vrste su pokazale smanjenu fotosintetsku učinkovitost (PI_{abs}) i neto fotosintezu (A_{net}) u tretmanima s povišenom koncentracijom P, što može biti posljedica neravnoteže hranjiva ili oksidativnog stresa izazvanog viškom P u kloroplastima. Povišene razine MDA i smanjeni sadržaj klorofila u tretmanima s P ukazuju na ubrzano starenje ili oštećenje fotosintetskih struktura. Visoke razine P negativno su utjecale i na sve mjerene parametre rasta kod obje vrste. Ovi rezultati ukazuju na to da sadnice prilagođene tlima siromašnim fosforom mogu doživjeti fiziološke i morfološke poremećaje kad ih se naglo izloži povećanim koncentracijama fosfora. Promijenjeni omjeri N/P dodatno ukazuju na neravnotežu hranjiva kao mogući čimbenik stresa. Iako je aktivnost APX-a bila povećana u tretmanima s povišenom koncentracijom P, ta biokemijska promjena nije rezultirala boljom otpornosti na stres niti rastom, što ukazuje na složenost interakcija hranjiva i stresa. Takvi rezultati ukazuju na oprez pri generaliziranom pristupu gnojenju u šumarstvu te naglašavaju potrebu za specifičnim, lokalno prilagođenim strategijama gnojenja u skladu sa zahtjevima vrsta i stanjem vode u tlu. Provenijencija je značajno utjecala na odgovore na sušu. Sadnice iz Karlovca (KA), iako potječu iz povijesno vlažnijeg područja, za vrijeme rasta istraživanog pomlatka u prirodnim staništima doživjele su izraženije sušne epizode, te su nadmašile one iz Slavenskog Broda (SB) koje dolaze iz sušnijih klimatskih uvjeta. Sadnice iz KA pokazale su veći promjer na vratu korijena, povoljniji omjer promjera i visine, povoljniju raspodjelu biomase te snažniju aktivnost antioksidativnih enzima (CAT, POD), što upućuje na bolju otpornost na oksidativni stres. Ovo sugerira da su nedavni klimatski ekstremi mogli inducirati fenotipsku plastičnost ili epigenetske promjene u populacijama KA, pojačavajući njihovu adaptivnu sposobnost. Takvi učinci naglašavaju važnost uključivanja recentnih klimatskih anomalija u odabir provenijencija za pošumljavanje, a ne oslanjanje samo na dugoročne klimatske prosjeke. Specifični odgovori vrsta i provenijencija na sušu i hranjiva ukazuju na nužnost primjene pristupa koji su usklađeni s klimatskim izazovima. Veća otpornost kitnjaka na sušu opravdava njegovu prednost u pošumljavanju i obnovi šuma, osobito u područjima s ograničenom dostupnošću vode ili lošim zadržavanjem vode u tlu. Osjetljivost bukve na sušu zahtijeva pažljivo planiranje njezine upotrebe u sušnim područjima. Strategije gnojidbe fosforom trebaju biti prilagođene, a hranjiva se trebaju primjenjivati samo tamo gdje je potvrđen njihov nedostatak te usklađivati s potrebama vrsta i dostupnošću vode, kako bi se izbjeglo pogoršanje stresa. Očuvanje genetske raznolikosti u gospodarenju šumama ključno je za održavanje adaptivne sposobnosti i omogućavanje prirodne selekcije pod klimatskim pritiscima. Praćenje stanja šuma treba uključivati višefaktorske analize stresa, uključujući interakcije suše i hranjiva, te višesezonsku procjenu fizioloških značajki kako bi se poboljšale prognoze dugoročne otpornosti šumskih ekosustava. Ovo istraživanje pruža sveobuhvatan uvid u složeno međudjelovanje suše, hranjiva i genetskog podrijetla kod dviju vrsta šumskog drveća iz klimatski umjerenog područja. Potvrđeno je da suša snažno ugrožava fotosintezu, rast i oksidativnu ravnotežu kod bukve i

kitnjaka, no kitnjakov anizohidrični način korištenja vode i plastičnost korijenja osiguravaju veću otpornost. Učinci gnojidbe fosforom bili su ovisni o vrsti i vodnom statusu, pri čemu je pretjerani unos fosfora narušavao fiziološku homeostazu i smanjivao rast. Varijabilnost na razini provenijencije pokazala se ključnom za otpornost na sušu, a nedavni klimatski ekstremi mogli su potaknuti epigenetske prilagodbe koje povećavaju otpornost na stres. Šumsko gospodarenje stoga treba integrirati izbor vrsta i provenijencija temeljen na svojstvima, prilagodljivu gnojidbu u skladu s uvjetima na terenu i očuvanje genetske raznolikosti radi uzgajanja otpornijih šumskih ekosustava u uvjetima klimatskih promjena. Buduća istraživanja trebaju se fokusirati na nasljednost i stabilnost svojstava otpornosti na sušu, dugoročne učinke ponovljenih stresova te korištenje genomske-epigenetskih alata za selekciju provenijencija. (127 stranica, 3 priloga, 126 literaturnih navoda, jezik izvornika: engleski)

Ključne riječi: *Fagus sylvatica*, *Quercus petraea*, suša, gnojidba fosforom, aktivnost antioksidativnih enzima, fotosinteza, razlike između provenijencija u prilagodbi na sušu

Mentor: izv. prof. dr. sc. Krunoslav Sever

Ocjenjivači: prof. dr. sc. Željko Škvorc
prof. dr. sc. Saša Bogdan
izv. prof. dr. sc. Tomislav Karažija

**The role of phosphorus in mitigating the negative impact of drought on photosynthesis
and growth of common beech and sessile oak provenances**

Antonia Vukmirović

Department of Forest Genetics, Dendrology and Botany, University of Zagreb Faculty of
Forestry and Wood Technology, Svetošimunska cesta 23, Zagreb, Croatia

Climate change is intensifying drought stress in European temperate forests, highlighting the need for adaptive forest management that accounts for species- and provenance-specific responses. This study examined the physiological, biochemical, and morphological responses of common beech (*Fagus sylvatica* L.) and sessile oak (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) from two Croatian provenances - Karlovac (KA) and Slavonski Brod (SB) - which differ in climatic conditions. A total of 400 four-year-old saplings were grown in large containers in a common garden. A factorial design combined two watering regimes (well-watered and drought-stressed via irrigation exclusion) with two phosphorus (P) fertilization levels (moderate: 160 mg/L P₂O₅; high: 300 mg/L P₂O₅), resulting in four treatment combinations: (1) well-watered without P, (2) well-watered with P, (3) drought without P, and (4) drought with P. Physiological parameters - including net photosynthesis (A_{net}), stomatal conductance (g_s), chlorophyll fluorescence (PI_{abs}), and pre-dawn leaf water potential (Ψ_{PD}) - were measured throughout the growing season. Biochemical analyses assessed leaf P content, photosynthetic pigments, malondialdehyde (MDA) as an oxidative stress marker, and activities of antioxidant enzymes (ascorbate peroxidase (APX), catalase (CAT), peroxidase (POD), and superoxide dismutase (SOD)). Growth traits (stem height, root collar diameter, taproot length, biomass allocation) and substrate and foliar mineral content were recorded at season's end. Drought significantly reduced A_{net} , g_s , PI_{abs} , and Ψ_{PD} in both species, with beech more severely affected - showing higher MDA and reduced growth, indicative of its conservative water-use strategy. Oak maintained higher photosynthetic activity, greater root-to-shoot ratios, and stronger antioxidant enzyme activity, particularly SOD and APX, suggesting better drought resilience. Phosphorus fertilization showed limited effect in mitigating drought impacts. Instead, high P levels reduced PI_{abs} and A_{net} , increased MDA, and lowered chlorophyll content - indicating possible P-induced oxidative stress or nutrient imbalance. Growth was especially inhibited in beech. Provenance influenced drought response: KA saplings (from a wetter region recently exposed to drought) outperformed SB saplings in growth and antioxidant capacity, suggesting adaptive plasticity or epigenetic adjustment. These findings underscore the importance of species- and provenance-level selection, cautious fertilization, and site-specific strategies to enhance forest resilience under future climate conditions.

(127 pages, 3 supplements, 126 references, original in English)

Key words: *Fagus sylvatica*, *Quercus petraea*, drought, phosphorus fertilization, antioxidant enzyme activity, photosynthesis, provenance-specific drought adaptation

Supervisor: Krunoslav Sever, PhD, Associate Professor

Reviewers: Željko Škvorc, PhD, Full Professor
Saša Bogdan, PhD, Full Professor
Tomislav Karažija, PhD, Associate Professor