

## Interakcija željeza i fosfora u karbonatnim tlima

Prof. dr. sc. Vladimir Vukadinović

Fotosinteza je jedinstven fizikalno-kemijski mehanizam transformacije Sunčeve energije uz pomoć klorofila, zelenog pigmenta kojim biljke, alge i fotosintetske bakterije sintetiziraju organsku tvar neophodnu za život svih drugih bića na Zemlji, naravno kad sadrže dovoljno klorofila. Novi rad francuskog Nacionalnog istraživačkog instituta za poljoprivredu, hranu i okoliš otkriva složene, međuovisne reakcije elemenata ishrane koje su odgovorne za nisku razinu klorofila i pojavu tzv. kloroze koja se manifestira žutom bojom lišća s mrežom tamnozelenih lisnih žila (Slika 1.). Do sada se smatralo da klorozu lišća biljaka uzrokuje nedostatak željeza.

Željezo je konstituent mnogih prostetičkih grupa enzima koji imaju brojne biološke funkcije, odnosno konstituent je kem. strukture (porfirini koji sadrže Fe) u kojem promjenom valencije omogućuju transport elektrona.

Biljke iznose 300-1.500 g Fe ha<sup>-1</sup> i premda u tlu najčešće ima dovoljno željeza moгу usvojiti tek mali dio ukupnog Fe tla zbog poremećaja u sustavu tlo-biljka-klima-agrotehnika kad je pH > 6,0. Zbog toga se u alkalnim uvjetima (visok pH tla) javlja tzv. vapnena kloroza zbog suviška Ca i Mg u tlu. Klorotične biljke sadrže manje od 50-150 ppm Fe u suhoj tvari, a tipični manjak očituje se prvo interkostalnom (međužilnom) klorozom mlađih listova (Slika 1.), zatim dolazi do pojave rubne nekroze i opadanja lišća. Pri tom je korijen biljaka kraći i zadebljao, biljke sadrže manje Fe<sup>2+</sup> jer je blokirana redukcija Fe<sup>3+</sup> u Fe<sup>2+</sup> kao i transport željeza iz korijena u lišće, povećan je omjer P/Fe i K/Ca, a sužen N/K. Zbog toga je suha masa lista i korijena najčešće veća kod biljaka uzgajanih na kiselom u odnosu na karbonatno tlo, dok je koncentracija Fe može biti i do deset puta veća u korijenu kukuruza na karbonatnom tlu uz pojavu kloroze.



Slika 1. Tipičan izgled kloroze na lišću vinove loze

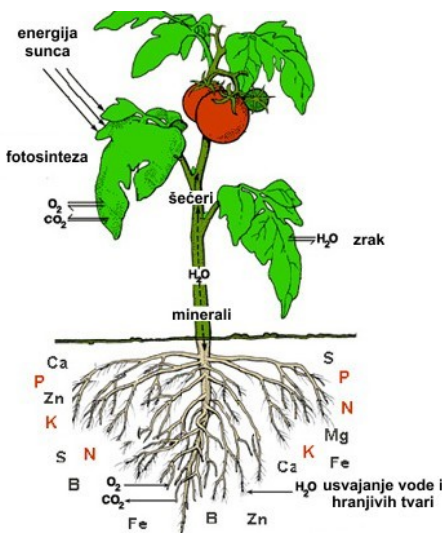
Kloroza uzrokovana deficitom željeza i kalija (tzv. Fe ili vapnena kloroza), a suviškom kalcija i magnezija, jedan je od glavnih abiotičkih stresova u uzgoju usjeva i trajnih nasada na karbonatnim ili alkalnim tlima istočne Hrvatske i mediteranskom području, a simptomi se mogu donekle razlikovati po godinama ovisno o temperaturi i oborinama. Također, nedostatak željeza može se zapaziti kad je tlo natopljeno (saturirano) vodom nakon obilnih kiša ili poplave, u zbijenom tlu i nakon kalcizacije ili fosfatizacije.

Suvišak željeza se u biljnoj proizvodnji rijetko događa, osim u vrlo kiselim i slabo dreniranim tlima, gdje je moguće toksično djelovanje suviška željeza. Kritična toksična granica za Fe je 400-1.000 ppm (prosječno 500 ppm), a ogleda se u inhibiciji rasta, tamnom, plavozelenom lišću i mrkoj boji korijena.

U procesu fotosinteze odvija se niz reakcija oksidacije i redukcije u kojima se pomoću svjetlosne energije iz vode (koja se oksidira) i ugljičnog dioksida (koji se reducira) u zelenim biljkama sintetizira složena organska tvar, prvo ugljikohidrati, iz kojih transformacijama i resintezama nastaju svi ostali organski spojevi. Velika većina zelenih biljaka su fotoautotrofi, što znači da su u stanju sintetizirati hranu

Slika 2. Potrebe biljaka za primarnu proizvodnju organske tvari

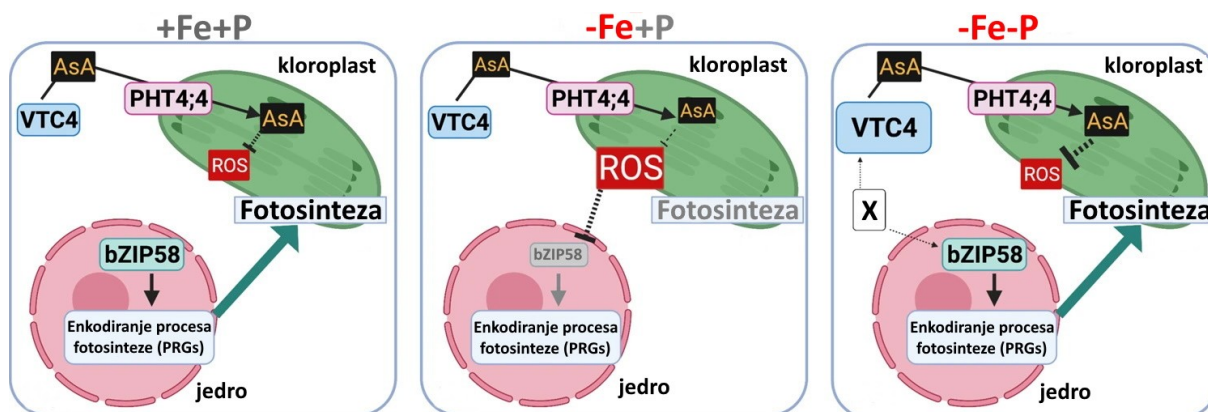
izravno iz anorganskih (mineralnih) tvari uz pomoć sunčeve energije za sebe i sve druge organizme, dok kemoautotrofi ne ovise o svjetlosnoj energiji, ali za sintezu hrane koriste kemijsku energiju anorganskih spojeva. Stoga gnojiva, mineralna i/ili organska, zapravo nisu biljna hrana jer biljke su autotrofni organizmi koji svoju hranu (šećere), same sintetiziraju u procesu fotosinteze (iz CO<sub>2</sub> i vode uz pomoć energije Sunca), a



u složenom prometu tvari i energije (*metabolizam*) transformiraju ugljikohidrate (šećere) u sve druge oblike hrane i građevne jedinice žive tvari. Naime, hrana mora sadržavati i energiju za održavanje životne aktivnosti, dok je funkcija elemenata ishrane vezana isključivo uz omogućavanje sinteze i građu vitalnih komponenata, npr. proteina, nukleinskih kiselina, fosfolipida, hormona itd.

Zelena biljka je prirodni sustav pomoću kojeg se usvaja ugljik iz zraka i koji svjetlost kontinuirano transformira u kemijski oblik energije, odnosno organsku tvar (Slika 2.), premda u novije vrijeme ima i laboratorijskih pokušaja oponašanja takvog sustava konverzije svjetlosne energije.

Novo, opsežno istraživanje kloroze francuskih znanstvenika objašnjava kako raspoloživost fosfora iz tla utječe na nedostatak željeza preko kontrole gena odgovornih za sintezu klorofila i integraciju s metabolizmom biljke u cjelini. (Slika 3.). Koristeći transkriptomiku i analizu asocijacija na razini genoma identificirana su dva gena od kojih PHT4;4 kodira kloroplastni askorbatni transporter i bZIP58 koji kodira faktor transkripcije u jedru.

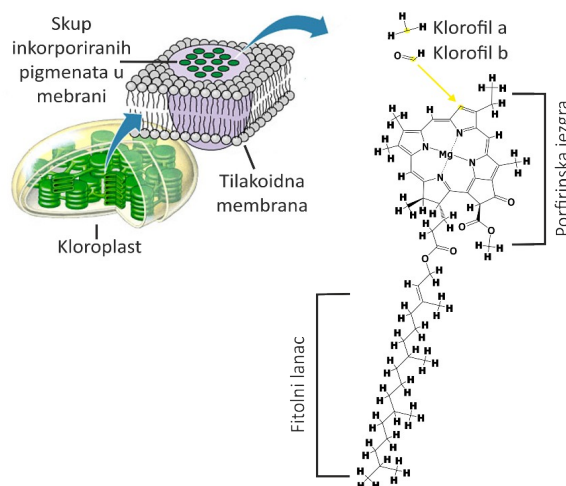


Slika 3. Shematski model koji ocrta signalni put koji integrira znakove dostupnosti Fe i P za regulaciju akumulacije klorofila i gena fotosinteze

PHT4;4 = gen koji kodira kloroplastni askorbatni transporter; bZIP58 = faktor kodiranja transkripciju; AsA = enzim za sintezu askorbinske kiseline (Vitamin C4; VTC4); ROS = reaktivni štetni kisik i PRGs = mehanizam regulacije ekspresije gena povezanih s fotosintezom.

Nedostatak Fe (-Fe+P) smanjuje ekspresiju bZIP58 koji kontrolira transkripciju kodiranih fotosintetskih gena u jedru, dok ograničenje usvajanja fosfora u manjku Fe (-Fe-P) sprječava aktivnost bZIP58 i i ekspresiju VTC4. Pretpostavka je kako da povećanje razine askorbinske kiseline sprječava akumulaciju ROS-a (reaktivnog i štetnog kisika), čime se održava ekspresija bZIP58 i njegovih gena fotosinteze što rezultira fenotipom "stay-green" (zeleni izgled povezan s većom tolerancijom na stres i većim prinosem zbog dulje aktivnosti fotosinteze).

Fotosinteza je veoma složen biokemijski proces transformacije sunčeve energije u kemijsku energiju jednostavnih šećera koji se zatim koriste za tvorbu svih ostalih tvari i za daljnje fiksiranje (*asimilaciju*) ugljičnog dioksida iz atmosfere, a odvija se unutar klorofila (Slika 4.), visoko specijaliziranim organelama biljnih stanica. Osim toga, potrebno je adekvatno nakupljanje hranjivih tvari (Slika 2.), osobito željeza (Fe), kako bi kloroplasti imali optimalni učinak. Približno 80 % Fe u listovima nalazi se u kloroplastima, gdje njegova sposobnost doniranja i prihvaćanja svjetlom pobuđenih (*ekscitiranih*) elektrona igra središnju ulogu u reakcijama prijenosa elektrona.



Slika 4. Lokacija i kemijska građa klorofila

Fe se nalazi u svim kompleksima za prijenos elektrona PSI, PSII (fotosistemi I i II), kompleksu *citokroma b6f* i *feredoksinima* i potreban je za biogenezu kofaktora kao što su *hem* i *klasteri željezo-sumpor*.

Međutim, klorotični listovi također se mogu razviti u uvjetima s visokim sadržajem fosfora, unatoč normalnoj koncentraciji Fe, što dovodi u pitanje uzročnu vezu između koncentracije Fe i nakupljanja klorofila. Zbog toga, opisani model (Slika 3.) signalnog puta ukazuje na veliku važnost komunikacije kloroplast-jezgra u uvjetima istodobnih nedostataka hranjivih tvari, fosfora i željeza te bi mogao imati izravan utjecaj na rast biljaka u polju poboljšanjem fotosintetske aktivnosti biljaka uz smanjenje opskrbe hranjivim tvarima.

Dvije su mogućnosti kako ravnoteža željeza i fosfora utječe na sprječavanje kloroze, osobito što se ne javlja kloroza u nedostatku željeza i fosfora (–Fe–P, Slika 3.). Premda su sva tla bogata željezom, ono je uglavnom u netopivim spojevima koje je većina biljaka sposobna usvojiti izlučujući iz korijena u tlo produkte metabolizma (tzv. *eksudati*), izuzimajući borovnice i još neke biljke koje uspijevaju samo u kiselim uvjetima. Međutim, interakcija Fe i P može utjecati na njihovu bioraspodivnost, a zajednički nedostatak može povećati raspoloživi Fe za fotosintezu ili pak dostupnost fosfora modulira signalne puteve nedostatka Fe koji kontroliraju fotosintezu na što i ukazuje ovo istraživ.

Dugo vremena je prevladavalo mišljenje kako je niska količina željeza u tlu jedini uzrok kloroze pa su poljoprivrednici često primjenjivali željezo, pa čak i preventivno, radi sprečavanja kloroze, ali je sve jasnije kako i drugi elementi ishrane, osobito fosfor imaju ulogu u pojavi kloroze. Naime, interdisciplinarnе analize pokazale su da jedro (nukleus), gdje se nalazi genetski kod, regulira ekspresiju gena za sintezu klorofila ovisno o dostupnosti fosfora (Slika 3.), ali mehanizam komunikacije između ključnih organela biljne stanice, jedra i kloroplasta, još uvijek nije jasan.

Željezna kloroza je široko rasprostranjena na području istočne Hrvatske i više puta je bila predmet istraživanja autora ovog članka, kao i njegovih suradnika i doktoranata (npr. Uzroci kloroze kukuruza na černozeu istočne Hrvatske i Fe-kloroza vinove loze na Podunavskoj podregiji) u stvarnim i kontroliranim uvjetima. Povišene koncentracije bikarbonata nakon oborina u otopini tla smatraju se glavnim uzrokom pojave kloroze na što ukazuju i biljke indikatori (Slika 5). Za razliku od pokusa u kontroliranim uvjetima (posudama) u poljskim uvjetima ne zapaža se čvrsta korelacija te se viša koncentracija željeza može naći i u mladom klorotičnom lišću. Taj se fenomen naziva “*paradoks kloroze*” jer uzrok Fe-kloroze je inaktivacija Fe u biljci, posebno u apoplastu lista.



Slika 5. Bagrem nakon obilnijih oborina (Erdutsko vinogorje)

Fosfor (P) i željezo (Fe) su biogeni elementi koje biljka zahtijeva u značajnoj količini te je dobro poznato da oba imaju važne fiziološke i ekonomske implikacije, ali je njihova, kako agronomska, tako i fiziološka efikasnost izrazito niska, premda se najčešće nalaze u izobilju u tlu. Niska bioraspodivnost željeza uglavnom je posljedica nepovoljnih uvjeta tla kao što su visok sadržaj bikarbonata, visok pH, zbijenost tla, poplava, suša i dr., dok je dostupnost i efikasnost fosfora najviše podređena pH vrijednosti tla, teksturi i sadržaju humusa.

Željezo se teško premješta *floemom* (ascendentno, prema gore) i jedva da se prenosi iz starih u rastuća tkiva i/ili organe. Stoga se prvi vidljivi simptomi nedostatka Fe javljaju u mladom lišću (Slika 5.), dok stariji listovi ostaju zeleni. Ako nepovoljni uvjeti za usvajanje željeza potraju, mogu se pojaviti nekrotična područja na lišću. Koncentracija anorganskog fosfora (P<sub>i</sub>) u tlu, jedinog oblika fosfora (zapravo fosfata) koji se može apsorbirati korijenjem (*vodotopivi primarni* Ca(H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub><sup>-</sup> i *sekundarni kalcijev fosfat* topiv u slabim kiselinama



i izlučevinama korijena  $\text{CaHPO}_4^{2-}$ ) općenito je manja od količine potrebne za visok urod usjeva jer je  $\text{P}_i$  slabo pokretljiv u tlu, sklon vezivanju u vodu netopive spojeve, naročito s kationima poput magnezija ( $\text{Mg}^{2+}$ ), kalcija ( $\text{Ca}^{2+}$ ) i metala, lako se fiksira na organske spojeve tla i čvrsto adsorbira na površini Fe oksida.

Fiziološke funkcije željeza povezane su s njegovom sposobnošću prijenosa elektrona na reverzibilan način kroz promjene njegovog oksidacijsko-redukcijskog stanja te željezo sudjeluje u ključnim procesima kao što su fotosinteza, sinteza klorofila, disanje, ishrana dušikom itd. Osim toga, djeluje kao kofaktor u različitim enzimima koji sudjeluju u eliminaciji reaktivnih vrsta kisika (ROS), sprječavajući oštećenje stanica koje ROS može uzrokovati (fitooksidacijski stres), osobito na višim temperaturama.

Fosfor sudjeluje u mnogim važnim fiziološkim procesima i bez njega ne bi bilo metabolizma energije (ključna je komponenta ATP-a i ostalih energetske molekula), sinteze nukleinskih kiselina važnih za nasljeđivanje, fotosinteze, disanja, glikolize, aktivacije (snabdijevanje reaktanata energijom u endergonim reakcijama) i deaktivacije enzima, redukcije oksida, metabolizma ugljikohidrata, fiksacije atmosferskog dušika (N), a sudjeluje još i u građi bioloških membrana i transportu tvari kroz njih i dr.

U Osijeku, 8. veljače 2022. god.