

ADAPTACIJA IN VITRO PRESADNICA PELARGONIUM ZONALE L. U ALTERNATIVNIM SUPSTRATIMA

Varvodić, Ozana

Master's thesis / Diplomski rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of agriculture / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:853855>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-31**



Sveučilište Josipa Jurja
Strossmayera u Osijeku

**Fakultet
agrobiotehničkih
znanosti Osijek**

Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Ozana Varvodić, apsolvent

Diplomski studij Povrćarstvo i cvjećarstvo

**ADAPTACIJA *IN VITRO* PRESADNICA *PELARGONIUM ZONALE* L. U
ALTERNATIVNIM SUPSTRATIMA**

Diplomski rad

Osijek, 2017.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Ozana Varvodić, apsolvent

Diplomski studij Povrčarstvo i cvjećarstvo

**ADAPTACIJA *IN VITRO* PRESADNICA *PELARGONIUM ZONALE* L. U
ALTERNATIVNIM SUPSTRATIMA**

Diplomski rad

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskog rada:

1. prof. dr. sc. Nada Parađiković, predsjednik
2. dr. sc. Monika Tkalec, mentor
3. doc. dr. sc. Tomislav Vinković, član

Osijek, 2017.

Sadržaj

| | |
|---|----|
| 1. UVOD | 1 |
| 2. PREGLED LITERATURE | 3 |
| 3. MATERIJAL I METODE | 9 |
| 3.1. Uvođenje u kulturu..... | 9 |
| 3.2. Priprema biljaka za presađivanje u supstrate | 11 |
| 3.3. Uzorkovanje biljnog materijala | 12 |
| 3.4. Analiza supstrata | 12 |
| 3.5. Statistička obrada podataka | 13 |
| 4. REZULTATI | 14 |
| 4.1. Osnovna kemijska svojstva supstrata za sadnju presadnica pelargonije | 14 |
| 4.2. Morfološka svojstva presadnica pelargonija nakon uzgoja u različitim supstratima | 15 |
| 5. RASPRAVA..... | 19 |
| 6. ZAKLJUČAK | 23 |
| 7. POPIS LITERATURE..... | 24 |
| 8. SAŽETAK..... | 28 |
| 9. SUMMARY | 29 |
| 10. POPIS TABLICA | 30 |
| TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA | 31 |
| BASIC DOCUMENTATION CARD | 32 |

1. UVOD

Kultura tkiva *in vitro* je postupak koji podrazumijeva rast vrlo sitnih organa, komadića tkiva ili izoliranih stanica u aseptičnim uvjetima. Sam naziv *in vitro* označava uzgoj u staklu ili prozirnim posudama. Ovaj se postupak često naziva mikrorazmnožavanje jer su biljni organi ili cijele biljke, u odnosu na generativnu proizvodnju vrlo malih dimenzija (Međedović, 2003.). Danas je kultura tkiva *in vitro* općeprihvaćena, isplativa i provjerena tehnika kojom se može multiplicirati veliki broj biljnih vrsta koje imaju sposobnost vegetativnog razmnožavanja. Mikrorazmnožavanje odvija se u steriliziranim uvjetima, bez virusa i patogena te se može neprekidno odvijati tijekom cijele godine (Lewandovski, 1991.).

Primjena brojnih tehnika kulture biljnih stanica *in vitro* za rješavanje poljoprivrednih problema izuzetno se povećala u posljednjih deset godina. To je posebno vidljivo u prihvaćanju mikrorazmnožavanja kao pogodne metode za tržišnu proizvodnju. U početku su se *in vitro* razmnožavale uglavnom samo ukrasne vrste, da bi se taj postupak danas primjenjivao na velikom broju korisnih biljaka kao što su: matične biljke uzgajivača, šumsko drveće i poljoprivredne kulture (Jelaska, 1994.).

Intenzivno se ispituje iskorištavanje ove tehnike u masovnoj reprodukciji biomase, gume, biljnih uljnih proizvoda, a posebno za dobivanje vrijednih vrlo složenih biljnih spojeva čija je sinteza kemijskim metodama još uvijek preskupa i zamršena. Metode *in vitro* mogle bi se primjeniti i za očuvanje ugroženih i rijetkih biljnih vrsta i biljnog genofonda (Jelaska, 1994.).

Procjenjuje se da tresetišta prekrivaju oko 400 milijuna hektara u 180 država što je jednako 3 % Zemljine površine. Tresetišta se koriste u razne svrhe. Nedrenirana tresetišta vrijedna su staništa za brojne biološki različite organizme i mnoga se koriste kao prirodne rezerve dok se drenirana tresetišta iskorištavaju za agrokulturu i pošumljavanje te za ekstrakciju treseta koji se kasnije koristi u komercijalnim supstratima (Clarke i Rieley, 2010.).

Tresetišta su jedinstveni biološki resursi koji tvore izrazit lokalni, nacionalni i globalni ekosustav važan za održavanje genetske bioraznolikosti, vrsta i staništa. Na njima se mogu pronaći neke od najrjeđih biljnih i životinjskih vrsta od kojih su mnoge prilagođene specifičnim uvjetima staništa. Postoje različite vrste tresetišta, na primjer

tropska su tresetišta jedna od najbioraznolikijih ekosistema na svijetu (Clarke i Rieley, 2010.).

Uloga tresetišta u regulaciji vode ovisi o održavanju integriteta njihove jedinstvene hidrologije koja je neovisna, ali povezana sa hidrologijom susjednog tresetišta te širim okolišem. Tresetišta modificiraju kvalitetu i kvantitetu vode, imaju ulogu odvoda za neke supstance te utječu na privremeni uzorak dostave vode u rijekama i jezerima. Formiranje i održavanje treseta ovisi o klimi, posebno padalinama i temperaturi (Clarke i Rieley, 2010.).

Tresetišta, osim što su od vitalne ekološke važnosti, isto tako važan ekonomski resurs u mnogim zemljama u kojima su korištena i cijenjena u različite svrhe. Ona su bila izvor goriva, hrane i skloništa lokalnim zajednicama, ali velik dio njih su relativno nepristupačna i ostala su netaknuta. Značajne promjene dogodile su se u upotrebi tresetišta u zadnjem stoljeću (Clarke i Rieley, 2010.).

Eksploatacijom prirodnih tresetišta dolazi do narušavanja svih navedenih vrijednosti prirodnih tresetišta. Kako se u današnjoj hortikulturnoj proizvodnji bilja većina vrsta uzgaja na supstratima baziranim na tresetima, došlo je do prevelike eksploatacije istog. Stoga je nužno potražiti neka od alternativnih rješenja kako bi se barem smanjila eksploatacija prirodnih tresetišta te na taj način omogućila njegova regeneracija.

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi pogodnost različitih alternativnih komponenti organskog podrijetla za adaptaciju *in vitro* presadnica pelargonije te dobivanje komercijalne presadnice.

2. PREGLED LITERATURE

Prema García-Sogo, (2012.) pelargonija je jedna od najpoznatijih cvjetnih vrsta u svijetu. Ekonomski je vrlo značajna na tržištu ukrasnog bilja. Zawadzka i sur. (2013.) navode kako je tijekom 2012. godine zabilježena prodaja 20 milijuna lončića pelargonije procijenjenih na više od 17 milijuna eura.

Iako je poznata kao proljetno ljetna cvjetna vrsta koja se može uzgajati u cvjetnim gredicama ili lončanicama, današnji hibridi imaju sposobnost rasta i razvoja tijekom cijele sezone, posebno u krajevima bez mraza (Wazir, 2015.). Currey i Lopez (2013.) ističu kako se pelargonije razmnožavaju reznicama koje se uzimaju s jednogodišnjih izboja u rano proljeće ili kasnu zimu. Moguće posljedice održavanja velikog broja biljaka nakon uzimanja reznica mogu biti bakterijska i gljivična oboljenja (Mastalerz, 1971.) također virusna oboljenja putem sustava za navodnjavanje (Krczal i sur., 1995.). Iznimno je važna kvaliteta sadnog materijala za daljnju proizvodnju zdravih biljaka (Rout i sur., 2006.). Biotehnološkim postupkom *in vitro* propagacijom moguće je osigurati zdrav biljni materijal (Chebet i sur., 2003.)

Dorion i sur. (2010.) opisali su metode *in vitro* uzgoja *Pelargonium x Hortorum* i nekoliko drugih vrsta pelargonija od meristema do protoplasta. Opisuju protokole za dobivanje bezvirusnih biljaka iz sjemena i meristema, napominjući kako je razvojem ove tehnike omogućeno očuvanje genetskih resursa putem meristemske krioprezervacije. Nadalje, navode protokol za propagaciju pelargonije sa ograničavajućim rizikom pojave varijacija, što omogućuje uzgoj velikog broja identičnih biljaka za daljnja istraživanja. Naposljetku, opisuju protokole regeneracije biljke pomoću listova i mezofila protoplasta koji se koriste za transfer gena te somatsku hibridizaciju.

Arrigoni-Blank i sur. (2010.) istraživali su najučinkovitiju metodu dezinfekcije biljnog materijala *P. graveolens* za uvođenje u kulturu ispitujući utjecaj dva dezinfekcijska sredstva te dužinu trajanja dezinfekcije. Korištene su četiri koncentracije natrijeva hipoklorita (1.0, 1.5, 2.0, 2.5 %) te četiri koncentracije živinog klorida (0.06, 0.08, 0.10, 0.12 %) u različitom trajanju (8, 10, 12, 14 min) dezinfekcije. Za dezinfekciju eksplantanata pelargonije najučinkovitije su se pokazali natrijev hipoklorit u koncentraciji

1,2 % u vremenu od 12 minuta te živin klorid u koncentracijama 0,09 i 0,08% u vremenu od 12 i 14 minuta.

Winkelmann i sur. (2005.) navode kako su eksplantati lista i peteljke 8 kultivara *P. zonale* i *P. peltatum* uvedeni na modificiranu MS hranjivu podlogu sa 2 koncentracije TDZ, BAP i zeatina (5 i 20 μ M). Na eksplantatima peteljke zabilježena je bolja regeneracija u odnosu na eksplantate lista, a citokini i TDZ zabilježeni su kao najučinkovitiji regulatori rasta.

Marani i sur. (1988.) izolirali su apikalni meristem (0, 2 - 0, 3 mm) kultivara *Pelargonium zonale* tijekom ožujka i listopada i uveli u kulturu na MS hranjivu podlogu uz dodatak regulatora rasta GA3 (0,01 do 1,0 mg/L), a kasnije IBA (za ukorjenjivanje) u koncentraciji 0,1 do 1,0 mg/L. Ovisno o sorti, vrijeme potrebno za proizvodnju mladih biljaka variralo je od dva do četiri mjeseca, a najbolje rezultate pokazali su eksplantati uzeti u ožujku.

Načine regeneracije iz eksplantata hipokotila *Pelargonium x hortorum* 'Scarlet Orbit' i tri srodne vrste, *P. zonale*, *P. alchemilloides* i *P. inquinans* proučavali su u svom istraživanju Madden i sur. (2005.) na hranjivim podlogama sa različitim tretmanima citokinina [1 mM thidiazuron (TDZ), 4mM TDZ ili 8 mM N6-benzylaminopurine (BA) i 1mM indole-3-acetic acid (IAA)]. *P. x hortorum* 'Scarlet Orbit' i *P. zonale* pokazale su slične rezultate, veliki broj lako odvojivih struktura poput embrija u tretmanu sa 1 mM TDZ; *P. alchemilloides* i *P. inquinans* pokazali su slabe embriogenogene rezultate na sve tretmane.

Dodatak citokinina povećao je značajno broj aksilarnih i adventivnih pupova u usporedni sa hranjivim podlogama bez regulatora rasta ili sa dodatkom aminokiselina kod pelargonium vrsta. Dodatak m-Topolin hranjivoj podlozi rezultirao je razvoju zdravih nedeformiranih izboja kod *P. x hederifolium*, te većim brojem izboja i očigledno bolju boju lista kod *P. x hortorum* (Wojtania i Gabryszewska, 2001.). Nadalje, veća regeneracijska sposobnost zabilježena je na eksplantatima pelargonije izoliranim u travnju u odnosu na one izolirane u srpnju i rujnu. Najučinkovitija regeneracija te pojava aksilarnih izboja zabilježena je na hranjivoj podlozi s *meta*-topolinom koji nije imao negativni učinak

na rast korijenja na hranjivoj podlozi za ukorjenjivanje bez regulatora rasta (Wojtania, 2010.).

GA(3) i paktobutrazol (inhibitor putanje GA sinteze) dodani su (zajedno ili odvojeno) u hranjivu podlogu za regeneraciju izboja dvije vrste pelargonija, *Pelargonium x hortorum* i *Pelargonium x domesticum*. Kod obje vrste kada se GA(3) primjenjuje sama potpuno inhibira regeneraciju pupoljak. Osim toga, brzina formiranja kalusa drastično se smanjuje pri 5 μ M GA(3) kod *P. domesticum* eksplantata. Sličan rezultat je dobiven kod *P. hortorum* eksplantata pri 20 μ M GA(3). Paktobutrazol (0,3 μ M) primjenjujući istovremeno sa GA(3) (μ M) može djelomično obnoviti regeneraciju kod *P. domesticum* (Hamama i sur., 2012.).

Sukhumpinij i sur. (2010.) navode značajan utjecaj osvjetljenja na rast i diferencijaciju eksplantata *Pelargonium rapaceum* (L.) L'Hérit. Na eksplantatima lista kultiviranim u mraku zabilježen je veći postotak regeneracije u odnosu na eksplantate kultivirane pod osvjetljenjem. Štoviše, pojava izboja zabilježena je na eksplantatima uzgajani u mraku na MS hranjivoj podlozi s dodatkom regulatora rasta NAA i BAP. Autori zaključuju da uvjeti bez osvjetljenja stimuliraju regeneraciju i pojavu izboja kada se koristi list kao eksplantat.

Pojava malih kalusa te regeneracija izboja zabilježena je na svim eksplantatima *P. graveolens* u potpunom mraku, dok je pri slabom osvjetljenju 69 - 95 % eksplantata razvilo kalus, a na svega 20 % je zabilježena i pojava izboja. Eksplantati *P. capitatum* razvili su kaluse bez pojave izboja u potpunom mraku ili pri slabom osvjetljenju, a najveći zabilježen postotak stvaranja kalusa iznosio je 75 % (Hassanein i Dorion, 2005.).

Konvencionalne metode oplemenjivanja i križanja tijekom godina su stvorile kultivare pelargonije sa odličnim svojstvima (García-Sogo, 2012.), no iskoristile su tek manji dio pozitivnih svojstava divljih vrsta. Rod *Pelargonium* pruža s preko 250 divljih vrsta raspoređenih u 16 sekcija veliku genetičku raznolikost. Mnogobrojne divlje vrste iz *Pelargonium* sekcije karakteriziraju potpuno drugačija svojstva od onih običnih kultivara kao što su svojstva cvjeta, habitusa te potrebe prema uvjetima uzgoja (Plaschil i sur., 2012.). *In vitro* biotehnologije, uključujući tehnike rekombinantne DNA, kulturu tkiva i genetsku transformaciju, nude nove mogućnosti za stvaranje novih kultivara. Uvođenje

transgena može utjecati na mnogo fenotipskih osobina uključujući boju, oblik, broj i veličina cvjetova i listova te otpornost na razne bolesti i štetnike.

Boase i sur. (1998.) navode učinkovitu genetsku transformaciju *Pelargonium x domesticum* Dubonnet s *Agrobacterium tumefaciens* koristeći 6 tjedana stare *in vitro* biljke pelargonije za izolaciju eksplantata plojke lista. Ispitivanje tri vrste hranjive podloge za regeneraciju izboja s različitim koncentracijama regulatora rasta NAA i BAP pokazalo je dvostruku veću pojavu izboja kod eksplantata plojke u odnosu na eksplantate izolirane s biljaka koje su uzgajane u plasteniku. Transformacijom je uveden binarni vektor pLN54 koji sadrži fitokrom A cDNA iz zobi (*Avena sativa* L.) zajedno s genom nptII za otpornost na kanamicin. Prema testu ukorjenjivanja uz prisutnost kanamicina, učinkovitost transformacije iznosila je 19,3 %, odnosno dobiveno je 29 neovisnih pLN54 transformanata potvrđenih metodama po Southernu i Northernu.

Benazir i sur. (2013.) postavili su učinkovit protokol za prijenos genomske DNA u *P. graveolens* metodom posredne transformacije s *Agrobacterium*. Nakon 12 h inkubacije na 37 °C u mraku, na transformiranom kalusu zabilježeno je plavo obojenje, dok na netransformiranom kalusu nije bilo obojenja. Transformirani kalus domaćin je plazmida pTOK 233 koji sadrži β -glukuronidaza gen, koji metabolizira X-gluc i daje karakterističnu plavu boju.

Visoka sposobnost zadržavanja vode te visoki kapacitet za zrak glavne su odlike supstrata. Obzirom da se navedeni parametri mogu kontrolirati specifičnim strukturama različitih sirovina tako se treset može optimizirati prema zahtjevima biljke. Treset osigurava visok puferski kapacitet, a humnske kiseline koje sadrži reguliraju izmjenu hranjivih tvari ovisno o potrebama biljaka. Primjer vrlo dobrog pufera koji osigurava stabilan pH tijekom uzgoja jest tresetna mahovina (FAQs about Klasmann products, 2013.).

Prema Clarke i Rieley (2010.) u nekim dijelovima svijeta zbog intenzivnog iskorištenja tresetišta dolazi do izmjene ekosustava močvara te u konačnici utječe na izmjenu okoliša. Netaknuta tresetišta jesu artička i subartička, dok se u Europi treset prestao akumulirati u preko 50% bivših močvarnih područja. Procijenjeno je da se trenutno treset akumulira na 55% izvornih slobalnih močvarnih područja.

Koristeći se alternativnim materijalima kao što su otpadne vode, rižine pljevice, perlit, vermikulit, argentinski Sphagnum i Carex treset, Benedetto i sur. (2006.) formirali su 13 različitih supstrata te ih usporedili s komercijalnim supstratom na bazi treseta. Rezultat usporedbe je sličan ili veći omjer izboja i korijena te veća dužina korijena *Viola wittrokiana* i *Petunia x hybrida* u alternativnim supstratima dok je kod komercijalnog supstrata zabilježena najveća lisna površina *Viola wittrokiana*.

Ispitivanje ukupno 27 supstrata borovine s različitim omjerima organskih dodataka i pijeska proveli su Jackson i sur. (2010.). Dodatkom pijeska postižu se dobra fizikalna svojstva supstrata nužna za uspješan rast biljaka. Povećanje kapaciteta za zrak i vodu postiže se dodatkom treseta ili kore bora te smanjenjem veličine čestica. Povećani rast kadifica uočen je u supstratu sa sitnim česticama. Zaključak je autora da grubo usitnjen supstrat borovine uz dodatak treseta, borove kore ili pijeska može rezultirati supstratom sličnih fizikalnih svojstava i optimalnog rasta biljaka kao i u komercijalnim supstratima.

Nowak i Strojny (2003.) ispitivali su tijekom 24 mjeseca rast gerbera u 5 različitih medija. Šljunčani treset koji sadrži 90% bijelog treseta i 10% perlita, zatim smeđi treset sastavljen od 60% smeđeg treseta, 40% kalcinirane gline i praha, bijeli treset koji sadrži 90% bijelog treseta i 10% perlita. Ovi supstrati pokazali su se najboljima za postizanje visoko kvalitetnog cvijeta. Najniži rast i razvoj cvijeta zabilježen je u supstratu s bijelim tresetom bez dodataka. Međutim, rast biljke bio je zadovoljavajuć u prvih šest mjeseci nakon čega je uočen znatno sporiji rast u odnosu na biljke uzgojene u drugim supstratima. Fizikalna svojstva supstrata s bijelim tresetom značajno su promijenjena zbog brzog razlaganja komponenti koje sadrži.

Riaz i sur. (2014.) proveli su istraživanje kako bi utvrdili rast *Zinnia elegans* u različitim organskim supstratima. Izgled cvijeta ovisi o supstratu u koji je biljka posađena. U pokusu su se služili visokim, srednjim i patuljastim kultivarom cinije koje su bile posađene u različite organske supstrate uključujući kokosova vlakna i tlo, kompostirano lišće i mulj, gnojnica i silt, samo kompostirano lišće te tlo iz vrta za kontrolu. Parametri koji su se određivali jesu: visina biljke, promjer stabljike, vrijeme razvoja cvijeta, trajanje cvijeta, broj cvjetova i biljaka, veličina cvijeta, broj lišća, površina lista, broj bočnih grana, duljina korijena. Rezultati su pokazali da su na organske supstrate najbolje reagirali patuljasti kultivari, a visoki kultivari pokazali su izdržljivost i najdulji vijek trajanja.

Među supstratima, najboljim se pokazala mješavina FYM i mulja te kompostiranog lišća i mulja koji su dali najbolje rezultate u ovom eksperimentu.

Meerow (1994.) je u svom istraživanju uspoređivao rast *Pentas lanceolata* Forssk. i *Ixora coccinea* L. u spremniku sa supstratima od šljunčanog treseta, treseta od sjemenki i kokosova praha. Indeks rasta te vrh i korijen biljke bili su značajno bolji u supstratu od praha. *Pentas lanceolata* Forssk. rasle su jednako dobro u mediju od praha i šljunka. Indeks rasta i vrhovi *Ixora coccinea* L. bili su značajno lošiji u mediju od praha u usporedbi sa šljunčanim, ali je korijen bio podjednako dobar u oba supstrata. Supstrat od šljunčanog treseta imao je najveću poroznost zraka i najmanji kapacitet zadržavanja vode od sva tri medija u početnom dijelu testiranja, ali na kraju testiranja ove karakteristike su se promjenile. Medij od praha kokosa pokazao je najmanju promjenu pri mjerenju parametara. Tijekom trajanja testiranja utvrđeno je da bi prah kokosa mogao biti prihvatljiva zamjena za supstrat od šljunčanog treseta i treseta sjemenki u spremniku u kojem nema tla, ali nutritivni režim se mora prilagoditi ovisno o potrebama biljke.

3. MATERIJAL I METODE

U Laboratoriju i Praktikumu za povčarstvo, cvječarstvo, začinsko i aromatično bilje na Poljoprivrednom fakultetu u Osijeku provedeno je istraživanje u razdoblju od 2013. do 2016. godine. Istraživanje se odvijalo u dvije faze: multipliciranje biljnog materijala *in vitro* i adaptacija dobivenih presadnica u različitim alternativnim supstratima. Također, kemijske analize biljnog materijala i supstrata provedene su u Laboratoriju za agroekologiju na Poljoprivrednom fakultetu u Osijeku.

3.1. Uvođenje u kulturu

Biljni materijal pelargonije steriliziran je na slijedeći način. Običnom vodom iz slavine ispiru se biljni materijal trideset minuta jer se na taj način osigurava smanjenje kontaminacije s biljnog materijala.

Nakon toga slijedi uranjanje biljnog materijala u otopinu 70 %-tnog etanola jednu minutu čime odstranjujemo mjehuriće zraka kako se u njima ne bi zadržali patogeni.

Biljni se materijal potom uranja u otopinu 2%-tnog NaClO uz dodatak par kapi detergenta u trajanju od dvadeset minuta zatim se biljni materijal ispiru sterilnom vodom pet puta.

Od steriliziranog biljnog materijala izolirani su eksplantati za uvođenje u kulturu, a njih su činili mladi neotvoreni listovi pelargonije koji su uvedeni na QL hranjivu podlogu (Quoirin i Lepoivre, 1997.) bez regulatora rasta. Uvedeno je po 40 biljaka pelargonije koje su pojedinačno postavljene u epruvetu sa 10 mL hranjive podloge.

Hranjiva podloga za multiplikaciju i osnivanje biljaka sastojala se od vitamina, mikro i makro otopina hranjivih tvari, željeza, 3 % saharoze, 0,7 % agra i 100 mL mioinositola.

Prije autoklaviranja pH vrijednost hranjive podloge podešena je na 5,8.

U tablici 1. prikazan je sastav mikro i makro elemenata otopina, otopina vitamina i željeza hranjivih podloga za pelargonije.

Tablica 1. Sastav hranjivih podloga

| <i>Pelargonium zonale</i> L. | |
|---|--------|
| QL* hranjiva podloga | |
| Makroelementi (g/L) | |
| NH ₄ NO ₃ | 4 |
| KNO ₃ | 18 |
| KH ₂ PO ₄ | 2,7 |
| CaCl ₂ × 2H ₂ O | - |
| Ca(NO ₃) ₂ × 4H ₂ O | 8,33 |
| MgSO ₄ × 7H ₂ O | 3,59 |
| Mikroelementi (g/100 mL) | |
| MnSO ₄ × 4H ₂ O | 0,1 |
| ZnSO ₄ × 7H ₂ O | 0,86 |
| H ₃ BO ₃ | 0,62 |
| KI | 0,008 |
| Na ₂ MoO ₄ × 2H ₂ O | 0,025 |
| CuSO ₄ × 5H ₂ O | 0,0025 |
| CoCl ₂ × 6H ₂ O | 0,0025 |
| Fe otopina (g/100 mL) | |
| FeSO ₄ × 7H ₂ O | 0,373 |
| C ₁₀ H ₁₄ N ₂ Na ₂ O ₈ × 2H ₂ O | 0,278 |
| Vitamini (g/100 mL) | |
| Timani hidroklorid | 0,01 |
| Pirodoksin hidroklorin | 0,05 |
| Nikotinska kiselina | 0,05 |
| Glicin | 0,22 |

*QL - (Quoirin i Lepoivre, 1997.)

Na osnovnu QL hranjivu podlogu uz dodatak regulatora rasta citokina, benzilaminopurina, auksina te indol maslačne kiseline supkultivirani su eksplantati pelargonije. U Erlenmeyer tikvice koje su sadržavale 50 mL hranjive podloge postavljeni su eksplantati dva tjedna nakon uvođenja u kulturu.

Nadalje, supkultivacije su vršene svaka 3 – 4 tjedna dok nije postignut dovoljan broj biljaka potreban za daljnje istraživanje. Tijekom svake supkultivacije eksplantati pelargonije obrađeni su u laminarnoj komori u aseptičnim uvjetima. Ukoliko su se razvili bočni izboji oni se odvajaju i uvode na svježju hranjivu podlogu čineći zasebne biljke.

Nakon umnažanja dobivene biljke pelargonije se postavljaju na hranjivu podlogu za zakorjenjivanje da bi im se potaknuo rast korijena, a ne rast bočnih izbojaka. Pelargonije su supkultivirane na osnovnu QL hranjivu podlogu s dodatkom regulatora rasta u koncentraciji od 1 mg/L IBA-e te 0,1 mg/L BAP-a.

3.2. Priprema biljaka za presađivanje u supstrate

Ožiljene biljke pelargonije prenose se iz posuda s hranjivom podlogom u supstrat. Nakon što se biljke odvoje od hranjive podloge mlakom se vodom ispiru korijen kako bi se odstranio ostatak agara. Biljkama je izmjerena dužina korijena, masa biljke, visina biljke te broj izboja. Kako bi se spriječila zaraza gljivom roda *Pythium* biljke su uronjene u 0,2 % otopinu Previcur-a® , a potom su presađene u supstrat.

U istraživanju su korištena 4 alternativna supstrata i kontrolni supstrat. Alternativne supstrate činili su: supstrat od ljuski kakaovca (CC), supstrat od vrbine kore (VK), supstrat nastao nakon proizvodnje šampinjona (G) i supstrat od piljevine (P). Kontrolni supstrat (K) Balkon – blumenerde (Frux, Einheitserde Werkverband e.V., Njemačka)

Pokus je postavljen u polistirenske plitice sa 40 sadnih mjesta. Pelargonije su posađene u četiri alternativna supstrata. Pokus se sastojao od ukupno osam tretmana, a svaki tretman od četiri ponavljanja po deset biljaka. Posađeno je 320 biljaka pelargonije. Posađene biljke postavljene su u plastenik gdje su uzgajane do faze komercijalne presadnice.

Tijekom pokusa dnevna temperatura iznosila je 25 °C, a noćna 19 °C. Relativna vlaga zraka u prvom tjednu iznosila je 90 %, a potom se postupno snižavala do 60 % nakon čega se više nije mijenjala. Izvor svjetlosti predstavljale su žarulje s halogenim elementima i cijevi s natrijem HID (High Intensity Discharge) snage do 400 W. Fotoperiod za biljke iznosio je 12 sati. Tijekom uzgoja redovito su provedene mjere njege kao što su: prozračivanje, zalijevanje te uklanjanje uvelih biljaka.

3.3. Uzorkovanje biljnog materijala

Pri kraju istraživanja, kada su biljke bile već u fazi komercijalne presadnice obavljeno je uzorkovanje biljnog materijala. Uzorkovane su cijele biljke pelargonije i zabilježeni su morfološki pokazatelji svake biljke posebno. Morfološki pokazatelji jesu: broj listova i izboja, dužina i masa korijena, visina i masa nadzemnog dijela. Nadzemna masa i odvojeni korijen odvagani su i spremljeni u papirnate vrećice. Stavljeni su u sušionik na sušenje, pola sata na 105 °C kako bi se zaustavila enzimatska aktivnost, a potom na temperaturu od 70 °C do konstantne mase nakon čega je uslijedilo vaganje suhe mase pomoću koje se određuje postotak suhe tvari.

3.4. Analiza supstrata

U Laboratoriju za ishranu i fiziologiju bilja na Poljoprivrednom fakultetu u Osijeku obavljena je analiza supstrata te su analizirana slijedeća svojstva: pH (EN13037:1999), kompaktna gustoća (EN13040:1999), električni konduktivitet (EN13038: 1999.), određivanje suhe tvari (EN13040:1999), sadržaj pepela i ukupne organske tvari (EN13039:1999), sadržaj ukupnog dušika (EN13654-1), C/N odnos (EN 13652) i sadržaj ukupnog organskog ugljika (HRN ISO14235:1994).

3.5. Statistička obrada podataka

Rezultati su statistički analizirani uporabom programa SAS for Windows (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Statističke značajnosti utvrđene su testom ANOVA i korelacijama u programu Excel Windows.

4. REZULTATI

4.1. Osnovna kemijska svojstva supstrata za sadnju presadnica pelargonije

Dobiveni rezultati statistički su obrađeni analizom varijance (SAS 9.3, $p < 0,05$, Fisher test) kako bi se utvrdilo postoje li značajne razlike između istraživanih svojstava supstrata.

Tablica 2. Osnovna kemijska svojstva alternativnih supstrata za sadnju presadnica pelargonije (cit. Tkalec, 2017.)

| | Ld g/cm ³ | pH (H ₂ O) | EC mS/cm | ST % | H₂O % |
|-----------|--------------------------------|---------------------------------|--------------------|--------------------|----------------------------|
| CC | 0,88 ^A | 7,15 ^B | 0,59 ^D | 69,68 ^A | 30,32 ^E |
| VK | 0,35 ^C | 7,68 ^A | 0,15 ^E | 33,82 ^E | 66,18 ^A |
| G | 0,72 ^B | 6,89 ^C | 2,41 ^A | 59,52 ^B | 40,48 ^D |
| P | 0,22 ^E | 5,63 ^E | 0,64 ^C | 36,43 ^D | 63,57 ^B |
| K | 0,33 ^D | 6,16 ^D | 0,94 ^B | 46,07 ^C | 53,93 ^C |

*CC – kakaovac, VK – vrbina kora, G – supstrat nakon proizvodnje šampinjona, P – piljevina, K – kontrola

Statističkom obradom podataka utvrđena je značajna razlika za sve ispitivane parametre osnovnih kemijskih svojstava alternativnih supstrata za sadnju presadnica pelargonija. Najveća kompaktna gustoća utvrđena je na supstratu CC, a najmanja na supstratu P. Što se tiče pH vrijednosti, najmanja zabilježena 5,63 je na supstratu P, a najveća 7,68 na supstratu VK, dok su se EC vrijednost kretale od 2,41 mS/cm zabilježene na supstratu G do 0,15 mS/cm na supstratu VK. Najveći sadržaj suhe tvari utvrđen je na supstratu CC, a najmanji na supstratu VK. Suprotno, najveći sadržaj vode zabilježen je supstratu VK, a najmanji na supstratu CC (Tablica 2.).

Nadalje, najveći sadržaj pepela zabilježen je na supstratu CC, a najmanji na supstratu K, suprotno, najveći sadržaj organske tvari zabilježen je na supstratu K, a najmanji na supstratu CC. Na supstratu VK utvrđen je i najveći sadržaj organskog C, dok je najmanji sadržaj organskog ugljika zabilježen na supstratu CC (Tablica 3.).

Zabilježene vrijednosti sadržaj N kretale su se od 20,12 g/kg ST zabilježenih na supstratu VK, do 3,02 g/kg ST zabilježenih na supstratu P. Iz dobivenih rezultata sadržaja C i N, određen je C/N odnosu koji je iznosio od 10:1 u supstratima CC i G do 123/1 u supstratu P. Najveći intenzitet disanja utvrđen je na supstratu VK, dok je najmanji zabilježen na supstratu CC (Tablica 3.).

Tablica 3. Osnovna kemijska svojstva alternativnih supstrata za sadnju presadnica pelargonije (cit. Tkalec, 2017.)

| | Pepeo | OT | C | N | C/N | ID |
|-----------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|------------------|----------------------------|
| | % | % | g/kgST | g/kgST | | mgCO ₂ /gST/dan |
| CC | 80,99 ^A | 19,01 ^E | 76,00 ^E | 7,91 ^D | 10 ^D | 0,29 ^E |
| VK | 11,03 ^D | 88,97 ^B | 398,00 ^A | 20,12 ^A | 20 ^B | 2,08 ^A |
| G | 64,27 ^B | 35,73 ^D | 151,30 ^D | 15,32 ^B | 9 ^E | 0,41 ^D |
| P | 26,22 ^C | 73,79 ^C | 370,00 ^B | 3,02 ^E | 123 ^A | 1,93 ^B |
| K | 8,77 ^E | 91,24 ^A | 258,00 ^C | 15,19 ^C | 17 ^C | 0,54 ^C |

*CC – kakaovac, VK – vrba kora, G – supstrat nakon proizvodnje šampinjona, P – piljevina, K – kontrola

U odnosu na supstrate alternativnih komponenti na komercijalnom supstratu K je utvrđen najveći sadržaj vode i organske tvari.

4.2. Morfološka svojstva presadnica pelargonija nakon uzgoja u različitim supstratima

Statističkom obradom podataka utvrđena je značajna razlika u broju izboja između tretmana G te kontrolnog tretmana K. Značajno veće vrijednosti visine biljaka presadnica pelargonije kontrolnog tretmana zabilježene su u odnosu na tretmane CC i G.

Preostali tretmani nisu se značajno razlikovali u odnosu na kontrolni tretman. Nadalje, nije utvrđena statistički značajna razlika među tretmanima za ispitivani parametar dužine korijena.

Najmanji broj listova utvrđen je na tretmanu G te se značajno razlikovao u odnosu na sve ostale tretmane, osim u odnosu na kontrolni tretman. Značajno veći broj listova presadnica pelargonija u odnosu na kontrolni tretman zabilježen je jedino na tretmanima CC i VK (Tablica 4.).

Tablica 4. Prosječan broj izboja (BI), prosječna visina biljke (VB), prosječna dužina korijena (DK) te prosječan broj listova (BL) presadnica pelargonije u ovisnosti o supstratu (cit. Tkalec, 2017.)

| Tretman | | BI | VB | DK | BL |
|----------------------------|----|--------------------|--------------------|--------------------|----------------------|
| Alternativne komponente | CC | 2,35 ^{AB} | 2,81 ^D | 9,64 ^A | 15,68 ^{ABC} |
| | VK | 2,37 ^{AB} | 3,63 ^{AB} | 9,01 ^A | 16,07 ^{ABC} |
| | G | 2,70 ^A | 3,07 ^{CD} | 9,12 ^A | 18,18 ^A |
| | P | 2,40 ^{AB} | 3,55 ^{AB} | 10,46 ^A | 12,97 ^C |
| Kontrola | K | 2,05 ^B | 3,95 ^A | 9,13 ^A | 14,65 ^{BC} |
| Prosjek | | 2,00 | 3,40 | 9,50 | 16,00 |
| Minimum | | 2,00 | 2,60 | 6,90 | 11,00 |
| Maksimum | | 3,00 | 4,30 | 12,40 | 21,00 |

Razlike između vrijednosti u kolonama koje sadrže istu slovnu oznaku nisu statistički značajne (F test, razina 95%)

Svježa masa nadzemnog dijela presadnice pelargonije utvrđena na kontrolnom tretmanu bila je značajno veća u odnosu na tretman alternativnih komponenti P. Ostali ispitivani tretmani se nisu značajno razlikovali u odnosu na kontrolni tretman za ovaj ispitivani parametar.

Nije zabilježena statistički značajna razlika između istraživanih tretmana za ispitivani parametar svježe mase korijena. Nadalje, utvrđena je statistički značajna razlika između tretmana P i ostalih ispitivanih tretmana za ispitivani parametar ukupna masa presadnice pelargonije.

Također, i za ispitivani parametar odnosa nadzemnog dijela i korijena svježe mase utvrđena je statistički značajna razlika između tretmana P i svih ostalih ispitivanih tretmana (Tablica 5.).

Tablica 5. Svježa masa nadzemnog dijela presadnice (SMND), svježa masa korijena (SMK), ukupna svježa masa presadnice (USMP) te odnos nadzemnog dijela i korijena svježe mase (ND/K_{sv}) u ovisnosti o supstratu (cit. Tkalec, 2017.)

| Tretman | | SMND | SMK | USMP | ND/K _{sv} |
|----------------------------|----|--------------------|--------------------|-------------------|--------------------|
| Alternativne komponente | CC | 4,00 ^B | 1,03 ^{AB} | 5,03 ^A | 3,86 ^A |
| | VK | 4,31 ^{AB} | 1,15 ^A | 5,46 ^A | 3,77 ^A |
| | G | 4,22 ^{AB} | 1,01 ^{AB} | 5,22 ^A | 4,17 ^A |
| | P | 2,24 ^C | 0,96 ^{AB} | 3,20 ^B | 2,32 ^B |
| Kontrola | K | 4,55 ^{AB} | 1,14 ^A | 5,68 ^A | 4,18 ^A |
| Prosjek | | 3,93 | 1,03 | 4,967 | 3,832 |
| Minimum | | 1,86 | 0,69 | 2,751 | 2,087 |
| Maksimum | | 5,25 | 1,40 | 6,385 | 5,319 |

Razlike između vrijednosti u kolonama koje sadrže istu slovnú oznaku nisu statistički značajne (F test, razina 95%)

Najmanja vrijednosti ispitivanog parametara suhe mase nadzemnog dijela presadnice pelargonije utvrđena je na tretmanu P te se značajno razlikovala u odnosu na tretmane VK i K.

U odnosu na kontrolni tretman nije utvrđena statistički značajna razlika za ispitivani parametar suhe masa korijena te ostalih ispitivanih tretmana. Međutim, utvrđena je statistički značajna razlika između tretmana CC i tretmana VK i G (Tablica 6.).

Ukupna suha masa presadnica pelargonije nije se statistički značajno razlikovala između kontrolnog tretmana i svih ostalih tretmana. Najmanja vrijednost ukupne suhe mase presadnica pelargonije zabilježena je na tretmanu P. U odnosu na kontrolni tretman, značajno veće vrijednosti ispitivanog parametara odnosa nadzemnog dijela i korijena suhe mase utvrđene su kod tretmana VK. Također, utvrđena je statistički značajna razlika između alternativnih komponenti tretmana VK i G i tretmana CC i P (Tablica 6.).

Tablica 6. Suha masa nadzemnog dijela presadnice (SHMND), suha masa korijena (SHMK), ukupna suha masa presadnice (USHMP), odnos nadzemnog dijela i korijena suhe mase (ND/K_{SH}) u ovisnosti o supstratu (cit. Tkalec, 2017.)

| Tretman | | SHMND | SHMK | USHMP | ND/K_{SH} |
|----------------------------|----|---------------------|---------------------|---------------------|--------------------------|
| | CC | 0,35 ^{ABC} | 0,10 ^{AB} | 0,45 ^{ABC} | 3,51 ^C |
| Alternativne komponente | VK | 0,37 ^{AB} | 0,07 ^C | 0,44 ^{ABC} | 5,08 ^A |
| | G | 0,35 ^{ABC} | 0,07 ^C | 0,42 ^{BC} | 4,64 ^{AB} |
| | P | 0,29 ^C | 0,09 ^{ABC} | 0,38 ^C | 3,22 ^C |
| Kontrola | K | 0,36 ^{AB} | 0,09 ^{ABC} | 0,45 ^{ABC} | 3,92 ^{BC} |
| Prosjek | | 0,357 | 0,08 | 0,446 | 4,967 |
| Minimum | | 0,247 | 0,060 | 0,324 | 3,025 |
| Maksimum | | 0,432 | 0,127 | 0,541 | 6,385 |

Razlike između vrijednosti u kolonama koje sadrže istu slovnú oznaku nisu statistički značajne (F test, razina 95%)

5. RASPRAVA

Kemijska i fizikalna svojstva supstrata značajno utječu na rast i razvoj biljnih vrsta, posebice kada su u pitanju specifični zahtjevi vrste prema supstratu. Stoga je bitno analizirati sastav pojedinih komponenti supstrata kako bi se mješavinama postigao najpovoljniji tip supstrata za određenu biljnu vrstu. Također, uzevši u obzir da postoji mnogobrojni otpad organskog podrijetla koji se može koristiti u ove svrhe, proizvodnja ovakvih alternativnih supstrata bi uvelike pomogla i u očuvanju okoliša.

Vrijednosti kompaktne gustoće koje su se u istraživanim alternativnim komponentama supstrata kretale od 0,22 do 0,88 g/cm³ ukazuju kako su i same komponente pogodne za kontejnerski uzgoj biljaka. Slično, u istraživanju Yeager i sur. (2007.) zaključuju da bi poželjna vrijednost fizikalnog svojstva kompaktne gustoće supstrata trebala biti 0,19 to 0,70 g/cm³. U ovom istraživanju zabilježene su veće vrijednosti od preporučenih prema Yeager i sur. (2007.) na supstratu od kakaovca te supstratu nastalom nakon proizvodnje šampinjona.

Što se tiče pH vrijednosti, najmanja zabilježena vrijednost iznosila je 5,63 na supstratu od piljevine, a najveća 7,68 na supstratu od vrbine kore, dok su se EC vrijednost kretale od 2,41 mS/cm zabilježene na supstratu nastalom nakon proizvodnje šampinjona do 0,15 mS/cm na supstratu od vrbine kore. Prema Biamonte i sur. (1993.) granične vrijednosti EC-a za uzgoj *Pelargonium zonale* L. iznose 1.5-2.5 mScm⁻¹, a za *Pelargonium peltatum* L. 1.0-2.0 mScm⁻¹, što se podudara s vrijednostima u ovom istraživanju.

Oberpaur i sur. (2010.) navode kako je za održavanje dobre strukture supstrata neophodna organska tvar. Također, pri većem sadržaju organske tvari i pristupačnost određenih elemenata kao što su kalij, kalcij i magnezij je povoljnija. U ovom istraživanju najmanji sadržaja suhe tvari utvrđen na supstratu od piljevine 33,82 %, dok je najveći sadržaja suhe tvari utvrđen je na supstratu od kakaovca i iznosio je 69,68 %. Nadalje, najmanji sadržaj organske tvari zabilježen je na supstratu od kakaovca 19,01 %, a najveći na komercijalnom supstratu 91,24 %.

U supstratu od kakaovca utvrđen je najmanji sadržaj C i iznosio je 76,00 g/kg ST, dok je najveći sadržaj C od 398,00 g/kg ST utvrđen u supstratu od vrbine kore.

Nadalje, najveći sadržaj N 20,12 g/kg ST zabilježen je na supstratu od vrbine kore, dok je najmanji sadržaj N 3,02 g/kg ST zabilježen na supstratu od piljevine.

Vrijednosti ugljika i dušika utvrđene u ovom istraživanju poslužile su za izračun C/N odnosa. U istraživanim supstratima utvrđeni C/N odnos kretao se od 10/1 u supstratima od kakaovca i nastalom nakon proizvodnje šampinjona do 123/1 u supstratu od piljevine. Di Benedetto i Pagani (2012.) navode kako ostatci drveta odnosno piljevina mogu imati C/N odnos čak i do 1300/1 te se često miješaju s drugim organskim komponentama kako bi se supstrat obogatio dušikom. Kalamdhad i sur. (2008.) navodi da je optimalni C/N odnos supstrata 20 -25/1 što je u skladu s vrijednostima dobivenim u ovom istraživanju.

Najveći intenzitet disanja utvrđen je na supstratu od vrbine kore i iznosio je 2,08 mg CO₂-C g⁻¹ ST dan⁻¹, dok je najmanji zabilježen na supstratu od kakaovca 0,29 mg CO₂-C g⁻¹ ST dan⁻¹.

Analizom varijance utvrđene su statistički značajne razlike između svih tretmana i ispitivanih svojstava (Tablice 2. do 6.). Pri čemu treba istaknuti da je na kontrolnom tretmanu utvrđena statistički značajno najveća koncentracija organske tvari (Tablica 3.).

Pogodnost pojedinih alternativnih komponenti očituje se u ukupnoj biomasi presadnica pelargonija dobivenih na pojedinom supstratu što je i dokazano utvrđenim razlikama u morfološkim svojstvima posebice u usporedbi sa kontrolnim supstratom koji se i preporuča u komercijalnom uzgoju cvijeća. Uspješno uzgojene presadnice pelargonije na svim istraživanim supstratima usprkos nekim razlikama u morfološkim karakteristikama upućuju na to da su svi supstrati pogodni za proizvodnju presadnica pelargonija.

Presadnice pelargonije uzgajane na komercijalnom supstratu imale su najmanji broj izboja (2,05) u odnosu na ostale istraživane supstrate, no značajno manji jedino u odnosu na presadnice uzgajane na supstratu nastalom nakon proizvodnje šampinjona na kojem je zabilježen najveći broj izboja od 2,70 (Tablica 4.).

Suprotno, za ispitivani parametar visine biljke na komercijalnom supstratu utvrđena je statistički značajno najveća vrijednost visine presadnica pelargonije (3,95 cm).

Nadalje, ispitivani parametar dužine korijena presadnice pelargonije nije se značajno razlikovao među istraživanim supstratima.

Kod presadnica pelargonije uzgajane na supstratu nastalom nakon proizvodnje šampinjona utvrđen je statistički značajno veći broj listova (18,18) u odnosu na kontrolni supstrat (14,65). U sličnim istraživanjima Zawadzińska i sur. (2013.) navode kako se broj listova pelargonije po biljci ovisno o uzgojnom mediju kretao od 5,25 do 6,45 što odgovara broju listova u ovom istraživanju ukoliko se promatra broj listova po izboju.

Što se tiče svježe mase nadzemnog dijela presadnica pelargonije, zabilježene su značajno manje vrijednosti ovog ispitivanog parametara kod presadnica uzgajanih na supstratu od piljevine (2,24) u odnosu na komercijalni supstrat (4,55). Kod svježe mase korijena nije utvrđena statistički značajna razlika između presadnica pelargonije uzgajanim na različitim supstratima. Najmanja svježa masa korijena utvrđena je na presadnicama pelargonije uzgajane na supstratu od piljevine i iznosila je 0,96 g.

Kod istog tretmana P, utvrđena je statistički značajna razlika ukupne svježe mase presadnica u odnosu na ostale ispitivane tretmane. Statistički značajno manji odnos svježe nadzemne mase i korijena u odnosu na ostale tretmane zabilježen je na presadnicama uzgajanim na supstratu od vrbine kore, gdje je utvrđena ujedno i najmanja vrijednost odnos od 2,32 (Tablica 5.).

Statistički značajna razlika za ispitivani parametar suhe mase nadzemnog dijela presadnica pelargonije utvrđena je između presadnica pelargonije uzgajanih na supstratu od piljevine (0,29 g) i onima uzgajanim na komercijalnom supstratu (0,36 g). Nadalje, kod suhe mase korijena statistički značajna razlika zabilježena je između presadnica pelargonije uzgajanim na supstratu od vrbine kore i supstratu nastalom nakon proizvodnje šampinjona te presadnicama pelargonije uzgajanim na supstratu od kakaovca.

Najmanja ukupna suha masa presadnice pelargonije utvrđena je na presadnicama pelargonije uzgajanim na supstratu od piljevine, no nije zabilježena statistički značajna razlika u odnosu na ostale istraživane supstrate. Kod odnosa suhe mase nadzemnog dijela i korijena utvrđena je statistički značajna razlika između supstrata od vrbine kore i supstrata nastalog nakon proizvodnje šampinjona te supstrata od kakaovca i supstrata od piljevine.

No, niti jedan istraživani alternativni supstrat se za ovaj ispitivani parametar nije statistički značajno razlikovao u odnosu na komercijalni supstrat (Tablica 6.).

U istraživanju López-Cuadrado i sur. (2008.) ispitana je mogućnost uzgoja *Pelargonium zonale* L. u šest alternativnih supstrata organskog porijekla između kojih je i supstrat nastao nakon proizvodnje šampinjona. Autori navode kako su zabilježene veće vrijednosti svih ispitivanih morfoloških svojstava na biljkama pelargonije uzgajanim na alternativnim supstratima. Suprotno, Šušak i sur. (2012.) navode da bolje uvjete rasta i razvoja presadnicama pelargonije pruža komercijalni supstrat u odnosu na supstrat nastao nakon proizvodnje šampinjona.

U ovom istraživanju presadnice pelargonije uzgajane na supstratu nastalom nakon proizvodnje šampinjona isticale su se statistički značajno najvećim brojem izboja, brojem listova te ukupnom svježom masom presadnice.

6. ZAKLJUČAK

Supstrati (tretmani) su se vrlo značajno razlikovali po istraživanim svojstvima za uzgoj pelargonija. Najnepovoljniji kemijski parametri u istraživanim supstratima zabilježeni su kod supstrata od piljevine gdje je zabilježena najniža pH vrijednost (5,63) te najširi C/N odnos (123:1). Nadalje, najveći EC zabilježen je na supstratu nastalom nakon proizvodnje šampinjona i iznosio je 2,41 mS/cm. Komercijalni supstrat te supstrati alternativnih komponenti značajno su utjecali na morfološka svojstva presadnica pelargonija. Na komercijalnom supstratu za sadnju pelargonija zabilježena je najveća visina presadnice, najveća ukupna masa presadnice te najveći odnos nadzemne mase i korijena, dok je na supstratu alternativnih komponenti odnosno supstratu od vrbine kore zabilježena najveća masa korijena. Obzirom da su se uspješno uzgojile presadnice na svim istraživanim supstratima možemo zaključiti kako su svi supstrati pogodni za uzgoj pelargonija. Nadalje, kako bi se postigla što kvalitetnija presadnica pelargonije trebalo bi ubuduće proširiti istraživanje i na mješavine supstrata odnosno miješanje istraživanih komponenti ovisno o kemijskom sastavu kako bi se dobio najpogodniji supstrat za uzgoj pelargonija.

7. POPIS LITERATURE

1. Adams, C.R., Bamford, K.M., Early, M.P. (2011.): Principles of horticulture. Sixth edition. Elsevier Ltd.
2. Arrigoni-Blank, M.F., Oliveira, A.C.L., Almeida, S.A., Vasconcelos, J.N.C., Blank, A.F., Luz, J.M.Q. (2011.): *In vitro* establishment of aromatic geranium from Brazil. *Acta Horticulturae*. 925: 327-334.
3. Benazir, J.F., Suganthi, R., Chandrika P., Mathithumilan, B. (2013.): *In vitro* regeneration and transformation studies on *Pelargonium graveolens* (geranium) - an important medicinal and aromatic plant. *Journal of Medicinal Plant Research*. 7(38): 2815-2822.
4. Biamonte, R.L., Holcomb, E.J., White, J.W. (1993.): Fertilization,. J.W. White (ed.), *Geraniums IV*. Ball Publishing, Geneva, pp. 39-54.
5. Chebet, D.K., Okeno, J.A., Mathenge, P. (2003.): Biotechnological approaches to improve horticultural crop production. *Acta Hortic*. 625: 473–7.
6. Clarke, D., Rieley, J. (2010.): Strategy for responsible peatland management. International Peat Society, Finland.
7. Currey, C.J. i Lopez, R.G. (2013.): Cuttings of *Impatiens*, *Pelargonium*, and *Petunia* Propagated under Light-emitting Diodes and High-pressure Sodium Lamps Have Comparable Growth, Morphology, Gas Exchange, and Post-transplant Performance. *HortScience*. 48(4):428–434.
8. Di Benedetto, A., Petracchi, J.C., Marcella, G., Montaron, P., Chavez, W. (2006.): Evaluation of Alternative Substrates for Bedding Plants. *International Journal of Agricultural Research*. 1(6): 545-554.
9. Di Benedetto, A. (2007.): Alternative substrates for potted ornamental plants based on argentinean peat and argentinean river waste: a review. *Floriculture an ornamental biotechnology*. 1(2): 90-101.
10. Di Benedetto, A., Pagani, A. (2012.): Difficulties and possibilities of alternative substrates for ornamental bedding plants: An ecophysiological approach. U knjizi: *Peat: Formation, Uses and Biological Effects*, Poglavlje: 1, Nova Science Publishers, Inc., Urednici: C. Draguhn and N. Ciarimboli, pp.1-34.
11. EN13037: Determination of pH. 1999. (2011.)
12. EN13038: Determination of electrical conductivity

13. EN13039: Determination of organic matter content and ash. 1999. (2011.)
14. EN13039: Determination of organic matter content and ash. 1999. (2011.)
15. EN13040: Sample preparation for chemical and physical test, determination of dry matter content, moisture content and laboratory compacted bulk density. 1999. (2007.)
16. HRN ISO14235:1994, 'Kakvoća tla -- Određivanje organskog ugljika sulfokromnom oksidacijom', Hrvatski zavod za norme, Zagreb
17. FAQs about Klasmann products. 2013. file:///C:/Users/Dino/Downloads/klasmann_faq_2013_english.pdf(19.8.2017., 16:23h).
18. Garcia-Gomez, A., Bernalm, M.P., Roig, A. (2002.): Growth of ornamental plants in two composts prepared from agroindustrial wastes. *Bioresource Tech.* 83.
19. Hamama, L., Voisine, L., Naouar, A., Gala, R., Cesbron, D., Michel, G., Leplat, F., Foucher, F., Hibrand Saint Oyant, L., Dorion, N. (2012.): Effect of GA(3) and Paclobutrazol on Adventitious Shoot Regeneration of Two *Pelargonium* sp. *Acta Horticulturae.* 961: 187-194.
20. Hassanein, A., Dorion, N. (2005.): Efficient plant regeneration system from leaf discs of zonal (*Pelargonium x hortorum*) and two scented (*P. capitatum* and *P. graveolens*) geraniums. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* 83: 231–240.
21. Jackson, B.E., Wright, R.D., Seiler, J.R. (2009.): Changes in chemical and physical properties of pine tree substrate and pine bark during long-term nursery crop production. *HortScience* 44: 791–799.
22. Jelaska, S. (1994.): *Kultura Biljnih stanica i tkiva. Školska knjiga, Zagreb.*
23. Kalamdhad, A.S., Pasha, M., Kazmi, A.A. (2008.): Stability evaluation of compost by respiration techniques in a rotary drum composter. *Resour Conser Recyc* 52:829–834.
24. Krczal, G., Albouy, J., Damy, I., Kusiak, C., Deogratias, J. M., Moreau, J. P., Berkelmann, B., Wohanka, W. (1995): Transmission of *Pelargonium X*ower break virus (PFBV) in irrigation systems and by thrips. *Plant Dis* 79(2):163–166.
25. López-Cuadrado, M.C., Ruiz-Fernández, J., Masaguer, A., Moliner, A. (2008.): Utilization of different organic wastes from madrid as growth media for *Pelargonium zonale*. *Acta Horticulturae.* 779, 623-630.

26. Lewandowski I., Kicherer A. (1997.): Combustion quality of biomass: practical relevance and experiments to modify the biomass quality of *Miscanthus × giganteus*. European Journal of Agronomy 6 (1997)
27. Madden, Jaren I., Jones, Cynthia, S., Auer, Carol A. (2005.): Modes of regeneration in *Pelargonium × hortorum* (*Geraniaceae*) and three closely related species. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. 41(1): 37-46.
28. Marani, F., Bertaccini, A., Cignolo, S. (1988.): *Pelargonium* clones obtained by the *in vitro* culture of apical meristems. *Informatore Agrario* 1988. 44(15): 71-73.
29. Mastalerz, J. W. (1971): A manual on the culture, diseases, insects, economics, taxonomy and breeding of geraniums. Pennsylvania Flower Growers Bulletin, Pennsylvania
30. Međedović, S., Ferhatović, Dž.(2003.): Klonska proizvodnja sadnica drveća i grmlja. Bemust, Sarajevo. pp. 216.
31. Meerow, A.W. (1994.): Growth of two subtropical ornamentals using coir (coconut mesocarp pith) as a peat substitute. *HortScience* 29.
32. Nowak, J.S. (2003.): Effect of different container media on the growth of *Gerbera*. *Acta Hort* 608.
33. Oberpaur, C., Puebla, V., Vaccarezza, F., Arévalo, M.E. (2010.): Preliminary substrate mixtures including peat moss (*Sphagnum magellanicum*) for vegetable crop nurseries. *Ciencia e Investigación Agraria*. 37(1):123-132.
34. Quinteroc, M.F., Ortega, D., Valenzuelab, J.L., Guzmán, M. (2010.): Variation of hydro-physical properties of burnt rice husk used for carnation crops: Improvement of fertigation criteria. *Scientia Horticulturae*. 154, 82–87.
35. Riaz, A., Farooq, U., Younis, A., Karim, A., Taj, A.R. (2014.): Growth responses of *Zinnia* to different organic media. *Acta Hort* 1018.
36. Rout, G. R., Mohapatra, A., Mohan Jain, S. (2006.): Tissue culture of ornamental pot plant: A critical review on present scenario and future prospects. *Biotechnology Advances*. 24(6):531-560.
37. Sukhumpinij, P., Kakihara, F., Kato, M. (2010.): *In vitro* regeneration from mature leaf explants of *Pelargonium rapaceum* (L.) L’Hérit. *Scientia Horticulturae*. 126: 385-389.
38. Šušak, U., Parađiković, N., Zeljković, S., Tkalec, M. (2012.): Uticaj supstrata na rast i razvoj pelargonije (*Pelargonium peltatum* L.) proizvedene iz reznica. *Proceedings*

- of Conference of Agronomy Students with international participations. Banja Luka, 70-74.
39. Tkalec, M. (2017.): Tehnologija uzgoja presadnica *Rosa canina* L. i *Pelargonium zonale* L. u kulturi tkiva i njihova adaptacija u različitim supstratima. Doktorska disertacija. Poljoprivredni fakultet u Osijeku. pp. 176.
 40. Wazir, J.S. (2015.): Efficacy of chemical retardants on growth and flowering in potted zonal pelargonium. *Journal of Hill Agriculture*. 6(1): 24-28.
 41. Winkelmann, T., Kaviani, K., Serek, M. (2005.): Development of a shoot regeneration protocol for genetic transformation in *Pelargonium zonale* and *Pelargonium peltatum* hybrids. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 80(1): 33-42.
 42. Wojtania, A. (2010.): Effect of *Meta-* Topolin on *in vitro* propagation of *Pelargonium x hortorum* and *Pelargonium x hederifolium* cultivars. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*. 79(2): 101-106.
 43. Wojtania, A., Gabryszewska, E. (2001.): Effect of cytokinins and amino acids on multiplication of *Pelargonium* cultivars. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*. 70(3): 203-207.
 44. Yeager, T.H., Fare, D.C., Lea-Cox, J. Ruter, J., Bilderback, T.E., Gilliam, C.H., Niemiera, A.X., Warren, S.L., Whitwell, T.E., Wright, R.D., Tilt. K.M. (2007.): Best management practices: Guide for producing container-grown plants. 2nd Ed. Southern Nurserymen's Assoc, Marietta, GA.
 45. Zawadzińska, A., Żurawik, P., Salachna, P., Dobrowolska, A. (2013.): Controlling the growth and flowering of seed – propagated geranium (*Pelargonium × hortorum* L.H. Bailey) cultivated in two organic media. *Electronic journal of polish agricultural universities*. 16(4).

8. SAŽETAK

Kultura tkiva *in vitro* je postupak koji podrazumijeva rast vrlo sitnih organa, komadića tkiva ili izoliranih stanica u aseptičnim uvjetima. Fraza "*in vitro*" označava uzgoj u staklu ili prozirnim posudama.

Biotehnološkim postupkom, *in vitro* propagacijom, multipliciran je biljni materijal *Pelargonium zonale* L. te je izvršena adaptacija presadnica u različitim alternativnim supstratima. Nakon što je biljka došla do faze komercijalne presadnice obavljeno je uzorkovanje biljnog materijala. Statističkom obradom podataka utvrđena je značajna razlika za sve ispitivane parametre. Obzirom da su uspješno uzgojene presadnice na svim istraživanim supstratima, može se zaključiti kako su svi supstrati pogodni za uzgoj pelargonija.

U budućim radovima s presadnicama pelargonije preporuča se istražiti mješavine supstrata, odnosno miješanje istraživanih komponenti u ovom radu, ali s naglaskom na kemijski sastav komponenti s ciljem dobivanja optimalnog supstrata za uzgoj pelargonija.

Ključne riječi: kultura tkiva, alternativni supstrati, pelargonija, presadnica

9. SUMMARY

In vitro tissue culture is a process that implies the growth of small organs, tissue parts or isolated cells in aseptic conditions. The phrase "*in vitro*" implies growing in glass or plastic container. Biotechnological procedure, *in vitro* propagation, was used to multiply plant material of *Pelargonium zonale* L. That material was than adapted in form of propagule in various alternative substratum.

When the plant reached the phase of comercial propagulae, sampling of plant material was made.

Statistical analysis of collected data showed there was statistically significant difference among all analyzed variables. The growth of pelargonium transplants was successful in all of chosen substrates, in other words, all of the studied substrates are suitable for growing pelargonium. A recommendation for the future research is to investigate a mixture of substrates by focusing mainly on chemical compounds of mixture, all with the goal of making optimal substrate for growing pelargonium.

Key words: plant tissue culture, alternative media, pelargonium, transplants

10. POPIS TABLICA

Tablica 1. Sastav hranjivih podloga, 9. str.

Tablica 2. Osnovna kemijska svojstva alternativnih supstrata za sadnju presadnica pelargonije, 13. str.

Tablica 3. Osnovna kemijska svojstva alternativnih supstrata za sadnju presadnica pelargonije, 14. str.

Tablica 4. Prosječan broj izboja (BI), prosječna visina biljke (VB), prosječna dužina korijena (DK) te prosječan broj listova (BL) presadnica pelargonije u ovisnosti o supstratu, 15. str.

Tablica 5. Svježa masa nadzemnog dijela presadnice (SMND), svježa masa korijena (SMK), ukupna svježa masa presadnice (USMP) te odnos nadzemnog dijela i korijena svježe mase (ND/K_{SV}) u ovisnosti o supstratu, 16. str.

Tablica 6. Suha masa nadzemnog dijela presadnice (SHMND), suha masa korijena (SHMK), ukupna suha masa presadnice (USHMP), odnos nadzemnog dijela i korijena suhe mase (ND/K_{SH}) u ovisnosti o supstratu, 17. str.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Diplomski rad

Poljoprivredni fakultet u Osijeku

Sveučilišni diplomski studij, smjer Povrćarstvo i cvjećarstvo

ADAPTACIJA *IN VITRO* PRESADNICA *PELARGONIUM ZONALE* L. U ALTERNATIVNIM SUPSTRATIMA

Ozana Varvodić

Sažetak: Kultura tkiva *in vitro* je postupak koji podrazumijeva rast vrlo sitnih organa, komadića tkiva ili izoliranih stanica u aseptičnim uvjetima. Fraza "*in vitro*" označava uzgoj u staklu ili prozirnim posudama. Biotehnoološkim postupkom, *in vitro* propagacijom, multipliciran je biljni materijal *Pelargonium zonale* L. te je izvršena adaptacija presadnica u različitim alternativnim supstratima. Nakon što je biljka došla do faze komercijalne presadnice obavljeno je uzorkovanje biljnog materijala. Statističkom obradom podataka utvrđena je značajna razlika za sve ispitivane parametre. Obzirom da su uspješno uzgojene presadnice na svim istraživanim supstratima, može se zaključiti kako su svi supstrati pogodni za uzgoj pelargonija. U budućim radovima s presadnicama pelargonije preporuča se istražiti mješavine supstrata, odnosno miješanje istraživanih komponenti u ovom radu, ali s naglaskom na kemijski sastav komponenti s ciljem dobitka optimalnog supstrata za uzgoj pelargonija.

Rad je izrađen pri: Poljoprivredni fakultet u Osijeku

Broj stranica: 32

Broj tablica: 6

Broj literaturnih navoda: 44

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: kultura tkiva, alternativni supstrati, mikrorazmnožavanje, presadnica

Datum obrane:

Stručno povjerenstvo za obranu:

1. prof. dr. sc. Nada Parađiković, predsjednik
2. dr. sc. Monika Tkalec, mentor
3. doc. dr. sc. Tomislav Vinković, član

Rad je pohranjen u: Knjižnica Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, Sveučilištu u Osijeku, Kralja Vladimira Preloga 1.

BASIC DOCUMENTATION CARD**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek****Graduate thesis****Faculty of Agriculture****University Graduate Studies, course Vegetables and Floriculture****ADAPTATION IN VITRO PROPAGULE *PELARGONIUM ZONALE* L.
IN ALTERNATIVE SUBSTRATUM**

Ozana Varvodić

Abstract: In vitro tissue culture is a process that implies the growth of small organs, tissue parts or isolated cells in aseptic conditions. The phrase "in vitro" implies growing in glass or plastic container. Biotechnological procedure, in vitro propagation, was used to multiply plant material of *Pelargonium zonale* L. That material was then adapted in form of propagule in various alternative substratum. When the plant reached the phase of commercial propagulae, sampling of plant material was made. Statistical analysis of collected data showed there was statistically significant difference among all analyzed variables. The growth of *pelargonium* transplants was successful in all of chosen substrates, in other words, all of the studied substrates are suitable for growing *pelargonium*. A recommendation for the future research is to investigate a mixture of substrates by focusing mainly on chemical compounds of mixture, all with the goal of making optimal substrate for growing *pelargonium*.

Thesis performed at: Faculty of Agriculture in Osijek**Mentor:** DSc. Monika Tkalec**Number of pages:** 32**Number of tables:** 6**Number of references:** 44**Original in:** Croatian**Key words:** plant tissue culture, alternative media, *pelargonium*, transplants**Thesis defended on date:****Reviewers:**

1. DSc. Nada Parađiković, Full Professor, chair
2. DSc. Monika Tkalec, mentor
3. DSc. Tomislav Vinković, Full Professor, member

Thesis deposited at: Library, Faculty of Agriculture in Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Vladimira Preloga 1.