

Učinak pripravka mikoriznih gljiva i korisnih bakterija na dvije sorte salate (*Lactuca sativa* var. *capitata*) u uvjetima vodnog stresa

Kosanović, Darina

Master's thesis / Diplomski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:185857>

Rights / Prava: [Attribution-ShareAlike 4.0 International / Imenovanje-Dijeli pod istim uvjetima 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-12**

REPOZITORIJ

PTFS

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Darina Kosanović

**UČINAK PRIPRAVKA MIKORIZNIH GLJIVA I KORISNIH
BAKTERIJA NA DVIJE SORTE SALATE (*LACTUCA SATIVA* VAR.
CAPITATA) U UVJETIMA VODNOG STRESA**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, rujan, 2024.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Zavod za ispitivanje hrane i prehrane
Katedra za biologiju i mikrobiologiju
Franje Kuhača 18, 31000 Osijek, Hrvatska

Diplomski sveučilišni studij: Prehrambeno inženjerstvo

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Nastavni predmet: Biologija

Tema rada je prihvaćena na X. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2022./2023. održanoj 17. srpnja 2023.

Mentor: izv. prof. dr. sc. *Tihana Marček*

Komentor: prof. dr. sc. *Natalija Velić*

UČINAK PRIPRAVKA MIKORIZNIH GLJIVA I KORISNIH BAKTERIJA NA DVIJE SORTE SALATE (*LACTUCA SATIVA* VAR. *CAPITATA*) U UVJETIMA VODNOG STRESA

Darina Kosanović, 0113145009

Sažetak: Nedostatak vode može inhibirati rast korijenskog sustava što ometa usvajanje vode i hranjivih tvari iz tla. Interakcija korijena s mikoriznim gljivama i korisnim bakterijama povećava učinkovitost iskorištenja vode što je u uvjetima vodnog stresa izuzetno važno. Cilj ovog rada bio je provjeriti otpornost dva genotipa salate (*L. sativa* var. *capitata*) “puterica” i “kristalka”, na stres izazvan sušom dodatkom komercijalnog pripravka mikoriznih gljiva s dodatkom korisnih bakterija (M) na rast i biokemijske pokazatelje u uvjetima *in vivo*. Zasušivanje je izazvano smanjivanjem obroka navodnjavanja gdje je 100% retencijskog kapaciteta (Rkv) predstavljalo kontrolu, 80% Rkv (umjeren vodni stres) i 60% Rkv (intenzivniji vodni stres). Uzorci salate podvrgnuti su pojedinačnim (100%, 80% i 60%) i kombiniranim tretmanima (M-100%, M-80% i M-60%) u fazi formiranja glavice. Dodatak pripravka inducirao je veću masu i broj listova glavice u puterice (M-80% i M-60%) te veću masu i promjer glavice kristalke (M-60%). Na vodnom stresu slabijeg intenziteta (80%) puterica je sintetizirala više prolina od kristalke što govori o specifičnom genotipskom odgovoru. Dodatak pripravka u kristalke reducirao je sadržaj MDA na slabijem intenzitetu vodnog stresa (M-80%) što govori o protektivnoj ulozi mikoriznih gljiva i bakterija u očuvanju integriteta biomembrana.

Ključne riječi: mikorizne i korisne bakterije, salata, suša, prolin, MDA

Rad sadrži: 58 stranica
17 slika
2 tablice
114 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:

- | | |
|--|---------------|
| 1. izv. prof. dr. sc. <i>Monika Marković</i> | predsjednik |
| 2. izv. prof. dr. sc. <i>Tihana Marček</i> | član-mentor |
| 3. prof. dr. sc. <i>Natalija Velić</i> | član-komentor |
| 4. prof. dr. sc. <i>Sandra Budžaki</i> | zamjena člana |

Datum obrane: 18. rujna, 2024.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
Department of Food and Nutrition Research
Subdepartment of Biology and Microbiology
Franje Kuhača 18, HR-31000 Osijek, Croatia

Graduate program: Food Engineering
Scientific area: Biotechnical sciences
Scientific field: Food technology
Course title: Biology
Thesis subject was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. X held on 17th July 2023.
Mentor: *Tihana Marček*, PhD, associate professor
Co-mentor: *Natalija Velić*, PhD, full professor

THE EFFECT OF MYCORRHIZAL FUNGI AND BENEFICIAL BACTERIA ON TWO LETTUCE (*LACTUCA SATIVA* VAR. *CAPITATA*) VARIETIES UNDER LIMITED WATER CONDITIONS
Darina Kosanović, 0113145009

Summary: Water scarcity can inhibit root system growth, hindering the absorption of water and nutrients from the soil. However, the interaction of roots with mycorrhizal fungi and beneficial bacteria can enhance water use efficiency, which is crucial under drought conditions. This study aimed to evaluate the drought resistance of two lettuce genotypes (*L. sativa* var. *capitata*), "Butterhead" and "Iceberg," by adding a commercial preparation of mycorrhizal fungi and beneficial bacteria (M) to assess growth and biochemical indicators under *in vivo* conditions. Drought stress was induced by reducing irrigation levels: 100% retention capacity (RC) served as the control, 80% RC represented moderate drought, and 60% RC represented severe drought. Lettuce samples were subjected to individual treatments (100%, 80%, and 60%) and combined treatments (M-100%, M-80%, and M-60%) during the head formation stage. The addition of the mycorrhizal preparation resulted in greater head mass and leaf number in Butterhead (M-80% and M-60%) and increased head mass and diameter in Iceberg (M-60%). Under lower-intensity stress (80%), Butterhead synthesized more proline than Iceberg, indicating a specific genotypic response. Mycorrhizal treatment also reduced MDA content in Iceberg at the moderate drought intensity (M-80%), highlighting the protective role of mycorrhizae and bacteria in maintaining biomembrane integrity.

Key words: mycorrhizal fungi and beneficial bacteria, lettuce, drought, proline, MDA

Thesis contains: 58 pages
17 figures
2 tables
114 references

Original in: Croatian

Defense committee:

- | | |
|--|---------------|
| 1. <i>Monika Marković</i> , PhD, associate professor | chair person |
| 2. <i>Tihana Marček</i> , PhD, associate professor | supervisor |
| 3. <i>Natalija Velić</i> , PhD, full professor | co-supervisor |
| 4. <i>Sandra Budžaki</i> , PhD, full professor | stand-in |

Defense date: 18 September, 2024

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 18, Osijek.

DIPLOMSKI RAD JAVNO JE OBRANJEN DANA

18. rujna 2024.

TE OCIJENJEN USPJEHOM

izvrstan (5)

Pred Povjerenstvom za obranu diplomskog rada:

1. izv. prof. dr. sc. Monika Marković predsjednik

Marković

(potpis)

2. izv. prof. dr. sc. Tihana Marček član-mentor

Tihana Marček

(potpis)

3. prof. dr. sc. Natalija Velić član-komentor

Natalija Velić

(potpis)

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	3
2.1. Suša kao abiotički stresni čimbenik	4
2.2. Učinak vodnog stresa na biljku	5
2.3. Odgovor biljke na sušu	7
2.3.1. Prolin	10
2.3.2. Malondialdehid.....	12
2.4. Efektivni mikroorganizmi	13
2.4.1. Obilježja gljiva i pojam mikorize	13
2.4.2. Rizobakterije	18
2.5. Uloga mikoriznih gljiva i rizobakterija u razvoju otpornosti na sušu	19
2.6. Salata	22
2.6.1. Morfološka obilježja i razvoj	23
2.6.2. Važnost salate u ishrani.....	24
3. EKSPERIMENTALNI DIO	26
3.1. Zadatak	27
3.2. Materijal i metode	28
3.2.1. Uzgoj biljnog materijala.....	28
3.2.2. Tretman sušom i komercijalnim pripravkom.....	29
3.2.3. Praćenje rasta	31
3.2.4. Određivanje koncentracije prolina.....	31
3.2.5. Određivanje koncentracije malondialdehida	32
3.2.6. Statistička obrada podataka.....	32
4. REZULTATI	33
4.1. Morfometrijski podaci	34
4.1.1. Učinak vodnog stresa i mikoriznog pripravka na masu glavice.....	34
4.1.2. Učinak vodnog stresa i mikoriznog pripravka na visinu glavice	34
4.1.3. Učinak vodnog stresa i mikoriznog pripravka na promjer glavice.....	35
4.1.4. Učinak vodnog stresa i mikoriznog pripravka na broj listova	36
4.2. Biokemijski parametri	37
4.2.1. Učinak vodnog stresa i mikoriznog pripravka na sadržaj slobodnog prolina	37
4.2.2. Učinak vodnog stresa i mikoriznog pripravka na određivanje sadržaja malondialdehida (MDA).....	38
4.3. Rezultati korelacijske analize morfometrijskih i biokemijskih pokazatelja	39
5. RASPRAVA	41
6. ZAKLJUČCI	45
7. LITERATURA	47

1. UVOD

Pojava vodnog stresa uzrokuje smanjenje prinosa, kvalitete i produktivnosti usjeva, a očekuje se da će u skoroj budućnosti postati gorući problem zbog očiglednih i naglih promjena klimatskog profila uzrokovanih globalnim zagrijavanjem (Kojić i sur., 2023). Suša može uzrokovati deformacije, pukotine i smanjenu veličinu plodova, čime se smanjuje njihova tržišna vrijednost. Također, okus i tekstura plodova mogu biti narušeni, što dodatno smanjuje njihovu kvalitetu. U uvjetima vodnog stresa, povrtna kultura mogu imati niži sadržaj vitamina, minerala i drugih hranjivih tvari. Ovakav proizvod ima izmijenjena organoleptička svojstva i ne odgovara zahtjevima tržišta. Sve veća potražnja za hranom uslijed rasta svjetske populacije zahtijeva ulaganja u poljoprivredne sustave da se dobiju zdravstveno sigurni proizvodi visoke kvalitete sa prihvatljivim cijenama (Marček i sur., 2024). Primjena agrotehničkih mjera može značajno ublažiti utjecaj vodnog stresa na poljoprivredne usjeve i pomoći u očuvanju prinosa i kvalitete usjeva čak i u uvjetima smanjene dostupnosti vode. U novije vrijeme naglasak je na korištenju korisnih bakterija tla i mikoriznih gljiva u cilju povećanja unosa hranjivih tvari i razvoju otpornosti na nepovoljne okolišne uvjete (Kojić i sur., 2023). Mikorizni pripravci imaju veliki potencijal za povećanje prinosa i razvoj otpornosti biljaka modulacijom metaboličkih putova u nepovoljnim uvjetima, poboljšavajući adaptivni odgovor biljaka na stres. Učinkovitost ovisi o biljnoj vrsti, razvojnom stadiju, vrsti pripravka i okolišnim uvjetima, što zahtijeva individualni pristup i potrebu za poznavanjem primjene. Mogu se primijeniti izravno u tlo ili za predtretman sjemena, prije, tijekom i nakon stresnog razdoblja. To su organski proizvodi s korisnim mikroorganizmima koji pospješuju rast biljaka i povećavaju dostupnost hranjivih tvari koloniziranjem rizosfere. Osim što opskrbljuju biljku hranjivim tvarima, povećava se kakvoća i učinkovitost biljne proizvodnje. Zbog svoje ekološke prihvatljivosti, dugotrajnosti i financijske povoljnosti, ovi proizvodi su bolji od mineralnih gnojiva. Netoksični su, lako dostupni i jednostavni za korištenje. Takvi komercijalni preparati sadrže nosače koji, ovisno o tome jesu li u obliku praha, granula ili tekućine, uključuju hranjive tvari poput pšeničnog brašna, kukuruzne krupice, griza, želatine, pšeničnih mekinja, mješavine melase te mineralna i organska ulja. Ove tvari omogućuju rast i opstanak mikroorganizama, uz optimalan pH, dobru sposobnost zadržavanja vode i fizikalno-kemijska svojstva (Marček i sur., 2024).

Kao modelni organizam ovog rada izabrana je salata (*Lactuca sativa* var. *capitata*), s obzirom na njezino gospodarsko značenje, proizvodnju, te namjericu koja se često koristi u ishrani a ima značajnu nutritivnu vrijednost.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Suša kao abiotički stresni čimbenik

Stres je stanje koje ograničava i umanjuje produktivnost biljke (Katsoulas i sur., 2016). Može trajati privremeno i tada obično ne predstavlja značajnu opasnost za jedinku ukoliko postoje strategije koje ublažavaju njegovo negativno djelovanje kao što su aklimatizacija i adaptacija (Mešić i sur., 2022; Dasgan i Temtek, 2022). Prema Vukadinović i sur. (2014) aklimatizacija je rezultat kratkog izlaganja biljke nekom stresnom faktoru, dok je adaptacija najčešće genetski uvjetovana otpornost.

Međutim, tolerancija neke vrste na stres uvelike ovisi o genotipu, razvojnom stadiju biljke, duljini i intenzitetu trajanja stresa (Zhang i sur. 2020). Biljni stres se dijeli na abiotički i biotički. Abiotički su fizikalno-kemijski čimbenici neživog okoliša, dok biotičke čimbenike čine živa bića poput mikroorganizama i kukaca.

Među čimbenicima, suša se smatra glavnim abiotičkim stresom, a u prirodnim uvjetima često dolazi u kombinaciji s visokim temperaturama i visokim svjetlosnim intenzitetom pa su često njihovi učinci na biljku kumulativni (Mešić i sur., 2022). Abiotički stresni čimbenici dovode do 50% gubitka prinosa od kojih na sušu otpada 10%, a na visoke temperature 20% (Zia i sur. 2021). Brojni dokazi povezuju sušu s globalnim klimatskim promjenama s tendencijom širenja, porasta intenziteta i duljine trajanja sušnih perioda (Blauhut i sur., 2022). Svjetska meteorološka organizacija (WMO) definira sušu kao nestašicu padalina kroz duže vremenski period koji obuhvaća razdoblje od jedne sezone do nekoliko godina, što rezultira nedostatkom vode za potrebe opskrbe ljudi i okoliša (Kour i sur., 2022). Pored nedostatka oborina, uzroci vodnog stresa mogu se povezati s krčenjem šuma što potiče eroziju i negativno utječe na zalihe površinske i podzemne vode, kao i na tok rijeka i potoka. Također, prekomjerno iskorištavanje resursa pridonosi degradaciji tla i smanjuje njegovu sposobnost za skladištenje i zadržavanje vode (Rajabbeigi i sur., 2013; Armada i sur., 2016). Osim što ima značajan utjecaj na globalnu proizvodnju hrane, suša također utječe negativno na kvalitetu vode, pogoršava eroziju tla i potiče prirodne katastrofe poput poplava i požara te može pridonijeti širenju zaraznih bolesti (Fadiji i sur., 2022). Prijetnja je poljoprivrednoj proizvodnji širom svijeta te uzrokuje veće godišnje gubitke prinosa usjeva od svih biljnih patogena zajedno. U posljednjih 35 godina smanjili su se prinosi na globalnoj razini u osnovnim usjevima kao što su pšenica, kukuruz i slanutak za 21, 40 i 60 % (Poudel i sur., 2021). Regionalna suša jedan je od vodećih uzročnika gladi i pothranjenosti posebice u Aziji i Africi koje unatoč suvremenim pristupima obrade tla i povećanja uroda ne mogu zadovoljiti kontinuirani trend povećanja broja stanovnika (Kogan i sur., 2019). Procjenjuje se da će se do 2050 godine broj svjetskog stanovništva porasti na oko

9 milijardi ljudi (Zia i sur. 2021). Iako se posljedice vodnog stresa ne mogu spriječiti, njeno napredovanje se može usporiti praćenjem ranih oštećenja na usjevima što olakšava procjenu rizika od štete, te primjenu dodatnih mjera u svrhu prevencije gladi (Kogan i sur., 2019).

2.2. Učinak vodnog stresa na biljku

Suša inhibira rast, smanjuje relativni sadržaj vode (relative water content, RWC) i turgorski tlak te smanjuje sposobnost fotosinteze i apsorpcije hranjivih tvari, a gubitak vode transpiracijom je povećan što dovodi do smanjenja prinosa (Poudel i sur., 2021). Produljeni sušni periodi ometaju brojne stanične procese kao što je sinteza proteina, asimilacija dušika te prijenos tvari kroz membranu (Kour i sur., 2022). RWC je pouzdan pokazatelj vodnog statusa biljke koji pokazuje odnos preko korijena apsorbirane vode i gubitka vode transpiracijom. U uvjetima dehidracije (suša, toplina, hladnoća, salinitet) vrijednosti RWC su niže, pa je ovaj parametar ujedno i pokazatelj stresa (Anjum i sur., 2020).

Negativni učinci vodnog stresa na biljku vidljivi su kroz morfološke, fiziološke, stanične i biokemijske promjene. U ranoj fazi rasta suša ometa klijanje, reduciraju se diobe stanica i elongacija u meristemskim zonama. Nadalje, smanjuje se broj i veličina listova, zbog redukcije aktivnih meristema u internodijima stabljike reducira se visina biljke, a ukupna biomasa je značajno manja (Zia i sur., 2021; Kour i sur., 2022). Niske turgorske vrijednosti koje su posljedica stanične dehidracije, smanjuju stanični volumen i povećava se koncentracija unutarstaničnog soka. Nedostatak vode u tlu povećava biosintezu abscizinske kiseline (ABA) u korijenu se koja ksilemskim optokom translocira do izdanka gdje, putem hidroaktivne regulacije, inducira zatvaranje puči u cilju sprečavanja prevelike transpiracije (Sauter i sur., 2001). Zatvaranjem puči, smanjuje se njihova provodljivost što ima dvojak učinak. Prvo, ovakvim djelovanjem biljka čuva zalihe vode dok istovremeno fotosintetska učinkovitost opada zbog smanjene unutarstanične koncentracije CO₂.

Na staničnoj razini dehidracija uzrokovana sušom, dovodi do denaturacije proteina i narušavanja integriteta membrana zbog prekomjerne proizvodnje reaktivnih kisikovih čestica („reactive oxygen species“, ROS) koji uzrokuju oksidativna oštećenja i narušavaju normalnu funkciju biljne stanice što posljedično može dovesti do stanične smrti i uginuća biljke (Poudel i sur., 2021; Ahmad i sur., 2022). Membrane oštećene ROS, postaju neselektivno propusne što uzrokuje pretjerano istjecanje elektrolita iz stanica (Petrov i sur., 2017). U brojnim znanstvenim istraživanjima potvrđeno je negativno djelovanje vodnog stresa na fotosustave u tilakoidnim

membranama u vidu denaturacije proteina kloroplasta te pada ukupne koncentracije pomoćnim fotosintetskih pigmentata (Jaleel i sur., 2007; Zia i sur., 2021). Smanjen sadržaj klorofila je tipičan pokazatelj oksidativnog stresa pod uvjetima vodnog stresa te može biti i rezultat fotooksidacije pigmenta i degradacije klorofila (Murtaza i sur., 2016). Prekomjerna proizvodnja slobodnih radikala dovodi do oksidacijskog stresa. Slobodni radikali su atomi ili molekule koje u vanjskoj ljusci sadrže jedan ili više nesparenih elektrona što ih čini visoko reaktivnim. ROS su visoko reaktivne molekule kisika koje obuhvaćaju slobodne radikale i neradikalne spojeve. Slobodni radikali uključuju superoksidni radikal (O_2^-) i hidroksilni radikal (OH^\cdot), dok neradikalni spojevi obuhvaćaju singletni kisik (1O_2) i vodikov peroksid (H_2O_2). U nestresnim uvjetima nastaju u manjim količinama kao međuprodukti metaboličke aktivnosti stanice, no zbog stresa njihova sinteza je prekomjerna (Corpas i sur., 2015). ROS nastaju u mitohondrijima, peroksisomima, kloroplastima, endoplazmatskom retikulumu, apoplastu i na plazmatskoj membrani tijekom različitih metaboličkih i fizioloških procesa kao što su fotorespiracija, disanje i fotosinteza (Kar, 2015). Arhitektura korijenova sustava izrazito utječe na toleranciju vodnog stresa. Naime biljke koje imaju duži, razgranatiji i površinom veći korijen, u pravilu bolje toleriraju manjak vode, iako u ograničenim uvjetima vode varijacije u morfologiji korijena su specifične za vrstu i genotip (Ahmad i sur., 2022; Fadji i sur., 2022). Biljke koje trpe nedostatak vode u vegetativnoj fazi pokazuju simptome poput venuća lišća, smanjenja visine, broja i površine listova, te kašnjenja u razvoju pupova i cvjetova (Sourour i sur., 2017). Tako je u pšenice i kukuruza suša reducirala visinu i smanjenje lisne površine (Ahmad i sur., 2022).

Nadalje, suša utječe na dostupnost hranjivih tvari u tlu, njihov unos kroz korijen i transport do izdanka što je posljedica ograničene transpiracije, inhibicije aktivnog prijenosa tvari kroz membranu zbog narušene permeabilnosti (Hu i Schmidhalter, 2005). Primjerice manjak fosfata uzrokuje poremećaj metaboličke aktivnosti, redukciju rasta korijena, ekspanziju listova, površinu i broj lisne mase te redukciju omjera korijen/izdanak. Osim toga, nedostatak fosfora može odgoditi početak cvjetanja, smanjiti broj cvjetova i ograničiti proizvodnju sjemena. Dokazano je da smanjenje dostupnosti fosfora, smanjuje nutritivnu vrijednost povrća (Kour i sur., 2022). Osim na smanjenje prinosa, suša direktno djeluje i na kvalitetu i nutritivnu vrijednost, a konačni učinak ovisi o vrsti, intenzitetu i trajanju vodnog stresa. Suša povećava količinu proteina i antioksidansa, a smanjuje količinu ugljikohidrata, lipida i ostalih nutrijenata mijenjajući senzoričke osobine u negativnom kontekstu. Suša smanjuje količinu amiloze u sjemenkama (Singh i sur., 2008), te količinu nezasićenih masnih kiselina (Taarit i sur., 2010). Nadalje, translokacija minerala (K, P, N, Mg, S, Zn, Fe i Cu) u sjemenku je poremećena (Oktem,

2008). Prema literaturnim podacima, suša odgađa cvatnju u kukuruzu, kvinoji i riži, dok kod pšenice, ječma i soje ubrzava generativnu fazu i fiziološku zrelost (Wach i Skowron, 2022). Fenofaza cvatnje posebno je osjetljivo razdoblje jer suša može izazvati sterilnost polena zbog smanjene receptabilnosti njuške tučka za polen. Sofisticirani adaptivni mehanizmi kao što je promjena obrasca i dinamike rasta, smanjenje gubitka vode transpiracijom promjenom stomatalne provodljivosti i rasporeda puči, uvijanje listova, promjene omjera korijen-izdanak, sinteza kompatibilnih osmolita samo su neki od strategija kojima se ublažavaju negativne posljedice vodnog stresa (Oktem 2008, Singh i sur. 2008; Taarit i sur. 2010).

2.3. Odgovor biljke na sušu

Kako bi se prilagodile suši, biljke su razvile veliki broj morfoloških, fizioloških, staničnih i biokemijskih prilagodbi koje im omogućuju preživljavanje u uvjetima vodnog stresa. Otpornost na sušu definira se sposobnošću biljke da vrlo rano detektira manjak vode i inicira odgovor. Generalno, sama otpornost na sušu je složena osobina, a uključuje aktivaciju nekoliko obrazaca djelovanja; bijeg („drought escape“), izbjegavanje („drought avoidance“), tolerancija („drought tolerance“) i oporavak („drought recovery“). Bijeg označava ubrzanje tj. ubrzano donošenje cvijeta i ploda prije nastupa vodnog stresa, izbjegavanje podrazumijeva očuvanje povećanog sadržaja vode u stanicama i prevenciju celularnih oštećenja. Nadalje, tolerancija označava rast biljke unatoč niskom sadržaju vode te oporavak koji nastupa nakon perioda vodnog stresa tijekom kojeg se uspostavlja hidrološka ravnoteža (Wach i Skowron, 2022). Biljke koje imaju kraći životni ciklus, smanjenu transpiraciju praćenu povećanim unosom vode, uspješnije osmotsku prilagodbu, pohranjivanje toksičnih iona u vakuole te razvijene mehanizme kojima ranije detektiraju manjak vode, su u pravilu uspješnije u toleranciji vodnog stresa.

Kao odgovor na stres izazvan manjkom vode biljka pojačano sintetizira komatibilne osmolite (osmoliti ili osmoprotektanti) čija je primarna uloga osmotsko prilagođavanje (osmoregulacija). Osmoregulacija je adaptivni mehanizam koji smanjuje osmotski potencijal stanice čime doprinosi unosu vode i očuvanju staničnog turgora. Osmoliti su niskomolekulski organski polarni spojevi, dobro topivi u vodi, bez naboja koji uključuju različite šećere, poliamine, sekundarne metabolite, aminokiseline i poliole. Osmoliti također imaju sposobnost detoksifikacije ROS čestica i zaštite celularnih i subcelularnih struktura. Za vrijeme vodnog stresa smanjen je vodni potencijal, a akumulacijom osmolita osigurava se unos vode u stanicu pa se može reći da osmoliti djeluju kao puferi (Nadeem i sur., 2020). U uvjetima stresa povećana biosinteza osmolita je regulirana povećanom aktivnošću različitih signalnih putova kao što je

MAP-kinaza ovisni put, potom signalizacija uvjetovana ionima kalcija te ABA stanična signalizacija koji u sinergističkom djelovanju s ROS doprinose razvoju tolerancije (Jogawat, 2019).

Poliamini (putrescin, kadaverin, spermidin) su dušični spojevi koji imaju ulogu u velikom broju staničnih procesa kao što je embriogeneza, dioba stanica, morfogeneza, regulacija rasta, te jačanje antioksidativne sposobnosti (Fadiji i sur., 2022). Djeluju kao kationi te imaju tendenciju stvaranja interakcija s negativno nabijenim staničnim strukturama kao što su DNA, RNA, fosfolipidi i proteini. Također, mogu blokirati rad ionskih crpki stvarajući preduvjete za ionsku osmotsku prilagodbu (Ghosh i sur., 2021).

Osim rezervne uloge, polisaharidi i topivi šećeri također doprinose osmotskom prilagođavanju. Važno je istaknuti da pojedine skupine šećera se induciraju nakon kraćeg, odnosno, dužeg trajanja sušnog perioda. Tako je povećanje koncentracije monosaharida zabilježeno kao dio inicijalnog odgovora, dok je povećana biosinteza fruktana uočena nakon dužeg izlaganja biljke manjku vode (Kerepesi i Galiba, 2000). Pojedini šećeri su specifičniji markeri tolerancije od drugih. U vrste *Craterostigma plantagineum* (Hochst.), koja je izrazito otporna na dehidraciju, trehaloza je bila najznačajniji nereducirajući šećer koji se pojačano akumulirao kroz duži vremenski period trajanja vodnog stresa zbog sposobnosti reverzibilne apsorpcije vode u uvjetima dehidracije (Rontein i sur., 2001). Nadalje, od ostalih šećera bitna je rafinoza, oligosaharid, čije se povećane koncentracije u biljci povezuju s povećanom otpornošću na stres izazvan dehidracijom (suša, salinitet, hladnoća) (Ghosh i sur., 2021). Suša inducira i pojačano nakupljanje polisaharida stanične stijenke kao što je lignin, suberin, ksiloglukan, pektini i ekspanzin, a krajnji rezultat je učvršćivanje stijenke i očuvanje turgora (Le Gall i sur., 2015).

Od ostalih osmoprotektanata koje inducira stres izazvan sušom su aminokiseline, poput glicin betaina (GB), prolina, cisteina, histidina te neproteinska aminokiselina GABA (gama aminomaslačna kiselina). Cistein, aminokiselina koja sadrži sumpor, uključen je sintezu metionina, vitamina i kofaktora, te ima osmoregulatorno djelovanje u uvjetima stresa (Nadeem i sur., 2020). Djelovanje GABA u uvjetima manjka vode očituje se u biosintezi hormona, staničnoj signalizaciji, regulaciji degradacije proteina, metabolizmu ugljika i dušika, te uklanjanju ROS. Tijekom vodnog stresa, zabilježene su povećane koncentracije GABA u crnog kima (*Nigella sativa* L.) (Rezaei-Chiyaneh, i sur. 2018), dok je egzogena primjena GABA povećala toleranciju vodnog stresa u višegodišnjeg ljulja (*Lolium perenne* L.) (Krishnan i sur., 2013) i crnog papra (*Piper nigrum* L.) (Vijayakumari i Puthur, 2016).

Kompatibilni osmolit GB se dobiva iz kolina i glicina, pripada kvarternim amonijevim spojevima, a biljke koje ga pojačano sintetiziraju imaju veću otpornost na povišen salinitet, sušu, hladnoću, visoke temperature i svjetlosni stres. Uglavnom je lokaliziran u kloroplastima, citoplazmi i vakuolama. GB povećava aktivnost PSII, štiti strukturu membrana, inducira ekspresiju stresnih gena te uklanja ROS čestice. U pamuka (*Gossypium hirsutum* L.), GB je ublažio toksična oštećenja izazvana kadmijem (Farooq i sur., 2016), a u soje (*Glycine max* L.) folijarna primjena GB povećala je otpornost na salinitet i sušu (El Sabagh i sur., 2015).

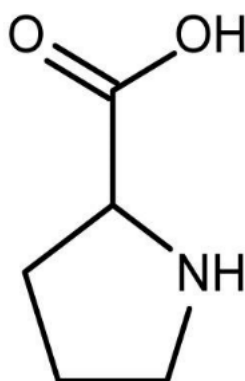
Šećerni alkoholi (polioli) imaju brojne uloge u stanici uključujući osmoregulatornu ulogu, sudjeluju u očuvanju prirodnog staničnog imuniteta, sudjeluju u signalnim putovima i prijenosu tvari. Polioli kao što su manitol, inozitol, glicerol i ribitol u svojoj kemijskoj strukturi sadrže OH⁻ skupinu koja sudjeluje u stvaranju zaštitnih hidratacijskih plašteva oko makromolekula. Na taj način makromolekule ostaju funkcionalne unatoč osmotskom stresu (Nadeem i sur., 2020). Glicerol je najjednostavniji polioli koji sadrži tri hidroksilne skupine. Obilno se akumulira u morskih algi u uvjetima abiotičkog stresa (Rathinasabapathi, 2000). Najzastupljeniji šećerni alkohol u biljkama je manitol koji predstavlja reducirani oblik manoze, dok je ciklički polioli mio-inozitol ključan u osmotskoj prilagodbi saliniteta u halofita (Nadeem i sur., 2020). Osmoregulatorna uloga saharoze i mio-inozitola u uvjetima vodnog stresa uočena je u tolerantnog genotipa pšenice Antonija (Marček i sur., 2019).

Biokemijski odgovor biljke na sušu podrazumijeva indukciju antioksidativnog obrambenog sustava čija je glavna uloga uklanjanje prekomjerne koncentracije ROS čestica. Enzimski antioksidativni obrambeni sustav uključuje enzime poput askorbat peroksidaze (APX), katalaze (CAT), superoksid dismutaze (SOD) i enzime askorbat-glutacionog ciklusa (ASH-GSH) glutation peroksidaze (GPX) i glutation reduktazu (GR), te neenzimske komponente kao što su askorbinska kiselina, cistein, glutation, flavonoidi, karotenoidi i tokoferoli (Poudel i sur., 2021). SOD je enzim koji predstavlja prvu crtu obrane u uvjetima oksidacijskog stresa. Naime, uz pomoć metalnog kofaktora (ovisno o izoformi) SOD dismutira superoksidni anion (O₂⁻) na kisik i H₂O₂. Nastali H₂O₂ se dalje uz pomoć specifičnih peroksidaza (APX i GPX) i CAT razlaže na vodu i kisik (Saeed i sur., 2021; Wahab i sur., 2022). Nespecifične peroksidaze (POD, gvajakol peroksidaza) koje koriste supstrate gvajakol i pirogalol za detoksifikaciju H₂O₂. Osim antioksidativne uloge, POD sudjeluje u procesu lignifikacije potaknute mehaničkom ozljedom ili napadom patogena (Koji i sur., 2009). Istraživanja potvrđuju pozitivnu korelaciju između povećane antioksidativne aktivnosti, koncentracije glutaciona i prolina, fenolnih spojeva i tolerancije vodnog stresa (Ferrara i sur., 2011; Hussain i sur., 2018; Uarrota i sur., 2018).

Nadalje, obećavajući rezultati u povećanju otpornosti biljke na sušu pokazuje i aplikacija moduliranja aktivnosti antioksidativnog sustava u razvijanju otpornosti na sušu posredovani korisnim mikroorganizmima. Kukuruz (*Zea mays* L.) tretiran vrstama roda *Bacillus* imao je smanjenu aktivnost APX i GR uz istovremeno zadovoljavajuću toleranciju vodnog stresa (Moreno-Galvan i sur., 2020). Suprotno, krumpir (*Solanum tuberosum* L.) inokuliran vrstama *B. pumilus* i *B. firmus* imao je značajno veću aktivnost CAT, SOD i APX (Sandhya i sur., 2010). Iz ovoga slijedi da bakterijski inokulati imaju sposobnost modulacije antioksidativnog sustava biljke suprimirajući ili inducirajući njegovu aktivnost.

2.3.1. Prolin

Prolin (C_4H_8NCOOH) (**Slika 1**) je neesencijalna aminokiselina, niske molekulske mase, koja se u uvjetima dehidracije u biljci nakuplja u većim količinama (Rajabbeigi i sur., 2013).



Slika 1 Strukturna formula prolina

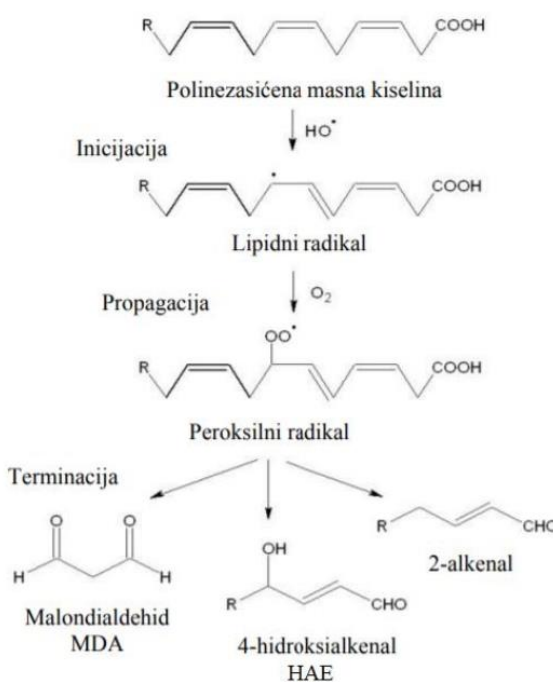
Biosinteza prolina može se odvijati istovremeno ili pojedinačno kroz dva puta: putem glutamata i putem ornitina. U citoplazmi, glutamat uz pomoć enzima P5C (Δ^1 -pirolin-5-karboksilat sintetaze) prelazi u glutamil- γ -semialdehid (GSA) čijom ciklizacijom nastaje Δ^1 -pirolin-5-karboksilat (P5C). Redukcijom P5C uz pomoć Δ^1 -pirolin-5-karboksilat reduktaze (P5CR) sintetizira se prolin. Ornitinski put sinteze obuhvaća transaminaciju ornitina u P5C uz pomoć ornitin- δ -aminotransferaze (OAT) i češće se događa u uvjetima ograničene količine dušika. Za razgradnju prolina do P5C zadužena je ProDH (prolin dehidrogenaza). Intermedijer P5C se do glutamata prevodi posredovanjem P5CDH (Δ^1 -pirolin-5-karboksilat dehidrogenaza) na unutrašnjoj strani mitohondrija (Chun i sur., 2018; Ghosh i sur., 2021). Iako su geni i enzimi uključeni u biosintezu prolina dobro poznati, još uvijek postoje dvojbe koji prekursor u sintezi

prolina je ključni. Neki autori vjeruju da je biosinteza prolina iz ornitina dominantnija u uvjetima klijanja, dok drugi tvrde da supstrat za sintezu prolina ovisi o vrsti. AbdElgaward i sur. (2015) ističu da je u trava više dominantniji glutamatni put, a u mahunarki ornitinski put. Utvrđeno je da se tijekom abiotičkog stresa, brzina biosinteze prolina u biljkama povećava što pomaže u očuvanju niskog omjera NADPH:NADP⁺. Niski NADPH/NADP⁺ važan je u očuvanju toka elektrona između PSII i PSI, očuvanju redoks ravnoteže unutar stanice i redukciji štete u kloroplastima nastale fotoinhibicijom (Ghosh i sur., 2021). Količina prolina u biljkama usko je vezana uz sušu i raste s povećanjem intenziteta. Zbog toga je mjerenje količine prolina bitno za utvrđivanje otpornosti na osmotski stres (Ahmad i sur., 2022). Prolin, kao osmoprotektor sudjeluje u očuvanju staničnog turgora, štiti od oksidativnog stresa uzrokovanog ROS česticama, doprinosi stabilnosti makromolekula poput lipida, nukleinskih kiselina i proteina, te služi kao izvor dušika i ugljika za biljke u uvjetima vodnog stresa (Marček i sur., 2019). Nadalje, djeluje kao molekularni šaperon tako što sprječava gubitak funkcije proteina, regulira pH vrijednost citoplazme, a u vodenoj sredini stvara hidratacijske plašteve oko fosfolipida i može umanjiti lipidnu peroksidaciju potaknutu prevelikom koncentracijom ROS (Marček i sur., 2014; Fadiji i sur., 2022).

U biljkama se povećanje količine prolina tijekom oksidativnog stresa povezuje s većom otpornošću na sušu. Biljke tretirane korisnim PGPB (*plant growth promoting bacteria*, PGPB) mikroorganizmima često pokazuju povećanu koncentraciju u uvjetima vodnog stresa. Primjerice kod kukuruza, inokulacija rodnom *Bacillus* sp. značajno je povećala sadržaj prolina (Fadiji i sur., 2022). Krastavci (*Cucumis sativus* L.) tretirani bakterijama *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* i *Serratia* sp. imali su tri do četiri puta veći sadržaj prolina u listovima, čime su bili zaštićeni od prekomjerne dehidracije (Poudel i sur., 2021). U istom istraživanju inficirane biljke, imale su manja oštećenja membrana u uvjetima vodnog stresa od netretiranih. Biljke paprike (*Capsicum annum* L.) i rajčice (*Lycopersicon esculatum* L.) tretirane s pripravkom koji je sadržavao rod *Rhizophagus* sp. i vrstu *Burkholderia seminalis* imale su značajan porast koncentracije prolina u uvjetima osmotskog stresa u odnosu na netretirane (Tallapregada i sur., 2016). Kour i sur. (2022) navode niz primjera u kojima je inokulacija biljaka s arbuskularnim mikoriznim (AM) gljivama u uvjetima vodnog stresa potakla jaču sintezu prolina. Primjerice, slanetak inficiran rizobakterijama *Bacillus subtilis*, *B. thuringiensis* i *B. megaterium*. Potom, orah u zajednici s vrstama *Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum lipofrum*, *Glomus etunicatum* i *Glomus mosseae* u kojeg je pored prolina zabilježen i veći sadržaj topivih šećera (Behrooz i sur., 2019).

2.3.2. Malondialdehid

Polinezasićene masne kiseline (PUFA) i lipidi su glavne sastavnice biomembrana čija struktura može biti narušena oksidacijom uslijed prekomjerne proizvodnje ROS u procesu nazvanom lipidna peroksidacija. Lipidna peroksidacija je proces koji se odvija u tri faze: inicijacija, propagacija i terminacija (**Slika 2**). U inicijalnoj fazi reakcije PUFA s ROS česticama nastaje lipidni radikal. U propagaciji ovaj radikal reagira s molekularnim kisikom te nastaje visoko reaktivni lipidni peroksil i alkoksil radikali koji pokreću završnu fazu lipidne peroksidacije (terminacija). U terminacijskoj fazi lančanim reakcijama radikali propagacije „napadaju“ susjedne molekule lipida uzrokujući degradaciju lipida, gubitak fluidnosti i integriteta membrana. Razgradnjom lipidnih hidroperoksida, lako se mogu proizvesti aldehidi (malondialdehid, akrolein) i drugi spojevi poput lipidnih epoksida ili alkohola (Labudda, 2013).



Slika 2 Stupnjevi lipidne peroksidacije (Modificirano prema: <https://alchetron.com/Lipid-peroxidation>)

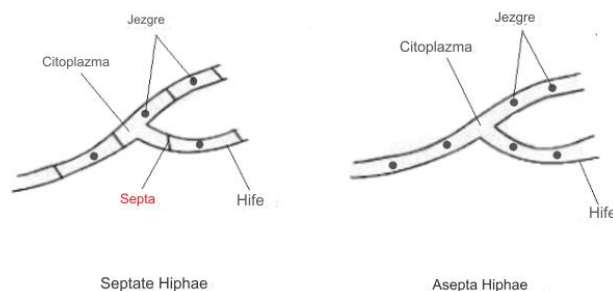
Malondialdehid (MDA) je pokazatelj stupnja lipidne peroksidacije, odnosno stupnja oštećenja membranskih lipida koja nastanu zbog utjecaja slobodnih radikala. U stanicama predstavlja jedan od konačnih produkata procesa razgradnje polinezasićenih masnih kiselina, a određuje se vrlo jednostavno metodom tiobarbiturine kiseline (TBA). MDA s TBA tvori intermedijere u omjeru 1:2, a određuje se spektrofotometrijski ili fluorometrijski (Labudda, 2013). Kao što je spomenuto, lipidna peroksidacija je u biološkim membranama marker oksidativnog stresa u

biljkama. Međutim, hidroperoksidi lipida i drugi produkti razgradnje, kao i inicijatori lipidne peroksidacije (npr. ROS) mogu posredovati u putovima signalne transdukcije. To ukazuje da lipidna peroksidacija, osim što je destruktivan proces, u manjem intenzitetu može imati i funkcionalnu ulogu (Labudda, 2013). Literaturni podatci ističu potencijalnu ulogu primjene pripravaka korisnih mikroorganizama u smanjenju intenziteta lipidne peroksidacije, nakupljanju ROS čestica te povećanju ukupne antioksidativne aktivnosti biljke uvjetima vodnog stresa (Ahmad i sur., 2022). Sadnice kineske datulje (*Zizyphus jujuba* (L.) H. Karst.) tretirane pripravkom koji je sadržavao vrste *Pseudomonas lini* i *Serratia plymuthica* imale su značajno manji sadržaj MDA nego netretirane (Ahmad i sur., 2022).

2.4. Efektivni mikroorganizmi

2.4.1. Obilježja gljiva i pojam mikorize

Gljive su nevaskularni eukariotski organizmi (jednostanični ili uglavnom višestanični) koje zbog jedinstvene strukturne organizacije i prisutnosti specifičnih prilagodbi su svrstane u carstvo Fungi. Stanice imaju 80S ribosome, stanična stijenka sadržava hitin (polisaharid specifičan za životinjske stanice), a većina gljiva ima malene jezgre s malim brojem kromosoma. Pored hitina stijenka sadržava različite druge polisaharide, glikoproteine, pigmente i lipide te pokazuje veliku plastičnost koja omogućava vijabilnost stanice. Stanična stijenka gljiva sadrži adhezine i veliki broj receptora koji primaju vanjske signale koji se integriraju u složenu mrežu kaskadnih reakcija prijenosa informacije do genoma (Garcia-Rubio i sur., 2020). Umjesto kolesterola fosfolipidni sloj biomembrana gljiva sadrži sterol i ergosterol, biosinteza aminokiseline lizin se razlikuje od puteva sinteze lizina kod drugih organizama dok se proteini koji grade mikrotubule razlikuju od proteina koji čine citoskelet biljaka ili životinja. U liječenju gljivičnih bolesti često se koriste lijekovi koji narušavaju strukturu ergosterola, sterola prisutnog u membranama sisavaca. Zbog nedostatka klorofila u staničnoj građi gljive su neovisne o svjetlu te mogu živjeti u potpunom mraku. Tijelo višestaničnih gljiva je filamentozno, a sastoji se od hifa koje čine micelij koji raste unutar ili na supstratu preko kojega se hrani. Postoje aseptatne hife, koje ne sadrže stanični zid (septa) između jezgara hifa, a često ih susrećemo u predstavnika skupine Zygomycetes (**Slika 3**). Kod septiranih hifa jezgre su odvojene septama, a nalazimo ih unutar skupina Ascomycetes i Basidiomycetes. S obzirom na strukturu i vrstu septi postoje brojne varijacije koje su specifične za pojedinu skupinu gljiva (McConnaughey, 2014).



Slika 3 Septatne i aseptatne hife (Izvor: <https://www2.hawaii.edu/~johnb/micro/m140/syllabus/week/handouts/m140.4.5.html>)

Gljive pripadaju heterotrofnim organizmima čiji egzoenzimi sudjeluju u razgradnji organske materije. Prema načinu ishrane i odnosu prema domaćinu gljive mogu biti: saprofiti koji koriste neživi supstrat i imaju ulogu razlagača u ekosustavima, paraziti koji koriste organske tvari iz drugog organizma indirektno ugrožavajući njihov opstanak i konačno sudionici mutualističkog odnosa s biljkama, algama i lišajevima (Volk, 2013).

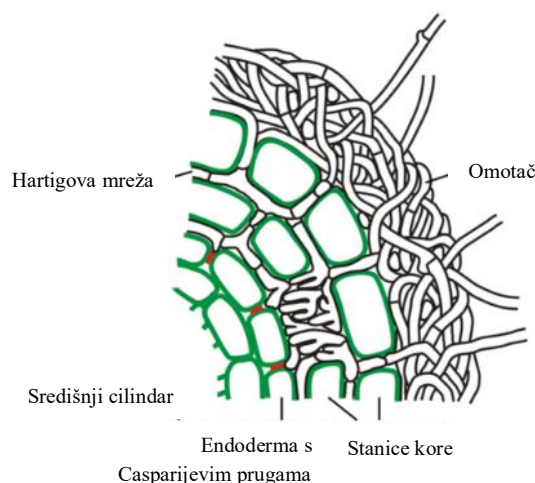
Mikoriza predstavlja simbiotsku povezanost između micelija mikoriznih gljiva i korijena viših biljaka. Prema Harley i Smith (1983) mikoriza je zajednica između gljive i biljke u kojoj ne dolazi do narušavanja integriteta biljke, a koje je često prisutno i rašireno u prirodi. U svih tipova mikoriza, hife iz kolonijaliziranog korijena prodiru u tlo povećavajuću apsorpcijsku površinu za unos hranjivih tvari posebice dušika, fosfata i kalija. Zauzvrat gljiva od domaćina koristi produkte asimilacije CO₂ - šećere (Volk, 2013; Dasgan i Temtek, 2022). Mutualistički odnos zasniva se na interakciji modificiranih absorptivnih organa - korijena biljke (fotobiont) i hifa gljive (mikobiont) (Brundrett, 2002). Ova asocijacija ima važnu ulogu u ekosustavima zbog toga što povećava produktivnost biljke i doprinosi ukupnoj bioraznolikosti. Generalno može se reći da interakcija biljke s mikoriznim gljivama poboljšava prinos i rast (**Slika 4**), no to ne mora uvijek biti pravilo. Naime, djelovanje nepovoljnih okolišnih faktora može oslabiti ukupni učinak mikorize te potaknuti razvoj drugih interspecijskih odnosa, od neutralnog mutualizma do negativnog parazitizma (Maherali, 2014).



Slika 4 Arhitektura korijena rajčice; mikorizni tretman i bez mikoriznog tretmana (*s lijeva na desno*)

(Modificirano prema: [Plants | Free Full-Text | Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Fertilization Influence Yield, Growth and Root Colonization of Different Tomato Genotype \(mdpi.com\)](https://doi.org/10.3390/plants10050840))

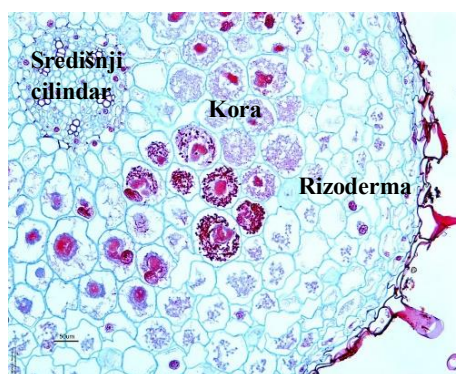
Prema Huey i sur. (2020) postoje četiri vrste mikoriza: ektotrofna (ECM), endotrofna (VA ili VAM), orhidejska i erikoidna mikoriza. Isti autori navode slijedeću kategorizaciju: endotrofna mikroiza uključuje arbuskularnu, erikoidnu i orhidejsku kategoriju, dok posebna kategorija arbutoidne mikorize podrazumjeva ektotrofnu i monotropoidnu mikroizu. U ektotrofnoj mikorizi hife stvaraju zaštitni omotač s vanjske strane korijena te prodiru između stanica rizoderme u primarnu koru (**Slika 5**). U međustaničnim prostorima rizoderme i kore hife se granaju te umrežavaju stvarajući Hartigovu mrežu. U ovoj vrsti mikorize hife nikada ne prodiru u stanice. Ektotrofan tip mikorize nalazimo u skupine Basidiomycota i ponekad u skupine Ascomycota.



Slika 5 Ektotrofna mikoriza u histološkog građi korijena (Izvor: https://en.wikipedia.org/wiki/Hartig_net)

Endotrofna mikoriza se još naziva i vezikularna arbuskularna mikoriza (VAM) ili arbuskularna mikoriza (VA). Ovaj mutualistički odnos izostavlja stvaranje zaštitnog omotača, a gljive koje

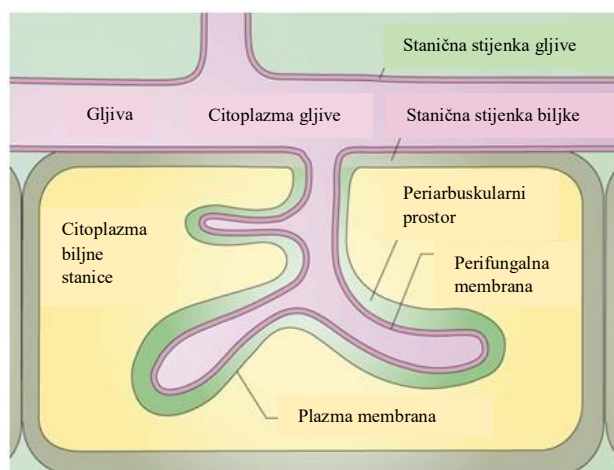
preferiraju ovakav odnos su iz skupine Glomeromycota. Umjesto stvaranja zaštitnog omotača, hife prodiru u intracelularne i intercelularne prostore stanica rizoderme i kore, no nikada ne ulaze u središnji cilindar (**Slika 6**). Inficirani dio korijena naziva se arbuskula, a posreduje u metaboličkoj razmjeni između gljive i domaćina (Devi i sur., 2021). Arbuskularni mikorizalni simbionti mogu biti u asocijaciji samo s kompatibilnim domaćinima, a nalaze se gotovo u svim taksonima unutar kritosjemenjača (Huey i sur., 2020). Nadalje, osim fosfora arbuskularne gljive potpomažu unos cinka, bakra, dušika i željeza, te pokazuju rezistentnost na određene patogene korijenovog sustava i pokazuju otpornost na dehidraciju (Huey i sur., 2020).



Slika 6 Endotrofna mikoriza u histološkoj građi korijena. Stanice rizoderme i kore sa znatom ružičastom granulacijom predstavljaju arbuskulu.

(Izvor: <https://breathinginbiology.tumblr.com/post/112631193001/endotrophic-or-arbuscular-mycorrhizae-are-fungus>)

U vezikularnoj arbuskularnoj mikoriznoj asocijaciji hife gljive se granaju i s membranom inficirane stanice korijena ili kore stvaraju perifungalnu membranu (**Slika 7**). Endomikoriza je češća od ektomikorize, a septatne gljive iz skupine Glomeromycota koloniziraju oko 70-90% korijenja kopnenih biljaka i uglavnom su prisutne u poljoprivrednim tlima širom svijeta (Poudel i sur., 2021). U životnom ciklusu stvaraju nespodne spore velikih dimenzija (> 1 mm), a spolni način razmnožavanja nije poznat. Spore obično sadržavaju puno jezgri (od nekoliko stotina do nekoliko tisuća) (McConnaughey, 2014).



Slika 7 Formiranje perifungalne membrane u inficiranoj stanici domaćina (Modificirano prema: <https://www.nature.com/articles/nrmicro1987>)

Uspješnost primjene mikoriznih pripravaka u praksi, osim kompatibilnosti biljne vrste i genotipa, ovisi i o drugim okolišnim uvjetima. Jedan od uvjeta je da mikorizne gljive neće rasti i kolonizirati korijen ako je količina fosfata u tlu previsoka ($>$ od 10 ppm) (Huey i sur., 2020). Razlog tomu je što u interakciji gljiva-biljka, mikorizne gljive potpomažu unos fosfata u biljku samo ako je njegova koncentracija u tlu niska. Kolonizacija korijena gljivicama započinje u trenutku kada korijen počne lučiti kemijske tvari koje privlače mikorizne organizme. U kemijske atraktante ubrajaju se šećeri, masne kiseline, hormoni, aromatski spojevi, sekundarni metaboliti i enzimi, a za gljivice predstavljaju izvor N i C. U takvim okolnostima stvara se interakcija, spore klijaju i kolonizacija napreduje kako biljka raste. Životni vijek mikoriznih gljiva je obično oko dvije godine što je u usporedbi s drugim biološkim stimulatorima rasta prilično dugo. Koliko je poznato, vapnenac koji je sastavni dio komercijalnih dodataka za poboljšanje kvalitete podlogama koje se koriste u uzgoju, nema značajan učinak na rast i kolonizaciju mikoriznih gljiva (Huey i sur., 2020). Mikorizne gljive se mogu kombinirati i s drugim promotorima rasta kao što se pomoćne bakterije ili gljivice koje stimuliraju rast i kolonizaciju. No, potrebno je voditi računa da prije primjene mikoriznog pripravka uzorci ne smiju biti kemijski tretirani određenim vremenski periodom kako bi se izbjegla slaba kolonizacija korijena (Miller, 2012). Mikorizni pripravci mogu se dodati direktno u tlo, ali i u hranidbenu podlogu. Tako korijen koji je prethodno bio koloniziran mikoriznim gljivama u nekom mediju, nakon prebacivanja u tlo ostaje u zajednici s mikoriznim gljivama.

Mogućnosti primjene mikoriznih pripravaka su velike. Primjerice, endotrofne mikorize povećavaju rezistentnost biljnih transplantata, grananje i broj cvjetova i plodova. Povećava se

veličina plodova, povrća i voća kao i vegetativna masa. Nadalje, mogu ublažiti početni stres u presadnica povećanjem dotoka vode i hranjivih tvari za biljku. Potencijal endotrofnih mikoriza može se iskoristiti za uzgoj ekonomski važnih kultura na tlima slabije kvalitete i neplodnim tlima (Huey i sur., 2020).

2.4.2. Rizobakterije

Rizobakterije (rizosferne bakterije) stanovnici su rizosfere, dijela tla koji obavija korijen biljke. Predstavnici skupina aktinobakterija (*Actinomycetes*, *Arthrobacter*, *Micrococcus* i *Streptomyces*), proteobakterija (*Pseudomonas* i *Rhizobium*) i koljena Firmicutes (*Bacillus*, *Peanibacillus* i *Neobacillus*) najčešći su predstavnici mikrobioma rizosfere (Berendsen i sur., 2012).

Interakcija biljka-rizobakterija je simbiotska. Bakterije fiksiraju atmosferski dušik koji se u korijenskim gomoljčićima prevodi u nitate i nitrite, a zauzvrat koriste ugljikohidrate i stanište u nodulima. Rizobakterije u literaturnim izvorima dolaze i pod nazivom *plant growth-promoting rhizobacteria* (PGPR) jer direktno potiču rast biljke kroz prilagodbu metaboličkih procesa, regulaciju fitohormona, proizvodnju egzopolisaharida, kolonizaciju korijenovog sustava i olakšanim unosom hranjivih tvari. Bakterije potpomažu rast biljke kroz fiksaciju atmosferskog dušika, proizvodnju siderofora (neribosomalni peptidi koji su zaduženi za stvaranje topivog oblika Fe^{3+} kojeg biljka može unijeti aktivnim transportom), stimulaciju hormonalne aktivnosti (auksina, giberelina i citokinina), unos fosfora i indukciju antioksidativnog odgovora. PGPR indirektno povećavaju tolerantnost biljke na abiotičke i biotičke stresne čimbenike kroz stimulaciju sistemski stečene otpornosti (Saeed i sur., 2021). Antagonističko djelovanje PGPR u povećanju rezistentnosti na patogene ogleda se kroz nekoliko aspekata: (I) visoka hidrolitička aktivnost hitinaza, proteaza, lipaza i glukanaza, enzima zaduženih za razgradnju patogenih gljivica; (II) kompetitivna interakcija s patogenom za hranu i prostor na površini korijena; (III) modulacija razine etilena, hormona uključenog u biotički stres i (IV) sinteza siderofora i antibiotika. Neki sojevi roda *Pseudomonas* imaju sposobnost sinteze cijanovodika (Saeed i sur., 2021). Proizvodnja siderofora je jedan od istaknutijih mehanizama biokontrola PGPR. Siderofori vezivanjem viška željeza iz rizosfere, smanjuju njegovu količinu što reducira proliferaciju biljnih patogena (Olanrewaju i sur., 2017). Brojne rizobakterije i gljivice imaju sposobnost sinteze antimikrobnih komponenti koje ciljano djeluju na sintezu stanične stjenke i strukturu membrana patogena te stvaranje inicijacijskog kompleksa na maloj ribosomalnoj podjedinici (Maksimov i sur., 2011). Atmosferski dušik se

fiksira uz pomoć simbiotskih bakterija (rod *Rhizobium* i *Frankia* koje žive u nodulima korijena mahunarki i neleguminoznih drvenastih vrsta), te nesimbiotski pomoću rodova *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Acetobacter*, *Bacillus* i *Pseudomonas*. Brojne PGPR rizobakterije sintetiziraju fitohormone i sekundarne metabolite koji interferiraju biosintezi auksina npr. 2,4-diacetylphloroglucinola (DAPG) kao i sintezu NO. Poznato je da niska koncentracija auksina (IAA) potiče elongaciju primarnog korijena. PGPR imaju sposobnost dodatne sinteze IAA i njihovih derivata koji potiče lateralno grananje i povećanje površine korijena dok se smanjuje brzina rasta primarnog korijena. U PGPR bakterijama IAA se sintetizira iz triptofana koji se nalazi u izlučenim komponentama korijena, a čija koncentracija je varijabilna ovisno o genotipu biljke (Vacheron i sur., 2013). Određene rizobakterije (*Rhizobium*, *Bacillus*, *Pseudomonas*) proizvode organske i anorganske spojeve koji zakiseljavaju rizosferu (*rhizosphere acidification*). Modulacija pH vrijednosti tla važna je za mineralizaciju organskog fosfora čime se povećavaju dostupnost fosfora za biljku (Umar i sur., 2020). Osim za promoviranje rasta, PGPR mogu detoksificirati i razložiti štetne tvari pa imaju potencijalnu primjenu i u bioremedijaciji tla. Translokacija teških metala izvan stanice aktivacijom ionskih crpki, pohranjivanje metala u vakuole i konverzija metala u manje štetni oblik, samo su neki od načina koje PGPR koriste kako bi prevladali toksičnost rizosfere (Ahmad i sur., 2014; Lata i sur., 2019; Yaghoubian i sur., 2019). Naseljavanje korijena odvija se kemotaksijom. Organske kiseline, amonokiseline, šećeri i druge male molekule, koji su produkti ekskrecijske djelatnosti korijena, privlače mikroorganizme što rezultira njihovom proliferacijom. Izlučene komponente su specifične za pojedinu vrstu ili bakterijski soj, što znači da interakcija biljka-bakterija mora biti kompatibilna. Simbiotska povezanost između bakterija i korijena biljaka je selektivna. Primjerice, benzoksazinoid, sekundarni metabolit antimikrobnog djelovanja koji se izlučuje na površinu korijena kukuruza, mijenja sastav mikrobioma korijena koji najviše pogađa skupinu aktinobakterija i proteobakterija (Vishwakarma i sur., 2020).

Za komercijalnu proizvodnju pripravaka za povećan rast biljke na bazi PGPR, najviše se koriste vrste *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*, *P. aeruginosa* i *Bacillus subtilis* (Ahmad i sur., 2022).

2.5. Uloga mikoriznih gljiva i rizobakterija u razvoju otpornosti na sušu

Mikorizne gljive povećavaju vjerojatnost opstanka biljke za vrijeme vodnog stresa. Ova percepcija proizlazi iz činjenice da mikorizne gljive ubrzavaju tolerantnost na sušu kroz transgeneracijsko nasljeđivanje mikoriznih biljaka koje su tijekom vremena preživjele ponavljane periode vodnog stresa u usporedbi s nemikoriznim biljkama. Ipak, neke mikorizne

gljive mogu imati neutralan ili štetan učinak na biljku tijekom vodnog stresa. One skupine koje doprinose otpornosti su arbuskularne mikorize (AMF), ektotrofne mikorize i erikoidne mikorize. Zabilježeno je da mikorizne simbioze ovih skupina ubrzavaju evolucijski proces adaptacije biljke na sušu (Cosme, 2023). Prema Li i sur. (2019) arbuskularne gljive povećavaju stopu fotosinteze, povećavaju antioksidativnu aktivnosti i smanjuju stupanj lipidne peroksidacije (MDA). Kolonizacija arbuskularnih gljiva stimulira fiziološke procese kao što je stomatalna provodljivost, asimilacija CO₂ te povećava vodni potencijal lista (Madouh i Quoreshi, 2023). Zabilježene su i promjene u strukturi tla koje sadrži arbuskularne gljive. Proliferacija hifa pojačava agregaciju i stabilnost tla. Agregati nastaju zbog sinteze glomalina (glomalin-related soil protein, GRSP), proteina koji djeluje kao ljepilo na kojeg se vežu hife i voda povećavajući kapacitet zadržavanja vode u tlu (Tang i sur., 2022). U potrazi za vodom, hife prodiru u pukotine tla čime se povećava kapacitet korijena za usvajanje vode i hraniva što su ključni preduvjeti za bolje toleriranje vodnog stresa. Biljke koje su u mikorizi s AMF imaju povećanu akumulaciju osmolita čija sinteza predstavlja adaptivnu strategiju u toleriranju vodnog stresa. Uočeno je da kolonizacija pistacije (*Pistacia vera* L.) s AM gljivama povećava njihovu toleratnost na deficit vode kroz povećano nakupljanje spojeva za osmotsku prilagodbu (Fernández-Lizarazo i Moreno-Fonseca, 2016). Slatki krumpir (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) u mikoriznoj zajednici s vrstama *Glomus* sp. i *Acaulospora* sp., pokazao je veći pad osmotskog potencijala u odnosu na nemikorizne biljke. Pad osmotskog potencijala bio je rezultat pojačane sinteze osmolita (Fernández-Lizarazo i Moreno-Fonseca, 2016). AMF povećavaju antioksidativni obrambeni odgovor, biosintezu fenolnih spojeva, te indukciju stresnih proteina markera dehidracije (osmotina i proteina kasne embriogeneze, LEA (*late embryogenesis abundant proteins*)) (Madouh i Quoreshi, 2023). Simbioza korijena s AMF djeluje i na molekularnoj razini. Ova interakcija u uvjetima vodnog stresa povećava ekspresiju gena zaduženih za sintezu akvaporina, utječe na prijenos iona i šećera kroz membranu modulirajući aktivnost proteinskih crpki i prijenosnika što doprinosi vodnom statusu biljke (Bahadur i sur., 2019). AMF imaju važnu ulogu i u staničnoj signalizaciji jer povećavaju unos Ca²⁺ koji je jedna od signalnih molekula važnih u detekciji vodnog stresa. Nadalje, u uvjetima vodnog stresa AMF povećavaju unos K⁺, bitnog iona u aktivaciji enzima, potom dušika, fosfora i magnezija (Madouh i Quoreshi, 2023). Na hormonalnoj razini, interakcija AMF s biljkom inducira biosintezu jasmonske kiseline (JA), IAA i giberelina, dok koncentracija abscizinske kiseline (ABA), hormona koji se inducira u uvjetima dehidracije, opada (Vishwakarma i sur., 2017; Xie i sur., 2018).

Kao i mikorizne gljive, PGPR povećavaju otpornost biljke na stresne uvjete kroz proizvodnju bakterijskih enzima, egzopolisaharida (EPSs) i sintezu ciljanih metabolita kao što su osmoliti. Kukuruz inokuliran rizobakterijom *Azospirillum lipoferum* imao je povećan sadržaj topivih šećera i prolina što je posljedica osmotske prilagodbe u uvjetima vodnog stresa (Poudel i sur., 2021). Kao odgovor na dehidraciju biljke pojačano sintetiziraju i glicin-betain čija se povišena razina predstavlja adaptivi odgovor. U interakciji grah - *Pseudomonas aeruginosa*, koncentracija GB u biljnom tkivu se povećala kao odgovor na sušu (Sarma i Saikia, 2013). Nadalje, literaturni izvori iznose povećanje koncentracije kolina, prekursora biosinteze GB, u mikrobiomnoj asocijaciji tla i biljke u uvjetima vodnog stresa (Rocha i sur., 2019). EPSs stvaraju povoljnu mikrosredinu tako što zadržavaju vodu, pa i u uvjetima vodnog stresa te zone su vlažnije nego okolno tlo. Sposobnost sinteze EPSs imaju: *Rhizobium leguminosarum*, *Agrobacterium vinelandii*, *Bacillus drentensis*, *Enterobacter cloacae*, *Agrobacterium* spp., *Xanthomonas* sp., and *Rhizobium* sp. Pozitivni učinak EPSs na razvoj tolerancije vodnog stresa uočen je u simbiotskom odnosu PGPR i uročnjaka (*Arabidopsis* sp.) (Ghosh i sur., 2019), pšenice (Khan i Bano, 2019) i suncokreta (Sandhya i sur., 2009). U uvjetima vodnog stresa hormon etilen ograničava rast biljke. PGPR bakterije imaju sposobnost sinteze ACC deaminaze (1-aminociklopropan-1-karboksilat deaminaze), enzima koji je uključen u katabolizam etilena konverzijom ACC u amonijak i α ketobutirat čime se smanjuje koncentracija etilena i održava stanje homeostaze. Brojna istraživanja pokazuju da biljke koje su inokulirane PGPR pokazuju manja oksidativna oštećenja u uvjetima vodnog stresa zbog visoke aktivnosti ACC deaminaze u bakterijskom inokulatu (Chandra i sur., 2019; Danish i sur., 2021). Primjeri pozitivne interakcije ACC deaminaze-producirajućih PGPR bakterija i tolerancije vodnog stresa uočeni su u rajčice i paprike (Mayak i sur., 2004; Gowtham i sur., 2020), graška (Arshad i sur., 2008) i kukuruza (Danish i sur., 2021). Sposobnost sinteze fitohormona još je jedna osobina PGPR bakterija. Rod *Azospirillum* sintetizira IAA koji potiče razvoj bočnog korijenja povećavajući dotok vode u uvjetima vodnog stresa. Ovo svojstvo uočeno je u rajčice (Molina-Favero i sur., 2008) i kukuruza (Danish i sur., 2021). U uvjetima vodnog stresa giberelin sintetizirajuće PGPR bakterije (*Pseudomonas putida* H-2-3) stimulirale su rast soje (Kang i sur., 2014). Tijekom vodnog stresa mikrobi pojačano proizvode hidrolitičke enzime koji razgrađuju polisaharide (celulozu, lignin) stanične stijenke. U mutualističkoj interakciji biljka-PGPR bakterije, osim domaćina koji može mijenjati sastav ekskreta s ciljem privlačenja bakterija, i mikrobna zajednica luči signale koji diktiraju sastav ekskreta. Na ovaj način se stvara recipročna veza između profila metabolita koji se izlučuje i profila mikroba koji čine asocijaciju s domaćinom (Ahmad i sur., 2022). PGPR smanjuju oksidativni stres povećavajući aktivnost antioksidativnog

sustava biljke. Bosiljak u simbiozi s *Pseudomonas spp.*, *Brachypalpoidea lentus* i *Azospirillum brasilense* imao je veći sadržaj klorofila i veću antioksidativnu aktivnost u uvjetima vodnog stresa (Gowtham i sur., 2020). Rajčica inokulirana vrstom *Bacillus subtilis* Rhizo SF 48, imala je povećanu aktivnost enzima APX i SOD, dok je u iste vrste bakterijski soj *Streptomyces* povećao aktivnost APX kao i sadržaj ukupnih šećera, H₂O₂ i MDA (Abbasi i sur., 2020; Gowtham i sur., 2020). Iako veliki broj istraživanja ističe brojne dobrobiti primjene PGPR bakterija pri smanjenju i ublažavanju štetnih učinaka vodnog stresa na biljku, ipak postoje rezultati koji potvrđuju da učinak ove vrste interspecijskog odnosa ovisi o intenzitetu i trajanju stresa, životnoj starosti i vrsti biljke.

2.6. Salata

Salata (*Lactuca sativa* L.), jednogodišnja zeljasta biljka koja pripada razredu *Magnoliopsida*, redu Asterales, porodici *Asteraceae* (glavočike), potječe iz zapadne Azije i istočne Afrike, s posebnim naglaskom na Egipat gdje se uzgajala već prije 2500 godina (Avrelio, 2019; Kapular, 2021). Egipćani su salatu koristili za proizvodnju sjemenskog ulja (Noumedem i sur., 2017). Kroz povijest, od 500. pr. Kr. salata se koristila kao namirnica, a njezino širenje pratilo je put od Egipta do Grčke, Rimskog Carstva i srednje Europe. U Europi se uzgaja od 8. stoljeća (Avrelio, 2019; Kapular, 2021). U kasnom 15. stoljeću Kristofor Kolumbo je biljku uveo u Ameriku. Ujedno su mnogi srednjovjekovni autori posebno opisali upotrebu salate kao ljekovitu biljku (Noumedem i sur., 2017). Posebno su značajne sorte koje su opisane prvi put, puterica u 16. te kristalka u 19. stoljeću. Proizvodi se iz sjemena ili presadnica i ima kratku vegetacijsku sezonu (Avrelio, 2019; Kapular, 2021).

Uzgoj salate varira s godišnjim dobima; tijekom proljeća i jeseni salata se uglavnom uzgaja na otvorenome, dok se zimi uzgaja u zaštićenim prostorima. Za proljetni uzgoj na otvorenome cijeni se spori razvoj cvjetne stabljike, dok je za zimski uzgoj u zaštićenim prostorima važna sposobnost formiranja glavica u uvjetima slabijeg intenziteta svjetla i kraćeg trajanja dana. Kristalke su tolerantnije na visoke temperature i razvoj cvjetne stabljike, što ih čini prikladnima za kasnoproletni, ljetni i ranojesenski uzgoj na otvorenome (Ilić, 2018).

Salata se globalno uzgaja na približno 800 000 ha, s proizvodnjom od 17,5 milijuna tona i prosječnim prinosom od otprilike 22 t/ha (Kapular, 2021). Kina je prvi i prednjači kao najveći svjetski proizvođač salate sa 13,5 milijuna tona u 2014. godini. Proizvodi četiri puta više od SAD-a koji je klasificiran kao drugi najvažniji proizvođač u svijetu. Iza SAD-a slijedi Indija, zatim Europa u kojoj je Španjolska dominantna zemlja te rangirana kao četvrti svjetski

proizvođač salate, a slijedeći europski predvodnik u uzgoju salate bi bila Italija (Noumedem i sur., 2017). U Hrvatskoj se salata uzgaja na oko 3 000 ha, s godišnjom proizvodnjom od približno 18 500 t i prosječnim prinosom od oko 7 t/ha. Od ukupne količine proizvedene salate u Hrvatskoj, 30 % se uzgaja u zaštićenim prostorima, dok se preostali dio proizvodi na otvorenim poljoprivrednim površinama (Kapular, 2021).

2.6.1. Morfološka obilježja i razvoj

Salata se uzgaja zbog jestive glavice, odnosno cvata. Njezin korijen je vretenast, mesnat, rastresit, prozračan i dobro razvijen, odgovara promjeru rozete s listovima. Glavnina se nalazi u površinskom sloju tla na dubini od 25 do 35 cm, iz kojeg izbijaju postrane žilice prvog i drugog reda. Salata koja je uzgojena iz presadnica se plitko ukorjenjuje. U prvoj godini vegetacije, stabljika salate se sastoji od kratkih nodija i internodija te formira rozetu lišća različitih oblika i boja, ovisno o sorti, s tamnijim i krupnijim vanjskim te svjetlijim i uspravnijim unutarnjim listovima. Centralni dio čini aktivni pup koji kontinuirano stvara novo lišće (Ilić, 2018; Kapular 2021). U drugoj godini stabljika se naglo izdužuje do 1,5 m, grana se i završava glavičastim cvatovima sa žutim cvjetovima. Salata je samooplodna, ali je moguća i stranooplodnja putem kukaca (Ilić, 2018). Plod salate je roška koja može biti sive, crne ili smeđe boje, duguljastog oblika i dužine 3 do 9 mm (Avrelio, 2019). Sjeme salate je tamnosmeđe, crne ili sivobijele boje, dužine 3 do 4 mm i širine 0,3 do 0,5 mm, izduženog i ovalnog oblika, a zadržava klijavost do četiri godine ako se pravilno čuva (Ilić, 2018; Avrelio, 2019). Pod visokim temperaturama i dugim danima, salata ulazi u reproduktivni stadij (generativnu fazu), u kojoj se glavičasti cvatovi formiraju na vrhovima cvjetnih stabljika. Cvatovi čine cvat glavicu obavijenu pricvjetnim listovima. Svaki cvat se sastoji od oko 15 do 20 dvospolnih jezičastih cvjetova žutog ocvijeća. Cvjetovi se otvaraju rano ujutro te se glavica zatvara pri punom osvijetljenju (Ilić, 2018).

Salata glavatica (*Lactuca sativa* var. *capitata*), tijekom druge polovine vegetativne faze rasta, formira glavicu s dobro preklapljenim vanjskim listovima, dok unutarnji listovi nastavljaju rasti unutar glavice (Avrelio, 2019; Kapular, 2021). Vanjski listovi su veći i variraju u boji od svijetlo do tamno zelene, ponekad s prisutnošću antocijanina, dok su unutarnji listovi sitniji, nježniji i boje se kreću od svijetlo žute do krem bijele (Ilić, 2018). Glavica može biti okrugla ili ovalna, više ili manje nabijena, s bazom koja mora biti dobro zatvorena bez proraslica (Avrelio, 2019). Ovisno o građi listova, dijeli se na kristalke i maslenke (puterice). Puterice (**Slika 8a**)

karakteriziraju manje glavice s mekanim, sočnim i ovalnim listovima glatke površine i netaknutog cjelovitog ruba (Ilić, 2018). Glavice su svijetlozelene i dobro prekrivene lisnim ovojnicama. Kristalke (Slika 8b) imaju krupniju glavicu sa razvijenom većom lisnom rozetom, a listovi su krhki, nazubljenog ruba, mjehurasto naborane površine i hrskave strukture s izraženim žilama (Avrelio, 2019).



Slika 8 Puterica (a) i kristalka (b) (Izvor: dobarzivot.net)

2.6.2. Važnost salate u ishrani

Zelena salata (*Lactuca sativa* L.) je svestrano povrće koje se često koristi u prehrani najčešće kao svježe povrće, prilog ili predjelo, a prije konzumiranja je treba dobro oprati pod mlazom vode. Nutritivne vrijednosti salate najbolje se iskorištavaju ukoliko se konzumira svježa, a listove treba izbjegavati držati duže vrijeme u vodi jer se lako gube korisne tvari (Ilić, 2018). Vanjski listovi salate sadrže oko trideset puta više vitamina A i tri puta više vitamina C od unutarnjih listova (Kapular, 2021). Zbog visokog sadržaja vitamina C, poznata je po otpornosti na infekcije i sposobnosti borbe protiv anemije (Noumedem i sur., 2017). Žile vanjskih listova sadrže više kalijevog citrata, natrijevog citrata i vlakana (Kapular, 2021). Tamnozeleni listovi imaju veću hranjivu vrijednost od samih glavica. Osim toga, salata je bogata i s ostalim vitaminima: B1, B2, niacinom, B6, E, K i folnom kiselinom (Ilić, 2018). U 100 g salate nalazi se 96% vode, 2,2 g ugljikohidrata, 1,4 g bjelančevina, 1,2 g pepela, 1,1 g dijetalnih vlakana i 0,2 g masti. Sadrži mnoge minerale: željezo, natrij, kalcij, kalij, jod, fosfor, bakar i arsen (Noumedem i sur., 2017). Ugodnog je okusa zbog prisutnosti jabučne i limunske kiseline. Međutim, može imati i gorkast okus zbog prisutnosti laktopikrina, laktucinske kiseline, laktocerola i neolaktucina (Ilić, 2018).

Konzumacija zelene salate se danas iznimno proširila u svijetu zbog visoke nutritivne vrijednosti, ali i ljekovitog značaja. Mnoge studije su dokazale antimikrobna, antioksidativna,

neuroprotektivna i protuupalna svojstva, gdje ovisno o stanju biljke (stres) analizom etričnih ulja i hlapljivih spojeva pokazuje sadržaj različitih spojeva i omjera. Primjerice, otkriveni antioksidativni spojevi u salati su askorbinska kiselina, zatim tanini, aminokiseline, saponini, terpenoidi, dok alkaloidi nisu otkiveni. Međutim, parametri antioksidansa mogu odstupati kada su stanice podvrgnute reakciji preosjetljivosti te dožive produljeni oksidativni stres, prvenstveno kroz povećane prooksidativne aktivnosti koja se inicijalno javlja pri nedostatku pojačanih antioksidativnih aktivnosti (Noumedem i sur., 2017). Također, uočeno je da salata ubrana u srpnju je imala veći ukupni sadržaj fenola i antioksidativni kapacitet od one ubrane u rujnu, što sugerira da bi uvjeti okoliša mogli utjecati na njen sadržaj fenola i antioksidacijsku aktivnost (Liu et al., 2007). Noumedem i sur. (2013) tvrde da salata ima potencijal u istraživanjima vezanim za smanjenje rezistentnosti Gram-negativnih bakterija na antibiotike.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Zadatak

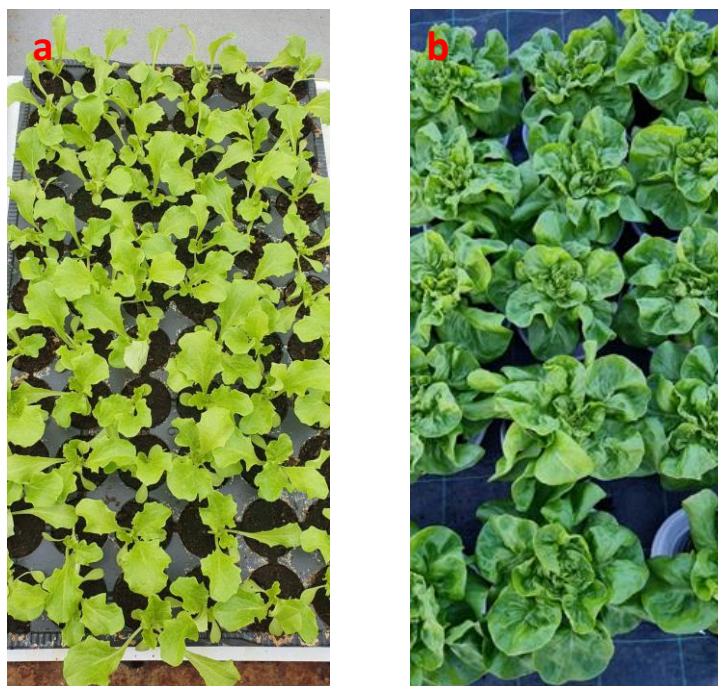
Zadatak ovog rada bio je:

- Istražiti odgovor oba genotipa salate (puterice i kristalke) na povećanje intenziteta vodnog stresa praćenjem morfoloških i biokemijskih parametara bez dodatka efektivnih mikroorganizama i mikoriznog pripravka,
- Usporediti toleranciju vodnog stresa između puterice i kristalke bez dodatka efektivnih mikroorganizama i mikoriznog pripravka,
- Istražiti doprinosi li dodatak efektivnih mikroorganizama i mikoriznog pripravka otpornosti na stres izazvan sušom u oba genotipa,
- Usporediti tolerantnost vodnog stresa između puterice i kristalke uz dodatak efektivnih mikroorganizama i mikoriznog pripravka.

3.2. Materijal i metode

3.2.1. Uzgoj biljnog materijala

Uzorci salate (*Lactuca sativa* L.) dva genotipa puterica i kristalka, su uzgojene iz sjemena u kontejnerima za presadnice načinjene od stiropora, dimenzije 537 x 328 x 65 mm. U svaki odjeljak je posijana jedna sjemenka što je omogućilo ujednačeno klijanje i nicanje. U ovom dijelu istraživanja su biljke zalijevane jednakom količinom vode kako bi se omogućio što ujednačeniji početni porast. Kontejneri su napunjeni supstratom za uzgoj presadnica (Klasmann potgrond H, Klasmann-Deilmann GmbH, Geeste, Njemačka). Nakon tri tjedna rasta u kontejnerima biljke su presađene u posude zapremnine 3 l. Sveukupno je u istraživanju bilo 180 biljaka, odnosno posuda. Istraživanje je provedeno na dva vrlo rasprostranjena tipa salate, odnosno na kristalki (Zagrebačka kristalka) i puterici (Majska kraljica) (Slike 9a i 9b). Nakon presađivanja su biljke na svim tretmanima bile zalijevane jednakim obrocima navodnjavanja kako bi se omogućilo dobro ukorjenjivanje te ujednačen početni porast. Tijekom istraživanja je svakih deset minuta mjerena temperatura i vlažnost zraka (Data logger, Axiomet AX-DT200). U prosjeku je temperatura zraka bila 20 ± 2 °C, a vlažnost zraka 40 ± 5 %.



Slika 8 Presadnice kristalka (a) i puterice (b) na početku eksperimenta

(Ljubazno ustupila: prof. dr. sc. M. Marković)

3.2.2. Tretman vodnim deficitom i komercijalnim pripravkom

Dva tjedna nakon presađivanja su biljke zalijevane prema unaprijed određenim tretmanima navodnjavanja.

Višečimbenično istraživanje je postavljeno u tri ponavljanja s pet biljaka unutar tretmana te sa slijedećim čimbenicima:

A – tip salate: a1 = kristalka, a2 = puterica (maslenka),

B – navodnjavanje: b1 – kontrolni tretman (100 % retencijskog kapaciteta za vodu (Rkv); b2 – 80 % Rkv i b3 – 60 % Rkv,

C – mikorizne gljive: c1 – kontrolni tretman (bez mikoriznih gljiva), c2 – dodane mikorizne gljive.

U istraživanju je korišten komercijalni pripravak koji je sadržavao smjesu mikoriznih gljiva i korisne mikroorganizme pod imenom Mykorrhiza Soluble (Tyroler glückspilze, Innsbruck, Austrija). Pripravak je sadržavao:

- endomikorizne gljive (*Glomus intraradices*, *G. mosseae*, *G. aggregatum* i *G. etunicatum*),
- ektomikorizne gljive (*Pisolithus tinctorius*, *Rhizopogon villosulus*, *R. luteolus*, *R. fulvigleba* i *R. amilopogon*),
- korisne mikroorganizme (*Bacillus subtilis*, *B. licheniformis*, *B. azotoformans*, *B. megaterium*, *B. coagulans*, *B. pumilus*, *B. thuringiensis*, *B. stearothermophilus*, *Paenibacillus polymyxa*, *P. durum*, *P. fluorescens*, *P. gordonae*, *Azotobacter polymyxa*, *A. chroococcum*, i kvasce *Saccharomyces cerevisiae*, *Streptomyces griseus*, *S. lydicus*, *Pseudomonas aureofaciens* i *Deinococcus erythromyxa*) (Kojić i sur., 2023).

Mikorizni pripravak je otopljen u vodi prema uputama proizvođača i dodan obrokom navodnjavanja na tretmanima c2, dok je tretman c1 bio kontrolni tretman. Pripravak je dodan u kritičnoj fazi za salatu, odnosno u fazi formiranja glavice. Obrok navodnjavanja, odnosno količina vode koja je dodana u jednom navodnjavanju (dcl) je određena prema retencijskom kapacitetu za vodu. Za određivanje retencijskog kapaciteta za vodu (Rkv) je uzorkovan supstrat te stavljen u tri prozirne posude s perforiranim dnom kako bi višak vode mogao otjecati. Posude su do pola napunjene supstratom, a zatim je površina supstrata laganim pritiskom poravnana te prekrivena filter papirom. Potom je polako dodavana voda, odnosno uzorci supstrata su vlaženi

sve dok višak vode nije počeo otjecati iz posude što znači da je supstrat saturiran vodom. Prozirna posuda je omogućila bolju vizualnu kontrolu kako se ne bi pojavila mjesta sa suhim dijelovima, odnosno kako bi sav supstrat bio ujednačeno vlažan. Nakon što se pojavila drenažna voda, vrh posude je zatvoren plastičnom vrećicom i poklopcem kako bi se spriječila evaporacija, a voda se gubila isključivo otjecanjem (drenažom). Uzorci vlažnog supstrata su na tri dana uskladišteni u tamnu prostoriju bez grijanja i prirodne svjetlosti. Nakon toga je iz srednjeg dijela svake posude uzorkovano 100 g supstrata te je ponovljen postupak gravimetrije kako je prikazano kod određivanja trenutne vlažnosti (Trv). Za određivanje obroka navodnjavanja je uzeta srednja vrijednost dobivenih rezultata Rkv-u. Obrok navodnjavanja čini razliku u masi uzorka supstrata od retencijski kapacitet za vodu (Rkv) i Trv (g):

$$O = Rkv - Trv$$

Gdje je:

O = obrok navodnjavanja (g)

Rkv = retencijski kapacitet za vodu (g)

Trv = trenutna vlažnost (g).

Zatim je obrok navodnjavanja je preračunat za količinu supstrata u posudi prema slijedećem izrazu:

$$Op = \frac{O \times \text{supstrat (g)}}{1 \text{ g}}$$

Gdje je:

Op = obrok navodnjavanja po posudi (g).

U konačnici je obrok navodnjavanja preračunat u dcl radi lakšeg manipuliranja po tretmanima navodnjavanja.

Na kontrolnom tretmanu su biljke navodnjavane tako da je vlažnost supstrata održavana na 100 % Rkv. Smanjivanjem obroka navodnjavanja postignut je vodni stres tako što je vlažnost supstrata održavan na 80 % (b2) i 60 % (b3) Rkv. Posljedično je obrok navodnjavanja bio 2,3 dcl (b1), 1,8 dcl (b2) i 1,4 dcl (b3).

3.2.3. Praćenje rasta

Nakon 52 dana rasta provedena su morfološka mjerenja te su uzorkovani listovi salate za biokemijske analize. Pomičnim digitalnim mjerilom izmjerena je visina glavice (cm) i promjer glavice salate (cm) te je određen broj listova po glavici salate. Zatim je izmjerena masa glavice (g) bez korijena na preciznoj digitalnoj vagi. Uzorkovani su listovi salate sa srednjeg dijela glavice te do biokemijskih analiza čuvani pri -80°C . Uzorci listova su homogenizirani u tekućem dušiku, a potom je oko 100 mg tkiva pohranjeno u Eppendorf epruvete za određivanje koncentracije slobodnog prolina i određivanje stupnja lipidne peroksidacije (MDA).

3.2.4. Određivanje koncentracije prolina

Sadržaj slobodnog prolina određen je metodom prema Batesu i sur. (1973). U biljno tkivo se doda 1 mL 3%-tne sulfosalicilne kiseline, kratko vorteksira te centrifugira na 20000g, 15 minuta na 4°C . Zatim se supernatant prebaci u čiste Eppendorf epruvete i ponovi se postupak na talogu te se supernatant pridruži prethodnom. Nakon toga pipetira se 1500 μl ekstrakta, 750 μl kiselog ninhidrina i 750 μl ledene octene kiseline u staklene epruvete. Otopina kiselog ninhidrina se priprema tako što se u čašu doda 2,085 g ninhidrina i otopi sa 50 ml ledene octene kiseline i potom doda 33,33 ml 6 M H_3PO_4 . Smjesa se inkubira 10 minuta na sobnoj temperaturi u digestoru te potom u sušioniku 1 sat na 100°C nakon čega smjesa poprima različite intenzitete crvene boje što ovisi o količini slobodnog prolina. Prekid reakcije se vrši hlađenjem u ledu, a slobodni prolin se izdvaja dodatkom 1,5 ml toluena (**Slika 10**). Potom se smjesa vorteksira, a faze se odvoje. Koncentracija slobodnog prolina određuje se pipetranjem gornje faze u staklenu kivetu (2 ml). Mjerenje apsorbancije se vrši pri (Specord, Analytic Jena) valnoj duljini od 520 nm. Toluena je predstavljao slijepu probu.



Slika 9 Prikaz smjesa različitih intenziteta crvene boje ovisno o količini slobodnog prolina

3.2.5. Određivanje koncentracije malondialdehida

Određivanje sadržaja MDA rađeno je prema metodi Heath i Packer (1968). Na homogenizirano tkivo dodano je 1200 μ l reakcijske smjese TBA/TCA (0,3 % tiobarbiturna kiselina, TBA u 10 % trikloroctenoj kiselini, TCA). Sadržaj se potom vorteksira i prebaci u staklene semimikroeprovete koje se potom ostave 45 minuta u sušioniku na 85 °C. Zagrijavanjem se lipidni peroksidi raspadnu na MDA, pri čemu se vezanjem za TBA dobiva crvena boja. Reakcija se zaustavlja hlađenjem u ledu. Nakon hlađenja sadržaj se vorteksira i prebaci u čiste Eppendorf epruvete (Slika 11). Nakon centrifugiranja (15 minuta na 20000 g), sadržaj se odlije u čistu Eppendorf epruvetu i mjeri se apsorbancija pri 532 i 600 nm zbog korekcije na nespecifično zamućenje. Reakcijska smjesa predstavljala je slijepu probu.



Slika 10 Prikaz smjesa nakon hlađenja

3.2.6. Statistička obrada podataka

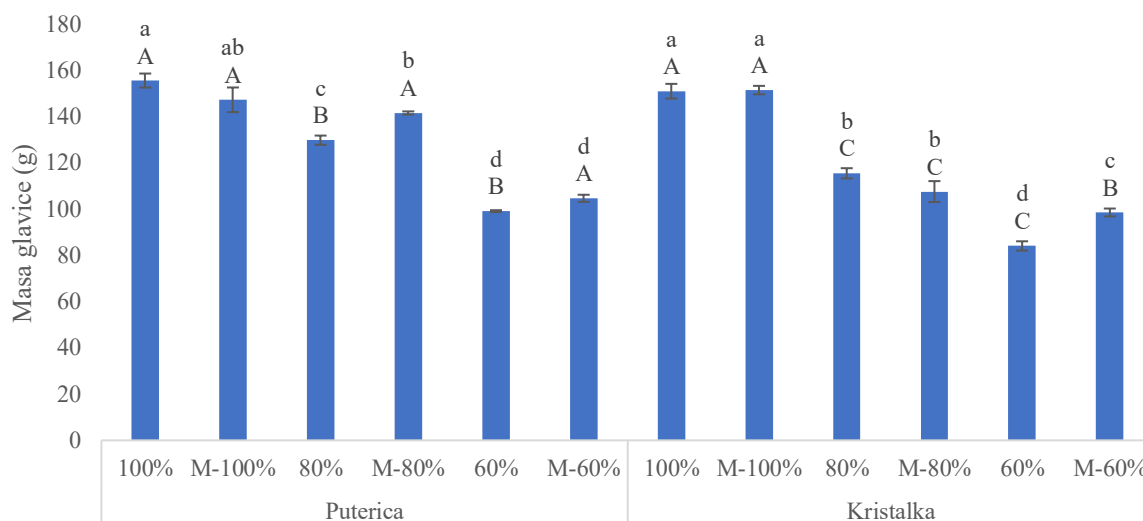
Rezultati svih mjerenja izraženi su kao srednje vrijednosti od tri repeticije po genotipu i tretmanu uz prikaz standardne devijacije (\pm S.D.). Za statističku obradu podataka korištena je višesmjerna faktorijalna analiza varijance (ANOVA). Statistički značajne razlike između tretmana i genotipova provjerene su uz pomoć Post hoc LSD (engl. Least Significant Difference) testa (Statistica 14.0.0.15) na razini značajnosti $P \leq 0,05$. Za utvrđivanje korelacije između morfometrijskih parametara (masa, visina i promjer glavice te broj listova) i biokemijskih parametara (prolin i MDA) provedena je Spearmanova korelacijska analiza ($P \leq 0,05$) za svaki genotip posebno. Pri tome vrijednosti veće od 0,7 pokazuju jaku povezanost.

4. REZULTATI

4.1. Morfometrijski podaci

4.1.1. Učinak vodnog stresa i mikoriznog pripravka na masu glavice

U oba genotipa povećanje intenziteta vodnog stresa rezultiralo je smanjenjem mase glavice u skupini tretiranoj mikoriznim pripravcima (M-100%, M-80% i M-60%) i skupini bez dodatka pripravka (100%, 80% i 60%) (**Slika 12**). Dodatak mikoriznog pripravka značajno je inducirao masu glavice u puterice na tretmanu vodnog stresa umjerenog intenziteta (M-80%) u odnosu na glavicu koja je rasla bez mikoriznog pripravka (80%), dok je u kristalke masa glavice koja je bila izložena mikoriznom pripravku bila značajnije veća na tretmanu vodnog stresa jačeg intenziteta (M-60%) u odnosu na isti tretman bez pripravka (60%). Uspoređujući masu glavice između genotipova na istom tretmanu, masa glavice genotipa puterica bila je značajno veća od mase glavice kristalke na svim tretmanima vodnog stresa (80%, 60%, M-80% i M-60%).

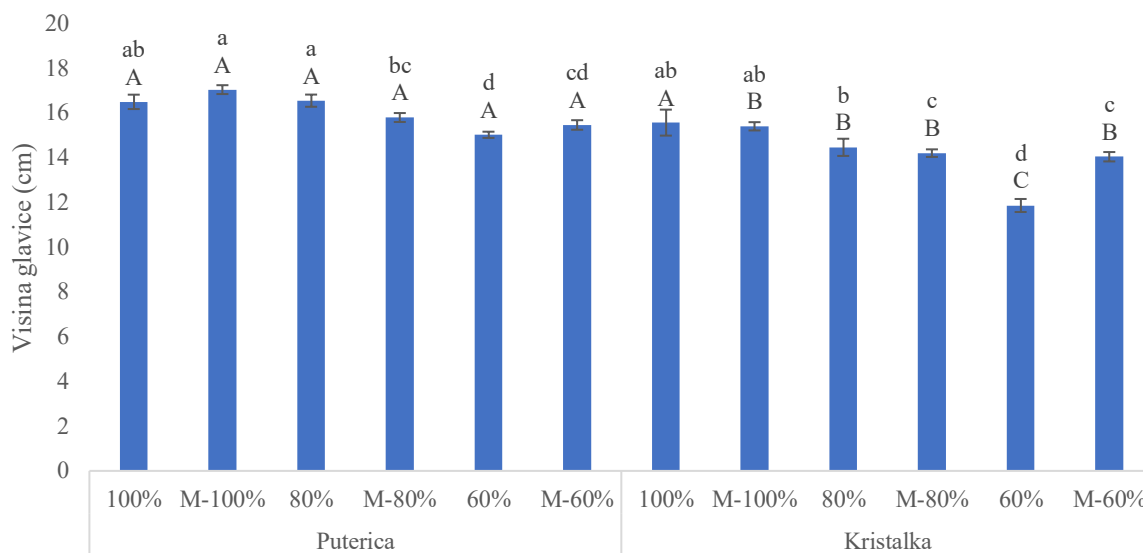


Slika 11 Masa glavice uzoraka salate (puterica i kristalka) na kontroli (100% i M-100%), vodnom stresu (80%, 60%, M-80% i M-60%). Slovo „M“ označava skupinu tretiranu mikoriznim pripravkom. Velika slova označavaju značajne razlike između genotipova unutar jednog tretmana, a mala slova pokazuju značajnost između različitih tretmana unutar jednog genotipa.

4.1.2. Učinak vodnog stresa i mikoriznog pripravka na visinu glavice

U puterice tretman vodnog stresa najvećeg intenziteta (60%) značajno je reducirala visinu glavice u odnosu na kontrolu (100%) i tretman vodnog stresa umjerenog intenziteta (80%) (**Slika 13**). U kristalke je pak zabilježena redukcija visine glavice s porastom intenziteta vodnog stresa. Prilikom primjene mikoriznog pripravka kontrolne biljke imale su više glavice (M-100%) u odnosu na glavice rasle na tretmanima vodnog stresa (M-80% i M-60%) u oba genotipa. U oba genotipa visina glavice bila je značajno niža na tretmanu vodnog stresa uz

Dodatak mikoriznog pripravka (M-80%) u odnosu na tretman bez mikorize (80%), dok je u kristalke ta pojava zabilježena i na stresu jačeg intenziteta. Uspoređujući visinu glavice između puterice i kristalke, može se uočiti bila viša u puterice na svim kontrolama i tretmanima i kombiniranim tretmanima iz čega slijedi da je visina genotipski određena osobina neovisna o vanjskim čimbenicima.

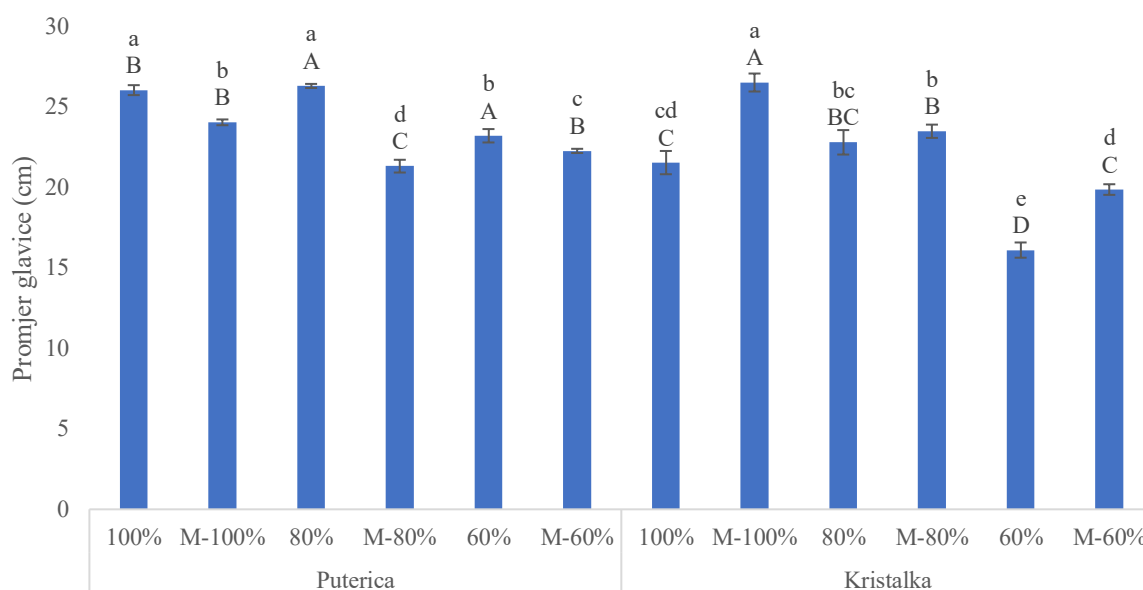


Slika 12 Visina glavice uzoraka salate (puterica i kristalka) na kontroli (100% i M-100%), vodnom stresu (80%, 60%, M-80% i M-60%). Slovo „M“ označava skupinu tretiranu mikoriznim pripravkom. Velika slova označavaju značajne razlike između genotipova unutar jednog tretmana, a mala slova pokazuju značajnost između različitih tretmana unutar jednog genotipa.

4.1.3. Učinak vodnog stresa i mikoriznog pripravka na promjer glavice

U oba genotipa na tretmanima bez i s mikoriznim pripravkom, promjer glavice na najjačem intenzitetu vodnog stresa (60% i M-60%) bio je značajno manji u odnosu na kontrolu (100% i M-100%) i sušu slabijeg intenziteta (80% i M-80%) (Slika 14). U skupini biljaka tretiranih s mikoriznim pripravkom, promjer glavice u puterice na tretmanu vodnog stresa jačeg intenziteta (M-60%) bio je statistički značajno povećan u odnosu na M-80%, dok je kristalke bio manji na istim tretmanima. Puterica koja je rasla u optimalnim uvjetima imala je veći promjer glavice u skupini biljaka rasih bez dodatka mikoriznog pripravka (100%) u odnosu na odgovarajući mikorizni tretman (M-100%). Za razliku od puterice, kristalka je pokazala suprotno, odnosno veći promjer glavice u mikoriznoj skupini (M-100%). Nadalje, u puterice skupina koja nije bila tretirana mikoriznim pripravkom na oba tretmana vodnog stresa (80% i 60%) pokazala je veći promjer glavice nego mikorizna grupa na istim tretmanima (M-80 i M-60%). Kod kristalke primjena mikoriznog pripravka na najjačem intenzitetu vodnog stresa (M-60%) inducirala je

povećanje promjera glavice u usporedbi s grupom bez mikorize (60%). Za razliku od kristalke, u skupini bez dodatka mikoriznog pripravka puterica je imala značajno veće vrijednosti promjera glavice na svim tretmanima vodnog stresa (100%, 80% i 60%). U skupini gdje je apliciran mikorizni pripravak promjer glavice u kristalke bio je veći nego u puterice na kontroli (M-100%) i slabijem intenzitetu vodnog stresa (M-80%), dok je pri M-60% puterica bila bolja od kristalke.

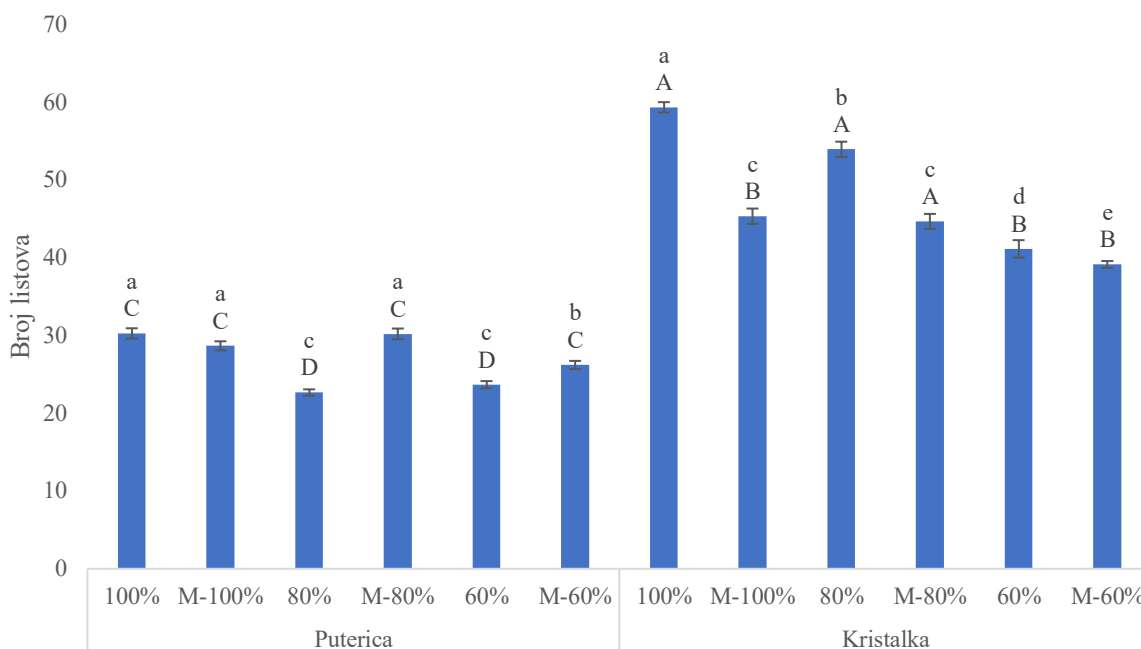


Slika 14 Promjer glavice uzoraka salate (puterica i kristalka) na kontroli (100% i M-100%), vodnom stresu (80%, 60%, M-80% i M-60%). Slovo „M“ označava skupinu tretiranu mikoriznim pripravkom. Velika slova označavaju značajne razlike između genotipova unutar jednog tretmana, a mala slova pokazuju značajnost između različitih tretmana unutar jednog genotipa.

4.1.4. Učinak vodnog stresa i mikoriznog pripravka na broj listova

S porastom intenziteta vodnog stresa u oba genotipa, generalno broj listova na glavici se značajno smanjio u odnosu na kontrole u skupini bez i s dodatkom mikoriznog pripravka (Slika 15). Kod genotipa puterica u skupini bez dodatka mikoriza oba tretmana vodnog stresaimale su podjednak učinak na broj listova (80% i 60%), dok je za kristalku intenzivnije zavodnog stresanje imala negativnije posljedice (60%) od vodnog stresaslabijeg intenziteta (80%). U mikoriznoj skupini puterice i kristalke, kontrolne glavice i glavice uzgojene pri slabijem intenzitetu vodnog stresa (M-80%), imale su više listova u odnosu na M-60% tretman. U puterice broj listova u mikoriznoj skupini na oba tretmana vodnog stresa (M-80% i M-60%) bio veći od nemikorizne skupine na istim tretmanima (80% i 60%). Suprotno je uočeno kod

kristalke koja je pokazala veću redukciju broja listova u mikoriznoj skupini (M-80% i M-60%) od nemikorizne skupine (80% i 60%). Uspoređujući broj listova između dva različita genotipa na istim tretmanima, kristalka je imala veći broj od puterice neovisno o tretmanu što je genotipska odlika.



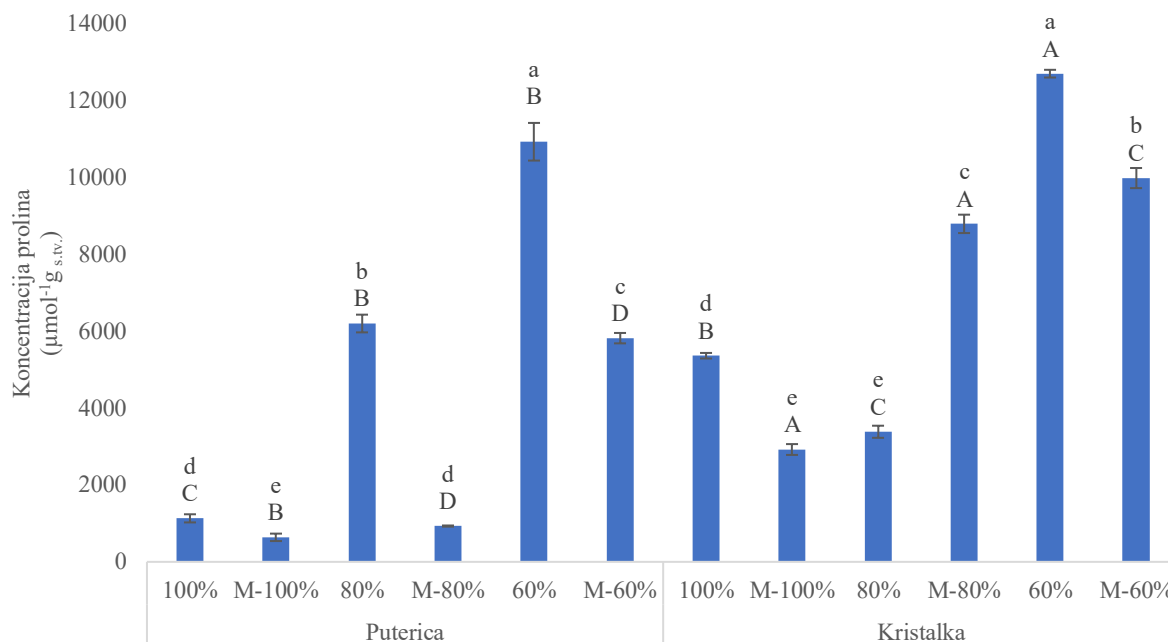
Slika 15 Broj listova glavice salate (puterica i kristalka) na kontroli (100% i M-100%), vodnom stresu (80%, 60%, M-80% i M-60%). Slovo „M“ označava skupinu tretiranu mikoriznim pripravkom. Velika slova označavaju značajne razlike između genotipova unutar jednog tretmana, a mala slova pokazuju značajnost između različitih tretmana unutar jednog genotipa.

4.2. Biokemijski parametri

4.2.1. Učinak vodnog stresa i mikoriznog pripravka na sadržaj slobodnog prolina

Slika 16 pokazuje značajano povećanje koncentracije prolina s porastom intenziteta vodnog stresa u oba genotipa u skupini bez i s dodatkom mikoriznog pripravka. Kod genotipa puterica u skupini bez dodatka mikoriznog pripravka pri srednjem (80%) i jačem (60%) intenzitetu vodnog stresa koncentracija prolina bila je veća od skupine tretirane mikoriznim pripravkom pri tretmanima iste koncentracije (M-80% i M-60%). Kod kristalke zabilježeno je značajnije nakupljanje prolina u netretiranoj skupini (100% i 60%) u odnosu na odgovarajuće tretmane mikorizne grupe (M-100% i M-60%), dok je suša umjerenog intenziteta u biljaka s dodatkom pripravka (M-80%) inducirala jaču biosintezu prolina u odnosu na isti tretman bez dodatka pripravka (80%). Uspoređujući sposobnost akumulacije prolina između genotipova na istim

tretmanima, njegove vrijednosti bile su veće u kristalke na kontroli i vodom deficitu najjačeg intenziteta u obje skupine (nemikorizne i mikorizne), dok je puterica akumulirala više prolina na vodnom stresu umjerenog intenziteta pri 80%.

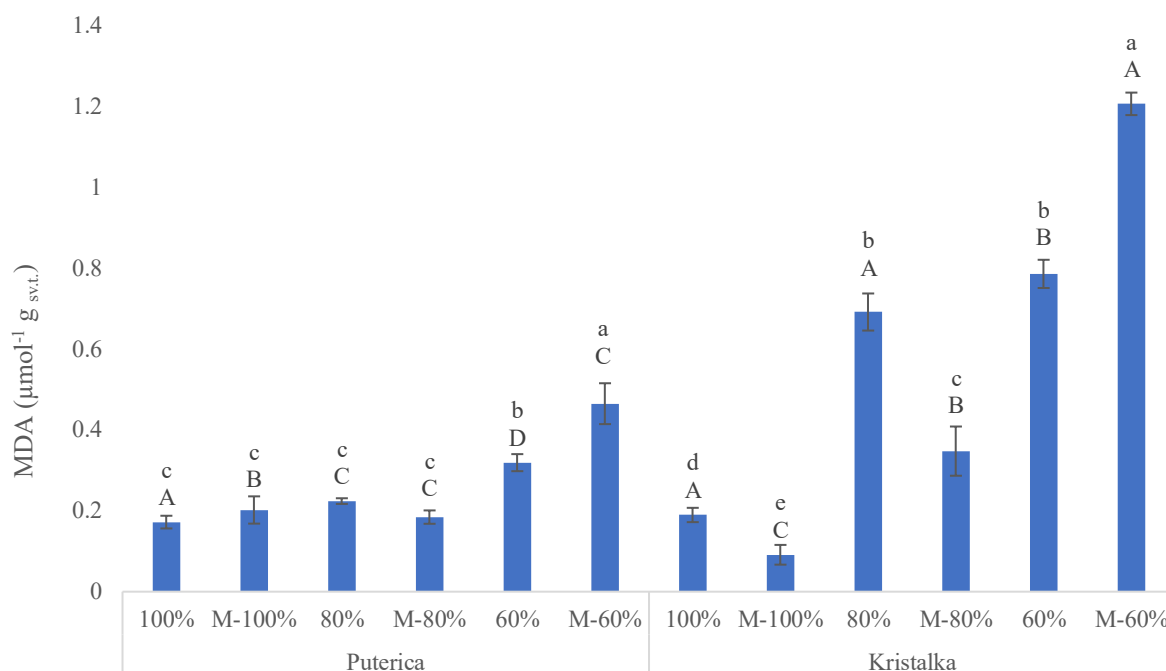


Slika 16 Koncentracija slobodnog prolina u uzorcima salate (puterica i kristalka) na kontroli (100% i M-0%), vodnom stresu (80%, 60%, M-80% i M-60%). Slovo „M“ označava skupinu tretiranu mikoriznim pripravkom. Velika slova označavaju značajne razlike između genotipova unutar jednog tretmana, a mala slova pokazuju značajnost između različitih tretmana unutar jednog genotipa.

4.2.2. Učinak vodnog stresa i mikoriznog pripravka na određivanje sadržaja malondialdehida (MDA)

Kako prikazuje **Slika 17**, u genotipa puterica najjači intenzitet vodnog stresa u netretirane (60%) i skupine tretirane mikoriznim pripravkom (M-60%), izazvao je najveći stupanj oštećenja biomembrana u odnosu na vodni stres slabijeg intenziteta (80% i M-80%) te kontrolu (0% i M-0%). U istog genotipa tretman mikoriznim pripravkom inducirao je veći sadržaj MDA na najvećem intenzitetu vodnog stresa (M-60%) u odnosu na netretiranu skupinu (60%). Oba tretmana vodnog stresa (80% i 60%) u kristalke izazvala su značajniji porast sadržaja MDA u odnosu na kontrolu (0%) u skupini koja nije bila tretirana mikoriznim pripravkom. Suprotno, u tretiranoj mikoriznoj skupini genotipa kristalka sadržaj MDA se povećavao s porastom intenziteta vodnog stresa. Nadalje, u kristalke tretman mikoriznim pripravkom značajno je reducirao sadržaj MDA na tretmanu vodnog stresa slabijeg intenziteta (M-80%) u odnosu na skupinu bez dodatka mikoriznog pripravka (80%). Uspoređujući sadržaj MDA između

genotipova na istim tretmanima, veće vrijednosti zabilježene su u kristalku na oba tretmana vodnog stresa u netretirane skupine i grupe tretirane mikoriznim pripravkom. Iznimno, u mikoriznoj skupini puterica je pokazala veći sadržaj MDA u odnosu na kristalku u nestresnim uvjetima (M-100%).



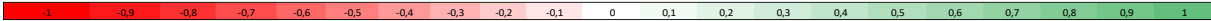
Slika 17 Sadržaj malondialdehida (MDA) u uzorcima salate (puterica i kristalka) na kontroli (100% i M-100%), vodnom stresu (80%, 60%, M-80% i M-60%). Slovo „M“ označava skupinu tretiranu mikoriznim pripravkom. Velika slova označavaju značajne razlike između genotipova unutar jednog tretmana, a mala slova pokazuju značajnost između različitih tretmana unutar jednog genotipa.

4.3. Rezultati korelacijske analize morfometrijskih i biokemijskih pokazatelja

Rezultati korelacijske analize za genotip kristalka pokazuju slabu pozitivnu povezanost između predtretmana i promjera glavice, te negativnu korelaciju između predtretmana i sadržaja MDA (**Tablica 1**). Nadalje, tretman se nalazio u slaboj negativnoj korelaciji s masom glavice, dok je veza između tretmana i koncentracije prolina bila pozitivna. Masa glavice kristalke pokazuje izrazito jaku korelaciju s visinom glavice ($r=0,74$), te slabu do umjerenu povezanost s brojem listova ($r=0,55$) i promjerom glavice ($r=0,64$). Akumulacija prolina nalazila se u negativnoj korelaciji s većinom morfometrijskih parametara (masa, visina i promjer glavice). Broj listova povećavao se s visinom glavice ($r=0,57$), ali je pokazao i pozitivnu asocijaciju s akumulacijom MDA ($r=0,50$).

Tablica 1 Korelacijska analiza morfometrijskih i biokemijskih parametara genotipa kristalka u kontrolnim uvjetima (100%) i uvjetima vodnog stresa (80% i 60%). Predtretmani predstavljaju skupine bez i s dodatkom mikoriznog pripravka. Statistički značajno (*); bez značajnosti (^{ns}).

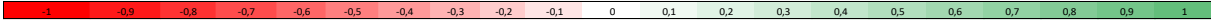
Varijabla	Predtretman	Tretman	Masa glavice	Visina glavice	Promjer glavice	Broj listova	Prolin	MDA
Predtretman								
Tretman	0,00 ^{ns}							
Masa glavice	0,03 ^{ns}	-0,50*						
Visina glavice	0,14 ^{ns}	-0,07 ^{ns}	0,74*					
Promjer glavice	0,48*	-0,04 ^{ns}	0,64*	0,80*				
Broj listova	-0,46 ^{ns}	-0,18 ^{ns}	0,55*	0,57*	0,13 ^{ns}			
Prolin	-0,03 ^{ns}	0,47*	-0,86*	-0,56*	-0,59*	-0,40 ^{ns}		
MDA	-0,59*	0,29 ^{ns}	0,39 ^{ns}	0,38 ^{ns}	0,22 ^{ns}	0,50*	-0,46 ^{ns}	



U puterice utvrđena je pozitivna veza između mase glavice te visine i broja listova, dok je promjer glavice bio u jakoj negativnoj vezi s brojem listova ($r = -0,71$) (Tablica 2). Obrnuta korelacija s predtretmanom potvrđena je samo za promjer glavice ($r = -0,69$). Sadržaj prolina i MDA nalazili su se u jakim negativnim asocijacijama s masom glavice i brojem listova. Suprotno, slaba pozitivna veza uočena je između biokemijskih varijabli (prolina i MDA) te promjera glavice. Konačno, između sinteze prolina i sadržaja MDA postojala je jaka povezanost ($r = 0,77$).

Tablica 2 Korelacijska analiza morfometrijskih i biokemijskih parametara genotipa puterica u kontrolnim uvjetima (100%) i uvjetima vodnog stresa (80% i 60%). Predtretmani predstavljaju skupine bez i s dodatkom mikoriznog pripravka. Statistički značajno (*); bez značajnosti (^{ns}).

Varijabla	Predtretman	Tretman	Masa glavice	Visina glavice	Promjer glavice	Broj listova	Prolin	MDA
Predtretman								
Tretman	0,00 ^{ns}							
Masa glavice	0,14 ^{ns}	-0,39 ^{ns}						
Visina glavice	0,07 ^{ns}	-0,31 ^{ns}	0,71*					
Promjer glavice	-0,69*	-0,02 ^{ns}	-0,35 ^{ns}	0,10 ^{ns}				
Broj listova	0,41 ^{ns}	-0,37 ^{ns}	0,72*	0,19 ^{ns}	-0,71*			
Prolin	-0,29 ^{ns}	0,00 ^{ns}	-0,85*	-0,47*	0,56*	-0,79*		
MDA	-0,33 ^{ns}	0,46 ^{ns}	-0,81*	-0,59*	0,49*	-0,76*	0,77*	



5. RASPRAVA

Negativni učinci vodnog stresa na rast i razvoj zabilježeni su u velikog broja kultiviranog i samoniklog bilja. U ovom istraživanju primjena vodnog stresa reducirala je rast i formiranje glavice u oba genotipa salate. Redukcija rasta naročito je bila vidljiva na jačem intenzitetu vodnog stresa (60%) koji je uzrokovao manju masu, visinu i promjer glavice (**Slike 12, 13 i 14**). Slično je uočeno i u istraživanju Li i sur. (2023) koji su promatrali još intenzivniji učinak vodnog stresa (35% do 45% poljskog vodnog kapaciteta, Pvk) u 42 genotipova salate. Međutim, u istom istraživanju kontrolni uvjeti podrazumjevali su očuvanje 75-85% Pvk, za razliku od ovog istraživanja unutar kojeg su kontrolne biljke rasle pri 100% Pvk. To može biti razlog podjednake vrijednosti pojedinih morfometrijskih parametara između kontrole (100% ili M-100%) i vodnog stresa slabijeg intenziteta (80% ili M-80%) u obje skupine (bez i s dodatkom mikoriznog pripravka). Primjerice, biljke puterice iz skupine M-100% te M-80% imale su podjednaku masu glavice (**Slika 12**), potom promjer glavice puterice i kristalke rasle na kontroli (100%) bio je podjednak kao i pri 80% (**Slika 14**), te konačno nije uočena razlika u broju listova glavica uzgajanih pri M-80% i 80% u oba genotipa (**Slika 15**). Također, u drugom istraživanju kontrolne biljke salate (*Lactuca sativa* L., cv. Ranger) rasle su pri 70% Pvk, dok su vrijednosti 50% i 30% Pvk predstavljale umjerenu, odnosno jaku sušu (Ghorbani i sur., 2024). U ovom istraživanju nije bilo razlike za neke morfološke pokazatelje između vodnog stresa slabijeg i jakog intenziteta neovisno o kojoj se skupini biljaka radi (bez ili s dodatkom mikoriznog pripravka). Primjerice, visina glavice u oba genotipa bila je podjednaka na tretmanima M-80% i M-60% (**Slika 13**). Ista pojava vidljiva je i za broj listova u glavice puterice rasle pri 80% te onih glavica raslih pri 60% (**Slika 15**). Iz ovog slijedi da je možda stres sušom nije bio dovoljno intenzivan da bi se vidjele značajnije razlike između tretmana.

Tretmani mikoriznim pripravcima mogu povećati tolernatnost biljaka na stres izazvan sušom (Boutasknit i sur., 2022). Rezultati ovog rada pokazuju promovirajući učinak mikoriznog pripravka na rast biljke u uvjetima vodnog stresa. Genotip puterica na mikoriznom tretmanu pokazao je veću masu (M-80%) i broj listova glavice (M-80% i M-60%), dok je za kristalku dodatak mikoriznog pripravka na vodnom stresu najjačeg intenziteta potakao veću masu i promjer glavice u odnosu na biljke uzgojene bez dodatka pripravka (60%). Ovisnost mase glavice i promjera glavice potvrđena je i korelacijskom analizom za oba genotipa (**Tablica 1 i 2**). Slično, promotivni učinak mikoriznog pripravka pri vodnom stresu jačeg intenziteta na 60% zabilježen je i za masu (puterica i kristalka), promjer (puterica) i broj listova (puterica) glavice (Kojić i sur., 2023). U istom je istraživanju potvrđena pozitivna veza između mase glavice i promjera glavice salate neovisno o dodatku mikoriznog pripravka. Iz ovog slijedi da učinak

komercijalnih mikoriznih pripravaka ovisi o genotipskim svojstvima vrste. Pozitivan učinak na rast biljke u asocijaciji s mikorizama u uvjetima vodnog stresa zabilježen je u salate (Badvi i sur., 2015) i pšenice (Al-Karaki i sur., 2004).

Visina glavice je bila jedini morfometrijski pokazatelj kod kojega nije bio vidljiv pozitivan učinak mikoriznog pripravka kod oba genotipa (**Slika 13**). Naime, na vodnom stresu slabog (puterica i kristalka) te jakog intenziteta (kristalka) glavice biljaka uzgajane bez dodatka pripravka bile su više nego glavice izložene mikoriznom tretmanu. Iz ovoga možemo pretpostaviti kako je ovaj parametar genotipsko svojstvo i nije relevantan pokazatelj praćenja interakcije gljivica-bakterija-biljka. U sličnom istraživanju nije uočena međusobna povezanost tretmana vodnog stresa i visine glavice u grupi bez i s dodatkom mikoriznog pripravka (Kojić i sur., 2023).

Uspoređujući genotipski odgovor na vodni stres u obje skupine (bez i s dodatkom mikoriznog pripravka) generalno može se reći da je puterica uspješnije tolerirala vodni stres u odnosu na kristalku što se ogleda u većoj masi, visini i promjeru glavice (**Slika 12, 13 i 14**). Kristalka je pak, imala veći broj listova od puterice na oba tretmana vodnog stresa, ali i na kontroli na temelju čega slijedi kako se radi o genotipskoj osobini. Međutim, u istraživanju Kojić i sur. (2023) otpornost kristalke na vodni stres bila je vidljivija s nastupom viših temperatura zraka (svibanj) u odnosu na isti postav proveden u periodu od ožujka do travnja kada nije bila zabilježena pojava visokih temperatura. Pojava viših temperatura u kombinaciji sa sušom ubrzava rast i skraćuje vrijeme razvoja (Tricker i sur., 2018). Prema tome, možemo zaključiti kako kristalka bolje podnosi kombinirani stres izazvan sušom i visokim temperaturama nego puterica. No, ovo još treba potvrditi dodatnim analizama koje bi uključivale dodatak mikoriznog pripravka.

Kao odgovor na staničnu dehidraciju, biljke pojačano sintetiziraju prolin (Munns i sur., 2019). Rezultati ovog istraživanja pokazuju pojačanu akumulaciju prolina povećanjem intenziteta vodnog stresa u skupini bez i s dodatka mikoriznog pripravka u oba genotipa (**Slika 16**) što je posljedica osmotske prilagodbe. No povećanje koncentracije prolina može biti i rezultat pasivne osmotske prilagodbe koja nastaje kao rezultat ukoncentriravanja staničnog soka zbog gubitka vode iz stanica (Munns i sur., 2019). Korelacijska analiza pokazuje negativnu vezu između većine parametara rasta i sinteze prolina za oba genotipa (**Tablice 1 i 2**). Sinteza prolina je energetski skup proces te njegova prekomjerna produkcija može dovesti do redukcije rasta (Wu i sur., 2022). Da bi se utvrdilo uključuje li salata aktivnu ili pasivnu adaptivnu strategiju,

potrebna su dodatna istraživanja koja bi obuhvatila detekciju drugih metabollita markera osmotskog stresa. Biljke koje su u simbiozi s mikoriznim gljivama često akumuliraju osmolite. Kristalka je u odnosu na putericu sintetizirala više prolina na vodnom stresu jačeg intenziteta u obje skupine (60% i M-60%), ali i u nestresnim uvjetima (100% i M-100%) što znači da u ovog genotipa prolin ne predstavlja specifični marker tolerantnosti na vodni stres. Puterica je akumulirala više prolina na stresu slabijeg intenziteta od kristalke (80%), iz čega možemo zaključiti da se radi o specifičnom genotipskom odgovoru.

Primjena mikoriza smanjuje oštećenja biomembrana nastalih prekomjerom produkcijom ROS (Petrov i sur. 2012). Promovirajući učinak mikoriznog pripravka na smanjenje stupnja oštećenja membranskih lipida na tretmanu vodnog stresa slabijeg (M-80%) intenziteta zabilježen je kod kristalke u odnosu na nemikoriznu skupinu iz čega slijedi kako su mikorize inducirale aktivaciju drugih obrambenih mehanizama (**Slika 17**). Slično je zabilježeno u rajčice u koje je sadržaj MDA i H₂O₂ značajno je opao u skupini tretiranoj AMF (Alam i sur., 2023). Uspoređujući genotipske razlike u sadržaju MDA, vidljivo je kako je kristalka pokazala veće vrijednosti od puterice na svim tretmanima vodnog stresa (80%, 60%, M-80% i M-60%). Veći sadržaj MDA u mikoriznoj skupini kristalke na tretmanu vodnog stresa možda je posljedica kumulativnog efekta koji je nastao zbog istodobnog djelovanja vodnog stresa i kolonijalizacije tkiva salate efektivnim mikroorganizmima u dodanom pripravku. Slično je utvrđeno u korijenu naranče (*Ponicirus trifoliata*) koja je pokazala veća oštećenja membrana u biljkama koje su bile istodobno podvrgnute suši i tretmanu mikorizama (Huang i sur., 2017).

6. ZAKLJUČCI

Na temelju ispitivanja učinka djelovanja komercijalnog pripravka na bazi mikoriza i efektivnih mikroorganizama u uvjetima vodnog stresa na morfometrijske i biokemijske parametre dva genotipa salate, može se zaključiti slijedeće:

- Primjena vodnog stresa slabijeg (80%) i jačeg (60%) intenziteta uzrokovala je redukciju rasta (masa, visina i promjer glavice, te broj listova) u skupini bez i s dodatkom komercijalnog pripravka u oba genotipa,
- Dodatak mikoriznog pripravka u puterice uzrokovao je veću masu (M-80%) i broj listova glavice (M-80% i M-60%),
- U kristalke dodatak mikoriznog pripravka na tretmanu vodnog stresa najjačeg intenziteta (M-60%) je potakao povećanje mase i promjera glavice u odnosu na biljke uzgojene bez dodatka pripravka (60%),
- Puterica je uspješnije tolerirala oba tretmana vodnog stresa (80%, M-80%, 60% i M-60%) u odnosu na kristalku što se ogleda u većoj masi, promjeru i visini glavice,
- Povećanje inteziteta vodnog stresa potaknulo je pojačanu akumulaciju prolina u skupini bez i s dodatkom mikoriznog pripravka u oba genotipa,
- Puterica je akumulirala više prolina na vodnom stresu slabijeg intenziteta od kristalke (80%),
- Kristalka je u odnosu na putericu sintetizirala više prolina na vodnom stresu jačeg intenziteta u obje skupine (60% i M-60%), ali i u nestresnim uvjetima (100% i M-100%),
- Dodatak komercijalnog pripravka reducirao je sadržaj MDA u kristalke na tretmanu vodnog stresa slabijeg intenziteta (M-80%) u odnosu na nemikoriznu skupinu.

7. LITERATURA

- Abbasi, S., Sadeghi, A. i Safaie, N. (2020) Streptomyces alleviate drought stress in tomato plants and modulate the expression of transcription factors ERF1 and WRKY70 genes. *Scientia Horticulturae* [online], 265:109206. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109206> [18. srpnja 2024.]
- AbdElgawad, H., De Vos, D., Zinta, G., Domagalska, M. A., Beemster, G. T. S., Asard, H. (2015) Grassland species differentially regulate proline concentrations under future climate conditions: an integrated biochemical and modelling approach. *New Phytologist* [online], 208(2):354-369. Dostupno na: <https://doi.org/10.1111/nph.13481> [7. srpnja 2024.]
- Ahmad, H. M., Fiaz, S., Hafeez, S., Zahra, S., Shah, A. N., Gul, B., Aziz, O., Mahmood-Ur-Rahman, Fakhar, A., Rafique, M., Chen, Y., Yang, S. H., Wang, X. (2022) Plant growth-promoting rhizobacteria eliminate the effect of drought stress in plants: a review. *Frontiers in plant science* [online], 13:875774. Dostupno na: <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.875774> [22. srpnja 2023.]
- Ahmad, I., Akhtar, M. J., Zahir, Z. A., Naveed, M., Mitter, B., Sessitsch, A. (2014) Cadmium-tolerant bacteria induce metal stress tolerance in cereals. *Environmental science and pollution research international* [online], 21(18):11054-11065. DOI: [10.1007/s11356-014-3010-9](https://doi.org/10.1007/s11356-014-3010-9) [16. srpnja 2024.]
- Alam, M. Z., Choudhury, T. R. i Mridha, M. A. U. (2023) Arbuscular mycorrhizal fungi enhance biomass growth, mineral content, and antioxidant activity in tomato plants under drought stress. *Journal of Food Quality* [online], 2023(1):2581608. Dostupno na: <https://doi.org/10.1155/2023/2581608> [20. kolovoza 2024.]
- Al-Karaki, G., Mcmichael, B. i Zak, J. (2004) Field response of wheat to arbuscular mycorrhizal fungi and drought stress. *Mycorrhiza* [online], 14(4):263-269. DOI: [10.1007/s00572-003-0265-2](https://doi.org/10.1007/s00572-003-0265-2) [20. kolovoza 2024.]
- Anjum, S. A., Xie, X., Wang, L., Saleem, M. F., Man, C., Lei, W. (2020) Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *International Journal of Agricultural Sciences*, 10(9):1-7.
- Armada, E., López-Castillo, O., Roldán, A., Azcón, R. (2016) Potential of mycorrhizal inocula to improve growth, nutrition and enzymatic activities in *Retama sphaerocarpa* compared with chemical fertilization under drought conditions. *Journal of soil science and plant nutrition* [online], 16(2). Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162016005000035> [21. srpnja 2023.]
- Arshad, M., Shahroona, B. i Mahmood, T. (2008) Inoculation with *Pseudomonas* spp. containing ACC-Deaminase partially eliminates the effects of drought stress on growth, yield, and ripening of pea (*Pisum sativum* L.). *Pedosphere* [online], 18(5):611-620. Dostupno na: [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(08\)60055-7](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(08)60055-7) [18. srpnja 2024.]
- Avrelio, A. (2019) *Utjecaj navodnjavanja i sorte na prinose i kvalitetu salate (Lactuca sativa L.)*. Diplomski rad. Osijek: Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti.
- Badvi, H., Alemzade Ansari, N., Mahmoodi Sorestani, M., Eskandari, F. (2015) Effects of drought stress and mycorrhizal fungi on some morphophysiological characteristics of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Plant Productions* [online], 38(3):27-39. Dostupno na: <https://doi.org/10.22055/ppd.2015.11444> [20. kolovoza 2024.]

- Bahadur, A., Jin, Z., Jiang, S., Chai, Y., Zhang, Q., Pan, J., Liu, Y., Feng, H. (2019) Arbuscular mycorrhizal spores distribution across different ecosystems of Qinghai Tibetan plateau. *Pakistan Journal of Botany*, 51(4):1481-1492.
- Bates, L. S., Waldren, R. P. i Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39:205-207.
- Behrooz, A., Vahdati, K., Rejali, F., Lotfi, M., Sarikhani, S., Leslie, C. (2019) Arbuscular mycorrhiza and plant growth-promoting bacteria alleviate drought stress in walnut. *HortScience horts [online]*, 54(6):1087-1092. Dostupno na: <https://doi.org/10.21273/HORTSCI13961-19> [7. srpnja 2024.]
- Berendsen, R. L., Pieterse, C. M. J. i Bakker, P. A. H. M. (2012) The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in plant science [online]*, 17(8):478-486. Dostupno na: DOI: [10.1016/j.tplants.2012.04.001](https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.04.001) [17. srpnja 2024.]
- Blauhut, V., Stoelzle, M., Ahopelto, L., Brunner, M. I., Teutschbein, C., Wendt, D. E., Akstinas, V., Bakke, S. J., Barker, L. J., Bartošová, L., Briede, A., Cammalleri, C., Kalin, K. C., De Stefano, L., Fendeková, M., Finger, D. C., Huysmans, M., Ivanov, M., Jaagus, J., Jakubínský, J., Krakovska, S., Laaha, G., Lakatos, M., Manevski, K., Neumann Andersen, M., Nikolova, N., Osuch, M., van Oel, P., Radeva, K., Romanowicz, R. J., Toth, E., Trnka, M., Urošev, M., Urquijo Reguera, J., Sauquet, E., Stevkov, A., Tallaksen, L. M., Trofimova, I., Van Loon, A. F., van Vliet, M. T. H., Vidal, J. P., Wanders, N., Werner, M., Willems, P., Živković, N. (2022) Lessons from the 2018–2019 European droughts: a collective need for unifying drought risk management. *Natural Hazards and Earth System Sciences [online]*, 22(6):2201-2217. Dostupno na: <https://doi.org/10.5194/nhess-22-2201-2022> [28. lipnja 2024.]
- Boutasknit, A., Baslam, M., Ait-El-Mokhtar, M., Anli, M., Ben-Laouane, R., Douira, A., El Modafar, C., Mitsui, T., Wahbi, S., Meddich, A. (2020) Arbuscular mycorrhizal fungi mediate drought tolerance and recovery in two contrasting carob (*Ceratonia siliqua* L.) ecotypes by regulating stomatal, water relations, and (in)organic adjustments. *Plants [online]*, 9(1):80. Dostupno na: <https://doi.org/10.3390/plants9010080> [20. kolovoza 2024.]
- Brundrett, M. C. (2002) Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytologist [online]*, 154(2):275-304. Dostupno na: <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2002.00397.x> [16. srpnja 2024.]
- Chandra, D., Srivastava, R., Gupta, V. V. S. R., Franco, C. M. M., Sharma, A. K. (2019) Evaluation of ACC-deaminase-producing rhizobacteria to alleviate water-stress impacts in wheat (*Triticum aestivum* L.) plants. *Canadian journal of microbiology [online]*, 65(5):387-403. Dostupno na: <https://doi.org/10.1139/cjm-2018-0636> [18. srpnja 2024.]
- Chun, S. C., Paramasivan, M. i Chandrasekaran, M. (2018) Proline accumulation influenced by osmotic stress in arbuscular mycorrhizal symbiotic plants. *Frontiers in Microbiology [online]*, 9:2525. Dostupno na: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02525> [16. lipnja 2024.]
- Corpas, F. J., Gupta, D. K. i Palma, J. M. (2015) Production sites of reactive oxygen species (ROS) in organelles from plant cells. U: Gupta, D. K., Palma, J. M. i Corpas, F. J. (ur.), *Reactive oxygen species and oxidative damage in plants under stress*. London: Springer, str. 1-22.

- Cosme, M. (2023) Mycorrhizas drive the evolution of plant adaptation to drought. *Communications Biology [online]*, 6:346. Dostupno na: <https://doi.org/10.1038/s42003-023-04722-4> [17. srpnja 2024.]
- Danish, S., Zafar-ul-Hye, M., Mohsin, F., Hussain, M. (2021) The *PLOS ONE* Staff Correction: ACC-deaminase producing plant growth promoting rhizobacteria and biochar mitigate adverse effects of drought stress on maize growth. *PLoS ONE [online]*, 16(4):e0250286. Dostupno na: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0250286> [18. srpnja 2024.]
- Dasgan, Y. H. i Temtek, T. (2022) Impact of biofertilizers on plant growth, physiological and quality traits of lettuce (*Lactuca sativa* L. var. *Longifolia*) grown under salinity stress. U: Hufnagel, L. i El-Esawi, M. A. (ur.), *Vegetation dynamics, changing ecosystems and human responsibility*. London: IntechOpen. Dostupno na: <https://www.intechopen.com/chapters/84919> [15. srpnja 2024.]
- Devi, S. H., Bhupenchandra, I., Sinyorita, S., Chongtham, S. K., Lamalakshmi Devi, E. (2021) Mycorrhizal fungi and sustainable agriculture. U: Ohyama, T. i Inubushi, K., *Nitrogen in agriculture – physiological, agricultural and ecological aspects*. London: IntechOpen. Dostupno na: <https://www.intechopen.com/chapters/77770> [8. lipnja 2024.]
- El Sabagh, A., Sorour, S., Ragab, A., Omar, A. E., Islam, M. S., Barutçular, C., Ueda, A., Saneoka, H. (2015) Alleviation of adverse effects of salt stress on soybean (*Glycine max.* L.) by using osmoprotectants and organic nutrients. *International Journal of Agricultural and Biosystems Engineering, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering*, 9(9):1014-1018.
- Fadiji, A. E., Santoyo, G., Yadav, A. N., Babalola, O. O. (2022) Efforts towards overcoming drought stress in crops: Revisiting the mechanisms employed by plant growth-promoting bacteria. *Frontiers in Microbiology [online]*, 13:962427. Dostupno na: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.962427> [21. srpnja 2023.]
- Farooq, M. A., Ali, S., Hameed, A., Bharwana, S. A., Rizwan, M., Ishaque, W., Farid, M., Mahmood, K., Iqbal, Z. (2016) Cadmium stress in cotton seedlings: physiological, photosynthesis and oxidative damages alleviated by glycinebetaine. *South African Journal of Botany [online]*, 104:61-68. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.11.006> [9. srpnja 2024.]
- Fernández-Lizarazo, J. R. i Moreno-Fonseca, L. P. (2016) Mechanisms for tolerance to water-deficit stress in plants inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi. A review. *Agronomia Colombiana [online]*, 34(2):179-189. Dostupno na: <https://doi.org/10.15446/agron.colomb.v34n2.55569> [21. srpnja 2023.]
- Ferrara, A., Lovelli, S., Di Tommaso, T., Perniola, M. (2011) Flowering, growth and fruit setting in greenhouse bell pepper under water stress. *Journal of Agronomy [online]*, 10(1):12-19. Dostupno na: <https://doi.org/10.3923/ja.2011.12.19> [10. srpnja 2024.]
- Garcia-Rubio, R., de Oliveira, H. C., Rivera, J., Trevijano-Contador, N. (2020) The fungal cell wall: *Candida*, *Cryptococcus*, and *Aspergillus* species. *Frontiers in Microbiology [online]*, 10:2993. Dostupno na: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02993> [15. srpnja 2024.]
- Ghorbani, M., Azarnejad, N., Carril, P., Celletti, S., Loppi, S. (2024) Boosting the resilience to drought of crop plants using wood distillate: a pilot study with lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Plant Stress [online]*, 12:100450. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.stress.2024.100450> [20. kolovoza 2024.]

- Ghosh, D., Gupta, A. i Mohapatra, S. (2019) A comparative analysis of exopolysaccharide and phytohormone secretions by four drought-tolerant rhizobacterial strains and their impact on osmotic-stress mitigation in *Arabidopsis thaliana*. *World journal of microbiology and biotechnology [online]*, 35(6):90. Dostupno na: doi: <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2659-0> [18. srpnja 2024.]
- Ghosh, U. K., Islam Md., N., Siddiqui Md., N., Khan Md., A. R. (2021) Understanding the roles of osmolytes for acclimatizing plants to changing environment: a review of potential mechanism. *Plant Signaling & Behavior [online]*, 16(8):1913306. Dostupno na: <https://doi.org/10.1080/15592324.2021.1913306> [16. lipnja 2024.]
- Gowtham, H. G., Brijesh Singh, S., Murali, M., Shilpa, N., Prasad, M., Aiyaz, M., Amruthesh, K. N., Niranjana, S. R. (2020) Induction of drought tolerance in tomato upon the application of ACC deaminase producing plant growth promoting rhizobacterium *Bacillus subtilis* Rhizo SF 48. *Microbiological Research [online]*, 234:126422. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126422> [18. srpnja 2024.]
- Harley, J. L. i Smith, S. E. (1983) *Mycorrhizal symbiosis*. London; New York: Academic Press, str. 483.
- Heath, R. L. i Packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics [online]*, 125(1):189-198. Dostupno na: [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90654-1](https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1) [22. srpnja 2023.]
- Hu, Y. i Schmidhalter, U. (2005) Drought and salinity: A comparison of their effects on mineral nutrition of plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science [online]*, 168(4):541-549. Dostupno na: <https://doi.org/10.1002/jpln.200420516> [28. lipnja 2024.]
- Huang, Y. M., Zou, Y. N., Wu, Q. S. (2017) Alleviation of drought stress by mycorrhizas is related to increased root H₂O₂ efflux in trifoliolate orange. *Scientific Reports [online]*, 7:42335. Dostupno na: <https://doi.org/10.1038/srep42335> [20. kolovoza 2024.]
- Huey, C. J., Gopinath, S. C. B., Uda, M. N. A., Zulhaimi, H. I., Jaafar, M. N., Kasim, F. H., Yaakub, A. R. W. (2020) Mycorrhiza: a natural resource assists plant growth under varied soil conditions. *3 Biotech [online]*, 10(5):204. Dostupno na: <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02188-3> [16. srpnja 2024.]
- Hussain, S., Khalid, M. F., Saqib, M., Ahmad, S., Zafar, W., Rao, M. J., Morillon, R., Anjum, M. A. (2018) Drought tolerance in citrus rootstocks is associated with better antioxidant defense mechanism. *Acta Physiologiae Plantarum [online]*, 40:135. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.1007/s11738-018-2710-z> [10. srpnja 2024.]
- Ilić, S. (2018) *Utjecaj navodnjavanja i sorte na prinose i kvalitetu salate (Lactuca sativa L.)*. Diplomski rad. Osijek: Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet.
- Jaleel, C. A., Manivannan, P., Kishorekumar, A., Sankar, B., Gopi, R., Somasundaram, R., Panneerselvam, R. (2007) Alterations in osmoregulation, antioxidant enzymes and indole alkaloid levels in *Catharanthus roseus* exposed to water deficit. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces [online]*, 59(2):150-157. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2007.05.001> [1. srpnja 2024.]

- Jogawat, A. (2019) Osmolytes and their role in abiotic stress tolerance in plants. U: Dr. Roychoudhury, A. i Dr. Tripathi, D. (ur.), *Molecular plant abiotic stress: Biology and biotechnology*. Sjednjinjene Američke Države: John Wiley & Sons, Ltd., str. 91-104.
- Kang, S. M., Radhakrishnan, R., Khan, A. L., Kim, M. J., Park, J. M., Kim, B. R., Shin, D. H., Lee, I. J. (2014) Gibberellin secreting rhizobacterium, *Pseudomonas putida* H-2-3 modulates the hormonal and stress physiology of soybean to improve the plant growth under saline and drought conditions. *Plant Physiology and Biochemistry [online]*, 84:115-124. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.09.001> [18. srpnja 2024.]
- Kapular, K. (2021) *Utjecaj metode navodnjavanja i gustoće sadnje na prinos i kakvoću salate (Lactuca sativa L.)*. Diplomski rad. Osijek: Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti.
- Kar, R. K. (2015) ROS signaling: Relevance with site of production and metabolizam of ROS. U: Gupta, D. K., Palma, J. M. i Corpas, F. J. (ur.), *Reactive oxygen species and oxidative damage in plants under stress*. London: Springer, str. 115-125.
- Katsoulas, N., Elvanidi, A., Ferentinos, K. P., Kacira, M., Bartzanas, T., Kittas, C. (2016) Crop reflectance monitoring as a tool for water stress detection in greenhouses: a review. *Biosystems Engineering [online]*, 151:374-398. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2016.10.003> [27. lipnja 2024.]
- Kerepesi, I. i Galiba, G. (2000) Osmotic and salt stress-induced alteration in soluble carbohydrate content in wheat seedlings. *Crop Science [online]*, 40(2):482-487. Dostupno na: <https://doi.org/10.2135/cropsci2000.402482x> [5. srpnja 2024.]
- Khan, N. i Bano, A. (2019) Exopolysaccharide producing rhizobacteria and their impact on growth and drought tolerance of wheat grown under rainfed conditions. *PLoS One [online]*, 14(9):e0222302. Dostupno na: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222302> [18. srpnja 2024.]
- Kogan, F., Guo, W. i Yang, W. (2019) Drought and food security prediction from NOAA new generation of operational satellites. *Geomatics, Natural Hazards and Risk [online]*, 10(1):651-666. Dostupno na: <https://doi.org/10.1080/19475705.2018.1541257> [28. lipnja 2024.]
- Koji, Y., Shiro, M., Michio, K., Mitsutaka, T., Hiroshi, M. (2009) Antioxidant capacity and damages caused by salinity stress in apical and basal regions of rice leaf. *Plant Production Science [online]*, 12(3):319-326. Dostupno na: <https://doi.org/10.1626/pps.12.319> [10. srpnja 2024.]
- Kojić, A., Marković, M., Marček, T., Velić, N., Lojková, L., Atilgan, A., Japundžić-Palenkić, B. (2023) The benefit of mycorrhizal fungi and beneficial soil bacteria in drought exposed lettuce (*Lactuca sativa* var. capitata) is genotype and environment dependent. *Applied Sciences [online]*, 13(22):12117. Dostupno na: <https://doi.org/10.3390/app132212117> [8. lipnja 2024.]
- Kour, D., Shareif Khan, S., Kaur, T., Kour, H., Singh, G., Yadav, A., Yadav, A. N. (2022) Drought adaptive microbes as bioinoculants for the horticultural crops. *Heliyon [online]*, 8(5):e09493. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09493> [10. srpnja 2023.]
- Krishnan, S., Laskowski, K. R., Shukla, V., Merewitz, E. B. (2013) Mitigation of drought stress damage by exogenous application of a non-protein amino acid γ -aminobutyric acid on perennial ryegrass. *Journal of the American Society for Horticultural Science [online]*, 138(5):358-366. Dostupno na: <https://doi.org/10.21273/JASHS.138.5.358> [9. srpnja 2024.]

- Labudda, M. (2013) Lipid peroxidation as a biochemical marker for oxidative stress during drought. An effective tool for plant breeding. *E-wydawnictwo*, Poland. Dostupno na: <http://www.e-wydawnictwo.eu/Document/DocumentPreview/3342> [12. lipnja 2024.]
- Lata, S., Kaur, H. P. i Mishra, T. (2019) Cadmium bioremediation: a review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research [online]*, 10(9):4120-4128. Dostupno na: [http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.10\(9\).4120-28](http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.10(9).4120-28) [16. srpnja 2024.]
- Le Gall, H., Philippe, F., Domon, J. M., Gillet, F., Pelloux, J., Rayon, C. (2015) Cell wall metabolism in response to abiotic stress. *Plants [online]*, 4(1):112-166. Dostupno na: <https://doi.org/10.3390/plants4010112> [10. srpnja 2024.]
- Li, J., Abbas, K., Wang, L., Gong, B., Hou, S., Wang, W., Dai, B., Xia, H., Wu, X., Lü, G., Gao, H. (2023) Drought resistance index screening and evaluation of lettuce under water deficit conditions on the basis of morphological and physiological differences. *Frontiers in Plant Science [online]*, 14:1228084. Dostupno na: <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1228084> [20. kolovoza 2024.]
- Li, J., Meng, B., Chai, H., Yang, X., Song, W., Li, S., Lu, A., Zhang, T., Sun, W. (2019) Arbuscular mycorrhizal fungi alleviate drought stress in C3 (*Leymus chinensis*) and C4 (*Hemarthria altissima*) grasses via altering antioxidant enzyme activities and photosynthesis. *Frontiers in Plant Science [online]*, 10:499. Dostupno na: <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00499> [17. srpnja 2024.]
- Liu, X., Ardo, S., Bunning, M., Parry, J., Zhou, K., Stushnoff, C., Stoniker, F., Yu, L., Kendall, P. (2007) Total phenolic content and DPPH· radical scavenging activity of lettuce (*Lactuca sativa* L.) grown in Colorado. *LWT – Food Science and Technology [online]*, 40(3):552-557. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.09.007> [24. srpnja 2024.]
- Madouh, T. A. i Quoreshi, A. M. (2023) The function of arbuscular mycorrhizal fungi associated with drought stress resistance in native plants of arid desert ecosystems: a review. *Diversity [online]*, 15(3):391. Dostupno na: <https://doi.org/10.3390/d15030391> [17. srpnja 2024.]
- Maherali, H. (2014) Is there an association between root architecture and mycorrhizal growth response? *New Phytologist [online]*, 204(1):192-200. Dostupno na: <https://doi.org/10.1111/nph.12927> [16. srpnja 2024.]
- Maksimov, I. V., Abizgil'dina, R. R. i Pusenkova, L. I. (2011) Plant growth promoting rhizobacteria as alternative to chemical crop protectors from pathogens (Review). *Applied Biochemistry and Microbiology [online]*, 47(4):333-345. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.1134/S0003683811040090> [16. srpnja 2024.]
- Marček, T., Hamow, K. Á., Végh, B., Janda, T., Darko, E. (2019) Metabolic response to drought in six winter wheat genotypes. *PLoS ONE [online]*, 14(2): e0212411. Dostupno na: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212411> [12. lipnja 2024.]
- Marček, T., Marković, M., Ravlić, M., Kojić, A., Velić, N. (2024) Mogućnosti iskorištenja nusproizvoda prehrambene industrije za dobivanje biostimulatora, biognojiva i biopesticida. U: Šubarić, D., Jašić M. i Jokić S. (ur.), *Neke mogućnosti iskorištenja nusproizvoda prehrambene industrije – Knjiga 5*. Osijek: Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet, str. 29-53.

- Marček, T., Tkalec, M., Vidaković-Cifrek, Ž., Ježić, M., Ćurković-Perica, M. (2014) Effect of NaCl stress on dihaploid tobacco lines tolerant to *Potato virus Y*. *Acta Physiologiae Plantarum [online]*, 36(7):1739-1747. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.1007/s11738-014-1548-2> [16. lipnja 2024.]
- Mayak, S., Tirosh, T. i Glick, B. R. (2004) Plant growth-promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomatoes and peppers. *Plant Science [online]*, 166(2):525-530. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2003.10.025> [18. srpnja 2024.]
- McConnaughey, M. (2014) Physical chemical properties of fungi. U: *Reference module in biomedical sciences*. Elsevier. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.05231-4> [15. srpnja 2024.]
- Mešić, A., Pajač Živković, I., Vourka, A., Židovec, V., Duralija, B. (2022) Uloga biostimulatora u smanjenju stresa biljaka. *Glasnik zaštite bilja [online]*, 45(3):38-42. Dostupno na: <https://doi.org/10.31727/gzb.45.3.5> [10. srpnja 2023.]
- Miller, B. M. (2012) *Using mycorrhizae in a professional mix [online]*. Greenhouse product news. Dostupno na: https://gpnmag.com/wp-content/uploads/08_Grower101_GPN0412%20FINAL.pdf [16. srpnja 2024.]
- Molina-Favero, C., Creus, C. M., Simontacchi, M., Puntarulo, S., Lamattina, L. (2008) Aerobic nitric oxide production by *Azospirillum brasilense* Sp245 and its influence on root architecture in tomato. *Molecular Plant Microbe Interactions [online]*, 21(7):1001-1009. Dostupno na: <https://doi.org/10.1094/MPMI-21-7-1001> [18. srpnja 2024.]
- Moreno-Galván, A., Romero-Perdomo, F. A., Estrada-Bonilla, G., Meneses, C. H. S. G., Bonilla, R. R. (2020) Dry-caribbean *Bacillus* spp. strains ameliorate drought stress in maize by a strain-specific antioxidant response modulation. *Microorganisms [online]*, 8(6):823. Dostupno na: <https://doi.org/10.3390/microorganisms8060823> [10. srpnja 2024.]
- Munns, R., Passioura, J. B., Colmer, T. D., Byrt, C. S. (2019) Osmotic adjustment and energy limitations to plant growth in saline soil. *New Phytologist [online]*, 225(3):1091-1096. Dostupno na: <https://doi.org/10.1111/nph.15862> [20. kolovoza 2024.]
- Murtaza, G., Rasool, F., Habib, R., Javed, T., Sardar, K., Ayub, M. M., Ayub, M. A., Rasool, A. (2016) A review of morphological, physiological and biochemical responses of plants under drought stress conditions. *Imperial Journal of Interdisciplinary Research*, 2(12).
- Nadeem, M., Ali, M., Kubra, G., Fareed, A., Hasan, H., Khursheed, A., Gul, A., Amir, R., Fatima, N., Khan, S. U. (2020) Chapter 6 - Role of osmoprotectants in salinity tolerance in wheat. U: Munir Ozturk, M. i Gul A. (ur.), *Climate change and food security with emphasis on wheat*. Sjedinjene Američke Države: Academic Press, str. 93-106.
- Noumedem, J. A. K., Djeussi, D. E., Hritcu, L., Mihasan, M., Kuete, V. (2017) Chapter 20 - *Lactuca sativa*. U: Kuete, V. (ur.), *Medicinal spices and vegetables from Africa, Therapeutic potential against metabolic, inflammatory, infectious and systemic diseases*. Sjedinjene Američke Države: Academic Press, str. 437-449.

- Noumedem, J. A. K., Mihasan, M., Lacmata, S. T., Stefan, M., Kuate, J. R., Kuete, V. (2013) Antibacterial activities of the methanol extracts of ten Cameroonian vegetables against Gram-negative multidrug-resistant bacteria. *BMC Complementary and Alternative Medicine [online]*, 13:26. Dostupno na: <https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-26> [24. srpnja 2024.]
- Oktem, A. (2008) Effect of water shortage on yield, and protein and mineral compositions of drip-irrigated sweet corn in sustainable agricultural systems. *Agricultural Water Management [online]*, 95(9):1003-1010. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2008.03.006> [1. srpnja 2024.]
- Olanrewaju, O. S., Glick, B. R. i Babalola, O. O. (2017) Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. *World journal of microbiology and biotechnology [online]*, 33(11):197. Dostupno na: <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2364-9> [16. srpnja 2024.]
- Petrov, P., Petrova, A., Dimitrov, I., Tashev, T., Olsovska, K., Brestic, M., Misheva, S. (2017) Relationships between leaf morpho-anatomy, water status and cell membrane stability in leaves of wheat seedlings subjected to severe soil drought. *Journal of Agronomy and Crop Science [online]*, 204(3):219-229. Dostupno na: <https://doi.org/10.1111/jac.12255> [1. srpnja 2024.]
- Petrov, V. D. i Van Breusegem, F. (2012) Hydrogen peroxide—a central hub for information flow in plant cells. *AoB Plants [online]*, 2012:pls014. Dostupno na: <https://doi.org/10.1093/aobpla/pls014> [20. kolovoza 2024.]
- Poudel, M., Mendes, R., Costa, L. A. S., Bueno, C. G., Meng, Y., Folimonova, S. Y., Garrett, K. A., Martins, S. J. (2021) The role of plant-associated bacteria, fungi, and viruses in drought stress mitigation. *Frontiers in Microbiology [online]*, 12:743512. Dostupno na: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.743512> [10. srpnja 2023.]
- Rajabbeigi, E., Eichholz, I., Beesk, N., Ulrichs, C., Kroh, L. W., Rohn, S., Huyskens-Keil, S. (2013) Interaction of drought stress and UV-B radiation – Impact on biomass production and flavonoid metabolism in lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Journal of Applied Botany and Food Quality [online]*, 86:190-197. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.5073/JABFQ.2013.086.026> [5. lipnja 2024.]
- Rathinasabapathi, B. (2000) Metabolic engineering for stress tolerance: Installing osmoprotectant synthesis pathways. *Annals of Botany [online]*, 86(4):709-716. Dostupno na: <https://doi.org/10.1006/anbo.2000.1254> [9. srpnja 2024.]
- Rezaei-Chiyaneh, E., Seyyedi, S. M., Ebrahimian, E., Moghaddam, S. S., Damalas, C. A. (2018) Exogenous application of gamma-aminobutyric acid (GABA) alleviates the effect of water deficit stress in black cumin (*Nigella sativa* L.). *Industrial Crops and Products [online]*, 112:741-748. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.12.067> [9. srpnja 2024.]
- Rocha, I., Ma, Y., Vosátka, M., Freitas, H., Oliveira, R. S. (2019) Growth and nutrition of cowpea (*Vigna unguiculata*) under water deficit as influenced by microbial inoculation via seed coating. *Journal of Agronomy and Crop Science [online]*, 205(5):447-459. Dostupno na: <https://doi.org/10.1111/jac.12335> [18. srpnja 2024.]
- Rontein, D., Basset, G. i Hanson, A. D. (2002) Metabolic engineering of osmoprotectant accumulation in plants. *Metabolic Engineering [online]*, 4(1):49-56. Dostupno na: <https://doi.org/10.1006/mben.2001.0208> [5. srpnja 2024.]

- Saeed, Q., Xiukang, W., Haider, F. U., Kučerik, J., Mumtaz, M. Z., Holatko, J., Naseem, M., Kintl, A., Ejaz, M., Naveed, M., Brtnicky, M., Mustafa, A. (2021) Rhizosphere bacteria in plant growth promotion, biocontrol, and bioremediation of contaminated sites: a comprehensive review of effects and mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences [online]*, 22(19):10529. Dostupno na: <https://doi.org/10.3390/ijms221910529> [16. srpnja 2024.]
- Sandhya, V., Ali, S. Z., Grover, M., Reddy, G., Venkateswarlu, B. (2010) Effect of plant growth promoting *Pseudomonas* spp. on compatible solutes, antioxidant status and plant growth of maize under drought stress. *Plant Growth Regulation [online]*, 62:21-30. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.1007/s10725-010-9479-4> [10. srpnja 2024.]
- Sandhya, V., Ali, S. Z., Grover, M., Reddy, G., Venkateswarlu, B. (2009) Alleviation of drought stress effects in sunflower seedlings by the exopolysaccharides producing *Pseudomonas putida* strain GAP-P45. *Biology and Fertility of Soils [online]*, 46:17-26. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.1007/s00374-009-0401-z> [18. srpnja 2024.]
- Sarma, R. K. i Saikia, R. (2013) Alleviation of drought stress in mung bean by strain *Pseudomonas aeruginosa* GGRJ21. *Plant and Soil [online]*, 377:111-126. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-013-1981-9> [18. srpnja 2024.]
- Sauter, A., Davies, W. J. i Hartung, W. (2001) The long-distance abscisic acid signal in the droughted plant: the fate of the hormone on its way from root to shoot. *Journal of Experimental Botany [online]*, 52(363):1991-1997. Dostupno na: <https://doi.org/10.1093/jexbot/52.363.1991> [1. srpnja 2024.]
- Singh, S., Singh, G., Singh, P., Singh, N. (2008) Effect of water stress at different stages of grain development on the characteristics of starch and protein of different wheat varieties. *Food Chemistry [online]*, 108(1):130-139. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.10.054> [1. srpnja 2024.]
- Sourour, A., Afef, O., Mounir, R., Mongi, B. Y. (2017) A review: Morphological, physiological, biochemical and molecular plant responses to water deficit stress. *The International Journal Of Engineering And Science [online]*, 6(1):1-4. Dostupno na: <https://doi.org/10.9790/1813-0601010104> [19. lipnja 2024.]
- Taarit, M. B., Msaada, K., Hosni, K., Marzouk, B. (2010) Changes in fatty acid and essential oil composition of sage (*Salvia officinalis* L.) leaves under NaCl stress. *Food Chemistry [online]*, 119(3):951-956. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.07.055> [1. srpnja 2024.]
- Tallapragada, P., Dikshit, R. i Seshagiri, S. (2016) Influence of *Rhizophagus* spp. and *Burkholderia seminalis* on the growth of tomato (*Lycopersicon esculatum*) and bell pepper (*Capsicum annuum*) under drought stress. *Communications in Soil Science and Plant Analysis [online]*, 47(17): 1975-1984. Dostupno na: <https://doi.org/10.1080/00103624.2016.1216561> [7. srpnja 2024.]
- Tang, H., Hassan, M. U., Feng, L., Nawaz, M., Shah, A. N., Qari, S. H., Liu, Y., Miao, J. (2022) The critical role of arbuscular mycorrhizal fungi to improve drought tolerance and nitrogen use efficiency in crops. *Frontiers in Plant Science [online]*, 13:919166. Dostupno na: <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.919166> [17. srpnja 2024.]

- Tricker, P. J., ElHabti, A., Schmidt, J., Fleury, D. (2018) The physiological and genetic basis of combined drought and heat tolerance in wheat. *Journal of Experimental Botany [online]*, 69(13):3195-3210. Dostupno na: <https://doi.org/10.1093/jxb/ery081> [20. kolovoza 2024.]
- Uarrota, V. G., Stefen, D. L. V., Leolato, L. S., Gindri, D. M., Nerling, D. (2018) Revisiting carotenoids and their role in plant stress responses: From biosynthesis to plant signaling mechanisms during stress. U: Gupta, D., Palma, J. i Corpas, F. (ur.), *Antioxidants and antioxidant enzymes in higher plants*. Berlin; Heidelberg (Germany): Springer, str. 207-232.
- Umar, W., Ayub, M. A., ur Rehman, M. Z., Ahmad, H. R., Farooqi, Z. U. R., Shahzad, A., Rehman, U., Mustafa, A., Nadeem, M. (2020) Nitrogen and phosphorus use efficiency in agroecosystems. U: Kumar, S., Meena, R. S. i Jhariya, M. K. (ur.), *Resources Use Efficiency in Agriculture*. Singapore: Springer, str. 213-257.
- Vacheron, J., Desbrosses, G., Bouffaud, M. L., Touraine, B., Moëgne-Loccoz, Y., Muller, D., Legendre, L., Wisniewski-Dyé, F., Prigent-Combaret, C. (2013) Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. *Frontiers in Plant Science [online]*, 4:356. Dostupno na: <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00356> [17. srpnja 2024.]
- Vijayakumari, K. i Puthur, J. T. (2016) γ -Aminobutyric acid (GABA) priming enhances the osmotic stress tolerance in *Piper nigrum* Linn. plants subjected to PEG-induced stress. *Plant Growth Regulation [online]*, 78:57-67. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.1007/s10725-015-0074-6> [9. srpnja 2024.]
- Vishwakarma, K., Kumar, N., Shandilya, C., Mohapatra, S., Bhayana, S., Varma, A. (2020) Revisiting plant-microbe interactions and microbial consortia application for enhancing sustainable agriculture: a review. *Frontiers in Microbiology [online]*, 11:560406. Dostupno na: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.560406> [10. srpnja 2023.]
- Vishwakarma, K., Upadhyay, N., Kumar, N., Yadav, G., Singh, J., Mishra, R. K., Kumar, V., Verma, R., Upadhyay, R. G., Pandey, M., Sharma, S. (2017) Abscisic acid signaling and abiotic stress tolerance in plants: A review on current knowledge and future prospects. *Frontiers in Plant Science [online]*, 8:161. Dostupno na: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00161> [17. srpnja 2024.]
- Volk, T. J. (2013) Fungi. U: Levin, S. A. (ur.), *Encyclopedia of Biodiversity (Second Edition)*. Sjedinjene Američke Države: Academic Press, str. 624-640.
- Vukadinović, V., Jug, I. i Đurđević, B. (2014) Ekofiziologija bilja. *Sveučilišni udžbenik*, naklada NSS. Osijek: Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet.
- Wach, D. i Skowron, P. (2022) An overview of plant responses to the drought stress at morphological, physiological and biochemical levels. *Polish Journal of Agronomy [online]*, 50:25-34. Dostupno na: <https://doi.org/10.26114/pja.iung.435.2022.04> [1. srpnja 2024.]
- Wahab, A., Abdi, G., Saleem, M. H., Ali, B., Ullah, S., Shah, W., Mumtaz, S., Yasin, G., Muresan, C. C., Marc, R. A. (2022) Plants' physio-biochemical and phyto-hormonal responses to alleviate the adverse effects of drought stress: A comprehensive review. *Plants [online]*, 11(13):1620. Dostupno na: <https://doi.org/10.3390/plants11131620> [10. srpnja 2024.]

- Wu, J., Nadeem, M., Galagedara, L., Thomas, R., Cheema, M. (2022) Recent insights into cell responses to cold stress in plants: Signaling, defence, and potential functions of phosphatidic acid. *Environmental and Experimental Botany [online]*, 203:105068. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2022.105068> [20. kolovoza 2024.]
- Xie, W., Hao, Z., Zhou, X., Jiang, X., Xu, L., Wu, S., Zhao, A., Zhang, X., Chen, B. (2018) Arbuscular mycorrhiza facilitates the accumulation of glycyrrhizin and liquiritin in *Glycyrrhiza uralensis* under drought stress. *Mycorrhiza [online]*, 28(3):285-300. Dostupno na: <https://doi.org/10.1007/s00572-018-0827-y> [17. srpnja 2024.]
- Yaghoubian, Y., Siadat, S. A., Telavat, M. R. M., Pirdashti, H., Yaghoubia, I. (2019) Bio-removal of cadmium from aqueous solutions by filamentous fungi: *Trichoderma* spp. and *Piriformospora indica*. *Environmental Science and Pollution Research International [online]*, 26(8):7863-7872. Dostupno na: <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04255-6> [16. srpnja 2024.]
- Zhang, H., Zhao, Y. i Zhu, J. K. (2020) Thriving under stress: how plants balance growth and the stress response. *Developmental Cell [online]*, 55 (5):529-543. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2020.10.012> [27. lipnja 2024.]
- Zia, R., Nawaz, M. S., Siddique, M. J., Hakim, S., Imran, A. (2021) Plant survival under drought stress: Implications, adaptive responses, and integrated rhizosphere management strategy for stress mitigation. *Microbiological Research [online]*, 242: 126626. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126626> [1. srpnja 2024.]