

UNIVERZITET U BEOGRADU

BIOLOŠKI FAKULTET

Maja M. Trailović

Fiziološki i molekularni mehanizmi mobilizacije i
transporta fosfora kod vinove loze (*Vitis* spp.)

doktorska disertacija

Beograd, 2026.

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF BIOLOGY

Maja M. Trailović

Physiological and Molecular Mechanisms of
Phosphorus Mobilisation and Transport in
Grapevine (*Vitis* spp.)

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2026.

Mentori:

dr Milorad Vujičić, vanredni profesor
Univerzitet u Beogradu – Biološki fakultet

dr Ljiljana Kostić Kravljanac, viši naučni saradnik
Univerzitet u Beogradu – Institut za multidisciplinarna istraživanja

Članovi komisije:

dr Miroslav Nikolić, naučni savetnik
Univerzitet u Beogradu – Institut za multidisciplinarna istraživanja

dr Tijana Cvetić Antić, vanredni profesor
Univerzitet u Beogradu – Biološki fakultet

dr Slavica Todić, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu – Poljoprivredni fakultet

Datum odbrane: _____

Mojoj porodici

Zahvalnica

Ova doktorska disertacija urađena je u Laboratoriji za ishranu biljaka, Univerziteta u Beogradu – Instituta za multidisciplinarna istraživanja, u okviru sledećih projekata: “Mineralni stres i adaptacije biljaka na marginalnim poljoprivrednim zemljištima (173028)” Ministarstva nauke Republike Srbije (2011-2019) i “*Si4Crop*” Fonda za nauku Republike Srbije (Program Ideje, 2021-2024). Višegodišnji eksperimenti u poljskim uslovima izvedeni su u vinogradu Vinarije Doja, u Donjoj Jošanici kod Blaca.

Veliku zahvalnost u izradi ove doktorske disertacije dugujem svojoj mentorki dr Ljiljani Kostić Kravljanac, rukovodiocu projekta “*Si4Crop*”. Mentorko, hvala na smernicama, pre svega, dragocene pomoći u laboratorijskom radu i svaladavanju različitih metoda hemijskih analiza zemljišnih i biljnih uzoraka. Hvala na strpljivom čitanju rukopisa doktorske disertacije. Hvala na podršci i na zanimljivim putovanjima do eksperimentalnog vinograda kod Blaca.

Mentoru sa Univerziteta u Beogradu – Biološkog fakulteta, dr Miloradu Vujičiću zahvaljujem na pažljivom čitanju rukopisa doktorske disertacije i podršci.

Osnivaču Laboratorije za ishranu biljaka, dr Miroslavu Nikoliću zahvaljujem na inicijativi da se takva kompleksna istraživanja sprovedu u poljskim uslovima i poverenju da budem teo tima. Hvala Vam na dragocanim sugestijama, savetima, strpljenju i svesrdnoj pomoći prilikom publikovanja radova. Hvala što ste uvek razumeli moju brzopletost.

Dr Nini Nikolić zahvaljujem na pomoći pri tumačenju rezultata, pomoći kod statističkih analiza, pisanju rukopisa i razgovorima. Hvala Vam što ste verovali u mene i kad ja nisam. Hvala Vam što ste uvek imali vremena i strpljenja za mene.

Članovima komisije, dr Slavici Todić (Univerzitet u Beogradu – Poljoprivredi fakultet) i dr Tijani Cvetić Antić (Univerzitet u Beogradu – Biološki fakultet) zahvaljujem na kritičkom pregledu doktorske disertacije. Dr Slavici Todić zahvaljujem i na pomoći prilikom izvodjenja eksperimenata u vinogradu.

Veliko hvala kolegama iz Laboratorije za ishranu biljaka, dr Jeleni Pavlović, dr Igoru Kostiću, Tijani Dubljanin, Ani Paravinji i Mariji Radović na pomoći, prijateljskoj radnoj atmosferi i podršci, a posebno dr Predragu Bosniću na pomoći u postavljanju sistema rizotrona u vinogradu. Posebnu zahvalnost dugujem kolegi dr Milošu Stanojeviću na pomoći u svim fazama izrade ove doktorske disertacije, mnogobrojnim kafama, razgovorima i pre svega bezgraničnoj podršci. Hvala!

Zahvalnost dugujem i IRC Sunoko u Indiji, u čijoj molekularnoj laboratoriji su urađene molekularne analize, a posebno zahvaljujem Anji Milosavljević na savetima i pomoći u radu, kao i velikoj podršci. Dr Dragani Bosnić (Univerzitet u Beogradu – Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo) hvala sa pomoći i korisnim savetima oko molekularnih analiza.

Zahvaljujem gospodinu Goranu Todiću, diplominaru inženjeru poljoprivrede (Vinarija Doja), koji je omogućio da se eksperimenti sprovedu u njihovom vinogradu, na tehničkoj pomoći, pruženom gostoprimstvu i prijatnom boravku u vinariji tokom izvođenja eksperimenata u polju.

Najveću zahvalnost, ipak, dugujem svojoj porodici, za njihovu nesebičnu podršku, razumevanje i ljubav. Hvala vam što ste uvek verovali u mene.

Fiziološki i molekularni mehanizmi mobilizacije i transporta fosfora kod vinove loze (*Vitis* spp.)

Sažetak

Fosfor (P) je esencijalan mineralni makroelement za biljke koji se smatra ograničavajućim faktorom za rastenje i produktivnost useva na 30-40% obradivog zemljišta u svetu. Primena fosfatnih đubriva je postala jedan od glavnih problema u poljoprivredi u današnje vreme, zbog ograničenih neobnovljivih rezervi sirovih fosfata sa jedne strane, dok je samo mali deo P iz đubriva dostupan biljkama. Stoga je upoznavanje mehanizama kojima biljke mogu da efikasno iskoriste rezerve P iz zemljišta uz efikasno unutrašnje iskorišćavanje ovog makroelementa i njegovo uključivanje u metabolizam, postao jedan od najvećih izazova u ishrani biljaka. Glavni cilj ove doktorske disertacije bio je razjašnjavanje fizioloških i molekularnih mehanizama kojima se vinova loza, kao jedna od ekonomski i civilizacijski najvažnijih gajenih drvenastih vrsta, prilagođava nedostatku P, uključujući mobilizaciju P iz rizosfernog zemljišta i njegovo usvajanje korenom lozne podloge *Vitis* spp. i dalju preraspodelu i akumulaciju u listovima okalemljene sorte *V. vinifera* (plemke). Imajući u vidu da je primena silicijuma (Si) u poljoprivredi, kao jedinog poznatog mineralnog elementa koji pomaže biljkama da prevaziđu stres, u skladu sa principima održive i organske proizvodnje grožđa i vina, drugi deo ove disertacije bio je posvećen istraživanju mehanizama kojima Si može da pospeši efikasnost adaptacija vinove loze na nedostatak P u zemljištu. Konačno, dodatni cilj od značaja za praksu bio je da se u poljskim uslovima proceni efikasnost načina đubrenja Si, preko zemljišta i preko lista (folijarno), kao održive alternative primeni mineralnih P đubriva u vinogradarstvu. U ovu svrhu, postavljena su tri poljska eksperimenta u vinogradu podignutom na zemljištu siromašnom u P, sa evropskom sortom vinove loze (*V. vinifera*) Šardone, okalemljenom na podlogu Kober 5BB (*V. berlandieri* × *V. riparia*). Korišćenjem rizotrona omogućen je direktan pristup intaktnim korenovima i rizosfernom zemljištu. Uzorkovanje je vršeno u tri ključne fenofaze vinove loze: cvetanju (E-L 23), kada bobice dostignu veličinu zrna graška (E-L 31) i na početku sazrevanja grožđa (šarak; E-L 35). Izvedeni su sledeći eksperimenti: (1) trogodišnji (2019-2021). *Eksperiment 1* sa dva tretmana: neđubreni čokoti (-P) i čokoti đubreni P (+P); (2) jednogodišnji *Eksperiment 2* (2020) sa tri tretmana: kontrola (bez đubrenja P i Si), đubrenje P (+P) i đubrenje Si (+Si); i (3) jednogodišnji *Eksperiment 3* sa dva tretmana đubrenja Si: preko zemljišta i folijarno. Analizirane su promene koncentracija odabranih mineralnih elemenata u zemljištu (frakcije dostupne biljci) i listu, frakcija neorganskog P (Pi) u rizosfernom i okolnom zemljištu, dinamika izlučivanja karboksilata iz korena, kao i ekspresija gena povezanih sa anaplerotičkom biosintezom (*VvPEPC*), i efluksom karboksilata (*VvALMT1*), odnosno gena koji kodiraju fosfatne transportere u korenu i listu (*VvPHT1;1-4*). Rezultati su pokazali da se sorta Šardone kalemljena na podlogu Kober 5BB odlikuje visokom efikasnošću u korišćenju P u uslovima njegove niske dostupnosti u zemljištu. Sezonska koordinacija mobilizacije P u rizosferi putem povećane eksudacije citrata i malata, sa njegovim usvajanjem i preraspodelom u biljci, posredovana PHT1 transporterima, efikasno je obezbedila zadovoljenje potreba za P kod neđubrenih čokota vinove loze. Đubrenje Si je dodatno povećalo dostupnost Pi u rizosferi, posredstvom pojačanog izlučivanja karboksilata, zatim njegovo usvajanje korenom preko *VvPHT1* transportera, i povećalo koncentraciju P u listu do nivoa sličnog biljkama đubrenim P. Sa druge strane, pojačana eksudacija citrata i malata u uslovima niske dostupnosti P u zemljištu podstakla je mobilizaciju Si u rizosfernom zemljištu i povećala njegovu akumulaciju u listovima, što je dodatno doprinelo aktivaciji internih adaptivnih mehanizama -P biljaka. Primena Si preko zemljišta je pokazala bolji rezultat u povećanju koncentracije P u listovima vinove loze u odnosu na folijarnu primenu. Iako folijarna primena Si nije imala uticaja na mobilizaciju Si u rizosferi, kao ni na njegovo usvajanje korenom podloge (ekspresija *VvPHT1*), rezultati jasno ukazuju na njegov uticaj na bolju preraspodelu P u biljci posredstvom aktiviranja *PHT1* u listu plemke. Ova istraživanja pružaju prve

dokaze o vinovoj lozi kao P-efikasnoj biljnoj vrsti, a takođe ukazuju i na značajan potencijal đubrenja Si u optimizaciji ishrane vinove loze P, kao i na mogućnost njegove primene kao prihvatljive održive alternative klasičnim fosfatnim đubrivima u savremenoj vinogradarskoj praksi.

Ključne reči: vinova loza (*Vitis* spp.), fosfor, silicijum, *VvPHT1*, *VvALMT1*, *VvPEPC*, izlučevine korena, karboksilati, rizosfera, zemljište, vinograd.

Naučna oblast: Biologija

Uža naučna oblast: Fiziologija i molekularna biologija biljaka

Physiological and Molecular Mechanisms of Phosphorus Mobilisation and Transport in Grapevine (*Vitis* spp.)

Abstract

Phosphorus (P) is an essential mineral element for plants and is considered a limiting factor for crop growth and productivity on 30–40% of agriculture land worldwide. The application of phosphate fertilisers has become one of the major problems in agriculture nowadays due to the limited, non-renewable resources of phosphate rocks on the one hand, and the fact that only a small fraction of fertiliser-derived P is available to plants on the other. Therefore, understanding the mechanisms by which plants can efficiently utilise soil P reserves, together with effective internal use of this nutrient and its incorporation into metabolism, has become one of the greatest challenges in plant nutrition. The main objective of this Ph. D. thesis was to elucidate the physiological and molecular mechanisms by which grapevine, as one of the most economically important cultivated woody species with great civilisational significance, copes with P deficiency. This includes P mobilisation from the rhizosphere soil, its uptake by the rootstock (*Vitis* spp.) root, and its subsequent redistribution and accumulation in the leaves of the scion (*V. vinifera*). Since the use of silicon (Si) in agriculture, as the only known mineral element that effectively alleviates various forms of stress in plants, is consistent with the principles of sustainable and organic grape and wine production, the second part of this dissertation focuses on investigating the mechanisms by which Si can enhance grapevine efficiency under conditions of low soil P availability. Finally, an additional objective of practical importance was to evaluate the effectiveness of different Si applications, via soil and via foliar application, as sustainable alternatives to mineral P fertilisers in viticulture. For this purpose, three field experiments were established in a vineyard on a low-P soil, using the European grapevine (*V. vinifera*) cultivar Chardonnay, grafted onto the rootstock Kober 5BB (*V. berlandieri* × *V. riparia*), using rhizotrons that enabled direct access to intact roots and rhizosphere soil. Sampling was conducted at three key phenological stages of grapevine growth and development: flowering (E–L 23), pea-sized berries (E–L 31), and veraison (E–L 35). The following field experiments were carried out: (1) a three-year experiment (2019–2021) with two treatments: unfertilised vines (–P) and P-fertilised vines (+P); (2) a one-year experiment (2020) with three treatments: control (no P or Si fertilisation), P fertilisation (+P), and Si fertilisation (+Si); and (3) a one-year experiment with two Si fertilisation treatments: soil application and foliar application. Selected mineral elements in soil (plant-available forms) and leaves were analyzed, along with inorganic P (Pi) fractions in rhizosphere and bulk soils, the dynamics of root carboxylate exudation, and the expression of genes related to anaplerotic carboxylate (citrate and malate) biosynthesis (*VvPEPC*) and their efflux (*VvALMT1*), as well as genes encoding phosphate transporters in roots and leaves (*VvPHT1;1–4*). The results showed that the Chardonnay cultivar grafted onto the Kober 5BB rootstock possesses high P-use efficiency under conditions of low soil P availability. Seasonal coordination of P mobilisation from the rhizosphere soil through increased exudation of citrate and malate, together with its uptake and redistribution within the plant mediated by PHT1 transporters, effectively met the P requirements of unfertilised grapevines. Silicon fertilisation further increased Pi availability in the rhizosphere via enhanced carboxylate exudation, its uptake by roots through *VvPHT1* transporters, and increased leaf P concentrations to levels comparable to those of P-fertilised plants. Conversely, enhanced citrate and malate exudation under low soil P availability stimulated Si mobilisation in the rhizosphere soil and increased its accumulation in leaves. Soil application of Si proved more effective in increasing leaf P concentration than foliar application. Although foliar Si application did not affect Si mobilisation in the rhizosphere or its uptake by the rootstock roots (not affected *VvPHT1* expression), the results clearly indicate its role in improving P redistribution within the plant through activation of PHT1 transporters in the leaves of the scion. These studies provide the first evidence of grapevine as a P-efficient plant species and also highlight the

significant potential of Si fertilisation in improving grapevine P nutrition and its use as a promising sustainable alternative to phosphate fertilisers in viticultural practice, particularly in vineyards established on soils that are low in available Si.

Key words: grapevine (*Vitis* spp.), phosphorus, silicon, *VvPHT1*, *VvALMT1*, *VvPEPC*, root exudates, carboxylates, rhizosphere, soil, vineyard.

Scientific field: Biology

Scientific subfield: Plant physiology and molecular biology

Publikovani rezultati doktorske disertacije “Fiziološki i molekularni mehanizmi mobilizacije i transporta fosfora kod vinove loze (*Vitis* spp.)”:

Trailovic M, Kostic Kravljanac L, Stanojevic M, Pavlovic J, Bosnic P, Kostic I, Nikolic M (2026) Silicon enhances acquisition of phosphorus in grafted grapevines (cv. Chardonnay) grown under field conditions. *Plant and Soil*, <https://doi.org/10.1007/s11104-026-08382-1>.

Trailovic M, Kostic Kravljanac L, Stanojevic M, Bosnic P, Nikolic N, Todic S, Nikolic M (2025) Seasonal dynamics of phosphorus (P) efficiency in grafted Chardonnay grapevines grown under low-P field conditions. *Plant and Soil* 516: 473–489. <https://doi.org/10.1007/s11104-025-07738-3>.

Sadržaj

1. Uvod	1
1.1. Značaj vinove loze	1
1.2. Fosfor u ishrani biljaka	1
1.2.1. Fosfor u zemljištu	2
1.2.2. Adaptacije biljaka u uslovima niske dostupnosti fosfora	4
1.2.3. Izlučivanje organskih kiselina i mobilizacija fosfora u rizosferi	6
1.2.4. Usvajanje fosfora i fosfatni transporteri	10
1.2.5. Fosfor u ishrani vinove loze i njegova dinamika tokom vegetacije	12
1.2.6. Upotreba fosfatnih đubriva	13
1.3. Silicijum u ishrani biljaka	14
1.3.1. Usvajanje, transport i akumulacija silicijuma kod biljaka	14
1.3.2. Uloga silicijuma u stresu biljaka	15
1.3.3. Silicijum u ishrani vinove loze	16
1.4. Interakcije silicijuma i fosfora u zemljištu i biljci	16
2. Ciljevi istraživanja	19
3. Materijal i metode	20
3.1. Karakteristike eksperimentalnog lokaliteta	20
3.2. Biljni materijal	23
3.3. Esperimenti u vinogradu i eksperimentalni dizajn	23
3.4. Analiza biljnog materijala	27
3.4.1. Sakupljanje eksudata korena i analiza karboksilata	27
3.4.2. Analiza fosfora i odabranih makro- i mikroelemenata u lisnom materijalu	28
3.4.3. Određivanje silicijuma u lisnom materijalu	28
3.4.4. Molekularne analize	28
3.5. Analiza zemljišta	30
3.5.1. Priprema uzoraka zemljišta	30
3.5.2. Određivanje aktivne kiselosti zemljišta	30
3.5.3. Određivanje dostupnog fosfora u zemljištu	30
3.5.4. Sekvencionalna ekstrakciona analiza neorganskog fosfora	30
3.5.5. Određivanje dostupnog silicijuma u zemljištu	31
3.5.6. Određivanje dostupnih oblika odabranih makroelemenata u zemljištu	31
3.5.7. Određivanje dostupnih oblika odabranih mikroelemenata u zemljištu	31

3.6. Statistička i grafička obrada podataka	31
4. Rezultati.....	33
4.1. Sezonska dinamika efikasnosti usvajanja i iskorišćavanja fosfora kod vinove loze.....	33
4.1.1. Koncentracije fosfora i kalijuma u listu vinove loze	33
4.1.2. Koncentracije odabranih makro- i mikroelemenata u listu vinove loze.....	35
4.1.3. pH vrednost zemljišta	36
4.1.4. Frakcije neorganskog fosfora u rizosfernom zemljištu.....	37
4.1.5. Relativne promene frakcija neorganskog fosfora između okolnog i rizosfernog zemljišta	37
4.1.6. Koncentracije dostupnih oblika odabranih makro- i mikroelemenata u zemljištu	39
4.1.7. Sezonska dinamika izlučivanja karboksilata iz korena vinove loze	41
4.1.9. Ekspresija <i>VvPHT1</i> u korenu i listu vinove loze.....	46
4.2. Uticaj silicijumom na sezonsku dinamiku mobilizacije i usvajanja fosfora kod vinove loze.....	46
4.2.1. Koncentracija fosfora, silicijuma i kalijuma u listu vinove loze	46
4.2.2. Koncentracije odabranih makro- i mikroelemenata u listu vinove loze.....	48
4.2.3. Promene koncentracija dostupnog fosfora i silicijuma između okolnog i rizosfernog zemljišta.....	49
4.2.4. Koncentracije dostupnih oblika odabranih makro- i mikroelemenata u zemljištu	52
4.2.5. Dinamika izlučivanja karboksilata iz korena vinove loze	54
4.2.6. Ekspresija <i>VvALMT1</i> i <i>VvPEPC</i> u korenu vinove loze	55
4.2.7. Ekspresija <i>VvPHT1</i> u korenu i listu vinove loze.....	56
4.3. Uticaj načina đubrenja silicijumom na dinamiku mobilizacije i usvajanja fosfora kod vinove loze.....	60
4.3.1. Koncentracija fosfora i silicijuma u listu vinove loze.....	60
4.3.2. Promene koncentracija dostupnog fosfora i silicijuma između okolnog i rizosfernog zemljišta	61
4.3.3. Sezonska dinamika izlučivanja karboksilata iz korena vinove loze	62
4.3.5. Ekspresija <i>VvPHT1</i> gena u korenu i listu vinove loze.....	64
5. Diskusija	68
5.1. Sezonske promene u efikasnosti usvajanja i iskorišćavanja fosfora kod vinove loze.....	68
5.2. Uticaj đubrenja silicijumom na procese mobilizacije i usvajanja fosfora kod vinove loze.....	71
5.3. Efekt različitih načina primene silicijuma na ishranu fosforom i silicijumom kod vinove loze.....	74
5.4. Mehanizmi uključeni u mobilizaciju i transport fosfora kod vinove loze i delovanje silicijuma na njihovu regulaciju	76
6. Zaključci	78
7. Literatura	79

1. Uvod

1.1. Značaj vinove loze

Vinova loza (*Vitis vinifera* L.) je jedna od civilizacijski i ekonomski najvažnijih poljoprivrednih kultura na svetu, sa godišnjom proizvodnjom od oko 78 miliona tona grožđa globalno, koje se koristi za proizvodnju vina i nefermentisanog soka, ili direktno u ishrani kao sveže i suvo grožđe (<https://www.oiv.int>). U 2022. godini pod vinovom lozom bilo je zasađeno preko 6,73 miliona hektara širom sveta. U okviru strukture ukupnih površina pod vinogradima dominira Evropa sa skoro 51% ukupnih površina, dok Azija takođe ima značajan udeo od oko 28%; među pet vodećih zemalja proizvođača grožđa nalaze se Kina, Italija, Francuska, Španija i SAD (FAO, 2024; <https://worldpopulationreview.com/country>).

Rod *Vitis* se deli na dva podroda *Vitis* i *Muscadinia*, koja su se razdvojila pre oko 18 miliona godina (Wan *et al.*, 2013). Podrod *Muscadinia* sreće se u toplim i umerenim zonama Severne i Centralne Amerike i na Karibima, dok je podrod *Vitis* rasprostranjen širom sveta, uključujući severni deo Južne Amerike, Severnu i Centralnu Ameriku, Evropu i Aziju (Zecca *et al.*, 2012; Wan *et al.*, 2013; Wen *et al.*, 2018). Vrsta *V. vinifera* je evroazijskog porekla i obuhvata dve podvrste, kultivisanu vinovu lozu (subsp. *sativa*) i divlju vinovu lozu (subsp. *sylvestris*). Današnje sorte grožđa koje se uzgajaju za proizvodnju vina ili ishranu pripadaju pretežno, sa nekoliko izuzetaka, vrsti *Vitis vinifera subsp. sativa*, koja je sa pojavom prvih poljoprivrednika domestifikovana od divljeg pretka *V. vinifera subsp. sylvestris* pre oko 11.000 godina u dva glavna domestifikaciona centra (zapadna Azija i Kavkaz), odakle se proširila po Evropi duž glavnih puteva ljudskih migracija (Dong *et al.*, 2023; Viret *et Gindro*, 2025). Prvi dokazi o spravljanju vina datiraju iz Neolita, od pronalaska glinene posude za vino u okolini Tbilisija (Gruzija), čija se starost procenjuje na oko 8.000 godina (Dong *et al.*, 2023).

Zbog pojave lozne filoksere (*Daktulosphaira vitifoliae* Fitch) u Evropi sredinom XIX veka, sorte *V. vinifera* se kaleme na lozne podloge dobijene ukrštanjem različitih vrsta roda *Vitis* poreklom iz Severne i Centralne Amerike kao što su *V. riparia* Michx., *V. berlandieri* Planch *V. rupestris* Scheele, *V. aestivalis* Michx. i *V. labrusca* L., a koje su otporne na filokseru (Viret *et Gindro*, 2025). Lozna podloga Kober 5BB na kojoj je podignut eksperimentalni vinograd je nastala ukštanjem *V. berlandieri* i *V. riparia*, i ona je najzastupljenija lozna podloga u vinogradima u Srbiji. Iako se broj današnjih sorti vinove loze *V. vinifera* i njenih hibrida nastalih višekratnim ukrštanjima *V. vinifera* sa drugim predstavnicima roda *Vitis* (u cilju povećanja otpornosti na bolesti, sušu i niske temperature) procenjuje na preko 10.000, svega 13 sorti vinove loze prisutno je na više od 1/3 svih svetskih vinograda, dok se bela vinska sorta Šardone, koja je predmet istraživanja ove doktorske disertacije nalazi među pet najzastupljenijih sorti vinove loze globalno (Viret *et Gindro*, 2025).

1.2. Fosfor u ishrani biljaka

Fosfor (P) je esencijalan mineralni element za biljke, koji čini 0,5 do 5 g kg⁻¹ suve biljne mase, što ga svrstava u makroelemente (Marschner, 2011). U biljnim tkivima, P se javlja u a) organskim oblicima (Po) kao što su fosfatni monoestri (C–O–P veza; npr. fitat), fosfatni diestri (C–O–P–O–C veza; npr. nukleotidi i fosfolipidi), i b) neorganskim oblicima (Pi) kao što su ortofosfati, pirofosfati (P–O–P veza) i polifosfati (Wieczorek *et al.*, 2022). Fosfor ulazi u sastav ključnih molekula, poput fosfolipida, nukleotida i adenzin-trifosfata (ATP), učestvuje u regulaciji propustljivosti membrana, fotosintezi, ćelijskom disanju, glikolizi, redoks reakcijama i prenosu signala, koji omogućavaju biljkama da dobiju informacije iz okoline i da se prilagode njenim konstantnim promenama (Lizcano-Toledo *et al.*, 2021). Takođe, P učestvuje u metabolizmu lipida, transportu ugljenih hidrata, održavanju osmotskog potencijala (Abel *et al.*, 2002; Puga *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2018) te je, nakon azota (N), metabolički najaktivniji

makroelement u biljaka. Sa fiziološkog gledišta, neorganski fosfor (Pi) u biljnim tkivima može biti a) metabolički aktivan (nalazi se u citoplazmi) i njegova se koncentracija održava u relativno uskim granicama, i b) uskladišten u vakuoli, čija koncentracija prevazilazi trenutne potrebe ćelije i koristi se za regulaciju homeostaze Pi u citoplazmi (Veneklaas *et al.*, 2012). Kod biljaka se većina ćelijskog Pi (85% do 95%) nalazi deponovana u vakuolama (Raghothama, 1999; Lopez Arredondo *et al.*, 2014; Roch *et al.*, 2019). Neorganski P održava se na relativno konstantnom nivou tokom kratkoročnog nedostatka ovog makroelementa na račun vakuolarnog Pi. Dugoročno pak posmatrano, na nivou celog lista, promene u usvajanju Pi korenom dovode do izražene varijabilnosti u koncentraciji P, te stoga koncentracija P u listu predstavlja pouzdan pokazatelj statusa ovog makroelementa u biljkama (Bollons *et Barraclough*, 1999; Vance *et al.*, 2003; Baker *et Pilbeam*, 2015; Lambers *et Plaxton*, 2015; Roch *et al.*, 2019). U uslovima nedostatka P, kod većine biljaka se uočava pojava ljubičaste boje listova, zatim dolazi do smanjenja vegetativnog rasta (listovi su sitni, dok su stabljike kratke i tanke), a ređe se javljaju simptomi hloroze i nekroze na listovima (Barker *et Pilbeam*, 2015; Roch *et al.*, 2019). Nedostatak P takođe smanjuje prinos ili odlaže sazrevanje plodova. Vrlo se često simptomi nedostatka P preklapaju sa simptomima nedostaka drugih hranljivih elemenata. Na primer, pri niskim temperaturama ljubičasta boja listova može biti posledica nedostatka N, što se često primećuje kod kupusnjača (*Brassica*). S obzirom da je P vrlo pokretan u biljnim tkivima, lako se transportuje iz starih u mlade listove u uslovima nedostatka, što posledično dovodi do pojave simptoma na starijim listovima (Baker *et Pilbeam*, 2015). Stoga se P smatra najčešćim ograničavajućim faktorom za rastenje i razviće useva (Lizcano-Toledo *et al.*, 2021).

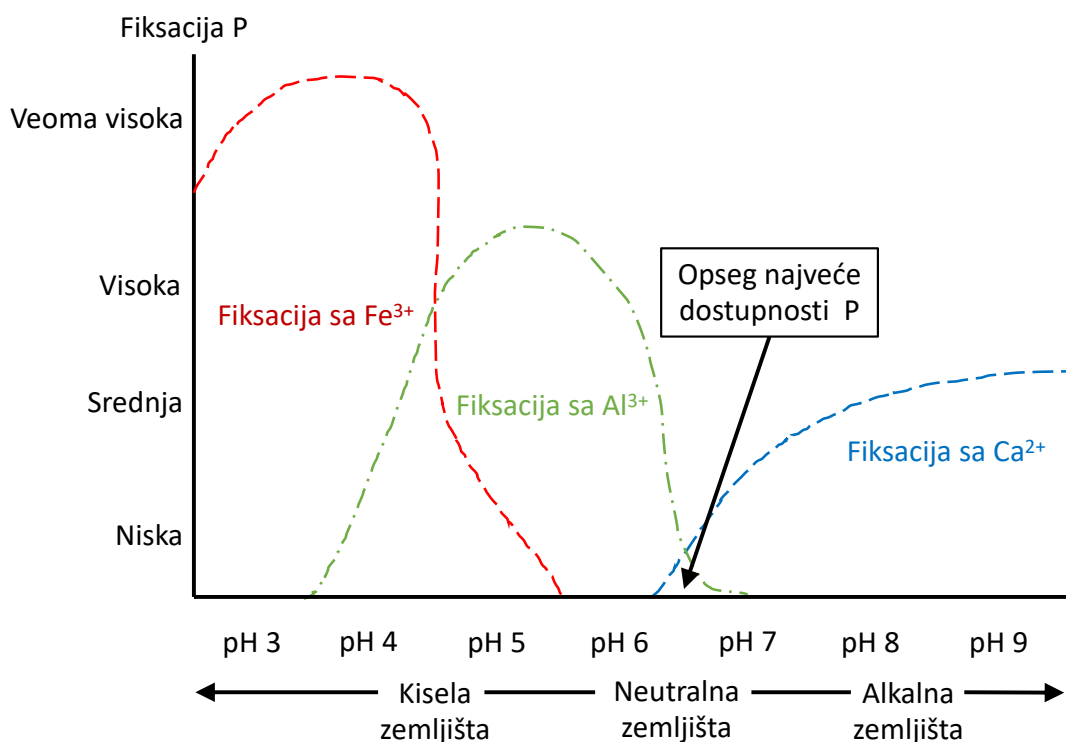
1.2.1. Fosfor u zemljištu

Procenjuje se da je na 30-40% obradivog zemljišta u svetu (5,7 milijardi hektara) prinos useva ograničen nedostatkom P (Hinsinger, 2001; Vance *et al.*, 2003). Dostupnost P za biljke u zemljištu zavisi od više faktora, kao što su: ukupna geogena koncentracija P, pH, redoks potencijal, struktura i tekstura zemljišta (posebno sadržaj gline), sadržaj organske materije, mineralni sastav, salinitet, koncentracija kalcijuma (Ca), gvožđa (Fe), mangana (Mn) i aluminijuma (Al), površinsko oticanje vode i spiranje zemljišta, enzimske aktivnosti zemljišta, kao i brojnost i funkcionalni diverzitet mikroorganizama u zemljištu (Lopez-Arredondo *et al.*, 2014; Roch *et al.*, 2019).

Fosfor se u zemljištu nalazi u organskom (Po) i neorganskom (Pi) obliku. Organski P u zemljištu obično čini 30% do 65% ukupnog P. Najveći deo Po čine inozitol-fosfati (60%), zatim delovi DNK (3-5%) i fosfolipidi (1%). Koncentracija Po u zemljišnom rastvoru zavisi od starosti zemljišta; u veoma mladim zemljištima ukupni Po čini manje od 1% ukupnog sadržaja P, dok u starijim zemljištima može biti i do 50%. U zemljištima nizijskih tropskih kišnih šuma, Po čini 26%, dok u vulkanskim zemljištima bogatim ukupnim P (npr. zemljišta tipa Andosol u Čileu) čini približno polovinu ukupnog P u zemljištu (Lambers *et Plaxton*, 2015). Takođe, istraživanja pokazuju da je organski fosfor u zemljištu mobilniji od neorganske frakcije (Barker *et Pilbeam*, 2015; Lambers *et Plaxton*, 2015). Iako biljke ne mogu direktno da usvoje organski oblik P, on može biti preveden u neorganski oblik dostupan biljkama u procesu mineralizacije delovanjem enzima fosfataza koje luče korenovi biljaka ili mikroorganizmi u rizosferi (Lambers, 2022). Ovi procesi u velikoj meri zavise od temperature, vlažnosti zemljišta, pH, redoks potencijala, i drugih fizičko-hemijskih, ali i bioloških, svojstava zemljišta (Shen *et al.*, 2011). Međutim, i organske frakcije P se razlikuju prema stepenu podložnosti procesima mineralizacije. Inozitol-fosfati predstavljaju stabilan deo organske frakcije P, dok se ostale komponente poput DNK i fosfolipida brzo razgrađuju pod dejstvom mikroorganizama (Shen *et al.*, 2011; Barker *et Pilbeam*, 2015; Guan *et al.*, 2024). Fosfor oslobođen procesom mineralizacije organske materije može biti usvojen od strane biljaka, zemljišnih mikroorganizama, fiksiran u teško rastvorljivu neorgansku frakciju ili ređe, izgubljen ispiranjem u dublje slojeve zemljišta i izgubljen površinskim oticanjem (Shen *et al.*, 2011; Barker *et*

Pilbeam, 2015). Neorganski P čini 35% do 70% ukupnog P u zemljištu i smatra se značajnijim za ishranu biljaka (Guan *et al.*, 2024). Iako je ukupna koncentracija Pi u većini poljoprivrednih zemljišta visoka (obično od 500 do 2000 mg kg⁻¹; Vance *et al.*, 2003), dostupni P u zemljišnom rastvoru, koji je na direktnom raspolaganju biljkama i mikroorganizmima varira u opsegu 0,1-10 μM, što je nedovoljno za normalno rastenje i razviće većine useva (optimalna koncentracija Pi za većinu useva varira od nekoliko μM do nekoliko desetina μM) (Hinsinger, 2001). Nedostatak dostupnog Pi u zemljištu može se javiti na zemljištima sa prirodno niskim sadržajem ukupnog P *per se*, ali i na zemljištima koja imaju relativno visok sadržaj ukupnog P, ali je usled velike reaktivnosti fosfatnih anjona dostupnost P za biljke niska (Roch *et al.*, 2019). Čak i u zemljištima bogatim P, lako dostupni i rastvorljivi oblici P čine samo oko 1%, dok je više od 90% obično čvrsto vezano za čestice zemljišta u organskim ili neorganskim oblicima (Roch *et al.*, 2019). Najveći deo Pi se u zemljištu nalazi u obliku primarnih ili sekundarnih minerala ili adsorbovan na različite čestice zemljišta. Primarni P minerali, uključujući apatit, strengit i variscit, veoma su stabilni, dok se sekundarni P minerali, uključujući fosfate Ca, Fe i Al razlikuju u stepenu rastvaranja, u zavisnosti od veličine mineralnih čestica i pH vrednosti zemljišta (Oelkers *et Valsami-Jones*, 2008; Shen *et al.*, 2011). Sa porastom pH vrednosti zemljišta, rastvorljivost fosfata Fe i Al raste, dok rastvorljivost fosfata Ca opada, osim kod pH vrednosti iznad 8, kada ponovo raste (Hinsinger, 2001). U kiselim zemljištima, P se lako adsorbuje na površine oksida i hidroksida Al, Fe i Mn (imaju velike specifične površine koje pružaju veliki broj mesta za adsorpciju), poput gibsita, hematita i getita. Sa druge strane, P adsorbovan na površinu ovih kompleksa može se osloboditi reakcijama desorpcije i na taj način postati dostupan za biljke. Svi navedeni oblici P postoje u kompleksnoj ravnoteži jedni s drugima, predstavljajući spektar od veoma stabilnih i teško dostupnih do lako dostupnih oblika za biljke (Shen *et al.*, 2011). U neutralnim, a posebno u karbonatnim zemljištima, fosfati se lako talože, ali se mogu i adsorbovati na površinu kalcijum karbonata (CaCO₃) i minerala gline. Fosfatni anjoni lako reaguju sa Ca²⁺, stvarajući dikalcijum fosfat (DCP; CaHPO₄), koji je lako dostupan biljkama. DCP može preći u stabilnije oblike, kao što su oktokalcijum fosfat [OCP; Ca₈H₂(PO₄)₆] i hidroksiapatit [HAP; Ca₅(PO₄)₃], koji su manje dostupni biljkama na alkalnom zemljištu (Arai *et Sparks*, 2007). Pokazano je da se rastvaranje HAP povećava sa smanjenjem pH vrednosti zemljišta (Wang *et Nancollas*, 2008), što ukazuje da zakišeljavanje rizosfere može biti efikasna strategija za mobilizaciju P u tim zemljištima (Shen *et al.*, 2011).

Uopšteno, prema dostupnosti biljkama, Pi frakcije se dele se na: a) Pi u zemljišnom rastvoru (direktno dostupan; najmanji deo ukupnog P); b) labilni Pi (rastvorljivi Ca-fosfati i slabo adsorbovani fosfati); i c) nelabilan Pi (jako adsorbovan na površini minerala gline i teško rastvorljivih minerala). U uslovima niskih koncentracija Pi u zemljišnom rastvoru ili u slučajevima kada biljke iscrpe ovu frakciju Pi, P se nadoknađuje rastvaranjem iz labilne frakcije, a zatim, znatno sporije, i iz nelabilne Pi frakcije (Barker *et Pilbeam*, 2015). U većini poljoprivrednih zemljišta, koncentracija dostupnog Pi u zemljišnom rastvoru je oko 2 μM, što je za nekoliko redova veličine niže nego u ćelijskom soku biljnih tkiva (5–20 mM). U rizosferi, usvajanje Pi od strane biljaka i mikroorganizama koji kolonizuju površinu korena dovodi do stvaranja zone osiromašenja Pi oko samog korena; ta zona niskih koncentracija Pi se održava zbog sporog difuzionog kretanja Pi iz okolnog do rizosfernog zemljišta, u neposrednoj blizini korena (Poirier *et Bucher*, 2002). Za vreme povećanog usvajanja P korenom usled povećanih zahteva tokom intenzivnog porasta biljaka, koncentracije Pi u zemljišnom rastvoru na granici između korena i zemljišta (rizosfera) mogu čak pasti na submikromolarne nivoe. Posledično, biljke su razvile različite mehanizme adaptacija u uslovima nedovoljne dostupnosti P (Vance *et al.*, 2003).



Slika 1. Fiksacija fosfora (P) u zavisnosti od pH vrednosti zemljišta (modifikovano prema: Penn *et al.*, 2019).

1.2.2. Adaptacije biljaka u uslovima niske dostupnosti fosfora

Da bi se izborile sa ograničenom dostupnosti P_i , biljke su, osim mutualističkih asocijacija sa rizosfernim mikroorganizmima (bakterije i mikorizne gljive), razvile dve vrste adaptacija za njegovu mobilizaciju, usvajanje i korišćenje. U prvu grupu spadaju adaptacije koje povećavaju dostupnost, odnosno usvajanje P_i . One uključuju povećanu biosintezu i izlučivanje jona ili molekula koja mogu povećati rastvorljivost P u rizosferi (P-mobilizujuća jedinjenja), zatim, intenzivan rast korena sa modifikovanom arhitekturom (bočni korenovi, zadebljanja, povećani razvoj korenovih dlaka) kao i povećano eksprimiranje P_i transportera. Druga grupa adaptacija uključuje smanjenje internih potreba za P, mehanizmima kao što su: smanjenje stope porasta, povećanje porasta korena po jedinici usvajanja P, remobilizacija P_i i njena preraspodela u tkivima, unutarćelijska reciklaža P_i i modifikacija metabolizma ugljenika (C) (Aziz *et al.*, 2013). Rastenje i razviće korena su izrazito plastični procesi i u velikoj meri variraju u zavisnosti od brojnih osobina zemljišta, uključujući dostupnost hranljivih mineralnih elemenata, vode, aerisanost, gustinu zemljišta, pH-reakciju i redoks potencijal zemljišta. Biljke obično reaguju na nedostatak P preraspodelom veće količine C iz nadzemnih delova ka korenu, što dovodi do intenziviranja rastevanja korena, formiranja bočnih korenova i povećanja gustine i dužine korenovih dlačica. Ove promene dovode do povećanja aktivne dodirne površine koren-zemljište i na taj način fizički povećavaju dostupnost P. Istovremeno, ove promene povećavaju aktivnu površinu sa koje se izlučuju P-mobilizujuća jedinjenja i tako povećavaju ukupnu koncentraciju ovih jedinjenja u zemljištu (koja povećavaju hemijsku dostupnost P). Takođe, omogućavaju i povećanje gustine fosfatnih transportera na plazma membranama rizodermalnih ćelija zarad efikasnijeg usvajanja ovog makroelementa (Raghotama, 1999; Vance *et al.*, 2003; Lynch, 2011; Khan *et al.*, 2023). Zbog slabe

mobilnosti fosfatnih anjona u zemljišnom rastvoru i činjenice da se najveće količine ovog makroelementa nalaze u površinskom (orničnom) sloju poljoprivrednih zemljišta, često je uočeno smanjeno izduživanje glavnog i proliferacija lateralnih korenova i korenovih dlačica (Vance *et al.*, 2003). Kod biljaka koje ne uspostavljaju mikorizu korenove dlačice predstavljaju primarno mesto usvajanja hranljivih elemenata. Zato je razvoj korenovih dlačica jedna od ključnih adaptacija na nedostatak esencijalnih elemenata. Korenove dlačice mogu činiti čak do 77% površine korena kod poljoprivrednih useva (Parker *et al.*, 2000). Određene biljne vrste, najčešće predstavnici prirodne vegetacije Australije na veoma starim zemljištima siromašnim u ukupnom P su, kao odgovor na nedostatak P, razvile specijalizovane structure, takozvane proteoidne korenove (tj. klaster – engleski *cluster* korenove; Lambers *et al.*, 2008). Pored mikoriznih zajednica, proteoidni korenovi se smatraju jednom od glavnih adaptacija za usvajanje fosfora. U prirodnom okruženju, mnoge biljne vrste koje formiraju proteoidne korenove su spororastući, sklerofilni grmovi i drveće koje raste na ekstremno osiromašenim zemljištima, poput jako ispranih peskova, ili evolutivno starih lateritnih zemljišta tropskog i subtropskog pojasa. Biljne vrste koje formiraju ove strukture zabeležene su kod većine vrsta porodice Proteaceae kao i kod pojedinih vrsta porodice Betulaceae, Casuarinaceae, Cucurbitaceae, Cyperaceae, Eleagnaceae, Fabaceae, Moraceae, Myricaceae i Restionaceae. Od poljoprivrednih kultura, tipičan predstavnik useva koji formiraju proteoidne korenove je bela lupina (*Lupinus albus* L.) (Vance *et al.*, 2003). Najrasprostranjenija evolutivna adaptacija kopnenih biljaka (80% svih vrsta) za usvajanje P je uspostavljanje mikoriznih odnosa (Vance *et al.*, 2003). Kod uspostavljanja mikorize, simbiotske mikorizne gljive pomažu korenu da poveća usvajanje P_i iz zemljišta siromašnih dostupnim P. Zauzvrat, biljka domaćin obezbeđuje glukozu kako bi zadovoljila energetske potrebe mikoriznog simbionta. Malobrojne biljne vrste kod kojih nije zabeleženo uspostavljanje mikorize pripadaju familijama Brassicaceae, Chenopodiaceae i Proteaceae (Plaxton, 2004).

Osim morfoloških promena korena, kojima se povećava površina interakcije sa zemljištem odnosno fizička (prostorna) dostupnost hranljivih elemenata, biljke su razvile i adaptivne odgovore kojima se povećava hemijska dostupnost limitirajućih hranljivih elemenata u rizosferi. Ti odgovori obuhvataju povećano izlučivanje pre svega protona (H^+), anjona organskih kiselina, enzima, fenola i fitosiderofora (Marschner, 2011). Metabolički aktivan koren izlučuje širok spektar jedinjenja u zemljište (tzv. rizodepozicija). Proces rizodepozicije predstavlja glavni izvor organskog C u zemljištu, i on se manjim intenzitetom odvija čak i kada biljka nije izložena zemljišnom stresu (npr. odumrle ćelije korena koji raste; Marschner, 2011). Količina i sastav izlučevina (eksudata) korena, su uslovljeni vrstom i starošću pojedinačne biljke, ali su i značajno modifikovani spoljašnjim faktorima, odnosno dejstvom biotičkih i abiotičkih stresora (Badri *et Vivianco*, 2009). Eksudati korena su obično primarni i sekundarni metaboliti poreklom iz korena, koji se odlikuju niskom (<1 kDa; aminokiseline, karboksilati, šećeri, fenoli, fitosiderofore i niz sekundarnih metabolita) i visokom (>1 kDa; sluzi i proteini) molekulskom masom (Badri *et Vivianco*, 2009; Oburger *et Jones*, 2018). Ove supstance se izlučuju ili aktivno (posredstvom primarnih ili sekundarnih proteinskih transportera), ili pasivno putem difuzije, procesa egzocitoze, odnosno posredstvom jonskih kanala (Tiziani *et al.*, 2020). Pored uloge u promeni dostupnosti hranljivih elemenata, eksudati korena takođe učestvuju i u drugim funkcijama, poput zaštite korena od toksičnog uticaja metala, kao npr. cinka (Zn), kadmijuma (Cd) i Al, kao i od korenovih patogena (Mimmo *et al.*, 2017). Biosinteza i izlučivanje različitih vrsta enzima kao što su kisele, alkalne fosfataze i nukleaze u rizosferu doprinosi oslobađanju P_i iz organskih izvora (između 30% i 70% ukupnog P na poljoprivrednim zemljištima je u organskoj formi). Na primer, ljubičaste kisele fosfataze (*purple acid phosphatase*) deluju na organske molekule koji sadrže P, tako što oslobađaju P_i sa mesta estarskih veza. Ovi enzimi su stabilni u širokom spektru pH (4,0-7,6) i temperature (od $-5,5^{\circ}C$ do $15,5^{\circ}C$). Značajnost ljubičastih kiselih fosfataza za ishranu biljaka P_i jasno je pokazana kroz istraživanja mutanata arabidopsisa [*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.] koji su imali smanjenu aktivnost ljubičaste kisele fosfataze 10 (*purple acid phosphatase 10*) i smanjenu sposobnost rastenja u uslovima kada se

snabdevaju organskim izvorima P (Tomscha *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2011). Slično, u uslovima nedostatka P kod vinove loze je zabeležena povećana ekspresija *VvPAP10* i *VvPAP12*, kao i povećano izlučivanje kiselih fosfataza (Gautier *et al.*, 2021). Nukleinske kiseline (DNK i RNK) koje su prisutne u organskoj materiji zemljišta su podložne daljem raspadanju i transformacijama, te stoga predstavljaju važan izvor Pi; njihovom razgradnjom pomoću nukleaza, fosfodiesteraza i alkalne fosfataze oslobađa se Pi, koji biljke mogu direktno da usvoje (Plaxton, 2004). Biljke se međutim skoro nikad ne oslanjaju isključivo na jednu adaptaciju kao odgovor na nedostatak P; izraženost pojedinačne adaptacije zavisi i od ostalih adaptacija koje vrsta poseduje (Lambers *et al.*, 2008). Tako je na primer pokazano da kupus (*Brassica oleracea* L.) koji je tipično nemikorizna vrsta, ima veću sposobnost lučenja citrata u poređenju sa šargarepom (*Daucus carota* L.) i krompirom (*Solanum tuberosum* L.), koje u uslovima nedostatka P uspostavljaju mikorizu (Dechassa *et Schenk*, 2004). Pored navedenih promena na korenovom sistemu, važne su i metaboličke adaptacije koje nastaju u uslovima nedovoljne obezbeđenosti P. Nekoliko glikolitičkih enzima koji deluju u uslovima niskog sadržaja P, kao što su Pi-zavisna fosfofruktokinaza (PPi-PFK), fosfoenolpiruvat (PEP) fosfataza i fosfoenolpiruvat karboksilaza (PEPC), mogu olakšati intracelularnu reciklažu Pi, jer je upravo Pi nusproizvod reakcija koje katalizuju ovi enzimi. Njihove reakcije takođe mogu ubrzati respiraciju odnosno izlučivanje karboksilata, dok istovremeno generišu slobodni Pi za ponovno uključivanje u metabolizam ćelija prilagođenih niskom nivou Pi (Plaxton, 2004).

Jedna od važnih adaptacija biljaka na nedostatak P je remobilizacija ovog elementa u samoj biljci. Kada je obezbeđenost biljke P adekvatna, većina Pi usvojenog korenom transportuje se ksilemom do mlađih listova, dok se pri nedovoljnoj snabdevenosti Pi vrši remobilizacija uskladištenog Pi iz starijih listova ka fotosintetski aktivnim mlađim listovima i meristemima korenova. Na primer, kod arabidopsisa je u uslovima nedostatka P i do 78% uskladištenog Pi remobilisano iz starijih u mlađe listove i u zone rastanja korenova (Roch *et al.*, 2019). Pored toga, na modelu arabidopsisa je pokazano da nedostatak P može indukovati povećanu sintezu sulfolipida umesto fosfolipida kao komponenata tilakoidnih membrana, te tako omogućiti kontinuitet fotosinteze u uslovima ovog stresa (Yu *et al.*, 2002). Kod ječma (*Hordeum vulgare* L.) *HvPHT1;6*, gen koji kodira za fosfatni transporter, u floemskom tkivu starih listova i korena pokazuje pojačanu ekspresiju usled nedostatka Pi, čime doprinosi remobilizaciji Pi (Rae *et al.*, 2003; Huang *et al.*, 2008; Huang *et al.*, 2011).

1.2.3. Izlučivanje organskih kiselina i mobilizacija fosfora u rizosferi

Jedna od najčešćih adaptacija biljaka na nedostatak hranljivih elemenata u rizosferi je pojačano izlučivanje organskih kiselina. U uslovima nedostatka P, biljne vrste pokazuju povećano izlučivanje različitih anjona organskih kiselina, poput limunske (citrati), jabučne (malati), fumarne (fumarati), mlečne (laktati), oksalne (oksalati), sirćetne (acetati), akonitinske (akonitati) i ćilibarne (sukcinati) kiseline (Ryan *et al.*, 2001; Aziz *et al.*, 2014; Touhami *et al.*, 2020). U literaturi je, kao odgovor na nedostatak P najčešće opisano izlučivanje citrata i malata. Osim uloge u mobilizaciji mineralnih elemenata, citrati i malati su važni metaboliti u biljnim ćelijama zbog njihove uloge u fotosintezi, Krebsovom ciklusu, metabolizmu ugljenih hidrata, regulaciji pH u citosolu, kao i zbog njihove uloge u transportu Fe ksilemom (Nikolic *et al.*, 2007; Marschner, 2011; Sharma *et al.*, 2016). Eksudacija organskih kiselina je kontrolisana na transkripcionom nivou i visoko je indukovana u uslovima nedostatka Pi kod različitih biljnih vrsta, uključujući npr. belu lupinu, lucerku (*Medicago sativa* L.) i soju [*Glycine max* (L.) Merr.] (Neumann *et Römheld*, 1999; Hocking, 2001; Aziz *et al.*, 2014; Lopez-Arredondo *et al.*, 2014). Pojačana biosinteza organskih kiselina povezana je sa aktivnošću enzima uključenih u Krebsov ciklus, pre svega PEPC i njenom aktivacijom preko reverzibilne fosforilacije, ali može biti uslovljena i povećanom aktivnosti malat-dehidrogenaze (MD) i citrat sintaze (CS), kao i povećane stope fiksacije ugljen-dioksida (CO₂) u tamnoj fazi fotosinteze (Plaxton *et Tran*, 2011). Na primer, overekspresija PEPC kod kukuruza (*Zea mays* L.) dovela je do pojačane biosinteze organskih

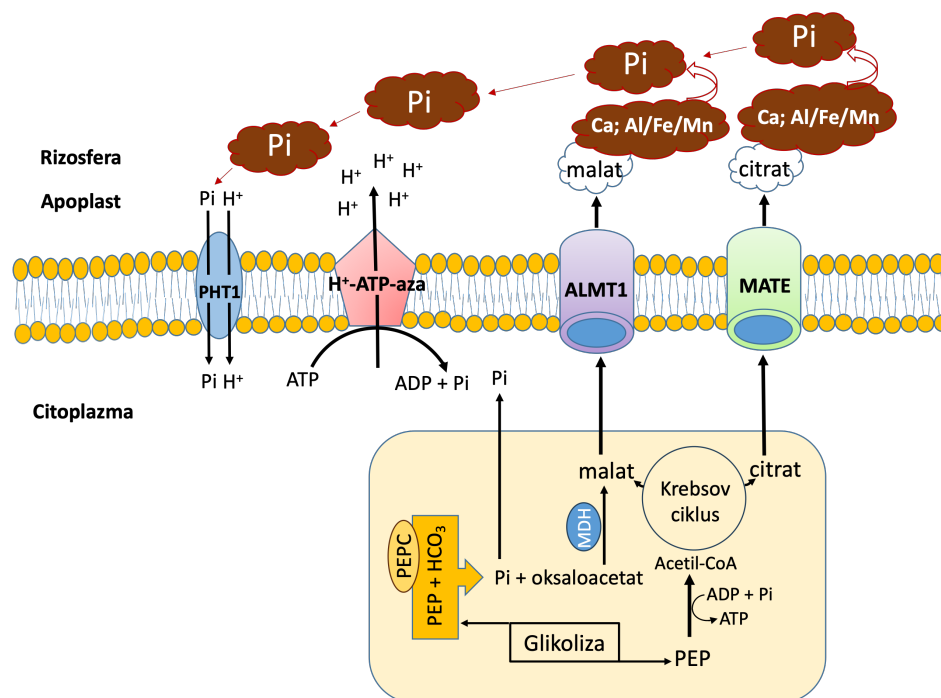
kiselina; u istom radu je pokazano da je povećanju izlučivanja citrata korenom šargarepe i arabidopsisa prethodila i overekspresija mitohondrijalne CS (Fang *et al.*, 2009). Pozitivna korelacija između pojačane ekspresije PEPC i izlučivanja anjona organskih kiselina u uslovima nedostatka P pokazana je kod više biljnih vrsta, uključujući uljanu repicu (*Brassica napus* L.), belu lupinu (Hocking, 2001), pirinač (*Oryza sativa* L.) (Plaxton *et al.*, 2011). Osim uloge u biosintezi organskih kiselina PEPC ima važnu ulogu i u anaplerotičkom recikliranju Pi oslobođanjem oksaloacetata i Pi (Slika 2), što predstavlja alternativni put za katabolizam PEP umesto trošenja Pi i adenzin-difosfata (ADP-a) uključivanjem Pi-zavisne piruvat kinaze u Krebsovom ciklusu (Neumann *et al.*, 1999; Ryan, 2001). Međutim, izlučivanje karboksilata iz korena je metabolički, odnosno energentski skupo; čak 20% fotosintezom vezanog C može biti usmereno ka ovom procesu. Posledično, indukcija ove adaptacije omogućava preživljavanje, ali i dovodi do smanjenja prinosa poljoprivrednih kultura (Barker *et al.*, 2015). Pored toga, unutarćelijska koncentracija organskih kiselina nije uvek u pozitivnoj korelaciji sa njihovim izlučivanjem u rizosferu kod svih biljaka. Na primer, pšenica i paradajz (*Lycopersicon esculentum* L.) izlučuju vrlo male količine organskih kiselina, iako imaju povećanu koncentraciju organskih kiselina u ćelijama u uslovima stresa izazvanog niskim P, što ukazuje na značaj specifičnih eksportera za ove organske anjone (López-Arredondo *et al.*, 2014). Izlučivanje malata, koji mogu da efikasno mobilišu Pi u zemljištu, vrši se niz elektrohemijski gradijent preko transmembranskih proteina na plazma membrane, koji funkcionišu kao anjonski kanali. Ovi proteini kodirani su od strane porodice *ALMT* (“*Aluminum-Activated Malate Transporter*”) gena. Prvi član ove porodice gena otkriven je kod pšenice (*TaALMT1*); kao mehanizam otpornost na Al^{3+} toksičnost (Delhaize *et al.*, 2009; Liu *et al.*, 2018). Iako se ovaj naziv zadržao, do danas je otkriveno da se *ALMT* kanali, osim što su indukovani prisustvom Al^{3+} , aktiviraju i u uslovima niskog Pi, a osim u transportu malata, učestvuju u transportu i drugih organskih (npr. citrata i fumarata) i neorganskih anjona [hlorida (Cl^-), nitrata (NO_3^-), i ređe sulfata (SO_4^{2-})] preko plazma membrane i tonoplasta ćelija iz različitih tkiva (Vance *et al.*, 2003; Piñeros *et al.*, 2008; Ligaba *et al.*, 2013; Lopez-Arredondo *et al.*, 2014; Zhou *et al.*, 2020). Danas je poznato da su *ALMT* transporteri široko rasprostranjeni kod različitih biljaka i okarakterisani su kod vrsta iz familija *Poaceae*, *Brassicaceae*, *Fabaceae*, *Rutaceae*, *Rosaceae*, *Vitaceae* i *Solanaceae* (Liu *et al.*, 2018). Kod arabidopsisa je okarakterisano 14 članova ove porodice, dok je kod pirinča okarakterisano 9 članova (Liu *et al.*, 2017). Kod soje, na primer, izlučivanje malata iz korena je ključno za adaptaciju kako na toksičnost Al^{3+} , tako i na nedostatak P na kiselim zemljištima. Aktivnost kanala *GmALMT1*, koji je odgovoran za ovaj proces, regulisan je koordinisano preko pH zemljišta i koncentracije Al^{3+} i Pi u zemljištu (Sharma *et al.*, 2016; Zhou *et al.*, 2020a). Kod vinove loze je do danas okarakterisano 12 *ALMT* gena, od kojih je *VvALMT1* eksprimiran u korenu kao odgovor na stres soli, dok njegova uloga u usvajanju P još uvek nije dokazana (Sharma *et al.*, 2016). U uslovima nedostatka P kod vinove loze zabeležen je porast ukupne koncentracije organskih kiselina u ćelijama korena, kao i izlučivanje ovih kiselina u rizosferu kao odgovor na uslove karbonatnih zemljišta (Xiang *et al.*, 2019; Gautier *et al.*, 2021). Takođe, poznato je da *VvALMT9*, homolog *AtALMT9* kod arabidopsisa, reguliše kiselost bobice tokom sazrevanja grožđa, tako što učestvuje u akumulaciji tartarata, malata i sukcinata unutar vakuola mezokarpnih ćelija (De Angeli *et al.*, 2013).

Izlučivanje citrate, čija je glavna uloga u rizosferi mobilizacija Pi, vrši se preko *MATE* (“*Multidrug and Toxic Compound Extrusion*”) porodice transportera. *MATE* proteini su prvi put otkriveni kod bakterija (*Vibrio parahaemolyticus* i *Escherichia coli*), a danas su dobro okarakterisani kod biljaka, životinja i gljiva (Takanashi *et al.*, 2014; Upadhyay *et al.*, 2019). Kod biljaka funkcionišu po tipu sekundarnog transporta koristeći elektrohemijski gradijent H^+ i učestvuju u transportu sekundarnih metabolita, ksenobiotika i organskih molekula poput citrata i biljnih hormona, ali i u održavanju homeostaze Fe, regulaciji otpornosti na bolesti i toksičnost Al, regulaciji veličine ćelija i organa, kao i procesu senescencije (Upadhyay *et al.*, 2019). Kod arabidopsisa, *MATE* porodica sadrži 56 članova koji su smešteni na plazmamembrani, od kojih je pokazano da dva izlučuju citrate iz citosola (Lopez-

Arredondo *et al.*, 2014). Kod vinove loze su okarakterisana dva člana, *VvMATE1* i *VvMATE2* sa najvećim nivoom ekspresije u fazi porasta bobica, i povezuju se sa transportom proantocijanidina. *VvMATE1* je lokalizovan na tonoplastu, dok je *VvMATE2* lokalizovan na Goldži kompleksu i osim u bobici, nalazi se i u ćelijama lista (Perez-Diaz *et al.*, 2014). Organske kiseline, a posebno karboksilne, imaju ključnu ulogu u povećanju dostupnosti P u zemljištu putem mehanizama heliranja i razmene liganada, kao i mehanizmom rastvaranja koji je katalizovan ligandima (Neumann *et Romheld*, 1999; Hinsinger, 2001; Ryan *et al.*, 2001; Shen *et al.*, 2011; Aziz *et al.*, 2014). Mehanizmom heliranja katjona metala koji imobilisu Pi (npr. Ca^{2+} , Al^{3+} , Fe^{3+} , Mn^{2+}) koncentracija Pi u zemljišnom rastvoru može se povećati i do 1000 puta (Lopez-Arredondo *et al.*, 2014). Pored toga, organske kiseline povećavaju rastvorljivost Po, njegovu podložnost kiselim fosfatazama i promovisu razviće rizosfernih mikroorganizama koji poboljšavaju dostupnost Pi (Plaxton *et Tran*, 2011). Međutim, organske kiseline u zemljištu kratko opstaju jer ih brzo iskoriste rizosferni mikroorganizmi kao lako dostupan izvor C (Mimmo *et al.*, 2017). Novija istraživanja su pokazala da efikasni genotipovi i vrste sa većom tolerancijom na nizak P proizvode veće količine organskih kiselina u poređenju sa neefikasnim genotipovima kod nekoliko biljnih vrsta, uključujući kukuruz, ječam i uljanu repicu (Gahoonia *et al.*, 2000; Narang *et al.*, 2000; Hinsinger, 2001; Zhang *et al.*, 2011; Zhou *et al.*, 2012). Važno je napomenuti da eksudacija karboksilata nije isključivo izazvana nedostatkom P. Kod useva kao što su uljana repica, pirinač, lucerka, leblebija (*Cicer arietinum* L.), kukuruz, pšenica, soja i raž (*Secale cereale* L.), pokazano je da se eksudacija organskih kiselina povećava i kao odgovor na toksičnost Al^{3+} i nedostatak drugih hranljivih elemenata (npr. Fe) u rizosferi (Lopez-Arredondo *et al.*, 2014). Tako su, na primer, istraživanja koja su sprovedli Valentinuzzi *et al.* (2015) pokazala da jagoda (*Fragaria ananassa* Duchesne ex Rozier) izložena nedostatku Fe i P oslobađa limunsku kiselinu i zakišeljava rizosferu (Valentinuzzi *et al.*, 2015), dok je kod jabuke (*Malus domestica* (Suckow) Borkh.) zabeležena eksudacija citrata i malata pri nedostatku fosfora, nezavisno od koncentracije Fe (Zhang *et al.*, 2020). Istraživanja u pogledu izlučivanja organskih kiselina kod vinove loze su malobrojna. Kod različitih genotipova vinove loze, uključujući i lozne podloge, istraživana je uloga malata i citrata u odgovorima korena na nedostatak Fe (Brancadoro *et al.* 1995; Covarrubias i Rombolà 2015). Takođe, povećanje ukupnih koncentracija organskih kiselina u ćelijama korena (limunske i jabučne), kao i izlučivanje anjona ovih kiselina u rizosferu, osim u uslovima nedostatka Fe na krečnim zemljištama, indukovano je i nedostatkom P, iako sami mehanizmi nisu u potpunosti objašnjeni (Gautier *et al.*, 2021). Iako eksudati korena imaju ključnu ulogu u mobilizaciji mineralnih elemenata, njihova efikasnost zavisi od vrste i koncentracije eksudata i karakteristika zemljišta. Sastav korenovih eksudata je veoma promenljiv i zavisi od biljne vrste, starosti biljke i uslova sredine (npr. hemijskih karakteristika zemljišta, temperature, koncentracije CO_2 , osvetljenosti) (Mimmo *et al.*, 2017). Uopšteno, anjoni limunske, jabučne, malonske i oksalne kiseline su najčešći kod velikog broja biljnih vrsta, ali su zabeležene i varijabilne količine anjona akonitinske, fumarne, piscidinske, ćilibarne i vinske kiseline. Na primer, od svih organskih kiselina koje se izlučuju iz proteoidnih korenova bele lupine pri nedostatku P, citrat obično čini 80-90%, malat 5-10%, dok ostatak čine male količine akonitata, oksalata i sukcinata (Kamh *et al.*, 1999). Nasuprot ovome, isti autori navode da je kod drugih genotipova sukcinat je činio 52%, a citrat samo 29% organskih kiselina izlučenih iz proteoidnih korenova. Ova razlika može biti povezana sa razlikama u korišćenim genotipovima, uslovima rasta biljaka, fazi razvoja proteoidnih korenova ili tehnikama prikupljanja eksudata korena. Jabučna i limunska kiselina su zabeležene kao glavne komponente eksudata u rizosferi leblebije, pšenice i paradajza (Neumann *et Romheld*, 1999; Veneklaas *et al.*, 2003), dok kod arabidopsisa često preovlađuju malati (Narang *et al.*, 2000); dakle, profil karboksilata koji se izlučuju kao adaptivni odgovor na nedostatak P je prvenstveno uslovljen biljnom vrstom. Efikasnost organskih kiselina da desorbuju P u zemljištu zavisi i od vrste organske kiseline i opada prema sledećem redosledu: trikarboksilne > dikarboksilne > monokarboksilne kiseline. Nagarajah *et al.* (1970) pokazali su da je mobilizacija Pi fiksiranog u zemljištu bila najefikasnija limunskom, a zatim oksalnom kiselinom. Štaviše, na zemljištima gde Fe i Al dominantno fiksiraju P, izlučivanje citrata može

čak snažnije uticati na dostupnost P nego eksperimentalne promene pH (Gerke *et al.*, 2000). Jabučna i vinska kiselina bile su umereno efikasne, dok su sirćetna, čilibarna i mlečna kiselina bile najmanje efikasne u mobilizaciji P (Hocking, 2001).

Iako se značajan deo ovih organskih kiselina brzo adsorbuje na čestice zemljišta ili podleže degradaciji posredstvom zemljišnih mikroorganizama, njihove koncentracije u zemljišnom rastvoru obično variraju u rasponu 1-50 μM , u od zavisnosti od biljne vrste i od stepena izloženosti stresu.



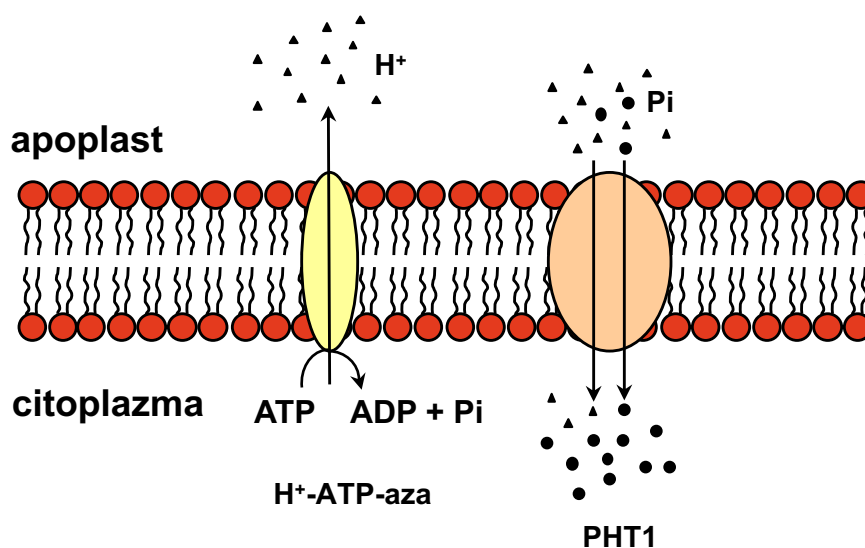
Slika 2. Mehanizmi mobilizacije Pi rizosferi i usvajanja Pi u korenu.

Istraživanja kod pšenice gajene u hidroponima beleže koncentracije malata na površini korena od 10 do 100 μM (Jones, 1998). Koncentracija citrata u rizosferi bele lupine (u zoni proteoidnih korenova), uzgajane na starom lateritnom zemljištu izrazito siromašnom u P, varirala je od 50 $\mu\text{mol g}^{-1}$ zemljišta do čak 88 $\mu\text{mol g}^{-1}$ zemljišta (Gerke *et al.*, 1994). Intenzitet izlučivanja organskih kiselina se obično meri na osnovu ukupne mase korena ili dužine korena nakon potapanja korenovog sistema u rastvor za prikupljanje eksudata korena. Međutim, ova metoda može pokazati niže intenzitete izlučivanja od realnih, imajući u vidu da izlučivanje nije ravnomerno duž cele dužine korena (Mimmo *et al.*, 2017). Kod većine biljaka, organske kiseline se uglavnom izlučuju sa mladih delova korenovog sistema, poput vrha korena (Mora-Macías *et al.*, 2017; Canarini *et al.*, 2019), dok se kod bele lupine i vrsta porodice *Proteaceae* izlučuju sa proteoidnih korenova, čije je formiranje indukovano nedostatkom P (Lopez-Arredondo *et al.*, 2014). Na primer, kod uljane repice, mlađi delovi korena obično izlučuju više organskih kiselina u poređenju sa starijim delovima (Hoffland *et al.*, 1989; Hocking, 2001). Kod tog useva, u uslovima nedostatka P, intenzitet izlučivanja malata bio je 44 $\text{nmol h}^{-1} \text{m}^{-1}$ korena, dok je izlučivanje citrata iznosilo 14 $\text{nmol h}^{-1} \text{m}^{-1}$ korena (Hoffland *et al.*, 1989). Nasuprot tome, u uslovima dovoljne snabdevenosti P, izlučivanje malata i citrata bilo je oko 4-5 puta niže (malata 8 $\text{nmol h}^{-1} \text{m}^{-1}$ korena, a citrata 3 $\text{nmol h}^{-1} \text{m}^{-1}$ korena). Bela lupina, pak, izlučuje citrate nekoliko stotina puta intenzivnije od uljane repice (610 do 670 $\text{nmol h}^{-1} \text{m}^{-1}$ korena, pa čak i do 1400 $\text{nmol h}^{-1} \text{m}^{-1}$ korena) (Hoffland *et al.*,

1989; Hocking, 2001). Osim toga, različite organske kiseline mogu imati krajnje specifičnu i jedinstvenu ulogu u kompleksnim kaskadnim adaptivnim reakcijama na nedostatak P. Kod arabidopsisa je na molekularnom nivou pokazano kako indukovano oslobađanje malata u apoplast i rizosferu dovodi, preko akumulacije Fe^{3+} u ćelijama apikalnog meristema korena, do modifikacije arhitekture korena, tj. inhibicije rasta glavnog i proliferacije lateralnih korenova kako bi se efikasnije eksploatisao P iz plićeg sloja zemljišta (Mora-Macías *et al.*, 2017). Ovi autori su dalje pokazali da egzogena primena citrata ne samo što nije dovela do ovih promena korenovog sistema, nego je čak imala suprotan efekat u odnosu na malat.

1.2.4. Usvajanje fosfora i fosfatni transporteri

Biljke usvajaju Pi iz zemljišnog rastvora u obliku fosfatnih anjona (H_2PO_4^- ili HPO_4^{2-}) koji nastaju disocijacijom ortofosforne kiseline (H_3PO_4). Pojava ovih anjona u zemljišnom rastvoru zavisi od pH zemljišta, odnosno od reakcija protonizacije i deprotonizacije; na pH vrednostima iznad 7,2 prevashodno je prisutna HPO_4^{2-} anjonska forma, dok H_2PO_4^- preovlađuje na pH vrednostima od 4,5 do 5,0 (Hinsinger, 2001). Usvajanje Pi i dalji transport kroz biljku omogućen je fosfatnim transporterima koji funkcionišu po principu simporta sa H^+ (Slika 3), dok se specifično kod halofita javlja i simport sa Na^+ (Hinsinger, 2001; Vance *et al.*, 2003). Poznata su dva fosfatna transportna sistema – transportni sistem niskog afiniteta, koji omogućava usvajanje Pi na optimalnim koncentracijama, sa konstitutivnom ekspresijom gena koji kodiraju ove transportere (K_m 50–300 μM) i transportni sistem visokog afiniteta koji se aktivira kao odgovor biljaka na niske koncentracije P u zemljištu, te je stoga od većeg značaja za preživljavanje ovog stresa (K_m 3–7 μM) (Vance *et al.*, 2003; Lopez-Arredondo *et al.*, 2014; Roch *et al.*, 2019). Do sada je okarakterisano 5 familija fosfatnih transporterata (PHT): PHT1, PHT2, PHT3, PHT4 i PHT5, koji se nalaze na plazma membranama, membranama plastida, mitohondrijalnoj membrani, membrani Goldži kompleksa i na tonoplastu. PHT1 učestvuju u usvajanju Pi iz rizosfere, dok ostali transporteri učestvuju u translokaciji Pi između organela u biljci (Lopez-Arredondo *et al.*, 2014; Roch *et al.*, 2019).



Slika 3. Šematski prikaz rada simportnog H^+ /PHT1 transportera (modifikovano prema: Poirier *et al.* Bucher, 2002).

Članovi PHT1 familije su transporteri visokog afiniteta i njihovu transkripciju indukuje nedostatak P; eksprimirani su najčešće u korenu (na ćelijskim membranama rizodermalnih ćelija i korenskim dlakama) i primarno su uključeni u usvajanje Pi iz zemljišnog rastvora (Lopez-Arredondo *et al.*

al., 2014; Roch *et al.*, 2019). Do sada su identifikovani u različitim biljnim vrstama, kao što su arabidopsis (Muchhal *et al.*, 1996; Mudge *et al.*, 2002; Shin *et al.*, 2004), pšenica (Teng *et al.*, 2017), citrusi (*Poncirus trifoliata* L. Raf) (Shu *et al.*, 2012), pirinač (Paszkowski *et al.*, 2002; Liu *et al.*, 2011), kukuruz (Liu *et al.*, 2016), paradajz (Chen *et al.*, 2014), krompir (Cao *et al.*, 2020), jabuka (Sun *et al.*, 2017a), sirak (*Sorghum* sp.) (Wang *et al.*, 2019), uljana repica (Li *et al.*, 2019), soja (Fan *et al.*, 2013), bela lupina (Aslam *et al.*, 2022), vinova loza (Valat *et al.*, 2018; Gautier *et al.*, 2020; 2021). Međutim, specifična uloga i doprinos pojedinačnih transportera ukupnom usvajanju fosfora su nedovoljno proučeni i zavise od biljne vrste, pa čak i genotipa. Kod arabidopsisa je okarakterisano 9 *PHT1* gena, od kojih čak 8 pokazuje pojačanu ekspresiju pri nedostatku fosfora, ali ključnu ulogu u usvajanju Pi imaju četiri: *AtPHT1;1*, *AtPHT1;2*, *AtPHT1;3* i *AtPHT1;4* (Misson *et al.*, 2004; Shin *et al.*, 2004; Ayadi *et al.*, 2015). Kod ove model vrste je pokazano da je *AtPHT1;1* eksprimiran i kod biljaka sa optimalnim nivoom P i odgovoran je za usvajanje u uslovima dovoljne snabdevenosti P, dok *AtPHT1;4* ima glavnu ulogu u uslovima nedostatka P (Misson *et al.*, 2004; Shin *et al.*, 2004; Ayadi *et al.*, 2015; Mlodzinska *et Zboinska*, 2016). Prema pomenutim istraživanjima, od ukupno usvojenog P *AtPHT1;4* je zaslužan za približno 40–48% usvajanja, dok su *AtPHT1;2* i *AtPHT1;3* odgovorni za usvajanje približno 30%, dok se svega 15–20% usvaja preko *AtPHT1;1*. Osim toga, *AtPHT1;1* i *AtPHT1;4* učestvuju i u daljem transportu Pi kroz biljku i pretežno su lokalizovani na plazma membranama epidermalnih i parhenskim ćelijama u provodnim snopićima korena. Ova lokalizacija naglašava njihovu ključnu funkciju kako u usvajanju Pi korenom tako i njegovoj translokaciji iz korena ka nadzemnim delovima biljke (Shin *et al.*, 2004; Srivastava *et al.*, 2018). Kod pirinča je okarakterisano 13 članova *PHT1* familije gena (Liu *et al.*, 2011; Poirier *et Jung*, 2015). Prema istraživanju koje su sprovedeli Chang *et al.* (2019), kod pirinča, za razliku od arabidopsisa, *OsPHT1;3* ima ključnu ulogu u usvajanju, a zatim translokaciji Pi iz korena ka izdancima i redistribuciji Pi u različitim organima u uslovima izrazito niskog nivoa Pi. Nasuprot tome, *OsPHT1;2*, *OsPHT1;6* i *OsPHT1;8* su kontinuirano eksprimirani, i njihovo utišavanje dovodi do smanjenog usvajanja i translokacije fosfata kako u uslovima dovoljne količine P tako i uslovima njegovog nedostatka (Ai *et al.*, 2009; Jia *et al.*, 2011; Sun *et al.*, 2012). Prema istraživanju Poirier *et Jung* (2015) ukoliko su biljke izložene niskom nivou P duži vremenski period, dolazi do ekspresije *OsPHT1;4* u kortikalnim ćelijama, što ukazuje na njegovu ulogu u simplastičkom transportu fosfata u uslovima izraženog nedostatka ovog makroelemenata (Ye *et al.*, 2015; Mlodzinska *et Zboinska*, 2016). Osim u korenu, neki članovi *PHT1* familije su eksprimirani i u drugim organima, poput listova. Na primer, *OsPHT1;4* je esprimiran i u listovima, ligulama, prašnicima i zrnu, a njegova ekspresija se indukuje u uslovima dugotrajnog nedostatka P (Srivastava *et al.*, 2018). Kod pšenice, *TaPHT1;4* ima ključnu ulogu u usvajanju Pi u uslovima njegovog nedostatka, ali njegovo utišavanje u uslovima dovoljne snabdevenosti P nije uticalo na rastenje i razviće pšenice (Liu *et al.*, 2013; Hasan *et al.*, 2016). U uslovima nedostatka P, kod topole je zabeležen viši nivo ekspresije *PtPHT1;2* i *PtPHT1;3* (Zhang *et al.*, 2016a), dok se kod paprike (*Capsicum annuum* L.) ekspresija *CaPHT1;3* i *CaPHT1;4* javlja kao odgovor na nedostatak P (Ahmad *et al.*, 2021). Kod vinove loze, uključujući evroazijsku lozu (*V. vinifera*) i severnoameričke lozne podloge nastale ukštanjem različitih vrsta roda *Vitis*, u uslovima nedostatka P esprimirani su *VvPHT1;1*, *VvPHT1;3* i *VvPHT1;4* (Gautier *et al.*, 2021). Međutim, mehanizmi regulacije *PHT* transportera nisu dovoljno istraženi. Pokazano je da koncentracija P u biljci nije jedini faktor regulacije ovih transportera. Prema istraživanju Huang *et al.*, (2000) kod ječma, ekspresija *HvPHT1;1* i *HvPHT1;2* bila je indukovana i nedostatkom Zn, nezavisno od koncentracija P. Kod pšenice, ekspresija *TaPHT1;4* je zavisila od fotoperioda, sa najvišim nivoom ekspresije u toku dana i najnižim nivoom ekspresije u toku noći. Na kraju, regulacija *PHT1* transportera kod pšenice je zavisna i od genotipa (Davies *et al.*, 2002). Takođe, nivo ekspresije ovih transportera može značajno varirati u odnosu na fenofaze biljke. Promene u ekspresiji *PHT1* u zavisnosti od fenofaze, zabeležene su kod jednogodišnjih zeljastih biljaka, dok su podaci za višegodišnje drvenaste vrste oskudni (Liu *et al.*, 2011; Grun *et al.*, 2017; Pan *et al.*, 2021; Kurita *et al.*, 2022). Kod pšenice gajene u uslovima nedostatka P,

pojedini *PHT1* geni pokazuju sezonski-specifičnu regulaciju; transkripcioni nivoi *TaPHT1;1a/b* rastu na početku izduživanja stabljike, opadaju tokom cvetanja, a ponovo se povećavaju tokom sazrevanja, dok se ekspresija *TaPHT1;6* povećava tokom bokorenja, izduživanja stabljike i cvetanja (Grun *et al.*, 2017). Međutim, uporedive sveobuhvatne analize kod drvenastih biljaka još uvek nedostaju (Fang *et al.*, 2024), a precizna uloga pojedinačnih PHT1 transportera i način njihove regulacije tokom ključnih fenofaza vinove loze, prema našim saznanjima, još uvek su nepoznati.

Još jedna ključna komponenta transporta Pi je gen *PHOSPHATE1 (PHO1)*, član multigenске porodice koja obuhvata 11 članova (Lopez-Arredondo *et al.*, 2014; Roch *et al.*, 2019). *PHO1* je identifikovan kao transporter za efluks fosfata koji posreduje u translokaciji Pi iz korena u izdanke i pretežno je eksprimiran u ćelijama korena; mutanti sa gubitkom funkcije ovog gena pokazuju nizak sadržaj Pi u izdancima i tipične simptome deficita fosfora (Poirier *et al.*, 1991; Hamburger *et al.*, 2002). Protein PHO1 sadrži N-terminalni SPX domen, četiri transmembranska domena i C-terminalni EXS domen, koji je neophodan za pravilnu membransku lokalizaciju i efluksnu aktivnost, dok SPX domen omogućava interakciju sa PHO2, E2 konjugazom odgovornom za negativnu regulaciju i razgradnju PHO1 i PHT1 transportera u uslovima dovoljne dostupnosti Pi (Wege *et al.*, 2016; Roch *et al.*, 2019; Yang *et al.*, 2024).

1.2.5. Fosfor u ishrani vinove loze i njegova dinamika tokom vegetacije

Vinogradarski priručnici široko prihvataju stav da su vizuelni simptomi nedostatka P retki u vinogradima (npr. Goldammer, 2020). Kao simptomi nedostatka P, koji se pre svega javljaju na starijim listovima, navode se pojava crvene boje oko lisnih nerava, odnosno hloroza (kod belih sorti) i tamno zelena ili ljubičasta boja (kod crnih sorti) internervalnog tkiva (Goldammer, 2020). Po istom autoru, moguća je i pojava opadanja listova u zoni grozdova, kao i smanjenje veličine bobica i grozdova, što se reflektuje smanjenjem prinosa grožđa, ali i koncentracije šećera u širi. Koncentracija P u tkivu vinove loze može značajno varirati u zavisnosti od različitih faktora životne sredine (npr. količina padavina), agrotehničkih mera i genetičkih karakteristika (specifična kombinacija sorte i podloge). Posledično, nije neuobičajeno da koncentracije P u tkivu budu izvan standardnih opsega objavljenih u literaturi, čak i u vinogradima koji pokazuju naizgled normalan rast (Arrobas *et al.*, 2014). Veći broj istraživanja je sproveden kako bi se odredile optimalne, odnosno kritične koncentracije hranljivih elemenata u tkivima vinove loze. Međutim i dalje postoje neslaganja među autorima u vezi tkiva koje se uzorkuje, sa koje pozicije na lastaru se uzimaju uzorci listova, kao i vremena uzorkovanja; koncentracije hranljivih elemenata u tkivima značajno variraju tokom različitih fenofaza (Römheld, 2012; Arrobas *et al.*, 2014). Kod vinove loze se danas za potrebe određivanja koncentracije hranljivih elemenata, uključujući P, koriste listovi (bez glavnih nerava) ili peteljke. Uzorkovanje se vrši sa donjih delova rodni lastara, najčešće naspram cvasti, odnosno grozda, u fenofazi cvetanja ili početka sazrevanja grožđa (šarka) (Benito *et al.*, 2013). U istraživanju koje su sproveli Stefanello *et al.* (2023), utvrđene su kritične vrednosti P za različite sorte vinove loze. U njihovom istraživanju, koje je obuhvatilo vinovu lozu sorte Burgundac crni i Šardone, u fenofazi cvetanja kritična vrednost koncentracije P iznosila je 1,63 g P kg⁻¹ suve mase, dok su se optimalne vrednosti kretale od 1,60 do 1,66 g P kg⁻¹ suve mase za obe sorte. U fenofazi početka sazrevanja grožđa (šarak), predložene su međutim različite vrednosti za Šardone (1,12 g kg⁻¹ suve mase kao kritična vrednost; 1,08-1,16 g P kg⁻¹ suve mase kao optimalna vrednost) i za Burgundac crni (1,38 g P kg⁻¹ suve mase kao kritična vrednost; 1,31-1,42 g P kg⁻¹ suve mase kao optimalna vrednost). Takođe, autori su ukazali na niže potrebe za P kod sorte Šardone u poređenju sa drugim sortama vinove loze, što ukazuje na potrebu za uspostavljanjem specifičnih graničnih vrednosti za svaku sortu (Skinner *et al.*, 1988; Rozane *et al.*, 2020). Pored toga, i lozne podloge se razlikuju u efikasnosti u uslovima niskog sadržaja P u zemljištu; kao osetljive lozne podloge navode se 3309 C, 420AM Gt i 101-14 MGt, a kao otpornije podloge 1103 P, 110 R i Rupestris du Lot (Christensen, 2005).

Ukoliko se posmatra promena koncentracije P u listovima tokom fenofaza, nivo P u listovima opada od cvetanja do šarka (Benito *et al.*, 2013). Kada vinova loza, kao i druge drvenaste biljne vrste usvoje više hranljivih elemenata nego što im je u datom trenutku potrebno, skladište ih u specifičnim organima poput korena, stabla i lastara, što dovodi do smanjenja koncentracije hranljivih materija u listovima (Brunetto *et al.*, 2020). Fosfor pokazuje visoku mobilnost u floemu, a kod vinove loze se akumulira pretežno u semenkama tokom porasta i sazrevanja bobica (Rogiers *et al.*, 2006; Bertoldi *et al.*, 2011). U istraživanju Conradie (1981), tokom 27 dana pre otvaranja okaca, koren vinove loze je sadržao oko 82% P prisutnog u čokotu. Usvajanje P iz zemljišta je započelo tokom 22 dana nakon pojave otvaranja okaca, a do šarka se značajno povećao sadržaj P u čokotu, u poređenju sa početnim vrednostima. Između šarka i sazrevanja grožđa, koncentracija P u listovima se smanjivala, dok se koncentracija P povećala u lastarima. Na kraju berbe, preraspodela P po organima bila je: 19% u korenu, 5,4% u stablu, 14% u lastarima, 27% u listovima i 34% u grozdovima, uz dalji nastavak usvajanja P tokom 33 dana nakon berbe, odnosno tokom 44 dana pre opadanja listova. Tokom perioda opadanja listova, zabeležen je pad udela P u lastarima, a povećanje u listovima, što je dovelo do gubitka oko 31% ukupnog P čokota. Nisu zabeležene značajne promene u sadržaju P tokom perioda mirovanja, a nakon rezidbe koren je ponovo sadržao oko 81% P čokota. Prema istom autoru, ukupno je 1875 mg P po čokotu usvojeno je tokom vegetacije, od čega je 641 mg uklonjeno kroz berbu i opadanje listova, a 266 mg zadržano je u višegodišnjim drvenastim delovima (stablo i zreli lastari) i korenu. Zhang *et al.* (2016) zaključili su da je potreba za P najizraženija tokom cvetanja, i da opada tokom očvršćavanja semenki. Potreba za P se povećava tokom fenofaze porasta bobica, sve do fenofaze šarka. Smanjeno usvajanje P tokom šarka se može povezati i sa smanjenim razvojem mladih korenova u ovoj fenofazi, koji su najzaslužniji za usvajanje vode i mineralnih elemenata (Piccin *et al.*, 2017).

1.2.6. Upotreba fosfatnih đubriva

Glavni način povećanja dostupnosti Pi u zemljištu i povećanja prinosa useva jeste primena fosfatnih đubriva. Primena fosfatnih đubriva je, međutim, problematična s obzirom da se predviđa da će svetske rezerve sirovih fosfata biti potrošene za svega 60-200 godina (Vuuren *et al.*, 2010). Takođe, upotreba fosfatnih đubriva dovodi do eutrofikacije voda, jer samo 10-20% primenjenog P iz đubriva ostaje dostupno biljkama (Vance *et al.*, 2003). U prošlosti glavni oblici unošenja P u zemljište bili su stajnjak, smrvljene kosti životinja, zgura nastala topljenjem metalnih ruda i pepeo. Međutim, od industrijske revolucije, obogaćivanje zemljišta P sve više se oslanja na neobnovljive izvore, kao što su guano (nagomilani eksperimenti morskih ptica) i fosfatne stene. Danas fosfatne stene (sirovi fosfati) obezbeđuju P za proizvodnju 90% svetskih đubriva na bazi P, čija je globalna upotreba u 2010. godini iznosila 18,8 miliona tona P (Zhang *et al.*, 2017). Stoga, ovaj neobnovljivi resurs se rapidno brzo troši, sa procenama dostupnosti sirovih fosfata koje variraju; neke prognoze su da će proizvodnja fosfatnih đubriva dostići maksimum 2033. godine, nakon čega sledi nagli pad (Cordell *et al.*, 2009), dok druge, optimističnije, procenjuju da će polovina resursa biti iskorišćena do 2100. godine, a potpuno iscrpljena u narednih 300 do 400 godina (Zhang *et al.*, 2017).

Najčešće korišćena fosfatna đubriva u poljoprivredi su ona koja su rastvorljiva u vodi, neutralnom amonijum-citratu ili limunskoj kiselini. Jednostruki superfosfat (SSP), trostruki superfosfat (TSP), monoamonijum-fosfat (MAP) i diamonijum-fosfat (DAP), predstavljaju najrastvorljivije izvore P i obezbeđuju najveću efikasnost za useve. Međutim, upotreba ovih đubriva takođe najviše doprinosi i zagađenju životne sredine, odnosno eutrofikaciji površinskih voda. Povrh toga, ova đubriva su skupa, jer njihova proizvodnja zahteva velike količine energije i potrebu za drugim jedinjenjima poput sumporne i azotne kiseline (Lizcano-Toledo *et al.*, 2021). Kada se mineralna fosfatna đubriva dodaju u zemljište, rastvorljivi Pi prolazi kroz procese sorpcije, precipitacije i kompleksacije sa organskom materijom, što ga čini nedostupnim za usvajanje od strane biljaka (Doydora *et al.*, 2020); do 80% primenjenog Pi može

biti fiksirano u zemljištu (Rhagothama, 1999). Da bi se održao nivo Pi koji je optimalan za postizanje željenih prinosa useva u zemljište se dodaju velike količine đubriva (16,5 miliona tona P godišnje na globalnom nivou) (Doydora *et al.*, 2020). Samo 10–36% dodanog P biljke usvajaju tokom vegetacije (Doydora *et al.*, 2020); na primer, prinos kukuruza od 6-9 t ha⁻¹ zahteva unos 30-50 kg P ha⁻¹, jer se oko dve trećine usvojenog P uklanja žetvom, dok soja usvaja 20–25 kg P ha⁻¹, pri čemu se i preko 80% uklanja tokom žetve. Međutim, čak i pri adekvatnom dodavanju P, manje od 20% primenjenog makroelemenata se usvaja tokom prve vegetacije zbog njegove fiksacije u zemljištu (Vance *et al.*, 2003). Ovo dovodi do dugoročne akumulacije zaostalog Pi u zemljištu (otprilike 10 miliona tona P godišnje na globalnom nivou); ovaj P, koji nije dostupan biljkama, poznat je kao zaostali P (Doydora *et al.*, 2020). Zaostali P može se kategorizovati kao neorganski i organski, u zavisnosti količine unetih mineralnih, odnosno organskih đubriva. Dugoročna akumulacija P u zemljištu je nepoželjna sa poljoprivrednog, ekonomskog i ekološkog aspekta. Osim što predstavlja neefikasno korišćenje ograničenog neobnovljivog resursa i visok utrošak energije, nakupljanje zaostalog P, poput onog u evropskim i američkim zemljištima pod dugotrajnom primenom P đubriva, izaziva i brojne ekološke posledice (Menezes-Blackburn *et al.*, 2018). Koncentracija Pi u zemljištu podložna je permanentnom smanjivanju ispiranjem i erozijom, čime P dospeva u obližnje vodene ekosisteme. Na primer, procenjuje se da su ekosistemi slatkih voda povećali ukupni nivo P za 75% u poređenju sa stanjem pre industrijske revolucije (Bennett *et al.*, 2001); ovom trendu povećanja količina P izloženi su ne samo slatkovodni nego i estuarski i marinski ekosistemi (Yang *et al.*, 2020). Povećanje koncentracije P dovodi do rasprostranjene eutrofikacije vodenih sredina. Na primer, 40% jezera u SAD ima višak P, a većina saveznih država prijavila je godišnju pojavu štetnog cvetanja algi u slatkovodnim ekosistemima (Doydora *et al.*, 2020). Još veći problem od prekomerne upotrebe fosfatnih đubriva u intenzivnoj poljoprivredi jeste nedostatak dostupnih fosfatnih mineralnih đubriva za ekstenzivnu poljoprivredu u zemljama u razvoju, pretežno u tropskim i suptropskim regionima, gde živi većina svetske populacije. Nedostatak infrastrukture, novca za kupovinu i transport đubriva, čini fosfatna đubriva nedostupnim za ova područja, u kojima je još uvek prisutna glad stanovništva (Cordell *et al.*, 2014).

1.3. Silicijum u ishrani biljaka

1.3.1. Usvajanje, transport i akumulacija silicijuma kod biljaka

Silicijum (Si) je drugi najzastupljeniji element u Zemljinoj kori, posle kiseonika (O₂), i u zemljištu se javlja u vidu različitih silikatnih minerala. Koncentracija Si u zemljišnom rastvoru u obliku monosilicijumske kiseline [H₄SiO₄; Si(OH)₄], koji je jedino dostupan biljkama, varira između 0,1 i 0,6 mM (Tubana *et al.*, 2016; Hu *et al.*, 2021; Pavlovic *et al.*, 2021). Iako je dobro poznato da Si efikasno ublažava posledice kako biotičkog (patogeni i štetočine) tako i abiotičkog (suša, salinitet, teški metali, UV zračenje, neravnoteža jona) stresa kod mnogih biljnih vrsta, njegova esencijalnost za vaskularne biljke, osim rastavića (*Equisetum arvense* L.), nije dokazana, te se stoga Si još uvek klasifikuje kao koristan element (Deshmukh *et al.*, 2017; Luyckx *et al.*, 2017; Pavlovic *et al.*, 2021). Glavni razlog leži u tome što nije zadovoljen prvi kriterijum esencijalnosti mineralnih elemenata, da biljka bez njega ne može da završi svoj vegetativni i generativni ciklus (Arnon *et al.*, 1939).

Silicijum se usvaja i dalje transportuje u biljkama u obliku nedisosovane ortosilicijumove kiseline (H₄SiO₄⁰) ili obliku njenog anjona (H₃SiO₄⁻), koji se u tkivima nepovratno talože u obliku amorfnog SiO₂ (fitolita), sličnog mineralu opal, u lumenu, ćelijskom zidu i međućelijskim prostorima (Hodson *et al.*, 2020). Usvajanje Si od strane biljaka i njegov transport do ksilema uključuju pasivne i aktivne procese usvajanja (Mitani *et al.*, 2005; Ma *et al.*, 2006; Nikolic *et al.*, 2007). Usvajanje Si od strane biljaka značajno je inhibirano tretmanom metaboličkim inhibitorima (2,4-dinitrofenol i kalijum-cijanid) ili stresom izazvanim niskim temperaturama, čime se pokazuje da biljke mogu aktivno usvajati i

transportovati silicijum (Tamai *et al.*, 2003; Mitani *et al.*, 2005; Nikolic *et al.*, 2007). Biljne vrste se značajno razlikuju u sposobnosti da akumuliraju Si u nadzemnim tkivima ($1-100 \text{ g kg}^{-1}$ Si u odnosu na suhu masu), što može biti objašnjeno i različitim nivoom ekspresije i funkcionalnosti Si transportera (Mitani-Ueno *et al.*, 2023). Identifikacija dva gena za transportere Si (*OsLsi1* i *OsLsi2*) kod pirinča bila je ključna prekretnica koja je ubrzala razvoj istraživanja transporta Si kod biljaka (Ma *et al.*, 2006; Ma *et al.*, 2007). *OsLsi1* pripada NIP (“*Nodulin 26-like Intrinsic Protein*”) podfamiliji akvaporina i odgovoran je za usvajanje H_4SiO_4 iz zemljišta u ćelije korena. Kod pirinča, *OsLsi1* je transporter silicijuma za usvajanje (*influx*) koji se nalazi na distalnoj strani egzodermisa i endodermisa u korenu. *OsLsi2* je anjonski transporter za izlučivanje (*efflux*) H_3SiO_4^- , koji se nalazi na proksimalnoj strani endodermisa i egzodermisa u zoni Kasparijevih traka i odgovoran je za punjenje ksilema Si. *Lsi1* i *Lsi2* transporteri su okarakterisani kod mnogih biljnih vrsta, kako monokotiledonih, poput pirinča, kukuruza i ječma, tako i dikotiledonih, poput muskatne tikve (*Cucurbita moschata* Duchesne), krastavca (*Cucumis sativus* L.), paradajza i vinove loze (Ma *et al.*, 2006; Ma *et al.*, 2007; Yamaji *et al.*, 2008; Chiba *et al.*, 2009; Mitani *et al.*, 2009a,b; Yamaji *et al.*, 2009; Mitani *et al.*, 2011a,b; Yamaji *et al.*, 2012; Yamaji *et al.*, 2015; Vivancos *et al.*, 2016; Sun *et al.*, 2017b; Sun *et al.*, 2018; Noronha *et al.*, 2020; Sun *et al.*, 2020), a takođe i kod rastavića. Do danas su identifikovani i funkcionalno okarakterisani i drugi geni uključeni u usvajanje i distribuciju Si kod pirinča, kao što su *OsLsi6*, *OsLsi3* i *OsSIET4* (Yamaji *et al.*, 2008; Yamaji *et al.*, 2009; Huang *et al.*, 2022; Mitani-Ueno *et al.*, 2023). Lokalizacija Si transportera u tkivima i ćelijama, koja se razlikuje među biljnim vrstama, određuje i njihove razlike u usvajanju, transportu i akumulaciji silicijuma kod biljaka (Coskun *et al.*, 2019).

1.3.2. Uloga silicijuma u stresu biljaka

U dosadašnjoj dostupnoj literaturi, navodi se da se korisni efekti Si gotovo isključivo ispoljavaju kada su biljke izložene različitim vrstama stresa. Kao što je već navedeno, Si je jedini poznati element koji efikasno ublažava posledice i biotičkog (patogeni i štetočine) i abiotičkog (suša, salinitet, teški metali, UV zračenje, neravnoteža jona) stresa kod mnogih biljnih vrsta (Debona *et al.*, 2017; Coskun *et al.*, 2019; Pavlovic *et al.*, 2021). Kod biljaka izloženih biotičkom stresu Si povećava otpornost na dva načina (Ma, 2004). Kao fizička barijera na površini listova koja sprečava fizičko prodiranje patogena ili napad herbivora, odnosno čini biljne ćelije manje podložnim degradaciji enzimima od strane gljivičnih patogena. Drugi način delovanja predstavlja indukciju niza odbrambenih mehanizama, poznatih pod nazivom sistemska stečena otpornost, gde Si na neki način pojačava biosintezu fitoaleksina u fenilpropanoidnom putu (Ma, 2004). Silicijum može ublažiti stres izazvan sušom tako što smanjuje kutikularnu transpiraciju. Kako se Si taloži ispod kutikule listova formirajući vodonepropusni sloj Si-kutikula, kod pirinča koji ima tanku kutikulu Si može da smanji transpiraciju i do 30% (Liang *et al.*, 2015). Pored toga, povoljan uticaj đubrenja Si na prinos pirinča uočen je u uslovima stresa izazvanog niskim temperaturama i nedovoljnom sunčevom svetlošću (Ma, 2004), kao i kod stresa izazvanog visokim temperaturama (Agarie *et al.*, 1998). Povoljni efekti Si na biljke izložene stresu soli i Na zabeleženi su kod pirinča (Matoh *et al.*, 1986; Yeo *et al.*, 1999), pšenice (Ahmad *et al.*, 1992), ječma (Liang *et al.*, 1996) i kukuruza (Bosnic *et al.*, 2018). Takođe je poznato da silicijum ublažava stres izazvan teškim metalima (Mn, Fe, Zn i Cd) i drugim metalima u toksičnim koncentracijama, kao što je na primer Al, kroz različite mehanizme delovanja (smanjeno usvajanje, vezivanje u apoplastu ili akumulacija u vakuolama). Sa druge strane, pirinač bez dodatnog đubrenja Si ne može da ostvari zadovoljavajuće prinose, a podložan je i poleganju i napadu patogena, te se stoga Si svrstava kao kvaziesencijani, odnosno agronomski esencijalni elemenat za ovaj usev (Liang *et al.*, 2015). Poslednjih godina, sve više je potvrda o korisnoj ulozi Si u ublažavanju stresa usled nedostatka makro- i mikroelemenata (Pavlovic *et al.*, 2021). Istraživanja pokazuju da Si ima značajnu ulogu u povećanju kapaciteta korena za mobilizaciju i usvajanje Pi kod biljaka, što je do sada zabeleženo kod nekoliko

biljnih vrsta (Ma *et* Takahashi, 1990; Owino-Gerroh *et* Gascho, 2005; Pati *et al.*, 2016; Kostic *et al.*, 2017; Neu *et al.*, 2017; Soltani *et al.*, 2017; Hu *et al.*, 2018; Soratto *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2019; Trailovic *et al.*, 2026). Međutim, još uvek je malo eksperimentalnih dokaza na molekularnom nivou koji bi objasnili mehanizme delovanja Si, pogotovu kod vinove loze.

1.3.3. Silicijum u ishrani vinove loze

Vinova loza akumulira Si u listovima u koncentracijama tipičnim za dikotiledone biljne vrste, sa niskim do srednjim kapacitetom akumulacije, koji se kreće u rasponu od 2,0 do 7,9 g Si kg⁻¹ suve mase, u zavisnosti od sorte, fenofaze i đubrenja Si (Schaller *et al.*, 1990; Blaich *et* Grundhöfer 1997; Zhang *et al.*, 2017; Noronha *et al.*, 2020; Schabl *et al.*, 2020). Noronha *et al.* (2020) su pokazali da akvaporinski kanal vinove loze VvNIP2;1 (homolog Lsi) ispoljava tipične karakteristike Si transportera i da je bio visoko izražen u korenu evropske loze (*V. vinifera*) sorte Vinjau (izvorno *Vinhão*), koja je akumulirala više od 2,0 g Si kg⁻¹ u listovima kada je gajena u hranljivom rastvoru sa 1,5 mM Si. Nadalje, autori su analizirali genome dve američke podloge (1103 P i 101-14 MGt) i dve hibridne podloge dobijene ukštanjem sa evropskom lozom (M1 i M4), te utvrdili da sve one poseduju gen *VvNIP2;1*. Blaich *et* Grundhofer (1997) navode značajne razlike između međuvrskog hibrida vinove loze sorte Regent, koja je akumulirala oko 20% manje Si u poređenju sa sortama evropske loze Rizling i Rizvanac (izvorno *Müller-Thurgau*).

Tolerancija na abiotički i biotički stres kod sorti *V. vinifera* Zeleni veltlinac (izvorno *Grüner Veltliner*) poboljšana je i folijarnom i zemljišnom primenom Si (Schabl *et al.*, 2020). Primena Si preko zemljišta je povećala količinu dostupnog Si, ali je samo folijarna primena povećala koncentraciju Si u listovima, kao i ukupan prinos grožđa i masu pojedinačnih grozdova (Schabl *et al.*, 2020). Folijarna primena Si kod vinove loze uticala je na povećanje fotosintetske efikasnosti (Qin *et al.*, 2016), dok je prema istraživanjima koje su sprovedli Schable *et al.* (2020) vino proizvedeno od grožđa tretiranog Si bilo bolje ocenjeno na senzornim ocenjivanjima. Primena Si je česta u organskom i biodinamičkom vinogradarstvu, jer je u skladu sa principima organske, a posebno biodinamičke proizvodnje vina (Schable *et al.*, 2020). Farouk *et al.* (2017) navode da je prskanje vinove loze Si bilo efikasno u kontroli bolesti izazvanoj pepelnicom (*Oidium*), uz poboljšanje vegetativnog porasta. Međutim, istraživanja koje su sprovedli Blaich *et* Grundhofer (1998) ukazuju da se osetljivost sorti na pepelnicu ipak ne može prevazići đubrenjem Si u poljskim uslovima. Takođe, Habibi (2015) zaključuje da folijarno primenjen Si može efikasno ublažiti negativne efekte smrzavanja vinove loze održavanjem integriteta membrana i smanjenjem fotoinhibicije tokom faze oporavka od stresa niskih temperatura, dok je folijarno tretiranje kombinacijom Si i Ca poboljšalo ceo aromatski kompleks u bobicama grozda. Shodno tome, Garde-Cerdan *et al.* (2023) preporučili su primenu kombinovanih prskanja Ca i Si, kao meru za poboljšanje kvaliteta grožđa. Sut *et al.* (2022) su ispitivali folijarnu primenu Si na sastav bobica kod četiri sorte vinove loze, Teroldego i Oseleta (crne sorte) i Garganega i Šardone (bele sorte), gajenih u odsustvu abiotičkog ili biotičkog stresa. Ovi autori utvrdili su značajno povećanje koncentracija antocijana kod crnih sorti, dok je kod belih sorti Si delovao na povećanje nivoa prolina (Garganega), odnosno na smanjenje koncentracije vinske kiseline (Šardone).

1.4. Interakcije silicijuma i fosfora u zemljištu i biljci

Međusobni odnos ishrane Si i P prepoznat je gotovo pre jednog veka, počev od dugotrajnih poljskih eksperimanata izvedenih na poljima eksperimentalne stanice u Rotamstedu (UK), u kojem je đubrenje Si značajno povećalo prinos ječma u poređenju sa parcelama bez primene Si (Fisher, 1929). Do sada je zabeleženo da je primena Si uticala na ublažavanje nedostatka P kod pšenice (Kostic *et al.*, 2017), kukuruza (Owino-Gerroh *et* Gascho, 2005), paradajza (Zhang *et al.*, 2019), pirinča (Ma *et* Takahashi,

1990) i krompira (Soltani *et al.*, 2017; Soratto *et al.*, 2019). Na osnovu dosadašnjih istraživanja, predloženo je nekoliko mehanizma kojima Si doprinosi smanjenju stresa izazvanog nedostatkom P: a) povećanje dostupnosti P u rizosferi; b) povećano usvajanje Pi putem korena i c) bolje iskorišćavanje P u biljnim tkivima (Pavlovic *et al.*, 2021). Đubrenje Si može da poveća dostupnost P u zemljištu preko promena pH vrednosti zemljišta, smanjenja sorpcije P u zemljištu (usled konkurencije između fosfatnih i silikatnih jona) ili čak promenama dinamike mikrobnih zajednica koje mobilisu ove elemente (Hu *et al.*, 2021; Pavlovic *et al.*, 2021). Određena Si đubriva [npr. natrijum-silikat (Na_2SiO_3)] povećavaju pH vrednost zemljišta i na ovaj način u kiselim zemljištima sa niskom koncentracijom dostupnog P, poništavaju rizotoksično dejstvo Al^{3+} , čime se obnavlja ukupni potencijal korena za usvajanjem mineralnih elemenata (Kostic *et al.*, 2017). Dodatno, Si je stimulisao mobilizaciju Pi putem povećane eksudacije karboksilata (Kostic *et al.*, 2017). Istraživanja na autohtonim vrstama vegetacije zapadne Australije na veoma starim zemljištima sa niskom dostupnošću P, pokazala su da se pojačano izlučivanje karboksilata iz korena poklapa sa značajno višim koncentracijama Si u listovima, iako su ta zemljišta zapravo bila siromašna dostupnim Si (de Tombeur *et al.*, 2020). Međutim, do sada ne postoje eksperimentalni dokazi koji bi pokazali da nedostatak P indukuje mobilizaciju Si kod višegodišnjih drvenastih kultura, uključujući vinovu lozu, naročito u poljskim uslovima. Iako su interakcije između ishrane P i Si detaljno proučavane kod različitih gajenih biljnih vrsta, svega su se četiri istraživanja do danas bavila molekularnom osnovom Si-posredovanog usvajanja P u korenu pšenice (Kostic *et al.*, 2017), ječma (Kandhol *et al.*, 2024) i pirinča (Hu *et al.*, 2018; Jiang *et al.*, 2025). Do sada, uticaj Si na usvajanje P u rizosferi vinove loze gajene u vinogradu, posebno u odnosu na izlučivanje karboksilata iz korena koji mobilisu P i ekspresiju fosfatnih transportera, nije istražen. Primena Si đubriva kod pšenice na kiselim zemljištima sa niskim nivoom P pojačava ekspresiju gena koji kodiraju fosfatne transportere (*TaPHT1;1* i *TaPHT1;2*) i posledično povećavaju usvajanje Pi (Kostic *et al.*, 2017). Đubrenje Si može poboljšati efikasnost iskorišćavanja Pi u samoj biljci, što je zabeleženo kod pirinča i krompira (Ma *et al.*, 1990; Soratto *et al.*, 2019). Kod pirinča je ishrana Si dovela do smanjenog usvajanja Fe i Mn, čime se sprečava vezivanje P za ove elemente i njegova imobilizacija u biljci (Ma *et al.*, 1990). Kod krompira je dodavanje Si dovelo do povećanja koncentracije rastvorljivog neorganskog Pi i ukupnog rastvorljivog fosfora u listovima, ali je ukupno usvajanje fosfora ostalo nepromenjeno (Soratto *et al.*, 2019). Kako rastvorljivi Pi predstavlja glavnu rezervu P kod biljaka, biljke su razvile niz koordinisanih odgovora za njegovo čuvanje, reciklažu i remobilizaciju koji su strogo regulisani, kako bi održale homeostazu P (Chiou *et al.*, 2011). Povećanje koncentracije rastvorljivog Pi u listovima kao odgovor na primenu Si stoga ukazuje da Si možda ima ulogu u održavanju rasta biljaka u uslovima deficita Pi (Soratto *et al.*, 2019).

Visoka koncentracija dostupnog P u zemljištu negativno utiče na rasteenje i razviće biljaka i prinos useva (Zhang *et al.*, 2015; Nikolic *et al.*, 2016). Smanjeno usvajanje P posredovano Si u uslovima visoke koncentracije P zabeleženo je kod nekoliko biljnih vrsta, poput pirinča (Hu *et al.*, 2018), soje (Miyake *et al.*, 1985), jagode (Miyake *et al.*, 1986) i krastavca (Marschner *et al.*, 1990). Smanjeno usvajanje P se često pripisuje formiranju fizičkih barijera u apoplastu korena koje nastaju taloženjem Si (Ma, 2004). Uticaj Si na regulaciju PHT transportera u korenu prvi put je zabeležen kod pirinča (Hu *et al.*, 2018); kod viška P, dodatak Si je smanjio nivo ekspresije gena *OsPHT1;6*, što je posledično smanjilo usvajanje Pi (Hu *et al.*, 2018). Da bi se bolje razumeli različiti efekti Si na usvajanje hranljivih elemenata, ključno je napraviti razlike između istraživanja sprovedenih u polju i istraživanja u kontrolisanim uslovima u hidroponima. U polju, Si može uticati na vezivanje hranljivih elemenata za čestice zemljišta, čime se menja njihova dostupnost. Poznato je da Si smanjuje sorpciju P u zemljištu, naročito pri niskim pH vrednostima, čime povećava dostupnost P za biljke (Pavlovic *et al.*, 2021). Do sada su istraživanja o mehanizmima usvajanja P kod vinove loze, posebno kod severnoameričkih podloga i evropske sorte Burgundac crni, rađena isključivo u uslovima hidropona (Gautier *et al.*, 2021), dok još uvek nema

istraživanja u poljskim uslovima (direktno u vinogradima), koja bi razjasnila pre svega molekularne i fiziološke mehanizme kojima Si pospešuje mobilizaciju, usvajanje, i iskorišćavanje P kod vinove loze.

2. Ciljevi istraživanja

Ciljevi istraživanja ove doktorske disertacije su:

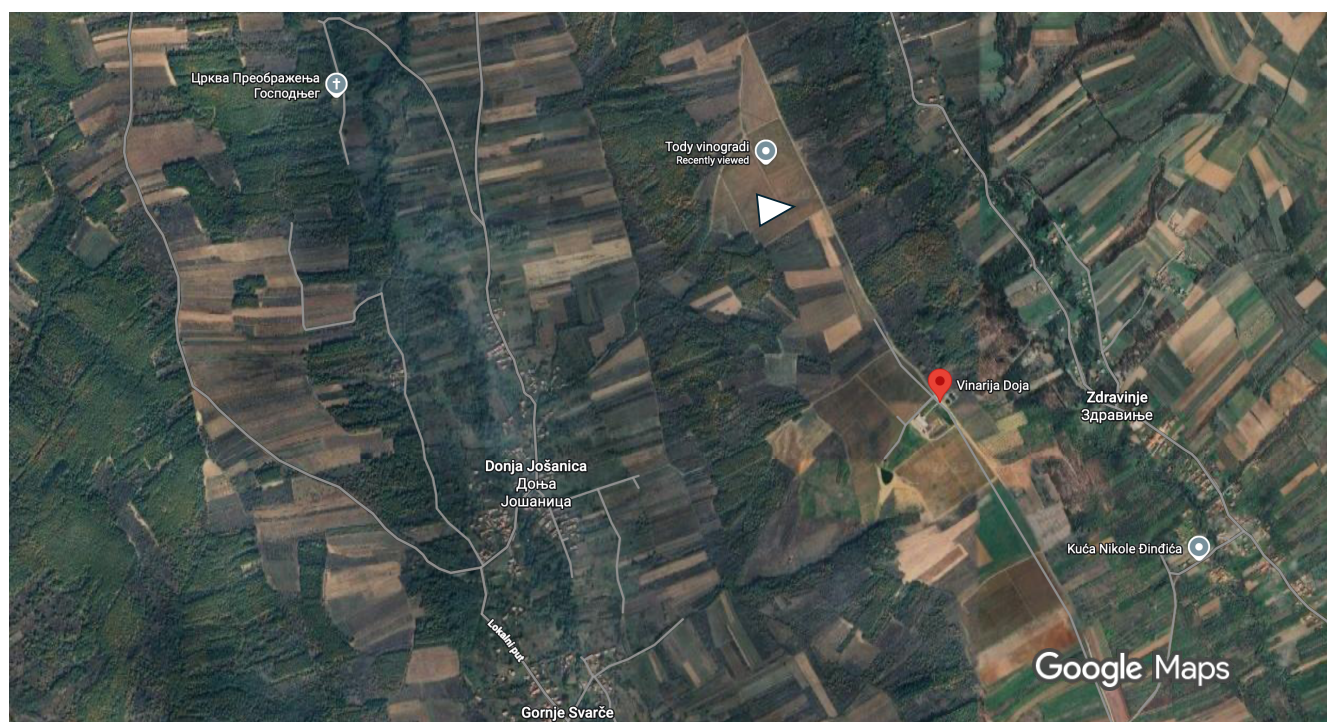
1. razjašnjavanje mehanizama kojima se kalemljena vinova loza prilagođava nedostatku fosfora (P) sa stanovišta fizioloških, biohemijskih i molekularnih mehanizama, koji su uključeni u (a) mobilizaciju P iz rizosfere i (b) usvajanju P krenom podloge (*Vitis* spp.), kao i u (c) njegovoj preraspodeli i akumulaciji u listu plemke (*Vitis vinifera*).
2. razjašnjavanje mehanizama kojima đubrenje silicijumom (Si) deluje na procese mobilizacije P iz rizosfere, njegovog usvajanja krenom i akumulacije u listu.

Pored toga, dodatni cilj od značaja za praksu jeste da se u poljskim uslovima (vinogradu) proceni efikasnost načina đubrenja Si, preko zemljišta i folijarno (preko lista), kao održiva alternativa primeni fosfatnih đubriva u vinogradarstvu.

3. Materijal i metode

3.1. Karakteristike eksperimentalnog lokaliteta

Ekperimenti u poljskim uslovima uspostavljeni su u Topličkom vinogradarskom rejonu, u okviru Vinarije Doja u blizini sela Donja Jošanica, kod Blaca (43.31039° N, 21.386476° E; Slika 4). Vinograd u kome sprovedean eksperimentalna istraživanja podignut je 2010. godine, sa gustinom sadnje od 5.000 čokota po hektaru (razmak sadnje 2,5 m × 0,8 m). Oblik stabla je jednokraka kordunica, sa kratkom rezidbom (Slika 5). Zemljište je obrađivano kultivatorom unutar redova, sa travnatim pokrivačem u međurednom prostoru, uz redovnu zelenu rezidbu i zaštitu od bolesti u skladu sa lokalnom vinogradarskom praksom. Vinograd nije navodnjavan i đubrenje je vršeno svake godine kalijumom (K) u dozi od 50 kg K ha⁻¹ (u obliku K₂SO₄) u jesen, bez primene N i P đubriva, osim eksperimentalnih čokota koji su posebno tretirani, kako je to ispod opisano.

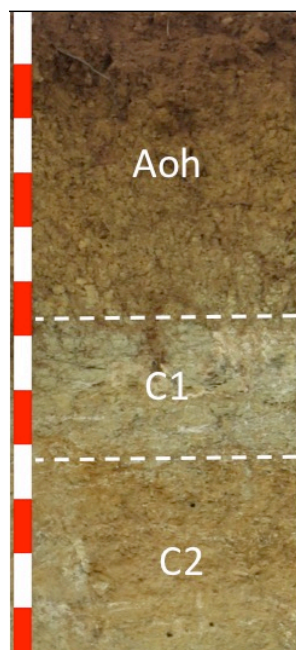


Slika 4. Prostorni prikaz eksperimentalnog lokaliteta (*Google Maps*). Belom strelicom obeležen je eksperimentalni vinograd.

Zemljište na kome su sprovedena ova poljska istraživanja je Regosol (IUSS Working Group WRB, 2022) i pripada klasi evolutivno nerazvijenih zemljišta, kod kojih nije došlo do jasne diferencijacije horizonata dalje od (A)-C profila (Slika 6). Formirano je na jezerskim sedimentima tercijarne starosti, u kojima dominiraju kristalasti škriljci (šistovi). Zemljište je srednje skeletno, sa dominantnom zastupljenošću kvarcnog skeleta, lakšeg mehaničkog sastava, ilovaste teksture, što ga čini ocednim i dobro aerisanim. Takva zemljišta imaju veliki potencijal za proizvodnju visokokvalitetnih vina (npr. Istra u Hrvatskoj, Burgenland u Austriji, Pijemont i Toskana u Italiji, Rioja i Alikante u Španiji, Dolina Loare u Francuskoj).



Slika 5. Eksperimentalni vinograd (Vinarija Doja, Donja Jošanica, Blace).



Slika 6. Profil zemljišta eksperimentalnog vinograda do dubine 120 cm. Aoh– ohrični horizont; C1 – sloj taloženja karbonatnog materijala; C2 – matični supstrat.

Tabela 1. Početne fizičke i hemijske karakteristike zemljišta eksperimentalnog vinograda.

Parametri	Metoda	Vrednosti
Gustina (g cm ⁻³)	Piknometar	1,26
Pesak (%)	Higrometar	50
Glina (%)		31
Prah (%)	Računski	19
pH (u H ₂ O)	pH-metar	6,48
EC (dS m ⁻¹)	Konduktometar	0,21
Organska materija (%)	CNS analizator	0,75
Ukupni N (%)		0,22
CaCO ₃ (%)	Šajblerov kalcimetar	0,30
CEC (cmol _c kg ⁻¹)	Računski	26
Izmenljivi Al ³⁺ (cmol _c kg ⁻¹)	Ekstrakcija KCl ^a	0,42
Ukupni P (mg kg ⁻¹)	Ekstrakcija HNO ₃ ^a	176
Dostupni P (mg kg ⁻¹)	Ekstrakcija NaHCO ₃ (Olsen) ^b	1,71
Dostupni Si (mg kg ⁻¹)	Ekstrakcija CaCl ₂	65
Izmenljivi K (mg kg ⁻¹)	Ekstrakcija amonijum-acetatom ^a	69
Izmenljivi Ca (mg kg ⁻¹)		3400
Izmenljivi Mg (mg kg ⁻¹)		953
Dostupni B (mg kg ⁻¹)	Ekstrakcija vreloom vodom ^a	0,14
Dostupni Fe (mg kg ⁻¹)		23,0
Dostupni Cu (mg kg ⁻¹)		0,90
Dostupni Mn (mg kg ⁻¹)	Ekstrakcija DTPA ^a	15,0
Dostupni Zn (mg kg ⁻¹)		0,27
Dostupni Mo (mg kg ⁻¹)		0,01
Dostupni Ni (mg kg ⁻¹)		3,1

^aOdređivanje ICP-OES metodom; ^bspektrofotometrijsko određivanje molibdatnom metodom.

Fizičke i hemijske karakteristike zemljišta eksperimentalnog vinograda, na dubini 30-60 cm gde se nalazi najveći deo korena vinove loze, u stanju pre zasnivanja zasada i redovnog đubrenja, prikazane su u Tabeli 1. Zemljište je siromašno u organskoj materiji (humusu), bezkarbonatno, nezaslanjeno, neutralne pH reakcije i visokog kapaciteta za izmenu katjona (CEC). Evidentna je veoma niska koncentracija kako ukupnog, tako i dostupnog P, dok je zemljište srednje snabdeveno ukupnim N, slabo snabdeveno dostupnim K i dobro snabdeveno Ca i Mg. U pogledu snabdevenosti dostupnim oblicima mikroelemenata, zemljište je slabije snabdeveno dostupnim oblicima Zn i bora (B), a dobro snabdeveno dostupnim oblicima Fe, bakra (Cu), Mn, molibdena (Mo) i nikla (Ni).

Vremenske karakteristike (srednja količina padavina i prosečna temperatura vazduha tokom vegetacione sezone, u periodu izvođenja eksperimenta (2019-2021) u vinogradu, kao i pedesetogodišnje prosečne vrednosti ovih parametara u širem regionu prikazane su Tabeli 2.

Tabela 2. Izabrani vremenski parametri tokom vegetacione sezone (april–oktobar) za eksperimentalne godine (2019-2021)^a, upoređeni sa pedesetogodišnjim prosečnim godišnjim vrednostima (1961–2011)^b.

Parametar	2019	2020	2021	Prosek 1961-2011
Količina padavina (mm)	192,5	345,2	291,0	347,4
Prosečna temperatura vazduha (°C)	17,9	16,7	16,3	17,0

^aPodaci su zabeleženi pomoću Meteobot® Pro meteorološke stanice (Prointegra Ltd., Varna, Bugarska), koja se nalazi u eksperimentalnom vinogradu;

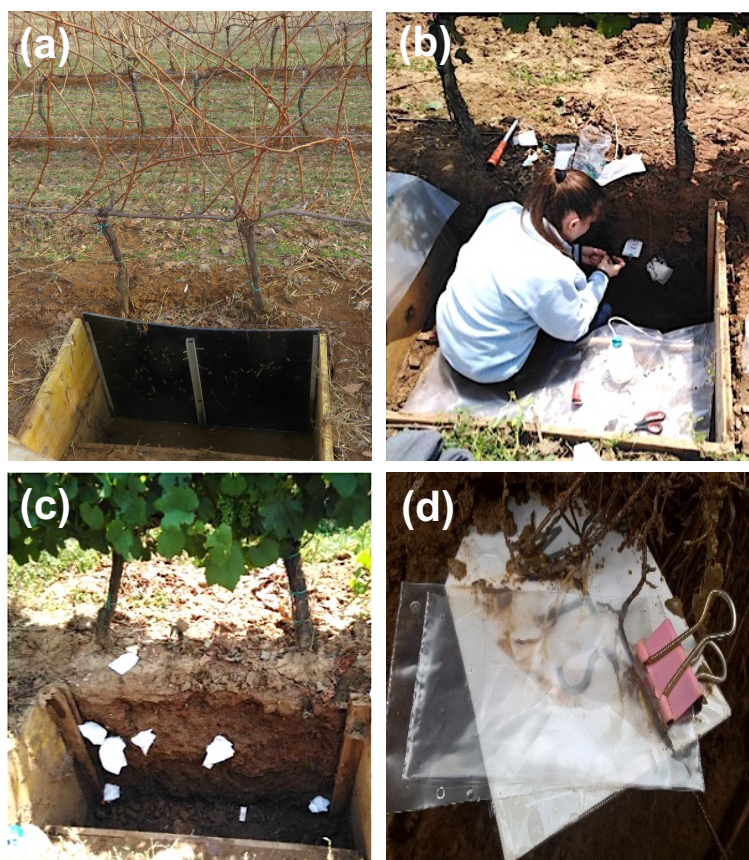
^bPodaci preuzeti od Republičkog hidrometeorološkog zavoda Srbije (<http://www.hidmet.gov.rs>).

3.2. Biljni materijal

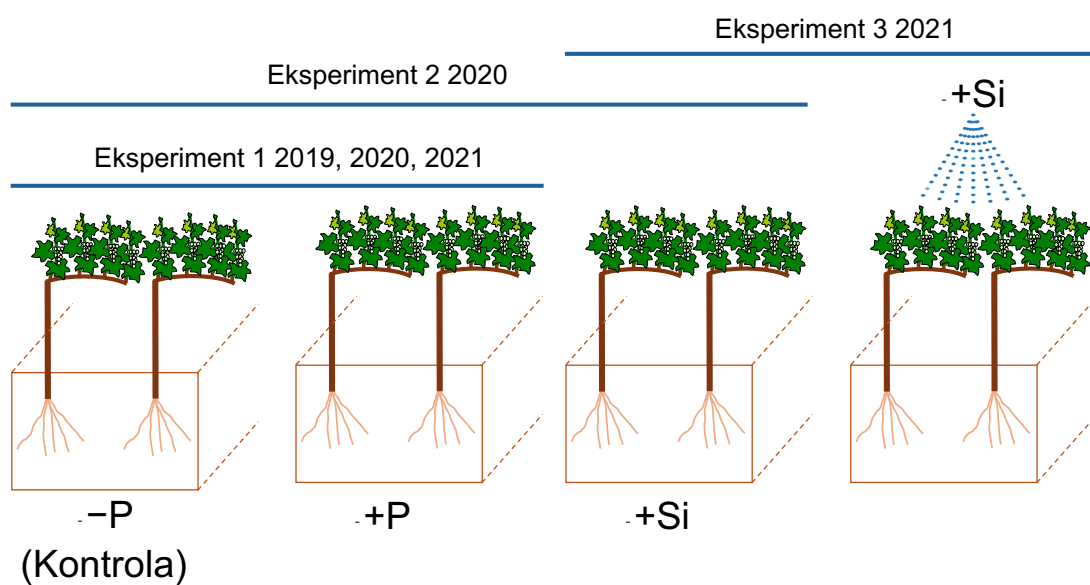
Eksperimenti su izvedeni na evropskoj vinovoj lozi (*Vitis vinifera* L.) sorte Šardone okalemljenoj na američku loznu podlogu Kober 5BB (nastala ukrštanjem *Vitis berlandieri* Planch. × *Vitis riparia* Michx.). Šardone je stara francuska sorta, komercijalno jedna od najvažnijih belih vinskih sorti, kako globalno tako i u Srbiji, dok je podloga Kober 5BB najzastupljenija lozna podloga u Srbiji.

3.3. Eksperimenti u vinogradu i eksperimentalni dizajn

U eksperimentalnom vinogradu su izgrađeni rizotroni dimenzija 120 cm dužine × 60 cm širine × 80 cm dubine, sa pomičnim bočnim profilom od pleksiglasa, radi lakšeg pristupa intaktnom korenu i rizosfernom zemljištu u prirodnim uslovima (Slika 7). Svaki rizotron, koji je ujedno predstavljao i tretman, zahvatao je po dva čokota vinove loze; ukupno je postavljeno tri rizotona na kojima su, tokom tri sukcesivne godine, izvedena tri eksperimenta različitog trajanja. Pre početka eksperimenata utvrđeno je da se zemljišni parametri nisu značajno razlikovali među rizotronima. Šematski prikaz eksperimenata dat je na Slici 8.



Slika 7. Rizotroni u eksperimentalnom vinogradu (a) i prikupljanje korenovih eksudata (b–d). Reprodukivano iz Trailovic et al. (2025), uz dozvolu dobijenu od *Springer Nature*.



Slika 8. Šematski prikaz dizajna eksperimenata. *Eksperiment 1* (-P, +P) izveden je u periodu 2019-2021. godine. *Eksperiment 2* (Kontrola, +P, +Si) izveden je 2020. godine. *Eksperiment 3* (+Si zemljište, +Si folijarno) izveden je 2021. godine.

Eksperiment 1 je trajao tri vegetacione sezone (2019-2021). Postavljen je u cilju proučavanja sezonske dinamike mobilizacije i usvajanja P korenom podloge (Kober 5BB), kao i njegove akumulacije u listovima okalemljene sorte Šardone (plemke) i obuhvato je dva tretmana: bez đubrenja (-P) i sa đubrenjem P (+P). Fosfor je primenjivan svake godine u rano proleće, pre otvaranja okaca (mart), a svaki rizotron (dva čokota) dobio je 8 g P (u obliku KH_2PO_4) rastvorenog u 5 L destilovane vode, što odgovara primeni od 20 kg P ha^{-1} . Svake godine u rano proleće (mart), -P biljke primile su po 10 g K u obliku K_2SO_4 rastvorenog u 5 L destilovane vode (50 kg K ha^{-1}), dok su +P biljke đubrene sa polovinom te količine radi izjednačavanja ukupnog dodatog K unetog putem KH_2PO_4 . Nijedan tretman nije bio đubren N, u skladu sa praksom u Vinariji Doja. Kod -P čokota nisu uočeni vizuelni simptomi njegovog nedostatka na listovima ili grozdovima. Svi eksperimentalni čokoti su zalivani sa po 10 L destilovane vode u maju, junu i julu radi smanjenja stresa suše i podsticanja formiranja mladih korenova.

Eksperiment 2 izveden je tokom vegetacije 2020. godine, sa ciljem da se uporedi efekat đubrenja Si (preko zemljišta) sa efektom đubrenja P na dinamiku efikasnosti mobilizacije, usvajanja i iskorišćavanja P kod vinove loze. Eksperiment je obuhvatao tri tretmana: kontrola (bez đubrenja Si i P), đubrenje P (+P), kao pozitivna kontrola i đubrenje Si (+Si) (Slika 8). Rastvor $\text{Si}(\text{OH})_4$ pripremljen je neposredno pre primene propuštanjem rastvora Na_2SiO_3 kroz plastičnu kolonu napunjenu jonoizmenjivačkom smolom (Amberlite IR-120, H^+ ; Fluka, Buchs SG, Švajcarska). Primena Si preko zemljišta obavljena je fertigacijom sa po 10 L rastvora 2,5 mM $\text{Si}(\text{OH})_4$ tokom maja, juna i jula; ukupna količina primenjenog Si iznosila je 2 g Si po rizotyonu, odnosno 5 kg Si ha^{-1} . Đubrenje P u obliku KH_2PO_4 obavljeno u količini i na način kako je to opisano prethodno kod Eksperimenta 1. U martu je kontrolnim i +Si čokotima dodato po 10 g K u obliku K_2SO_4 rastvorenog u 10 L destilovane vode (50 kg K ha^{-1}), dok su +P čokoti đubreni sa polovinom doze, kako je to već prethodno opisano. Svi eksperimentalni čokoti osim +Si tretmana su zalivani sa po 10 L destilovane vode u maju, junu i julu radi smanjenja stresa suše i podsticanja formiranja mladih korenova.

Eksperiment 3 izveden je tokom vegetacije 2021. godine, sa ciljem da se uporede efekti primene Si preko zemljišta (+Si zemljište) i preko lista (+Si folijarno) na dinamiku efikasnosti mobilizacije, usvajanja i iskorišćavanja P kod vinove loze gajene u uslovima niskog sadržaja P u zemljištu. Rastvor $\text{Si}(\text{OH})_4$ pripremljen je kao što je opisano kod *Eksperimenta 2*. Primena Si preko zemljišta je obavljena u količini i na način kako je opisano prethodno kod *Eksperimenta 2*, dok je folijarna primena Si obavljena u tri prskanja ručnom prskalicom sa po 0,4 L 2,5 mM $\text{Si}(\text{OH})_4$ po rizotyonu [$1000 \text{ L } 2,5 \text{ mM } \text{Si}(\text{OH})_4 \text{ ha}^{-1}$], tokom maja, juna i jula (ukupno dodato 0,2 g Si ha^{-1}). Eksperimentalni čokoti kod kojih je Si primenjen folijarno su zalivani sa po 10 L destilovane vode u maju, junu i julu radi smanjenja stresa suše i podsticanja formiranja mladih korenova.

Sva uzorkovanja, u sva tri eksperimenta, vršena su u tri ključne fenofaze (u svakoj vegetacionoj sezoni) prema modifikovanom Eichhorn-Lorenz (E-L) sistemu (Eichhorn *et* Lorenz, 1977; Coombe, 1995): cvetanje (E-L faza 23), formiranje bobica veličine zrna graška (E-L faza 31) i šarak (početak zrenja bobica; E-L faza 35). Termini uzorkovanja u različitim eksperimentalnim godinama prikazani su u Tabeli 3.

Tabela 3. Pregled termina uzorkovanja.

Fenofaza	2019	2020	2021
E-L faza 23	25. 06. 2019.	08. 06. 2020.	15. 06. 2021.
E-L faza 31	18. 07. 2019.	13. 08. 2020.	21. 07. 2021.
E-L faza 35	05. 09. 2019.	15. 09. 2020.	13. 09. 2021.

U tri poljska eksperimenta od kojih se sastoji ova disertacija analiziran je veliki broj uzoraka. U daljem tekstu opisan je postupak uzorkovanja u svakom pojedinačnom eksperimentu.

Eksperiment 1: Koncentracije P u listu analizirane su u ukupno 54 uzorka prikupljena tokom tri eksperimentalne godine, pri čemu je za svaku kombinaciju godine, đubrenja i fenofaze korišćeno po 3 biološka ponavljanja. Koncentracije ostalih odabranih makro- i mikroelemenata u listu (K, Ca, Mg, S, Fe, Cu, Mn i Zn), analizirane su u ukupno 36 uzoraka za svaki element; za svaku kombinaciju godine, đubrenja i fenofaze korišćena su takođe po 3 biološka ponavljanja, a uzorci su prikupljeni tokom dve eksperimentalne godine (2019 i 2020). Uzorci zemljišta u kojima su analizirane koncentracije dostupnih oblika pomenutih odabranih hranljivih elemenata (K, Ca, Mg, S, Fe, Cu, Mn i Zn) prikupljeni su tokom jedne godine (2020); koncentracija svakog elementa merena je u po ukupno 36 uzoraka, a za svaku eksperimentalnu kombinaciju đubrenja P, fenofaze, kao i kompartmenta zemljišta (okolno i rizosferno) korišćena su tri ponavljanja. Vrednost pH zemljišnog rastvora merena je tokom tri godine u po 54 uzorka zemljišta u svakom kompartmenu zemljišta (okolnom i rizosfernom) i svakom P tretmanu; ukupno 216 uzoraka zemljišta, pri čemu je za svaku kombinaciju godine, đubrenja, fenofaze i kompartmenta zemljišta korišćeno po 3 ponavljanja. Promena pH (ΔpH) između okolnog i rizosfernog zemljišta računata je iz istih uzoraka. Takođe, svaka od četiri analizirane frakcije P u zemljištu (ekstrahovane sa H_2O , NaHCO_3 , NaOH i HCl) merena je tokom tri godine u po 54 uzorka zemljišta u svakom kompartmenu zemljišta (okolnom i rizosfernom) i svakom P tretmanu ($-P$ i $+P$), pri čemu je za svaku kombinaciju godine, đubrenja, fenofaze i kompartmenta zemljišta korišćeno po 3 ponavljanja za svaku frakciju. Relativni gradijent P_i između okolnog i rizosfernog zemljišta za svaku P frakciju (relativni ΔP_i) računat je na osnovu tih uzoraka. Intenzitet izlučivanja (efluks) citrata određen je u ukupno 95, a malata u 79 uzoraka prikupljenih tokom tri godine. Efluks fumarata, šikimata i citrata meren je tokom 2019. godine, u ukupno 22 uzorka za $-P$ i 15 za $+P$ tretman đubrenja. Ekspresija svakog gena analizirana je tokom jedne reprezentativne godine (2020), u tri biološka ponavljanja za svaku kombinaciju đubrenja P i fenofaze, tako da je ukupno 18 uzoraka korišćeno za analizu ekspresije svakog od 5 gena u korenu ($VvALMT1$, $VvPEPC$, $VvPHT1;1$, $VvPHT1;3a$ i $VvPHT1;4a$), odnosno 18 uzoraka za analizu ekspresije svakog od 3 ispitivana gena $VvPHT1;1$, $VvPHT1;3a$ i $VvPHT1;4a$) u listu vinove loze.

Eksperiment 2: Koncentracije P i Si u listu vinove loze merene su u ukupno 36 uzoraka, što je podrazumevalo 4 biološka ponavljanja u svakoj kombinaciji đubrenja (kontrola, $+P$ i $+Si$) i fenofaze. Koncentracije ostalih odabranih hranljivih elemenata (K, Ca, Mg, S, Fe, Cu, Mn i Zn) u listu merene su u tri ponavljanja za svaku eksperimentalnu kombinaciju đubrenja i fenofaze (ukupno u 27 uzoraka). Dostupni P (ekstrahovan sa NaHCO_3) i dostupni Si (ekstrahovan sa CaCl_2) određivani su u po 72 uzorka za svaki kompartment zemljišta (okolno i rizosferno), što je podrazumevalo 8 ponavljanja za svaku kombinaciju đubrenja Si i fenofaze u svakom odeljku zemljišta. Iz tih uzoraka računati su gradijenti koncentracije (ΔP_i i ΔSi) između okolnog i rizosfernog odeljka zemljišta. Dostupne koncentracije odabranih makroelemenata (K, Ca, Mg) i mikroelemenata (Fe, Cu, Mn i Zn) određivane su u okolnom i rizosfernom zemljištu u svakoj kombinaciji đubrenja (kontrola, $+P$ i $+Si$) i fenofaze u tri ponavljanja, što podrazumeva 27 uzoraka za svaki element u svakom odeljku zemljišta. Intenzitet izlučivanja citrata određen je u ukupno 126 uzoraka, a malata u ukupno 90 uzoraka. Analize ekspresije svakog od pet gena ($VvALMT1$, $VvPEPC$, $VvPHT1;1$, $VvPHT1;3a$ i $VvPHT1;4a$) u korenu, odnosno svakog od četiri gena ($VvPHT1;1$, $VvPHT1;2$, $VvPHT1;3a$ i $VvPHT1;4a$) u listu vinove loze rađena su u četiri biološka ponavljanja u svakoj eksperimentalnoj kombinaciji đubrenja i fenofaze, odnosno u po 36 uzoraka lista i korena.

Eksperiment 3: Koncentracije P i Si u listu merene su u po ukupno 18 uzoraka, tj. u tri biološka ponavljanja za svaku eksperimentalnu kombinaciju načina primene Si i fenofaze vinove loze. Isti broj ponavljanja korišćen je i za određivanje koncentracija dostupnih oblika P i Si u okolnom i u rizosfernom zemljištu u različitim tretmanima primene Si (preko zemljišta i preko lista) u tri analizirane fenofaze (ukupno 36 uzoraka za svaki element). Isti uzorci korišćeni su i za računanje relativnih gradijenata

koncentracija dostupnih formi Pi (Δ Pi) i Si (Δ Si) između okolnog i rizosfernog zemljišta. Za merenje intenziteta izlučivanja citrata korišćena su ukupno 42 uzorka u tretmanu primene Si preko zemljišta, odnosno ukupno 15 u folijarnoj primeni Si, dok je intenzitet izlučivanja malata analiziran u 21 uzorku gde je Si primenjen preko zemljišta i 9 uzoraka gde je Si primenjen preko lista. U svakom načinu primene Si (preko zemljišta i preko lista) analizirano je po 9 uzoraka (odnosno tri biološka ponavljanja u svakoj fenofazi) za ekspresiju svakog od ispitivanih gena (*VvALMT1*, *VvPEPC*, *VvPHT1;1*, *VvPHT1;3a* i *VvPHT1;4a*) u korenu vinove loze, i po 9 uzoraka za ekspresiju svakog od ispitivanih gena (*VvPHT1;1*, *VvPHT1;2*, *VvPHT1;3a* i *VvPHT1;4a*) u njenom listu.

3.4. Analiza biljnog materijala

3.4.1. Sakupljanje eksudata korena i analiza karboksilata

Nedelju dana pre uzorkovanja eksudata korena, svaki rizotron je zalivan sa 10 l destilovane vode kako bi se podstaklo rastenje mladih korenova (Slika 9). Korenovi eksudati su sakupljeni sa netaknutih vrhova korena (0–20 mm) korišćenjem traka za nanošenje uzoraka za elektroforezu (10 × 5 mm; SERVA Electrophoresis GmbH, Heidelberg, Germany) prethodno blago navlaženih dejonizovanom vodom. Uzorkovanje je uvek obavljano u periodu od 13 do 14 h. Intaktni vrhovi korenova pažljivo su otkopavani finom spatulom i nežno ispirani destilovanom vodom kako bi se uklonile čestice zemljišta. Vrhovi korenova su potom fiksirani između dve male plastične ploče pomoću štikaljki i prekriveni filter papirom kako bi se sprečila izloženost svetlosti (Slika 7 b-d). Nakon 1 sata, trake sa adsorbovanim korenovim eksudatima ekstrahovane su u smeši metanol:dejonizovana voda (1:3, v/v) i čuvane u tečnom azotu do transporta u laboratoriju. Alikvot od 0,5 ml ekstrakta pomešan je sa 2 ml vode visokog stepena čistoće (18 M; Millipore, Bedford, MA, USA), zatim filtriran kroz najlonske špric filtere od 0,22 μ m (Phenomenex, Torrance, CA, SAD) i analiziran na prisustvo organskih anjona (malata, citrata, oksalata, šikimata i fumarata) pomoću Dionex ICS-3000 sistema za jonsku hromatografiju (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA).



Slika 9. Razviće mladih korenova u rizotronu 10 dana po zalivanju.

Sistem je uključivao pumpu sa jednim kanalom, ASRS ULTRA II konduktivni detektor (4 mm, režim reciklaže), generator eluensa na bazi KOH, i softver za upravljanje hromatografijom Chromeleon 6.7. Separacije su izvođene na 30 °C koristeći Dionex™ IonPac™ AG15 analitičku kolonu (4 mm × 50 mm) i Dionex™ IonPac™ AS15 zaštitnu kolonu (4 mm × 250 mm). Mobilna faza (KOH) imala je protok od 0,5 ml min⁻¹. Koncentracija KOH se menjala tokom vremena na sledeći način: 10 mM (0–4 min), postepeno povećanje sa 10 mM na 60 mM (4–20 min), zatim smanjenje sa 60 mM na 10 mM (20–30 min), i stabilno 10 mM (30–35 min).

3.4.2. Analiza fosfora i odabranih makro- i mikroelemenata u lisnom materijalu

Uzorci lisnih ploča bez centralnog nerva prikupljeni su sa po četiri mlada lastara, sa dve biljke u svakom rizotronu (8 potpuno razvijenih listova naspram cvasti/grozdova). Nakon uzorkovanja, materijal je temeljno ispran 10% (v/v) rastvorom HCl, zatim ispran dejonizovanom vodom i sušen 48 h na 70 °C. Osušeni listovi su usitnjeni do praha u odgovarajućem mlinu (A11 Basic Analytical Mill, IKA-Werkw GmbH & Co. KG, Staufen, Germany).

Osušeni i sprášeni biljni materijal (300 mg) razoren je u smeši 5 ml koncentrovane HNO₃ (65% HNO₃) i 1 ml H₂O₂ (30% H₂O₂) tokom 1 časa u mikrotalasnom uređaju za digestiju (Ethos Easy, Milestone Srl, Sorisole, Italy). Nakon digestije, rastvor je prebačen u odmernu tikvicu i razblažen dejonizovanom vodom do konačne zapremine od 25 ml. Koncentracija elemenata određena je metodom optičke emisione spektroskopije sa indukovano-spregnutom plazmom (ICP-OES; Spectro-Genesis EOP II, Spectro Analytical Instruments GmbH, Kleve, Germany).

3.4.3. Određivanje silicijuma u lisnom materijalu

Osušeni i sprášeni biljni materijal razoren u mikrotalasnom sistemu za digestiju, kako je prethodno opisano, dodatno je inkubiran sa 1 mL 40% HF tokom 24 h, i potom razblažen destilovanom vodom do zapremine od 25 mL. Koncentracija Si određena je metodom optičke emisione spektroskopije sa indukovano-spregnutom plazmom (ICP-OES; Spectro-Genesis EOP II, Spectro Analytical Instruments GmbH, Kleve, Germany), opremljenom sistemom za ubrizgavanje uzorka otpornim na HF.

3.4.4. Molekularne analize

Nakon uzorkovanja eksudata, vrhovi korenova (0-20 mm) i lisne ploče (zbirni uzorak potpuno razvijenih listova) trenutno su zamrznuti u tečnom azotu i čuvani na -80 °C do analize. Ekspresija odabranih gena (*VvPHT1;1*, *VvPHT1;2*, *VvPHT1;3a*, *VvPHT1;4a*, *VvPHO1*, *VvPHO2*, *VvNIP2;1*, *VvALMT1*, *VvMATE1*, *VvPEPC* i *VvPAP10*) analizirana je kvantitativnom *Real-Time PCR* metodom. Zamrznuti vrhovi korenova i delovi lista (bez glavnih nerava) su sprášeni u tečnom azotu i homogenizovani u avanu, a izolacija RNA izvršena je korišćenjem *RNeasy® Mini Kita* (Qiagen, Oslo, Norveška), prema uputstvu proizvođača. Ukratko, biljni materijal (0,1 g) je rastvoren u rastvoru 450 µL RLT pufera (sa 4,5 µL β-merkaptioetanol) i 45 µL 10% polietilen glikola (PEG), radi uklanjanja fenolnih jedinjenja iz uzoraka, i vorteksovan, a zatim zagrevan 2 min na 56°C; smesa je prebačena u *QIAshredder* kolonice i centrifugirana 2 min na 10.000 rpm; u supernatant je dodato 250 µL (96-100%) sterilnog etanola radi taloženja RNK, a zatim je uzorak prebačen u *RNeasy Mini spin* kolonu i centrifugiran 15 s na 10.000 rpm; po odbacivanju lizata, RNK je sukcesivno ispirana u 700 µL RW1 puferu, 500 µL RPE puferu i na kraju u 500 µL RPE puferu, uz centrifugiranja na 10.000 rpm; *RNeasy Mini spin* kolona je prebačena u novu tubu i centrifugirana 1 min na 10.000 rpm; RNK je na kraju eluirana u 50 µL ultračiste vode bez nukleaza i centrifugirana 1 min na 10.000 rpm-a, a zatim u narednih 50 µL molekularne vode i

centrifugirana 1 min na 10.000 rpm. Koncentracija izolovane biljne RNK je određivana spektrofotometrijski (260 nm), i čuvana je na -80°C .

Nakon izolacije, RNK je prečišćena od ostataka genomske DNK DNase-om, prema protokolu proizvođača [A Typical DNase I Reaction Protocol (M0303)]. Prečišćena RNK (1 μg) je korišćena za sintezu prvog lanca cDNK prema protokolu proizvođača [First Strand cDNA Synthesis (Standard Protocol)]. Prvi lanac cDNA sintetisan je iz 0,56 μg RNA korišćenjem MMuLV reverzne transkriptaze (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) i nasumičnih heksamera prajmera.

Analiza ekspresije gena u tkivima korena i lista sprovedena je kvantitativnom *Real-Time PCR* metodom, pri čemu je aktin korišćen kao endogena kontrola. *Real-time PCR* je sproveden na uređaju PowerAmp96DX (Kogene Biotech Co. Ltd., Seoul, South Korea) uz korišćenje *SybrGreen* boje (Bio-Rad Laboratories) prema protokolu proizvođača. Svi uzorci su razblaženi 20 puta u ultračistoj vodi bez nukleaza. Reakcije su rađene u zapremini od 10 μL sa po 0,5 μM direktnih (*forward*) i povratnih (*reverse*) prajmera, 5 μL *SybrGreen* PCR master smeše, 3 μL molekularne vode i 1 μL prethodno razblažene cDNK. *Real-time PCR* je izveden prema parametrima preporučenim od strane proizvođača, pri čemu je svaki uzorak rađen u 5 ponavljanja, uključujući i kontrole koje nisu sadržavale cDNK. Relativni nivoi transkripcije su izračunati metodom $2^{-\Delta\text{Ct}}$, gde ΔCt predstavlja razliku između Ct vrednosti ispitivanog gena i aktina (*VvACTIN*) kao referentnog gena. Geni su amplifikovani pomoću specifičnih prajmera prikazanih u Tabeli 4.

Tabela 4. Prajmeri i pristupni brojevi analiziranih gena.

Gen	Pristupni broj	Direktan prajmer (5' – 3')	Reverzni prajmer (5' – 3')
<i>VvACT</i>	XM_002282480.5	CTTGCATCCCTCAGCACCTT	TCCTGTGGACAATGGATGGA
<i>VvALMT1</i>	XM_002262727.4	TGATAGAGTCTTGGACGATG	CCTGGATATGGGAGTGAG
<i>VvMATE1</i>	XP_002282907	GGAGATTCAAATAGAAGATGCCCAAG	AACTAACCAACTCCACCAACTCG
<i>VvPEPC</i>	XM_002280533.2	CATGAAGGGTATTGCTGCTG	AGAGGATTTGATTTTGGTACGG
<i>VvPAP10</i>	XM_002274356	AGCCAGTTTTGGACACGCTA	GTGGGTCCACAAACCTTCCA
<i>VvPHT1;1</i>	XM_002267291.1	CAACTTTGTGATTGGGGTTG	AGAGCAGATGGCACAATG
<i>VvPHT1;2</i>	XM_002267291	CGTGAGGCGGATTTTCTGT	ATCAAAGAACTCTCTCGACCAT
<i>VvPHT1;3a</i>	XM_002275490	GGGCAATTGTGGCTTTGTCT	TGGTCCTCCCAGAGAGTTG
<i>VvPHT1;4a</i>	XM_010651784.2	TTGTGCTCGGGGTAGTCAAC	CCAGTCCTGGTAGAAGGGGA
<i>VvPHO1</i>	XM_010651815	CATCCAGGCTCTGTATTCACG	TTGAGCTTCGAGCTCCTTGG
<i>VvPHO2</i>	XM_059740065	TTGTGCTGTGGAAGCAGGAT	GTGCAGGCAAACCTCAAACCA
<i>VvNIP2;1</i>	XM_002278018	GCATAACTCCATCTTGGCAGGAC	TCCAACCGCATAACCCAAATCC
<i>VvACTIN</i>	XM_002282480.5	CTTGCATCCCTCAGCACCTT	TCCTGTGGACAATGGATGGA

U *Eksperimentu 1* geni *VvALMT1* i *VvPEPC* nisu bili eksprimirani u listu vinove loze ni u –P ni u +P tretmanu, dok geni *VvMATE*, *VvPHT1;2*, *VvPHT1;3a*, *VvPAP10*, *VvPHO1*, *VvPHO2* nisu bili eksprimirani u listu i korenu vinove loze u oba tretmana (–P i +P). U *Eksperimentu 2* i *Eksperimentu 3*, geni *VvALMT1* i *VvPEPC* nisu bili eksprimirani u listu vinove loze, *VvPHT1;2* nije bio eksprimiran u korenu, dok geni *VvMATE*, *VvPAP10*, *VvPHO1*, *VvPHO2* i *VvNIP2;1* nisu bili eksprimirani u korenu i listu u svim tretmanima.

3.5. Analiza zemljišta

3.5.1. Priprema uzoraka zemljišta

Uzorci rizosfernog i okolnog zemljišta prikupljeni su sa dubine od 30–60 cm, na kojoj je najveće rasprostiranje korenovog sistema vinove loze. Zemljište neposredno oko intaktnih korenova, u prečniku od približno 1 cm (definisano kao rizosfera), pažljivo je odvojeno od korena finom špatulom. Uzorci okolnog zemljišta su uzeti izvan zone korenovog sistema, sa iste dubine. Uzorci rizosfernog i okolnog zemljišta su osušeni na vazduhu u laboratoriji na sobnoj temperaturi, u trajanju od 48 h, a zatim fino sprášeni u avanu pre podvrgavanja hemijskim analizama. Sve analize uzoraka zemljišta rađene su u 3 tehnička ponavljanja.

3.5.2. Određivanje aktivne kiselosti zemljišta

Određivanje aktivne kiselosti (pH u H₂O), izvršeno je potenciometrijski u destilovanoj vodi u odnosu zemljište:voda od 1:2,5.

3.5.3. Određivanje dostupnog fosfora u zemljištu

Koncentracija dostupnog P u zemljištu određena je metodom po Olsenu (Olsen *et al.*, 1954). Uzorci zemljišta su ekstrahovani rastvorom 0,5 M NaHCO₃ (pH 8,5) u odnosu zemljište:rastvor od 1:20, mućkanjem na horizontalnoj mućkalici u trajanju od 30 minuta. Uzorci su profiltrirani kroz filter papir (Whatman 42), i koncentracije P su merene kolorimetrijski na 882 nm po razvijanju molibden-plavog kompleksa (Murphy *et Riley*, 1962). Za potrebe kolorimetrijskog određivanja koncentracije P, u alikvot od 5 ml uzorka dodato je 15 ml dejonizovane vode i 5 mL rastvora za bojenje (5 mL amonijum molibdata u sumpornoj kiselini i 0,03 g askorbinske kiseline).

3.5.4. Sekvencionalna ekstrakciona analiza neorganskog fosfora

Frakcije neorganskog fosfora (Pi) u zemljištu određene su metodom sekvencijalne ekstrakcije koju su razvili Rose *et al.* (2009), kao modifikovanu verziju originalne sheme frakcionisanja (Hedley *et al.*, 1994). Ova metoda, iako široko primenjivana, ima i specifična ograničenja (Barrow *et al.* 2021). Ukratko, frakcije Pi su ekstrahovane mućkanjem 1 g osušenog zemljišta tokom 16 sati u 30 ml sledećih rastvora: 1) H₂O (labilna, lako dostupna biljkama frakcija Pi); 2) 0,5 M NaHCO₃ na pH 8,5 (labilna frakcija Pi); 3) 0,1 M NaOH (slabo labilna frakcija Pi, povezana sa oksidima/hidroksidima Fe i Al); 4) 1 M HCl (slabo labilna frakcija Pi, povezana sa Ca; Rose *et al.*, 2009).

Koncentracija P u ekstraktima sa H₂O, NaHCO₃ i NaOH određena je kolorimetrijskom metodom sa molibden-plavim reagensom na talasnoj dužini od 882 nm (Murphy *et Riley*, 1962). Koncentracija fosfora u ekstraktu sa HCl određena je optičkom emisionom spektrometrijom sa indukovano-spregnutom plazmom (ICP-OES; Spectro-Genesis EOP II, Spectro Analytical Instruments GmbH, Kleve, Germany).

Relativni gradijent koncentracija Pi frakcija u zemljištu (relativni ΔPi), predstavlja relativnu razliku između koncentracija Pi okolnog i rizosfernog zemljišta u odnosu na koncentraciju Pi okolnog zemljišta i predstavlja stepen osiromašenja Pi u rizosferi. Izračunavan je po sledećoj jednačini:

$$\text{Relativni } \Delta Pi (\%) = ([Pi] \text{ okolnog zemljišta} - [Pi] \text{ rizosfernog zemljišta}) / ([Pi] \text{ okolnog zemljišta}) \times 100,$$

pri čemu je koncentracija Pi izražena u mg kg^{-1} .

3.5.5. Određivanje dostupnog silicijuma u zemljištu

Dostupni Si ekstrahovan je u rastvoru 0,01 M CaCl_2 u odnosu zemljište:rastvor od 1:10, mućkanjem na horizontalnoj mućkalici u trajanju od 16 časova i profiltriran kroz filter papir (Whatman 42). Koncentracije Si su određene tehnikom optičke emisije spektrometrije sa indukovano-spregnutom plazmom (ICP-OES; Spectro-Genesis EOP II, Spectro Analytical Instruments GmbH, Kleve, Germany).

3.5.6. Određivanje dostupnih oblika odabranih makroelemenata u zemljištu

Dostupni oblici K, Ca i Mg ekstrahovani su u rastvoru 1 M amonijum-acetata podešenom na pH 7,0 koristeći odnos zemljište:rastvor od 1:2. Nakon mućkanja u trajanju od 5 minuta na horizontalnoj mućkalici, uzorci su profiltrirani kroz filter papir (Whatman 42). Koncentracija Ca, K i Mg određena je tehnikom optičke emisije spektrometrije sa indukovano-spregnutom plazmom (ICP-OES; Spectro-Genesis EOP II, Spectro Analytical Instruments GmbH, Kleve, Germany).

3.5.7. Određivanje dostupnih oblika odabranih mikroelemenata u zemljištu

Dostupni oblici Cu, Fe, Mn i Zn ekstrahovani su u rastvoru DTPA-TEA, podešenim na pH 7,3 koristeći odnos zemljište:rastvor od 1:2. Nakon mućkanja u trajanju od 1h na horizontalnoj mućkalici, uzorci su profiltrirani kroz filter papir (Whatman 42). Koncentracije Cu, Fe, Mn i Zn su određene tehnikom optičke emisije spektrometrije sa indukovano-spregnutom plazmom (ICP-OES; Spectro-Genesis EOP II, Spectro Analytical Instruments GmbH, Kleve, Germany).

3.6. Statistička i grafička obrada podataka

Efekat eksperimentalnih faktora (dostupnost P i Si) na različite fiziološke adaptivne odgovore vinove loze merene tokom vegetacije analiziran je metodom analize varijanse (ANOVA). To je linearni aditivni statistički model kojim je ispitivano postojanje sistemske promene nekog merenog fiziološkog parametra izazvane eksperimentalnim faktorima. Iako je ANOVA relativno robusna metoda prema manjim odstupanjima od normalnosti i jednake varijanse reziduala, ovi kriterijumi proveravani su grafički (kvantil-kvantil plot za normalnost, odnosno plot reziduala vs. modelom predviđenih vrednosti za homoskedastičnost) pre svake analize. Od rezultata ANOVA u ovom istraživanju su prikazani prilagođeni koeficijent determinacije punog modela (R^2 adj., ukazuje na udeo ukupne varijabilnosti merenog parametra koji se može pripisati eksperimentalnim faktorima, nakon korekcije za broj uključenih faktora), vrednost F statistike (relativna jačina statističkog signala eksperimentalnih faktora), kao i odgovarajuća p vrednost (verovatnoća da je dobijena F vrednost ista ili veća od F vrednosti koja bi se očekivala kada bi faktor(i) bili nepovezani sa merenim fiziološkim parametrom). Pored toga, za utvrđivanje postojanja statistički značajnih razlika među srednjim vrednostima tih parametara u različitim tretmanima (pod tretmanom se podrazumevaju sve pojedinačne kombinacije ispitivanih faktora i njihovih nivoa) korišćen je konzervativni *Tukey HSD* test kojim se kontroliše povećanje greške

tipa 1 – lažni pozitivni pri višestrukim poređenjima, odnosno njegova varijanta (*Tukey-Kramer*) u slučaju blago nebalansiranog eksperimentalnog dizajna (tj. različitog broja uzoraka u tretmanima). Za obe statističke analize (ANOVA i višestruka poređenja srednjih vrednosti tretmana) korišćen je nivo značajnosti $\alpha = 0,05$. Za sve statističke analize korišćen je softver Statistica 6 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA).

Eksperiment 1 postavljen je sa ciljem proučavanja adaptivnog odgovora loze na nedostatak P u zemljištu. Podaci prikupljeni tokom tri uzastopne godine (2019-2021) i analizirani su pomoću dvofaktorske ANOVA sa punim faktorskim dizajnom, pri čemu je eksperimentalna godina uključena kao blok faktor sa fiksnim efektom. Blokiranjem po godini kontrolisan je uticaj međugodišnje varijabilnosti (eventualni uticaj temperature, padavina, ili bilo kog drugog faktora životne sredine čiji uticaj nije razmatran) na obrazac odgovora merenog parametra na eksperimentalne faktore. Model je primenjen u GLM modulu softvera Statistica 6 i uključivao je sledeće elemente: 1) đubrenje P (+/- P); 2) fenofazu rasta (tri uzastopne faze); 3) eksperimentalnu godinu (tri godine) i 4) interakciju fenofaza \times đubrenje P. Značajna statistička interakcija (fenofaza \times P đubrenje) ukazuje da je odgovor biljke na nedostatak P modifikovan fazom razvoja vinove loze. Rezultati trogodišnjeg eksperimenta prikazani su kao modelovane srednje vrednosti (LS - *Least Squares Means*) \pm standardna greška (SE), odnosno kao marginalne srednje vrednosti (prilagođene za međugodišnju varijabilnost) na osnovu izabranog ANOVA modela. Ovakva procena srednje vrednosti metodom najmanjih kvadrata iz trogodišnjeg eksperimenta i primenjenog ANOVA modela (godina kao blok faktor) je pouzdanija u odnosu na pojedinačna godišnja merenja. Osim toga, podaci o uticaju eksperimentalnih faktora na koncentracije ostalih odabranih makro- i mikroelemenata (K, Ca, Mg, S, Fe, Cu, Mn i Zn) u listu vinove loze prikupljeni su tokom dve eksperimentalne godine (2019 i 2020), i analizirani takođe modelom dvofaktorske ANOVA sa punim faktorskim dizajnom, pri čemu je eksperimentalna godina uključena kao blok faktor sa fiksnim efektom. Podaci o relativnoj ekspresiji gena u korenu i listu i koncentracija odabranih makro- i mikroelemenata u rizosfernom i okolnom zemljištu, koji su prikazani za jednu reprezentativnu godinu (2020, koja je po vremenskim uslovima bila najbližnja višegodišnjem proseku), dinamika izlučivanja karboksilata (fumarata, šikimata, citrata i malata) za 2019. godinu, zatim i P u listu za svaku eksperimentalnu godinu ponaosob analizirani su dvofaktorskim ANOVA modelom (model: đubrenje P + fenofaza + đubrenje \times fenofaza).

Eksperiment 2 postavljen je radi poređenja efekata primene Si i P preko zemljišta na odabrane parametre usvajanja P kod čokota gajenih na zemljištu sa niskim sadržajem P. Eksperimentalni dizajn obuhvatao je tri vrste đubrenja (kontrola - bez dodavanja P i Si, đubrenje P, i đubrenje Si), a svi parametri mereni su u tri fenofaze. Korišćen je model jednofaktorske ANOVA, pri čemu je svaki tretman (kombinacija đubrenja i fenofaze) tretiran kao poseban nivo jednog faktora (ukupno 9 nivoa). Za svaki ispitivani parametar prikazane su eksperimentalne srednje vrednosti \pm standardna devijacija (SD).

Eksperiment 3 je izveden radi poređenja efekata primene Si preko zemljišta i folijarno kod čokota gajenih na zemljištu sa niskim sadržajem P. Eksperimentalni dizajn podrazumevao je jedan faktor (đubrenje Si) sa dva nivoa: (primena Si preko zemljišta) i primena Si preko lista (folijarno). Svi parametri mereni su u tri fenofaze. Korišćen je model jednofaktorske ANOVA, pri čemu je svaki tretman (kombinacija načina primene Si i fenofaze) tretiran kao poseban nivo faktora (ukupno 6 nivoa). Za svaki ispitivani parametar prikazane su eksperimentalne srednje vrednosti \pm standardna devijacija (SD).

Dizajn eksperimenata i izabrane metode statističke analize prilagođeni su glavnom fokusu ovog istraživanja, a to je potraga za konzistentnim obrascima kompleksnog fiziološkog odgovora, u cilju razjašnjenja mehanizama adaptacije vinove loze na nedostatak P. U tom kontekstu korišćenje šest individualnih biljaka kao i eventualno postojanje autokorelacije među uzorcima nisu metodološko ograničenje za postavljeni cilj istraživanja.

Za grafički prikaz podataka korišćen je softver Sigma Plot for Windows, version 12.3 (Systat Software Inc., Erkrath, Germany).

4. Rezultati

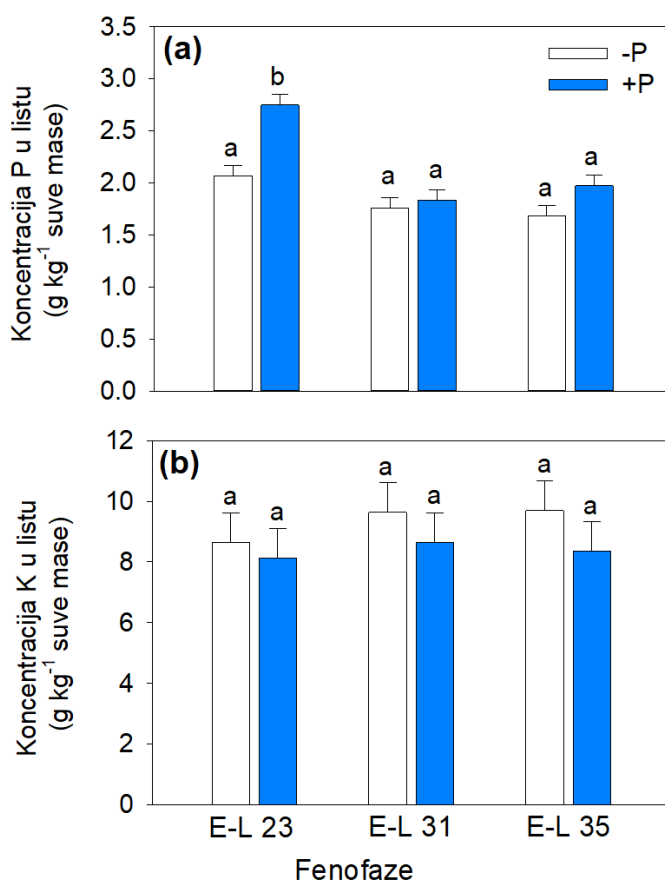
4.1. Sezonska dinamika efikasnosti usvajanja i iskorišćavanja fosfora kod vinove loze

4.1.1. Koncentracije fosfora i kalijuma u listu vinove loze

Koncentracija P u listovima varirala je u zavisnosti od đubrenja P, fenofaze i godine uzorkovanja (Tabela 5). Kod biljaka bez đubrenja P (–P) koncentracija P u listovima kretala se između 1,5 i 2,3 g P kg⁻¹, dok se kod +P biljaka kretala između 1,6 i 3,3 g P kg⁻¹. Koncentracija P u listovima vinove loze bila je najviša tokom fenofaze cvetanja (E-L 23), osim 2019. godine gde je koncentracija P bila ista u fenofazi cvetanja (E-L 23) i fenofazi bobice veličine zrna graška (E-L 31) kod –P biljaka. U cvetanju, koncentracija P u listu kod +P biljaka bila je viša za oko 14%, 21% i 30% u poređenju sa –P biljkama u 2019., 2020. i 2021. godini, ponaosob (Tabela 5). Međutim, tokom fenofaze rasteња bobica do veličine zrna graška (E-L 31), razlike u akumuliranom P u listovima između –P i +P biljaka postale su zanemarljive, sa izuzetkom 2020. godine, kada je koncentracija P kod +P biljaka bila viša za oko 16% u poređenju sa –P biljkama (Tabela 5). Kasnije, sa početkom sazrevanja bobica (fenofaze šarka; E-L 35), razlike između –P i +P biljaka ponovo postaju uočljive; koncentracija P u listu bila je viša za oko 25% i 10% u 2020. i 2021. godini kod +P biljaka u poređenju sa –P, dok razlike u 2019. godini nisu bile statistički značajne (Tabela 5).

Tabela 5. Efekat đubrenja P i fenofaze na koncentraciju P u listu vinove loze, meren tokom tri uzastopne eksperimentalne godine (2019-2021). E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su srednje vrednosti tretmana za 2019, 2020. i 2021. godinu ± standardna devijacija (SD). Različita slova označavaju statistički značajne razlike u okviru svake godine ($\alpha = 0,05$, *Tukey HSD* test). F- i p-vrednosti za statističku interakciju fenofaza × đubrenje P, kao i prilagođeni koeficijent determinacije (R^2) punog dvofaktorskog blok ANOVA modela su sledeći: F(2, 12)=1,40, p=0,28, $R^2=0,65$ za 2019. godinu; F(2, 12)=10,7, p=0,002, $R^2=0,98$ za 2020. godinu; F(2, 12)=172,86, p < 0,001, $R^2=0,99$ za 2021. godinu.

Godina uzorkovanja	Fenofaza	Koncentracija P u listu (g kg ⁻¹ suve mase)	
		–P	+P
2019	E-L 23	1,8±0,016ab	2,1±0,015b
	E-L 31	1,9±0,018ab	1,9±0,013ab
	E-L 35	1,5±0,015a	1,6±0,010a
2020	E-L 23	2,3±0,007c	2,9±0,009d
	E-L 31	1,6±0,003a	1,9±0,006b
	E-L 35	1,8±0,005ab	2,4±0,009c
2021	E-L 23	2,1±0,007c	3,3±0,003d
	E-L 31	1,8±0,008a	1,7±0,0008a
	E-L 35	1,7±0,005a	1,9±0,002b



Slika 10. Efekat đubrenja P i fenofaze na koncentraciju P (a) i K (b) u listu vinove loze tokom tri uzastopne eksperimentalne godine (2019-2021). E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su marginalne srednje vrednosti tretmana (prilagođene za međugodišnje varijacije) \pm standardna greška (SE). Različita slova označavaju statistički značajne razlike ($\alpha=0,05$, *Tukey HSD* test). F- i p-vrednosti za statističku interakciju fenofaza \times đubrenje P i prilagođeni koeficijent determinacije (R^2) punog dvofaktorskog blok ANOVA modela su sledeći: $F(2, 48)=4,5$, $p=0,016$, $R^2 = 0,56$ za P i $F(2, 29) = 0,095$, $p = 0,91$, $R^2 = 0,07$ za K.

Imajući u vidu da je faktor godine značajan izvor varijabilnosti (barem zbog različitih srednjih godišnjih temperatura i količine padavina, videti Tabelu 2), podaci prikupljeni tokom tri uzastopne godine (2019–2021) analizirani su pomoću potpune dvofaktorske ANOVA, pri čemu je godina uključena kao blok-faktor sa fiksnim efektom radi kontrole međugodišnje varijabilnosti i povećanja statističke snage analize. S tim u vezi, rezultati iz *Eksperimenta 1* (osim rezultata koncentracija dostupnih makro- i mikroelemenata u zemljištu, izlučivanja karboksilata u 2019. godini i ekspresije gena) u nastavku doktorske disertacije biće prikazivani kao rezultat primenjenog ANOVA modela: procena srednje vrednosti metodom najmanjih kvadrata (engleski *LS means*), odnosno marginalne srednje vrednosti prilagođene za međugodišnju varijabilnost \pm standardna greška te procene iz trogodišnjeg eksperimenta.

Ovako izračunata, koncentracija P u listu vinove loze, u fenofazi cvetanja (E-L 23) bila je iznad kritične granice ($1,5 \text{ g kg}^{-1} \text{ P}$; prema Goldammer, 2020; Slika 10a). Đubrenje P dovelo je do značajnog povećanja koncentracije P u listovima tokom fenofaze cvetanja (E-L 23). Međutim, u kasnijim fenofazama, u fenofazi porasta bobica do veličine zrna graška (E-L 31) i u fenofazi šarka (E-L 35), nije bilo statistički značajnih razlika u koncentraciji P u listu -P i +P biljaka (Slika 10a). Sa druge strane,

đubrenje P nije imalo značajnog uticaja na koncentraciju K u listovima ni u jednoj od ispitivanih fenofaza (Slika 10b).

4.1.2. Koncentracije odabranih makro- i mikroelemenata u listu vinove loze

Koncentracije odabranih makroelemenata (Ca, Mg i S) u listu vinove loze prikazane su u Tabeli 6. Koncentracija Ca iznosila je između 11 i 21 g kg⁻¹, dok je koncentracija Mg varirala između 2,1 i 3,1 g kg⁻¹. Koncentracija S u listu varirala je između 2,9 i 4,4 g S kg⁻¹, i nije pokazala statistički značajan odgovor ni na jedan eksperimentalni faktor. Globalni (pun) dvofaktorski model ANOVA bio je značajan samo za koncentracije Mg [F(6,29)=4,92, p=0,02], koje su statistički značajno bile uslovljene đubrenjem P, ali ne i fenofazom, Međutim, te promene su bile nedovoljno diskretne da bi ih primenjeni konzervativni *post-hoc* test detektovao.

Tabela 6. Efekat đubrenja P i fenofaze na koncentraciju odabranih makroelemenata u listu vinove loze iz dvogodišnjeg eksperimenta (2019 i 2020). E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su marginalne srednje vrednosti tretmana (prilagođene za međugodišnje varijacije) ± standardna greška (SE). Različita slova označavaju statistički značajne razlike između koncentracija u različitim tretmanima za svaki element ($\alpha=0,05$, *Tukey HSD* test). F- i p-vrednosti za interakciju fenofaza × đubrenje P, kao i prilagođeni koeficijent determinacije (R²) punog dvofaktorskog blok ANOVA modela su sledeći: F(2, 29)=1,3, p=0,29, R²=0,18 za Ca; F(2, 29)=5,5, p=0,01, R²=0,41 za Mg i F(2, 29)=0,3 p=0,74, R²=0,06 za S.

Fenofaza	Tretman	Ca (g kg ⁻¹)	Mg (g kg ⁻¹)	S (g kg ⁻¹)
E-L 23	-P	15 ± 2,4ab	2,6 ± 0,2ab	4,4 ± 0,5a
	+P	11 ± 2,4a	2,1 ± 0,2a	3,6 ± 0,5a
E-L 31	-P	17 ± 2,4ab	2,6 ± 0,2ab	3,1 ± 0,5a
	+P	13 ± 2,4ab	2,1 ± 0,2a	3,1 ± 0,5a
E-L 35	-P	19 ± 2,4ab	2,6 ± 0,2ab	2,9 ± 0,5a
	+P	21 ± 2,4b	3,1 ± 0,2b	3,0 ± 0,5a

Koncentracije odabranih mikroelemenata (Fe, Cu, Mn i Zn) u listu vinove loze prikazane su u Tabeli 7. Iako se raspon variranja koncentracija znatno razlikovao među elementima: Fe (83-118 mg kg⁻¹), Cu (6-9 mg kg⁻¹), Mn (135-194 mg kg⁻¹) i Zn (13-23mg kg⁻¹), samo je kod Fe detektovan statistički značajan efekat oba eksperimentalna faktora (F(6, 29)=18,2, p<0,001 za pun ANOVA model), pri čemu su značajno niže koncentracije detektovane u fenofazi bobice veličine zrna graška (E-L 31) kod +P tretmana. Kod ostalih mikroelemenata samo je faktor fenofaza imao blag ali statistički značajan uticaj na promenu koncentracija u listu. Konzervativnim *post-hoc* testom te razlike uslovljene fenofazom detektovane su samo za Zn, koji je konzistentno bio povećan u fenofazi cvetanja (E-L 23).

Tabela 7. Efekat đubrenja P i fenofaze na koncentraciju odabranih mikroelemenata u listu vinove loze iz dvogodišnjeg eksperimenta (2019 i 2020). E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su marginalne srednje vrednosti tretmana (prilagođene za međugodišnje varijacije) \pm standardna greška (SE). Različita slova označavaju statistički značajne razlike između koncentracija u različitim tretmanima za svaki element ($\alpha=0,05$, *Tukey HSD* test). F- i p-vrednosti za interakciju fenofaza \times đubrenje P, kao i prilagođeni koeficijent determinacije (R^2) punog dvofaktorskog blok ANOVA modela su sledeći: F(2, 29)=1,89, p=0,41, $R^2=0,45$ za Fe; F(2, 29)=0,54, p=0,59, $R^2=0,65$ za Cu; F(2, 29)=0,55, p=0,58, $R^2=0,73$ za Mn i F(2, 29)=2,03, p=0,15, $R^2=0,27$ za Zn.

Fenofaza	Tretman	Fe	Cu	Mn	Zn
		(mg kg ⁻¹)	(mg kg ⁻¹)	(mg kg ⁻¹)	(mg kg ⁻¹)
E-L 23	-P	118 \pm 4,0b	7,8 \pm 1,2a	165 \pm 11ab	23,1 \pm 2,1b
	+P	110 \pm 4,0b	7,1 \pm 1,2a	156 \pm 11ab	20,5 \pm 2,1b
E-L 31	-P	102 \pm 4,0b	6,1 \pm 1,2a	135 \pm 11a	13,1 \pm 2,1a
	+P	83 \pm 4,0a	6,7 \pm 1,2a	161 \pm 11ab	13,6 \pm 2,1a
E-L 35	-P	103 \pm 4,0b	8,1 \pm 1,2a	161 \pm 11ab	14,6 \pm 2,1a
	+P	105 \pm 4,0b	9,2 \pm 1,2a	194 \pm 11b	13,8 \pm 2,1a

4.1.3. pH vrednost zemljišta

Vrednost pH rizosfernog zemljišta kretala se između 6,30 i 6,51 (Tabela 8). Promene pH između okolnog i rizosfernog zemljišta (Δ pH) bile su veće kod +P tretmana, i smanjivale su se od fenofaze cvetanja (E-L 23) ka fenofazi šarka (E-L 35), odnosno početku sazrevanja grožđa. Na promene pH u rizosferi, na osnovu trogodišnjih merenja i dvofaktorskog blok modela ANOVA, jače je uticalo đubrenje P (F(1,46)=18,4, p<0,001) nego fenofaza (F(2,46)=7,3, p=0,02).

Tabela 8. Efekat đubrenja P i fenofaze na pH rizosfernog zemljišta i promenu pH između okolnog i rizosfernog zemljišta (Δ pH) tokom tri uzastopne eksperimentalne godine (2019-2021). E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su marginalne srednje vrednosti tretmana (prilagođene za međugodišnje varijacije) \pm standardna greška (SE). Različita slova označavaju statistički značajne razlike ($\alpha=0,05$, *Tukey HSD* test). F- i p-vrednost za interakciju fenofaza \times đubrenje P, kao i prilagođeni koeficijent determinacije (R^2) punog dvofaktorskog blok ANOVA modela je: F(2, 46)=0,74, p=0,48, $R^2=0,51$.

Fenofaza	pH rizosfernog zemljišta		Δ pH	
	-P	+P	-P	+P
Cvetanje (E-L 23)	6,30 \pm 0,03a	6,44 \pm 0,03b	+0,02	-0,33
Bobica veličine zrna graška (E-L 31)	6,44 \pm 0,03a	6,51 \pm 0,03a	+0,02	-0,18
Šarak (E-L 35)	6,40 \pm 0,03a	6,49 \pm 0,03ab	+0,04	-0,11

4.1.4. Frakcije neorganskog fosfora u rizosfernom zemljištu

Kao što je i očekivano, frakcije neorganskog P (Pi) u rizosfernom zemljištu vinove loze bile su značajno više kod tretmana sa đubrenjem P (+P) u svim ispitivanim fenofazama u poređenju sa zemljištem iz -P tretmana (Tabela 9). Najizraženije razlike između -P i +P tretmana uočene su u lako dostupnoj Pi frakciji ekstrahovanoj H₂O, čija koncentracija je bila 13 do 19 puta viša kod +P tretmana u odnosu na -P tretman. Međutim, apsolutne koncentracije u ovoj frakciji su bile veoma niske (0,02-0,03 mg kg⁻¹ za -P i 0,39-0,57 mg kg⁻¹ za +P). U uslovima nedostatka P (-P tretman) nisu uočene značajne razlike u Pi frakcijama između različitih fenofaza (Tabela 9).

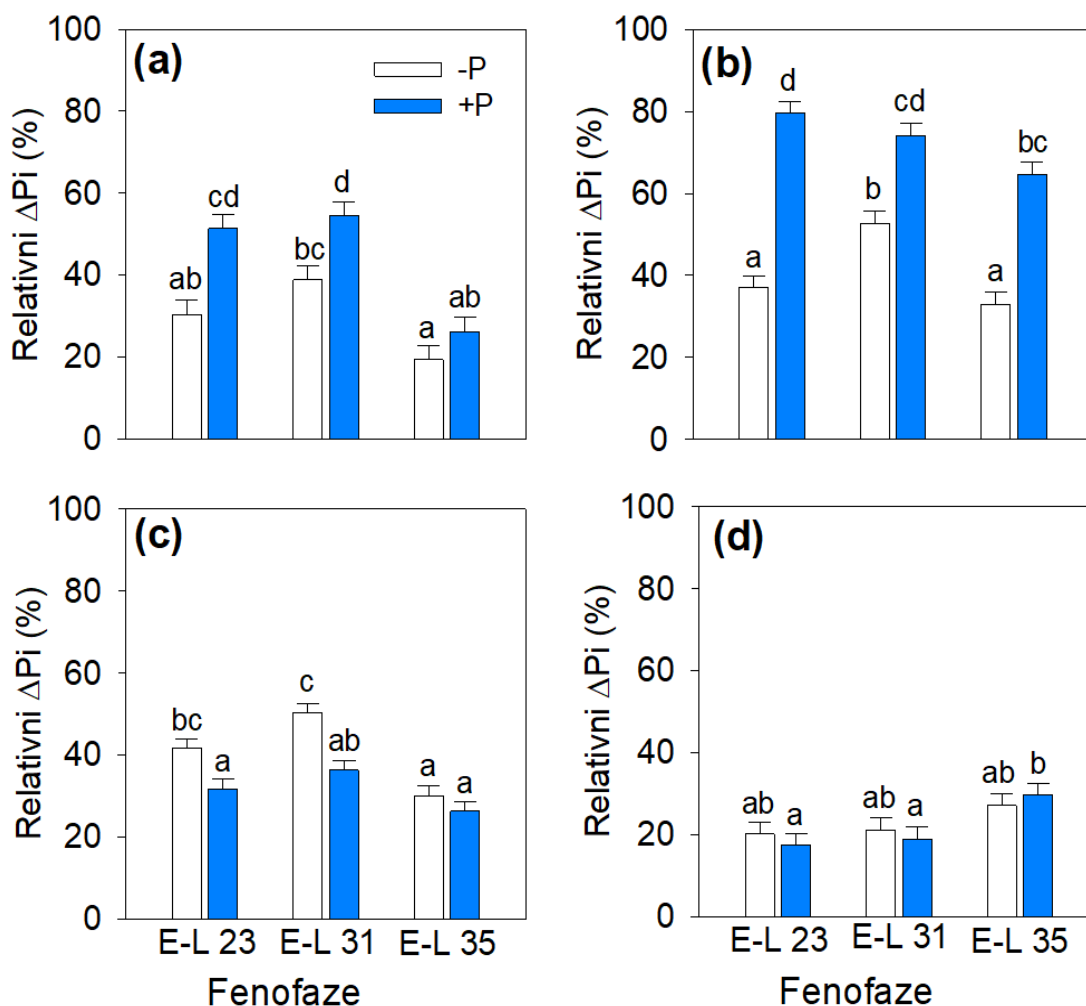
Tabela 9. Efekat đubrenja P i fenofaze na koncentracije Pi u različitim frakcijama u rizosfernom zemljištu vinove loze, tokom tri uzastopne eksperimentalne godine (2019-2021). E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su marginalne srednje vrednosti tretmana (prilagođene za međugodišnje varijacije) ± standardna greška (SE). Različita slova označavaju statistički značajne razlike ($\alpha=0,05$, *Tukey HSD* test). F- i p-vrednosti za statističku interakciju fenofaza × đubrenje P, kao i prilagođeni koeficijent determinacije (R²) punog dvofaktorskog blok ANOVA modela su sledeći: F(2, 46)=10,4, p=0,00019, R²=0,92 za H₂O-Pi; F(2, 46)=10,6, p=0,00016, R²=0,78 za NaHCO₃-Pi; F(2, 46)=1,5, p=0,23, R²=0,96 za NaOH-Pi i F(2, 46)=0,74, p=0,48, R²=0,67 HCl-Pi.

Frakcije Pi	Fenofaza	Koncentracija Pi (mg kg ⁻¹)	
		- P	+P
H ₂ O-Pi	E-L 23	0,03 ± 0,02a	0,41 ± 0,02b
	E-L 31	0,02 ± 0,02a	0,39 ± 0,02b
	E-L 35	0,03 ± 0,02a	0,57 ± 0,02c
NaHCO ₃ -Pi	E-L 23	3,57 ± 0,58a	6,32 ± 0,57b
	E-L 31	2,63 ± 0,58a	8,56 ± 0,57b
	E-L 35	3,26 ± 0,58a	11,22 ± 0,57c
NaOH-Pi	E-L 23	23,6 ± 2,1a	81,6 ± 2,1c
	E-L 31	19,7 ± 2,1a	76,1 ± 2,1b
	E-L 35	26,4 ± 2,1a	89,6 ± 2,1c
HCl-Pi	E-L 23	26,6 ± 1,7a	41,9 ± 1,7b
	E-L 31	27,6 ± 1,7a	42,7 ± 1,7b
	E-L 35	25,8 ± 1,7a	37,3 ± 1,7b

4.1.5. Relativne promene frakcija neorganskog fosfora između okolnog i rizosfernog zemljišta

Relativni gradijent koncentracije Pi između okolnog i rizosfernog zemljišta (relativni Δ Pi) odražava osiromašenje Pi iz rizosfere, odnosno relativno smanjenje njegovih koncentracija usled usvajanja korenom (Slika 11). Iako se u uslovima nedostatka P koncentracija obe labilne (biljkama lako dostupne) Pi frakcije (ekstrahovane vodom i NaHCO₃) u rizosfernom zemljištu nije menjala tokom vegetacije (Tabela 9), relativni gradijent njihovih koncentracija pokazao je jasnu sezonsku dinamiku: značajno povećanje Δ Pi (odnosno intenzivnije uklanjanje P iz rizosfere) od fenofaze cvetanja (E-L 23) ka fenofazi porasta bobica do veličine zrna graška (E-L 31), i zatim jasno smanjenje u fenofazi šarka

(E-L 35) (Slika 11a, b). Pri tome, u svakoj od ispitivanih fenofaza relativno osiromašenje Pi iz rizosfere (ΔPi) u obe labilne Pi frakcije bilo je konzistentno veće kod +P tretmana u poređenju sa -P tretmanom (Slika 11a, b). Zanimljivo je da je teško dostupna Pi frakcija (ekstrahovana sa NaOH), bila izraženije trošena u -P tretmanu u poređenju sa +P tretmanom, iako je kod oba tretmana uočen sličan sezonski trend (Slika 11c), koji se poklapa sa dinamikom izlučivanja karboksilata iz korena (videti Sliku 12). Suprotno tome, relativni ΔPi za teško dostupnu Pi frakciju (ekstrahovanu sa HCl) bio je konstantno niži, što ukazuje na ograničenu upotrebu ove frakcije od strane biljke, a razlike u relativnom ΔPi ove frakcije između fenofaza nisu bile statistički značajne (Slika 11d).



Slika 11. Efekat đubrenja P i fenofaze na relativni gradijent Pi frakcija između okolnog i rizosfernog zemljišta (relativni ΔPi) tokom tri uzastopne eksperimentalne godine (2019-2021). H₂O-ekstrahovani Pi (a); NaHCO₃-ekstrahovani Pi (b); NaOH ekstrahovani Pi (c); HCl-ekstrahovani Pi (d). E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su marginalne srednje vrednosti tretmana (prilagođene za međugodišnje varijacije) \pm standardna greška (SE). Različita slova označavaju statistički značajne razlike ($\alpha = 0,05$, Tukey HSD test). F- i p-vrednosti za statističku interakciju fenofaza \times đubrenje P, kao i prilagođeni koeficijent determinacije (R^2) punog dvofaktorskog blok ANOVA modela su sledeći: $F(2, 46) = 2,1$, $p = 0,13$, $R^2 = 0,61$ za H₂O-Pi; $F(2, 46) = 6,49$, $p = 0,0033$, $R^2 = 0,80$ za NaHCO₃-Pi; $F(2, 46) = 2,5$, $p = 0,092$, $R^2 = 0,59$ za NaOH-Pi i $F(2, 46) = 0,51$, $p = 0,61$, $R^2 = 0,42$ za HCl-Pi.

4.1.6. Koncentracije dostupnih oblika odabranih makro- i mikroelemenata u zemljištu

Promene u koncentracijama dostupnih oblika K, Ca i Mg u okolnom zemljištu u zavisnosti od đubrenja P i fenofaze prikazane su u Tabeli 10. Dvofaktorska blok ANOVA nije pokazala značajan efekat ni fenofaze a ni đubrenja na dostupnost K, što je i očekivano s obzirom da je K dodat i u –P tretmanu. Eksperimentalni faktori jesu imali slab ali nominalno značajan efekat na koncentracije Ca i Mg, ali dosledni obrazac njihovih promena nije jasno detektovan.

Tabela 10. Efekat đubrenja P i fenofaze na koncentraciju dostupnih oblika odabranih makroelemenata u okolnom zemljištu za reprezentativnu 2020. godinu. E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su srednje vrednosti tretmana \pm standardna devijacija (SD). Različita slova označavaju statistički značajne razlike u koncentracijama svakog elementa ($\alpha=0,05$, *Tukey HSD* test). F- i p-vrednosti za statističku interakciju fenofaza \times đubrenje P, kao i prilagođeni koeficijent determinacije (R^2) punog dvofaktorskog ANOVA modela su sledeći: F(5, 12)=1,3, p=0,32, $R^2=0,07$ za K; F(5, 12)=3,2, p=0,42, $R^2=0,19$ za Ca i F(5, 12)=4,5, p=0,21, $R^2=0,15$ za Mg.

Fenofaza	Tretman	K (mg kg ⁻¹)	Ca (mg kg ⁻¹)	Mg (mg kg ⁻¹)
E-L 23	–P	342 \pm 19a	3420 \pm 139a	362 \pm 15a
	+P	391 \pm 13a	4476 \pm 142b	443 \pm 11b
E-L 31	–P	343 \pm 11a	3348 \pm 215a	383 \pm 16a
	+P	358 \pm 22a	3765 \pm 249ab	394 \pm 18ab
E-L 35	–P	352 \pm 11a	3716 \pm 116a	402 \pm 12ab
	+P	333 \pm 16a	3373 \pm 391a	419 \pm 22b

Tabela 11. Efekat đubrenja P i fenofaze na koncentraciju dostupnih oblika odabranih makroelemenata u rizosfernom zemljištu za reprezentativnu 2020. godinu. E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su srednje vrednosti tretmana \pm standardna devijacija (SD). Različita slova označavaju statistički značajne razlike u koncentracijama svakog elementa ($\alpha=0,05$, *Tukey HSD* test). F- i p-vrednosti za statističku interakciju fenofaza \times đubrenje P, kao i prilagođeni koeficijent determinacije (R^2) punog dvofaktorskog ANOVA modela su sledeći: F(5, 12)=11,1, p=0,023, $R^2=0,37$ za K, F(5, 12)=15,7, p=0,04, $R^2=0,56$ za Ca i F(5, 12)=12,0, p=0,039, $R^2=0,47$ za Mg.

Fenofaza	Tretman	K (mg kg ⁻¹)	Ca (mg kg ⁻¹)	Mg (mg kg ⁻¹)
E-L 23	–P	162 \pm 4,1b	3097 \pm 92b	328 \pm 7,1b
	+P	159 \pm 7,6b	2329 \pm 76a	295 \pm 10,7a
E-L 31	–P	152 \pm 5,1b	3294 \pm 81b	346 \pm 3,6bc
	+P	142 \pm 6,1a	3125 \pm 185b	314 \pm 7,1b
E-L 35	–P	173 \pm 5,8c	3198 \pm 120b	334 \pm 4,6bc
	+P	160 \pm 2,7b	3055 \pm 85b	369 \pm 10,4c

Promene u koncentracijama dostupnih oblika K, Ca i Mg u rizosfernom zemljištu u zavisnosti od đubrenja P i fenofaze prikazane su u Tabeli 11. Iako su oba eksperimentalna faktora imala statistički značajan ali slab efekat, dostupnost pomenutih elemenata u rizosferi je znatno snažnije bila modifikovana dostupnošću P u zemljištu nego fenofazom razvoja vinove loze. Koncentracije ovih hranljivih elemenata su bile niže u rizosfernom u odnosu na okolno zemljište, kao što je pokazano i za frakcije P (Slika 11).

Tabela 12. Efekat đubrenja P i fenofaze na dostupne koncentracije odabranih mikroelemenata u okolnom zemljištu za reprezentativnu 2020. godinu. E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su srednje vrednosti tretmana ± standardna devijacija (SD). Različita slova označavaju statistički značajne razlike u koncentracijama svakog elementa ($\alpha=0,05$, *Tukey HSD* test). F- i p-vrednosti za statističku interakciju fenofaza × đubrenje P, kao i prilagođeni koeficijent determinacije (R^2) punog dvofaktorskog ANOVA modela su sledeći: F(5, 12)=15,0, p=0,04, $R^2=0,35$ za Fe; F(5, 12)= 7,1, p=0,42, $R^2=0,15$ za Cu; F(5, 12)= 2,5, p=0,21, $R^2=0,19$ za Mn i F(5, 12)=14,7, p=0,04; $R^2=0,33$ za Zn.

Fenofaza	Tretman	Fe (mg kg ⁻¹)	Cu (mg kg ⁻¹)	Mn (mg kg ⁻¹)	Zn (mg kg ⁻¹)
E-L 23	-P	45±2,7a	4,3±0,24b	64±2,2a	1,3±0,12b
	+P	43±2,2a	4,2±0,13b	75±2,2b	0,79±0,12a
E-L 31	-P	49±2,4b	4,6±0,33bc	76±4,1b	0,85±0,20a
	+P	42±3,0a	3,5±0,41a	63±2,4a	1,4±0,22b
E-L 35	-P	44±6,4a	4,4±0,31b	74±4,4b	1,2±0,16b
	+P	51±3,1b	5,1±0,22c	68±2,7ab	1,6±0,28b

Tabela 13. Efekat đubrenja P i fenofaze na koncentraciju dostupnih oblika odabranih mikroelemenata u rizosfernom zemljištu za reprezentativnu 2020. godinu. E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su srednje vrednosti tretmana ± standardna devijacija (SD). Različita slova označavaju statistički značajne razlike u koncentracijama svakog elementa ($\alpha=0,05$, *Tukey HSD* test). F- i p-vrednosti za statističku interakciju fenofaza × đubrenje P, kao i prilagođeni koeficijent determinacije (R^2) punog dvofaktorskog ANOVA modela su sledeći: F(5, 12)=59,8, p=0,002, $R^2=0,55$ za Fe; F(5, 12)=57,3, p=<0,001, $R^2=0,76$ za Cu; F(5, 12)=63, p=0,003, $R^2=0,44$ za Mn i F(5, 12)=45,0, p=0,002, $R^2=0,67$ za Zn.

Fenofaza	Tretman	Fe (mg kg ⁻¹)	Cu (mg kg ⁻¹)	Mn (mg kg ⁻¹)	Zn (mg kg ⁻¹)
E-L 23	-P	35±1,1b	3,4±0,15c	62±0,81b	0,55±0,03a
	+P	29±1,2a	2,7±0,11a	61±0,61b	0,50±0,03a
E-L 31	-P	38±0,16c	2,9±0,11b	66±2,1c	1,0±0,07c
	+P	30±0,31a	2,6±0,31ab	55±0,71a	0,63±0,06ab
E-L 35	-P	38±0,35c	3,2±0,12c	61±1,3b	0,90±0,04c
	+P	30±1,1a	2,9±0,17b	53±2,5a	0,76±0,03b

Promene u koncentracijama dostupnih oblika Fe, Cu, Mn i Zn u okolnom zemljištu u zavisnosti od đubrenja P i fenofaze prikazane su u Tabeli 12. Iako je i *post-hoc* test locirao neke razlike među

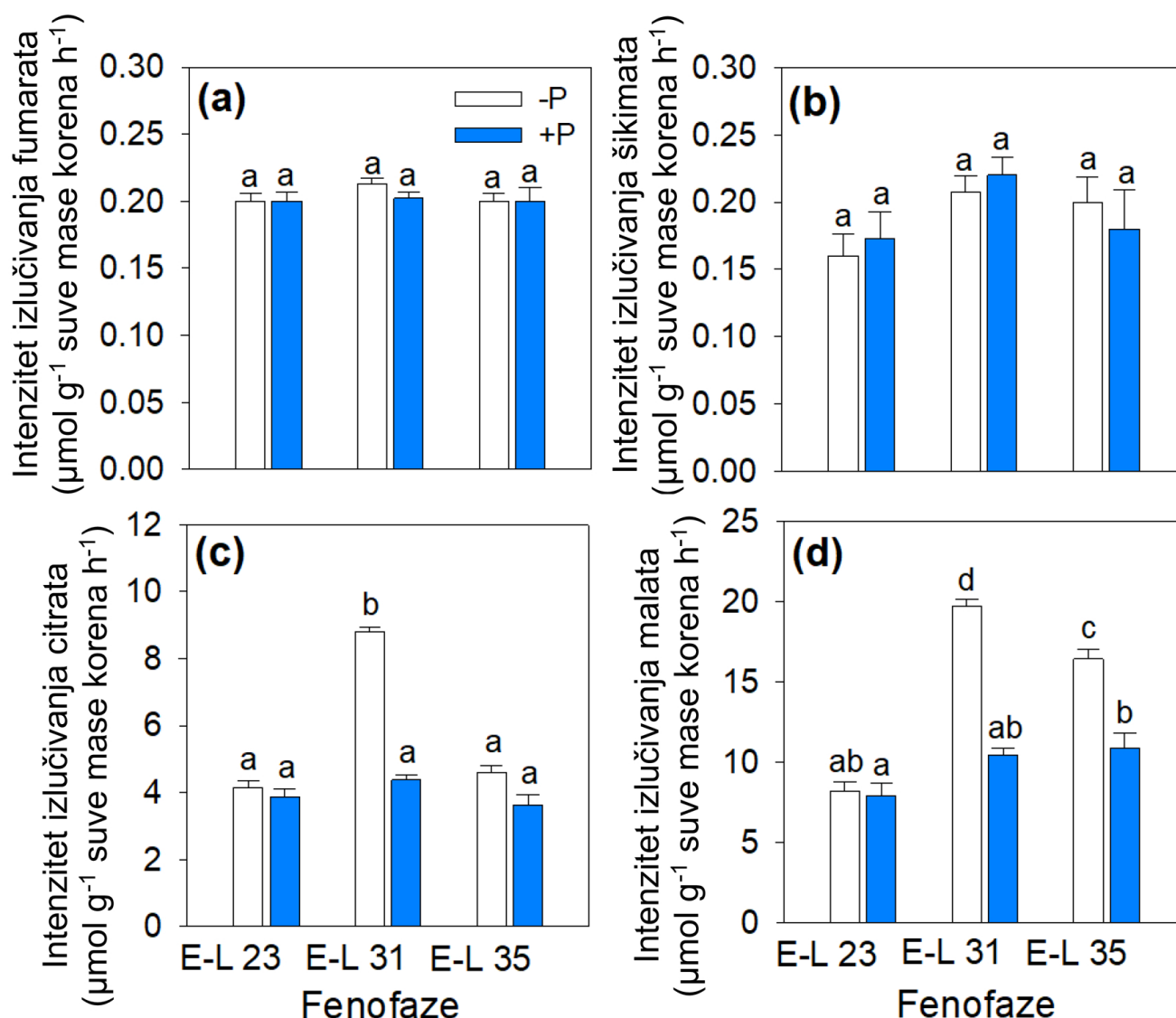
tretmanima kao statistički značajne, nije detektovan jasan sistematski trend promene koncentracija ovih mikroelemenata u zavisnosti od primene P.

Promena srednjih vrednosti koncentracije dostupnih oblika ova četiri mikroelementa u rizosfernom zemljištu prikazana je u Tabeli 13. Interesantno je primetiti da su (kao i kod ispitivanih makroelemenata) koncentracije u rizosfernom zemljištu bile najčešće niže nego u okolnom zemljištu (Tabela 12). Osim toga, varijabilnost ovih koncentracija je bila uočljivo niža u rizosfernom u odnosu na okolno zemljište. U ovom odeljku zemljišta, dalje, koncentracije mikroelemenata su bile znatno snažnije modifikovane đubrenjem P (sa tendencijom da budu više u uslovima nedostatka Pi), dok se jasan efekat fenofaze nije mogao konzistentno detektovati. Izuzetak je Zn, gde su najniže koncentracije primećene u fenofazi cvetanja (E-L 23), kada je akumulacija ovog elementa u listu bila najveća (videti Tabelu 7).

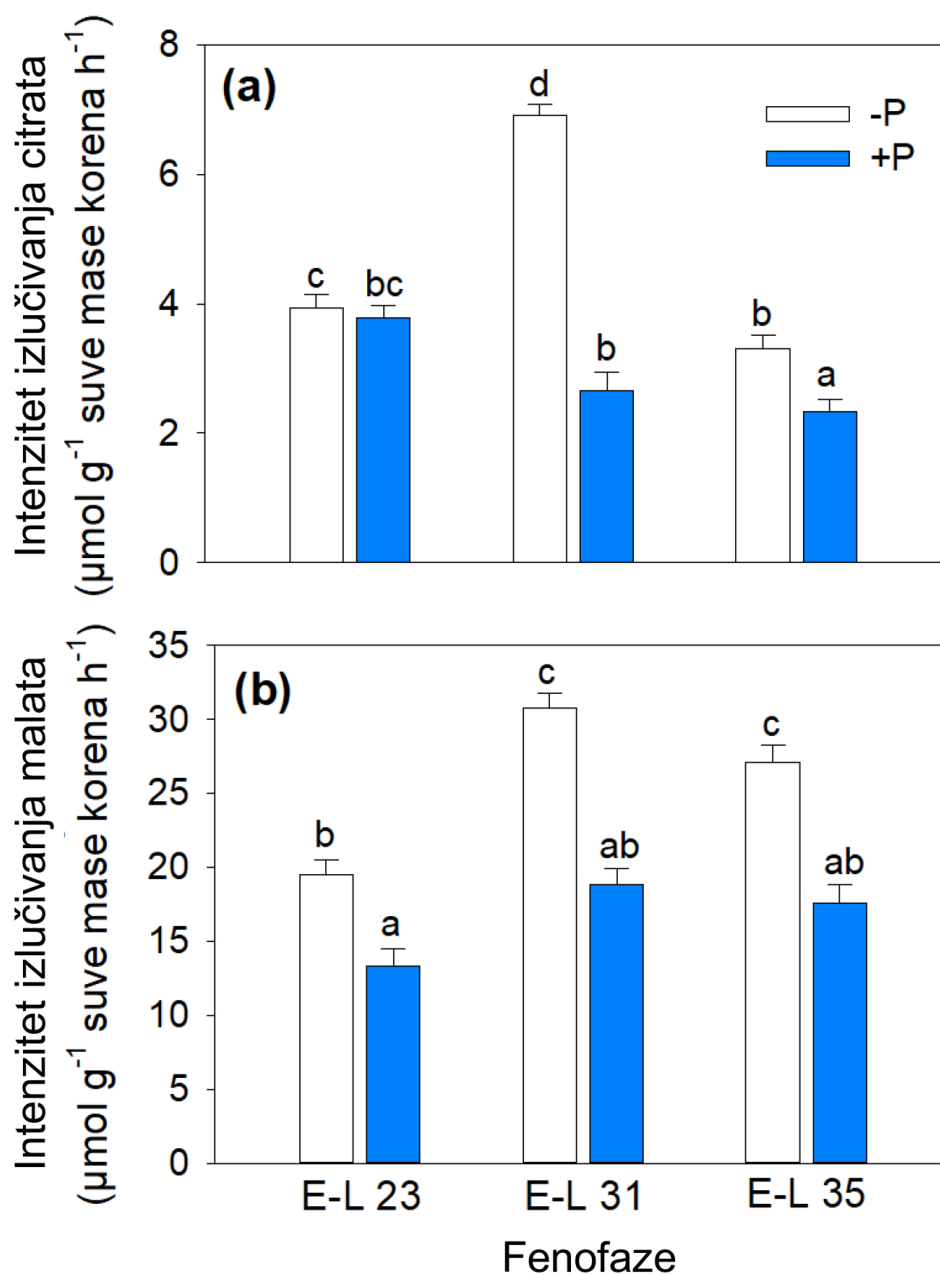
4.1.7. Sezonska dinamika izlučivanja karboksilata iz korena vinove loze

U prvoj eksperimentalnoj godini (2019), ispitivan je efekat đubrenja P i fenofaze na intenzitet izlučivanja (efluks) karboksilata iz korena vinove loze, pri čemu je u toj vegetacionoj sezoni okarakterisan sastav karboksilata u eksudatima korena. Analize su pokazale da su u svim fenofazama bili konzistentno prisutni fumarat, šikimat, citrat i malat (Slika 12), dok oksalat nije detektovan ni u jednoj ispitivanoj fenofazi. Efluks fumarata ($0,20-0,21 \mu\text{mol g}^{-1}$ suve mase korena h^{-1}) i šikimata ($0,16-0,22 \mu\text{mol g}^{-1}$ suve mase korena h^{-1}) nije pokazao statistički značajne promene ni u odnosu na fenofazu, ni u odnosu na P tretmane (Slika 12a, b). Efluks citrata u 2019. godini ($3,6-8,8 \mu\text{mol g}^{-1}$ suve mase korena h^{-1}) nije se statistički značajno menjao u zavisnosti od primene P đubrenja u fenofazama cvetanja (E-L 23) i šarka (E-L 35), dok su -P biljke u fenofazi bobice veličine zrna graška (E-L 31) izlučile u rizosferu skoro duplo više citrata ($8,8 \mu\text{mol g}^{-1}$ suve mase korena h^{-1}) u odnosu na +P biljke. Efluks malata je bio najniži u fenofazi cvetanja (E-L 23; $8,2$ i $7,9 \mu\text{mol g}^{-1}$ suve mase korena h^{-1} kod -P i +P biljaka, ponaosob); u narednim fenofazama, pak, i apsolutne vrednosti, kao i razlike između -P i +P biljaka bile su znatno veće (Slika 12d).

Modelovane srednje vrednosti efluksa malata i citrata merenih tokom tri godine (dvofaktorska ANOVA sa eksperimentalnom godinom kao blok-faktorom, Slika 13) pokazale su sličan sezonski trend kao i u prvoj eksperimentalnoj godini (Slika 12c, d). Efluks malata bio je znatno viši (približno pet puta) u odnosu na efluks citrata u svim fenofazama u oba P tretmana (Slika 13). Osim toga, izlučivanje oba karboksilata bilo je konzistentno stimulirano nedostatkom P. Kod -P biljaka, intenzitet izlučivanja oba karboksilata značajno se povećavao od fenofaze cvetanja (E-L 23) do fenofaze bobica veličine zrna graška (E-L 31), nakon čega je u fenofazi šarka (E-L 35) zabeleženo približno dvostruko smanjenje efluksa citrata u odnosu na prethodnu fenofazu (Slika 13a), dok je efluks malata ostao visok (Slika 13b). Biljke đubrene fosforom (+P), sa druge strane, nisu pokazale konzistentan obrazac promene eksudacije ova dva karboksilata tokom ispitivanih fenofaza.



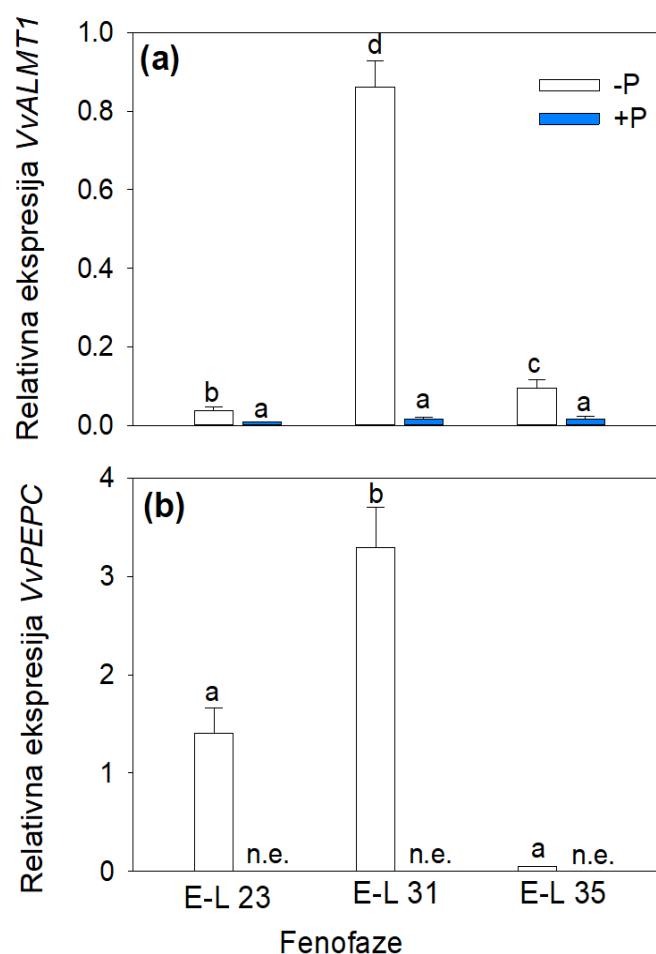
Slika 12. Efekat primene fosfora (P) i fenofaze na intenzitet izlučivanja fumarata (a), šikimata (b), citrata (c) i malata (d) iz korena vinove loze u 2019. godini. E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su srednje vrednosti tretmana \pm standardna devijacija (SD). Različita slova označavaju statistički značajne razlike ($\alpha=0,05$, *Tukey HSD* test). F- i p-vrednosti za statističku interakciju fenofaza \times đubrenje P, kao i prilagođeni koeficijent determinacije (R^2) punog dvofaktorskog ANOVA modela su sledeći: $F(2, 31)=0,60$, $p=0,56$, $R^2=0,02$ za fumarat; $F(2, 31)=0,38$, $p=0,68$, $R^2=0,13$ za šikimat; $F(2, 31)=75$, $p<0,001$ $R^2=0,95$ za citrat i $F(2, 30)=33$, $p<0,001$ $R^2=0,93$ za malat.



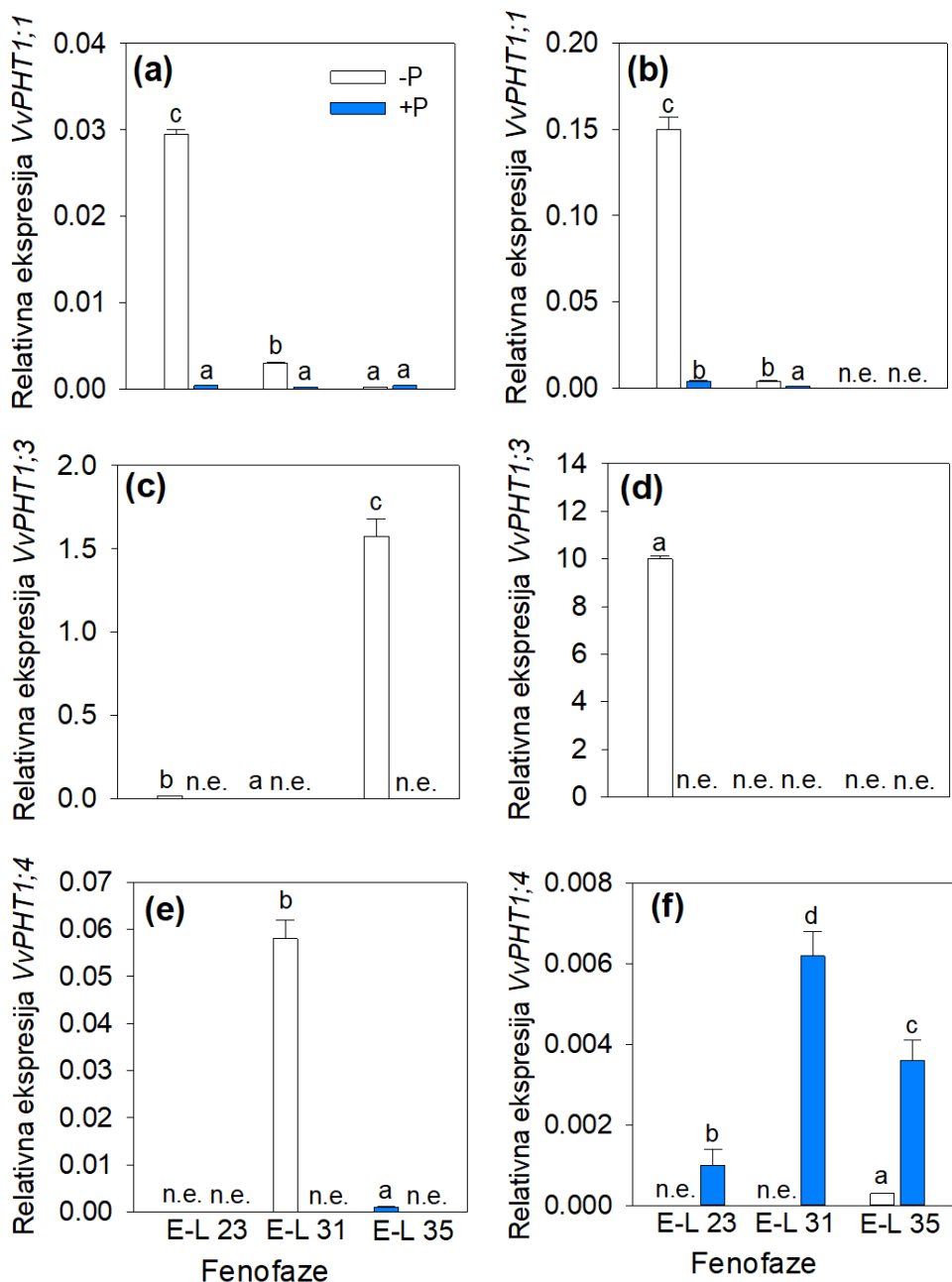
Slika 13. Efekat primene fosfora (P) i fenofaze na intenzitet izlučivanja citrata (**a**) i malata (**b**) iz korena vinove loze tokom tri uzastopne eksperimentalne godine (2019-2021). E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su marginalne srednje vrednosti tretmana (prilagođene za međugodišnje varijacije) ± standardna greška (SE). Različita slova označavaju statistički značajne razlike ($\alpha = 0,05$, *Tukey-Kramer* test). F- i p-vrednosti za statističku interakciju fenofaza × dubrenje P i prilagođeni koeficijent determinacije (R^2) punog dvofaktorskog blok ANOVA modela su sledeći: a) $F(2, 87) = 66,7$, $p < 0,0001$, $R^2 = 0,88$ b) za citrat i $F(2, 71) = 4,1$, $p = 0,021$, $R^2 = 0,83$ za malat.

4.1.8. Ekspresija *VvALMT1* i *VvPEPC* u korenu vinove loze

Ekspresija *VvALMT1* u korenu vinove loze bila je podstaknuta nedostatkom P u svim fenofazama (Slika 14a). Nivo transkripta *VvALMT1* bio je približno 4-, 48- i 6 puta viši kod –P biljaka u poređenju +P biljkama u fenofazama cvetanja (E-L 23), bobice veličine zrna graška (E-L 31) i šarka (E-L 35), ponaosob. Sezonski trend relativne ekspresije *VvALMT1* pratio je obrazac izlučivanja malata iz korena (Slika 13b), sa najvišim relativnim nivoom ekspresije u fenofazi bobica veličine zrna graška (E-L 31) (Slika 14a). Nedostatak P indukovao je povećanu ekspresiju *VvPEPC* gena u fenofazama cvetanja (E-L 23) i bobica veličine zrna graška (E-L 31), dok kod +P tretmana ovaj gen nije bio esprimiran u svim ispitivanim fenofazama (Slika 14b). Relativni nivo ekspresije *VvPEPC* povećavao se od fenofaze cvetanja (E-L 23) ka fenofazi bobica veličine zrna graška (E-L 31) (Slika 14b), prateći trend izlučivanja karboksilata iz korena (Slika 13).



Slika 14. Efekat đubrenja P i fenofaze na relativni nivo ekspresije gena *VvALMT1* (a) i *VvPEPC* (b) u korenu vinove loze za reprezentativnu 2020. godinu; – nije ekspimirano. E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su srednje vrednosti tretmana \pm standardna devijacija (SD). Različita slova označavaju statistički značajne razlike ($\alpha=0,05$, Tukey HSD test). F- i p-vrednosti za statističku interakciju fenofaza \times đubrenje P, kao i prilagođeni koeficijent determinacije (R^2) punog dvofaktorskog ANOVA modela su sledeći: $F(2, 12) = 145,2$, $p < 0,0001$, $R^2 = 0,91$ za *VvALMT1* i $F(2, 12) = 121,1$, $p < 0,00001$, $R^2 = 0,96$ za *VvPEPC*.



Slika 15. Efekat đubrenja P i fenofaze na relativni nivo ekspresije gena PHT1 u korenu (a, c, e) i listu (b, d, f) vinove loze. *VvPHT1;1* (a, b); *VvPHT1;3a* (c, d); *VvPHT1;4a* (e, f) za reprezentativnu 2020. godinu; n.e. – nije eksprimirano. E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su srednje vrednosti tretmana \pm standardna devijacija (SD). Različita slova označavaju statistički značajne razlike ($\alpha=0,05$, Tukey HSD test). F- i p-vrednosti za statističku interakciju fenofaza \times đubrenje P, kao i prilagođeni koeficijent determinacije (R^2) punog dvofaktorskog ANOVA modela su sledeći: $F(2, 12) = 145,2$, $p < 0,00001$, $R^2 = 0,91$ za *VvPHT1;1* u korenu; $F(2, 12) = 117,2$, $p < 0,00001$, $R^2 = 0,95$ *VvPHT1;1* u listu; $F(2,12) = 132,4$, $p < 0,00001$, $R^2 = 0,93$ za *VvPHT1;3a* u korenu; $F(2, 12) = 98,3$, $p < 0,001$, $R^2 = 0,89$ za *VvPHT1;3a* u listu; $F(2, 12) = 121,1$, $p < 0,00001$, $R^2 = 0,98$ za *VvPHT1;4a* u korenu; $F(2, 12) = 152,1$, $p < 0,00001$, $R^2 = 0,94$ za *VvPHT1;4a* u listu.

4.1.9. Ekspresija *VvPHT1* u korenu i listu vinove loze

Nedostatak P povećao je nivo relativne ekspresije *PHT1* gena koji kodiraju fosfatne transportere (*PHT1*) u korenu vinove loze, uz jasne sezonske razlike (Slika 15a, c, e). Kod –P biljaka, *VvPHT1;1* je bio eksprimiran u sve tri fenofaze, sa najvišim nivoom ekspresije zabeleženim u fenofazi cvetanja (E-L 23) (Slika 15a). Nedostatak P je takođe povećao relativni nivo ekspresije *VvPHT1;3a* u korenu vinove loze u odnosu na +P biljke (Slika 15c). Kod –P biljaka, *VvPHT1;3a* je, poput *VvPHT1;1*, bio eksprimiran u sve tri fenofaze. Najveći nivo ekspresije zabeležen je u fenofazi šarka (E-L 35), dok je najniži bio u fenofazi bobice veličine zrna graška (E-L 31). Gen *VvPHT1;4a* nije bio eksprimiran u fenofazi cvetanja (E-L 23), ali je dostigao maksimum ekspresije u fenofazi bobica veličine zrna graška (E-L 31) (Slika 15e). Đubrenje P snizilo je nivo transkripta *VvPHT1;1* u svim fenofazama (Slika 15a), dok je ekspresija *VvPHT1;3a* izostala u svim ispitivanim fenofazama i *VvPHT1;4a* u fenofazi cvetanja (E-L 23) i fenofazi bobice veličine zrna graška (E-L 31) u korenu biljaka sa primenom fosfora izostala (Slika 15c, e).

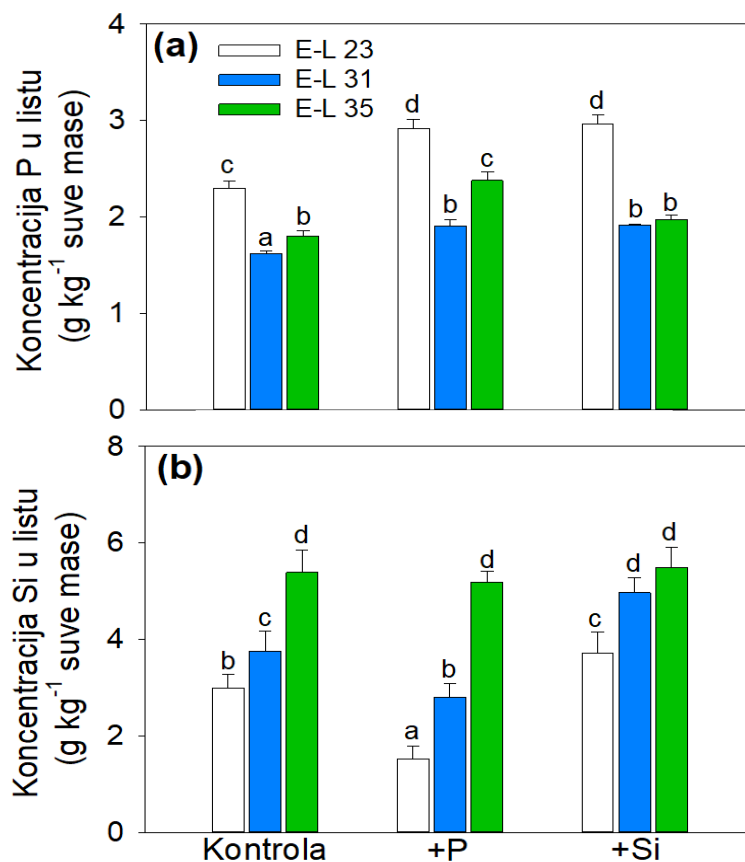
U listovima, relativna ekspresija *VvPHT1;1* je pokazala sličan obrazac ekspresije kao u korenu; najviši nivo zabeležen je u fenofazi cvetanja (E-L 23) kod –P biljaka, dok je đubrenje P dovelo do smanjenog nivoa ekspresije (Slika 15b). Slično kao u korenu, *VvPHT1;3a* je i u listovima eksprimiran samo u uslovima nedostatka P u fenofazi cvetanja (E-L 23), dok u listovima +P biljaka nije detektovana ekspresija ovog gena (Slika 15d). Za razliku od ekspresije u korenu, *VvPHT1;4a* je u listovima bio eksprimiran kod +P biljaka, sa višestrukim porastom nivoa transkripta od fenofaze cvetanja (E-L 23) do fenofaze bobica veličine zrna graška (E-L 31), nakon čega je došlo do opadanja u fenofazi šarka (E-L 35), dok je kod –P biljaka ekspresija bila znatno niža ili je potpuno izostala (Slika 15f).

4.2. Uticaj silicijumom na sezonsku dinamiku mobilizacije i usvajanja fosfora kod vinove loze

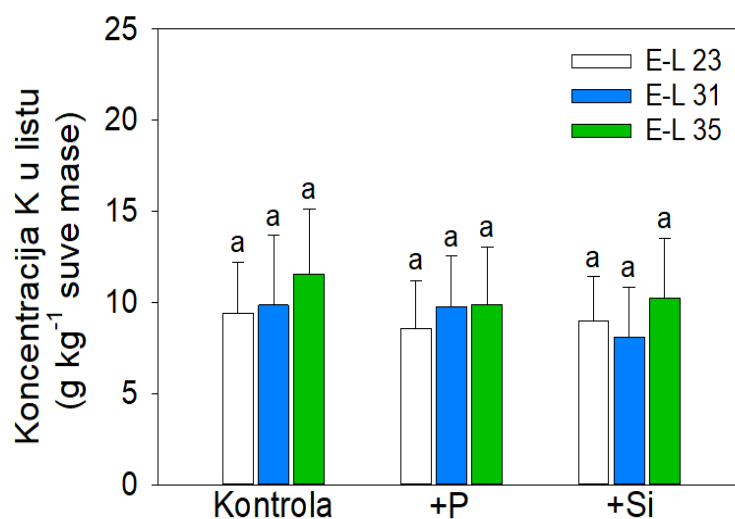
4.2.1. Koncentracija fosfora, silicijuma i kalijuma u listu vinove loze

Koncentracija P u listu kod kontrolnih, neđubrenih biljaka opadala je od fenofaze cvetanja (E-L 23) ka fenofazi bobice veličine zrna graška (E-L 31), a zatim se povećala do fenofaze šarka (E-L 35) (Slika 16a); ipak u sve tri ispitivane fenofaze bila je iznad kritične granice za vinovu lozu (1,5 g P kg⁻¹; Goldammer, 2020). Đubrenje Si značajno je povećalo koncentraciju P u listu u fenofazi cvetanja (E-L 23) u odnosu na kontrolu; koncentracija P u tretmanu +Si bila je uporediva sa onom zabeleženom u tretmanu +P (Slika 16a). Sličan, ali manje izražen obrazac uočen je i tokom fenofaze bobice veličine zrna graška (E-L 31). Do fenofaze šarka (E-L 35), đubrenje P dovelo je do značajnog povećanja koncentracije P u listu u poređenju sa kontrolnim i +Si biljkama (Slika 16a). Koncentracija Si u listu kontrolnih biljaka bila je značajno viša u poređenju sa +P biljkama u fenofazama cvetanja (E-L 23) i bobice veličine zrna graška (E-L 31) (Slika 16b). Međutim, u fenofazi šarka (E-L 35), razlike u koncentraciji Si među tretmanima nisu bile statistički značajne, što ukazuje da je akumulacija Si u listu dostigla nivo zasićenja (Slika 16b).

Pojedinačna primena P i Si nije pokazala nikakav sistematski uticaj na koncentraciju K u listu vinove loze ni u jednoj od ispitivanih fenofaza (Slika 17); model jednofaktorske ANOVA nije bio statistički značajan ($F(8,18)=0,32, p=0,95$).



Slika 16. Efekat đubrenja P i Si na koncentracije P (a) i Si (b) u listu vinove loze. E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su srednje vrednosti ± standardna devijacija (SD). Različita slova označavaju statistički značajne razlike ($\alpha = 0,05$, Tukey HSD test, jednofaktorska ANOVA).



Slika 17. Efekat đubrenja P i Si na koncentraciju K u listu vinove loze. E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su srednje vrednosti ± standardna devijacija (SD). Različita slova označavaju statistički značajne razlike ($\alpha = 0,05$, Tukey HSD test, jednofaktorska ANOVA).

4.2.2. Koncentracije odabranih makro- i mikroelemenata u listu vinove loze

Koncentracije odabranih makroelemenata u listu vinove loze prikazane su u Tabeli 14. Koncentracije Ca ($10\text{--}22\text{ g kg}^{-1}$), Mg ($2,2\text{--}3,3\text{ g kg}^{-1}$) i S ($2,9\text{--}5,5\text{ g kg}^{-1}$) nisu pokazale jasan odgovor niti na tretmane đubrenja, niti su se sistematski značajno razlikovale tokom vegetacije (tj. između različitih fenofaza). Specifično, model jednofaktorske ANOVA nije statistički značajno objasnio promene koncentracija Ca ($F(8,18)=0,89$, $p=0,55$) niti S ($F(8,18)=1,17$, $p=0,38$). Koncentracije Mg, pak, jesu pokazale postojanje strukture uslovljene tretmanom ($F(8,18)=3,15$, $p=0,02$). Iako su te razlike bile nedovoljne da bi ih *post-hoc* test detektovao, primetan je trend da na koncentracije Mg u listu nije jasno delovala fenofaza, ali ih jeste snižavao nizak nivo P u listu (konzistentno sa *Eksperimentom 1*, videti Tabelu 6).

Tabela 14. Efekat đubrenja P i Si na koncentraciju odabranih makroelemenata u listu vinove loze. E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su srednje vrednosti tretmana \pm standardna devijacija (SD). Različita slova označavaju statistički značajne razlike među koncentracijama svakog prikazanog elementa ($\alpha = 0,05$, *Tukey HSD* test, jednofaktorska ANOVA).

Fenofaza	Tretman	Ca (g kg^{-1})	Mg (g kg^{-1})	S (g kg^{-1})
E-L 23	Kontrola	$16 \pm 7,0a$	$2,8 \pm 0,3ab$	$5,5 \pm 2,0a$
	+P	$10 \pm 4,4a$	$2,2 \pm 0,3a$	$4,1 \pm 1,5a$
	+Si	$13 \pm 5,5a$	$2,7 \pm 0,3ab$	$4,3 \pm 1,5a$
E-L 31	Kontrola	$20 \pm 8,6a$	$2,9 \pm 0,6ab$	$3,4 \pm 1,2a$
	+P	$13 \pm 5,7a$	$3,2 \pm 0,4b$	$3,2 \pm 1,1a$
	+Si	$19 \pm 8,4a$	$2,2 \pm 0,3a$	$3,4 \pm 1,2a$
E-L 35	Kontrola	$19 \pm 8,3a$	$2,6 \pm 0,4ab$	$2,9 \pm 1,4a$
	+P	$21 \pm 8,7a$	$3,1 \pm 0,4b$	$2,9 \pm 1,1a$
	+Si	$22 \pm 9,6a$	$3,3 \pm 0,4b$	$2,9 \pm 1,0a$

Koncentracije odabranih mikroelemenata (Fe, Cu, Mn i Zn) u listu vinove loze prikazane su u Tabeli 15. Model jednofaktorske ANOVA pokazao je da je variranje koncentracija sva četiri hranljiva elementa bilo u statistički značajnoj meri izazvano kombinacijom eksperimentalnih tretmana. Te varijacije nisu pak bile dovoljno izražene da bi ih *post-hoc* test detektovao kao jasnu sistematsku zavisnost od primenjenih tretmana, osim jasnog povećanja Zn u fenofazi cvetanja (E-L 23), kao što je primećeno i u prethodnim sezonama (Tabela 7). Osim toga, i ovde je, kao u prethodnom eksperimentu, primećeno da u fazi bobice veličine zrna graška (E-L 31) đubrenje P značajno smanjuje Fe u listu u odnosu na kontrolu (Tabela 7), a dodavanje Si je ovu pojavu ukinulo.

Tabela 15. Efekat đubrenja P i Si na koncentraciju odabranih mikroelemenata u listu vinove loze. E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su srednje vrednosti tretmana \pm standardna devijacija (SD). Različita slova označavaju statistički značajne razlike među koncentracijama svakog prikazanog elementa ($\alpha = 0,05$, Tukey HSD test, jednofaktorska ANOVA).

Fenofaza	Tretman	Fe (mg kg ⁻¹)	Cu (mg kg ⁻¹)	Mn (mg kg ⁻¹)	Zn (mg kg ⁻¹)
E-L 23	Kontrola	131 \pm 12c	14 \pm 1,4a	141 \pm 7,7ab	23 \pm 1,4b
	+P	114 \pm 15ab	11 \pm 1,3a	156 \pm 12abc	27 \pm 1,8b
	+Si	151 \pm 22c	14 \pm 1,5a	118 \pm 7,7a	24 \pm 1,6,b
E-L 31	Kontrola	122 \pm 10bc	12 \pm 1,3a	165 \pm 16bcd	15 \pm 1,1a
	+P	85 \pm 11a	12 \pm 1,5a	204 \pm 17de	13 \pm 1,1a
	+Si	105 \pm 23ab	11 \pm 2,0a	182 \pm 17cde	15 \pm 0,9a
E-L 35	Kontrola	113 \pm 12ab	15 \pm 1,6a	155 \pm 13abc	16 \pm 3,3a
	+P	126 \pm 6,2c	11 \pm 1,2a	210 \pm 17e	13 \pm 2,7a
	+Si	85 \pm 14a	10 \pm 1,5a	175 \pm 13bcde	14 \pm 3,1a

4.2.3. Promene koncentracija dostupnog fosfora i silicijuma između okolnog i rizosfernog zemljišta

Efekat đubrenja P i Si na koncentraciju dostupnog P u zemljištu prikazan je u Tabeli 16. Đubrenje P povećalo je koncentraciju dostupnog (Olsenovog, odnosno NaHCO₃-ekstrahovanog) Pi i u okolnom, kao i u rizosfernom zemljištu, u odnosu na neđubrenu kontrolu. Sa druge strane, đubrenje Si nije značajno uticalo na promene koncentracije dostupnog Pi niti u okolnom, niti u rizosfernom zemljištu u odnosu na kontrolu (Tabela 16).

Tabela 16. Efekat đubrenja P i Si na koncentraciju dostupnog (NaHCO₃-ekstrahovanog) P u okolnom i rizosfernom zemljištu. E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su srednje vrednosti tretmana \pm standardna devijacija (SD). Različita slova označavaju statistički značajne razlike među srednjim vrednostima tretmana u svakom kompartmentu zemljišta ($\alpha = 0,05$, Tukey HSD test, jednofaktorska ANOVA).

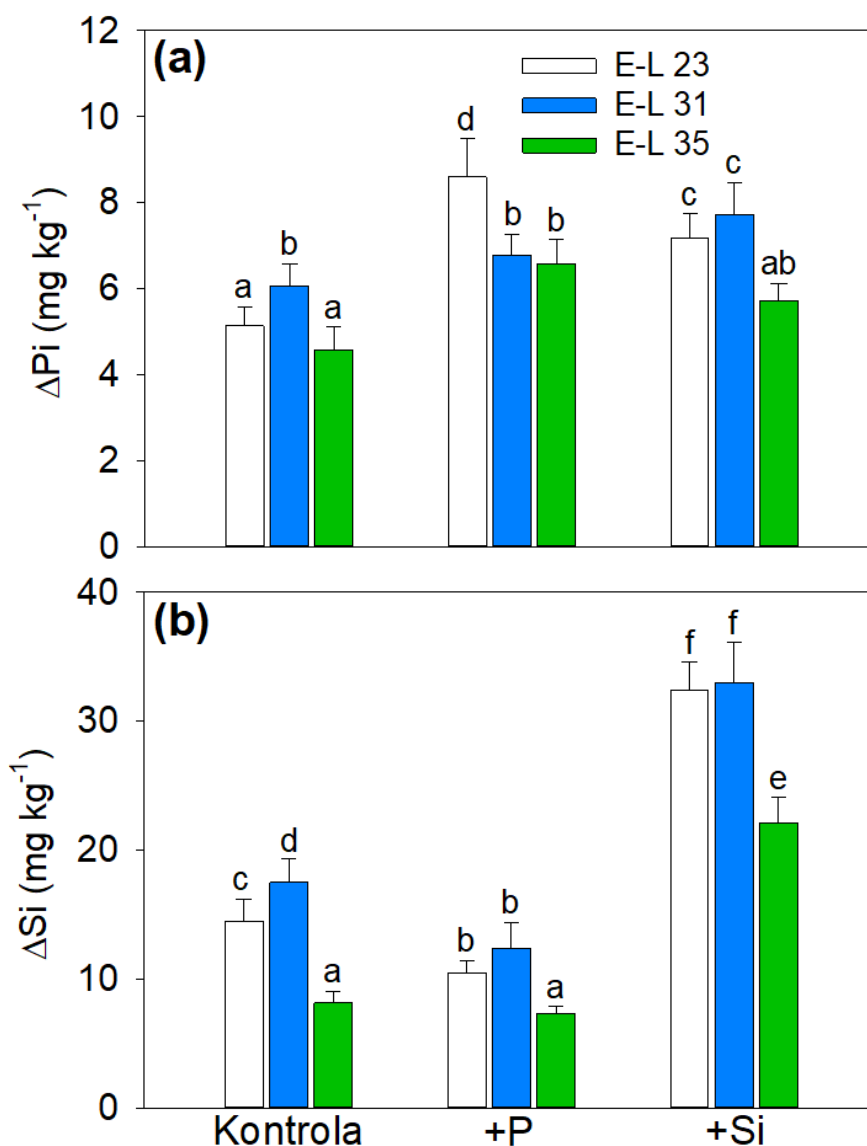
Fenofaza	Tretman	Okolno zemljište (mg P kg ⁻¹)	Rizosferno zemljište (mg P kg ⁻¹)
E-L 23	Kontrola	7,4 \pm 1,8a	2,2 \pm 0,36a
	+P	19 \pm 2,6c	11 \pm 2,6c
	+Si	9,4 \pm 0,42a	2,3 \pm 0,72a
E-L 31	Kontrola	7,4 \pm 2,2a	1,4 \pm 0,42a
	+P	17 \pm 1,8bc	10 \pm 3,9bc
	+Si	9,1 \pm 0,24a	1,4 \pm 0,21a
E-L 35	Kontrola	6,5 \pm 0,46a	1,9 \pm 0,74a
	+P	14 \pm 2,1b	7,8 \pm 0,94b
	+Si	7,2 \pm 0,25a	1,5 \pm 0,26a

Efekat đubrenja P i Si na koncentraciju dostupnog Si u zemljištu prikazan je u Tabeli 17. U okolnom zemljištu dostupan Si je značajno povećan u +Si tretmanima u svim fenofazama. Sa druge strane, u rizosfernom zemljištu nije detektovana konzistentna promena dostupnog Si u zavisnosti od primenjenog đubrenja; povećanje dostupnog Si (u odnosu na ostala dva tretmana) registrovano je samo u rizosferi +Si biljaka.

Tabela 17. Efekat đubrenja P i Si na koncentraciju dostupnog (CaCl_2 -ekstrahovanog) Si u okolnom i rizosfernom zemljištu. E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su srednje vrednosti tretmana \pm standardna devijacija (SD). Različita slova označavaju statistički značajne razlike među srednjim vrednostima tretmana u svakom kompartmentu zemljišta ($\alpha = 0,05$, Tukey HSD test, jednofaktorska ANOVA).

Fenofaza	Tretman	Okolno zemljište (mg P kg ⁻¹)	Rizosferno zemljište (mg P kg ⁻¹)
E-L 23	Kontrola	67 \pm 5,6ab	53 \pm 5,4a
	+P	64 \pm 4,6ab	53 \pm 7,4a
	+Si	98 \pm 1,9e	65 \pm 3,9b
E-L 31	Kontrola	74 \pm 5,3bc	57 \pm 6,7ab
	+P	67 \pm 7,5ab	54 \pm 6,9a
	+Si	92 \pm 9,8de	59 \pm 4,5ab
E-L 35	Kontrola	66 \pm 8,6ab	58 \pm 6,2ab
	+P	61 \pm 6,4a	54 \pm 6,8a
	+Si	85 \pm 2,7cd	63 \pm 1,7ab

U svim tretmanima koncentracije dostupnih frakcija P i Si bile su niže u rizosfernom nego u okolnom zemljištu (Tabele 16 i 17). Postojanje tog gradijenta koncentracije (između okolnog i rizosfernog kompartmenta zemljišta, Slika 18) ukazuje na osiromašenje ovih elemenata u zoni rizosfere, koje je posledica usvajanja korenom. Nasuprot apsolutnih koncentracija dostupnih Pi i Si koje su izrazito dinamične te se trend ne može uvek jasno uočiti, razlike u koncentracijama između okolnog i rizosfernog zemljišta (označene kao ΔPi odnosno ΔSi) pokazuju jasan odgovor na eksperimentalne tretmane (Slika 18). Osiromašenje dostupnog Pi iz zemljišta u zoni rizosfere, izraženo kao ΔPi (Slika 18a) pratilo je isti opšti obrazac kao i koncentracija P u listu (Slika 16a). U fenofazi bobice veličine zrna graška (E-L 31), đubrenje Si pospešilo je utrošak Pi u rizosferi u poređenju sa tretmanom dodavanja P. Ovo ukazuje na pojačano usvajanje Pi kao odgovor na đubrenje Si u ovoj fenofazi (Slika 18a). Osiromašenje dostupnog Si iz zone rizosfere, označeno kao ΔSi , (Slika 18b) bilo je u prve dve ispitivane fenofaze značajno smanjeno dodavanjem P u odnosu na kontrolu. Sa druge strane, đubrenje Si povećavalo je ΔSi u prve dve fenofaze, kada je i koncentracija Si u listu rasla (Slika 16b), dok je u fenofazi šarka smanjeno njegovo trošenje iz rizosfere kada je koncentracija u listu prestala da raste.



Slika 18. Efekat đubrenja P i Si na osiromašenje P (a) i Si (b) u rizosferi vinove loze. Trošenje elemenata u rizosferi prikazano je kao gradijent koncentracije dostupnog (NaHCO_3 -ekstrahovanog) neorganskog P (ΔPi) (a) i dostupnog (CaCl_2 -ekstrahovanog) Si (ΔSi) između okolnog i rizosfernog zemljišta vinove loze. E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su srednje vrednosti \pm SD. Različita slova označavaju statistički značajne razlike ($\alpha = 0,05$, Tukey HSD test, jednofaktorska ANOVA).

4.2.4. Koncentracije dostupnih oblika odabranih makro- i mikroelemenata u zemljištu

Promene koncentracija dostupnih oblika K, Ca i Mg u okolnom zemljištu u zavisnosti od đubrenja (P i Si) i fenofaze prikazane su u Tabeli 18. Jednofaktorska ANOVA nije pokazala značajni efekat eksperimentalnih tretmana na dostupni K. Za koncentracije Ca i Mg jednofaktorska ANOVA jeste bila nominalno značajna, ali sa vrlo statistički slabim efektom, tako da dosledni obrazac njihovih promena nije jasno detektovan. Primena Si nije promenila koncentracije ni jednog od ovih hranljivih elemenata u odnosu na kontrolu.

Tabela 18. Efekat đubrenja P i Si na koncentraciju dostupnih oblika odabranih makroelemenata u okolnom zemljištu. E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su srednje vrednosti tretmana \pm standardna devijacija (SD). Različita slova označavaju statistički značajne razlike među koncentracijama svakog prikazanog elementa ($\alpha = 0,05$, Tukey HSD test, jednofaktorska ANOVA).

Fenofaza	Tretman	K (mg kg ⁻¹)	Ca (mg kg ⁻¹)	Mg (mg kg ⁻¹)
E-L 23	Kontrola	342 \pm 19a	3420 \pm 139a	362 \pm 15a
	+P	391 \pm 13a	4476 \pm 142b	443 \pm 11b
	+Si	325 \pm 33a	3763 \pm 348ab	413 \pm 13ab
E-L 31	Kontrola	343 \pm 11a	3348 \pm 215a	383 \pm 16a
	+P	358 \pm 22a	3765 \pm 249ab	394 \pm 18a
	+Si	361 \pm 35a	2952 \pm 337a	364 \pm 12a
E-L 35	Kontrola	352 \pm 11a	3716 \pm 116ab	402 \pm 12ab
	+P	333 \pm 16a	3373 \pm 391a	419 \pm 22ab
	+Si	342 \pm 14a	3581 \pm 42ab	436 \pm 15ab

Promene koncentracija dostupnih oblika odabranih makroelemenata (K, Ca i Mg) u rizosfernom zemljištu prikazane su u Tabeli 19. Kao i u okolnom zemljištu (Tabela 18), i ovde su sporadično detektovane statistički značajne razlike među pojedinim tretmanima, ali nije pokazano postojanje sistematske promene koncentracije ni jednog ispitivanog makroelementa kao odgovor na primenjeno đubrenje ili fenofazu, tj. ni dodavanje P ni dodavanje Si nije konzistentno menjalo njihove koncentracije u odnosu na kontrolu. U rizosfernom zemljištu su koncentracije ovih hranljivih elemenata bile konzistentno niže nego u okolnom (Tabela 18). Osim toga, dostupnost ova tri makroelementa u zemljištu nije bila jasno korelisana sa njihovim koncentracijama u listu (Tabela 14).

Tabela 19. Efekat đubrenja P i Si na koncentraciju dostupnih oblika odabranih makroelemenata u rizosfernom zemljištu. E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su srednje vrednosti tretmana \pm standardna devijacija (SD). Različita slova označavaju statistički značajne razlike među koncentracijama svakog prikazanog elementa ($\alpha = 0,05$, Tukey HSD test, jednofaktorska ANOVA).

Fenofaza	Tretman	K (mg kg ⁻¹)	Ca (mg kg ⁻¹)	Mg (mg kg ⁻¹)
E-L 23	Kontrola	162 \pm 4,1b	3285 \pm 185c	328 \pm 7,1b
	+P	159 \pm 7,6ab	2329 \pm 76a	295 \pm 10,7a
	+Si	163 \pm 4,3b	3383 \pm 219bc	333 \pm 7,2bc
E-L 31	Kontrola	152 \pm 5,1ab	3294 \pm 81c	346 \pm 6,2bc
	+P	142 \pm 6,1a	3097 \pm 92c	328 \pm 7,1b
	+Si	138 \pm 8,7a	2742 \pm 113b	331 \pm 15,2b
E-L 35	Kontrola	173 \pm 5,8c	3322 \pm 120c	334 \pm 4,6c
	+P	160 \pm 2,7b	3055 \pm 85b	369 \pm 10,0bc
	+Si	168 \pm 5,3c	3017 \pm 82b	401 \pm 13,1d

Promene koncentracija dostupnih oblika ispitivanih mikroelemenata u okolnom zemljištu u zavisnosti od đubrenja (P i Si) i fenofaze prikazane su u Tabeli 20. Iako je *post-hoc* test locirao neke značajne razlike među kombinacijama tretmana, nije ustanovljen konzistentni trend niti u efektu fenofaze, niti u efektu đubrenja ni na jedan ispitivani element.

Tabela 20. Efekat đubrenja P i Si na koncentraciju dostupnih oblika odabranih mikroelemenata u okolnom zemljištu. E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su srednje vrednosti tretmana \pm standardna devijacija (SD). Različita slova označavaju statistički značajne razlike među koncentracijama svakog prikazanog elementa ($\alpha = 0,05$, Tukey HSD test, jednofaktorska ANOVA).

Fenofaza	Tretman	Fe (mg kg ⁻¹)	Cu (mg kg ⁻¹)	Mn (mg kg ⁻¹)	Zn (mg kg ⁻¹)
E-L 23	Kontrola	45 \pm 2,7b	4,3 \pm 0,24b	64 \pm 2,2c	1,3 \pm 0,12bc
	+P	43 \pm 2,2b	4,2 \pm 0,13b	75 \pm 2,2d	0,79 \pm 0,12a
	+Si	56 \pm 1,5c	4,6 \pm 0,18bc	57 \pm 1,1b	0,87 \pm 0,13a
E-L 31	Kontrola	49 \pm 2,4bc	4,6 \pm 0,33bc	76 \pm 4,1d	0,85 \pm 0,20a
	+P	42 \pm 3,0a	3,5 \pm 0,41a	63 \pm 2,4c	1,4 \pm 0,22b
	+Si	47 \pm 1,7b	5,0 \pm 0,39c	55 \pm 2,4b	1,2 \pm 0,16b
E-L 35	Kontrola	44 \pm 6,4b	4,4 \pm 0,31b	74 \pm 4,4d	1,2 \pm 0,16 b
	+P	51 \pm 3,1bc	5,1 \pm 0,22c	68 \pm 2,7c	1,6 \pm 0,28c
	+Si	39 \pm 2,1a	5,0 \pm 0,25c	39 \pm 1,4a	0,86 \pm 0,09a

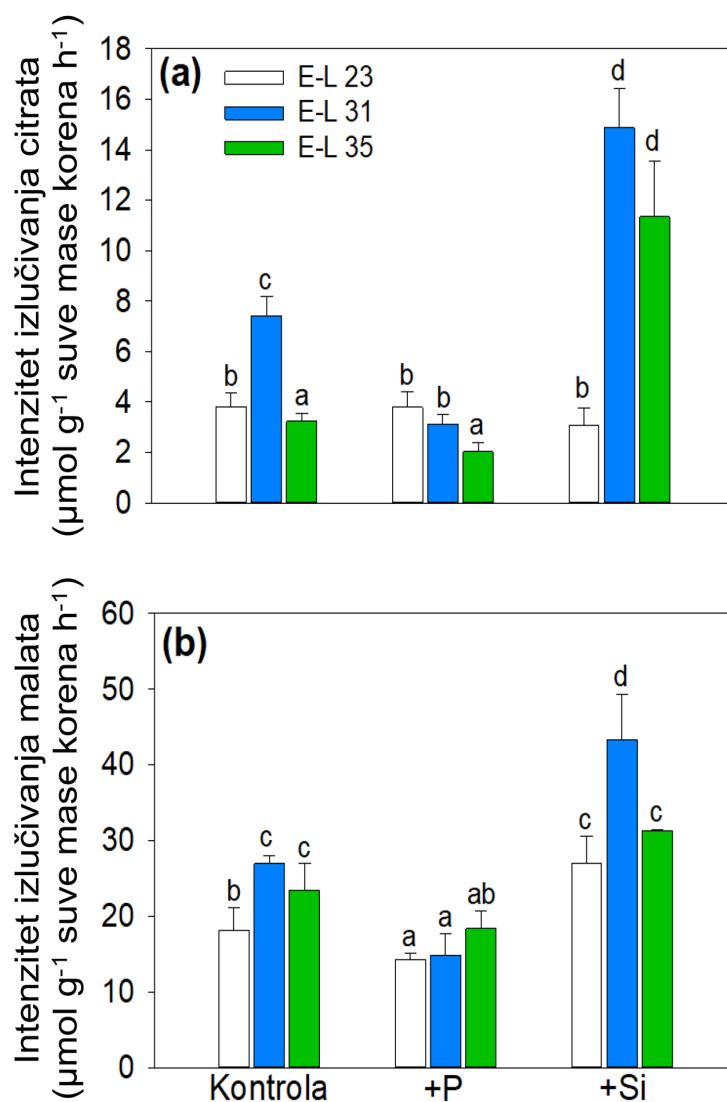
Promene koncentracija dostupnih oblika ispitivanih mikroelemenata u rizosfernom zemljištu u zavisnosti od đubrenja (P i Si) i fenofaze prikazane su u Tabeli 21. Iako je *post-hoc* test locirao neke značajne razlike među kombinacijama tretmana, nije detektovan konzistentni trend koji niti u efektu fenofaze, niti u efektu đubrenja ni na jedan ispitivani element. Koncentracije ovih elemenata su u rizosfernom zemljištu bile najčešće značajno niže nego u okolnom zemljištu (Tabela 20).

Tabela 21. Efekat đubrenja P i Si na koncentraciju dostupnih oblika odabranih mikroelemenata u rizosfernom zemljištu. E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su srednje vrednosti tretmana \pm standardna devijacija (SD). Različita slova označavaju statistički značajne razlike među koncentracijama svakog prikazanog elementa ($\alpha = 0,05$, Tukey HSD test, jednofaktorska ANOVA).

Fenofaza	Tretman	Fe (mg kg ⁻¹)	Cu (mg kg ⁻¹)	Mn (mg kg ⁻¹)	Zn (mg kg ⁻¹)
E-L 23	Kontrola	35 \pm 1,1b	3,4 \pm 0,15d	62 \pm 0,81d	0,55 \pm 0,03cd
	+P	29 \pm 1,2a	2,7 \pm 0,11ab	61 \pm 0,61d	0,50 \pm 0,03c
	+Si	49 \pm 4,0d	2,7 \pm 0,12ab	55 \pm 6,5bc	0,40 \pm 0,05b
E-L 31	Kontrola	38 \pm 0,16c	2,9 \pm 0,11c	66 \pm 2,1d	1,0 \pm 0,09f
	+P	30 \pm 0,31a	2,6 \pm 0,31abc	55 \pm 0,71c	0,63 \pm 0,06d
	+Si	35 \pm 0,28bc	2,6 \pm 0,11a	53 \pm 0,22b	0,33 \pm 0,01a
E-L 35	Kontrola	38 \pm 0,35c	3,2 \pm 0,12d	61 \pm 1,3d	0,90 \pm 0,04f
	+P	30 \pm 1,1a	2,9 \pm 0,17c	53 \pm 2,5b	0,28 \pm 0,01a
	+Si	34 \pm 1,2b	2,4 \pm 0,09a	32 \pm 1,2a	0,76 \pm 0,03e

4.2.5. Dinamika izlučivanja karboksilata iz korena vinove loze

Kod kontrolnih biljaka izloženih nedostatku P, izlučivanje citrata i malata korenom pokazalo je jasnu zavisnost od fenofaze: značajno se povećalo između cvetanja (E-L 23) i fenofaze bobice veličine zrna graška (E-L 31) (Slika 19). U fenofazi šarka (E-L 35), zatim, efluks citrata u rizosferu smanjen je na približno polovinu vrednosti u prethodno zabeleženoj fenofazi (Slika 19a), dok je efluks malata ostao na relativno visokom nivou (Slika 19b). Ovakav isti obrazac promene pokazan je i prethodne eksperimentalne godine u *Eksperimentu 1* (Slika 12c, d). Nasuprot tome, kod +P tretmana zabeležen je niži intenzitet izlučivanja oba karboksilata, posebno malata, ali nije utvrđen dosledan sezonski obrazac izlučivanja karboksilata. Specifično, nedostatak Pi izazvao je pojačanu eksudaciju ova dva karboksilata u fazi bobice veličine zrna graška (E-L 31), dok je povećanje dostupnosti Pi (+P) dovelo do ukidanja ovog fenomena. Sa druge strane, dodavanje Si u uslovima nedostatka P dovelo je do višestruke stimulacije intenziteta izlučivanja ova dva karboksilata. Đubrenje Si uticalo je na višestruko povećanje efluksa oba karboksilata u poslednje dve analizirane fenofaze (E-L 31 i E-L 35) u odnosu na kontrolu. Efluks malata je povećan dodavanjem Si čak i u ranijoj fenofazi cvetanja (Slika 19).

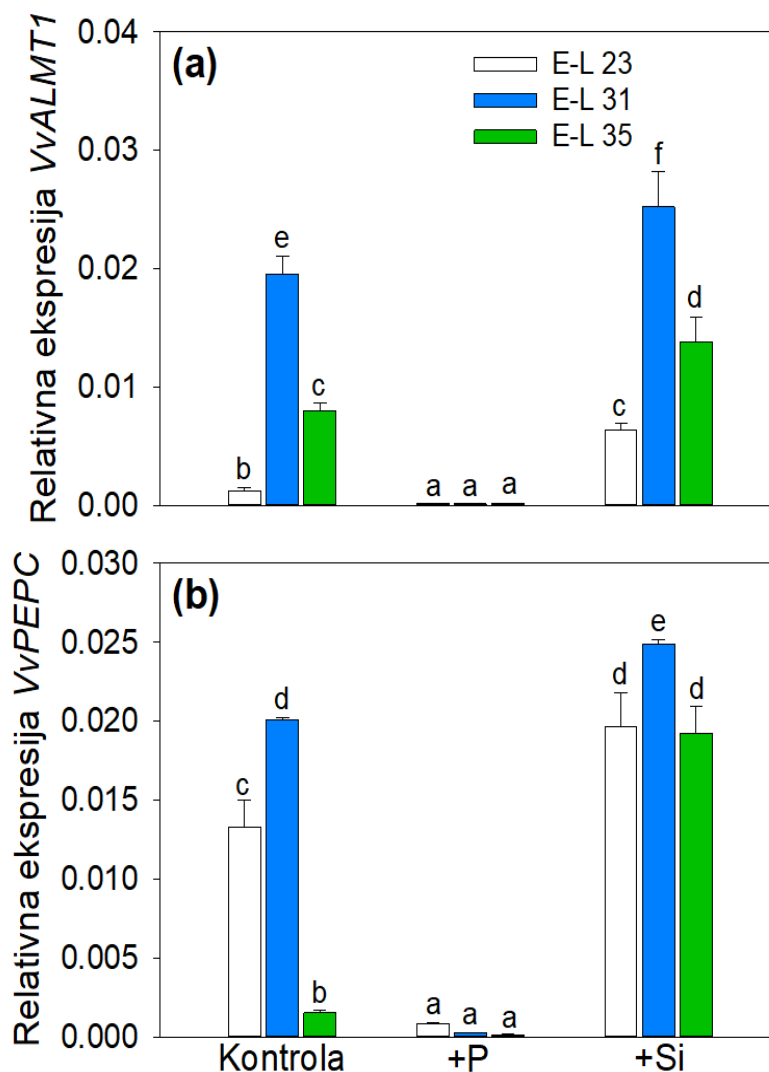


Slika 19. Efekat đubrenja P i Si na intenzitet izlučivanja citrata (a) i malata (b) iz korena vinove loze. E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su srednje vrednosti \pm standardna devijacija (SD). Različita slova označavaju statistički značajne razlike ($\alpha = 0,05$, Tukey HSD test, jednofaktorska ANOVA).

4.2.6. Ekspresija *VvALMT1* i *VvPEPC* u korenu vinove loze

Relativni nivo ekspresije *VvALMT1* (Slika 20a) u korenovima kontrolnih biljaka podudarao se sa obrascem efluksa malata (Slika 19b), pri čemu su maksimumi i ekspresije gena i intenziteta eksudacije registrovani u fenofazi bobice veličine zrna graška (E-L 31). Đubrenje P dovelo je do smanjenja ekspresije *VvALMT1* u odnosu na neđubrenu kontrolu, dok je đubrenje Si značajno povećalo nivo ekspresije u odnosu na kontrolu, u sve tri fenofaze (Slika 20a). Kod kontrolnih biljaka, relativni nivo ekspresija gena *VvPEPC* (Slika 20b) povećavao se od fenofaze cvetanja (E-L 23) do fenofaze bobice veličine zrna graška (E-L 31), takođe prateći dinamiku efluksa oba karboksilata iz korena (Slika 19). U biljkama tretiranim P, ekspresija *VvPEPC* bila je smanjena u svim ispitivanim fenofazama. Nasuprot

tome, ishrana Si održala je visoki nivo ekspresije *VvPEPC*, čak viši nego u kontroli, što je posebno bilo izraženo u fenofazi bobice veličine zrna graška (E-L 31) (Slika 20b).

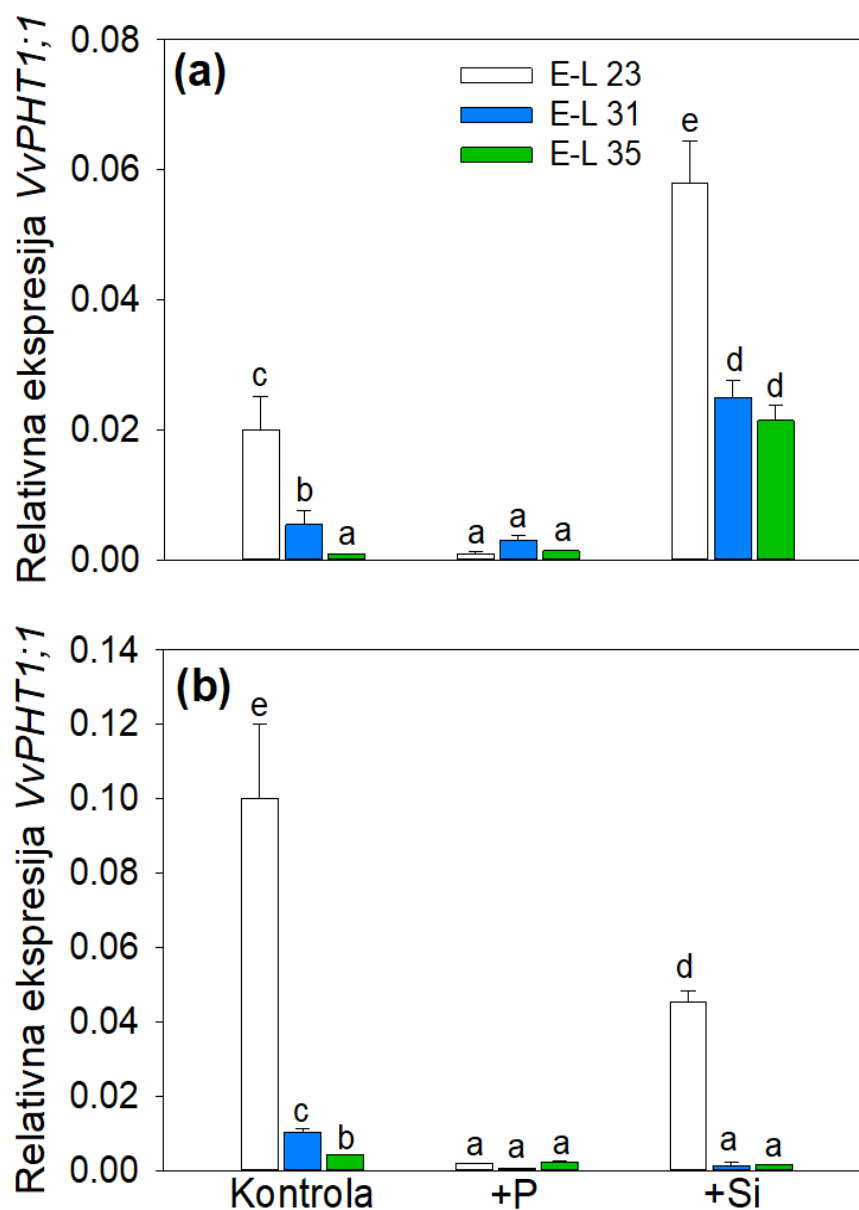


Slika 20. Efekat đubrenja P i Si na relativnu ekspresiju gena *VvALMT1* (a) i *VvPEPC* (b) u korenu vinove loze. E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su srednje vrednosti \pm standardna devijacija (SD). Različita slova označavaju statistički značajne razlike ($\alpha = 0,05$, Tukey HSD test, jednofaktorska ANOVA).

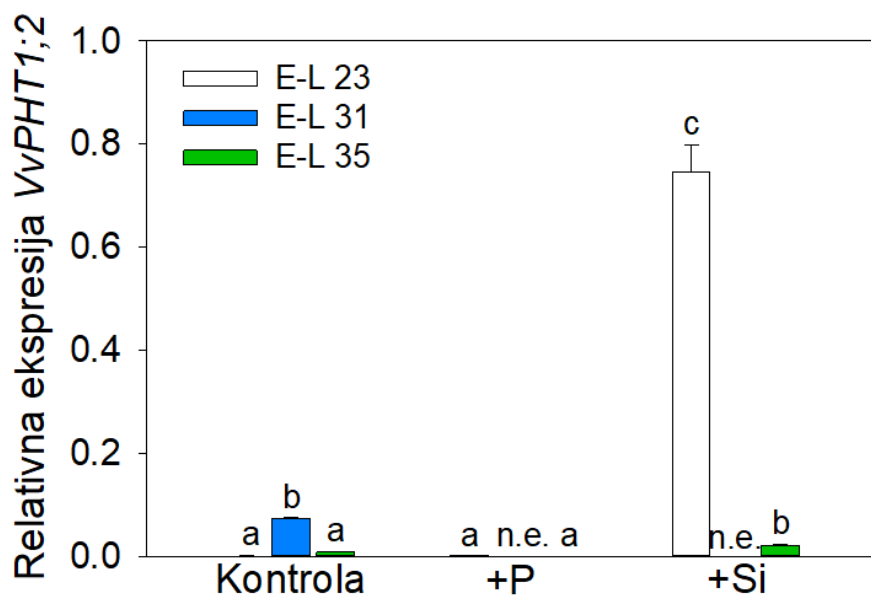
4.2.7. Ekspresija *VvPHT1* u korenu i listu vinove loze

Relativni nivo ekspresije *VvPHT1;1* gena koji kodiraju fosfatne transportere u korenu (Slika 21a) pokazivao je tipičnu sezonsku dinamiku kod biljaka izloženih nedostatku P (kontrola), sa najvišim nivoom ekspresije u fenofazi cvetanja (E-L 23). Đubrenje P dovelo je do smanjenja ekspresije *VvPHT1;1*, u poređenju sa kontrolnim biljkama u sve tri fenofaze. Suprotno tome, đubrenje Si dovelo je do višestrukog povećanja nivoa ekspresije *VvPHT1;1*, u odnosu na kontrolu, nezavisno od fenofaze (Slika 21a). U listovima vinove loze, najviši nivo ekspresije *VvPHT1;1* je, kao i u korenu, zabeležen u kontrolnim biljkama u fenofazi cvetanja (E-L 23), nakon čega je usledio nagli pad u fenofazi bobice veličine zrna graška (E-L 31) i dalje smanjenje do fenofaze šarka (E-L 35) (Slika 21b). U fenofazi

cvetanja (E-L 23), kada su u listu i koncentracije P i ekspresija *VvPHT1;1* bile najviše, dodavanje Pi imalo je isti efekat na nivo P u listu kao i dodavanje Si (Slika 16a). Međutim, ukidanje nedostatka P u zemljištu đubrenjem P (+P tretman) dovelo je do smanjenja ekspresije gena koji kodiraju ove transportere u listu, dok je, sa druge strane, primena Si u uslovima nedostatka P uslovlila održavanje njihovog visokog nivoa ekspresije u toj fenofazi (Slika 21b).



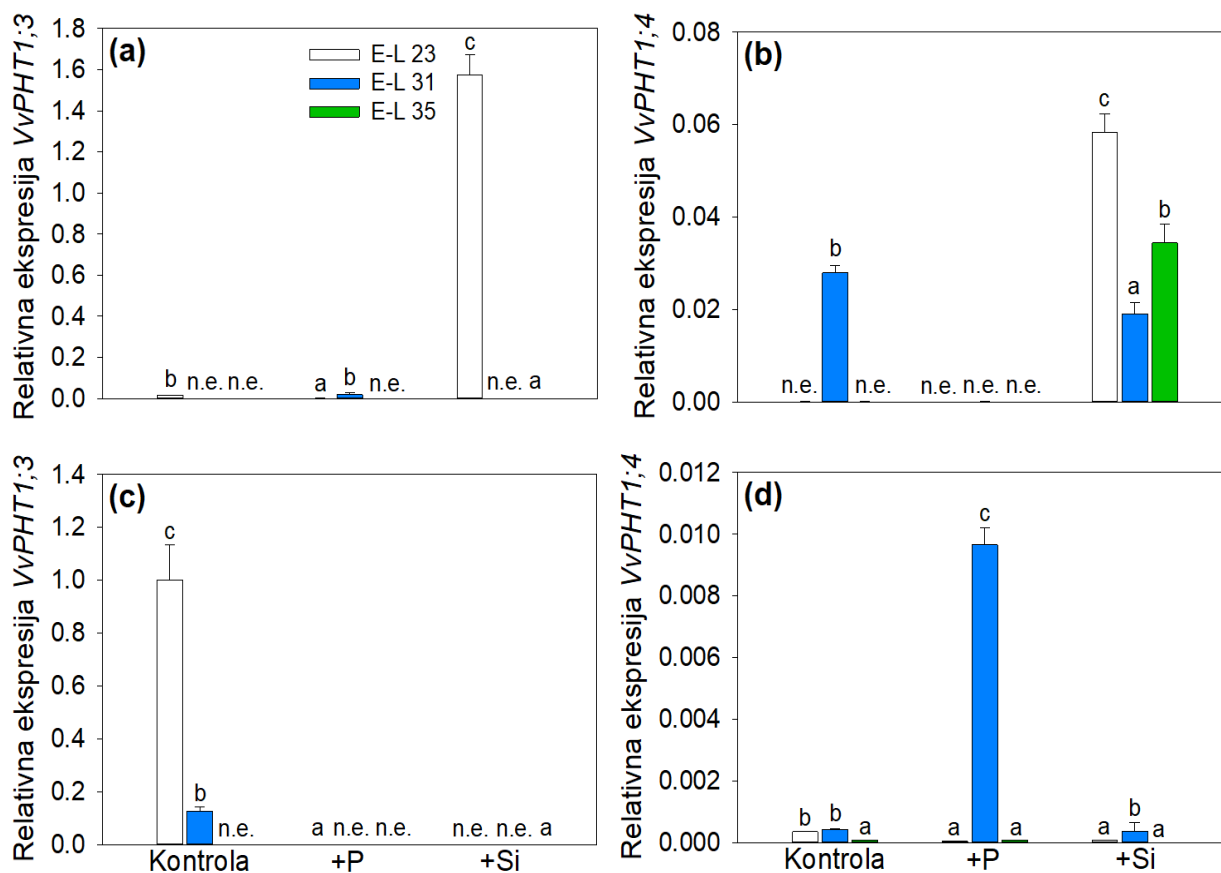
Slika 21. Efekat đubrenja P i Si na relativni nivo ekspresije gena *VvPHT1;1* u korenu (a) i listu (b) vinove loze. E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su srednje vrednosti \pm standardna devijacija (SD). Različita slova označavaju statistički značajne razlike ($\alpha = 0,05$, Tukey HSD test, jednofaktorska ANOVA).



Slika 22. Efekat đubrenja P i Si na relativnu ekspresiju gena *VvPHT1;2* u listu vinove loze; n.e. – nije ekspimirano. E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su srednje vrednosti \pm standardna devijacija (SD). Različita slova označavaju statistički značajne razlike ($\alpha = 0,05$, Tukey HSD test, jednofaktorska ANOVA).

Interesantno, *VvPHT1;2* nije bio ekspimiran u korenu vinove loze niti u jednoj kombinaciji eksperimentalnih tretmana. Nivo ekspresije *VvPHT1;2* u listovima (Slika 22) u kontrolnim biljkama je, suprotno ekspresiji *VvPHT1;1* (Slika 21b), bio najviši u fenofazi bobice veličine zrna graška (E-L 31). Slično kao i kod *VvPHT1;1*, primena Pi je dovela do značajnog smanjenja nivoa ekspresije *VvPHT1;2*. Ipak, primena Si je, kao i kod *VvPHT1;1*, dovela do višestrukog povećanja ekspresije *VvPHT1;2*. Najviši nivo ekspresije *VvPHT1;2* u listu vinove loze zabeležen je upravo nakon primene Si u fenofazi cvetanja (E-L 23). Gen *VvPHT1;2* nije bio ekspimiran u fenofazi bobice veličine zrna graška (E-L 31), dok je u fenofazi šarka (E-L 35) zabežen nivo ekspresije višestruko niži od nivoa u fenofazi cvetanja (E-L 23) (Slika 22).

U korenovima kontrolnih biljaka *VvPHT1;3a* bio je ekspimiran isključivo u fenofazi cvetanja (E-L 23), dok se kod +P biljaka nivo njegove ekspresije povećao nekoliko puta od fenofaze cvetanja (E-L 23) do fenofaze bobice veličine zrna graška (E-L 31), pri čemu ekspresija u fenofazi šarka (E-L 35) nije bila zabeležena (Slika 23a). Kod +Si biljaka, najviši nivo ekspresije *VvPHT1;3a* zabeležen je u fenofazi cvetanja (E-L 23), u fenofazi bobice veličine zrna graška (E-L 31) ekspresija nije zabeležena, dok je u fenofazi šarka (E-L 35), nivo ekspresije bio sličan nivou ekspresije kod +P u fenofazi cvetanja (E-L 23) (Slika 23a). Ekspresija *VvPHT1;4a* u korenovima vinove loze zabeležena je u kontrolnim biljkama samo u fenofazi bobice veličine zrna graška (E-L 31) (Slika 23b). Kod +P biljaka, ekspresija nije detektovana, dok je kod +Si biljaka zabeležena u sve tri ispitivane fenofaze. Najviši nivo ekspresije bio je u fenofazi cvetanja (E-L 23), zatim sledi pad nivoa ekspresije u fenofazi bobice veličine zrna graška (E-L 31) i ponovo povećanje nivoa ekspresije u fenofazi šarka (E-L 35) (slika 23b).



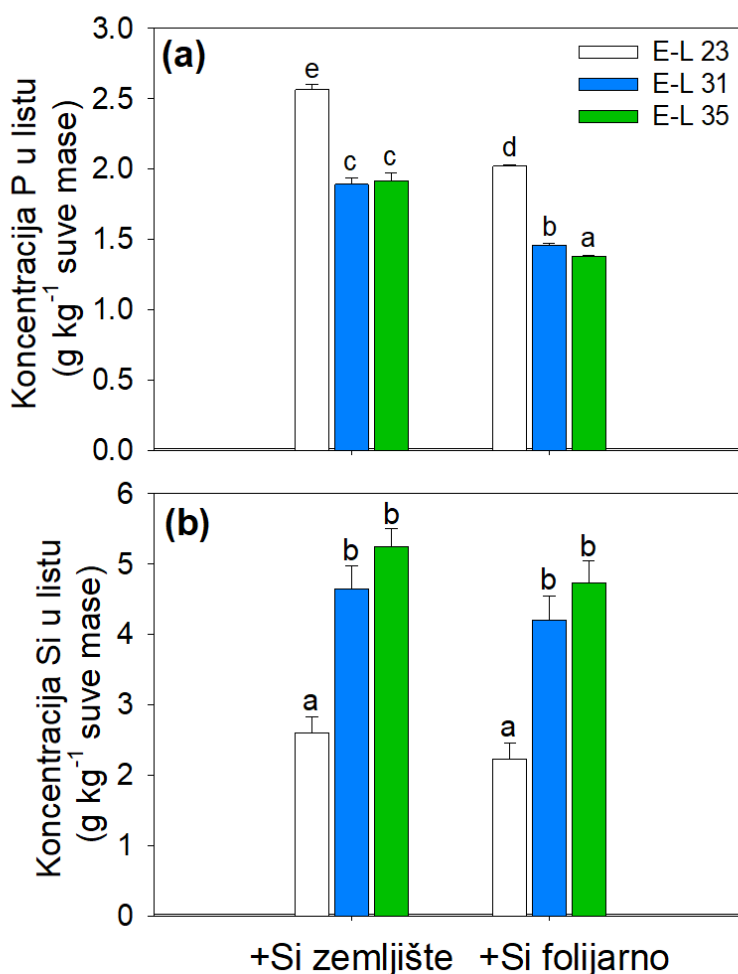
Slika 23. Efekat đubrenja P i Si na relativnu ekspresiju gena *PHT1* u korenu (a, b) i listu (c, d) vinove loze. *VvPHT1;3a* (a, c); *VvPHT1;4a* (b, d); n.e. – nije ekspimirano. E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su srednje vrednosti \pm standardna devijacija (SD). Različita slova označavaju statistički značajne razlike ($\alpha = 0,05$, Tukey HSD test, jednofaktorska ANOVA).

U listovima je najviši nivo ekspresije *VvPHT1;3a* zabeležen u kontrolnim biljkama u fenofazi cvetanja (E-L 23) (Slika 23c). Zatim sledi smanjenje nivoa ekspresije u fenofazi bobice veličine zrna graška (E-L 31), dok u fenofazi šarka (E-L 35) ekspresija nije detektovana. I kod +P i kod +Si biljaka, došlo je do višestrukog smanjenja nivoa ekspresije *VvPHT1;3a*. U listovima +P biljaka, *VvPHT1;3a* je bio ekspimiran samo u fenofazi cvetanja (E-L 23), dok je kod +Si biljaka, *VvPHT1;3a* bio ekspimiran jedino u fenofazi šarka (E-L 35) (Slika 23c). Nivo ekspresije *VvPHT1;4a* u listovima kontrolnih biljaka bio je približno isti u fenofazi cvetanja (E-L 23) i fenofazi bobice veličine zrna graška (E-L 31), dok je u fenofazi šarka (E-L 35) bio nekoliko puta niži (Slika 23d). Suprotno ekspresiji *VvPHT1;1*, *VvPHT1;2*, i *VvPHT1;3a* (slike 21b, 22 i 23c), čiji je nivo ekspresije bio značajno smanjen sa dodavanjem P, najviši nivo ekspresije *VvPHT1;4a* zbeležen je upravo u +P tretmanu u fenofazi bobice veličine zrna graška (E-L 31) (slika 23d), dok je njegova ekspresija u ovom tretmanu bila znatno niža u fenofazi cvetanja (E-L 23) i u fenofazi šarka (E-L 35). U tretmanu sa dodavanjem Si, nivo ekspresije *VvPHT1;4a* u listu bio je približno isti kao u kontrolnim biljkama, sa najvišim nivoom ekspresije u fenofazi bobice veličine zrna graška (E-L 31); nivo ekspresije bio je isti u fenofazi cvetanja (E-L 23) i fenofazi šarka (E-L 35) (slika 23d).

4.3. Uticaj načina đubrenja silicijumom na dinamiku mobilizacije i usvajanja fosfora kod vinove loze

4.3.1. Koncentracija fosfora i silicijuma u listu vinove loze

Koncentracija P u listu u Si tretmanu preko zemljišta je opala od fenofaze cvetanja (E-L 23) do fenofaze bobice veličine zrna graška (E-L 31) i blago se povećala u fenofazi šarka (E-L 35), dok je kod folijarne primene Si opadala od fenofaze cvetanja (E-L 23) ka fenofazi bobice veličine zrna graška (E-L 31), i dalje do fenofaze šarka (E-L 35) (Slika 24a). Promena koncentracije P i Si u listu po fenofazama imala je isti obrazac kao prethodne godine u *Eksperimentu 2* (Slika 16). Koncentracija P u listu je, nezavisno od načina đubrenja Si, u obe fenofaze (fenofaza cvetanja (E-L 23) i fenofaza bobice veličine zrna graška (E-L 31)) kada je potreba vinove loze za P najveća, bila iznad kritične granice od $1,5 \text{ g P kg}^{-1}$ (Goldammer, 2020). Koncentracija P u sve tri ispitivane fenofaze bila je veća kod biljaka koje su đubrene Si preko zemljišta u odnosu na one kod kojih je Si bio primenjivan folijarno. Najviša koncentracija P u listu zabeležena je u fenofazi cvetanja (E-L 23) ($2,6 \text{ g P kg}^{-1}$ kod biljaka gde je Si primenjen preko zemljišta, odnosno $2,0 \text{ g P kg}^{-1}$ kod biljaka koje su bile folijarno prskane Si) (Slika 24a).



Slika 24. Efekat načina đubrenja Si (preko zemljišta i folijarno) na koncentraciju P (a) i Si (b) u listu vinove loze. E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su srednje vrednosti \pm standardna devijacija (SD). Različita slova označavaju statistički značajne razlike ($\alpha = 0,05$, Tukey HSD test, jednofaktorska ANOVA).

Koncentracije Si u listu se nisu statistički značajno razlikovale između biljaka đubrenih Si preko zemljišta i onih gde je Si primenjen folijarno (Slika 24b). Najniža koncentracija Si u listu zabeležena je u fenofazi cvetanja (E-L 23) ($2,6 \text{ g Si kg}^{-1}$ kod primene Si preko zemljišta i $2,2 \text{ g Si kg}^{-1}$ kod folijarne primene Si), sa porastom do fenofaze bobice veličine zrna graška (E-L 31). Razlike u koncentraciji Si u listu između fenofaze bobice veličine zrna graška (E-L 31) i fenofaze šarka (E-L 35) nisu bile statistički značajne, što ukazuje da je akumulacija Si u listu dostigla nivo zasićenja nezavisno od načina đubrenja (Slika 24b).

4.3.2. Promene koncentracija dostupnog fosfora i silicijuma između okolnog i rizosfernog zemljišta

Relativni utrošak dostupnog (NaHCO_3 -ekstrahovanog) neorganskog P (Pi) u rizosfernom zemljištu (relativni ΔPi) izražen je kao relativna promena koncentracije dostupnog Pi između okolnog i rizosfernog zemljišta. Relativni ΔPi u zemljištu pokazao je suprotan trend između dva tretmana Si (preko zemljišta i folijarno); kod primene Si preko zemljišta najveći relativni utrošak Pi je zabeležen u fenofazi bobice veličine zrna graška (E-L 31), dok je kod folijarne primene najveća vrednost ΔPi zabeležena u fenofazi cvetanja (E-L 23) (Tabela 22).

Tabela 22. Efekat načina đubrenja Si (preko zemljišta i folijarno) na apsolutne koncentracije dostupnog Pi (NaHCO_3 -ekstrahovani P; Olsen P) i relativni gradijent dostupnog Pi između okolnog i rizosfernog zemljišta (relativni ΔPi). E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su srednje vrednosti tretmana \pm standardna devijacija (SD). Različita slova označavaju statistički značajne razlike u koncentraciji P u svakom kompartmentu zemljišta ($\alpha = 0,05$, Tukey HSD test, jednofaktorska ANOVA).

Fenofaza	Tretman Si	Koncentracija dostupnog Pi (mg kg^{-1})		Relativni ΔPi (%)
		Okolno zemljište	Rizosferno zemljište	
E-L 23	Zemljište	$9,4 \pm 0,42\text{b}$	$2,3 \pm 0,72\text{b}$	76
	Folijarno	$11 \pm 0,68\text{c}$	$1,0 \pm 0,03\text{a}$	91
E-L 31	Zemljište	$9,1 \pm 0,24\text{b}$	$1,4 \pm 0,21\text{a}$	85
	Folijarno	$13 \pm 0,55\text{d}$	$2,9 \pm 0,17\text{b}$	78
E-L 35	Zemljište	$7,2 \pm 0,25\text{a}$	$1,5 \pm 0,26\text{a}$	79
	Folijarno	$13 \pm 0,33\text{c}$	$2,5 \pm 0,30\text{b}$	81

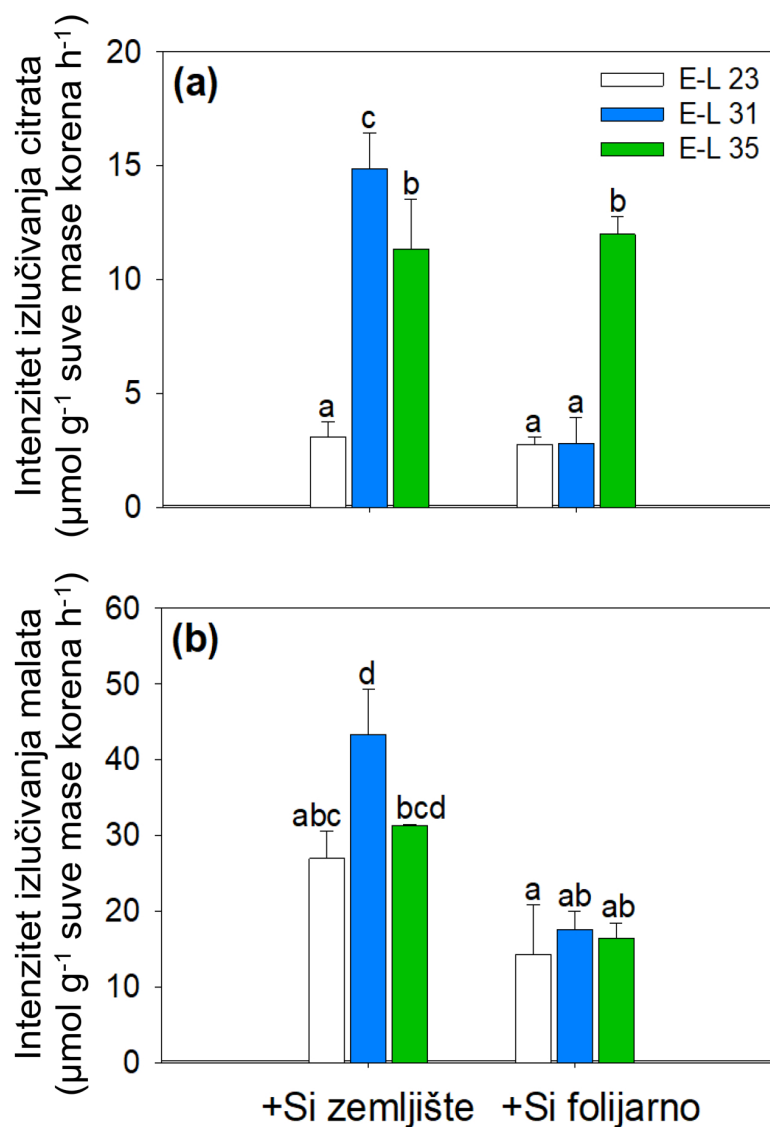
Relativni utrošak dostupnog Si u rizosfernom zemljištu (ΔSi) je izražen kao relativni koncentracioni gradijent dostupnog (CaCl_2 -ekstrahovanog) Si između okolnog i rizosfernog zemljišta. Kod primene Si preko zemljišta, relativni ΔSi nije pokazao veće razlike između fenofaza cvetanja (E-L 23; 34%) i fenofaze bobice veličine zrna graška (E-L 31; 36%), i opao je u fenofazi šarka (E-L 35; 26%), dok je kod folijarne primene Si relativni ΔSi bio najveći u fenofazi cvetanja (E-L 23; 27%) i zatim opao u fenofazi bobice veličine zrna graška (E-L 31; 15%). U fenofazi šarka (E-L 35) relativni ΔSi se nije razlikovao u odnosu na fenofazu bobice veličine zrna graška (E-L 31; 15%) (Tabela 23). Generalno, relativno osiromašenje Si u rizosferi u odnosu na okolno zemljište bilo je manje kod folijarne primene Si u odnosu na primenu Si preko zemljišta (Tabela 23). Osim toga, folijarna primena Si (Tabela 23) rezultovala je sličnim vrednostima dostupnog Si u okolnom zemljištu kao i kontrola u *Eksperimentu 2* gde Si nije primenjen (Tabela 17).

Tabela 23. Efekat načina đubrenja Si (preko zemljišta i folijarno) na apsolutne koncentracije dostupnog Si (CaCl_2 -ekstrahovani Si) i relativni gradijent dostupnog Si između okolnog i rizosfernog zemljišta (relativni ΔSi). E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su srednje vrednosti tretmana \pm standardna devijacija (SD). Različita slova označavaju statistički značajne razlike u koncentraciji Si u svakom kompartmentu zemljišta ($\alpha = 0,05$, Tukey HSD test, jednofaktorska ANOVA).

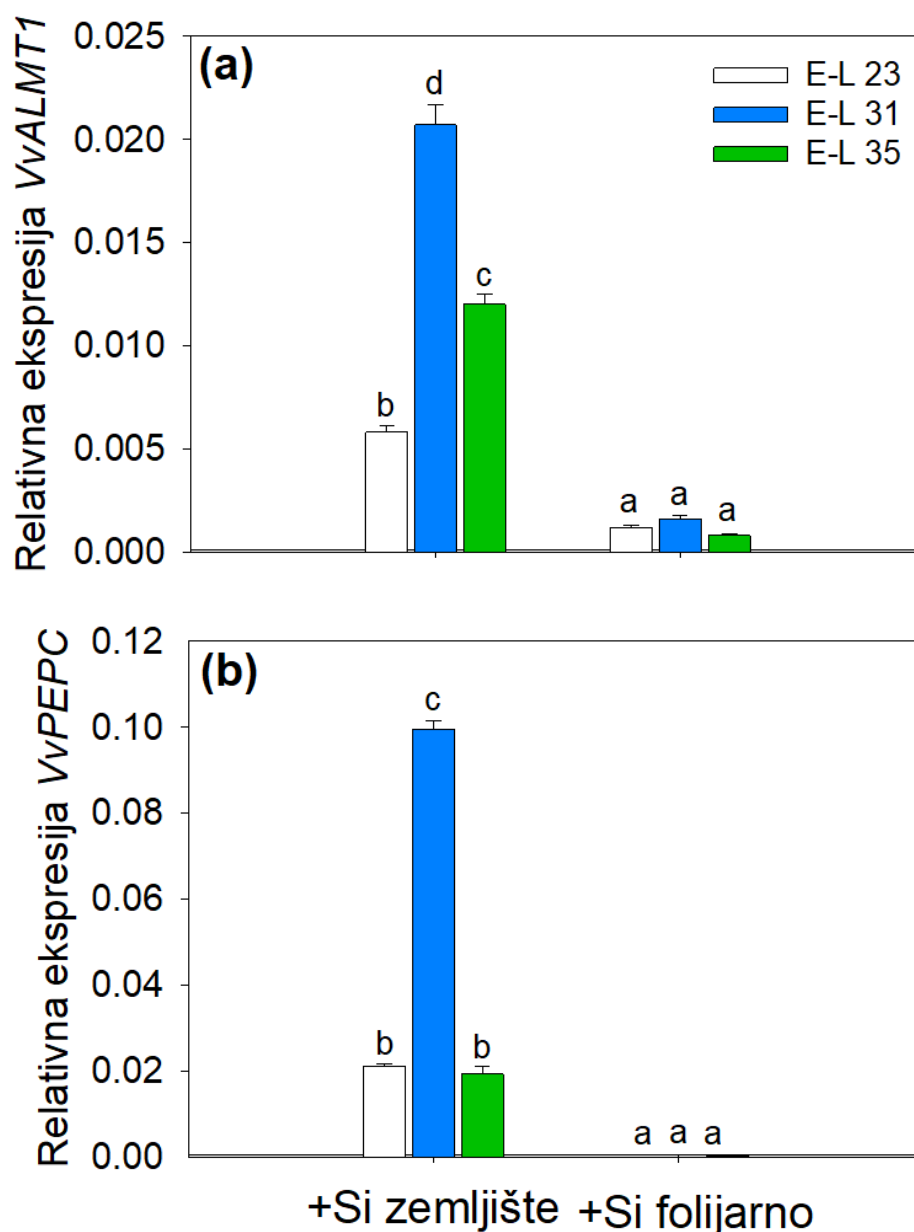
Fenofaza	Tretman Si	Koncentracija dostupnog Si (mg kg^{-1})		Relativni ΔSi (%)
		Okolno zemljište	Rizosferno zemljište	
E-L 23	Zemljište	98 \pm 1,9c	65 \pm 3,9d	34
	Folijarno	64 \pm 0,54a	47 \pm 2,8a	27
E-L 31	Zemljište	92 \pm 9,8bc	59 \pm 4,5bc	36
	Folijarno	68 \pm 1,2a	58 \pm 0,74b	15
E-L 35	Zemljište	85 \pm 2,7b	63 \pm 1,7cd	26
	Folijarno	67 \pm 1,7a	57 \pm 0,26b	15

4.3.3. Sezonska dinamika izlučivanja karboksilata iz korena vinove loze

Kod biljaka gde je đubrenje Si izvedeno preko zemljišta najniži efluks citrata zabeležen je u fenofazi cvetanja (E-L 23; 3,1 $\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ suve mase korena), zatim se znatno povećao u fenofazi bobice veličine zrna graška (E-L 31; 14,9 $\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ suve mase korena) i ponovo opao u fenofazi šarka (E-L 35; 11,3 $\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ suve mase korena) (Slika 25a). Kod biljaka gde je Si primenjen folijarno, efluks citrata je u fenofazama cvetanja (E-L 23) i bobica veličine zrna graška (E-L 31) pokazao iste vrednosti (2,8 $\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ suve mase korena), koje se nisu značajno razlikovale od efluksa citrata kod biljaka đubrenih Si preko zemljišta u fazi cvetanja (E-L 23) (Slika 25a). U fenofazi šarka (E-L 35) je kod biljaka sa folijarnom primenom Si zabeleženo povećanje efluksa citrata (12 $\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ suve mase korena), što je odgovaralo efluksu citrata u fenofazi šarka (E-L 35) kod biljaka gde je Si primenjen preko zemljišta (Slika 25a). Efluks malata bio je nekoliko puta viši od efluksa citrata (Slika 25b), sa istim trendom kod oba načina đubrenja Si: najviši efluks zabeležen je u fenofazi bobice veličine zrna graška (E-L 31). U toj fenofazi intenzitet izlučivanja malata je u proseku bio viši kod biljaka koje su đubrene Si preko zemljišta (43 $\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ suve mase) u odnosu na one koje su folijarno prskane Si (34 $\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ suve mase korena).



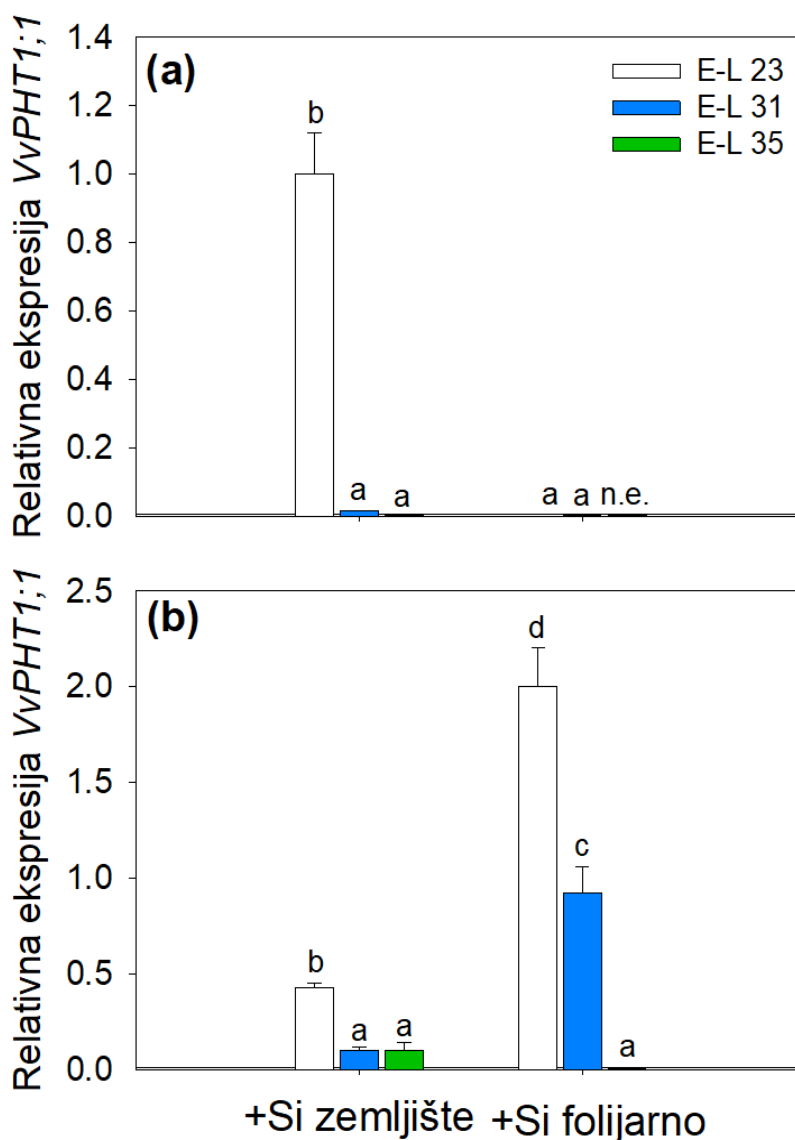
Slika 25. Efekat načina đubrenja Si (preko zemljišta i folijarno) na intenzitet izlučivanja citrata **(a)** i malata **(b)** iz korena vinove loze. E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su srednje vrednosti \pm standardna devijacija (SD). Različita slova označavaju statistički značajne razlike ($\alpha = 0,05$, *Tukey HSD* test, jednofaktorska ANOVA).



Slika 26. Efekat načina đubrenja Si (preko zemljišta i folijarno) na relativnu ekspresiju gena *VvALMT1* (a) i *VvPEPC* (b) u korenu vinove loze). E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su srednje vrednosti \pm standardna devijacija (SD). Različita slova označavaju statistički značajne razlike ($\alpha = 0,05$, *Tukey HSD* test, jednofaktorska ANOVA).

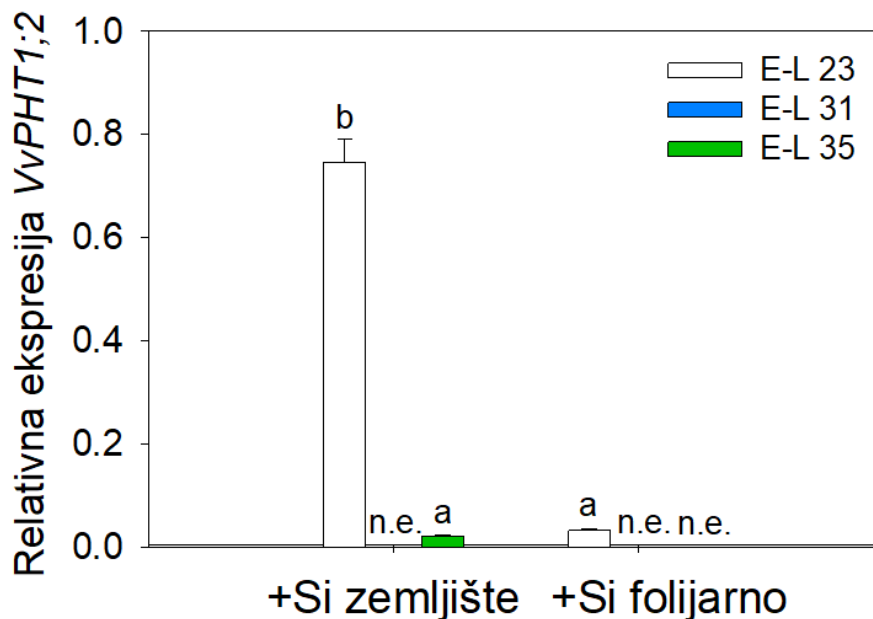
4.3.5. Ekspresija *VvPHT1* gena u korenu i listu vinove loze

Četiri analizirana *VvPHT1* gena, koji kodiraju PHT1 familiju transportera Pi, bili su različito eksprimirani u zavisnosti i od fenofaze i od načina primene Si, kao i od organa – koren ili list (Slike 27-29).



Slika 27. Efekat načina đubrenja Si (preko zemljišta i folijarno) na relativnu ekspresiju gena *VvPHT1;1* u korenu (a) i listu (b) vinove loze; n.e. – nije ekspimirano. E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su srednje vrednosti \pm standardna devijacija (SD). Različita slova označavaju statistički značajne razlike ($\alpha = 0,05$, Tukey HSD test, jednofaktorska ANOVA).

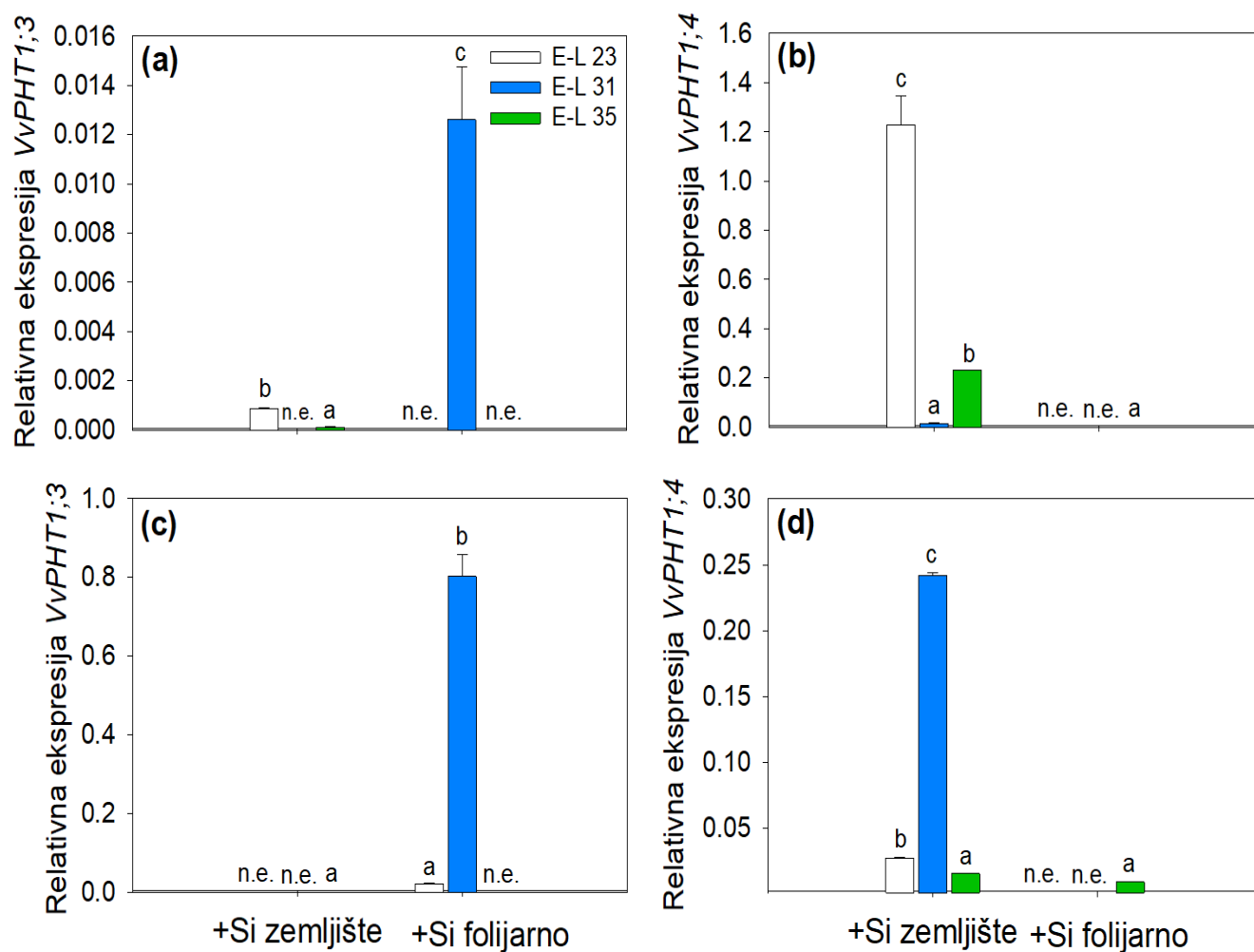
Najviši nivo ekspresije *VvPHT1;1* u korenu vinove loze zabeležen je u fenofazi cvetanja (E-L 23) u tretmanu gde je Si dodavan preko zemljišta (Slika 27a). U narednim fenofazama, u oba načina primene Si, nivo ekspresije ovog gena u korenu je višestruko opao i nije se razlikovao među fenofazama. Ekspresija ovog gena u listu je pak pokazala drugačiji obrazac: iako je nivo ekspresije i u listu bio ubedljivo najviši u fenofazi cvetanja, taj maksimum je dostignut u tretmanu folijarne primene Si (Slika 27b), a ne primene preko zemljišta kao u korenu. Osim toga, ekspresija *VvPHT1;1* u listu drugačije se menjala po fenofazama u zavisnosti od načina primene Si: pri folijarnoj primeni Si postepeno je opadala od cvetanja ka šarku, dok je pri zemljišnoj primeni najviša bila u fenofazi cvetanja (E-L 23), zatim opala do fenofaze bobice veličine zrna graška (E-L 31) i zadržala se na istom nivou i u fenofazi šarka (E-L 35) (Slika 27b).



Slika 28. Efekat načina đubrenja Si (preko zemljišta i folijarno) na relativnu ekspresiju gena *VvPHT1;2* u listu vinove; n.e. – nije ekspimirano. E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su srednje vrednosti \pm standardna devijacija (SD). Različita slova označavaju statistički značajne razlike ($\alpha = 0,05$, Tukey HSD test, jednofaktorska ANOVA).

Dok *VvPHT1;2* nije uopšte bio ekspimiran u korenu vinove loze, njegov relativni nivo ekspresije u listu bio je najviši u fenofazi cvetanja kod tretmana đubrenja Si preko zemljišta (30 puta viši nivo relativne ekspresije u odnosu na fenofazu šarka), dok u fenofazi bobice veličine zrna graška ovaj gen nije bio ekspimiran (Slika 28). Kod folijarne primene Si, *VvPHT1;2* je bio ekspimiran samo u fenofazi cvetanja (E-L 23), ali je nivo njegove relativne ekspresije bio približno 20 puta manji u odnosu na nivo ekspresije ovog gena kod tretmana Si preko zemljišta, u istoj fenofazi (Slika 28).

Relativna ekspresija gena *VvPHT1;3a* je i u korenu i u listu vinove loze bila ubedljivo najviša u fenofazi bobice veličine zrna graška (E-L 31) pri folijarnom đubrenju Si (Slika 29a, c). Sa druge strane, kada je Si bio primenjen preko zemljišta ovaj gen je bio ekspimiran samo u fenofazi šarka (E-L 35) u listu, a u korenu veoma slabo, i to samo u fenofazi cvetanja (E-L 23) i fenofazi šarka (E-L 35). Nasuprot *VvPHT1;3a*, gen *VvPHT1;4a* bio je drastično jače ekspimiran u tretmanima primene Si preko zemljišta nego folijarno, i u korenu i u listu (Slika 29b, d). Maksimum ekspimiranosti pri zemljišnoj primeni Si ovaj gen je pokazao u fenofazi cvetanja (E-L 23) u korenu, a u kasnijoj, fenofazi bobice veličine zrna graška (E-L 31) u listu (Slika 29b, d).



Slika 29. Efekat načina đubrenja Si (preko zemljišta i folijarno) na relativnu ekspresiju gena *VvPHT1* u korenu (**a, b**) i listu (**c, d**) vinove loze. *VvPHT1;3a* (**a, c**); *VvPHT1;4a* (**b, d**); n.e. – nije eksprimirano. E-L 23 – fenofaza cvetanja; E-L 31 – fenofaza bobice veličine zrna graška; E-L 35 – fenofaza šarka. Prikazane su srednje vrednosti \pm standardna devijacija (SD). Različita slova označavaju statistički značajne razlike ($\alpha = 0,05$, Tukey HSD test, jednofaktorska ANOVA).

5. Diskusija

5.1. Sezonske promene u efikasnosti usvajanja i iskorišćavanja fosfora kod vinove loze

Koncentracija P u listovima vinove loze sorte Šardone, kalemljene na podlogu Kober 5BB (Slika 10a), pokazala je tipičan sezonski trend kod vinove loze (Benito *et al.*, 2013); opadanje koncentracije P u listovima od fenofaze cvjetanja (E-L 23) do fenofaze šarka (E-L 35). U uslovima adekvatne snabdevenosti P, vinova loza ispoljava najveće potrebe za P tokom fenofaze cvjetanja (E-L 23), koje se smanjuju tokom fenofaze porasta bobica (bobice veličine zrna graška; E-L 31), a zatim blago povećavaju u fenofazi šarka (E-L 35) (Zhang *et al.*, 2016b), što je u saglasnosti sa našim rezultatima dobijenim u +P tretmanu (Slika 10a). Kod višegodišnjih drvenastih biljaka, usvajanje hranljivih elemenata u količinama koje prevazilaze trenutne fiziološke potrebe dovodi do njegovog privremenog skladištenja u pojedinim biljnim organima, kao što su koren, stablo i seme, što se može odraziti na niže koncentracije hranljivih elemenata u listovima (Brunetto *et al.*, 2020). U tom kontekstu, kod vinove loze koncentracija P u listovima ne zavisi isključivo od njegovog usvajanja iz zemljišta, već i od unutrašnje preraspodele prethodno akumuliranog P iz korena, stabla i zrelih lastara, kao i od prisustva i broja grozdova. Zbog uticaja različitih faktora okoline (npr. količina padavina), agrotehničkih mera i genetičkih osobina (koje su kod kalemljene vinove loze rezultat specifične kombinacije plemke i podloge), koncentracija P u listu vinove loze može značajno varirati. Posledično, nije neuobičajeno da se u vinogradima sa naizgled normalnim vegetativnim rastom detektuju vrednosti hranljivih elemenata koje odstupaju od standardnih vrednosti objavljenih u literaturi (Arrobas *et al.*, 2014). Takođe, u literaturi ne postoji jedinstven stav o kritičnoj koncentraciji P u listu vinove loze (bez peteljki); navedene granične vrednosti kreću se od 1,5 g P kg⁻¹ (Goldammer, 2020) do 2,5 g P kg⁻¹ (Bergmann, 1992) u fenofazi cvjetanja (E-L 23), koja predstavlja kritičnu fenofazu. U istraživanju koje su sprovedli Stefanello *et al.* (2023) utvrđene su kritične vrednosti P u listu za različite sorte vinove loze. U njihovom radu, za sorte Burgundac crni i Šardone, tokom fenofaze cvjetanja (E-L 23) kritični nivo P u listu iznosio je 1,63 g P kg⁻¹, dok se raspon koncentracija P 1,60-1,66 g P kg⁻¹ navodi kao kao optimalan i za crne i za bele sorte. Tokom fenofaze šarka (E-L 35), predložene su različite vrednosti za crne i bele sorte (1,12 g P kg⁻¹ kritični nivo; 1,08-1,16 g P kg⁻¹ optimalni raspon koncentracije za Šardone i 1,38 g P kg⁻¹ kritični nivo; 1,31-1,42 g P kg⁻¹ optimalni raspon koncentracije za Burgundac crni). Koncentracije P u listu koje su zabeležene u našem istraživanju u oba tretmana (-P i +P) premašivale su kritične koncentracije koje navodi više izvora (npr. Bates *et al.*, 2008; Goldammer, 2020; Stefanello *et al.*, 2023), što ukazuje na visok nivo efikasnosti usvajanja P kod vinove loze gajene u uslovima niskog sadržaja dostupnog P u zemljištu. Koncentracije K u listu, makroelementa od ključnog značaja za prinos vinove loze i kvalitet vina (Slika 10b), bile su u okviru tipičnih optimalnih vrednosti (Poni *et al.*, 2003). Takođe, koncentracije izabranih makro- (Ca, Mg, S, Tabela 6) i mikroelemenata (Fe, Cu, Mn, Zn, Tabela 7) u listu vinove loze su bile u okviru optimalnih vrednosti (Bergmann, 1992; Melo *et al.*, 2018).

Kritična vrednost dostupnog P u zemljištu predstavlja prag ispod kojeg se očekuje da će dodatna primena fosfatnog đubriva povećati prinos useva, dok iznad te vrednosti dodatna primena P pokazuje minimalan efekat. Ove vrednosti se razlikuju između useva zbog njihovih različitih potreba za P (Tang *et al.*, 2009). Takođe, istraživanja su pokazala da sorta Šardone ima niže potrebe za P u poređenju sa drugim sortama vinove loze, što sugeriše da je neophodno definisati specifične standarde ne samo za vrstu, već i za svaku sortu ponaosob (Skinner *et al.*, 1988; Rozane *et al.*, 2020; Stefanello *et al.*, 2023). Strategija mobilizacije neorganskog P (Pi) u rizosferi zasnovana na oslobađanju karboksilata ima ključnu ulogu u prirodnim ekosistemima kada P ograničava rast i produktivnost biljaka (Lambers, 2022). Različite biljne vrste pokazuju različit profil organskih kiselina u svojim izlučevinama iz korena (eksudatima), kao odgovor na nedostatak Pi. Kod bele lupine, citrat koji se izlučuje iz proteoidnih korenova ima ključnu ulogu u mobilizaciji Pi vezanog za Fe-P komplekse (Gardner *et al.*, 1983).

Istraživanja su takođe pokazala da efikasniji genotipovi i vrste tolerantne na stres izazvan nedostatkom P proizvode veće količine organskih kiselina u poređenju sa manje efikasnim genotipovima (Gahoonia *et al.*, 2000; Narang *et al.*, 2000; Hinsinger, 2001; Zhang *et al.*, 2011; Zhou *et al.*, 2012).

Do sada je u literaturi dostupno vrlo malo podataka o izlučivanju karboksilata iz korena vinove loze koji se javljaju kao odgovor na nedostatak P u poljskim uslovima. U našim istraživanjima, koja su sprovedena u uslovima niskog nivoa Pi u zemljištu (*Eksperiment 1*), dominantna vrsta karboksilata koju su izlučivali korenovi vinove loze (podloga Kober 5BB) bili su citrat i naročito malat, čiji je intenzitet eksudacije bio deset puta veći u odnosu na citrat (Slika 13a, b). Istraživanje koja su sprovedeli Gautier *et al.* (2021) u uslovima hidropona ukazalo je da povećana akumulacija malata u tkivima korena može doprineti većoj efikasnosti usvajanja P kod loznih podloga. Naši rezultati pokazuju da je izlučivanje citrata i malata iz korena bilo veće kod biljaka u –P tretmanu, izuzev citrata u fenofazi cvetanja (E-L 23), kada nije uočena statistički značajna razlika između –P i +P tretmana (Slika 13a). Izlučivanje karboksilata iz korenova vinove loze u –P tretmanu povećavalo se od fenofaze cvetanja (E-L 23) do fenofaze šarka (E-L 35), sa maksimumom u fenofazi bobice veličine zrna graška (E-L 31) (Slika 13a, b), periodu koji karakterišu visoke potrebe za P i intenzivno korišćenje rezervi akumuliranog P (Doolette *et Smernik* 2016). Pored toga, koncentracije organskih kiselina u tkivu korena nisu nužno u korelaciji sa količinama karboksilata koje se izlučuju u rizosferu kod svih biljnih vrsta. Tako na primer, pšenica i paradajz izlučuju veoma male količine anjona organskih kiselina, iako u uslovima nedostatka P akumuliraju povećane koncentracije organskih kiselina unutar ćelija (López-Arredondo *et al.*, 2014). Ovo ukazuje da je proces izlučivanja karboksilata iz korena regulisan aktivnošću specifičnih transportera efluks tipa (López-Arredondo *et al.*, 2014), što potvrđuje povezanost između pojačane ekspresije odgovarajućih gena i povećanog izlučivanja karboksilata u rizosferu u našem istraživanju (Slike 13a, b i 14a, b). Anjonski kanal ALMT1 odgovoran je za pojačanu eksudaciju malata u uslovima prisustva aluminijuma (Al^{3+}) odnosno nedostatka P kod brojnih biljnih vrsta (Sasaki *et al.*, 2006; Delhaize *et al.*, 2009; Zhou *et al.*, 2020). Ovaj anjonski kanal je takođe propustan i za citrat (Piñeros *et al.*, 2008). Obrazac ekspresije *VvALMT1* u našem poljskom eksperimentu pratio je dinamiku eksudacije karboksilata, pri čemu je maksimalni nivo ekspresije ovog gena zabeležen u fenofazi bobice veličine zrna graška (Slike 13a, b i 14a).

Povećana ekspresija gena koji kodiraju PEPC u biljkama vinove loze izloženim nedostatku P povezana je sa biosintezom i eksudacijom anjona organskih kiselina iz korena (Slike 13a, b i 14b). Ovaj anaplerotički put omogućava dopunu intermedijera Krebsovog ciklusa stvaranjem oksaloacetata, koji se zatim redukuje u malat delovanjem enzima malat dehidrogenaze (MDH), čime se obezbeđuje kontinuitet ciklusa uprkos povlačenju organskih kiselina za metaboličke procese i njihovo izlučivanje u rizosferu (Neumann *et Römheld*, 1999; videti Sliku 2). Covarrubias *et Rombolà* (2015) su zabeležili povećanu aktivnost PEPC kod podloga vinove loze tolerantnih na hlorozu izazvanu nedostatkom Fe, praćenu povišenim koncentracijama organskih kiselina u korenu, posebno limunsku i vinsku kiselinu. U našem istraživanju, ekspresija *VvPEPC* bila je pojačana u korenu biljaka iz –P tretmana u fenofazi cvetanja (E-L 23), a naročito u fenofazi porasta bobica do veličine zrna graška (E-L 31) (Slika 14b), što se poklapa sa povećanom eksudacijom karboksilata u ovim fenofazama (Slika 13a, b). Izraženi pad nivoa ekspresije *VvPEPC* koji je zabeležen u fenofazi šarka (E-L 35), može se pripisati visokim koncentracijama malata koji inhibira aktivnost enzima PEPC (Wedding *et al.*, 1990; Chollet *et al.*, 1996). Povećano izlučivanje karboksilata poklapalo se sa značajnim smanjenjem sadržaja kako frakcija Pi ekstrahovanih sa $NaHCO_3$ (dostupnih biljci), tako i onih ekstrahovanih sa NaOH (slabo dostupnih biljci) u rizosfernom zemljištu (Slika 11b, c). Ranija istraživanja pokazala su da trošenje različitih rezervi Pi u rizosferi zavisi od biljne vrste, tipa zemljišta i nivoa đubrenja P (Gahoonia *et Nielsen* 1998; Wang *et al.*, 2008; Rose *et al.*, 2009). Naši rezultati ukazuju na to da se vinova loza u poljskim uslovima može svrstati u P-efikasne vrste, sposobne da koriste sve frakcije Pi iz zemljišta (Slika 11), što je u skladu sa rezultatima ranijih istraživanja za jednogodišnje useve, kao što su uljana repica, pšenica, bob, leblebija i bela lupina (Pearse

et al., 2006; Wang *et al.*, 2008; Rose *et al.*, 2009). Izraženo trošenje labilnih frakcija Pi (ekstrahovanih sa H₂O i NaHCO₃) kod vinove loze đubrene P bilo je očekivano, budući da ove labilne Pi frakcije u velikoj meri zavise od snabdevenosti P i da ih različite biljne vrste lako iskorišćavaju (npr. Wang *et al.*, 2008). Međutim, slabije smanjenje ovih Pi frakcija kod biljaka iz –P tretmana u poređenju sa biljkama đubrenim P (+P) uglavnom se pripisuje smanjenoj dostupnosti NaHCO₃-ekstrahovanog Pi u neđubrenom zemljištu (Tabela 9). Nasuprot tome, biljke vinove loze izložene nedostatku P efikasno su koristile NaOH-ekstrahovanu Pi frakciju (Slika 11c), što ukazuje na to da su i citrat i malat sposobni da mobilišu Pi vezan za okside/hidrokside Fe i Al putem mehanizma razmene liganada (Gerke *et al.*, 1994). Iskorišćavanje HCl-ekstrahovane Pi frakcije (vezane za Ca-fosfate) u rizosferi iznosilo je polovinu do trećinu vrednosti zabeleženih za ostale Pi frakcije i nije se značajno razlikovalo između neđubrenih i đubrenih zemljišta. Ovi rezultati su u saglasnosti sa nalazima Wang *et al.* (2008) o efikasnom iskorišćavanju HCl-ekstrahovanog Pi u rizosfernom zemljištu kod pšenice i bele lupine. Dostupnost HCl-ekstrahovanog Pi povezana je sa rastvaranjem jedinjenja Ca-P usled zakišeljavanja rizosfere, procesa koji nije uočen u rizosferi vinove loze u našim istraživanjima (Tabela 8), niti čak u rizosferi leguminoza u istraživanju Wang *et al.* (2008), što je verovatno posledica intenzivnog usvajanja NO₃⁻ jona koje dovodi do trošenja protona i stoga povećanja pH vrednosti u rizosferi.

Naši rezultati pokazuju da su relativni nivoi ekspresije *VvPHT1;1* i *VvPHT1;4* u korenu vinove loze bili značajno viši kod biljaka iz –P tretmana u poređenju sa +P biljkama (Slika 15a, e). Iako je poznato da je većina PHT1 transportera negativno regulisana u uslovima adekvatne snabdevanosti P (npr. Misson *et al.*, 2004; Sun *et al.*, 2017a; Chang *et al.*, 2019), specifična uloga i sezonski uslovljena regulacija pojedinačnih PHT transportera još uvek nisu u potpunosti razjašnjene. Svega nekoliko istraživanja do sada se bavilo efektima nedostatka P na ekspresiju gena iz porodice *PHT1* kod vinove loze (Valat *et al.*, 2018; Gautier *et al.*, 2020; 2021). U kratkoročnom eksperimentu u hidroponu, Gautier *et al.*, (2021) utvrdili su da geni *VvPHT1;1*, *VvPHT1;3* i *VvPHT1;4* reaguju na nivoje različite snadevenosti Pi, kao i da se odgovor na nizak nivo dostupnog Pi razlikuje između genotipova vinove loze (*Vitis vinifera*, Burgundac crni i *V. berlandieri* × *V. rupestris*, 1103P), kao i između njihovih recipročnih kalemova. U našem dugoročnom poljskom istraživanju, plemka *Vitis vinifera*, Šardone bila je kalemljena na loznu podlogu *V. berlandieri* × *V. riparia*, Kober 5BB. Ekspresija gena *VvPHT1;1* i *VvPHT1;4a* u korenu bila je pojačana u uslovima nedostatka P, uz izraženu sezonsku dinamiku (Slika 15a, e); ekspresija *VvPHT1;1* dostizala je maksimum u fenofazi cvetanja (E–L 23), dok je ekspresija *VvPHT1;4a* bila najviša tokom porasta bobica, odnosno u fenofazi bobica veličine zrna graška (E–L 31). *VvPHT1;3a* transporteri u našem istraživanju bili su esprimirani u korenu podloge isključivo u –P biljkama, sa najvišim nivoom ekspresije u fenofazi šarka (E–L 35) (Slika 15c).

U listu plemke, ekspresija *VvPHT1;3a* bila je detektovana isključivo u fazi cvetanja (E–L 23) (Slika 15d). Do sada je vremenska regulacija ekspresije PHT transportera u ranijim istraživanjima opisana samo kod jednogodišnjih biljaka (npr. Liu *et al.*, 2011; Grün *et al.*, 2017; Kurita *et al.*, 2022). Tako je, na primer, kod pšenice gajene u poljskim uslovima utvrđeno da se ekspresija *TaPHT1;1* povećava od fenofaze bokorenja do fenofaze izduživanja stabla, nakon čega opada u fenofazama vlatanja i cvetanja, dok nivo ekspresije *TaPHT1;8* ostaje visok tokom bokorenja i izduživanja stabla, opada u fenofazi potpunog vlatanja, ponovo se povećava tokom cvetanja, a zatim se smanjuje u fenofazi mlečne zrelosti zrna (Grün *et al.*, 2017). Sezonske promene u gustini transkripata gena iz porodice *PHT1* uočene u ovom istraživanju ukazuju na to da je usvajanje Pi kod neđubrene vinove loze gajene na zemljištima sa niskim sadržajem dostupnog P posredovano različitim PHT1 transporterima u zavisnosti od fenofaze. *VvPHT1;1* ima dominantnu ulogu u ranim, a *VvPHT1;3a* i *VvPHT1;4a* u kasnijim fenofazama. Tako se tokom cvetanja (E–L 23) Pi pretežno usvaja putem transportera *VvPHT1;1* (Slika 15a), dok se tokom porasta bobica u fenofazi kada bobice dostižu veličinu zrna graška (E–L 31), u uslovima odložene mobilizacije Pi u rizosferi, *VvPHT1;4a* doprinosi pojačanom usvajanju Pi (Slika 15e), dok *VvPHT1;3a* utiče na usvajanje Pi u fenofazi šarka (E–L 35) (Slika 15c).

Imajući u vidu da je vinova loza poznata kao mikorizna biljka, uloga arbuskularnih mikoriznih gljiva u usvajanju Pi u poljskim uslovima se ne može zanemariti. Poznato je da ekspresija gena iz porodice *PHT1* može biti transkripciono indukovana u korenovima kolonizovanim AMF, što je pokazano kod više biljnih vrsta (Wipf *et al.*, 2019, i literatura citirana u tom radu; Wu *et al.*, 2022). Međutim, osnovni regulatorni mehanizmi ovog procesa i dalje su nedovoljno razjašnjeni, naročito kod vinove loze. Valat *et al.* (2018) su pokazali da je relativna ekspresija gena *VvPHT1;1* i *VvPHT1;2* u korenu podloge 41B MGt (*V. vinifera*, Šasla × *V. berlandieri*) bila viša kod biljaka inokulisanih arbuskularnom mikoriznom gljivom *Funneliformis mosseae* u poređenju sa neinokulisanim biljkama. Međutim, taj eksperiment je sproveden u uslovima adekvatne snabdevanosti P, dok je naše zemljište bilo ekstremno siromašno, kako u ukupnom, tako i u dostupnom P (videti Tabelu 1). Stoga ostaje otvoreno pitanje da li je pojačana ekspresija gena *VvPHT1;1* i *VvPHT1;4a* u korenu u našem istraživanju isključivo posledica niske dostupnosti P ili je dodatno podstaknuta kolonizacijom arbuskularnim mikoriznim gljivama, što zahteva dalja istraživanja.

Snažan uticaj plemke na odgovor korena podloge na nizak nivo P opisan je prvi put u radovima koje su publikovali Gautier *et al.* (2018; 2021), te se ovaj efekat ne može isključiti ni u okviru našeg poljskog istraživanja. Naime, dok je ekspresija *PHT1;1* u listovima plemke (Šardone) u uslovima –P pratila njegovu pojačanu ekspresiju u korenu podloge (Kober 5BB) tokom fenofaze cvetanja (E-L 23) (Slika 15a, b), *PHT1;4a* je pokazao suprotan obrazac: bio je slabo eksprimiran u listovima –P biljaka, dok je njegova ekspresija bila snažno indukovana dodavanjem P đubriva (Slika 15f). Naši rezultati ukazuju da različiti *PHT1* transporteri posreduju translokaciji Pi u nadzemnim organima, u zavisnosti od uslova snabdevenosti biljaka P (–P i +P). Štaviše, naši rezultati pokazuju da, uprkos ograničenoj dostupnosti Pi u zemljištu, kalemljena vinova loza efikasno održava koncentraciju P u listovima u kasnijim fenofazama, na nivou uporedivom sa biljkama koje rastu u uslovima adekvatne snabdevenosti P. U uslovima adekvatne snabdevenosti P, najveći deo usvajanja Pi iz zemljišta odvija se nekoliko nedelja pre ili nakon cvetanja, dok se u periodu od šarka do završetka vegetacije vinove loze Pi ponovo usvaja i transportuje se ka drvenastim organima, radi obnavljanja rezervi P za narednu vegetacionu sezonu, posebno narednu fenofazu cvetanja (Schreiner *et al.*, 2006; Arrobas *et al.*, 2014; Doolette *et al.* Smernik 2016). Sezonska dinamika mobilizacije i usvajanja Pi u uslovima nedostatka P kod vinove loze do sada je bila nedovoljno istražena. Naša istraživanja su prva koja ukazuju na značaj kontinuirane mobilizacije Pi iz rizosfere vinove loze posredstvom karboksilata, kao i njegovog sukcesivnog usvajanja putem transportera iz porodice *PHT1*, tokom perioda intenzivnog porasta lastara i razvoja bobica, od fenofaze cvetanja (E-L 23) do fenofaze šarka (E-L 35), kada unutrašnje rezerve P, intenzivno korišćene pre ili tokom cvetanja, u biljkama vinove loze izloženim nedostatku P bivaju znatno iscrpljene.

5.2. Uticaj đubrenja silicijumom na procese mobilizacije i usvajanja fosfora kod vinove loze

Interakcije između P i Si široko su istraživane kod različitih gajenih biljnih vrsta, kako na nivou zemljišta/rizosfere u poljskim i eksperimentima u sudovima sa zemljištem, tako i na nivou biljke, mahom u kontrolisanim eksperimentima u hidroponima i sudovima sa zemljištem (pregledni radovi: Hu *et al.*, 2021; Pavlović *et al.*, 2021). Prema našim saznanjima, do sada nisu dostupni podaci o interakcijama Si i P kod vinove loze, naročito u poljskim uslovima i tokom vegetacionog perioda. U našem istraživanju, primena Si u obliku silicijumske kiseline preko zemljišta rezultirala je povećanjem koncentracije P u listovima (Slika 16a), do nivoa uporedivih sa onima u biljkama đubrenim P (+P), i to u kritičnim fenofazama, cvetanju (E-L 23) i porastu bobica do veličine zrna graška (E-L 31). Međutim, u fenofazi šarka (E-L 31), +P biljke imale su značajno višu koncentraciju P u listovima u poređenju sa kontrolom (bez đubrenja sa oba elementa) i u tretmanu đubrenja Si (+Si) (Slika 16a). Dodavanje Si takođe je izazvalo povećanje P u listu ponika hrasta lužnjaka, gajenih u laboratorijskim uslovima na vrlo sličnom zemljištu, pri čemu nije bilo detektovano uspostavljanje mikorize (Kostić *et al.*, 2023). U tom radu

pokazano je da đubrenje Si u uslovima nedostatka P, u kontrolisanim uslovima, može da izazove kompleksne promene u akumulaciji ostalih esencijalnih elemenata u listu (Ca, Mg, Cu i Mn), što u našim poljskim uslovima nije moglo biti jasno utvrđeno (Tabele 6, 7, 14 i 15). Dakle, ni kod vinove loze (naša istraživanja), kao ni kod hrasta lužnjaka (Kostic *et al.*, 2023) dodavanje Si nije uticalo na koncentracije K, S i Zn u listu.

Povećanje koncentracije P u listovima +Si biljaka bilo je praćeno pojačanom ekspresijom gena koji kodiraju fosfatne transportere, kako u korenu, tako i u listovima (Slike 21, 22, 23). U korenu, relativni nivo ekspresije gena *VvPHT1;1* u +Si biljkama bio je preko 30 puta viši u fenofazi cvetanja (E-L 23) i porasta bobica (veličine zrna graška (E-L 31)) u odnosu na kontrolu (Slika 21a). Iako je u šarku (E-L 35) relativni nivo ekspresije *VvPHT1;1* u korenu kontrolnih biljaka (-P, -Si) naglo opao, dostigavši nivo uporedive sa tretmanom +P, nivoi ekspresije u +Si biljkama i dalje su ostali visoki (Slika 21a). Uočeni pad koncentracije P u listovima vinove loze od cvetanja (E-L 23) do šarka (E-L 35) (Slika 16a) u saglasnosti je sa našim prethodno prikazanim rezultatima (Slika 10a), kao i rezultatima ranijih istraživanja (Benito *et al.*, 2013). Kao što je već pomenuto, vinova loza ispoljava visoke potrebe za P tokom ranih fenofaza (posebno u cvetanju), nakon čega dolazi do unutrašnje preraspodele P između korena, stabla, odrvenelih lastara i bobica u kasnijim fenofazama (Doolette *et Smernik* 2016). Dosadašnja istraživanja pokazala su da efekat Si na ekspresiju gena iz porodice *PHT1* kod različitih biljnih vrsta zavisi od dostupnosti Pi. Na primer, kod pšenice (Kostic *et al.*, 2017), ječma (Kandhol *et al.*, 2024) i pirinča (Jiang *et al.*, 2025), primena Si dovela je do povećane ekspresije gena *PHT1;1* u uslovima nedostatka P. Nasuprot tome, pri visokoj snabdevenosti P, dodavanje Si je smanjilo ekspresiju gena *OsPHT1;6* kod pirinča (Hu *et al.*, 2018). Rezultati dobijeni u našem poljskom istraživanju u saglasnosti su sa navedenim obrascem: u uslovima nedostatka P u zemljištu, đubrenje Si dovelo je do pojačane ekspresije *VvPHT1;1* u korenu, dok je đubrenje P dovelo do smanjene ekspresije ovog gena u odnosu na kontrolu (Slika 21a).

U listovima je ekspresija *VvPHT1;1* takođe bila povećana u +Si tretmanu u poređenju sa +P biljkama, uprkos sličnim koncentracijama P u listovima u oba tretmana. Međutim, nivo relativne ekspresije *VvPHT1;1* kod +Si biljaka bio je ipak niži nego kod neđubrenih, kontrolnih biljaka (-P, -Si), gde je pojačana ekspresija gena u listu plemke (Šardone) preslikavala njegovu pojačanu ekspresiju u korenu podloge (Kober 5BB) tokom fenofaze cvetanja (E-L 23) (Slika 21). Iako je đubrenje Si dovelo do povećane ekspresije gena *VvPHT1;1* u korenu podloge u odnosu na kontrolu (Slika 21a), njegova relativna ekspresija u listovima plemke bila je niža nego u kontroli, ali ipak višestruko viša nego kod čokota đubrenih P (+P) (Slika 21b). Ovi rezultati ukazuju na to da pojačano usvajanje P u korenu +Si biljaka i dalje omogućava efikasan transport P ka nadzemnim organima, što je omogućilo da koncentracije P u listovima budu uporedive sa onima kod čokota đubrenih P, kod kojih je ekspresija gena *VvPHT1;1* bila smanjena i u korenu i u listovima (Slika 21). Pored ekspresije *VvPHT1;1*, i nivoi ekspresija *VvPHT1;3a* i *VvPHT1;4a* u korenu kao i *VvPHT1;2* i *VvPHT1;3a* u listu takođe su bili povišeni u +Si tretmanu, sa značajnim padom nivoa ekspresije sa dodatkom P (Slike 22, 23). Jedino povećanje nivoa ekspresije u +P tretmanu zabeleženo je kod *VvPHT1;4a* u listu vinove loze (Slika 23d).

Kao što je već ranije pomenuto, jedna od najčešćih adaptivnih strategija korena u uslovima nedostaka P jeste eksudacija karboksilata (Lambers *et al.*, 2022). Malat i citrat predstavljaju ključne karboksilate koji se najčešće navode kao odgovor korena na nedostatak P kod brojnih biljnih vrsta (Jones, 1998; Veneklaas *et al.*, 2003), uključujući i vinovu lozu (videti Sliku 12), kod koje je utvrđeno da je količina izlučenog malata u jedinici vremena višestruko veća u poređenju sa citratom (Slika 13). Ovi nalazi su dodatno potvrđeni mobilizacijom P iz frakcija Pi lako dostupnih biljkama (ekstrahovanih H₂O) i, naročito, iz labilnih neorganskih fosfatnih frakcija (ekstrahovanih NaHCO₃) u rizosfernom zemljištu (Tabela 9; Slika 11). U našem istraživanju (*Eksperiment 2*) pokazano je da je koren i kontrolnih i +Si biljaka izlučivao značajno veće količine malata i citrata u poređenju sa biljkama đubrenim P (Slika 19), što je u saglasnosti sa navodima da primena Si podstiče eksudaciju karboksilata kod biljaka gajenih u

uslovima nedostatka P, kao što su pšenica (Kostic *et al.*, 2017) i pirinač (Jiang *et al.*, 2025). Obrasci intenziteta izlučivanja malata i citrata (Slika 19) odgovarali su obrascima ekspresije *VvALMT1* (gena odgovornog za izlučivanje malata) i *VvPEPC* (gena uključenog u biosintezu karboksilata), pri čemu je maksimalna ekspresija oba gena zabeležena kod čokota đubrenih Si u fenofazi porasta bobica do veličine zrna graška (E-L 31) (Slika 20). Kod vinove loze je ranije pokazano da se aktivnost PEPC povećava kako u uslovima nedostatka Fe (Covarrubias *et Rombolà*, 2015), a u našim istraživanjima i da se relativna ekspresija *VvPEPC* povećava u uslovima nedostatka P (Slika 20). Shodno tome, može se zaključiti da primena Si podstiče kako biosintezu, tako i izlučivanje malata, najzastupljenijeg anjona u eksudatima korena vinove loze, koji ima ključnu ulogu u mobilizaciji Pi iz rizosfernog zemljišta. Pretpostavlja se da dodavanje Si u zemljište može da poveća dostupnost P preko više procesa, uključujući promene pH vrednosti, mobilizaciju P iz kompleksa sa Al i Fe/Mn, kao i smanjenu sorpciju P na mineralne čestice zemljišta usled kompeticije između fosfatnih i silikatnih anjona (npr. Schaller *et al.*, 2024). Međutim, ovi procesi u velikoj meri zavise ne samo od osobina zemljišta, već i od oblika primenjenog Si đubriva. U našem istraživanju u poljskim uslovima nije zabeležen neto porast koncentracije P u rizosferi zbog kontinuiranog usvajanja P od strane biljaka (Tabela 16). Umesto toga, uočene su jasne razlike u stepenu osiromašenja (utroška) Pi u rizosferi (ΔPi) između tretmana (Slika 18a), što je povezano sa različitom ekspresijom *VvPHT1;1* (Slika 21), koja direktno utiče na efikasnost usvajanja Pi (Mlodzinska *et Zboinska*, 2016). U fenofazi cvetanja (E-L 23), trošenje frakcije Pi ekstrahovane $NaHCO_3$ u zemljištu đubrenog Si bilo je značajno veće nego u neđubrenoj kontroli, ali manje nego u zemljištu đubrenom P (Slika 18a). Povećana sposobnost usvajanja P u uslovima ishrane Si može se pripisati kako pojačanoj mobilizaciji P iz rizosfernog zemljišta usled povećanog izlučivanja karboksilata (Slika 19), tako i povećanom usvajanju Pi u koren kao posledica pojačane ekspresije *VvPHT1;1* koji kodiraju fosfatne transportere (Slika 21a).

Koncentracija Si u listovima kontrolnih biljaka bila je značajno veća u poređenju sa biljkama đubrenim P u fenofazama cvetanja (E-L 23) i porasta bobica do veličine zrna graška (E-L 31) (Slika 16b). Ovi rezultati ukazuju na to da nedostatak P u zemljištu podstiče pojačanu mobilizaciju i usvajanje Si, što potvrđuje i veće osiromašenje frakcije dostupnog Si (ekstrahovanog sa $CaCl_2$) u rizosferi u odnosu na +P tretman (Slika 18b). Međutim, u fenofazi šarka (E-L 35), koncentracija Si u listovima više se nije značajno razlikovala između tretmana, što ukazuje na postojanje zasićenja u akumulaciji Si u listovima vinove loze, kako je to ranije pokazano kod sorte Silvanac gajene bez Si ili sa dodatkom Si u zemljište (Schaller *et al.*, 1990). Ekspresija gena *VvNIP2;1* koji kodiraju LS1 transporter za $Si(OH)_4$ (homolog OsLS1) u ćelijskim kulturama vinove loze sorte Game bojadiser nije zavisila od snabdevenosti Si, pri čemu je ostala na sličnom nivou ekspresije i u -Si i u +Si uslovima (Noronha *et al.*, 2020). Međutim, korišćenjem prajmera za *VvNIP2;1* koje su u svom radu naveli Noronha *et al.* (2020), u našim mnogobrojnim pokušajima i čak modifikacijama nije bilo moguće dobiti konzistentnu amplifikaciju ovog gena u tkivu korena podloge Kober 5BB. Stoga su potrebna dublja molekularna istraživanja da bi se ova naša pretpostavka potvrdila i na molekularnom nivou.

Trošenje dostupnog Si u rizosferi vinove loze pokazalo je obrazac koji je bio u skladu sa koncentracijom Si u listovima: najveći gradijent u koncentraciji dostupnog Si između okolnog i rizosfernog zemljišta (ΔSi) zabeležen je u zemljištu đubrenom Si, zatim u kontroli, dok su najmanje vrednosti utvrđene u zemljištu đubrenom P (Slika 18b). Ovaj obrazac pratilo je i izlučivanje malata i citrata iz korena (Slika 19). Pretpostavlja se da više procesa povezanih sa aktivnošću korena mogu uticati na dostupnost Si u rizosferi, uključujući odavanje H^+ , izlučivanje jedinjenja male molekulske mase (npr. karboksilata i fitosiderofora), oslobađanje CO_2 putem disanja korena, kao i mineralizacijom organske materije (Gattullo *et al.*, 2016; de Tombeur *et al.*, 2021; Yu *et al.*, 2024; Kostic *et al.*, 2025). Pored toga, *in vitro* istraživanje koje su sprovedli de Tombeur *et al.*, (2021) pokazalo je da sintetički karboksilati (oksalat, citrat i malat) mogu da ekstrahuju Si iz zemljišta, pojedinačnih minerala glina (hlorit i kaolinit), čistog kvarca, kao i kvarca pomešanog sa fitolitima dobijenim iz šećerne trske. Rezultati dosadašnjih

istraživanja ukazuju na to da poremećaji u mineralnoj ishrani mogu uticati na usvajanje Si kod biljaka, iako osnovni mehanizmi još uvek nisu u potpunosti razjašnjeni (Pavlović *et al.*, 2021). Tako je, na primer, povećana koncentracija Si u listovima u uslovima nedostatka P zabeležena kod trave *Holcus lanatus* L. (Minden *et al.*, 2020), kao i kod pšenice (Courbet *et al.*, 2021). Stoga se povećana akumulacija Si u listovima vinove loze, koja proizilazi iz pojačane mobilizacije Si iz zemljišta u zoni rizosfere usled pojačane eksudacije malata i citrata indukovanih nedostatkom P, može pripisati vrlo efikasnom odgovoru korena vinove loze na nedostatak P, uočenom u našem istraživanju (Slike 16b, 18b, 19). Međutim i u ovom slučaju, budući da je vinova loza mikorizna vrsta, uloga arbuskularne mikorize ne može se isključiti u poljskim uslovima, naročito imajući u vidu da je pokazano da primena Si može čak povećati efikasnost uspostavljanja arbuskularne mikorizne simbioze (Hajiboland *et al.*, 2018). Ovaj efekat može delovati dodatno u odnosu na povećanu eksudaciju karboksilata iz korena i pojačanu regulaciju transportera PHT1;1 kod +Si biljaka (Slika 19; 21a).

5.3. Efekt različitih načina primene silicijuma na ishranu fosforom i silicijumom kod vinove loze

Folijarna prihrana (odnosno folijarno đubrenje) podrazumeva primenu hranljivih elemenata (najvešće mikroelemenata), biljnih hormona, biostimulatora, drugih korisnih supstanci i pesticida direktno na listove i stabla biljaka. Folijarno tretiranje biljaka jedinjenjima na bazi Si relativno je novijeg datuma, a prema usvojenoj i još uvek važećoj definiciji, ta jedinjenja su prepoznata i klasifikovana kao biostimulatori u regulativi Evropske unije (Laane, 2018). U drugim regionima, izvan Evropske unije, Si se koristi kao mera za popravku zemljišta i ponekad se svrstava u kategoriju đubriva (npr. u Japanu). Dosadašnja istraživanja dosledno pokazuju da folijarna primena Si ima značajan pozitivan uticaj na kvantitativne i kvalitativne parametre prinosa kod brojnih poljoprivrednih biljnih vrsta gajenih u evropskim agroekosistemima (Artyszak, 2018; Laane, 2018; Artyszak *et al.*, 2021), a u skorije vreme primena Si u vinogradarstvu imala je pozitivan uticaj na hemijski sastav bobica i kvalitet vina (Sut *et al.*, 2022; Garde-Cerdán *et al.*, 2023).

S obzirom da je pokazano da je primena Si preko zemljišta u *Eksperimentu 2* poboljšala mobilizaciju Pi u rizosfernom zemljištu, njegovo usvajanje korenom i iskorišćavanje u nadzemnim organima (videti 5.2), postavljen je dodatni eksperiment, od značaja za vinogradarsku praksu, gde je upoređivana efikasnost primene Si u obliku $\text{Si}(\text{OH})_4$ preko lista (folijarna primena) u odnosu njegovu primenu preko zemljišta, sa ciljem da se utvrdi da li će folijarna primena Si imati isti efekat na ishranu vinove loze kao i đubrenje Si preko zemljišta. Pozitivni efekat folijarno primenjenog Si na vinovu lozu zabeležen je u više eksperimenata. Tako su na primer, Dinis *et al.* (2024) pokazali da folijarna primena silicijuma na sorti Turiga franka (*Touriga Franca*) povećava fiziološku otpornost vinove loze prema suši, tako što poboljšava fotosintetičku efikasnost, efikasnost korišćenja vode i biohemijski kvalitet listova i bobica, uz povećan sadržaj flavonoida i poboljšani kvalitet šire. Takođe, vina proizvedena od grožđa tretiranog monosilicijumovom kiselinom, gajenog u vinogradarskom području sa izraženim letnjim gljivičnim oboljenjima imala su niže koncentracije glukonske kiseline i glicerola, jedinjenja tipičnih za grožđe zahvaćeno sivom truleži (*Botrytis cinerea*) (Losada *et al.*, 2022). Nasuprot tome, Sut *et al.* (2022) ističu da Si indukuje sortno-specifične promene u sastavu bobica kod biljaka gajenih bez izraženog abiotičkog ili biotičkog stresa, pri čemu je Si folijarno primenjen na dve bele (Garganega i Šardone) i dve crne (Teroldego i Oseleta) sorte. Međutim, do sada postoji vrlo malo istraživanja dostupnih u literaturi koja su upoređivala efikasnost načina primene Si (preko zemljišta i folijarno) kod vinove loze. Na primer, folijarna primena Si je kod vinove loze značajno smanjila štetne efekte niskih temperatura na fotosintetsku aktivnost listova, dok primena Si preko zemljišta nije imala efekata, što se može pripisati fizičkoj ulozi Si deponovanog na površini listova (Habibi, 2015). Nasuprot tome, i folijarna i primena Si preko zemljišta bile su efikasne u ublažavanju stresa suše kod krompira, tako što su značajno povećale

sadržaj prolina i smanjile koncentraciju H_2O_2 kod biljaka izloženih suši u odnosu na kontrolne biljke bez primene Si (Pilon *et al.*, 2014). Koncentracije P u listovima vinove loze u *Eksperimentu 3* (Slika 24a) bile su značajno niže u folijarnom tretmanu Si u odnosu na tretman preko zemljišta u ključnim fenofazama (21% manje u cvetanju (E-L 23) i 23% manje tokom porasta bobica do veličine zrna graška (E-L 31)), i 28% u fenofazi šarka (E-L 35). Dinamika P u listu poklapala se sa dinamikom u *Eksperimentu 2*, dok je kod folijarne primene koncentracija opadala kroz fenofaze (Slika 24a). Naši rezultati su u saglasnosti sa rezultatima do kojih su došli Dutra *et al.* (2023) kod šećerne trske, gde je folijarna primena Si uticala na značajno niže koncentracija P u listu u odnosu na tretman Si preko zemljišta. Takođe, primena Si preko zemljišta je povećala koncentraciju P u listovima krompira, dok je efekat folijarne primene Si izostao (Pilon *et al.*, 2013).

Trošenje Pi iz rizosfernog zemljišta bilo je najveće u fenofazi bobica veličine zrna graška (E-L 31) kod primene Si preko zemljišta, dok je kod folijarne primene Si najveće trošenje Pi iz rizosfere zabeleženo ranije, u fenofazi cvetanja (E-L 23) (Tabela 22). Silicijum može da poveća dostupnost P u zemljištu smanjenjem sorpcije P u zemljištu (usled konkurencije između fosfatnih i silikatnih anjona) (Lee *et al.*, 2007). Eksperimentalno je dokazano da Si doprinosi pojačanoj aktivaciji P iz Fe-P spojeva površinski vezanih za zemljišne minerale (Schaller *et al.*, 2019, 2020). Brojna istraživanja su pokazala da se povećana dostupnost P u zemljištu pri visokim koncentracijama Si može objasniti kompetitivom Si i P za mesta vezivanja na površini zemljišnih minerala, što dovodi do mobilizacije P (Obihara *et al.*, 1972; Brown *et al.*, 1987; Pardo *et al.*, 1990; Lee *et al.*, 2007; Neu *et al.*, 2017; Reithmaier *et al.*, 2017; Homberg *et al.*, 2020). Promena koncentracije dostupnog P u zemljištu kod primene Si preko zemljišta, poklapala se sa eksudacijom karboksilata u ovom tretmanu: intenzitet izlučivanja citrata i malata bio je viši kod primene Si preko zemljišta u odnosu na folijarnu primenu (Tabela 22, Slika 25). Ovo se poklapa sa rezultatima istraživanja Kostic *et al.* (2017), koji navode da Si đubriva stimulišu usvajanje P putem korena i povećanjem eksudacije karboksilata. Takođe, istraživanja na autohtonim vrstama zapadne Australije gajenim na zemljištima sa niskom dostupnošću fosfora pokazala su da se pojačano izlučivanje karboksilata iz korena poklapa sa značajno višim koncentracijama Si u listovima, iako su ta zemljišta po svojim karakteristikama siromašna dostupnim Si (de Tombeur *et al.*, 2020). Ekspresija gena *ALMT1* i *PEPC* je takođe pratila trend eksudacije karboksilata u primeni Si preko zemljišta sa značajno većom ekspresijom u ovom tretmanu u odnosu na folijarnu primenu (Slika 26). Ovo ukazuje da folijarna primena Si nema većeg efekta na izlučivanje organskih kiselina kod vinove loze, odnosno da su mehanizmi kojima folijarno primenjeni Si utiče na koncentraciju P u listu vinove loze različiti u odnosu na mehanizme u zemljišnoj primeni. Pored povećane eksudacije karboksilata iz korena pšenice, Kostic *et al.* (2017) takođe navode i pojačanu ekspresiju gena koji kodiraju fosfatne transportere (*TaPHT1;1* i *TaPHT1;2*) nakon dodavanja Si u zemljište. U našem istraživanju, relativna ekspresija *VvPHT1;1* u korenu, *VvPHT1;2* u listu i *VvPHT1;4* (koren i list) (Slike 27a, 28, 29b, d) bila je višestruko veća u primeni Si preko zemljišta u odnosu na folijarnu primenu, što je u skladu sa ovim rezultatima. Nasuprot tome, folijarna primena povećala je nivo ekspresije *VvPHT1;1* u listu i *VvPHT1;3* u korenu i listu (Slike 27b, 29a, c). Kod pirinča, u uslovima nedostatka P, *OsPHT1;3* učestvuje u remobilizaciji Pi iz mesta izvora ka mestu uvira u listovima (Chang *et al.*, 2019), dok je *OsPHT1;4* uključen u transport Pi iz starijih listova ka zrnima pirinča u fazi razvoja (Ye *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2015). Rezultati našeg istraživanja kod kalemljene vinove loze (plemaka Šardone na podlogu 5BB) pokazuju da je koncentracija P u biljci nakon folijarne primene Si posledica remobilizacije P u biljci usled ekspresije gena *PHT1;1* (list) i *PHT1;3* (list i koren) (Slike 27b, 29a, c) koja se javlja kao odgovor na primenu Si. Međutim, razjašnjenje mehanizama delovanja Si u regulaciji različitih PHT1 transportera zahtevaju dalja dublja istraživanja u laboratorijskim uslovima.

Sa druge strane, promena koncentracije Si u listu vinove loze u toku fenofaza nije zavisila od načina primene Si (Slika 24b). Vinova loza akumulira Si u listovima u koncentracijama 2,0-7,9 g Si kg⁻¹, što je u saglasnosti sa našim i rezultatima drugih autora (Slika 24b; Schaller *et al.*, 1990; Blaich *et al.*

Grundhöfer, 1997; Zhang *et al.*, 2017; Noronha *et al.*, 2020; Schabl *et al.*, 2020). Nasuprot našim rezultatima Pilon *et al.* (2013) navode da je krompir folijarno tretiran Si pokazao veću koncentraciju Si u listovima, dok je primena preko zemljišta povećala koncentraciju Si u celoj biljci (Pilon *et al.*, 2013). Ove razlike najverovatnije potiču od same pripreme uzoraka lista za analize, gde su u našim istraživanjima listovi vinove loze temeljno oprani HCl i podrobno ispirani destilovanom vodom, dok Pilon *et al.* (2013) ne navode pranje listova. Rezultati trogodišnjeg poljskog eksperimenta na sorti vinove loze Zeleni veltlinac gde je koloidni Si primenjen folijarno ili preko zemljišta, pokazuju da je primena Si preko zemljišta povećala sadržaj biljkama dostupnog Si u zemljištu, dok je isključivo folijarna primena dovela do povećanja koncentracije Si u listovima, kao i do povećanja prinosa i mase grozdova (Schabl *et al.*, 2020). Međutim, ovi nalazi su u suprotnosti sa našim rezultatima (Tabela 23, Slika 24b) i mogu se objasniti vrstom primenjenog Si. Koloidni Si koji su primenjivali Schabl *et al.* (2020) se sporije oslobađa, dok je silicijumska kiselina korišćena u našem eksperimentu odmah dostupna biljkama. Takođe, koncentracije dostupnog Si u zemljištu u eksperimentu Schabl *et al.* (2020) su niže u poređenju sa koncentracijama dostupnog Si izmerenog u *Eksperimentu 3* (videti Tabelu 23). U našem eksperimentu primena Si preko zemljišta je dovela do značajnijeg povećanja dostupnog Si u zemljištu u odnosu na folijarnu primenu Si (Tabela 23). Posledično, trošenje Si bilo je izraženije u primeni Si preko zemljišta u odnosu na folijarnu primenu, pri čemu se trošenje smanjivalo kroz fenofaze, što dogovara sezonskom trendu promena Si u listu (Tabela 23, Slika 24b). Takođe, Schabl *et al.* (2020) navode da vinova loza efikasno usvaja Si i korenom i preko listova, što objašnjava slične koncentracije Si u listovima oba tretmana u našem eksperimentu (Slika 24b).

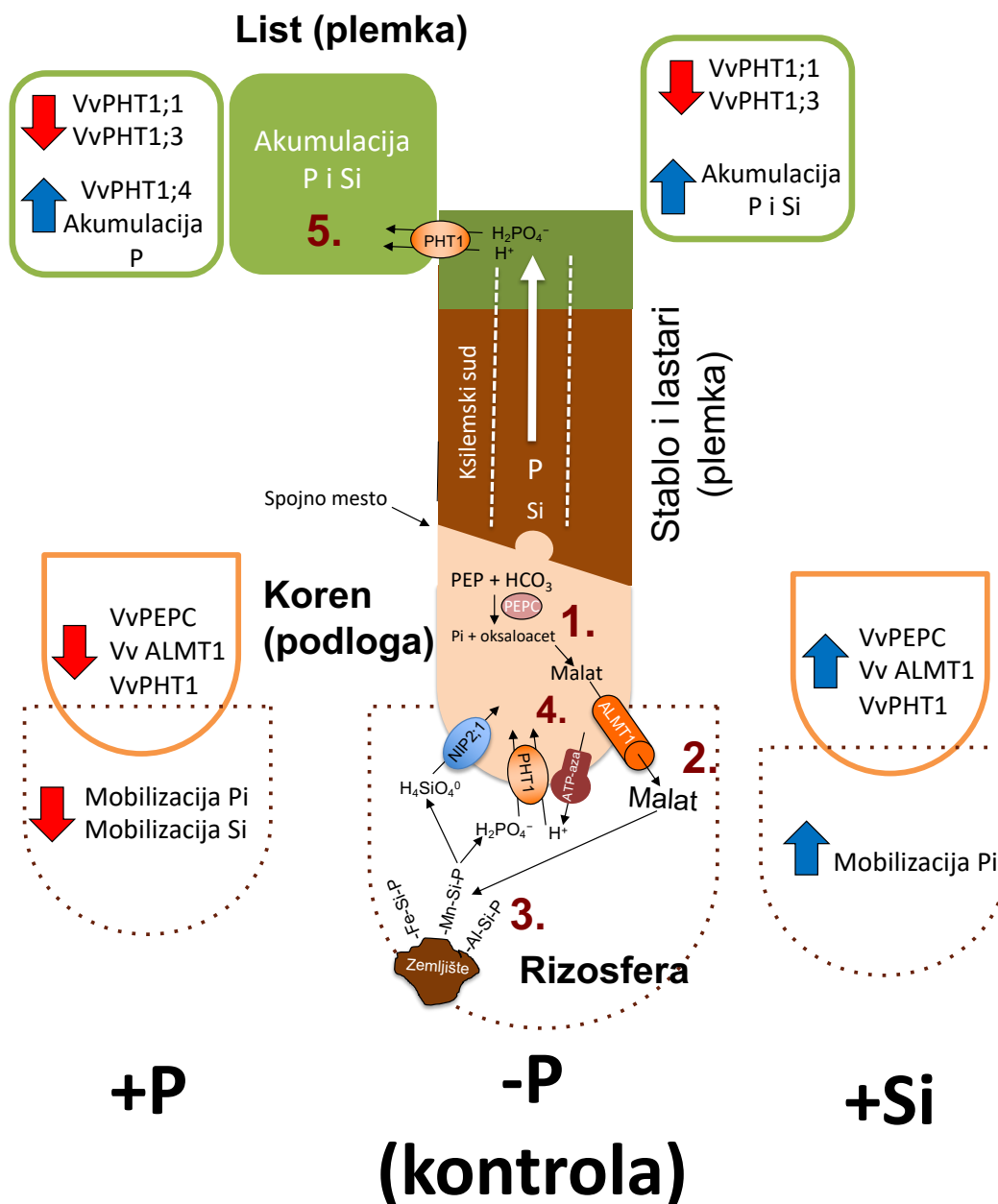
5.4. Mehanizami uključeni u mobilizaciju i transport fosfora kod vinove loze i delovanje silicijuma na njihovu regulaciju

Uzimajući u obzir sve rezultate prikazane u ovoj doktorskoj disertaciji, mogu se predložiti sledeći mehanizmi uključeni u vrlo efikasan odgovor kalemljene vinove loze na nizak sadržaj dostupnog P u zemljištu, koji su dodatno pospešeni đubrenjem Si (Slika 30).

Na nivou korena lozne podloge (Kober 5BB), nedostatak P pokreće čitavu kaskadu reakcija, a pre svega uključuje alternativni, analperotički put biosinteze karboksilata (kao alternativa Krebsovom ciklusu u kome se troši P), sa povećanom ekspresijom *VvPEPC* (1), koji su odgovorni za pojačanu biosintezu malata, koji mogu da se izluče direktno u rizosferu, ili da posluže kao intermedijer za konverziju u citrat u Krebsovom ciklusu (videti 1.4.1, Slika 2). Osim pojačane biosinteze karboksilata (malata i citrata), pojačano je i njihovo izlučivanje iz korena posredstvom anjonskog kanala ALMT, uz pojačanu ekspresiju *VvALMT1* koji ih kodiraju (2). Izlučeni karboksilati (malati i citrati) iz korena podloge odgovorni su za pojačanu mobilizaciju neorganskog P (Pi), ali takođe i Si, u rizosfernom zemljištu (3). Tako oslobođeni Pi iz primarnih i sekundarnih minerala, u obliku fosfatnih anjona (npr. H_2PO_4^-) biva usvojen korenom posredstvom fosfatnih transportera, a ekspresija *VvPHT1* (najizraženije *VvPHT1;1*), koji kodiraju te transportere je pojačana u uslovima nedostatka P (4). U isto vreme, oslobađa se i monosilicijumova kiselina (H_4SiO_4^0) koja se usvaja posredstvom *VvNIP2;1* transportera (Noronha *et al.*, 2020). Usvojeni P se dalje transportuju ksilemskim putem kroz stablo, odrvenele i zelene lastare do listova, za čije efikasno premeštanje u tkivima plemke (Šardone) su odgovorni različiti *VvPHT1* transporteri, koji se različito ekspimiraju u zavisnosti od fenofaze. Kao posledica, uprkos nedostatku P u zemljištu, -P čokoti održavaju homeostazu P (5), sa koncentracijama koje su iznad kritičnih vrednosti zabeleženih za nedostatak P ($1,5 \text{ g P kg}^{-1}$; Goldammer, 2020).

Dok je đubrenje P negativno uticalo ekspresiju gena (*VvPEPC*, *VvALMT1*, *VvPHT1*), koji su uključeni regulaciju napred opisanih procesa u korenu loze podloge (2), đubrenje Si ih je dodatno pojačalo, što je za posledicu imalo pojačanu mobilizaciju P iz rizosfernog zemljišta i njegovo usvajanje

korenom. Sa druge strane optimalna ishrana P, iako je utišala ekspresiju gena koji kodiraju VvPHT1 transportere u listu plemke (sa izuzetkom *VvPHT1;4* čija ekspresija je bila pojačana u odnosu na -P biljke), dovela je do povećanja koncentracije P u listovima. Slično delovanje na nivou lista imalo je i đubrenje Si (utišavanje *VvPHT1*), uz povećnu akumulaciju oba mineralna elementa u listovima.



Slika 30. Predloženi model mehanizma odgovora kalemljene vinove loze na nizak sadržaj dostupnog P u zemljištu i delovanja Si na te procese. Plava strelica (na gore) označava povećanje, a crvena strelica (na dole) označava smanjenje.

6. Zaključci

Na osnovu rezultata dobijenih iz eksperimenata u poljskim uslovima, koji su imali za cilj ispitivanje fizioloških i molekularnih mehanizama mobilizacije i transporta fosfora (P) kod vinove loze (*Vitis* spp.), kao i delovanje ishrane silicijumom (Si) na ove procese mogu se izvesti sledeći zaključci:

1. Kalemljena vinova loza, kao simbiot sorte evropske vinove loze (*Vitis vinifera*) Šardone, kalemljena na loznu podlogu Kober 5BB (*V. berlandieri* × *V. riparia*), gajena u poljskim uslovima nedostatka P u zemljištu, pokazala je visoku efikasnost u prilagođavanju takvim uslovima.
2. Pokazana je jasna sezonska dinamika mehanizama uključenih u mobilizaciju neorganskog P (Pi) iz rizosfernog zemljišta putem malata i citrata izlučenih iz korena podloge, uključujući i ekspresiju gena uključenih u njihovu biosintezu alternativnim anaplerotičkim putem (*VvPEPC*), kao i ekspresiju gena koji kodiraju anjonske kanale (*VvALMT1*) kojima se ovi karboksilati izbacuju u rizosferu. Takođe je pokazana i jasna sezonska ekspresija gena koji kodiraju fosfatne transportere *VvPHT1;1* i *VvPHT1;4a* u korenu podloge, a koji su usko usklađeni sa fenološki uslovljenim potrebama vinove loze za ovim esencijalnim makroelementom. Održavanje visokog nivoa ekspresije transportera iz porodice *PHT1*, uključenih u rane i kasne odgovore na nedostatak P u korenu podloge, omogućilo je produžen period efikasnog usvajanja Pi, od fenofaze cvetanja do fenofaze kada bobice dostižu veličinu zrna graška.
3. Pored efikasne mobilizacije i usvajanja Pi korenom podloge, visoka efikasnost je evidentna i kod plemke, što se ogleda u održavanju koncentracija P u listovima na nivou uporedivom sa biljkama đubrenim P, što je u saglasnosti sa povećanom ekspresijom gena *VvPHT1;1* u listovima tokom cvetanja. Naši rezultati jasno ukazuju na efikasnu preraspodelu P unutar same biljke i adekvatno snabdevanje plemke P tokom cvetanja, što predstavlja kritičnu fenofazu sa visokim zahtevima za ovim makroelementom.
4. Ishrana Si dodatno je stimulisala sve napred navede mehanizme, kao što su biosinteza karboksilata u korenu podloge anaplerotičkim putem posredovanim PEPC, njihovo izlučivanje u rizosferu i posledičnu mobilizaciju Pi, kao i pojačanu ekspresiju transportera *VvPHT1;1* u korenu i listovima kod +Si biljaka, posebno u fenofazi cvetanja.
5. Primena Si i preko zemljišta i folijarnim putem je dovela do povećanja koncentracije P u listu, međutim, jačina efekta zavisi od načina njegove primene: primena Si preko zemljišta je pokazala bolji rezultat u povećanju koncentracije P u odnosu na folijarnu primenu. Folijarna primena Si nije imala uticaja na mobilizaciju Si u rizosferi, kao ni na njegovo usvajanje korenom. Međutim, rezultati jasno ukazuju da i folijarno primenjeni Si utiče na preraspodelu P u biljci.
6. Rezultati ovog istraživanja ukazuju na značajan potencijal đubrenja Si kao održive i ekonomski prihvatljive alternative klasičnim fosfatnim đubrivima u savremenoj vinogradarskoj praksi, naročito u vinogradima podignutim na zemljištima sa niskim sadržajem dostupnog Si i P.

7. Literatura

- Abel S, Ticconi CA, Delatorre CA (2002) Phosphate sensing in higher plants. *Plant Physiol* 115:1–8. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2002.1150101.x>
- Agarie S, Hanaoka N, Ueno O, Miyazaki A, Kubota F, Agata W, Kaufman PB (1998) Effect of silicon on tolerance to water deficit and heat stress in rice plants (*Oryza sativa* L.), monitored by electrolyte leakage. *Plant Prod Sci* 1:96–103. <https://doi.org/10.1626/pp.s.1.96>
- Ahmad I, Rawoof A, Islam K, Momo J, Ramchiary N (2021) Identification and expression analysis of phosphate transporter genes and metabolites in response to phosphate stress in *Capsicum annuum*. *Environ Exp Bot* 190:104597. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104597>
- Ahmad R, Zaheer SH, Ismail S (1992) Role of silicon in salt tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Sci* 85:43–50. [https://doi.org/10.1016/0168-9452\(92\)90092-Z](https://doi.org/10.1016/0168-9452(92)90092-Z)
- Ai PH, Sun SB, Zhao JN, Fan X, Xin W, Guo Q, Yu L, Shen Q, Wu P, Miller AJ, Xu G (2009) Two rice phosphate transporters, OsPht1;2 and OsPht1;6, have different functions and kinetic properties in uptake and translocation. *Plant J* 57:798–809. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03726.x>
- Arai Y, Sparks DL (2007) Phosphate reaction dynamics in soils and soil minerals: a multiscale approach. *Adv Agron* 94:135–179. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(06\)94003-6](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(06)94003-6)
- Arnon DI, Stout PR (1939) The essentiality of certain elements in minute quantity for plants with special reference to copper. *Plant Physiol* 14:371–375. <https://doi.org/10.1104/pp.14.2.371>
- Arrobas M, Ferreira IQ, Freitas S, Verdial J, Rodrigues AM (2014) Guidelines for fertilizer use in vineyards based on nutrient content of grapevine parts. *Sci Hortic* 172:191–198. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.04.016>
- Aslam MM, Waseem M, Weifeng X, ul Qamar MT (2022) Identification and expression analysis of phosphate transporter (*PHT*) gene family in *Lupinus albus* cluster root under phosphorus stress. *Int J Biol Macromol* 205:772–781. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.03.085>
- Artyszak A (2018) Effect of silicon fertilization on crop yield quantity and quality—a literature review in Europe. *Plants* 7:54. <https://doi.org/10.3390/plants7030054>
- Artyszak A, Kondracka M, Gozdowski D, Siuda A, Litwińczuk-Bis M (2021) Impact of foliar application of various forms of silicon on the chemical composition of sugar beet plants. *Sugar Tech* 23:546–559. <https://doi.org/10.1007/s12355-020-00918-8>
- Ayadi A, David P, Arrighi JF, Chiarenza S, Thibaud MC, Nussaume L, Marin E (2015) Reducing the genetic redundancy of *Arabidopsis* phosphate transporter1 transporters to study phosphate uptake and signaling. *Plant Physiol* 167:1511–1526. <https://doi.org/10.1104/pp.114.252338>
- Aziz T, Sabir M, Farooq M, Maqsood MA, Ahmad HR, Warraich EA (2013) Phosphorus deficiency in plants: responses, adaptive mechanisms, and signaling. In: Hakee K, Rehman R, Tahir I (eds) *Plant Signaling: Understanding the molecular crosstalk*. Springer, New Delhi, pp 133–148. https://doi.org/10.1007/978-81-322-1542-4_7
- Badri DV, Vivanco JM (2009) Regulation and function of root exudates. *Plant Cell Environ* 32:666–681. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2009.01926.x>
- Barker AV, Pilbeam DJ (2015) Phosphorus. In: Barker AV, Pilbeam DJ (eds) *Handbook of plant nutrition*, 2nd edn. Routledge, Boca Raton, pp 69–70. <https://doi.org/10.1201/b18458>
- Barrow NJ, Sen A, Roy N, Debnath A (2021) The soil phosphate fractionation fallacy. *Plant Soil* 459:1–11. <https://doi.org/10.1007/s11104-020-04476-6>
- Bates T, Wolf T (2008) Vineyard nutrient management. In: Wolf TK (ed) *Wine grape production guide for eastern North America*. Natural Resource, Agriculture, and Engineering Service (NRAES), Ithaca, New York.

- Benito A, Romero I, Domínguez N, García-Escudero E, Martín I (2013) Leaf blade and petiole analysis for nutrient diagnosis in *Vitis vinifera* L. cv. Garnacha tinta. Aust J Grape Wine Res 19:285–298. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12022>
- Bennett EM, Carpenter SR, Caraco NF (2001) Human impact on erodable phosphorus and eutrophication: A global perspective: Increasing accumulation of phosphorus in soil threatens rivers, lakes, and coastal oceans with eutrophication. BioScience 51:227–234. [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2001\)051\[0227:HIOEPA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2001)051[0227:HIOEPA]2.0.CO;2)
- Bergmann W (1992) Nutritional disorders of plants: development, visual and analytical diagnosis. Gustav Fischer, Jena, Germany.
- Bertoldi D, Larcher R, Bertamini M, Otto S, Concheri G, Nicolini G (2011) Accumulation and distribution pattern of macro- and microelements and trace elements in *Vitis vinifera* L. cv. Chardonnay berries. J Agric Food Chem 59:7224–7236. <https://doi.org/10.1021/jf2006003>
- Blaich R, Grundhöfer H (1997) Uptake of silica by grapevines from soil and recirculating nutrient solutions. Vitis 36:161–166. <https://doi.org/10.5073/vitis.1997.36.161-166>
- Blaich R, Grundhöfer H (1998) The influence of silica fertilization on the resistance of grapevines to powdery mildew. Vitis 37:21–26. <https://doi.org/10.5073/vitis.1998.37.21-26>
- Bollons H, Barraclough P (1999) Assessing the phosphorus status of winter wheat crops: inorganic orthophosphate in whole shoots. J Agric Sci 133:285–295. <https://doi.org/10.1017/S0021859699007066>
- Brancadoro L, Rabotti G, Scienza A, Zocchi G (1995) Mechanisms of Fe-efficiency in roots of *Vitis* spp. in response to iron deficiency stress. Plant Soil 171:229–234. <https://doi.org/10.1007/BF00010276>
- Brown TH, Mahler RL (1987) Effects of phosphorus and acidity on levels of silica extracted from a Palouse silt loam. Soil Sci Soc Am J 51:674–677. <https://doi.org/10.2136/sssaj1987.03615995005100030022x>
- Brunetto G, Ricachenevsky FK, Stefanello LO, de Paula BV, de Souza Kulmann MS, Tassinari A, de Melo GWB, Natale W, Rozane DE, Ciotta MN, Brighenti AF, Comin JJ, Lourenzi CR, Loss A, Schmitt DE Zalamena J, De Conti L, Tiecher TL, de Souza ALK, de Bem BP (2020) Diagnosis and management of nutrient constraints in grape. In: Srivastava AK, Hu C (eds) Fruit Crops, Elsevier, Amsterdam, pp 693–710. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818732-6.00047-2>
- Canarini A, Kaiser C, Merchant A, Richter A, Wanek W (2019) Root exudation of primary metabolites: mechanisms and their roles in plant responses to environmental stimuli. Front Plant Sci 10:157. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00157>
- Cao M, Liu H, Zhang C, Wang D, Liu X, Chen Q (2020) Functional Analysis of *StPHT1;7*, a *Solanum tuberosum* L. phosphate transporter gene, in growth and drought tolerance. Plants 9:1384. <https://doi.org/10.3390/plants9101384>
- Chang MX, Gu M, Xia YW, Dai XL, Dai CR, Zhang J, Wang SC, Qu HY, Yamaji N, Feng Ma J, Xu GH (2019) *OsPHT1;3* mediates uptake, translocation, and remobilization of phosphate under extremely low phosphate regimes. Plant Physiol 179:656–670. <https://doi.org/10.1104/pp.18.01097>
- Chen A, Chen X, Wang H, Liao D, Gu M, Qu H, Sun S, Xu, G (2014) Genomewide investigation and expression analysis suggest diverse roles and genetic redundancy of *Pht1* family genes in response to Pi deficiency in tomato. BMC Plant Biol 14:1–15. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-14-61>
- Chiba Y, Mitani N, Yamaji N, Ma JF (2009) HvLsi1 is a silicon influx transporter in barley. Plant J 57:810–818. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03728.x>
- Chiou TJ, Lin SI (2011) Signaling network in sensing phosphate availability in plants. Annu Rev Plant Biol 62:185–206. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042110-103849>
- Chollet R, Vidal J, O’Leary MH (1996) Phosphoenolpyruvate carboxylase: a ubiquitous, highly regulated enzyme in plants. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol 47:273–298. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.47.1.273>

- Christensen LP (2005) Rootstock selection. In: Christensen LP (ed) *Wine Grape Varieties in California*. University of California, Agriculture and Natural Resources, Oakland, CA Publication 3419.
- Conradie WJ (1981): Seasonal uptake of nutrients by Chenin Blanc in sand culture: II. phosphorus, potassium, calcium and magnesium. *S Afr J Enol Vitic* 2:7–13.
- Coombe BG (1995) Growth stages of the grapevine: Adoption of a system for identifying grapevine growth stages. *Aust J Grape Wine Res* 1:100–110. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.1995.tb00086.x>
- Cordell D, Drangert JO, White S (2009) The story of phosphorus: Global food security and food for thought. *Glob Environ Change* 19:292–305. <https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2008.10.009>
- Coskun D, Deshmukh R, Sonah H, Menzies JG, Reynolds O, Ma JF, Kronzucker HJ, Bélanger RR (2019) The controversies of silicon's role in plant biology. *New Phytol* 221:67–85. <https://doi.org/10.1111/nph.15343>
- Courbet G, D'Oria A, Lornac A, Diquélou S, Pluchon S, Arkoun M, Koprivova A, Kopriva S, Etienne P, Ourry A (2021) Specificity and plasticity of the functional ionome of *Brassica napus* and *Triticum aestivum* subjected to macronutrient deprivation. *Front Plant Sci* 12:641648. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.641648>
- Covarrubias JI, Rombolà AD (2015) Organic acids metabolism in roots of grapevine rootstocks under severe iron deficiency. *Plant Soil* 394:165–175. <https://doi.org/10.1007/s11104-015-2530-5>
- Davies TGE, Ying J, Xu Q, Li ZS, Li JY (2002) Expression analysis of putative high-affinity phosphate transporters in Chinese winter wheats. *Plant Cell Environ* 25:1325–1340. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2002.00913.x>
- de Angeli A, Baetz U, Francisco R, Zhang J, Chaves MM, Regalado A (2013) The vacuolar channel *VvALMT9* mediates malate and tartrate accumulation in berries of *Vitis vinifera*. *Planta* 238:283–291. <https://doi.org/10.1007/s00425-013-1888-y>
- Debona D, Rodrigues FA, Datnoff LE (2017) Silicon's role in abiotic and biotic plant stresses. *Annu Rev Phytopathol* 55:85–107. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080516-035312>
- Dechassa N, Schenk MK (2004) Exudation of organic anions by roots of cabbage, carrot, and potato as influenced by environmental factors and plant age. *J Plant Nutr Soil Sci* 167:623–629. <https://doi.org/10.1002/jpln.200420424>
- Delhaize E, Taylor P, Hocking PJ, Simpson RJ, Ryan PR, Richardson AE (2009) Transgenic barley (*Hordeum vulgare* L.) expressing the wheat aluminium resistance gene (*TaALMT1*) shows enhanced phosphorus nutrition and grain production when grown on an acid soil. *Plant Biotechnol J* 7:391–400. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2009.00403.x>
- de Tombeur F, Turner BL, Laliberté E, Lambers H, Mahy G, Faucon MP, Zemunik G, Cornelis JT (2020) Plants sustain the terrestrial silicon cycle during ecosystem retrogression. *Science* 369:1245–1248. <https://doi.org/10.1126/science.abc0393>
- de Tombeur F, Cornelis JT, Lambers H (2021) Silicon mobilisation by root – released carboxylates. *Trends Plant Sci* 26:1116–1125. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2021.07.003>
- Deshmukh RK, Ma JF, Bélanger RR (2017) Editorial: Role of Silicon in Plants. *Front Plant Sci* 8:1858. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01858>
- Dinis LT, Mota N, Martins S, Ribeiro AC, Moutinho-Pereira J, Pereira S (2024) Foliar silicon application in the era of climate change as a part of strategy to reduce water requirements in Mediterranean viticulture. *Horticulturae* 10:1224. <https://doi.org/10.3390/horticulturae10111224>
- Doolette AL, Smernik RJ (2016) Phosphorus speciation of dormant grapevine (*Vitis vinifera* L.) canes in the Barossa Valley, South Australia. *Aust J Grape Wine Res* 22:462–468. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12234>
- Dong Y, Duan S, Xia Q, Liang Z, Dong X, Margaryan, K et al (2023) Dual domestications and origin of traits in grapevine evolution. *Science* 379:892–901. <https://doi.org/10.1126/science.add8655>

- Doydora S, Gatiboni L, Grieger K, Hesterberg D, Jones JL, McLamore ES, Peters R, Sozzani R, Van den Broeck L, Duckworth OW (2020) Accessing legacy phosphorus in soils. *Soil Syst* 4:74. <https://doi.org/10.3390/soilsystems4040074>
- Dutra AF, Leite MRL, de Melo CCF, Amaral DS, da Silva JLF, De Mello Prado R, Piccolo MdC, Miranda RS, Silva Júnior GB, Sousa TKdSA, Mendes LW, Araújo ASF, Zuffo AM, de Alcântara Neto F (2023) Soil and foliar Si fertilization alters elemental stoichiometry and increases yield of sugarcane cultivars. *Sci Rep* 13:16040. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-43351-z>
- Eichhorn KW, Lorenz DH (1977) Phänologische Entwicklungsstadien der Rebe. *Nachrbl Deut Pflanzenschutzd (Braunschweig)* 29:119–120.
- Fan C, Wang X, Hu R, Wang Y, Xiao C, Jiang Y, Zhang X, Zheng C, Fu YF (2013) The pattern of phosphate transporter 1 genes evolutionary divergence in *Glycine max* L. *BMC Plant Biol* 13:48. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-13-48>
- Fang X, Yang D, Deng L, Zhang Y, Lin Z, Zhou J, Chen Z, Ma X, Guo M, Lu Z, Ma L (2024) Phosphorus uptake, transport, and signaling in woody and model plants. *J For Res* 4:17. <https://doi.org/10.48130/forres-0024-0014>
- Fang ZY, Shao C, Meng YJ, Wu P, Chen M (2009) Phosphate signaling in *Arabidopsis* and *Oryza sativa*. *Plant Sci* 176:170–180. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2008.09.007>
- FAO (2024) World Food and Agriculture – Statistical Yearbook 2024. Rome. <https://doi.org/10.4060/cd2971-en>
- Farouk S, Belal BEA, EL-Sharkawy HHA (2017) The role of some elicitors on the management of Roumy Ahmar grapevines downy mildew disease and it's related to inducing growth and yield characters. *Sci Hortic* 225:646–658. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.07.054>
- Fisher RA (1929) A preliminary note on the effect of sodium silicate in increasing the yield of barley. *J Agric Sci* 19:132–139. <https://doi.org/10.1017/S0021859600011217>
- Gahoonia TS, Asmar F, Giese H, Gissel-Nielsen G, Nielsen N (2000) Root-released organic acids and phosphorus uptake of two barley cultivars in laboratory and field experiments. *Eur J Agron* 12:281–289. [https://doi.org/10.1016/S1161-0301\(00\)00052-6](https://doi.org/10.1016/S1161-0301(00)00052-6)
- Gahoonia TS, Nielsen NE (1998) Direct evidence on participation of root hairs in phosphorus (32P) uptake from soil. *Plant Soil* 198:147–152. <https://doi.org/10.1023/A:1004346412006>
- Garde-Cerdán T, González-Lázaro M, Alonso-Ortiz de Urbina D, Sáenz de Urturi I, Marín-San Román S, Murillo-Peña R, Torres-Díaz LL, Pérez-Álvarez EP, Fernández V (2023) Foliar applications of calcium, silicon and their combination: A tool to improve grape composition and quality. *Appl Sci* 13:7217. <https://doi.org/10.3390/app13127217>
- Gardner WK, Barber DA, Parbery DG (1983) The acquisition of phosphorus by *Lupinus albus* L. *Plant Soil* 70:107–124. <https://doi.org/10.1007/BF02374754>
- Gattullo CE, Allegretta I, Medici L, Fijan R, Pii Y, Cesco S, Mimmo T, Terzano R (2016) Silicon dynamics in the rhizosphere: connections with iron mobilization. *J Plant Nutr Soil Sci* 179:409–417. <https://doi.org/10.1002/jpln.201500535>
- Gautier A, Cookson SJ, Hevin C, Vivin P, Lauvergeat V, Mollier A (2018) Phosphorus acquisition efficiency and phosphorus remobilization mediate genotype-specific differences in shoot phosphorus content in grapevine. *Tree Physiol* 38:1742–1751. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpy074>
- Gautier A, Cochetel N, Merlin I, Hevin C, Lauvergeat V, Vivin Ph, Mollier A, Ollat N, Cookson S (2020) Scion genotypes exert long-distance control over rootstock transcriptome responses to low phosphate in grafted grapevine. *BMC Plant Biol* 20:367. <https://doi.org/10.1186/s12870-020-02578-y>
- Gautier AT, Merlin I, Doumas P, Cochetel N, Mollier A, Vivin PH, Lauvergeat V, Peret B, Cookson SJ (2021) Identifying roles of the scion and the rootstock in regulating plant development and

- functioning under different phosphorus supplies in grapevine. *Environ Exp Bot* 185:104405. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104405>
- Gerke J, Romer W, Jungk A (1994) The excretion of citric and malic acid by proteoid roots of *Lupinus albus* L.: Effects on soil solution concentration of phosphate, iron and aluminium in the proteoid rhizosphere in samples of an Oxisol and a Luvisol. *J Plant Nutr Soil Sci* 157:289–294. <https://doi.org/10.1002/jpln.19941570408>
- Gerke J, Römer W, Beißner L (2000) The quantitative effect of chemical phosphate mobilization by carboxylate anions on P uptake by a single root. II. The importance of soil and plant parameters for uptake of mobilized P. *J Plant Nutr Soil Sci* 163:213–219. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1522-2624\(200004\)163:2<213::AID-JPLN213>3.0.CO;2-0](https://doi.org/10.1002/(SICI)1522-2624(200004)163:2<213::AID-JPLN213>3.0.CO;2-0)
- Goldammer T (2020) *Grape Grower's Handbook*, 3rd edn. Apex Publisher, Centreville, Virginia, USA.
- Grün A, Buchner P, Broadley MR, Hawkesford MJ (2017) Identification and expression profiling of Pht1 phosphate transporters in wheat in controlled environments and in the field. *Plant Biol* 20:374–389. <https://doi.org/10.1111/plb.12668>
- Guan X, Chen J, Liu G, Wang X (2024) Soil phosphorus forms in saline soil after the application of biomass materials. *J Agron* 14:255. <https://doi.org/10.3390/agronomy14020255>
- Habibi G (2015) Effects of soil – and foliar – applied silicon on the resistance of grapevine plants to freezing stress. *Acta Biol Szeged* 59:109–117. <https://abs.bibl.uszeged.hu/index.php/abs/article/view/2874>
- Hajiboland R, Moradtalab N, Aliasgharzad N, Eshaghi Z, Feizy J (2018) Silicon influences growth and mycorrhizal responsiveness in strawberry plants. *Physiol Mol Biol Plants* 24:1103–1115. <https://doi.org/10.1007/s12298-018-0533-4>
- Hamburger D, Rezzonico E, Petetot JMC, Somerville C, Poirier Y (2002) Identification and characterization of the *Arabidopsis PHO1* gene involved in phosphate loading to the xylem. *Plant Cell* 14:889–902. <https://doi.org/10.1105/tpc.000745>
- Hasan MM, Teixeira da Silva JA, Li X (2016) Regulation of phosphorus uptake and utilization: transitioning from current knowledge to practical strategies. *Cell Mol Biol Lett* 21:1–19. <https://doi.org/10.1186/s11658-016-0008-y>
- Hedley MJ, Kirk GJR, Santos MB (1994) Phosphorus efficiency and the forms of soil phosphorus utilized by upland rice cultivars. *Plant Soil* 158:53–62. <https://doi.org/10.1007/BF00007917>
- Hinsinger, P (2001) Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: a review. *Plant Soil* 237:173–195. <https://doi.org/10.1023/A:1013351617532>
- Hocking PJ (2001) Organic acids exuded from roots in phosphorus uptake and aluminum tolerance of plants in acid soils. *Adv Agron* 74:63–97. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(01\)74031-X](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(01)74031-X)
- Hodson MJ, Evans DE (2020) Aluminium–silicon interactions in higher plants: an update. *J Exp Bot* 71:6719–6729. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa024>
- Hoffland E, Findenegg GR, Nelemans JA (1989) Solubilization of rock phosphate by rape: II. Local root exudation of organic acids as a response to P-starvation. *Plant Soil* 113:161–165. <https://doi.org/10.1007/BF02280176>
- Hömberg A, Obst M, Knorr KH, Kalbitz K, Schaller J (2020) Increased silicon concentration in fen peat leads to a release of iron and phosphate and changes in the composition of dissolved organic matter. *Geoderma* 374:114422. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2020.114422>
- Hu AY, Che J, Shao JF, Yokosho K, Zhao XQ, Shen RF, Ma JF (2018) Silicon accumulated in the shoots results in down-regulation of phosphorus transporter gene expression and decrease of phosphorus uptake in rice. *Plant Soil* 423:317–325. <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3512-6>
- Hu AY, Xu SN, Qin DN, Li W, Zhao XQ (2021) Role of silicon in mediating phosphorus imbalance in plants. *Plants* 10:51. <https://doi.org/10.3390/plants10010051>

- Huang C, Barker SJ, Langridge P, Smith FW, Graham RD (2000) Zinc deficiency up-regulates expression of high-affinity phosphate transporter genes in both phosphate-sufficient and- deficient barley roots. *Plant Physiol* 124:415–422. <https://doi.org/10.1104/pp.124.1.415>
- Huang CY, Roessner U, Eickmeier I, Genc Y, Callahan DL, Shirley N, Langridge P, Bacic A (2008) Metabolite profiling reveals distinct changes in carbon and nitrogen metabolism in phosphate-deficient barley plants (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Cell Physiol* 49:691–703. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcn044>
- Huang CY, Shirley N, Genc Y, Shi B, Langridge P (2011) Phosphate utilization efficiency correlates with expression of low-affinity phosphate transporters and non-coding RNA IPS1 in barley. *Plant Physiol* 156:1217–1229. <https://doi.org/10.1104/pp.111.178459>
- Huang S, Yamaji N, Sakurai G, Mitani-Ueno N, Konishi N, Ma JF (2022) A pericycle-localized silicon transporter for efficient xylem loading in rice. *New Phytol* 234:197–208. <https://doi.org/10.1111/nph.17959>
- International Organisation of Vine and Wine (OIV) (2024) OIV Statistics. <https://www.oiv.int/>
- IUSS Working Group WRB (2022) World reference base for soil resources: international soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps, 4th edn. International Union of Soil Sciences (IUSS), Vienna
- Jia H, Ren H, Gu M, Zhao J, Sun S, Zhang X, Chen J, Wu P, Xu G (2011) The phosphate transporter gene *OsPht1;8* is involved in phosphate homeostasis in rice. *Plant Physiol* 156:1164–1175. <https://doi.org/10.1104/pp.111.175240>
- Jiang H, Li W, Jiang Z, Li Y, Shen X, Nuo M, Zhang H, Xue B, Zhao G, Tian P, Yang M, Wu Z (2025) Silicon enhanced phosphorus uptake in rice under dry cultivation through root organic acid secretion and energy distribution in low phosphorus conditions. *Front Plant Sci* 16:1544893. <https://doi.org/10.3389/fpls.2025.1544893>
- Jones DL (1998) Organic acids in the rhizosphere – a critical review. *Plant Soil* 205:25–44. <https://doi.org/10.1023/A:1004356007312>
- Kamh M, Horst WJ, Amer F, Mostafa H, Maier P (1999) Mobilization of soil and fertilizer phosphate by cover crops. *Plant Soil* 211:19–27. <https://doi.org/10.1023/A:1004543716488>
- Kandhol N, Rai P, Mishra V, Pandey S, Kumar S, Deshmukh R, Sharma S, Singh VP, Tripathi DK (2024) Silicon regulates phosphate deficiency through involvement of auxin and nitric oxide in barley roots. *Planta* 259:144. <https://doi.org/10.1007/s00425-024-04364-8>
- Khan F, Siddique AB, Shabala S, Zhou M, Zhao C (2023) Phosphorus plays key roles in regulating plants' physiological responses to abiotic stresses. *Plants* 12:2861. <https://doi.org/10.3390/plants12152861>
- Kostic I, Nikolic N, Milanovic S, Milenkovic I, Pavlovic J, Paravinja A, Nikolic M (2023) Silicon modifies leaf nutriome and improves growth of oak seedlings exposed to phosphorus deficiency and *Phytophthora plurivora* infection. *Front Plant Sci* 14:1265782. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1265782>
- Kostic L, Nikolic N, Bosnic D, Samardzic J, Nikolic M (2017) Silicon increases phosphorus (P) uptake by wheat under low P acid soil condition. *Plant Soil* 419:447–455. <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3364-0>
- Kostic Kravljanac L, Pavlovic J, Bosnic P, Kostic I, Trailovic M, Dubljanin T, Nikolic M (2025) Ammonium nutrition enhances rhizosphere mobilization and uptake of silicon in white lupin grown in low phosphorus soil. *Plant Soil* 511:209–222. <https://doi.org/10.1007/s11104-024-06982-3>
- Kurita Y, Kanno S, Sugita R, Hirose A, Ohnishi M, Tezuka A, Deguchi A, Ishizaki K, Fukaki H, Baba KI, Nagano AJ (2022) Visualization of phosphorus retranslocation and phosphate transporter expression profiles in a shortened annual cycle system of poplar. *Plant Cell Environ* 45:1749–1764. <https://doi.org/10.1111/pce.14319>

- Laane HM (2018) The effects of foliar sprays with different silicon compounds. *Plants* 7:45. <https://doi.org/10.3390/plants7020045>
- Lambers H, Chapin FS III, Pons TL (2008) *Plant physiological ecology*, 2nd edn. Springer, New York.
- Lambers H, Plaxton WC (2015) Phosphorus: back to the roots. In: Plaxton WC, Lambers H (eds) *Annual plant reviews: Phosphorus metabolism in plants*. Wiley-Blackwell, Oxford, pp 1–22. <https://doi.org/10.1002/9781118958841.ch1>
- Lambers H (2022) Phosphorus acquisition and utilization in plants. *Annu Rev Plant Biol* 73:17–42. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-102720-125738>
- Lee YB, Kim PJ (2007) Reduction of phosphate adsorption by ion competition with silicate in soil. *Korean J Environ Agric* 26:286–296. <https://doi.org/10.5338/KJEA.2007.26.4.286>
- Li Y, Wang X, Zhang H, Wang S, Ye X, Shi L, Xu F, Ding G (2019) Molecular identification of the phosphate transporter family 1 (*PHT1*) genes and their expression profiles in response to phosphorus deprivation and other abiotic stresses in *Brassica napus*. *PLoS One* 14:e0220374. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0220374>
- Liang Y, Shen Q, Shen Z, Ma T (1996) Effects of silicon on salinity tolerance of two barley cultivars. *J Plant Nutr* 19:173–183. <https://doi.org/10.1080/01904169609365115>
- Liang Y, Nikolic M, Bélanger R, Gong H, Song A (2015) *Silicon in agriculture: From theory to practice*. Springer, Dordrecht, The Netherlands. <https://doi.org/10.1007/978-94-017-9978-2>
- Ligaba A, Dreyer I, Margaryan A, Schneider DJ, Kochian L, Piñeros M (2013) Functional, structural and phylogenetic analysis of domains underlying the Al sensitivity of the aluminum-activated malate/anion transporter, TaALMT1. *Plant J* 76:766–780. <https://doi.org/10.1111/tpj.12332>
- Liu F, Chang XJ, Ye Y, Xie WB, Wu P, Lian XM (2011) Comprehensive sequence and whole-life-cycle expression profile analysis of the phosphate transporter gene family in rice. *Mol Plant* 4:1105–1122. <https://doi.org/10.1093/mp/ssr058>
- Liu F, Xu Y, Jiang H, Jiang C, Du Y, Gong C, Wang W, Zhu S, Han G, Cheng B (2016) Systematic identification, evolution and expression analysis of the *Zea mays* PHT1 gene family reveals several new members involved in root colonization by arbuscular mycorrhizal fungi. *Int J Mol Sci* 17:930. <https://doi.org/10.3390/ijms17060930>
- Liu J, Zhou M (2018) The *ALMT* gene family performs multiple functions in plants. *J Agron* 8:20. <https://doi.org/10.3390/agronomy8020020>
- Liu J, Zhou M, Delhaize E, Ryan PR (2017) Altered expression of a malate-permeable anion channel, OsALMT4, disrupts mineral nutrition. *Plant Physiol* 175:1745–1759. <https://doi.org/10.1104/pp.17.01142>
- Liu XM, Zhao XL, Zhang LJ, Lu WJ, Li XJ, Xiao K (2013) *TaPht1;4*, a high-affinity phosphate transporter gene in wheat (*Triticum aestivum*), plays an important role in plant phosphate acquisition under phosphorus deprivation. *Funct Plant Biol* 40:329–341. <https://doi.org/10.1071/FP12242>
- Lizcano-Toledo R, Reyes-Martín MP, Celi L, Fernández-Ondoño E (2021) Phosphorus dynamics in the soil–plant–environment relationship in cropping systems: A review. *Appl Sci* 11:11133. <https://doi.org/10.3390/app112311133>
- Lopez-Arredondo DL, Leyva-Gonzalez MA, Gonzalez-Morales SI, Lopez-Bucio J, Herrera-Estrella L (2014) Phosphate nutrition: Improving low-phosphate tolerance in crops. *Annu Rev Plant Biol* 65:95–123. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050213-035949>
- Losada MM, Hernández-Apaolaza L, Morata A, Revilla E (2022) Impact of the application of monosilicic acid to grapevine (*Vitis vinifera* L.) on the chemical composition of young red Mencía wines. *Food Chem* 378:132140. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132140>
- Luyckx M, Hausman J-F, Lutts S, Guerriero G (2017) Silicon and plants: current knowledge and technological perspectives. *Front Plant Sci* 8:411. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00411>

- Lynch, JP (2011) Root phenes for enhanced soil exploration and phosphorus acquisition: tools for future crops. *Plant Physiol* 156:1041–1049. <https://doi.org/10.1104/pp.111.175414>
- Ma JF (2004) Role of silicon in enhancing the resistance of plants to biotic and abiotic stresses. *Soil Sci Plant Nutr* 50:11–18. <https://doi.org/10.1080/00380768.2004.10408447>
- Ma JF, Takahashi, E (1990) Effect of silicon on the growth and phosphorus uptake of rice. *Plant Soil* 126:115–119. <https://doi.org/10.1007/bf00041376>
- Ma JF, Tamai K, Yamaji N, Mitani N, Konishi S, Katsuhara M, Ishiguro M, Murata Y, Yano M (2006) A silicon transporter in rice. *Nature* 440:688–691. <https://doi.org/10.1038/nature04590>
- Ma JF, Yamaji N, Mitani N, Tamai K, Konishi S, Fujiwara T, Katsuhara M, Yano M (2007) An efflux transporter of silicon in rice. *Nature* 448:209–212. <https://doi.org/10.1038/nature05964>
- Marschner H (2011) Marschner's mineral nutrition of higher plants. 3rd Edition. Academic press, London.
- Marschner H, Oberle H, Cakmak I, Römheld V (1990) Growth enhancement by silicon in cucumber (*Cucumis sativus*) plants depends on imbalance in phosphorus and zinc supply. *Plant Soil* 124:211–219. <https://doi.org/10.1007/bf00009262>
- Matoh T, Kairusmee P, Takahashi E (1986) Salt-induced damage to rice plants and alleviation effect of silicate. *J Soil Sci Plant Nutr* 32:295–304. <https://doi.org/10.1080/00380768.1986.10557506>
- Melo GW, Rozane DE, Brunetto G (2018) Identification of the critical levels, sufficiency ranges and potential response to nutrient fertilization in vineyards by the DRIS method. *Acta Hort* 1217:423–430. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2018.1217.55>
- Menezes-Blackburn D, Giles C, Darch T, George TS, Blackwell M, Stutter M, Shand C, Lumsdon D, Cooper P, Wendler R, Brown L, Almeida DS, Wearing C, Zhang H, Haygarth PM (2018) Opportunities for mobilizing recalcitrant phosphorus from agricultural soils: A review. *Plant Soil* 427:5–16. <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3362-2>
- Mimmo T, Pii Y, Valentinuzzi F, Astolfi S, Lehto N, Robinson B, Brunetto G, Terzano R, Cesco S (2017) Nutrient availability in the rhizosphere: a review. In: Tagliavini M et al (eds) VIII International Symposium on Mineral Nutrition of Fruit Crops. *Acta Hort* 1217, International Society for Horticultural Science, Leuven, pp 13–28. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2018.1217.2>
- Minden V, Schaller J, Olde Venterink H (2021) Plants increase silicon content as a response to nitrogen or phosphorus limitation: a case study with *Holcus lanatus*. *Plant Soil* 462:95–108. <https://doi.org/10.1007/s11104-020-04667-1>
- Misson J, Thibaud MC, Bechtold N, Raghothama K, Nussaume L (2004) Transcriptional regulation and functional properties of *Arabidopsis Pht1;4*, a high-affinity transporter contributing greatly to phosphate uptake in phosphate deprived plants. *Plant Mol Biol* 55:727–741. <https://doi.org/10.1007/s11103-004-1965-5>
- Mitani N, Ma JF (2005) Uptake system of silicon in different plant species. *J Exp Bot* 56:1255–1261. <https://doi.org/10.1093/jxb/eri121>
- Mitani N, Chiba Y, Yamaji N, Ma JF (2009a) Identification and characterization of maize and barley Lsi2-like silicon efflux transporters reveals a distinct silicon uptake system from that in rice. *Plant Cell* 21:2133–2142. <https://doi.org/10.1105/tpc.109.067884>
- Mitani N, Yamaji N, Ma JF (2009b) Identification of maize silicon influx transporters. *Plant Cell Physiol* 50:5–12. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcn110>
- Mitani N, Yamaji N, Ago Y, Iwasaki K, Ma JF (2011a) Isolation and functional characterization of an influx silicon transporter in two pumpkin cultivars contrasting in silicon accumulation. *Plant J* 66:231–240. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2011.04483.x>
- Mitani N, Yamaji N, Ma JF (2011b) Silicon efflux transporters isolated from two pumpkin cultivars contrasting in Si uptake. *Plant Signal Behav* 6:991–994. <https://doi.org/10.4161/psb.6.7.15462>

- Mitani-Ueno N, Yamaji N, Huang S, Yoshioka Y, Miyaji T, Ma JF (2023) A silicon transporter gene required for healthy growth of rice on land. *Nat Commun* 14:6522. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-42180-y>
<https://doi.org/10.1080/00380768.1986.10557510>
- Miyake Y, Takahashi E (1985) Effect of silicon on the growth of soybean plants in a solution culture. *J Soil Sci Plant Nutr* 31:625–636. <https://doi.org/10.1080/00380768.1985.10557470>
- Miyake Y, Takahashi E (1986) Effect of silicon on the growth and fruit production of strawberry plants in a solution culture. *J Soil Sci Plant Nutr* 32:321–326.
- Mlodzinska E, Zboinska M (2016) Phosphate uptake and allocation – a closer look at *Arabidopsis thaliana* L. and *Oryza sativa* L. *Front Plant Sci* 7:1198. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01198>
- Mora-Macías J, Ojeda-Rivera JO, Gutiérrez-Alanís D, Yong-Villalobos L, Oropeza-Aburto A, Raya-González J, Jimenez-Dominguez G, Chavez-Calvillo G, Rellan-Alvarez R, Herrera-Estrella L (2017) Malate-dependent Fe accumulation is a critical checkpoint in the root developmental response to low phosphate. *Proc Natl Acad Sci USA* 114:3563–3572.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1701952114>
- Muchhal US, Pardo JM, Raghothama KG (1996) Phosphate transporters from the higher plant *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:10519–10523.
<https://doi.org/10.1073/pnas.93.19.10519>
- Mudge SR, Rae AL, Diatloff E, Smith FW (2002) Expression analysis suggests novel roles for members of the *Pht1* family of phosphate transporters in *Arabidopsis*. *Plant J* 31:341–353.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2002.01356.x>
- Murphy J, Riley JP (1962) A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal Chim Acta* 27:31–36. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)88444-5](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)88444-5)
- Nagarajah S, Posner AM, Quirk JP (1970) Competitive adsorption of phosphate with polygalacturonate and other organic anions on kaolinite and oxide surfaces. *Nature* 228:83–85.
<https://doi.org/10.1038/228083a0>
- Narang RA, Bruene A, Altmann T (2000) Analysis of phosphate acquisition efficiency in different *Arabidopsis* accessions. *Plant Physiol* 124:1786–1799. <https://doi.org/10.1104/pp.124.4.1786>
- Neu S, Schaller J, Dudel EG (2017) Silicon availability modifies nutrient use efficiency and content, C:N:P stoichiometry, and productivity of winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Sci Rep* 7:40829.
<https://doi.org/10.1038/srep40829>
- Neumann G, Römheld V (1999) Root excretion of carboxylic acids and protons in phosphorus-deficient plants. *Plant Soil* 211:121–130. <https://doi.org/10.1023/A:1004380832118>
- Nikolic M, Nikolic N, Liang Y, Kirkby EA, Römheld V (2007) Germanium-68 as an adequate tracer for silicon transport in plants. Characterization of silicon uptake in different crop species. *Plant Physiol* 143:495–503. <https://doi.org/10.1104/pp.106.090845>
- Nikolic M, Nikolic N, Kostic L, Pavlovic J, Bosnic P, Stevic N, Savic J, Hristov N (2016) The assessment of soil availability and wheat grain status of zinc and iron in Serbia: Implications for human nutrition. *Sci Total Environ* 553:141–148. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.02.102>
- Noronha H, Silva A, Mitani-Ueno N, Conde C, Sabir F, Prista C, Soveral G, Isenring P, Ma JF, Bélanger RR, Gerós H (2020) The grapevine NIP2;1 aquaporin is a silicon channel. *J Exp Bot* 71:6789–6798.
<https://doi.org/10.1093/jxb/eraa294>
- Obihara CH, Russell EW (1972) Specific adsorption of silicate and phosphate by soils. *J Soil Sci* 23:105–117. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.1972.tb01646.x>
- Oburger E, Jones DL (2018) Sampling root exudates – Mission impossible? *Rhizosphere* 6:116–133.
<https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2018.06.004>
- Oelkers EH, Valsami-Jones E (2008) Phosphate mineral reactivity and global sustainability. *Elements*, 4:83–87. <https://doi.org/10.2113/GSELEMENTS.4.2.83>

- Olsen SR, Cole CV, Watanabe FS, Dean LA (1954) Estimation of available phosphorus in soils by extraction with NaHCO_3 . USDA Circular No. 939, US Government Printing Office, Washington DC.
- Owino-Gerroh C, Gascho GJ (2005) Effect of silicon on low pH soil phosphorus sorption and on uptake and growth of maize. *Commun Soil Sci Plant Anal* 35:2369–2378. <https://doi.org/10.1081/lcss-200030686>
- Pardo MT, Guadalix ME (1990) Phosphate sorption in allophanic soils and release of sulphate, silicate and hydroxyl. *Eur J Soil Sci* 41:607–612. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.1990.tb00230.x>
- Parker JS, Cavell AC, Dolan L, Roberts K, Grierson CS (2000) Genetic interactions during root hair morphogenesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 12:1961–1974. <https://doi.org/10.1105/tpc.12.10.1961>
- Paszkowski U, Kroken S, Roux C, Briggs SP (2002) Rice phosphate transporters include an evolutionarily divergent gene specifically activated in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 99:13324–13329. <https://doi.org/10.1073/pnas.202474599>
- Pati S, Pal B, Badole S, Hazra GC, Mandal B (2016) Effect of silicon fertilization on growth, yield, and nutrient uptake of rice. *Commun Soil Sci Plant Anal* 47:284–290. <https://doi.org/10.1080/00103624.2015.1122797>
- Pavlovic J, Kostic L, Bosnic P, Kirkby EA, Nikolic M (2021) Interactions of silicon with essential and beneficial elements in plants. *Front Plant Sci* 12:697592. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.697592>
- Pearse SJ, Veneklaas EJ, Cawthray GR, Bolland MDA, Lambers H (2006) Carboxylate release of wheat, canola and 11 grain legume species as affected by phosphorus status. *Plant Soil* 288:127–139. <https://doi.org/10.1007/s11104-006-9099-y>
- Penn CJ, Camberato JJ (2019) A critical review on soil chemical processes that control how soil pH affects phosphorus availability to plants. *Agriculture* 9:120. <https://doi.org/10.3390/agriculture9060120>
- Pérez-Díaz R, Rynagajlo M, Pérez-Díaz J, Peña-Cortés H, Casaretto JA, González-Villanueva E, Ruiz-Lara S (2014) *VvMATE1* and *VvMATE2* encode putative proanthocyanidin transporters expressed during berry development in *Vitis vinifera* L. *Plant Cell Rep* 33:1147–1159. <https://doi.org/10.1007/s00299-014-1604-9>
- Piccin R, Couto RDR, Bellinaso RJS, Gatiboni LC, Conti LD, Rodrigues LAT, Michelon LS, Kulmann MSDS, Brunetto G (2017) Phosphorus forms in leaves and their relationships with must composition and yield in grapevines. *Pesqui Agropecu Bras* 52:319–327. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2017000500005>
- Pilon C, Soratto RP, Broetto F, Fernandes AM (2014) Foliar or soil applications of silicon alleviate water-deficit stress of potato plants. *Agron J* 106:2325–2334. <https://doi.org/10.2134/agronj14.0176>
- Pilon C, Soratto RP, Moreno LA (2013) Effects of soil and foliar application of soluble silicon on mineral nutrition, gas exchange, and growth of potato plants. *Crop Sci* 53:1605–1614. <https://doi.org/10.2135/cropsci2012.10.0580>
- Pineros MA, Geraldo MA, Cançado GMA, Maron LG, Lyi SM, Menossi M, Kochian LV (2008) Not all ALMT1-type transporters mediate aluminum-activated organic acid responses: the case of *ZmALMT1* – an anion-selective transporter. *Plant J* 53:352–367. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2007.03344.x>
- Plaxton WC (2004) Plant response to stress: biochemical adaptations to phosphate deficiency. In: Goodman RM (ed) *Encyclopedia of plant and crop science*. Marcel Dekker, New York, pp 976–980. <https://doi.org/10.1081/E-EPCS-120010648>
- Plaxton WC, Tran HT (2011) Metabolic adaptations of phosphate-starved plants. *Plant Physiol* 156:1006–1015. <https://doi.org/10.1104/pp.111.175281>
- Poirier Y, Thoma S, Somerville C, Schiefelbein J (1991) Mutant of *Arabidopsis* deficient in xylem loading of phosphate. *Plant Physiol* 97:1087–1093. <https://doi.org/10.1104/pp.97.3.1087>

- Poirier Y, Bucher M (2002) Phosphate transport and homeostasis in *Arabidopsis*. The Arabidopsis Book e000024. <https://doi.org/10.1199/tab.0024>
- Poirier Y, Jung JY (2015) Phosphate transporters. *Annu Plant Rev* 48:125–158. <https://doi.org/10.1002/9781118958841.ch5>
- Poni S, Quartieri M, Tagliavini M (2003) Potassium nutrition of Cabernet Sauvignon grapevines (*Vitis vinifera* L.) as affected by shoot trimming. *Plant Soil* 253:341–351. <https://doi.org/10.1023/A:1024832113098>
- Puga MI, Rojas-Triana M, de Lorenzo L, Leyva A, Rubio V, Paz-Ares J (2017) Novel signals in the regulation of Pi starvation responses in plants: Facts and promises. *Curr Opin Plant Biol* 39:40–49. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2017.05.007>
- Qin L, Kang WH, Qi YL, Zhang ZW, Wang N (2016) The influence of silicon application on growth and photosynthesis response of salt stressed grapevines (*Vitis vinifera* L.). *Acta Physiol Plant* 38:68. <https://doi.org/10.1007/s11738-016-2087-9>
- Raghothama KG (1999) Phosphate acquisition. *Annu Rev Plant Biol* 50:665–693. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.50.1.665>
- Rae AL, Cybinski DH, Jarmey JM, Smith FW (2003) Characterization of two phosphate transporters from barley; evidence for diverse function and kinetic properties among members of the Pht1 family. *Plant Mol Biol* 53:27–36. <https://doi.org/10.1023/B:PLAN.0000009259.75314.15>
- Republic Hydrometeorological Service of Serbia (2024) Meteorological data. <http://www.hidmet.gov.rs/>
- Reithmaier GMS, Knorr KH, Arnhold S, Planer-Friedrich B, Schaller J (2017) Enhanced silicon availability leads to increased methane production, nutrient and toxicant mobility in peatlands. *Sci Rep* 7:8728. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09130-3>
- Roch GV, Maharajan T, Ceasar SA, Ignacimuthu S (2019) The role of PHT1 family transporters in the acquisition and redistribution of phosphorus in plants. *Crit Rev Plant Sci* 38:171–198. <https://doi.org/10.1080/07352689.2019.1645402>
- Rogiers SY, Greer DH, Hatfield JM, Orchard BA, Keller M (2006) Mineral sinks within ripening grape berries (*Vitis vinifera* L.). *Vitis* 45:115–123. <https://www.researchgate.net/publication/282500219>
- Römheld V (2012) Diagnosis of deficiency and toxicity of nutrients. In: Marschner P (ed) *Marschner's mineral nutrition of higher plants*, 3rd edn. Academic Press, London, pp 299–312. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384905-2.00011-X>
- Rose JT, Hardiputra B, Rengel Z (2009) Wheat, canola and grain legume access to soil phosphorus fractions differs in soils with contrasting phosphorus dynamics. *Plant Soil* 326:159–170. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-9990-4>
- Rozane DE, Vahl de Paula B, Wellington Bastos de Melo G, Haitzmann dos Santos EM, Trentin E, Marchezan C, Stefanello da Silva LO, Tassinari A, Dotto L, Nunes de Oliveira F, Natale W, Baldi E, Toselli M, Brunetto G (2020) Compositional Nutrient Diagnosis (CND) Applied to Grapevines Grown in Subtropical Climate Region. *Horticulturae* 6:56. <https://doi.org/10.3390/horticulturae6030056>
- Ryan PR, Delhaize E, Jones DL (2001) Function and mechanism of organic anion exudation from plant roots. *Annu Rev Plant Biol* 52:527–560. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.52.1.527>
- Sasaki T, Ryan PR, Delhaize E, Hebb DM, Ogihara Y, Kawaura K, Noda K, Kojima T, Toyoda A, Matsumoto H, Yamamoto Y (2006) Sequence upstream of the wheat (*Triticum aestivum* L.) *ALMT1* gene and its relationship to aluminum resistance. *Plant Cell Physiol* 47:1343–1354. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcl002>
- Schabl P, Gabler C, Kühner E, Wenzel W (2020) Effects of silicon amendments on grapevine, soil and wine. *Plant Soil Environ* 66:403–414. <https://doi.org/10.17221/40/2020-PSE>

- Schaller J, Faucherre S, Joss H, Obst M, Goeckede M, Planer-Friedrich B, Peiffer S, Gilfedder B, Elberling B (2019) Silicon increases the phosphorus availability of Arctic soils. *Sci Rep* 9:449. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37104-6>
- Schaller J, Frei S, Rohn L, Gilfedder BS (2020) Amorphous silica controls water storage capacity and phosphorus mobility in soils. *Front Environ Sci* 8:94. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2020.00094>
- Schaller J, Webber H, Ewert F, Stein M, Puppe D (2024) The transformation of agriculture towards a silicon improved sustainable and resilient crop production. *npj Sustain Agric* 2:27. <https://doi.org/10.1038/s44264-024-00035-z>
- Schaller K, Löhnertz O, Muskat S (1990) Anreicherung von Silizium in den Blättern von Müller-Thurgau und Silvaner im Verlaufe zweier Vegetationsperioden und in Abhängigkeit einer Silikatdüngung. *Wein-Wissensch* 45:128–134.
- Schreiner RP, Scagel CF, Baham J (2006) Nutrient uptake and distribution in a mature ‘Pinot noir’ vineyard. *HortScience* 41:336–345. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.41.2.336>
- Sharma T, Dreyer I, Kochian L, Piñeros MA (2016) The ALMT family of organic acid transporters in plants and their involvement in detoxification and nutrient security. *Front Plant Sci* 7:1488. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01488>
- Shen J, Yuan L, Zhang J, Li H, Bai Z, Chen X, Zhang W, Zhang F (2011) Focus issue on phosphorus plant physiology: phosphorus dynamics: from soil to plant. *Plant Physiol* 156:997–1005. <https://doi.org/10.1104/pp.111.175232>
- Shin H, Shin HS, Dewbre GR, Harrison MJ (2004) Phosphate transport in *Arabidopsis*: Pht1;1 and Pht1;4 play a major role in phosphate acquisition from both low-and high-phosphate environments. *Plant J* 39:629–642. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2004.02161.x>
- Shu B, Xia RX, Wang P (2012) Differential regulation of Pht1 phosphate transporters from trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata* L. Raf) seedlings. *Sci Hortic* 146:115–123. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.08.014>
- Skinner PW, Cook JA, Matthews MA (1988) Responses of grapevine cvs Chenin blanc and Chardonnay to phosphorus fertilizer applications under phosphorus-limited soil conditions. *Vitis* 27:95–109.
- Soltani M, Kafi M, Nezami A, Taghiyari HR (2017) Effects of silicon application at nano and micro scales on the growth and nutrient uptake of potato minitubers (*Solanum tuberosum* var. Agria) in greenhouse conditions. *BioNanoScience* 8:218–228. <https://doi.org/10.1007/s12668-017-0467-2>
- Soratto RP, Fernandes AM, Pilon C, Souza MR (2019) Phosphorus and silicon effects on growth, yield, and phosphorus forms in potato plants. *J Plant Nutr* 42:218–233. <https://doi.org/10.1080/01904167.2018.1554072>
- Srivastava S, Upadhyay MK, Srivastava AK, Abdelrahman M, Suprasanna P, Tran LSP (2018) Cellular and subcellular phosphate transport machinery in plants. *Int J Mol Sci* 19:1914. <https://doi.org/10.3390/ijms19071914>
- Stefanello L, Schwalbert R, Schwalbert R, Tassinari A, Garlet L, De Conti L, Ciotta M, Ceretta C, Ciampitti I, Brunetto G (2023) Phosphorus critical levels in soil and grapevine leaves for South Brazil vineyards: A Bayesian approach. *Eur J Agron* 144:126752. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2023.126752>
- Sun H, Guo J, Duan Y, Zhang T, Huo H, Gong H (2017b) Isolation and functional characterization of CsLsi1, a silicon transporter gene in *Cucumis sativus*. *Physiol Plant* 159:201–214. <https://doi.org/10.1111/ppl.12515>
- Sun H, Duan Y, Qi X, Zhang L, Huo H, Gong H (2018) Isolation and functional characterization of CsLsi2, a cucumber silicon efflux transporter gene. *Ann Bot* 122:641–648. <https://doi.org/10.1093/aob/mcy103>

- Sun H, Duan Y, Mitani-Ueno N, Che J, Jia J, Liu J, Guo J, Ma JF, Gong H (2020) Tomato roots have a functional silicon influx transporter but not a functional silicon efflux transporter. *Plant Cell Environ* 43:732–744. <https://doi.org/10.1111/pce.13679>
- Sun S, Gu M, Cao Y, Huang X, Zhang X, Ai P, Zhao J, Fan X, Xu G (2012) A constitutive expressed phosphate transporter, *OsPht1;1*, modulates phosphate uptake and translocation in phosphate-replete rice. *Plant Physiol* 159:1571–1581. <https://doi.org/10.1104/pp.112.196345>
- Sun T, Li M, Shao Y, Yu L, Ma F (2017a) Comprehensive genomic identification and expression analysis of the phosphate transporter (*PHT*) gene family in apple. *Front Plant Sci* 8:426. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00426>
- Sut S, Malagoli M, Dall'Acqua S (2022) Foliar application of silicon in *Vitis vinifera*: Targeted metabolomics analysis as a tool to investigate the chemical variations in berries of four grapevine cultivars. *Plants* 11:2998. <https://doi.org/10.3390/plants11212998>
- Takanashi K, Shitan N, Yazaki K (2014) The multidrug and toxic compound extrusion (MATE) family in plants. *Plant Biotechnol* 31:417–430. <https://doi.org/10.5511/plantbiotechnology.14.0904a>
- Tamai K, Ma F (2003) Characterization of silicon uptake by rice roots. *New Phytol* 158:431–436. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00773.x>
- Tang X, Ma Y, Hao X, Li X, Li J, Huang S, Yang X (2009) Determining critical values of soil Olsen-P for maize and winter wheat from long-term experiments in China. *Plant Soil* 323:143–151. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-9919-y>
- Teng W, Zhao YY, Zhao XQ, He X, Ma WY, Deng Y, Chen XP, Tong YP (2017) Genome-wide identification, characterization, and expression analysis of PHT1 phosphate transporters in wheat. *Front Plant Sci* 8:543. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00543>
- Tiziani R, Mimmo T, Valentinuzzi F, Pii Y, Celletti S, Cesco S (2020) Root handling affects carboxylates exudation and phosphate uptake of white lupin roots. *Front Plant Sci* 11:584568. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.584568>
- Tomscha JL, Trull MC, Deikman J, Lynch JP, Guiltinan MJ (2004) Phosphatase under-producer mutants have altered phosphorus relations. *Plant Physiol* 135:334–345. <https://doi.org/10.1104/pp.103.036459>
- Touhami D, McDowell RW, Condrón LM (2020) Role of organic anions and phosphatase enzymes in phosphorus acquisition in the rhizospheres of legumes and grasses grown in a low phosphorus pasture soil. *Plants* 9:1185. <https://doi.org/10.3390/plants9091185>
- Trailovic M, Kostic Kravljanac L, Stanojevic M, Bosnic P, Nikolic N, Todoc S, Nikolic M (2025) Seasonal dynamics of phosphorus (P) efficiency in grafted Chardonnay grapevines grown under low-P field conditions. *Plant Soil* 516:473–489. <https://doi.org/10.1007/s11104-025-07738-3>
- Tubana BS, Babu T, Datnoff LE (2016) A review of silicon in soils and plants and its role in US agriculture: history and future perspectives. *Soil Sci* 181:393–411. <https://doi.org/10.1097/SS.0000000000000179>
- Upadhyay N, Kar D, Deepak Mahajan B, Nanda S, Rahiman R, Panchakshari N, Bhagavatula L, Datta S (2019) The multitasking abilities of MATE transporters in plants. *J Exp Bot* 70:4643–4656. <https://doi.org/10.1093/jxb/erz246>
- Valat L, Deglene-Benbrahim L, Kendel M, Hessemet R, Le Jeune C, Schellenbaum P, Maillot P (2018) Transcriptional induction of two phosphate transporter 1 genes and enhanced root branching in grape plants inoculated with *Funneliformis mosseae*. *Mycorrhiza* 28:179–185. <https://doi.org/10.1007/s00572-017-0809-5>
- Valentinuzzi F, Pii Y, Vigani G, Lehmann M, Cesco S, Mimmo T (2015) Phosphorus and iron deficiencies induce a metabolic reprogramming and affect the exudation traits of the woody plant *Fragaria × ananassa*. *J Exp Bot* 66:6483–6495. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv364>

- Vance CP, Uhde-Stone C, Allan DL (2003) Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. Tansley review. *New Phytol* 157:423–447. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00695.x>
- Van Vuuren DP, Bouwman AF, Beusen AHW (2010) Phosphorus demand for the 1970-2100 period: a scenario analysis of resource depletion. *Global Environ Change* 20:428–439. <https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2010.04.004>
- Veneklaas EJ, Stevens J, Cawthray GR, Turner S, Grigg AM, Lambers H (2003) Chickpea and white lupin rhizosphere carboxylates vary with soil properties and enhance phosphorus uptake. *Plant Soil* 248:187–197. <https://doi.org/10.1023/A:1022367312851>
- Veneklaas EJ, Lambers H, Bragg J, Finnegan PM, Lovelock CE, Plaxton WC, Price CA, Scheible WR, Shane MW, White PJ, Raven JA (2012) Opportunities for improving phosphorus-use efficiency in crop plants. *New Phytol* 195:306–320. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04190.x>
- Viret O, Gindro K (2025) Grapevine. In: Viret O, Gindro K (eds) *Science of fungi in grapevine*. Springer, Cham, pp 11–108. https://doi.org/10.1007/978-3-031-68663-4_2
- Vivancos J, Deshmukh R, Grégoire C, Rémus-Borel W, Belzile F, Bélanger RR (2016) Identification and characterization of silicon efflux transporters in horsetail (*Equisetum arvense*). *J Plant Physiol* 200:82–89. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2016.06.011>
- Wan Y, Schwaninger HR, Baldo AM, Labate JA, Zhong G-Y, Simon CJ (2013) A phylogenetic analysis of the grape genus (*Vitis* L.) reveals broad reticulation and concurrent diversification during neogene and quaternary climate change. *BMC Evol Biol* 13:141. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-13-141>
- Wang F, Deng M, Xu J, Zhu X, Mao C (2018) Molecular mechanism of phosphate signaling in plants. *Semin Cell Dev Biol* 74:114–122. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2017.06.013>
- Wang J, Yang Y, Liao L, Xu J, Liang X, Liu W (2019) Genome-wide identification and functional characterization of the phosphate transporter gene family in *Sorghum*. *Biomolecules* 9:670. <https://doi.org/10.3390/biom9110670>
- Wang L, Li Z, Qian W, Guo W, Gao X, Huang L, Wang H, Zhu H, Wu JW, Wang D, Liu D (2011) The Arabidopsis purple acid phosphatase *AtPAP10* is predominantly associated with the root surface and plays an important role in plant tolerance to phosphate limitation. *Plant Physiol* 157:1283–1299. <https://doi.org/10.1104/pp.111.183723>
- Wang L, Nancollas GH (2008) Calcium orthophosphates: crystallization and dissolution. *Chem Rev* 108:4628–4669. <https://doi.org/10.1021/cr0782574>
- Wang X, Tang C, Guppy CN, Sale PWG (2008) Phosphorus acquisition characteristics of cotton (*Gossypium hirsutum* L.), wheat (*Triticum aestivum* L.) and white lupin (*Lupinus albus* L.) under P deficient conditions. *Plant Soil* 312:117–128. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9589-1>
- Wedding RT, Black MK, Meyer CR (1990) Inhibition of phosphoenolpyruvate carboxylase by malate. *Plant Physiol* 92:456–461. <https://doi.org/10.1104/pp.92.2.456>
- Wege S, Khan G, Jung J, Vogiatzaki E, Pradervand S, Aller I, Meyer A, Poirier Y (2016) The EXS domain of PHO1 participates in the response of shoots to phosphate deficiency via a root-to-shoot signal. *Plant Physiol* 170:385–400. <https://doi.org/10.1104/pp.15.00975>
- Wen J, Lu LM, Nie ZL, Liu XQ, Zhang N, Ickert-Bond S, Gerrath J, Manchester SR, Boggan J, Chen ZD (2018) A new phylogenetic tribal classification of the grape family (*Vitaceae*). *J Syst Evol* 56:262–272. <https://doi.org/10.1111/jse.12427>
- Wieczorek D, Żyszka-Haberecht B, Kafka A, Lipok J (2022) Determination of phosphorus compounds in plant tissues: from colourimetry to advanced instrumental analytical chemistry. *Plant Methods* 18:22. <https://doi.org/10.1186/s13007-022-00854-6>
- Wipf D, Krajinski F, van Tuinen D, Recorbet G, Courty PE (2019) Trading on the arbuscular mycorrhiza market: from arbuscules to common mycorrhizal networks. *New Phytol* 223:1127–1142. <https://doi.org/10.1111/nph.15775>

- World Population Review (2026) Country data. <https://worldpopulationreview.com/country>
- Wu T, Pan L, Zipori I, Mao J, Li R, Li Y, Jing Y, Chen H (2022) Arbuscular mycorrhizal fungi enhanced the growth, phosphorus uptake and Pht expression of olive (*Olea europaea* L.) plantlets. PeerJ 10:e13813. <https://doi.org/10.7717/peerj.1381>
- Xiang G, Ma W, Gao S, Jin Z, Yue Q, Yao Y (2019) Transcriptomic and phosphoproteomic profiling and metabolite analyses reveal the mechanism of NaHCO₃-induced organic acid secretion in grapevine roots. BMC Plant Biol 19:383. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1990-9>
- Yamaji N, Mitatni N, Ma JF (2008) A transporter regulating silicon distribution in rice shoots. Plant Cell 20:1381–1389. <https://doi.org/10.1105/tpc.108.059311>
- Yamaji N, Ma JF (2009) A transporter at the node responsible for intervascular transfer of silicon in rice. Plant Cell 21:2878–2883. <https://doi.org/10.1105/tpc.109.069831>
- Yamaji N, Chiba Y, Mitani-Ueno N, Ma JF (2012) Functional characterization of a silicon transporter gene implicated in silicon distribution in barley. Plant Physiol 160:1491–1497. <https://doi.org/10.1104/pp.112.204578>
- Yamaji N, Sakurai G, Mitani-Ueno N, Ma JF (2015) Orchestration of three transporters and distinct vascular structures in node for intervascular transfer of silicon in rice. Proc Natl Acad Sci USA 112:1140–1406. <https://doi.org/10.1073/pnas.1508987112>
- Yang SY, Lin WY, Hsiao YM, Chiou TJ (2024) Milestones in understanding transport, sensing, and signaling of the plant nutrient phosphorus. Plant Cell 36:1504–1523. <https://doi.org/10.1093/plcell/koad326>
- Yang YY, Asal S, Toor GS (2020) Residential catchments to coastal waters: Forms, fluxes, and mechanisms of phosphorus transport. Sci Total Environ 765:142767. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142767>
- Ye Y, Yuan J, Chang X, Yang M, Zhang L, Lu K, Lian X (2015) The Phosphate Transporter Gene *OsPht1;4* Is Involved in Phosphate Homeostasis in Rice. PLoS ONE 10:e0126186. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0126186>
- Yeo AR, Flowers SA, Rao G, Welfare K, Senanayake N, Flowers TJ (1999) Silicon reduces sodium uptake in rice (*Oryza sativa* L.) in saline conditions and this is accounted for by a reduction in the transpirational bypass flow. Plant Cell Environ 22:559–565. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.1999.00418.x>
- Yu B, Xu C, Benning C (2002) *Arabidopsis* disrupted in SQD2 encoding sulfolipid synthase is impaired in phosphate-limited growth. Proc Natl Acad Sci USA 99:5732–5737. <https://doi.org/10.1073/pnas.082696499>
- Yu H, Qin Z, de Tombeur F, Lambers H, Lu X, Lai Y, Kuang Y (2024) Atmospheric nitrogen deposition: what are the impacts on silicon dynamics in a subtropical forest? Plant Soil 509:433–448. <https://doi.org/10.1007/s11104-024-06872-8>
- Zecca G, Abbott JR, Sun W-B, Spada A, Sala F, Grassi F (2012) The timing and the mode of evolution of wild grapes (*Vitis*). Mol Phylogenet Evol 62:736–747. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.11.015>
- Zhang C, Meng S, Li M, Zhao Z (2016a) Genomic identification and expression analysis of the phosphate transporter gene family in poplar. Front Plant Sci 7:1398. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01398>
- Zhang C, Jia H, Zeng J, Perraiz T, Xie Z, Zhu X, Wang C (2016b) Fertilization of grapevine based on gene expression. Plant Genome 9:3. <https://doi.org/10.3835/plantgenome2015.09.0083>
- Zhang JC, Wang XN, Sun W, Wang XF, Tong XS, Ji XL, An JP, Zhao Q, You CX, Hao YJ (2020) Phosphate regulates malate/citrate-mediated iron uptake and transport in apple. Plant Sci 297:110526. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110526>

- Zhang M, Liang Y, Chu G (2017) Applying silicate fertilizer increases both yield and quality of table grape (*Vitis vinifera* L.) grown on calcareous grey desert soil. *Sci Hort* 225:757–763. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.08.019>
- Zhang W, Liu D, Li C, Cui Z, Chen X, Russell Y, Zou C (2015) Zinc accumulation and remobilization in winter wheat as affected by phosphorus application. *Field Crops Res* 184:155–161. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2015.10.002>
- Zhang Y, Liang Y, Zhao X, Jin X, Hou L, Shi Y, Ahammed GJ (2019) Silicon compensates phosphorus deficit-induced growth inhibition by improving photosynthetic capacity, antioxidant potential, and nutrient homeostasis in tomato. *Agronomy* 9:733. <https://doi.org/10.3390/agronomy9110733>
- Zhang H, Huang Y, Ye X, Xu F (2011) Genotypic variation in phosphorus acquisition from sparingly soluble P sources is related to root morphology and root exudates in *Brassica napus*. *Sci China Life Sci* 54:1134–1142. <https://doi.org/10.1007/s11427-011-4254-y>
- Zhou Y, Neuhäuser B, Neumann G, Ludewig U (2020) *LaALMT1* mediates malate release from phosphorus-deficient white lupin root tips and metal root to shoot translocation. *Plant Cell Environ* 43:1691–1706. <https://doi.org/10.1111/pce.13762>
- Zhou X, Huang J, Zhou Y, Shi W (2012) Genotypic variation of rape in phosphorus uptake from sparingly soluble phosphate and its active mechanism. *Afr J Biotechnol* 11:3061–3069. <https://doi.org/10.5897/AJB11.3043>

Biografija autora

Maja M. Trailović rođena je 12. 08. 1992. godine u Majdanpeku. Gimanziju “Mile Arsenijević Bandera” opšteg smera, završila je u Majdanpeku 2011. godine. Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu (smer ekologija i zaštita životne sredine) upisala je školske 2011/2012 godine i diplomirala 2015. godine. Master akademske studije na Biološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu (smer ekologija) upisala je 2015. godine i završila ih 2017. godine sa prosečnom ocenom 9.50, odbranivši master rad “Anatomija, kariologija i sadržaj osnovnih makroelemenata i toksičnih metala u biljnim tkivima vrste *Centaurea kosaninii* Hayek (Compositae) sa serpentinita Šar-planine”, koji je ocenjen najvišom ocenom (10). Doktorske akademske studije na Biološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu na studijskom programu Biologija, modulu Fiziologija i molekularna biologija biljaka, upisala je 2017. godine.

U toku studiranja, boravila je na dvomesečnoj razmeni studenata na Odeljenju za fiziologiju biljaka Univerziteta u Kulu (Nemačka). Od 2015. do 2017. godine volontirala je na Odeljenju za fiziologiju na Univerzitetu u Beogradu – Institutu za Biološka istraživanja “Siniša Stanković”.

Maja Trailović je od 2019. do 2020. godine kao stipendista Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije, bila angažovana je na projektu “Mineralni stres i adaptacija biljaka na marginalnim poljoprivrednim zemljištima” pod rukovodstvom dr Miroslav Nikolića, u Laboratoriji za ishranu biljaka, Univerziteta u Beogradu – Instituta za multidisciplinarna istraživanja, kada počinje izradu doktorske disertacije pod mentorstvom dr Ljiljane Kostić Kravljanac. Od septembra 2020. godine zaposlena je u Institutu za multidisciplinarna istraživanja, kao istraživač pripravnik, a 2023. godine izabrana je u zvanje istraživač saradnik. Od decembra 2021. godine učestvuje na projekta “*Silicon for Crops in the 21st Century (Si4Crop)*”, pod rukovodstvom Ljiljane Kostić Kravljanac, a u okviru programa Ideje Fonda za nauku Republike Srbije. Od 2022. je član *International Society for Silicon in Agriculture (ISSAG)*, a u periodu od 2022. do 2025. godine je i predstavnik studenata u Upravnom odboru toga društva. Bila je član organizacionog tima *9th International Conference on Silicon in Agriculture*, koja je održana od 15. do 19. septembra 2025 godine u Beogradu. Uža oblast istraživanja Maje Trailović jeste fiziologija mineralne ishrana biljaka.

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора **Маја Траиловић**

Број индекса **Б3019/2017**

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Физиолошки и молекуларни механизми мобилизације и транспорта фосфора код винове лозе (*Vitis spp.*)

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, 31. 03. 2026.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Маја Траиловић

Број индекса Б3019/2017

Студијски програм Биологија – Физиологија и молекуларна биологија
биљака

Наслов рада Физиолошки и молекуларни механизми мобилизације и транспорта фосфора
код винове лозе (*Vitis spp.*)

Ментори др Љиљана Костић Крављанац, виши научни сарадник и др
Милорад Вујичић, ванредни професор

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањивања у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбранерада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис аутора

У Београду, 31. 03. 2026.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Физиолошки и молекуларни механизми мобилизације и транспорта фосфора код винове лозе (*Vitis spp.*)

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)

2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)

3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)

5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)

6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.

Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

Потпис аутора

У Београду, 31. 03. 2026.

1. **Ауторство.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.
2. **Ауторство – некомерцијално.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.
3. **Ауторство – некомерцијално – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.
4. **Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.
5. **Ауторство – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.
6. **Ауторство – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.