

# Adaptivni odgovor različitih vrsta leguminoza na uvjete sušnog stresa

---

**Horvatović, Matej**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2024**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:*

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek /  
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:632349>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-12-23**



Sveučilište Josipa Jurja  
Strossmayera u Osijeku

**Fakultet  
agrobiotehničkih  
znanosti Osijek**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Agrobiotechnical  
Sciences Osijek - Repository of the Faculty of  
Agrobiotechnical Sciences Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Matej Horvatić, apsolvant

Sveučilišni diplomski studij Bilinogojstvo

Modul Oplemenjivanje bilja i sjemenarstvo

**ADAPTIVNI ODGOVOR RAZLIČITIH VRSTA LEGUMINOZA NA UVJETE  
SUŠNOG STRESA**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2024.**

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Matej Horvatović, apsolvent

Sveučilišni diplomski studij Bilinogojstvo

Modul Oplemenjivanje bilja i sjemenarstvo

**ADAPTIVNI ODGOVOR RAZLIČITIH VRSTA LEGUMINOZA NA UVJETE  
SUŠNOG STRESA**

**Diplomski rad**

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskoga rada:

1. prof. dr. sc. Sonja Petrović, predsjednik
2. doc. dr. sc. Sunčica Kujundžić, mentor
3. prof. dr. sc. Miroslav Lisjak, član

**Osijek, 2024.**

*Ovaj diplomski rad rezultat je istraživanja u sklopu podmjere 10.2. „Potpora za očuvanje, održivo korištenje i razvoj genetskih izvora u poljoprivredi“ iz Programa ruralnog razvoja Republike Hrvatske za razdoblje 2014.-2020.*

## Sadržaj:

1. Uvod.....	1
1.1. Cilj istraživanja.....	2
2. Pregled literature.....	3
2.1. Utjecaj suše na koncentraciju klorofila.....	3
2.2. Utjecaj suše na provodljivost puči.....	5
2.3. Utjecaj suše na relativni sadržaj vode.....	6
2.4. Utjecaj suše na vodni potencijal tla.....	8
2.5. Suša i vegetacijski indeksi.....	8
2.5.1. Suša i vegetacijski indeks normalizirane razlike (NDVI).....	9
2.5.2. Suša i indeks fotokemijske refleksije (PRI).....	10
2.5.3. Suša i indeks refleksije flavonola (FRI).....	12
3. Materijal i metode.....	14
3.1. Biljni materijal.....	14
3.2. Dizajn i opis istraživanja.....	14
3.3. Određivanje relativnog sadržaja vode u listu.....	18
3.4. Mjerenje koncentracije klorofila u listu.....	18
3.5. Mjerenje provodljivosti puči.....	18
3.6. Mjerenje vodnog potencijala supstrata.....	18
3.7. Određivanje vegetacijskih indeksa.....	19
3.8. Statistička obrada podataka.....	19
4. Rezultati.....	20
4.1. Analiza varijance.....	20
4.2. Koncentracija klorofila.....	20
4.3. Provodljivost puči.....	21
4.4. Relativni sadržaj vode.....	22
4.5. Indeks normalizirane razlike (NDVI).....	23

4.6. Indeks fotokemijske refleksije (PRI) .....	24
4.7. Indeks refleksije flavonola (FRI).....	24
4.8. Vodni potencijal (MPa) supstrata .....	25
4.9. Korelacijska analiza.....	26
5. Rasprava .....	27
6. Zaključak .....	32
7. Popis literature .....	33
8. Sažetak.....	43
9. Summary.....	44
10. Popis tablica.....	45
11. Popis slika.....	46

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

BASIC DOCUMENTATION CARD

## 1. Uvod

Leguminoze su biljke iz porodice *Fabaceae*. Porodica *Fabaceae* velika je porodica s preko 18 000 vrsta. Najčešće leguminoze koje se koriste za ljudsku i stočnu prehranu su: grah, grašak, bob, soja, kikiriki, lucerna i djetelina (Maphosa i Jideani, 2017.). U kontekstu proizvodnje hrane, leguminoze zauzimaju značajno mjesto odmah iza žitarica, čineći 27 % globalne proizvodnje usjeva te zadovoljavajući 33 % ljudskih potreba za proteinima. Ove biljke mogu uspješno rasti u različitim klimatskim uvjetima i na različitim tipovima tla. Također, doprinose s više od 35 % svjetske proizvodnje biljnog ulja, posebice od soje i kikirikija (Pradhan i sur., 2019.).

Brz rast svjetske populacije predstavlja značajan izazov za proizvodnju hrane u 21. stoljeću. Prema izvješću UNICEF-a (2021.), više od dvije milijarde ljudi pati od pothranjenosti ili nedovoljnog unosa esencijalnih mikronutrijenata. Glavni mikronutrijenti, poput cinka, željeza i selena, bitno utječu na ljudsko zdravlje. Leguminoze su jeftin izvor vitamina, mikronutrijenata i proteina i većini ljudi su dostupne za prehranu (Bagheri i sur., 2023.).

Iako se umjetna gnojiva koriste u poljoprivredi za povećanje prinosa, ona također predstavljaju značajan rizik za okoliš i zdravlje (Kaushal i Wani, 2016.). Zbog sposobnosti fiksiranja atmosferskog dušika, leguminoze dovode do povećane produktivnosti usjeva te smanjuju potrebu za gnojivima. Često se koriste i kao međuusjevi, što pomaže u suzbijanju korova, štetnika i bolesti. Kada se uzgajaju u plodoredu sa žitaricama, leguminoze sprječavaju eroziju tla, poboljšavaju nutritivni profil tla i smanjuju prisutnost patogena. S obzirom na ove karakteristike, proizvodnja leguminoza ključna je za usvajanje održivijih poljoprivrednih praksi (Daryanto i sur., 2015.).

Okolišni čimbenici stresa, poput hladnoće, povećanog saliniteta i suše utječu na sve faze razvoja biljke, od njezina klijanja pa sve do zrelosti. Klimatske promjene dovode do povećanja ekstremnih vremenskih uvjeta, uključujući neujednačene oborine, što može rezultirati sušom i negativno utjecati na proizvodnju usjeva. Suša, kao dugotrajno razdoblje suhog vremena s manjkom oborina, postaje sve češći problem diljem svijeta jer ograničava produktivnost i rast biljaka (Patel Priyanka i sur., 2019.). Suša je velika prijetnja i najnepredvidljiviji stres kod biljaka. Suša izaziva značajne posljedice na biljke tako što remeti različite fiziološke i biokemijske aktivnosti kao što su brzina asimilacije ugljika i izmjena plinova u listovima, smanjuje turgor te povećava oksidativna oštećenja (Hussain i sur., 2018.). Osjetljivost biljaka na sušu složen je fenomen i ovisi o brojnim čimbenicima

kao što su: faza rasta biljke, genetski potencijal te trajanje i težina stresa (Zhu, 2002.). Osim toga suša utječe i na razvoj listova, aktivnost enzima i ionsku ravnotežu (Anjum i sur., 2017.).

Uzgoj leguminoza ometa niz različitih okolišnih stresova, pri čemu se nedostatak vode ističe kao glavni problem. Suša predstavlja ključni stresor koji negativno utječe na rast leguminoza. Ova nepovoljna pojava glavni je uzrok smanjenja prinosa te predstavlja prepreku u napretku poljoprivrede u mnogim zemljama (Lesk i sur., 2022.). Brze promjene klimatskih uvjeta negativno utječu na produktivnost leguminoza. Na primjer, u Sjedinjenim Američkim Državama, prinosi soje padaju za 2-4 % za svaki stupanj porasta temperature tijekom vegetacije (Mourtzinis i sur., 2015.). Također se predviđa da će povećanje globalne temperature rezultirati smanjenjem površina pogodnih za uzgoj graha zbog povećanog rizika od suše (Beebe i sur., 2011.). Općenito, leguminoze ovise o oborinama i najosjetljivije su na stres uzrokovan sušom tijekom cvjetanja i razvoja sjemena. Suša uzrokuje dehidraciju stanica, što inhibira različite procese poput stanične diobe, rasta listova, produljenja stabljike i korijena te uzrokuje poremećaj unosa vode i hranjivih tvari. Glavni simptomi suše kod leguminoza su: uvijanje listova, venuće i prerano osipanje. U konačnici suša značajno negativno utječe na prinos leguminoza (Islam i sur., 2021.).

Biljke koje mogu rasti u uvjetima srednje i jake suše nazivaju se "otporne na sušu". Važno je istaknuti da biljke iz porodice *Fabaceae* posjeduju jedinstvene karakteristike i sposobnost prilagodbe abiotičkom stresu (Dubey i sur., 2020.).

### 1.1. Cilj istraživanja

Cilj istraživanja bio je ispitati adaptivni odgovor različitih vrsta leguminoza na kratkotrajne uvjete suše, analizirajući specifične promjene vegetacijskih parametara.



## 2. Pregled literature

### 2.1. Utjecaj suše na koncentraciju klorofila

Dostupni vodni resursi za uspješnu biljnu proizvodnju značajno su se smanjili posljednjih godina. S obzirom na različite modele klimatskih promjena, znanstvenici predviđaju da će se u mnogima dijelovima svijeta gubici prinosa dodatno povećati zbog sve većeg nedostatka vode (Arabshahi i Mobasser, 2017.).

Kada su biljke izložene suši, dolazi do niza fizioloških i biokemijskih promjena, kao što su promjene u fotosintezi, relativnom sadržaju vode te u vegetacijskim parametrima.

Velikim dijelom, biljna biomasa potječe od fotosintetski uhvaćenog ugljika. Razlike u učinkovitosti fotosinteze među biljkama mogu dovesti do varijacija u brzini rasta i produktivnosti, što su važni čimbenici u prinosu usjeva (Flood i sur., 2011.). Nedavno su znanstvenici pokazali da povećane stope fotosinteze mogu dovesti do većih prinosa kod soje (Thomey i sur., 2019.). Kloroplast je mjesto odvijanja fotosinteze u biljkama gdje se uglavnom klorofil koristi za apsorpciju, prijenos i pretvorbu svjetlosne energije. U antenskom kompleksu kloroplasta, klorofili su ključni pigmenti koji hvataju svjetlost koja će tijekom procesa fotosinteze omogućiti sintezu ugljikohidrata. Klorofil se neprekidno metabolizira u biljkama te je usko povezan s procesom fotosinteze i formiranjem biljne mase (Yang i sur., 2021.).

Kao najvažniji i najučinkovitiji pigment u fotosintezi, klorofil može odražavati razinu stresa u biljci. Kod većine biljnih vrsta, nedostatak vode zbog suše uzrokuje degradaciju tilakoidne membrane unutar kloroplasta, negativno utječući na klorofil i druge fotosintetske pigmente (Muhammad i sur., 2021.). Kao posljedica stresa, smanjuje se brzina fotosinteze, lisna površina i u konačnici prinos (Sharma i sur., 2020.). Koncentracija klorofila uglavnom ima tendenciju smanjiti se pod stresom od suše, a udio klorofila -a, -b i karotenoida biva promijenjen, što uzrokuje promjene u fotosintetskoj aktivnosti (Farooq i sur., 2009.). Prilikom suše dolazi do povećane razgradnje klorofila. Osim toga, suša otežava biljkama apsorpciju hranjivih elemenata što se očituje smanjenjem koncentracije klorofila. Također, tijekom suše dolazi do promjene u biljnim pigmentima koji dovode do promjene boje biljke u žućkasto-smeđu. S gledišta otpornosti na sušu, pokazalo se da biljke s visokim sadržajem klorofila općenito imaju bolju otpornost na sušu (Yang i sur., 2021.).

Batra i sur. (2014.) su mjerili promjene u koncentraciji fotosintetskih pigmenta u listovima tri sorte mungo graha (*Vigna radiata*) koje su bile izložene suši. Kontrolne biljke svih sorti imale su višu ukupnu koncentraciju klorofila, dok su biljke izložene suši, osobito one koje su dulje bile pod stresom, pokazale znatno nižu ukupnu koncentraciju klorofila.

Mafakheri i sur. (2010.) su mjerili koncentraciju klorofila a, klorofila b i ukupni klorofil u tri kultivara slanutka izložena suši tijekom vegetativnog rasta i cvjetanja. Kod svih kultivara suša je uzrokovala značajno smanjenje koncentracije klorofila -a, -b i ukupnog klorofila u odnosu na kontrolu.

López i sur. (2020.) su istraživali postoje li promjene u razinama klorofila kao odgovor na sušu u dva genotipa graha (*Phaseolus vulgaris*) PMB-0220 i PMB-0683. Ukupna koncentracija klorofila mjerena je u listovima graha nakon 10 dana izlaganja suši. Rezultati su pokazali da su listovi graha genotipa PMB-0220 pod stresom suše imali nižu koncentraciju klorofila od kontrolnih biljaka, dok genotip PHA-0683 pod stresom suše nije pokazao nikakvo značajno smanjenje sadržaja klorofila u odnosu na njegove kontrolne uvjete.

Zaefyzadeh i sur. (2009.) su u istraživanju koristili 13 sorti durum pšenice. Utvrdili su da su sorte pšenice imale različite odgovore na stres suše. Koncentracija klorofila kod osjetljivih sorti pšenice značajno se smanjila pod utjecajem suše, dok je koncentracija klorofila kod otpornih sorti pšenice ostala ista ili se povećala.

Međutim, ne pokazuju sve biljke smanjen sadržaj klorofila pod utjecajem suše. Sposobnost održavanja koncentracije klorofila može varirati ovisno o genotipu te trajanju i intenzitetu stresa (Monteoliva i sur., 2021.). Biljke koje održavaju relativno visoku koncentraciju klorofila tijekom suše učinkovitije koriste svjetlosnu energiju, što ukazuje na veću otpornost na sušu (Li i sur., 2006.).

Guzzo i sur. (2021.) su izvjestili da je kod genotipa soje A 5009 RG stres uzrokovan sušom izazvao značajno povećanje koncentracije klorofila. Nakon sedam dana suše koncentracija klorofila se povećala više od dva puta u odnosu na kontrolu. Stoga su predložili da je koncentracija klorofila koristan alat za klasifikaciju genotipova soje prema njihovim reakcijama na sušu u ranim razvojnim fazama.

Avramova i sur. (2015.) su mjerili biokemijske i fiziološke fotosintetske parametre, a među njima i koncentraciju klorofila. U pokusu su koristili inbred liniju kukuruza B73 koja je bila

izložena blagoj i jakoj suši. Koncentracija klorofila bila je povećana do pet puta zbog suše. Blagi stres uzrokovan sušom utjecao je samo na koncentraciju klorofila u zrelim tkivima, dok se u jakom stresu klorofil počeo nakupljati i u zoni elongacije.

## 2.2. Utjecaj suše na provodljivost puči

Reakcije na stres se prvo primijete na razini lista, gdje dolazi do promjena u procesima poput fotosinteze i transpiracije. Puči lista igraju važnu ulogu u očuvanju vode te regulaciji unosa CO<sub>2</sub> potrebnog za fotosintezu. Provodljivost puči ukazuje na brzinu isparavanja vodene pare te ovisi o različitim čimbenicima poput: gustoće puči, staničnom turgoru te starosti i veličini listova (Feller, 2006.). Također, dobro je poznato da količina vode u listovima utječe na provodljivost puči i transpiraciju. Kada se biljke nalaze pod stresom od suše, gotovo se uvijek može uočiti korelacija između vodnog potencijala lista i provodljivosti puči. Međutim, provodljivost puči ovisi i o ostalim čimbenicima kao što su proučavana vrsta, trajanje suše, veličina posuda u kojima su biljke ukorijenjene ili općenito uvjeti okoliša tijekom suše (Tyree, 2007.). Provodljivost puči povezana je sa stopom fotosintetske asimilacije čime se osigurava ravnoteža između unosa CO<sub>2</sub> za fotosintezu i gubitka vode transpiracijom (Lawson i sur., 2011.).

Biljke mogu osjetiti dostupnost vode oko korijena i odgovoriti slanjem kemijskih signala u izdanke kako bi izazvale adaptivne odgovore kao što su smanjenje rasta listova i zatvaranje puči (Jackson, 1993.). Puči se često zatvore kao odgovor na sušu i prije nego što se otkrije bilo kakva promjena u vodnom potencijalu listova ili sadržaju vode u listovima (Sociás i sur., 1997.). Povećanje apscizinske kiseline u ksilemu izazvano sušom djeluje kao glavna signalna molekula uključena u odgovor biljaka na stres uzrokovan sušom (Davies i Zhang, 1991.). Kako se tlo suši, apscizinska kiselina se proizvodi u vrhovima korijena i transportira se u ksilem gdje putem transpiracijske struje dolazi do lista te smanjuje provodljivost puči. Kao posljedica toga, smanjuje se vodljivost biljke, odnosno kretanje vode kroz biljku, čime si biljka pomaže u očuvanju vode i preživljavanju razdoblja suše (Liu i sur., 2003.). Međutim, molekularni i biokemijski mehanizmi signalnih putova apscizinske kiseline još nisu u potpunosti poznati (Khan i sur., 2020.).

Makbul i sur. (2011.) su ispitivali utjecaj suše na soju. Nakon 21 dan uzgoja u plastičnim posudicama, jedna skupina biljaka je podvrgnuta suši tijekom 10 dana obustavom

zalijevanja. Izloženost stresu uzrokovanim sušom rezultirala je smanjenjem provodljivosti puči za 42 % u usporedbi s biljkama koje nisu bile izložene stresu.

Amede i Schubert (2003.) su ispitivali djelovanje suše na grahu i slanutku. Kod obje vrste došlo je do značajnog pada provodljivosti puči već nakon tri dana suše u odnosu na kontrolu.

Mafakheri i sur. (2010.) su istraživanje proveli na tri sorte slanutka koji se razlikuju prema otpornosti na sušu. Sorte Bivaniej i ILC482 se smatraju relativno otpornima na sušu, dok je sorta Pirouz osjetljiva na sušu. Transpiracija i provodljivost puči su se značajno smanjili u sve tri sorte kada su bile izložene stresu uzrokovanim sušom.

Avramova i sur. (2015.) su istraživali djelovanje blage i jake suše na kukuruzu. Kod obje razine suše, provodljivost puči i fotosinteza su se značajno smanjili, što ukazuje da je fotosinteza ograničena veličinom otvora puči.

Belachew i sur. (2019.) su istraživali utjecaj nedostatka vode kod klijanaca boba (*Vicia faba*). Provodljivost puči bila je 3,8 puta manja u tretmanu s nedostatkom vode nego u kontroli, što ukazuje da je zatvaranje puči jedan od odgovora biljaka na stres.

Arshad i sur. (2017.) su istraživali ulogu microRNA (miR156d) u odgovoru lucerne (*Medicago sativa*) na sušu. Uočili su značajno poboljšanje tolerancije na sušu genotipova lucerne s prekomjernom ekspresijom miR156 u usporedbi s lucernom divljeg tipa. Tijekom stresa uzrokovanog sušom, lucerna s prekomjernom ekspresijom miR156 zadržala je veću provodljivost puči u usporedbi s divljim tipom lucerne.

Cruz i sur. (1998.) su proveli istraživanje u kojem su uspoređivali tri kultivara različite osjetljivosti na nedostatak vode. U pokusu su koristili grah (*Phaseolus vulgaris*) koji je osjetljiv, te dva kultivara duge vigne (*Vigna unguiculata*) od kojih je jedna bila srednje osjetljiva, a druga tolerantna na sušu. U sva tri kultivara, provodljivost puči se smanjila prije nego što je došlo do promjene u relativnom sadržaju vode. Kod graha je došlo do najvećeg smanjenja stope provodljivosti puči u usporedbi s oba kultivara duge vigne.

### 2.3. Utjecaj suše na relativni sadržaj vode

Relativni sadržaj vode (eng. *Relative Water Content*, RWC) je mjera statusa hidratacije (stvarni sadržaj vode) u listu u odnosu na maksimalni kapacitet zadržavanja vode pri punoj turgidnosti. RWC predstavlja mjeru za 'nedostatak vode' u listu i može ukazivati na stupanj

stresa prilikom suše (Mullan i Pietragalla, 2012.). Također, RWC odražava ravnotežu između opskrbe vodom tkiva lista i brzine transpiracije (Lugojan i Ciulca, 2011.). Biljke sa sposobnošću održavanja turgidnosti listova imaju brojne fiziološke prednosti tijekom stresa (Mullan i Pietragalla, 2012.). Sinclair i Ludlow (1985.) su utvrdili da je RWC bolji pokazatelj stanja vode u biljkama od vodnog potencijala. Korištenjem RWC-a moguće je učinkovito identificirati genotipove otporne na sušu (Soltys-Kalina i sur., 2016.).

Siddiqui i sur. (2015.) su imali za cilj odabrati tolerantne sorte boba (*Vicia faba*) na temelju morfo-fizioloških i biokemijskih karakteristika. U pokusu su koristili 10 sorti boba te su proučavali djelovanje različitih razina stresa (blaga, umjerena i jaka suša). Što je bila veća razina stresa uzrokovanog sušom, to je RWC kod svih sorti bio manji. Međutim, postojale su razlike u vrijednosti RWC-a između sorti, što se može povezati s njihovom sposobnošću upijanja vode iz tla tijekom suše.

Talebi i sur. (2013.) su istraživali otpornost na sušu kod 35 sorti slanutka. Jedan dio biljaka je uzgajan u optimalnim uvjetima dok je drugi dio bio izložen stresu uzrokovanim sušom nakon cvjetanja. Rezultati su pokazali da postoji velika varijacija u toleranciji na stres među različitim sortama slanutka. Sve su sorte imale niži relativni sadržaj vode kada su bile izložene suši. Sorte otporne na sušu imali su veći relativni sadržaj vode u listovima u odnosu na osjetljive sorte.

Guzzo i sur. (2021.) su istraživali svojstva povezana s otpornošću na sušu u vegetativnom stadiju soje. U istraživanju su koristili dva genotipa soje koji se razlikuju u odgovoru na stres uzrokovanim sušom. Relativni sadržaj vode je mjereno kod genotipa soje osjetljivog na sušu (ADM 500048) i genotipa koji je tolerantan na sušu (A 5009 RG). Relativni sadržaj vode se kod osjetljivog genotipa smanjio za 40 % nakon sedam dana suše, dok se kod tolerantnog genotipa tek neznatno smanjio.

Keyvan (2010.) je proučavao učinak suše u poljskim uvjetima na relativni sadržaj vode kod krušne pšenice. U istraživanju je koristio tri kultivara pšenice: Chamran, Marvdasht i Shahriar. Rezultati su pokazali da je s povećanjem intenziteta suše u svim ispitanim kultivarima pšenice došlo do smanjenja relativnog sadržaja vode. Kultivar Chamran je imao najmanji pad relativnog sadržaja vode u odnosu na kontrolni tretman. Također, ovaj kultivar imao je najveći prinos i otpornost na sušu.

Ghanbari i sur. (2013.) su istraživali morfo-fiziološka svojstva graha (*Phaseolus vulgaris*) u normalnim i sušnim uvjetima. U istraživanju su koristili osam genotipova graha (AND1007,

Akhtar, D81083, COS16, KS21486, MCD4011, WA4531-17 i WA4502-1). Pod stresom od suše genotip AND1007 je imao najveći relativni sadržaj vode. Općenito, genotip AND1007 je bio superiorniji u uvjetima suše od ostalih genotipova. Genotip WA4531 je imao najniži relativni sadržaj vode u tretmanima pod stresom.

#### 2.4. Utjecaj suše na vodni potencijal tla

Vodni potencijal definira se kao potencijalna energija vode po jedinici mase vode u usporedbi s čistom vodom. Izražava se u megapaskalima (MPa) i ključan je za razumijevanje kako se voda kreće u biljkama. Vodni potencijal čiste destilirane vode pri standardnim uvjetima je 0 MPa. Ukupni vodni potencijal zbroj je četiri parcijalna potencijala: gravitacijskog, hidrostatskog, osmotskog i matričnog (Lazarević i Poljak, 2019.; METER Group, 2024.) Matrični potencijal je ključni čimbenik koji utječe na dostupnost vode u biljkama i njihovu sposobnost upijanja vode iz tla. Matrični potencijal ovisi o adsorpcijskim silama koje vezuju vodu za čestice tla. Visok matrični potencijal ukazuje na to da se voda slabije drži za čestice tla i da je biljkama lakše dostupna. Suprotno tome, nizak matrični potencijal javlja se kada se voda čvrsto drži za čestice tla. Tijekom suše, matrični potencijal može postati vrlo negativan, što uzrokuje da se voda u suhim tlama čvrsto veže uz čestice tla. Kao rezultat toga, biljke mogu imati poteškoća s upijanjem vode jer ju ne mogu apsorbirati zbog čvrstog vezanja. Stoga je matrični potencijal važan pokazatelj dostupnosti vlage u tlu za biljke te se može koristiti za prepoznavanje trenutka kada biljke počinju doživljavati stres zbog nedostatka vode (Balocchi i sur., 2004.; Buitenwerf i sur., 2014.).

#### 2.5. Suša i vegetacijski indeksi

Vegetacijski indeksi su brojčane vrijednosti koje se dobivaju na osnovu načina na koji vegetacija reflektira i apsorbira svjetlost u različitim spektralnim pojasima. Ovi se indeksi široko koriste u područjima poput poljoprivrede, šumarstva i ekologije. Posebno su korisni za praćenje stresnih uvjeta kod biljaka, jer promjene u indeksima mogu ukazivati na različite faktore stresa kao što su suša, nedostatak hranjivih tvari ili bolesti. Vegetacijski indeksi se dobivaju snimanjem pomoću spektralnih kamera (Bugarin, 2022.).

### 2.5.1. Suša i vegetacijski indeks normalizirane razlike (NDVI)

Vegetacijski indeks normalizirane razlike (eng. *Normalized Difference Vegetation Index*, NDVI) koristi se još od 1973. godine kako bi znanstvenicima pomogao u procjeni i praćenju zdravstvenog stanja biljaka. Danas je NDVI postao najčešće korišten vegetacijski indeks. NDVI koristi refleksiju vidljive crvene (R) svjetlosti i bliske infracrvene (NIR) svjetlosti za procjenu zdravstvenog stanja biljaka. Široko se primjenjuje u poljoprivredi, šumarstvu i ekologiji radi praćenja rasta i zdravlja vegetacije te u prepoznavanja područja stresa ili oštećenja. Vrijednosti NDVI mogu se koristiti za mapiranje i klasifikaciju tipova vegetacije, kao i za detekciju promjena u vegetacijskom pokrovu tijekom vremena. Kada su biljke zdrave, imaju visok sadržaj klorofila, što im omogućuje da apsorbiraju više svjetla u crvenom (R) području spektra i reflektiraju više bliske infracrvene (NIR) svjetlosti. S druge strane, nezdrava vegetacija čini suprotno, reflektira više crvene svjetlosti (R) dok apsorbira blisku infracrvenu (NIR) svjetlost. NDVI koristi ovu karakteristiku biljaka za razlikovanje zdrave od nezdrave vegetacije. NDVI se izračunava oduzimanjem refleksije bliske infracrvene (NIR) svjetlosti od refleksije crvene (R) svjetlosti i zatim dijeljenjem te vrijednosti sa zbrojem refleksije bliske infracrvene (NIR) svjetlosti i crvene (R) svjetlosti (Huang i sur., 2021.). Formula za procjenu NDVI:

$$\text{NDVI} = \frac{\text{NIR} - \text{R}}{\text{NIR} + \text{R}}$$

gdje je:

NIR = refleksija bliske infracrvene svjetlosti

R = refleksija vidljive crvene svjetlosti

Vrijednosti NDVI kreću se od -1 do 1, pri čemu vrijednosti bliže 1 označavaju bolje zdravstveno stanje vegetacije. NDVI reagira na promjene u količini klorofila u spužvastom mezofilu listova. Više vrijednosti NDVI odražavaju veći fotosintetski kapacitet biljke, dok niže vrijednosti NDVI odražavaju smanjenu količinu klorofila koja je rezultat vegetativnog stresa. Stoga NDVI može biti učinkovit pokazatelj stresa kod biljaka (Xue i Su, 2017.).

Nemeskéri i sur. (2017.) su uzgajali četiri sorte graha pri tri razine navodnjavanja (redovito navodnjavane, nedovoljno navodnjavane i nenavodnjavane) kako bi se ispitala povezanost vegetacijskih indeksa i prinosa. U uvjetima bez navodnjavanja, vegetacijski indeks normalizirane razlike (NDVI) bio je nizak, dok je u uvjetima nedovoljnog navodnjavanja, NDVI izmjeren tijekom cvatnje i razvoja mahuna usko korelirao s prinosom gdje je viši NDVI predviđao bolje prinose.

Ranjan i sur. (2019.) istraživali su mogu li vegetacijski indeksi služiti kao indikator prinosa. Ispitivano je osam kultivara pinto graha uzgojenih na dva načina navodnjavanja (normalno i nedovoljno). Vegetacijski indeksi mjereni su u ranoj, srednjoj i kasnoj fazi rasta biljaka. Rezultati su pokazali da vrijednost NDVI ima značajnu korelaciju s prinosom u ranoj i kasnoj fazi rasta biljke.

Lipovac i sur. (2022.) imali su za cilj procijeniti mogućnost korištenja vegetacijskih indeksa za praćenje i detekciju vodnog stresa te za predviđanje prinosa kod tri različite razine navodnjavanja graha. Rezultati su pokazali da je vrijednost NDVI manja kod nedovoljnog navodnjavanja. Također, korištenje NDVI bilo je uspješno u predviđanju prinosa u uvjetima nedovoljnog navodnjavanja.

Tavares i sur. (2022.) u poljskim su uvjetima istraživali morfo-fiziološke promjene, prinos i kvalitetu zrna soje. U istraživanju su koristili šest kultivara soje i četiri različita vodna režima navodnjavanja. Vodni stres imao je različite učinke na vegetacijske indekse među kultivarima. Vegetacijski indeks NDVI bio je najosjetljiviji na nedostatak vode. Što je bila veća dostupnost vode to su kultivari imali višu vrijednost NDVI. Također zaključili su da se NDVI može koristiti za predviđanje prinosa soje u uvjetima suše.

Crusiol i sur. (2017.) su u istraživanju koristili NDVI vegetacijski indeks za odabir sorti soje otpornih na sušu.

#### 2.5.2. Suša i indeks fotokemijske refleksije (PRI)

Indeks fotokemijske refleksije (eng. *Photochemical Reflectance Index*, PRI) je vegetacijski indeks koji mjeri fiziološke procese u biljkama, s posebnim naglaskom na učinkovitost fotosinteze. U ranijoj fazi stresa, prije nego što dođe do oštećenja, fotosinteza opada. U takvim uvjetima apsorbirana svjetlost premašuje potrebe fotosinteze. Zbog toga biljke raspršuju višak svjetlosti kako bi izbjegle oksidativno oštećenje (Björkman i Demmig-



Adams, 1995.). Dva procesa raspršivanja svjetlosti natječu se za višak svjetlosne energije: fluorescencija klorofila i nefotokemijsko gašenje (eng. *Non-Photochemical Quenching*, NPQ). NPQ je proces koji raspršuje apsorbiranu svjetlosnu energiju u toplinsku energiju u fotosustavu II (PSII). Višak energije se preusmjerava s klorofila na pigmente ksantofilskog ciklusa. Iako točni mehanizmi NPQ nisu u potpunosti poznati, kod ovog procesa odvija se stvaranje zeaksantina, putem ksantofilskog ciklusa (Horton i sur., 2005.). Pod viškom svjetla, violaksantin se pretvara u zeaksantin procesom deepoksidacije. Pod niskim razinama svjetla odvija se obrnuta reakcija (epoksidacija). PRI je osjetljiv na promjene ksantofilskih pigmentata, stoga se konverzija pigmentata ksantofilskog ciklusa koristi za procjenu sposobnosti biljke da učinkovito rasprši višak energije apsorbirane tijekom fotosinteze. Procesi epoksidacije i deepoksidacije, mogu se detektirati refleksijom na 531 nm (Gamon i sur., 1990). PRI vrijednost se smanjuje kako se povećava deepoksidacija ksantofila. Vrijednosti PRI kreću se od -1 do 1, a izračunava se prema sljedećoj formuli:

$$PRI = \frac{(R_{531} - R_{570})}{(R_{531} + R_{570})}$$

gdje je:

R = refleksija svjetlosti

531, 570 = nanometri (nm) valne duljine

Više vrijednosti PRI indeksa ukazuju na dobru sposobnost biljaka da reguliraju fotosintezu i efikasno koriste apsorbiranu svjetlost. S druge strane, niže vrijednosti mogu signalizirati stres ili probleme u fotosintetskim procesima (Garbulska i sur., 2011.). PRI je koristan alat za praćenje zdravstvenog stanja biljaka u poljoprivredi. Može otkriti rane znakove stresa kod biljaka čak i prije nego što se pojave vidljivi simptomi, što omogućava pravovremenu intervenciju (Zhang i sur., 2016.).

Meroni i sur. (2008.) za cilj su imali detektirati stres u ranoj fazi pomoću PRI vegetacijskog indeksa. Za potrebe istraživanja, korištena je bijela djetelina (*Trifolium repens*). Tretirane biljke bile su izložene kroničnoj fumigaciji ozonom (O<sub>3</sub>) tijekom tri tjedna. Nakon izlaganja ozonu, biljke su pokazale smanjenu stopu fotosinteze u odnosu na kontrolu. Vrijednosti PRI

indeksa značajno su pale već nakon tri dana izlaganja ozonu, što sugerira da je PRI koristan pokazatelj za rano otkrivanje stresa kod biljaka.

Tafesse i sur. (2022.) istraživali su učinke toplinskog stresa na 24 sorte graška koji se međusobno razlikuju u koncentracijama lisnih pigmenata i voska. Cilj im je bio odrediti postoji li povezanost vegetacijskih indeksa s koncentracijom pigmenata i voska. Vegetacijski indeks PRI bio je veći kod sorata koje su imale tamnozeleno listove nego kod onih sa svijetlozelenim listovima. Stoga su uočili značajnu pozitivnu korelaciju između PRI i koncentracije klorofila.

De Santis i sur. (2022.) u istraživanju su koristili dvije sorte slanutka koje su uzgajali u poljskim uvjetima. Dio je bio navodnjavan, dok je drugi dio bio prepušten zalijevanju uz pomoć padalina. Vegetacijski indeks PRI značajno se razlikovao između tretmana zalijevanja navodnjavanjem i zalijevanja padalinama tijekom faze nalijevanja zrna. Brzina nalijevanja zrna pokazala je snažnu korelaciju s PRI indeksom.

Maalouf i sur. (2015.) su u istraživanju koristili 11 sorti boba koji su uzgajani u dva vodna režima (oborine i kontrolirano navodnjavanje) tijekom više godina. Mjerali su različite vegetacijske indekse, među njima i PRI vegetacijski indeks koji je pokazao značajno variranje među sortama i tretmanima navodnjavanja.

Rusakov i Kanash (2022.) su u istraživanju koristili četiri sorte jare pšenice otporne na sušu i četiri sorte osjetljive na sušu. PRI indeks se povećao kod svih sorti prilikom nedostatka vode. Na temelju rezultata, zaključeno je da se PRI indeks može koristiti za ranu detekciju deficita vode.

### 2.5.3. Suša i indeks refleksije flavonola (FRI)

Flavonoli su vrsta biljnih pigmenata koji sudjeluju u različitim fiziološkim procesima te su najzastupljeniji flavonoidi u biljkama. Biljke proizvode flavonole kao sekundarne metabolite u odgovoru na različite stresove iz okoliša, poput previsokog UV zračenja, suše, povećanog saliniteta, nedostatka hranjivih tvari i napada štetnika (Shomali i sur., 2022.).

Indeks refleksije flavonola (eng. *Flavonol Reflectance Index*, FRI) vegetacijski je indeks koji se često koristi za praćenje razina stresa kod biljaka. FRI se izračunava na temelju refleksije svjetlosti na specifičnim valnim duljinama gdje flavonoli pokazuju vrhunac apsorpcije. Usporedbom refleksije na tim valnim duljinama, moguće je procijeniti relativnu

koncentraciju flavonola u biljnim tkivima. Više vrijednosti FRI ukazuju na veću koncentraciju flavonola i često su povezane s povećanim razinama stresa kod biljaka. Praćenjem promjena u vrijednostima FRI, mogu se prepoznati rani znakovi stresa kod biljaka te poduzeti pravovremene mjere za ublažavanje potencijalne štete (Merzlyak i sur., 2005.; Solovchenko, 2010.).

Rusakov i Kanash (2022.) su istraživali nedestruktivne metode detekcije nedostatka vode prije pojave vidljivih simptoma. U svom istraživanju analizirali su vegetacijske indekse četiri sorte jare pšenice otporne na sušu i četiri sorte osjetljive na sušu. Promjene u FRI indeksu u sortama pšenice bile su povezane s dostupnošću vode. Veće povećanje PRI indeksa primijećeno je kod osjetljivih sorti pšenice pod tretmanom nedostatka vode. Zaključili su da stupanj promjene PRI indeksa može biti pouzdan pokazatelj stresa biljaka uzrokovanog nedostatkom vode.

### 3. Materijal i metode

#### 3.1. Biljni materijal

U istraživanju su korištene primke leguminoza iz Hrvatske banke biljnih genetskih izvora, radne skupine Krmno bilje (<https://cpgrd.hapih.hr/>). Korišteno je pet vrsta leguminoza: bob (*Vicia faba* L.), grašak (*Pisum sativum* L.), grah (*Phaseolus vulgaris* L.), slanutak (*Cicer arietinum* L.) i mungo grah (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) (Tablica 1).

Tablica 1. Primke leguminoza korištene u istraživanju

Broj primke	Vrsta	Ime primke	Godina prikupljanja uzorka	Država podrijetla
FOD00071	<i>Vicia faba</i> L.	Bob domaći 1	2012.	Hrvatska
FOD00167	<i>Pisum sativum</i> L.	Erbi	/	Njemačka
FOD00061	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	Trešnjevac	2012.	Hrvatska
FOD00067	<i>Cicer arietinum</i> L.	Istra slanutak 1	2012.	Hrvatska
FOD00063	<i>Vigna radiata</i> (L.) R. Wilczek	/	/	Hrvatska

Sjeme je bilo pohranjeno na Poljoprivrednom institutu Osijek u hladnoj komori na -18 °C, u pohranjenoj kolekciji leguminoza.

#### 3.2. Dizajn i opis istraživanja

Sjeme primki leguminoza tretirano je aktivnim ugljenom kako bi se uklonile sve nečistoće. Ovaj korak je ključan za osiguravanje čistoće sjemena i poboljšanje uvjeta za klijanje. Nakon tretmana aktivnim ugljenom, sjeme je namočeno u toploj destiliranoj vodi na temperaturi od 37 °C tijekom 8 sati. Cilj ovog postupka je utvrditi koje sjeme pokazuje znakove vijabilnosti, odnosno ima sposobnost klijanja i rasta. Ova metoda osigurava da se samo najzdravije i najkvalitetnije sjeme koristi za daljnju sjetvu.

Biljke su podijeljene u dva tretmana: kontrolnu skupinu i skupinu izloženu induciranoj suši. Za svaki tretman su korištene tri repeticije, pri čemu je svaka repeticija sadržavala po osam biljaka. Svaka repeticija je izražena kao prosjek četiri mjerenja s listova različitih biljaka.

Sjeme primki posijano je u plastične posude promjera 10 cm koje su napunjene tresetnim supstratom Brill typ 5. Sastav supstrata: 80 % crni treset, 20 % bijeli treset, dušik (N): 110 - 190 mg/L, fosfor (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>): 140 - 230 mg/L, kalij (K<sub>2</sub>O): 170 - 280 mg /L. pH (H<sub>2</sub>O) vrijednost supstrata iznosi 5,5 - 6,5.

Nakon procesa sjetve, plastične posude s biljkama premještene su na klijanje u klima komoru (ARALAB FitoClima 600, Rio de Mouro, Portugal) na Fakultetu agrobiotehničkih znanosti, Osijek (Slika 1). Klima komora omogućava preciznu kontrolu mikroklimatskih uvjeta, kao što su temperatura, vlažnost, svjetlost i strujanje zraka. Uvjeti i režim rada u klima komori prikazani su u Tablici 2 gdje su navedene vrijednosti koje su korištene za osiguranje optimalnog okruženja za klijanje.

Tablica 2. Kontrolirani uvjeti i režim rada u klima komori

	<b>Dan</b>	<b>Noć</b>
<b>Svjetlo (h)</b>	16	8
<b>Temperatura (°C)</b>	24±1	17±1
<b>Vlaga (%)</b>	65±5	75±5
<b>Strujanje zraka (%)</b>	10	0



Slika 1. Klijanje i početni rast biljaka u klima komori (Horvatović, M.)

Nakon što su biljke proklijale, premještene su na Poljoprivredni institut Osijek u prostoriju koja je nastavila osiguravati kontrolirane uvjete za daljnji rast i razvoj (Slika 2). Osvjetljenje je u ovoj prostoriji postignuto kombinacijom lampi za rast s hladnim bijelim svjetlom i lampi s plavim i crvenim spektrom (Sylvania GroLux, 36 W, Erlangen, Njemačka, 5572 K, PPFD  $\approx 216 \mu\text{mol/s/m}^2$ ), dok su ciklusi svjetla i tame upravljani timerom. Temperatura u prostoriji regulirana je pomoću dvije klima jedinice, koje su postavljene tako da osiguraju ravnomjernu raspodjelu temperature i spriječe nagle promjene temperature. Vlažnost zraka također je kontrolirana kako bi se osigurali optimalni uvjeti za rast biljaka. Održavanje vlažnosti postignuto je regulacijom vjetra i zalijevanjem biljaka. Biljke su svakodnevno primale 2 dL vode sve do faze rasta četiri lista. Nakon toga, zalijevanje biljaka u kontroli je nastavljeno, dok biljke u tretmanu sušom nisu zalijevane.





Slika 2. Razvijene biljke u prostoriji za rast na Poljoprivrednom institutu Osijek  
(Horvatić, M.)

Jednom tjedno je dodavana folijarna prihrana s tekućim gnojivom. Za prihranu je korišteno Terarossa univerzalno tekuće gnojivo. Sastav i koncentracija mikro- i makroelemenata gnojiva su: N (6 %),  $P_2O_5$  (6 %),  $K_2O$  (6 %), B (0,01 %), Cu (0,002 %), Fe (0,06 %), Mn (0,01 %), Mo (0,001 %), Zn (0,006 %). pH tekućeg gnojiva iznosi 4,0 - 7,5. Bolesti i štetnika nije bilo te nije bilo potrebe za tretiranjem.

Startno mjerenje svih tretmana provedeno je u fazi razvoja kada su biljke imale četiri lista, a podaci su zabilježeni kao preliminarni rezultati.

Mjerenja su izvršena trećeg i šestog dana od preliminarnog mjerenja na listovima koji su se nalazili na trećem i četvrtom koljencu, a bili su normalno razvijeni.

Rezultati mjerenja trećeg dana za kontrolu označeni su kao K3, dok su rezultati mjerenja tretmana suše trećeg dana označeni kao S3. Šestog dana, rezultati mjerenja za kontrolu i sušu označeni su kao K6 odnosno S6.

### 3.3. Određivanje relativnog sadržaja vode u listu

Za određivanje relativnog sadržaja vode (RWC) tkivo listova je izrezano na diskove promjera 5 mm te je odmah izvagano kako bi dobili svježiu masu listova (eng. *Fresh Weight*,  $W_{FW}$ ). Svježa masa listova iznosila je oko 1 g. Listovi su zatim natopljeni u destiliranoj vodi 24 h na sobnoj temperaturi kako bi došlo do potpunog zasićenja vodom. Listovi su ponovo izvagani (eng. *Turgid Weight*,  $W_{TW}$ ) te su zatim sušeni u sušioniku na 50 °C do postizanja konstantne težine. Nakon postizanja konstantne težine listovi su izvagani kako bi dobili masu suhe tvari (eng. *Dry Weight*,  $W_{DW}$ ). Rezultati su izraženi kao postotak (%) pomoću sljedeće formule:

$$RWC (\%) = (W_{FW} - W_{DW} / W_{TW} - W_{DW}) \times 100$$

### 3.4. Mjerenje koncentracije klorofila u listu

Procjena koncentracije klorofila obavljena je uz pomoć prijenosnog ručnog klorofilmetra MC-100 (Apogee Instruments, SAD). Koncentracija klorofila izražena je kao  $\mu\text{mol}$  klorofila po  $\text{m}^2$ .

### 3.5. Mjerenje provodljivosti puči

Provodljivost puči mjerena je pomoću prijenosnog porometra SC-1 (Decagon Devices, Inc, SAD) nakon što je kalibriran standardnom kalibracijskom pločom prema uputama proizvođača. Mjerenja su izvršena na abaksijalnoj strani lista.

### 3.6. Mjerenje vodnog potencijala supstrata

Kako bi se utvrdila razina suše uzimani su uzorci supstrata s 1 - 2 cm dubine i mjeran je vodni potencijal pomoću WP4C uređaja (Decagon Devices, Inc, SAD) po zadanom protokolu za brzo određivanja vodnog potencijala na temperaturi 38 °C.



### 3.7. Određivanje vegetacijskih indeksa

Vegetacijski indeks normalizirane razlike (NDVI), indeks fotokemijske refleksije (PRI) i indeks refleksije flavonola (FRI) mjereni su prijenosnim CI-710/720 mini listnim spektrometrom (CID- Bioscience, SAD) kao refleksija lista na valnim duljinama od 400 - 800 nm. Mjerenja su rađena u paralelama po svakoj biljci. Formule za izračun vegetacijskih indeksa prikazane su u Tablici 3.

Tablica 3. Formule korištene za izračun vegetacijskih indeksa

<b>Vegetacijski indeks</b>	<b>Formula</b>	
NDVI	$\text{NDVI} = \frac{\text{NIR} - \text{R}}{\text{NIR} + \text{R}}$	NIR - refleksija bliske infracrvene svjetlosti R - refleksija vidljive crvene svjetlosti
PRI	$\text{PRI} = \frac{(\text{R}_{531} - \text{R}_{570})}{(\text{R}_{531} + \text{R}_{570})}$	R - refleksija svjetlosti 531, 570 - valne duljine (nm)
FRI	$\text{FRI} = [(1/\text{R}_{410}) - (1/\text{R}_{460})] \times \text{R}_{800}$	R - refleksija svjetlosti 410, 460, 800 - valne duljine (nm)

### 3.8. Statistička obrada podataka

Prikupljeni podaci statistički su obrađeni u softverskom paketu GenStat Release 9.1. (Rothamsted Experimental Station). Analiza varijance napravljena je po nested obliku tj. hijerarhijskom modelu gdje se utvrđuju razlike između vrsta pa onda razlike unutar vrsta prema tretmanu i intenzitetu. Nakon analize varijance korišten je *post hoc* LSD test ( $p \leq 0,05$ ) kako bi se utvrdila statistički značajna razlika između ispitivanih primki. Za utvrđivanje jačine i smjera veza između zavisnih i nezavisnih varijabli napravljena je Pearsonova korelacija. Pearsonova korelacija napravljena je u računalnom programu STAR 2.0.1 (Statistical Tool for Agricultural Research).

## 4. Rezultati

### 4.1. Analiza varijance

Provedena je ugnježdjena (*nested*) analiza varijance za svojstva koncentracije klorofila, provodljivosti puči, relativni sadržaj vode, NDVI, PRI i FRI indeks. Utvrđen je statistički značajan utjecaj ( $p < 0,01$ ) uzorka (primke) i interakcije uzorak x tretman na koncentraciju klorofila, provodljivost puči, relativni sadržaj vode, PRI i FRI indeks. Također, utvrđen je statistički značajan utjecaj ( $p < 0,05$ ) uzorka i interakcije uzorak x tretman ( $p < 0,01$ ) na NDVI indeks.

Tablica 4. Rezultati analize varijance

Izvor variranja	Klorofil	Provodljivost puči	Relativni sadržaj vode	NDVI	PRI	FRI
Uzorak	**	**	**	*	**	**
Uzorak x tretman	**	**	**	**	**	**

(\* značajno na razini  $p < 0,05$ ; \*\* značajno na razini  $p < 0,01$ )

### 4.2. Koncentracija klorofila

Prosječna koncentracija klorofila svih uzoraka iznosila je  $310,9 \mu\text{mol}/\text{m}^2$ . Najveću prosječnu koncentraciju klorofila imao je slanutak ( $367,2 \mu\text{mol}/\text{m}^2$ ), dok je najmanju imao grah ( $270,7 \mu\text{mol}/\text{m}^2$ ).

Statistički značajna razlika ( $\text{LSD}_{0,05}$ ) u prosječnoj koncentraciji klorofila utvrđena je između uzoraka graha i slanutka, graška i slanutka, slanutka i mungo graha, boba i graha, boba i graška, boba i mungo graha te boba i slanutka (Tablica 5).

Statistički značajna razlika ( $\text{LSD}_{0,05}$ ) u koncentraciji klorofila utvrđena je kod slanutka između tretmana K3 i S3 te K6 i S6. Koncentracija klorofila kod slanutka povećala se u tretmanu S3 za 24,9 %, a u tretmanu S6 za 21,6 % u odnosu na kontrolu. Kod svih ostalih uzoraka koncentracija klorofila se povećala u tretmanima S3 i S6, ali ne statistički značajno. Najveća prosječna koncentracija klorofila utvrđena je u tretmanu S6, a iznosila je  $344,24 \mu\text{mol}/\text{m}^2$ .

Tablica 5. Rezultati koncentracije klorofila između različitih uzoraka i tretmana

<b>KLOROFIL (<math>\mu\text{mol}/\text{m}^2</math>)</b>					
<b>Uzorak</b>	<b>Tretman</b>				<b>Prosjek</b>
	<b>K3</b>	<b>K6</b>	<b>S3</b>	<b>S6</b>	
<b>Bob</b>	315,4	338,1	333,5	378,0	341,3
<b>Grašak</b>	244,5	287,5	285,7	316,4	283,5
<b>Grah</b>	257,1	272,1	274,8	278,6	270,7
<b>Slanutak</b>	300,4	337,8	399,8	430,8	367,2
<b>Mungo grah</b>	251,6	325,4	273,6	317,4	292,0
<b>Prosjek</b>	273,8	312,18	313,48	344,24	310,9
LSD <sub>0,05</sub> (uzorak x tretman) = 48,1      LSD <sub>0,05</sub> (uzorak) = 24,1					

#### 4.3. Provodljivost puči

Prosječna provodljivost puči svih uzoraka iznosila je 172,2 mmol. Najveću prosječnu provodljivost puči imao je slanutak (177 mmol), dok je najmanju imao grašak (121,7 mmol).

Statistički značajna razlika (LSD<sub>0,05</sub>) u prosječnoj provodljivosti puči utvrđena je između uzoraka graška i slanutka, graška i mungo graha, graška i graha, boba i slanutka, graha i slanutka te boba i graška (Tablica 6).

Utvrđena je statistički značajna razlika (LSD<sub>0,05</sub>) u provodljivosti puči između tretmana K3 i S3 kod svih uzoraka osim graška, dok je između tretmana K6 i S6 utvrđena statistički značajna razlika u provodljivosti puči kod svih uzoraka.

Najveće smanjenje provodljivosti puči između tretmana K3 i S3 i tretmana K6 i S6 imao je bob (za 82,9 %, odnosno 86,3 %). Jedino je kod graška došlo do blagog povećanja provodljivosti puči između tretmana K3 i S3. Najmanja prosječna provodljivost puči bila je u tretmanu S6 (47,8 mmol).

Tablica 6. Rezultati provodljivosti puči između različitih uzoraka i tretmana

<b>PROVODLJIVOST PUČI (mmol)</b>					
<b>Uzorak</b>	<b>Tretman</b>				<b>Prosjek</b>
	<b>K3</b>	<b>K6</b>	<b>S3</b>	<b>S6</b>	
<b>Bob</b>	268,6	297,6	45,8	40,7	163,2
<b>Grašak</b>	105,3	237,5	107,8	36,3	121,7
<b>Grah</b>	244,3	279,2	137,0	47,3	177,0
<b>Slanutak</b>	308,6	309,6	177,2	70,7	216,5
<b>Mungo grah</b>	282,2	243,6	160,8	44,5	182,8
<b>Prosjek</b>	241,8	273,5	125,72	47,9	172,2
LSD <sub>0,05</sub> (uzorak x tretman) = 71,71      LSD <sub>0,05</sub> (uzorak) = 35,85					

#### 4.4. Relativni sadržaj vode

Prosječni relativni sadržaj vode svih uzoraka iznosio je 78,77 %. Najveći prosječni relativni sadržaj vode imao je grašak (85,27 %), dok je najmanji imao slanutak (68,97 %).

Statistički značajna razlika (LSD<sub>0,05</sub>) u prosječnom relativnom sadržaju vode utvrđena je između uzoraka graška i slanutka, graha i slanutka, mungo graha i slanutka, boba i slanutka, boba i graška te mungo graha i graška (Tablica 7).

Utvrđena je statistički značajna razlika (LSD<sub>0,05</sub>) u relativnom sadržaju vode između tretmana K3 i S3 kod boba, graška i mungo graha, dok je između tretmana K6 i S6 utvrđena statistički značajna razlika u relativnom sadržaju vode kod svih uzoraka, osim boba. Kod svih uzoraka u S3 i S6 tretmanima došlo je do smanjenja relativnog sadržaja vode u odnosu na kontrolu.

Najveće smanjenje relativnog sadržaja vode između tretmana K3 i S3 imao je mungo grah (za 20,9 %), dok je najveće smanjenje relativnog sadržaja vode između tretmana K6 i S6 imao grah (za 23,3 %). Najmanji prosječni relativni sadržaj vode utvrđen je u tretmanu S6 (70,97 %).

Tablica 7. Rezultati relativnog sadržaja vode između različitih uzoraka i tretmana

<b>Relativni sadržaj vode (%)</b>					
<b>Uzorak</b>	<b>Tretman</b>				<b>Prosjek</b>
	<b>K3</b>	<b>K6</b>	<b>S3</b>	<b>S6</b>	
<b>Bob</b>	79,70	80,92	68,96	80,02	77,40
<b>Grašak</b>	93,01	90,59	79,96	77,53	85,27
<b>Grah</b>	88,02	89,03	82,29	68,27	81,91
<b>Slanutak</b>	76,95	72,12	68,95	57,84	68,97
<b>Mungo grah</b>	89,35	90,04	70,60	71,20	80,30
<b>Prosjek</b>	85,40	84,54	74,15	70,97	78,77
LSD <sub>0,05</sub> (uzorak x tretman) = 9,694      LSD <sub>0,05</sub> (uzorak) = 4,847					

#### 4.5. Indeks normalizirane razlike (NDVI)

Prosječni NDVI indeks svih uzoraka iznosio je 0,6344. Najveći prosječni NDVI indeks imao je grah (0,6580), dok je najmanji imao bob (0,6026).

Statistički značajna razlika (LSD<sub>0,05</sub>) u NDVI indeksu utvrđena je između uzoraka boba i graha, boba i graška te boba i slanutka (Tablica 8).

Utvrđeno je statistički značajno smanjenje (LSD<sub>0,05</sub>) NDVI indeksa kod graška između tretmana K6 i S6 (za 9,6 %).

Tablica 8. Rezultati NDVI indeksa između različitih uzoraka i tretmana

<b>NDVI</b>					
<b>Uzorak</b>	<b>Tretman</b>				<b>Prosjek</b>
	<b>K3</b>	<b>K6</b>	<b>S3</b>	<b>S6</b>	
<b>Bob</b>	0,5304	0,6860	0,5336	0,6606	0,6026
<b>Grašak</b>	0,5333	0,7596	0,6026	0,6865	0,6455
<b>Grah</b>	0,5842	0,7635	0,5379	0,7462	0,6580
<b>Slanutak</b>	0,5426	0,7174	0,5967	0,7084	0,6412
<b>Mungo grah</b>	0,4798	0,7270	0,5274	0,7645	0,6247
<b>Prosjek</b>	0,53406	0,7307	0,55964	0,71324	0,6344
LSD <sub>0,05</sub> (uzorak x tretman) = 0,06931      LSD <sub>0,05</sub> (uzorak) = 0,03466					

#### 4.6. Indeks fotokemijske refleksije (PRI)

Prosječni PRI indeks svih uzoraka iznosio je 0,05924. Najveći prosječni PRI indeks imao je grašak (0,06957), dok je najmanji imao bob (0,04887).

Statistički značajna razlika ( $LSD_{0,05}$ ) u PRI indeksu utvrđena je međusobno između svih uzoraka (Tablica 9).

Utvrđena je statistički značajna razlika ( $LSD_{0,05}$ ) u PRI indeksu između tretmana K3 i S3 kod boba i graška, dok je između tretmana K6 i S6 utvrđena statistički značajna razlika kod graha i mungo graha.

Tablica 9. Rezultati PRI indeksa između različitih uzoraka i tretmana

<b>PRI</b>					
<b>Uzorak</b>	<b>Tretman</b>				<b>Prosjek</b>
	<b>K3</b>	<b>K6</b>	<b>S3</b>	<b>S6</b>	
<b>Bob</b>	0,04550	0,05303	0,03857	0,05838	0,04887
<b>Grašak</b>	0,05419	0,07582	0,06818	0,08007	0,06957
<b>Grah</b>	0,04375	0,07663	0,04853	0,08715	0,06401
<b>Slanutak</b>	0,05691	0,05191	0,05317	0,05137	0,05334
<b>Mungo grah</b>	0,04559	0,07018	0,04210	0,08373	0,06040
<b>Prosjek</b>	0,049188	0,065514	0,05011	0,07214	0,05924
LSD <sub>0,05</sub> (uzorak x tretman) = 0,006435    LSD <sub>0,05</sub> (uzorak) = 0,003217					

#### 4.7. Indeks refleksije flavonola (FRI)

Prosječni FRI indeks svih uzoraka iznosio je 0,5716. Najveći prosječni FRI indeks imao je slanutak (0,7210), dok je najmanji imao mungo grah (0,4503).

Statistički značajna razlika ( $LSD_{0,05}$ ) u FRI indeksu utvrđena je između uzoraka slanutka i mungo graha, graha i slanutka, boba i slanutka, graška i slanutka, graška i mungo graha, boba i mungo graha te graha i mungo graha (Tablica 10).

Utvrđena je statistički značajna razlika ( $LSD_{0,05}$ ) u FRI indeksu između tretmana K3 i S3 kod graha, dok je između tretmana K6 i S6 utvrđena statistički značajna razlika kod svih uzoraka.

Najveće povećanje FRI indeksa između tretmana K6 i S6 imao je slanutak (za 45,11 %). Najveći prosječni FRI indeks utvrđen je u tretmanu S6 te iznosi 0,79472.

Tablica 10. Rezultati FRI indeksa između različitih uzoraka i tretmana

<b>FRI</b>					
<b>Uzorak</b>	<b>Tretman</b>				<b>Prosjek</b>
	<b>K3</b>	<b>K6</b>	<b>S3</b>	<b>S6</b>	
<b>Bob</b>	0,5379	0,5153	0,4805	0,7231	0,5642
<b>Grašak</b>	0,4089	0,5947	0,4834	0,7974	0,5711
<b>Grah</b>	0,3482	0,4943	0,4621	0,9005	0,5513
<b>Slanutak</b>	0,6444	0,6486	0,7080	0,8831	0,7210
<b>Mungo grah</b>	0,3159	0,5171	0,2989	0,6695	0,4503
<b>Prosjek</b>	0,45106	0,554	0,48658	0,79472	0,5716
LSD <sub>0,05</sub> (uzorak x tretman) = 0,09546      LSD <sub>0,05</sub> (uzorak) = 0,04773					

#### 4.8. Vodni potencijal (MPa) supstrata

Najveći prosječni vodni potencijal je imao K0 tretman, dok je najmanji imao S6. Može se uočiti trend smanjenja vodnog potencijala s produljenjem trajanja suše (Tablica 11).

Tablica 11. Rezultati vodnog potencijala (MPa) između različitih uzoraka i tretmana

<b>Vodni potencijal (MPa) supstrata</b>					
<b>Uzorak</b>	<b>Tretman</b>				
	<b>K0</b>	<b>K3</b>	<b>K6</b>	<b>S3</b>	<b>S6</b>
<b>Bob</b>	0,15	0,19	0,19	-0,21	-1,63
<b>Grah</b>	0,14	0,08	0,07	-0,82	-5,01
<b>Grašak</b>	0,34	0,17	0,27	-0,5	-1,88
<b>Slanutak</b>	0,26	0,27	0,29	-0,37	-1,18
<b>Mungo grah</b>	0,32	0,01	0,01	-0,82	-1,44
<b>Prosjek</b>	0,24	0,15	0,17	-0,55	-2,23

#### 4.9. Korelacijska analiza

Za utvrđivanje veza između zavisnih i nezavisnih varijabli korišten je Pearsonov koeficijent korelacije. Vodni potencijal supstrata (MPa) imao je jaku pozitivnu korelaciju s provodljivošću puči, dok je s FRI indeksom imao jaku negativnu korelaciju. Klorofil je imao slabu negativnu korelaciju s provodljivošću puči te umjerenu pozitivnu korelaciju s FRI indeksom, dok je s RWC-om imao umjerenu negativnu korelaciju. Provodljivost puči je imala najveću negativnu korelaciju s FRI indeksom te je ona bila umjerena, dok je s RWC-om imala slabu pozitivnu korelaciju. RWC je imao umjerenu negativnu korelaciju s FRI indeksom. NDVI je imao jaku pozitivnu korelaciju s PRI indeksom i umjerenu pozitivnu s FRI indeksom, dok je PRI indeks imao umjerenu pozitivnu korelaciju s FRI indeksom (Tablica 12).

Tablica 12. Pearsonov koeficijent korelacije i *p*-vrijednosti za ispitivane parametre

<b>MPa</b>	1	0,418	0,000	0,001	0,001	0,000	0,000
<b>Klorofil</b>	-0,0949	1	0,012	0,000	0,053	0,891	0,000
<b>Provodljivost puči</b>	0,6349	-0,2870	1	0,013	0,001	0,028	0,000
<b>RWC</b>	0,3977	-0,5105	0,3676	1	0,691	0,392	0,000
<b>NDVI</b>	-0,3783	0,2240	-0,1585	-0,0466	1	0,000	0,000
<b>PRI</b>	-0,4749	-0,0162	-0,2528	0,1003	0,6765	1	0,000
<b>FRI</b>	-0,6009	0,5849	-0,4570	-0,4567	0,5846	0,5341	1
	<b>MPa</b>	<b>Klorofil</b>	<b>Provodljivost puči</b>	<b>RWC</b>	<b>NDVI</b>	<b>PRI</b>	<b>FRI</b>

( $p < 0,05$  statistički značajno,  $p < 0,01$  statistički visoko značajno)



## 5. Rasprava

Suša je prisutna u svim područjima i smatra se najštetnijim abiotičkim stresom. Čak i kratki nedostatak vode dovodi do značajnih gubitaka u prinosima usjeva. Zbog klimatskih promjena predviđa se da će se učestalost i trajanje sušnih razdoblja povećati (Shao i sur., 2009.). Suša utječe na sve bitne fiziološke i razvojne procese biljaka, kao što su fotosinteza, stanično disanje i unos hranjivih tvari (Wang i sur., 2016.).

Kada se proučava otpornost biljaka na sušu, praćenje razine i početak nedostatka vode predstavlja značajan problem. Proučavanje suše je složen proces koji uzima u obzir vodni status biljke i dostupnu vodu u tlu. Stoga su dizajn pokusa i kontinuirana mjerenja od iznimne važnosti za određivanje stresa uzrokovanog sušom i njegovog učinka na fiziološke promjene kod biljaka (Javornik i sur., 2023.).

Kod većine biljnih vrsta, nedostatak vode uzrokuje degradaciju tilakoidne membrane unutar kloroplasta, negativno utječući na klorofil i druge fotosintetske pigmente. Kao posljedica stresa, smanjuje se brzina fotosinteze, lisna površina i u konačnici prinos. Suša općenito dovodi do nižeg ukupnog sadržaja klorofila i promijenjenog udjela klorofila a/b. (Muhammad i sur., 2021.).

U provedenom istraživanju kod slanutka je došlo do značajnog povećanja koncentracije klorofila u sušnim uvjetima, dok se kod ostalih vrsta koncentracija klorofila blago povećala. Stoga možemo zaključiti da sposobnost održavanja koncentracije klorofila varira ovisno o vrsti te trajanju stresa. Biljke koje održavaju višu koncentraciju klorofila tijekom suše učinkovitije koriste svjetlosnu energiju, što moguće ukazuje na veću otpornost na sušu (Li i sur., 2006.). Prema Avramova i sur. (2015.) zadržavanje klorofila maksimizira oporavak fotosinteze prilikom rehidracije, stoga biljke i vrste koje održavaju koncentraciju klorofila višom u sušnim uvjetima mogu imati bolju sposobnost oporavka od stresa. Slični odgovori povećanja koncentracije klorofila tijekom suše prethodno su opisani u listovima kukuruza (Avramova i sur., 2015.) i ječma (Hasanuzzaman i sur., 2017.). Također, povećana koncentracija klorofila pod stresom uzrokovanog sušom može biti povezana sa smanjenjem lisne površine, što je jedan od obrambenih mehanizama za smanjenje štetnih učinaka stresa od suše. Stoga je jedno od mogućih objašnjenja povećanja koncentracije klorofila u listovima pod stresom od suše da se lisna površina biljaka smanjila, a debljina listova povećala, uzrokujući više klorofila po jedinici površine. Deblje lišće pogođeno sušom ima veću gustoću kloroplasta po jedinici lisne površine, što bi mogao biti odgovor biljke na stres od

suše. Sposobnost održavanja gustoće klorofila u uvjetima suše predložena je kao važna stavka mehanizma otpornosti na sušu te se može koristiti kao mjera tolerancije na sušu (Farooq i sur., 2009.).

Odgovori biljaka na stres od suše vrlo su složeni i uključuju razne adaptivne promjene. Suša utječe na status vode u biljkama. Kontrola otvaranja puči glavni je fiziološki mehanizam za optimizaciju korištenja vode. Kako voda postaje manje dostupna u tlu, biljka smanjuje transpiracijski gubitak vode smanjujući otvor puči (Vadez i sur., 2014.).

U našem istraživanju sve su biljke imale znatno smanjenu provodljivost puči tijekom suše što ukazuje da je došlo do zatvaranja puči kao odgovor na stres. Ovi rezultati su u skladu s ostalim istraživanjima gdje se provodljivost puči također smanjila već nakon kratkog izlaganja suši (Belachew i sur., 2019.; Cruz i sur., 1998.; Amede i Schubert, 2003.). Smanjena provodljivost puči dovodi do smanjenja stope transpiracije, povećanja sadržaja vode u listovima, te u konačnici do očuvanja vlage u tlu (Habermann i sur., 2019.). Iako je rano zatvaranje puči jedan od mehanizama kojim se biljke nose sa stresom izazvanim sušom, ono često proizlazi iz nemogućnosti korijena da pristupi vlazi iz tla (Tuberosa, 2012.). No različite vrste mahunarki imaju različitu sposobnost kontrole gubitka vode kroz puči. Kod nekih sorata kikirikija i duge vigne dolazi do brzog zatvaranja puči tijekom suše, čime sprječavaju gubitak vode, dok druge sorte mogu duže održavati otvorene puči čime održavaju veće stope izmjene plinova i fiksacije ugljikova dioksida (Devi i sur., 2009.; Belko i sur., 2012.). Stoga se razlike u provodljivosti puči mogu pripisati njihovoj individualnoj prilagodbi na uvjete okoliša i međusobnim razlikama u fiziologiji.

Poznato je da status vode u listovima utječe na provodljivost puči te da postoji korelacija između vodnog potencijala lista i provodljivosti puči tijekom suše (Giorio i sur., 1999.). Naši su rezultati pokazali pozitivnu korelaciju između provodljivosti puči i vodnog potencijala tla, što sugerira postojanje signalizacije korijen-list, koja kontrolira provodljivost puči u ovisnosti o dostupnosti vode. U skladu s našim rezultatima Giorio i sur. (1999.) su također zabilježili pozitivnu korelaciju između provodljivosti puči i vlažnosti tla.

Relativni sadržaj vode (RWC) pokazatelj je stupnja hidratacije biljaka, te predstavlja koristan parametar za određivanje fiziološkog statusa vode u biljkama (Gonzales i Gonzales-Vilar, 2001.). Visoki relativni sadržaj vode i nizak gubitak vode transpiracijom povezani su s otpornošću na sušu (Keles i Öncel, 2004.). Također je uočeno da sorte s većim relativnim sadržajem vode imaju veću stopu fotosinteze pod stresom od suše (Siddique i sur., 2000.).

Naši rezultati pokazuju da se relativni sadržaj vode značajno smanjio tijekom suše, što je u skladu sa ostalim istraživanjima gdje se relativni sadržaj vode također smanjio pod utjecajem suše (Siddiqui i sur., 2015.; Talebi i sur., 2013.; Ghanbari i sur., 2013.). Iako se relativni sadržaj vode smanjio kod svih biljaka, bob i grašak su uspjeli održati relativni sadržaj vode višim nego ostale biljke nakon šest dana suše. Razlike u relativnom sadržaju vode između biljaka mogu biti zbog različite sposobnosti apsorpcije vode iz tla ili sposobnost puči da smanje gubitak vode (Keyvan, 2010.). Prema Bayoumi i sur. (2008.) biljke koje održavaju viši relativni sadržaj vode pod stresom od suše su tolerantnije i imaju veći prinos. Također, primijećeno je da bob i grašak koji su imali najveći sadržaj vode imaju najmanju provodljivost puči tijekom suše, dok slanutak i grah koji su imali najmanji sadržaj vode imaju veću provodljivost puči tijekom suše. Ovi rezultati upućuju da postoji izravna povezanost između relativnog sadržaja vode i provodljivosti puči. Još jedan od mogućih razloga zašto su bob i grašak imali manju provodljivost puči je da je došlo do povećanja sloja voska na površini lista. Epikutikularni voštani sloj lista kontrolira protok vode kroz kutikulu te pomaže smanjiti gubitak vode transpiracijom što omogućava biljci da zadrži vlagu i preživi nepovoljne uvjete. Sánchez i sur. (2001.). su u svom istraživanju primijetili da dolazi do povećanja debljine sloja voska na površini lista graška tijekom suše. Također, u istraživanju smo dobili negativnu korelaciju između relativnog sadržaja vode i koncentracije klorofila. Smanjenjem relativnog sadržaja vode uočeno je da se koncentracija klorofila povećala što bi mogao biti zaštitni mehanizam biljke protiv nedostatka vode. Rezultati istraživanja su u skladu s istraživanjem González-Espíndola i sur. (2024.) gdje se relativni sadržaj vode tijekom suše smanjio, a ukupna koncentracija klorofila povećala.

Mjerenje vegetacijskih indeksa pomoću multispektralnih senzora predstavlja brzu i nedestruktivnu metodu koja se koristi za procjenu abiotičkih i biotičkih stresova kod biljaka. Vegetacijski indeksi usko su povezani sa strukturom biljke, pigmentima i fotosintetskom učinkovitošću te se stoga mogu koristiti za procjenu posljedica nedostatka vode na biljke (Sobejano-Paz i sur., 2020.).

Vegetacijski indeks normalizirane razlike (NDVI) najčešće je korišten vegetacijski indeks, a izračunava se kao omjer spektralne refleksije u bliskom infracrvenom i crvenom području. Ovaj indeks koristan je za neizravno praćenje utjecaja nedostatka vode na rast biljaka, s obzirom da je svjetlost koju biljka reflektira u crvenom i bliskom infracrvenom spektru usko povezana s količinom zelene biomase (Yahas i Scuderi, 2009.).

NDVI indeks se značajno smanjio šestog dana suše kod graška, dok kod ostalih biljaka suša nije utjecala na NDVI indeks. Biljke pod stresom pokazuju promjene u spektralnim odgovorima te je stoga do smanjenja NDVI indeksa kod graška moglo doći zbog smanjenja lisne površine, povećane starosti lista, promjene u fotosintetskoj aktivnosti ili poremećaja u strukturi lista uzorkovanom sušom (Tavares i sur., 2022.). U istraživanju Tavares i sur. (2022.) kod svih sorata soje došlo je do smanjenja NDVI indeksa pod stresom od suše te su primijetili da sorte koje imaju niži NDVI indeks pokazuju manji fotosintetski kapacitet. NDVI je također koristan alat za predviđanje prinosa kod soje i graha stoga može biti koristan alat za selekciju u oplemenjivačkim programima (Ma i sur., 2001.; Gutiérrez Rodríguez i sur., 2006.).

Indeks fotokemijske refleksije (PRI) je vegetacijski indeks pomoću kojeg se mogu primijetiti varijacije u putovima disipacije viška energije do kojih dolazi kada fotosinteza opada u biljkama izloženih stresu (Meroni i sur., 2008.). PRI vrijednost je u korelaciji sa deepoksidacijom u ksantofilskom ciklusu, stoga je PRI dobar pokazatelj fotosintetske učinkovitosti te se često koristi u istraživanjima produktivnosti biljaka prilikom stresa (Garbulsky i sur., 2011.). Smanjenje PRI indeksa uočeno je jedino kod bobica trećeg dana suše, što ukazuje da je došlo do smanjenja fotosintetske aktivnosti i aktiviranja ksantofilskog ciklusa kako bi se zaštitio fotosintetski aparat od viška apsorbirane energije (Meroni i sur., 2008.). Ostale biljke nisu pokazale smanjenje PRI indeksa tijekom suše, što sugerira da kod njih nije došlo do značajnih promjena u fotosintetskoj aktivnosti tijekom suše.

Flavonoli predstavljaju skupinu flavonoida koji igraju važnu ulogu u obrambenom mehanizmu biljaka suočenih sa stresom uzrokovanim sušom. Kada su biljke izložene uvjetima suše, dolazi do smanjenja dostupnosti vode, što rezultira oksidativnim stresom i oštećenjem stanica. Flavonoli djeluju kao antioksidansi, pomažući u neutralizaciji štetnih reaktivnih kisikovih vrsta koje se nakupljaju uslijed stresa izazvanog sušom (Daryanavard i sur., 2023). Indeks refleksije flavonola (FRI) vegetacijski je indeks koji se koristi za određivanje koncentracije flavonola u listovima biljaka (Solovchenko, 2010.). U našem istraživanju FRI indeks značajno se povećao kod graha već nakon trećeg dana suše, što ukazuje da je došlo do rane aktivacije antioksidacijskog sustava kao odgovor na stres. Nakon šestog dana suše, FRI indeks se povećao kod svih ostalih biljaka. Ovi rezultati upućuju na zaključak da su biljke, kroz značajno povećanje razine flavanola, bile izložene stresu, što je potaknulo aktivaciju njihovog obrambenog antioksidacijskog sustava. Također, povećanje FRI indeksa može biti pokazatelj smanjene učinkovitosti fotosinteze tijekom suše (Rusakov

i Kanash, 2022.). Naši rezultati su u skladu s rezultatima istraživanja Rusakov i Kanash (2022.) gdje je došlo do značajnog povećanja FRI indeksa kod pšenice već nakon kratkotrajnog izlaganja suši. Također, utvrdili su da je FRI obrnuto proporcionalan WBI indeksu (eng. *Water Band Index*). WBI indeks spektralni je indeks koji se koristi za procjenu sadržaja vode u biljkama. Ovaj rezultat ukazuje na mogući razlog zašto je slanutak u našem istraživanju imao najveće povećanje FRI indeksa nakon šest dana suše, budući da je tada imao najniži sadržaj vode.

Istraživanjem je potvrđeno da postoje razlike u odgovoru na sušni stres između različitih vrsta leguminoza. Različite vrste su pokazale specifične promjene u odgovoru na sušu i razlikovale su se u svim ispitivanim vegetacijskim parametrima, što ukazuje da postoje značajne razlike u njihovim adaptivnim odgovorima.

## 6. Zaključak

Na temelju provedenog istraživanja, s ciljem utvrđivanja odgovora različitih vrsta leguminoza na kratkotrajne uvjete sušnog stresa može se zaključiti sljedeće:

- Utvrđen je statistički značajan utjecaj ( $p < 0,01$ ) uzorka (primke) i interakcije uzorak x tretman na koncentraciju klorofila, provodljivost puči, relativni sadržaj vode, PRI i FRI indeks.
- Utvrđen je statistički značajan utjecaj ( $p < 0,05$ ) uzorka i interakcije uzorak x tretman ( $p < 0,01$ ) na NDVI indeks.
- Zabilježeno je statistički značajno povećanje koncentracije klorofila kod slanutka pri sušnim uvjetima.
- Prilikom suše generalno je došlo do smanjenja provodljivosti puči i relativnog sadržaja vode kod svih ispitivanih vrsta leguminoza.
- Zabilježeno je statistički značajno smanjenje NDVI indeksa kod graška pri sušnim uvjetima.
- Zabilježeno je statistički značajno smanjenje PRI indeksa kod boba i graška trećeg dana suše te graha i mungo graha šestog dana suše.
- Prilikom suše generalno je došlo do povećanja koncentracije flavonola kod svih ispitivanih vrsta leguminoza.
- Bob je pokazao superiornija svojstva u sušnim uvjetima u odnosu na druge vrste leguminoza, te može služiti kao vrijedna kultura za poljoprivrednu proizvodnju u uvjetima suše.

## 7. Popis literature

Amede, T., Schubert, S. (2003.): Mechanisms of drought resistance in grain: II Stomatal regulation and root growth. *SINET: Ethiopian Journal of Science*, 26(2): 137-144.

Anjum, S. A., Ashraf, U., Zohaib, A., Tanveer, M., Naeem, M., Ali, I. (2017.): Growth and development responses of crop plants under drought stress: a review. *Zemdirbyste-Agriculture*, 104(3): 267–276.

Arabshahi, M., Mobasser, H. R. (2017.): Effect of drought stress on carotenoid and chlorophyll contents and osmolyte accumulation. *Chem. Res. J*, 2(3): 193-197.

Arshad, M., Feyissa, B. A., Amyot, L., Aung, B., Hannoufa, A. (2017.): MicroRNA156 improves drought stress tolerance in alfalfa (*Medicago sativa*) by silencing SPL13. *Plant science*, 258: 122-136.

Avramova, V., AbdElgawad, H., Zhang, Z., Fotschki, B., Casadevall, R., Vergauwen, L., Beemster, G. T. (2015.): Drought induces distinct growth response, protection, and recovery mechanisms in the maize leaf growth zone. *Plant physiology*, 169(2): 1382-1396.

Bagheri, M., Santos, C. S., Rubiales, D., Vasconcelos, M. W. (2023.): Challenges in pea breeding for tolerance to drought: Status and prospects. *Annals of Applied Biology*, 183(2): 108-120.

Baldocchi, D. D., Xu, L., Kiang, N. (2004.): How plant functional-type, weather, seasonal drought, and soil physical properties alter water and energy fluxes of an oak–grass savanna and an annual grassland. *Agricultural and Forest Meteorology*, 123(1-2): 13-39.

Batra, N. G., Sharma, V., Kumari, N. (2014.): Drought-induced changes in chlorophyll fluorescence, photosynthetic pigments, and thylakoid membrane proteins of *Vigna radiata*. *Journal of Plant Interactions*, 9(1): 712-721.

Bayoumi, T. Y., Eid, M. H., Metwali, E. M. (2008.): Application of physiological and biochemical indices as a screening technique for drought tolerance in wheat genotypes. *African Journal of Biotechnology*, 7(14).

Beebe, S., Ramirez, J., Jarvis, A., Rao, I. M., Mosquera, G., Bueno, J. M., Blair, M. W. (2011.): Genetic improvement of common beans and the challenges of climate change. *Crop adaptation to climate change*, 356-369.

- Belachew, K. Y., Nagel, K. A., Poorter, H., Stoddard, F. L. (2019.): Association of shoot and root responses to water deficit in young faba bean (*Vicia faba* L.) plants. *Frontiers in plant science*, 10: 1063.
- Belko, N., Zaman-Allah, M., Cisse, N., Diop, N. N., Zombre, G., Ehlers, J. D., Vadez, V. (2012.): Lower soil moisture threshold for transpiration decline under water deficit correlates with lower canopy conductance and higher transpiration efficiency in drought-tolerant cowpea. *Functional Plant Biology*, 39(4): 306-322.
- Björkman, O., Demmig-Adams, B. (1995.): Regulation of photosynthetic light energy capture, conversion, and dissipation in leaves of higher plants. In *Ecophysiology of photosynthesis* (pp. 17-47). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Bugarin, N. (2022.): Daljinska istraživanja i računalni vid u analizi slika voćnjaka prikupljenih bespilotnom letjelicom, Kvalifikacijski ispit, Sveučilište u Splitu, Fakultet elektrotehnike, strojarstva i brodogradnje.
- Buitenwerf, R., Kulmatiski, A., Higgins, S. I. (2014.): Soil water retention curves for the major soil types of the Kruger National Park. *Koedoe: African Protected Area Conservation and Science*, 56(1): 1-9.
- Crusiol, L. G. T., Carvalho, J. D. F. C., Sibaldelli, R. N. R., Neiverth, W., do Rio, A., Ferreira, L. C., Farias, J. R. B. (2017.): NDVI variation according to the time of measurement, sampling size, positioning of sensor and water regime in different soybean cultivars. *Precision agriculture*, 18: 470-490.
- Cruz, D. C. M., Laffray, D., Louguet, P. (1998.): Comparison of the physiological responses of *Phaseolus vulgaris* and *Vigna unguiculata* cultivars when submitted to drought conditions. *Environmental and Experimental Botany*, 40(3): 197-207.
- Daryanavard, H., Postiglione, A. E., Mühlemann, J. K., Muday, G. K. (2023.): Flavonols modulate plant development, signaling, and stress responses. *Current opinion in plant biology*, 72: 102350.
- Daryanto, S., Wang, L., Jacinthe, P. A. (2015.): Global synthesis of drought effects on food legume production. *PloS one*, 10(6): e0127401.
- Davies, W. J., Zhang, J. (1991.): Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. *Annual review of plant biology*, 42(1): 55-76.



- De Santis, M. A., Satriani, A., De Santis, F., Flagella, Z. (2022.): Water use efficiency, spectral phenotyping and protein composition of two chickpea genotypes grown in Mediterranean environments under different water and nitrogen supply. *Agriculture*, 12(12): 2026.
- Devi, M. J., Sinclair, T. R., Vadez, V., Krishnamurthy, L. (2009.): Peanut genotypic variation in transpiration efficiency and decreased transpiration during progressive soil drying. *Field Crops Research*, 114(2): 280-285.
- Dubey, A., Kumar, A., Khan, M. L. (2020.): Role of biostimulants for enhancing abiotic stress tolerance in Fabaceae plants. *The Plant Family Fabaceae: Biology and Physiological Responses to Environmental Stresses*, 223-236.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., Basra, S. M. A. (2009.): Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agron. Sustain. Dev.*, 29: 185–212.
- Feller, U. (2006.): Stomatal opening at elevated temperature: an underestimated regulatory mechanism. *General and Applied Plant Physiology*, 32: 19-31.
- Flood, P. J., Harbinson, J., Aarts, M. G. (2011.): Natural genetic variation in plant photosynthesis. *Trends in plant science*, 16(6): 327-335.
- Gamon, J. A., Field, C. B., Bilger, W., Björkman, O., Fredeen, A. L., Peñuelas, J. (1990.): Remote sensing of the xanthophyll cycle and chlorophyll fluorescence in sunflower leaves and canopies. *Oecologia*, 85: 1-7.
- Garbulsky, M. F., Peñuelas, J., Gamon, J., Inoue, Y., Filella, I. (2011.): The photochemical reflectance index (PRI) and the remote sensing of leaf, canopy and ecosystem radiation use efficiencies: A review and meta-analysis. *Remote sensing of environment*, 115(2): 281-297.
- Ghanbari, A. A., Shakiba, M. R., Toorchi, M., Choukan, R. (2013.): Morpho-physiological responses of common bean leaf to water deficit stress. *European Journal of Experimental Biology*, 3(1): 487-492.
- Giorio, P., Sorrentino, G., d' Andria, R. (1999.): Stomatal behaviour, leaf water status and photosynthetic response in field-grown olive trees under water deficit. *Environmental and Experimental Botany*, 42(2): 95–104.

González, L., González-Vilar, M. (2001.): Determination of relative water content. In Handbook of plant ecophysiology techniques (pp. 207-212). Dordrecht: Springer Netherlands.

González-Espíndola, L. Á., Pedroza-Sandoval, A., Trejo-Calzada, R., Jacobo-Salcedo, M. D. R., García de los Santos, G., Quezada-Rivera, J. J. (2024.): Relative Water Content, Chlorophyll Index, and Photosynthetic Pigments on *Lotus corniculatus* L. in Response to Water Deficit. *Plants*, 13(7): 961.

Gutiérrez Rodríguez, M. A. R. I. O., Escalante-Estrada, J. A., Rodriguez Gonzalez, M. T., Reynolds, M. P. (2006.): Canopy reflectance indices and its relationship with yield in common bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.) with phosphorous supply.

Guzzo, M. C., Costamagna, C., Salloum, M. S., Rotundo, J. L., Monteoliva, M. I., Luna, C. M. (2021.): Morpho-physiological traits associated with drought responses in soybean. *Crop Science*, 61(1): 672-688.

Habermann, E., Dias de Oliveira, E. A., Contin, D. R., San Martin, J. A., Curtarelli, L., Gonzalez-Meler, M. A., Martinez, C. A. (2019.): Stomatal development and conductance of a tropical forage legume are regulated by elevated [CO<sub>2</sub>] under moderate warming. *Frontiers in plant science*, 10: 609.

Harvesting, P. L. (2003.): Carotenoid Cation Formation and the Regulation of. *Annu. Rev. Immunol*, 21: 713.

Hasanuzzaman, M., Shabala, L., Brodribb, T. J., Zhou, M., Shabala, S. (2017.): Assessing the suitability of various screening methods as a proxy for drought tolerance in barley. *Functional Plant Biology*, 44(2): 253.

Horton, P., Wentworth, M., Ruban, A. (2005.): Control of the light harvesting function of chloroplast membranes: the LHCII-aggregation model for non-photochemical quenching. *Febs Letters*, 579(20): 4201-4206.

Huang, S., Tang, L., Hupy, J. P., Wang, Y., Shao, G. (2021.): A commentary review on the use of normalized difference vegetation index (NDVI) in the era of popular remote sensing. *Journal of Forestry Research*, 32(1): 1-6.

- Hussain, M., Farooq, S., Hasan, W., Ul-Allah, S., Tanveer, M., Farooq, M., Nawaz, A. (2018.): Drought stress in sunflower: Physiological effects and its management through breeding and agronomic alternatives. *Agricultural water management*, 201: 152-166.
- Islam, M. S., Fahad, S., Hossain, A., Chowdhury, M. K., Iqbal, M. A., Dubey, A., Sabagh, A. E. (2021.): Legumes under drought stress: plant responses, adaptive mechanisms, and management strategies in relation to nitrogen fixation. In *Engineering tolerance in crop plants against abiotic stress* (pp. 179-207). CRC Press.
- Jackson, M. B. (1993.): Are plant hormones involved in root to shoot communication? In: *Advances in botanical research*. Academic Press, 1993. p. 103-187.
- Javornik, T., Carović-Stanko, K., Gunjača, J., Vidak, M., Lazarević, B. (2023.): Monitoring drought stress in common bean using chlorophyll fluorescence and multispectral imaging. *Plants*, 12(6): 1386.
- Kaushal, M., Wani, S. P. (2016.): Rhizobacterial-plant interactions: strategies ensuring plant growth promotion under drought and salinity stress. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 231: 68-78.
- Keles, Y., Öncel, I. (2004.): Growth and solute composition in two wheat species experiencing combined influence of stress conditions. *Russian Journal of Plant Physiology*, 51: 203-209.
- Keyvan, S. (2010.): The effects of drought stress on yield, relative water content, proline, soluble carbohydrates and chlorophyll of bread wheat cultivars. *J. Anim. Plant Sci*, 8(3): 1051-1060.
- Khan, I. U., Ali, A., Khan, H. A., Baek, D., Park, J., Lim, C. J., Yun, D. J. (2020.): PWR/HDA9/ABI4 complex epigenetically regulates ABA dependent drought stress tolerance in *Arabidopsis*. *Frontiers in Plant Science*, 11: 623.
- Korir, P. C., Nyabundi, J. O., Kimurto, P. K. (2006.): Genotypic response of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) to moisture stress conditions in Kenya. *Plant sci*. 5: 24-32.
- Lawson, T., von Caemmerer, S., Baroli, I. (2011.): Photosynthesis and stomatal behaviour. *Progress in botany*, 72: 265-304.
- Lazarević, B., Poljak, M., (2019.): *Fiziologija bilja*. Agronomski fakultet u Zagrebu, Zagreb.

- Li, R. H., Guo, P. G., Michael, B., Stefania, G., Salvatore, C. (2006.): Evaluation of chlorophyll content and fluorescence parameters as indicators of drought tolerance in barley. *Agricultural Sciences in China*, 5(10): 751-757.
- Lipovac, A., Bezdan, A., Moravčević, D., Djurović, N., Ćosić, M., Benka, P., Stričević, R. (2022.): Correlation between ground measurements and UAV sensed vegetation indices for yield prediction of common bean grown under different irrigation treatments and sowing periods. *Water*, 14(22): 3786.
- Liu, F., Jensen, C. R., Andersen, M. N. (2003.): Hydraulic and chemical signals in the control of leaf expansion and stomatal conductance in soybean exposed to drought stress. *Functional Plant Biology*, 30(1): 65-73.
- López, C. M., Pineda, M., Alamillo, J. M. (2020.): Differential regulation of drought responses in two *Phaseolus vulgaris* genotypes. *Plants*, 9(12): 1815.
- Lugojan, C., Ciulca, S. (2011.): Evaluation of relative water content in winter wheat. *Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology*, 15(2): 173-177.
- Ma, B. L., Dwyer, L. M., Costa, C., Cober, E. R., Morrison, M. J. (2001.): Early prediction of soybean yield from canopy reflectance measurements. *Agronomy Journal*, 93(6): 1227-1234.
- Maalouf, F., Nachit, M., Ghanem, M. E., Singh, M. (2015.): Evaluation of faba bean breeding lines for spectral indices, yield traits and yield stability under diverse environments. *Crop and Pasture Science*, 66(10): 1012-1023.
- Mafakheri, A., Siosemardeh, A. F., Bahramnejad, B., Struik, P. C., Sohrabi, Y. (2010.): Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars. *Australian journal of crop science*, 4(8): 580-585.
- Maphosa, Y., Jideani, V. A. (2017.): The role of legumes in human nutrition. *Functional food-improve health through adequate food*, 1, 13.
- Meroni, M., Rossini, M., Picchi, V., Panigada, C., Cogliati, S., Nali, C., Colombo, R. (2008.): Assessing steady-state fluorescence and PRI from hyperspectral proximal sensing as early indicators of plant stress: The case of ozone exposure. *Sensors*, 8(3): 1740-1754.

- Merzlyak, M. N., Solovchenko, A. E., Smagin, A. I., Gitelson, A. A. (2005.): Apple flavonols during fruit adaptation to solar radiation: spectral features and technique for non-destructive assessment. *Journal of Plant Physiology*, 162(2): 151–160.
- Monteoliva, M. I., Guzzo, M. C., Posada, G. A. (2021.): Breeding for drought tolerance by monitoring chlorophyll content.
- Mourtzinis, S., Specht, J. E., Lindsey, L. E., Wiebold, W. J., Ross, J., Nafziger, E. D., Conley, S. P. (2015.): Climate-induced reduction in US-wide soybean yields underpinned by region- and in-season-specific responses. *Nature plants*, 1(2): 1-4.
- Muhammad, I., Shalmani, A., Ali, M., Yang, Q. H., Ahmad, H., Li, F. B. (2021.): Mechanisms regulating the dynamics of photosynthesis under abiotic stresses. *Frontiers in plant science*, 11: 615942.
- Mullan, D., Pietragalla, J. (2012.): Leaf relative water content. *Physiological breeding II: A field guide to wheat phenotyping*, 25: 25-35.
- Nemeskéri, E., Molnár, K., Helyes, L. (2017.): Relationships of spectral traits with yield and nutritional quality of snap beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in dry seasons. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 64(9): 1222–1239.
- Patel Priyanka, J., Trivedi Goral, R., Shah Rupal, K., Saraf, M. (2019.): Rhizospheric microflora: a natural alleviator of drought stress in agricultural crops. *Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Sustainable Stress Management: Volume 1: Rhizobacteria in Abiotic Stress Management*: 103-115.
- Pradhan, J., Katiyar, D., Hemantaranjan, A. (2019.): Drought mitigation strategies in pulses. *Pharm. Innov. J*, 8: 567-576.
- Ranjan, R., Chandel, A. K., Khot, L. R., Bahlol, H. Y., Zhou, J., Boydston, R. A., Miklas, P. N. (2019.): Irrigated pinto bean crop stress and yield assessment using ground based low altitude remote sensing technology. *Information Processing in Agriculture*, 6(4): 502-514.
- Rusakov, D. V., Kanash, E. V. (2022.): Spectral characteristics of leaves diffuse reflection in conditions of soil drought: a study of soft spring wheat cultivars of different drought resistance. *Plant, Soil & Environment*, 68(3): 137-145.

Sánchez, F. J., Manzanares, M., de Andrés, E. F., Tenorio, J. L., Ayerbe, L. (2001.): Residual transpiration rate, epicuticular wax load and leaf colour of pea plants in drought conditions. Influence on harvest index and canopy temperature. *European Journal of Agronomy*, 15(1): 57-70.

Shao, H. B., Chu, L. Y., Jaleel, C. A., Manivannan, P., Panneerselvam, R., Shao, M. A. (2009.): Understanding water deficit stress-induced changes in the basic metabolism of higher plants—biotechnologically and sustainably improving agriculture and the ecoenvironment in arid regions of the globe. *Critical reviews in biotechnology*, 29(2): 131-151.

Sharma, A., Kumar, V., Shahzad, B., Ramakrishnan, M., Singh Sidhu, G. P., Bali, A. S., Zheng, B. (2020.): Photosynthetic response of plants under different abiotic stresses: a review. *Journal of Plant Growth Regulation*, 39: 509-531.

Shomali, A., Das, S., Arif, N., Sarraf, M., Zahra, N., Yadav, V., Hasanuzzaman, M. (2022.): Diverse physiological roles of flavonoids in plant environmental stress responses and tolerance. *Plants*, 11(22): 3158.

Siddique, M. R. B., Hamid, A. I. M. S., Islam, M. S. (2000.): Drought stress effects on water relations of wheat. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 41.

Siddiqui, M. H., Al-Khaishany, M. Y., Al-Qutami, M. A., Al-Whaibi, M. H., Grover, A., Ali, H. M., Bukhari, N. A. (2015.): Response of different genotypes of faba bean plant to drought stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(5): 10214-10227.

Sinclair, T. R., Ludlow, M. M. (1985.): Who taught plants thermodynamics? The unfulfilled potential of plant water potential. *Functional Plant Biology*, 12(3): 213-217.

Sobejano-Paz, V., Mikkelsen, T. N., Baum, A., Mo, X., Liu, S., Köppl, C. J., García, M. (2020.): Hyperspectral and thermal sensing of stomatal conductance, transpiration, and photosynthesis for soybean and maize under drought. *Remote Sensing*, 12(19): 3182.

Solovchenko, A. (2010.): Quantification of Screening Pigments and Their Efficiency In Situ. *Photoprotection in Plants: Optical Screening-based Mechanisms*, 119-141.

Soltys-Kalina, D., Plich, J., Strzelczyk-Żyta, D., Śliwka, J., Marczewski, W. (2016.): The effect of drought stress on the leaf relative water content and tuber yield of a half-sib family of 'Katahdin'-derived potato cultivars. *Breeding science*, 66(2): 328-331.

- Tafesse, E. G., Warkentin, T. D., Shirtliffe, S., Noble, S., Bueckert, R. (2022.): Leaf pigments, surface wax and spectral vegetation indices for heat stress resistance in pea. *Agronomy*, 12(3): 739.
- Talebi, R., Ensafi, M. H., Baghebani, N., Karami, E., Mohammadi, K. (2013.): Physiological responses of chickpea (*Cicer arietinum*) genotypes to drought stress. *Environmental and Experimental Biology*, 11(1): 9-15.
- Tavares, C. J., Ribeiro Jr, W. Q., Ramos, M. L. G., Pereira, L. F., Casari, R. A. C. N., Pereira, A. F., Mertz-Henning, L. M. (2022.): Water stress alters morphophysiological, grain quality and vegetation indices of soybean cultivars. *Plants*, 11(4): 559.
- Thomey, M. L., Slattery, R. A., Köhler, I. H., Bernacchi, C. J., Ort, D. R. (2019.): Yield response of field-grown soybean exposed to heat waves under current and elevated [CO<sub>2</sub>]. *Global Change Biology*, 25(12): 4352-4368.
- Tuberosa, R. (2012.): Phenotyping for drought tolerance of crops in the genomics era. *Frontiers in physiology*, 3: 347.
- Tyree, M. T. (2007.): Water relations and hydraulic architecture. In: *Functional plant ecology* (pp. 175-212). CRC Press.
- UNICEF (2021.): *The state of food security and nutrition in the world 2021*.
- Vadez, V., Kholova, J., Medina, S., Kakkera, A., Anderberg, H. (2014.): Transpiration efficiency: new insights into an old story. *Journal of experimental botany*, 65(21): 6141-6153.
- Wang, X., Cai, X., Xu, C., Wang, Q., Dai, S. (2016.): Drought-responsive mechanisms in plant leaves revealed by proteomics. *International journal of molecular sciences*, 17(10): 1706.
- Xue, J., Su, B. (2017.): Significant remote sensing vegetation indices: A review of developments and applications. *Journal of sensors*, 2017(1): 1353691.
- Yang, X., Lu, M., Wang, Y., Wang, Y., Liu, Z., Chen, S. (2021.): Response mechanism of plants to drought stress. *Horticulturae*, 7(3): 50.
- Yuhas, A. N., Scuderi, L. A. (2009.): MODIS-derived NDVI Characterisation of Drought-Induced Evergreen Dieoff in Western North America. *Geographical Research*, 47(1): 34-45.

Zaefyzadeh, M., Quliyev, R. A., Babayeva, S., Abbasov, M. A. (2009.): The effect of the interaction between genotypes and drought stress on the superoxide dismutase and chlorophyll content in durum wheat landraces. *Turkish Journal of biology*, 33(1): 1-7.

Zagreb.Lesk, C., Anderson, W., Rigden, A., Coast, O., Jägermeyr, J., McDermid, S., Konar, M. (2022.): Compound heat and moisture extreme impacts on global crop yields under climate change. *Nature Reviews Earth & Environment*, 3(12): 872-889.

Zhang, C., Filella, I., Garbulsky, M. F., Peñuelas, J. (2016.): Affecting factors and recent improvements of the photochemical reflectance index (PRI) for remotely sensing foliar, canopy and ecosystemic radiation-use efficiencies. *Remote Sensing*, 8(9): 677.

Zhu, J. K. (2002.): Slat and drought stress signal transduction in plants. *Annual review of plant biology*, 53(1): 247-273.

Hrvatska baza podataka biljnih genetskih izvora (2024.): Krmno bilje – primke. <https://cpgrd.hapih.hr/gb/fodder/main/index/0> (7.8.2024.).

METER Group - WP4C Support (2024.): WP4C Downloads, WP4C Manual. <https://metergroup.com/products/wp4c/wp4c-support/> (9.8.2024.).



## 8. Sažetak

Stres uzrokovan sušom predstavlja jedan od najznačajnijih abiotičkih stresova u poljoprivrednoj proizvodnji. Usljed klimatskih promjena, suša postaje sve učestalija i smatra se ključnim faktorom koji ograničava prinos usjeva. Nedostatak vode može ozbiljno utjecati na rast biljaka utječući na brojne fiziološke i biokemijske parametre. Leguminoze su biljke koje pripadaju porodici *Fabaceae* i od davnina su ključan izvor prehrane za ljude. Stoga je njihovo istraživanje od izuzetne važnosti, ne samo zbog njihove nutritivne vrijednosti, već i zbog njihove uloge u održivoj poljoprivredi. Cilj ovoga istraživanja bio je ispitati adaptivni odgovor pet vrsta leguminoza: boba (*Vicia faba* L.), graška (*Pisum sativum* L.), graha (*Phaseolus vulgaris* L.), slanutka (*Cicer arietinum* L.) i mungo graha (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) na kratkotrajne uvjete suše. Tretmani su uključivali kontrolu i sušu, a mjerenja su izvršena trećeg i šestog dana suše. U istraživanju je mjerena koncentracija klorofila, provodljivost puči, relativni sadržaj vode, te NDVI, PRI i FRI vegetacijski indeksi. Sušni stres uzrokovao je značajno povećanje koncentracije klorofila kod slanutka, dok su provodljivost puči i relativni sadržaj vode značajno smanjeni kod svih ispitivanih vrsta leguminoza. Suša je značajno smanjila NDVI kod graška, dok se FRI indeks značajno povećao kod svih vrsta leguminoza. PRI indeks je bio značajno smanjen kod boba već trećeg dana suše. Ovo istraživanje pruža bolji uvid u adaptivne mehanizme koje različite vrste leguminoza koriste kako bi se nosile sa stresom uzrokovanim sušom, što može pomoći u razvoju biljaka tolerantnijih na sušu.

Ključne riječi: suša, leguminoze, adaptivni odgovor, vegetacijski indeksi

## 9. Summary

Stress caused by drought is one of the most significant abiotic stresses in agricultural production. Due to climate change, drought is becoming more frequent and is considered a key factor limiting crop yields. Lack of water can seriously affect plant growth by affecting numerous physiological and biochemical parameters. Legumes are plants that belong to the Fabaceae family and have been a key source of nutrition for humans since ancient times. Therefore, their research is extremely important, not only because of their nutritional value, but also because of their role in sustainable agriculture. The aim of this research was to examine the adaptive response of five different legume species: faba bean (*Vicia faba* L.), cultivated pea (*Pisum sativum* L.), common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), chickpea (*Cicer arietinum* L.) and mung bean (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) to short-term drought conditions. Treatments included control and drought, and measurements were made on the third and sixth day of drought. The research measured chlorophyll concentration, soil conductivity, relative water content, and NDVI, PRI and FRI vegetation indices. Drought stress caused a significant increase in the concentration of chlorophyll in chickpea, while the stomatal conductance and relative water content were significantly reduced in all tested legume species. Drought significantly reduced NDVI in peas, while the FRI index significantly increased in all legume species. The PRI index was significantly reduced in faba bean already on the third day of drought. This research provides better insight into the adaptive mechanisms that different legume species use to cope with drought stress, which may help develop more drought-tolerant plants.

Key words: drought, legumes, adaptive response, vegetation indices

## 10. Popis tablica

Br.	Naziv tablice	Str.
Tablica 1.	Primke leguminoza korištene u istraživanju	14
Tablica 2.	Kontrolirani uvjeti i režim rada u klima komori	15
Tablica 3.	Formule korištene za izračun vegetacijskih indeksa	19
Tablica 4.	Rezultati analize varijance	20
Tablica 5.	Rezultati koncentracije klorofila između različitih uzoraka i tretmana	21
Tablica 6.	Rezultati provodljivosti puči između različitih uzoraka i tretmana	22
Tablica 7.	Rezultati relativnog sadržaja vode između različitih uzoraka i tretmana	23
Tablica 8.	Rezultati NDVI indeksa između različitih uzoraka i tretmana	23
Tablica 9.	Rezultati PRI indeksa između različitih uzoraka i tretmana	24
Tablica 10.	Rezultati FRI indeksa između različitih uzoraka i tretmana	25
Tablica 11.	Rezultati vodnog potencijala (MPa) između različitih uzoraka i tretmana	25
Tablica 12.	Pearsonov koeficijent korelacije i <i>p-vrijednosti</i> za ispitivane parametre	26

## 11. Popis slika

Br.	Naziv slike	Str.
Slika 1.	Klijanje i početni rast biljaka u klima komori (Horvatović, M.)	16
Slika 2.	Razvijene biljke u prostoriji za rast na Poljoprivrednom institutu Osijek (Horvatović, M.)	17

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Sveučilišni diplomski studij Bilinogojstvo, modul Oplemenjivanje bilja i sjemenarstvo

Diplomski rad

## Adaptivni odgovor različitih vrsta leguminoza na uvjete sušnog stresa

Matej Horvatić

**Sažetak:** Stres uzrokovan sušom predstavlja jedan od najznačajnijih abiotičkih stresova u poljoprivrednoj proizvodnji. Uslijed klimatskih promjena, suša postaje sve učestalija i smatra se ključnim faktorom koji ograničava prinos usjeva. Nedostatak vode može ozbiljno utjecati na rast biljaka utječući na brojne fiziološke i biokemijske parametre. Leguminoze su biljke koje pripadaju porodici Fabaceae i od davnina su ključan izvor prehrane za ljude. Stoga je njihovo istraživanje od izuzetne važnosti, ne samo zbog njihove nutritivne vrijednosti, već i zbog njihove uloge u održivoj poljoprivredi. Cilj ovoga istraživanja bio je ispitati adaptivni odgovor pet vrsta leguminoza: boba (*Vicia faba* L.), graška (*Pisum sativum* L.), graha (*Phaseolus vulgaris* L.), slanutka (*Cicer arietinum* L.) i mungo graha (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) na kratkotrajne uvjete suše. Tretmani su uključivali kontrolu i sušu, a mjerenja su izvršena trećeg i šestog dana suše. U istraživanju je mjerena koncentracija klorofila, provodljivost puči, relativni sadržaj vode, te NDVI, PRI i FRI vegetacijski indeksi. Sušni stres uzrokovao je značajno povećanje koncentracije klorofila kod slanutka, dok su provodljivost puči i relativni sadržaj vode značajno smanjeni kod svih ispitivanih vrsta leguminoza. Suša je značajno smanjila NDVI kod graška, dok se FRI indeks značajno povećao kod svih vrsta leguminoza. PRI indeks je bio značajno smanjen kod boba već trećeg dana suše. Ovo istraživanje pruža bolji uvid u adaptivne mehanizme koje različite vrste leguminoza koriste kako bi se nosile sa stresom uzrokovanim sušom, što može pomoći u razvoju biljaka tolerantnijih na sušu.

**Rad je izrađen pri:** Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

**Mentor:** doc. dr. sc. Sunčica Kujundžić

**Komentor:** dr. sc. Tihomir Čupić

**Broj stranica:** 46

**Broj grafikona i slika:** 2

**Broj tablica:** 12

**Broj literaturnih navoda:** 98

**Broj priloga:** -

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Ključne riječi:** suša, leguminoze, adaptivni odgovor, vegetacijski indeksi

**Datum obrane:**

**Stručno povjerenstvo za obranu:**

1. prof. dr. sc. Sonja Petrović, predsjednik
2. doc. dr. sc. Sunčica Kujundžić, mentor
3. prof. dr. sc. Miroslav Lisjak, član

**Rad je pohranjen u:** Knjižnici Fakulteta agrobiotehničkih znanosti u Osijeku i u digitalnom repozitoriju završnih i diplomskih radova Fakulteta agrobiotehničkih znanosti u Osijeku

## **BASIC DOCUMENTATION CARD**

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek**

**Faculty of Agrobiotechnical sciences Osijek**

**University Graduate Studies, course Plant breeding and seed production**

**Graduate thesis**

### **Adaptive response of different legume species to drought stress conditions**

Matej Horvatović

**Abstract:** Stress caused by drought is one of the most significant abiotic stresses in agricultural production. Due to climate change, drought is becoming more frequent and is considered a key factor limiting crop yields. Lack of water can seriously affect plant growth by affecting numerous physiological and biochemical parameters. Legumes are plants that belong to the Fabaceae family and have been a key source of nutrition for humans since ancient times. Therefore, their research is extremely important, not only because of their nutritional value, but also because of their role in sustainable agriculture. The aim of this research was to examine the adaptive response of five different legume species: faba bean (*Vicia faba* L.), cultivated pea (*Pisum sativum* L.), common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), chickpea (*Cicer arietinum* L.) and mung bean (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) to short-term drought conditions. Treatments included control and drought, and measurements were made on the third and sixth days of drought. The research measured chlorophyll concentration, soil conductivity, relative water content, and NDVI, PRI and FRI vegetation indices. Drought stress caused a significant increase in the concentration of chlorophyll in chickpea, while the stomatal conductance and relative water content were significantly reduced in all tested legume species. Drought significantly reduced NDVI in pea, while the FRI index significantly increased in all legume species. The PRI index was significantly reduced in faba bean already on the third day of drought. This research provides better insight into the adaptive mechanisms that different legume variety use to cope with drought stress, which may help develop more drought-tolerant plants.

**Thesis performed at:** Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

**Mentor:** doc. dr. sc. Sunčica Kujundžić

**Co-mentor:** dr. sc. Tihomir Čupić

**Number of pages:** 46

**Number of figures:** 2

**Number of tables:** 12

**Number of references:** 98

**Number of appendices:** -

**Original in:** Croatian

**Key words:** drought, legumes, adaptive response, vegetation indices

**Thesis defended on date:**

**Reviewers:**

1. prof. dr. sc. Sonja Petrović, president
2. doc. dr. sc. Sunčica Kujundžić, mentor
3. prof. dr. sc. Miroslav Lisjak, member

**Thesis deposited at:** Library of Faculty of Agrobiotechnical Sciences in Osijek and in digital repository of Faculty of Agrobiotechnical Sciences in Osijek