

# Ocjena fitotoksičnosti octene i limunske kiseline testom klijavosti

---

**Kopić, Matea**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2021**

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

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

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:037131>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-01-14**



Sveučilište Josipa Jurja  
Strossmayera u Osijeku

**Fakultet  
agrobiotehničkih  
znanosti Osijek**

*Repository / Repozitorij:*

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



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Matea Kopic

Diplomski sveučilišni studij Bilinogojstvo

smjer Ishrana bilja i tloznanstvo

**OCJENA FITOTOKSIČNOSTI OCTENE I LIMUNSKÉ KISELINE TESTOM  
KLIJAVOSTI**

Diplomski rad

Osijek, 2020.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Matea Kopic

Diplomski sveučilišni studij Bilinogojstvo

smjer Ishrana bilja i tloznanstvo

**OCJENA FITOTOKSIČNOSTI OCTENE I LIMUNSKÉ KISELINE TESTOM  
KLJAVOSTI**

Diplomski rad

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskog rada:

1. dr. sc. Monika Tkalec Kojić, predsjednik
2. prof. dr. sc. Zdenko Lončarić, mentor
3. doc. dr. sc. Vladimir Zebec, član

Osijek, 2020.

## Sadržaj

1. Uvod .....	1
1.1. Cilj istraživanja .....	5
1.2. Fitotoksičnost .....	5
2. Pregled literature.....	6
3. Materijal i metode.....	9
3.1. Postupak pripreme i provedbe testa klijavosti.....	9
3.2. Statistička analiza podataka .....	12
<b>4. REZULTATI.....</b>	<b>13</b>
<b>4.1. Utjecaj tretmana organskim kiselinama na duljinu korijena.....</b>	<b>13</b>
4.1.1. Utjecaj testne vrste na duljinu korijena .....	13
4.1.2. Utjecaj octene i limunske kiseline na duljinu korijena krastavca.....	13
4.1.3. Utjecaj octene i limunske kiseline na duljinu korijena kres salate .....	16
<b>4.2. Utjecaj tretmana organskim kiselinama na duljinu izdanka.....</b>	<b>21</b>
4.2.1. Utjecaj testne vrste na duljinu izdanka.....	21
4.2.2. Utjecaj octene i limunske kiseline na duljinu izdanka krastavca.....	22
4.2.3. Utjecaj octene i limunske kiseline na duljinu izdanka kres salate .....	24
<b>4.3. Utjecaj tretmana organskim kiselinama na klijavost sjemenki.....</b>	<b>29</b>
4.3.1. Utjecaj testne vrste na postotak proklijalih sjemenki .....	29
4.3.2. Utjecaj octene i limunske kiseline na klijavost s pojavom korijena .....	29
4.3.3. Utjecaj octene i limunske kiseline na klijavost s pojavom izdanka.....	33
<b>4.4. Utjecaj tretmana organskim kiselinama na indeks klijavosti.....</b>	<b>35</b>
4.4.1. Utjecaj testne vrste na indeks klijavosti.....	35
4.4.2. Utjecaj octene i limunske kiseline na indeks klijavosti krastavca .....	35
4.4.3. Utjecaj octene i limunske kiseline na indeks klijavosti kres salate .....	37
5. Rasprava .....	39
5.1. Utjecaj tretmana organskim kiselinama na duljinu korijena .....	39
5.2. Utjecaj tretmana organskim kiselinama na duljinu izdanka.....	39
5.3. Utjecaj tretmana organskim kiselinama na klijavost sjemenki .....	41
5.4. Utjecaj tretmana organskim kiselinama na klijavost s pojavom izdanka.....	42
5.5 Indeks klijavosti .....	43

6. Zaključak .....	44
7. Popis literature .....	46
8. Sažetak .....	50
9. Summary .....	52
10. Popis tablica i grafikona .....	54
11. Popis slika .....	<b>Pogreška! Knjižna oznaka nije definirana.</b>
TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA .....	56
BASIC DOCUMENTATION CARD .....	58

## 1. Uvod

Tlo, voda, svjetlost, toplina i potrebna količina mineralnih tvari u tlu predstavljaju jedne od najvažnijih uvjeta za rast i razvoj biljaka. S obzirom da cijeli svoj životni vijek provode jednim dijelom u tlu ono bi trebalo biti dobro i kvalitetno obrađeno, s dovoljnom količinom vode i mineralnih tvari. Ako je u pitanju poljski uzgoj, odnosno uzgoj na otvorenom, na svjetlost i toplinu ne možemo previše utjecati jer ona ovisi o klimi, vremenskom razdoblju u godini, jednom riječju ovisi o prirodi.

Često se kao preduvjet za rast i razvoj biljaka spominje intenzitet činitelja rasta i razvoja. Svi činitelji trebali bi biti „na sredini” između minimuma i maksimuma, odnosno u rasponu ekološke valence, jer svaki minimum ili maksimum određenih uvjeta mogu biti loši za biljku. Ako uzmemo u obzir tlo, prisutnost određenih elemenata u velikim količinama može imati toksičan utjecaj na biljku, dolazi do inhibiranja rasta ili na koncu do samog propadanja biljke. Isto tako, nedostatak elemenata koji su neophodni za biljku mogu dovesti do njezinog slabljenja, pojave bolesti, slabog rasta i na kraju propadanja biljke. Tlo, voda i zrak predstavljaju tri neophodne sastavnice okoliša.

Opće je poznato da je tlo prije svega izvor hrane i primarno je u proizvodnji iste, omogućava proizvodnju prirodnih vlakana, proizvodi organske spojeve, izuzetno je važna komponenta u kruženju tvari i energije itd. Da bismo od tla dobili samo najbolje, potrebno se brinuti o njemu. Pravilna obrada, ravnomjerna gnojidba, plodored samo su neke od komponenti ključnih za održavanje plodnosti. Neodgovarajuća obrada, prekomjerena ili neodgovarajuća gnojidba, prekomjerena uporaba pesticida dovode do narušavanja plodnosti tla. Isto tako poljoprivredni, kućanski i industrijski otpad rezultat su gospodarskog i urbanog razvoja. Zapostavljeni, odnosno neuređeni sustavi gospodarenja otpadom dovode do nakupljanja istog i samim time do nakupljanja složenih smjesa kemikalija koje ostaju prisutne u okolišu i samim time ga kontaminiraju (Chandra i sur., 2005.).

Nakupljanjem neželjenog otpada na tlu i u tlu i nakupljanjem toksičnih tvari dolazi do njegovog onečišćenja i postepeno do velikog zagađenja. Ukoliko se to realizira, dolazi do velikog narušavanja ekosustava. Zagađenjem tla, vode, zraka dolazi i do zagađenja biljaka, životinja pa i čovječanstva. Udisanjem zagađenog zraka, konzumiranjem biljaka koje su rasle i razvijale se na zagađenom tlu i koristile zagađenu vodu za svoje potrebe, konzumiranjem vode za naše osobne potrebe dovodimo u pitanje svoje zdravlje i na taj ga način narušavamo.

Fitotoksičnost u današnje vrijeme smatramo svakodnevnim pojavom. Nedovoljna obrazovanost i upućenost poljoprivrednika u grane poljoprivrede koje uključuju uporabu gnojiva, kondicionera, sredstava za zaštitu bilja i dr., nedovoljna informiranost o istim i neumjerenost u uporabi svih kemijskih sredstava dovode do već spomenute fitotoksičnosti. Da fitotoksičnost uzrokuje smanjenu klijavost, te da inhibira rast i smanjuje razvoj biljke navode Baumgarten i Spiengel (2004.). Također, navode da ona ima druge štetne efekte koji su uzrokovani određenim fitotoksinima.

Fitotoksičnost se opisuje kao štetno odstupanje od normalnog rasta i izgleda biljke zbog djelovanja određene štetne tvari (OECD, 2006.). Primjerice, fitotoksičnost može biti uzrokovana eskudiranjem različitih organskih kiselina od strane korijenja biljke koje mogu inhibirati rast (Rice, 1984.).

Slabo drenirana tla uzrokuju anaerobne uvjete koji uz svježju organsku tvar omogućavaju razvoj anaerobnih mikroorganizama i time produkciju fitotoksičnih tvari među kojima se ističu kiseline poput octene, propanske i maslačne, dok količina toksičnosti ovisi o vrsti i koncentraciji kiseline (Rao i Mikkelsen, 1977.).

Test klijavosti, ujedno i test rasta korijena, koristi se pri utvrđivanju indeksa klijavosti koji predstavlja najosjetljiviji parametar fitotoksičnosti organskog gnojiva i pogodnosti za njegovu aplikaciju u tlo.

Test klijavosti obuhvaća mjerenja relativne klijavosti sjemena (6%, G%) i relativnog rasta korijena (2%, L%). Ta dva parametra koriste se pri ocjenjivanju toksičnosti komposta (Selim i sur., 2012.).

Testovi fitotoksičnosti trebaju biti jednostavni, ponovljivi i brzi (Zucconi i sur., 1985.).

Test klijavosti interpretiramo na sljedeći način (Barral i Paradelo, 2011., Emino i Warman, 2004., Zucconi i sur., 1981., 1985.):

1. Visoku – Indeks klijavosti  $< 0,50$
2. Umjerenu – Indeks klijavosti  $0,50 - 0,80$
3. Nema fitotoksičnosti –  $0,80 - 1$
4. Fitonutritivni učinak  $< 1$

Organske kiseline nalazimo u mikrobiološkim, biljnim i životinjskim izlučevinama, u metabolitima i otpadu. Njihove koncentracije mogu varirati između desetak i stotinjak mg/kg tla, te čak 5 – 10 puta više u biljnim ostacima (Goh i sur., 1986.).

Pojava fitotoksičnosti organskih kiselina povezuje se uz tla, ali i uz komposte. Fitotoksičnost može biti jedan od problema kompostiranja kao nusprodukt razgradnje organske tvari u kompostnoj smjesi (Zucconi i sur., 1981.). Octena kiselina, koja je korištena u ovom istraživanju, i fenolni spojevi uglavnom sprječavaju klijanje sjemena, inhibiraju rast korijena i smanjuju prinos usjeva.

Octena kiselina smatra se najvažnijom karboksilnom kiselinom koja je u čistom stanju bezbojna i bistra tekućina vrlo oštra mirisa. Pri temperaturi od  $16,6^{\circ}\text{C}$  očvrstne u kristalnu masu, dok pri temperaturi od  $118^{\circ}\text{C}$  vrija. Otapa sumpor i fosfor i mnoge organske spojeve. Pripada skupini srednje jakih kiselina; slabija je od većine anorganskih, ali i jača od većine organskih (Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje, 2020.).

Limunska kiselina, odnosno citronska kiselina, je bijela tvar bez mirisa i kiselog je okusa. Njezine soli su citrati. Možemo ju pronaći u soku limuna, naranče i drugog voća. U svakodnevici se koristi u pripremi napitaka, prilikom konzerviranja namirnica i kao jedno od sredstava za čišćenje (Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje, 2020.)

Warman (1999.) opisuje test fitotoksičnosti u kojem se sjeme testne biljke postavlja u Petrijeve zdjelice u kojima se nalazi filter papir prethodno natopljen istraživanim ekstratom. Poljski eksperimenti su dugi i nepreporučljivi, jer osjetljivost biljaka na toksične spojeve može rezultirati njihovom adaptacijom.



Biljke poput krastavca i kres salate najčešće se koriste u ovakvim tipovima istraživanja upravo zbog svog brzog, jednostavnog i ekonomičnog uzgoja, te velike osjetljivosti i veće manifestacije utjecaja određenog fitotoksikanta na rast i razvoj.

Krastavac (*Cucumis sativus L.*) je jednogodišnja zeljasta biljka i pripadnik je porodice tikvenjača. Karakterizira ga površinski korijen i stabljika koja je vriježa. Krastavca je niskokalorična namirnica koja sadrži vitamine A, B1, B2 i B6, C i E. Od minerala je bogat kalijem, kalcijem, magnezije, natrijem i fosforom (Parađiković, 2009.).

Može se uzgajati u staklenicima, u plastenicima, na otvorenom polju i kao industrijski krastavac. Jednodomna je biljka na kojoj se razvijaju i muški i ženski cvjetovi. Za tržište se uzgajaju hibridi sa ženskim cvjetovima ginocejskog i partenokarpnog tipa (Matotan, 2004.).

Srednja dnevna temperatura veća od 15 °C i optimalna 25-27 °C, duboka, plodna i rastresita tla bogata organskim tvarima i pH vrijednost 5,5 – 5,6 preduvjeti su za uzgoj krastavca (Lešić i sur., 2002.).

Sjeme krastavca je ovalnog i spljoštenog oblika i glatke površine, a plod je izdužena cilindrična boba.

Kres salata (*Lepidium sativum L.*) jednogodišnja je i samonikla biljka, a nalazimo ju uz poljske puteve, neobrađene površine i rijeke. Pripada porodici krstašica čiji su predstavnici uglavnom zeljaste, grmolike i drvenaste biljke. Sadrže glikozinolat koji uzrokuje gorkoljuti okus i imaju veliku toleranciju na nisku temperaturu (Parađiković, 2009.).

Za razliku od krastavca, kres salata je vrlo skromna biljka. Njezinom rastu pogoduje plitka sjetva, pH 6-7, plodno vrtno tlo, a raste i bez gnojidbe. Pri temperaturi od 5 °C klija, a raste pri 15-25 °C. U zatvorenim prostorima uzgaja se u posudicama s dobrim kapacitetom za vodu, a u kojima se nalazi supstrat koji mora biti sterilan (Lešić i sur., 2002.).

Kres salata je biljka koje je rijetko zastupljena u prehrani, karakteriziraju ju ljekovita i nutritivna svojstva, a ujedno je i hiperakumulator teških metala (Kassie i sur., 2002.).

## **1.1. Cilj istraživanja**

Cilj provedenog istraživanja bio je utvrditi fitotoksičnost limunske i octene kiseline u različitim koncentracijama upotrebom testa klijavosti.

Osnovna pretpostavka, tj. hipoteza ovog istraživanja je da postoji razlika u fitotoksičnosti limunske kiseline i octene kiseline, te da ujedno postoji razlika u pogodnosti krastavca i kres salate za test klijavosti kojim se ocjenjuje fitotoksičnost organskih kiselina poput octene, maslačne i propanske.

## **1.2. Fitotoksičnost**

Fitotoksičnost može biti uzrokovana organskim gnojivom, odnosno njegovim elementima: amonijak (uzrokuje fitotoksičnost sazrijevanjem gnojiva s niskim C/N odnosom), organske kiseline (maslačna, izomaslačna, mliječna i octena koje se sintetiziraju tijekom razgradnje organske tvari), soli (prisutne u ostacima hrane), fenoli (prisutni u otpadu), etilen oksid (sintetizira se u tlu nakon aplikacije nezrelog organskog gnojiva ili svježe organske tvari), teški metali i ostali polutanti (Lončarić, 2019.).

Često se najbolje ocjenjuje provedbom testa klijavosti i rasta ( Selim i sur., 2012. )

Fitotoksičnost se definira kao kašnjenje klijanja, inhibicija rasta ili neki drugi štetni učinak izazvan određenim tvarima, poput fitotoksina, ili neadekvatnim uvjetima rasta (Baumgarten i Spiegel, 2004.).

## 2. Pregled literature

Lee i sur. (2006.) navode da je najvažnija stvar kod zatvorenog hidroponskog sustava ispravno upravljanje hranjivim otopinama u korijenovoj zoni biljke. Korijenje biljaka često izlučuje veliki broj organskih kiselina koje inhibiraju rast i razvoj izazivajući pojavu fitotoksičnosti. Hidroponska hranjiva otopina zahtjeva učestala podešavanja bazirana na kemijskoj analizi anorganskih elemenata ili trenutna mjerenja koncentracije elemenata sa multi-ion senzorima. Osim toga, nakupljanje bolesti i štetnika u recikliranoj hranjivoj otopini je još jedan ozbiljni problem u proizvodnji, prema tome je potrebna dezinfekcija i filtracija ponovno korištenih otopina.

Zrelost organskog gnojiva pokazatelj je njegove pogodnosti za uporabu. Uz zrelost organskog gnojiva usko su povezani stabilnost, fitotoksičnost i niz važnih kemijskih i bioloških svojstava. Pojam zrelosti poistovjećuje se s njegovom pogodnošću za rast biljaka i za njihovu produkciju organske tvari (Lončarić i sur., 2019.).

Zrelost također, podrazumijeva i nedostatak toksičnih tvari koje mogu usporiti ili smanjiti klijavost sjemena, oštetiti korijen ili općenito reducirati rast biljke (Lončarić i sur., 2019.).

Stabilnost organskog gnojiva pokazatelj je njegove stabilizacije i intenziteta mineralizacije, tj. razgradnje organske tvari. Definirana je kao jedan od pokazatelja intenziteta biološke aktivnosti, jer se potrošnjom organskog ugljika smanjuje mikrobiološka aktivnost i izdvajanje CO<sub>2</sub> te gnojivo postaje stabilnije (Lončarić, 2019.).

Da bismo utvrdili njegovu stabilnost, koristimo ocjenu stabilnosti koju rabimo kada želimo utvrditi njegova svojstva (Lončarić i sur., 2019.).

S obzirom na uobičajenu upotrebu komposta u poljoprivredi, šumarstvu i uređivanju okoliša, vrlo je značajno da kompost pozitivno utječe na rast biljaka (Barral i Paradelo, 2011.), tj. da nema fitotoksičan niti inhibitoran utjecaj na biljke.

Kaparen i Itavaara (2001.) navode da su određivanje klijavosti sjemena „in vitro“ i rast biljaka najčešće tehnike za procjenu fitotoksičnosti komposta.

Komposti imaju ulogu opskrbe hranjivim tvarima i organskim tvarima, donose blagotvorne mikroorganizme i održavaju njihov život u tlu (Amlinger i sur., 2003.). Upravo su ti

mikroorganizmi važni za dobru strukturu tla, za kruženje hranjivih tvari, za dobro zdravlje biljaka (Dumontet i sur., 1999., Fichtner i sur., 2004., Hoitink i Krause, 2003.).

Dodavanjem nezrelog komposta u tlo dolazi do povećanja deficita dušika u usjevu i smanjenja koncentracije kisika oko korijenovog sustava, te samim time dolazi i do nastanka fitotoksičnih supstanci, tvari organske kiseline, etilen – oksida i amonijaka čime se inhibira rast biljke. Octena kiselina je najštetnija organska kiselina nastala iz nezrelog komposta (Selim i sur., 2012.).

Angello i sur. (2005.) proveli su istraživanje o procjeni efekta octene kiseline i preparata Tween 80 na razvoj lucerne (*Medicago sativa* L.) pod utjecajem njihovih koncentracija i učestalosti primjene i tako procijenili izvedivost buduće upotrebe u fitoremedijaciji kontaminiranih tala. Pojam fitoremedijacija označava jedan od remedijacijskih pristupa koji se mogu koristiti u rješavanju organske i anorganske kontaminacije tala. Rezultati su pokazali da octena kiselina negativno utječe na biljnu klijavost, ali nema značajne efekte na sadržaj klorofila i biomasu. Tim rezultatima došli su do zaključka da bi se octena kiselina i Tween 80 mogli potencijalno iskoristiti u fitoremedijaciji kontaminiranih tala na kojima je posijana lucerna.

Također, Goh i sur. (1986.) proveli su istraživanje o fitotoksičnosti organskih kiselina i naveli kako organske kiseline nisu utjecale na klijanje, ali je daljnji rast bio ovisan o koncentraciji organske kiseline u uzgajanom mediju. Istraživanje je pokazalo da octena kiselina ima toksičnije djelovanje od limunske kiseline.

Biljke imaju glavnu ulogu u fitoekstrakciji jer teški metali ulaze kroz korijenov sustav, translociraju se i nakon toga akumuliraju u nadzemna tkiva (Salt i sur., 1995.).

Tunes i sur. (2012.) provode istraživanje na kultivarima pšenice CD108 i CD111 kako bi determinirali odgovor biljke za toleranciju na organske kiseline. Pratio se efekt 5 koncentracija 3 različite glavne kiseline koje su formirane u tlu; octena kiselina (0,4,8,12,16 mM), propionska (0,4,8,12,16) i maslačna (0,2,4,8,12). Provedeni testovi su obuhvaćali indeks klijavosti, duljinu klijanca i korijena i suhu tvar. Promjena duljine korijena je odgovor kultivara na sve ispitivane kiseline. Octena, maslačna i propionska kiselina su reducirali duljinu korijena za 50%. Mnoga istraživanja do sada ukazuju na činjenicu da se fitotoksično djelovanje organskih kiselina povećava redom; octena, propionska, maslačna kiselina. Što je veći lanac ugljikovih atoma to je toksičnije (Takijima, 1964.; Rap i Mikkelsen, 1977.).

Octena kiselina je vjerojatno najštetnija organska kiselina koja se oslobađa iz svježeg komposta, ali uz nju postoje i drugi spojevi koji doprinose tom fitotoksičnom učinku: acetaldehid, acetoni, etanol i etilen (Ozores – Hampton, 1998.).

Rice navodi da pod određenim uvjetima korijenje biljaka izlučuje različite organske kiseline u tlo rezultirajući inhibiciju rasta biljke (Rice, 1984.).

Armstrong i Armstrong (2001.) pretpostavljaju da niži rast korijena nastaje pod utjecajem octene kiseline na plazmatske membrane i ometa procese proizvodnje energije u biljci kao što su oksidativna fosforilacija i disanje.

Kopp i sur.(2009.) navode da je octena kiselina koncentracije 2,0 mM bila dovoljna da reducira duljinu korijena soje za 50 %, dok za sirak koncentracija je bila 1,8 mM.

Prema Yu i Matsui (1993.,1994.) rast krastavca i rajčice je reduciran uzastopnom kultivacijom reciklirane hranjive otopine uslijed prisutnosti nekoliko organskih kiselina. Kako bi eliminirali fitotoksične organske kiseline iz hranjive otopine i smanjili autotoksičnost u hidroponskoj kulturi isprobane su metode kao što je korištenje aktivnog ugljena ili mikroorganizama (Asoa i sur.,2004.)

### 3. Materijal i metode

#### 3.1. Postupak pripreme i provedbe testa klijavosti

Test klijavosti proveden je po modificiranoj metodi klijavosti sjemena prema Zucchini i sur. (1981.). U svaku Petrijevu zdjelicu s filter papirom na dnu, dodano je 5 mL određene otopine kiseline i 20 sjemenki kres salate i krastavca. Kao kontrolni tretman koristila se deionizirana voda. Petrijeve zdjelice su nakon toga postavljene u kontrolirane uvjete na 25 °C tijekom 72 sata. Svaki tretman postavljen je u 4 ponavljanja, u 4 Petrijeve zdjelice za svaki tretman.

Tri dana nakon postavljanja pokusa, odnosno polaganja sjemena u Petrijeve zdjelice, izvršeno je prebrojavanje prokljalih sjemenki, tj. broj sjemenki s radikulom i izdankom, te je izmjerena duljina korijena i duljina izdanka svake testne biljke.

U test klijavosti bili su uključeni sljedeći tretmani:

- 1) Dvije vrste biljaka:
  - a) Kres salata
  - b) Krastavac
- 2) Dvije organske kiseline:
  - a) Octena kiselina
  - b) Limunska kiselina
- 3) 8 različitih koncentracija navedenih kiselina (7 rastućih koncentracija limunske i octene kiseline i deionizirana voda kao kontrola s koncentracijom 0,00):
  - a) 0,00 mM
  - b) 0,10 mM
  - c) 0,25 mM
  - d) 0,50 mM
  - e) 1,00 mM
  - f) 2,00 mM
  - g) 4,00 mM
  - h) 8,00 mM

U istraživanju su analizirani sljedeći pokazatelji:

1. Broj prokljalih sjemenki,
2. Relativna klijavost,
3. Broj izdanaka,
4. Relativni broj izdanaka,
5. Duljina korijena,
6. Relativna duljina korijena,
7. Duljina izdanka,
8. Relativna duljina izdanka i
9. Indeks klijavosti.

Broj prokljalih sjemenki obuhvaća broj svih sjemenki na kojima je vidljiv početak razvoja radikule tj. na kojima je vidljivo prokljavanje (broj prokljalih sjemenki od ukupno 20).

Broj izdanaka je broj svih sjemenki na kojima je vidljiv izdanak, tj. početak razvoja koleoptile (broj vidljivih izdanaka od ukupno 20).

Relativna klijavost je usporedba prokljalih sjemenki određenog tretmana brojem prokljalih sjemenki kontrolnog tretmana s deioniziranom vodom. Izračunava se i prikazuje u rasponu 0 – 100:

$$\text{Relativna klijavost} = \frac{\text{Broj prokljalih sjemenki tretmana}}{\text{Broj prokljalih sjemenki u kontrolnom tretmanu}} \times 100$$

Relativni broj izdanaka je usporedba broja izdanaka određenog tretmana u odnosu na broj izdanaka kontrolnog tretmana. Također se izračunava prikazuje u rasponu 0 – 100:

$$\text{Relativni broj izdanaka} = \frac{\text{Broj izdanaka tretmana}}{\text{Broj izdanaka u kontrolnom tretmanu}} \times 100$$

Duljina izdanka je duljina svakog pojedinog izdanka testne biljke (izražena u cm) u pojedinom tretmanu i ponavljanju.

Relativna duljina izdanka je usporedba duljine izdanka određenog tretmana s duljinom izdanka kontrolnog tretmana, a iskazuje se kao postotna vrijednost.

Izračunava se prema sljedećoj jednadžbi:

$$\text{Relativna duljina izdanaka} = \frac{\text{Duljina izdanka tretmana}}{\text{Duljina izdanka u kontrolnom tretmanu}} \times 100$$

Duljina korijena je duljina svakog pojedinog korijena testne biljke (izražena u cm) u pojedinom tretmanu i ponavljanju.

Relativna duljina korijena je usporedba duljine korijena određenog tretmana s duljinom korijena kontrolnog tretmana. Iskazuje se kao postotna vrijednost, a izračunava se prema jednadžbi:

$$\text{Relativna duljina korijena} = \frac{\text{Duljina korijena tretmana}}{\text{Duljina korijena u kontrolnom tretmanu}} \times 100$$

Indeks klijavosti (GI) utvrđuje se na temelju opisanog testa klijavosti, a izračunava se prema formuli:

$$\text{GI} = (\% \text{ G}/100) \times (\% \text{ L}/100)$$

Pri tome je ”% G” relativna klijavost, a ”% L” je relativna duljina korijena.

Indeks klijavosti temelji se na klijavosti (% G) i duljini korijena (% L) određenog tretmana koji se uspoređuje s deioniziranom vodom (Lončarić i sur., 2019.), odnosno kombinira mjere relativne klijavosti sjemena (G %) i relativnog izduženja korijena (L %). Indeks klijavosti (GI) prikazujemo kao broječanu vrijednost od 0 do > 1 (Tablica), a interpretiramo ocjenama od visoke fitotoksičnosti do fitostimulativnog učinka na biljne vrste (Zucconi i sur., 1981., Zucconi i sur., 1985., Emino i Warman, 2004., Barral i Paradelo, 2011., Lončarić i sur., 2019.).

Tablica 1. Prikaz indeksa klijavosti i ocjene fitotoksičnosti

br.	Indeks klijavosti (GI)	Ocjena fitotoksičnosti
1	< 0,50	<b>visoka fitotoksičnost</b>
2	0,50-0,80	<b>umjerena fitotoksičnost</b>
3	0,80-1,00	<b>nema fitotoksičnosti</b>
4	> 1,00	<b>fitostimulativni učinak</b>



### **3.2. Statistička analiza podataka**

Statistička analiza podataka provedena je analizom varijance (ANOVA) i testom najmanje značajne razlike (LSD) uz upotrebu softvera SAS for Windows 9.1.3. (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) i MS Excel paketa.

## 4. REZULTATI

### 4.1. Utjecaj tretmana organskim kiselinama na duljinu korijena

#### 4.1.1. Utjecaj testne vrste na duljinu korijena

U provedenim istraživanjima utvrđena je statistički vrlo značajna razlika prosječne duljine korijena kres salate i krastavca (Tablica 2). Pri tome je utvrđena prosječno veća duljina korijena kres salate (12,44 mm) nego krastavca (9,22 mm).

Tablica 2. Utjecaj vrste testne biljke na prosječnu duljinu korijena u testu klijavosti

Vrsta	Duljina korijena (mm)	Relativna duljina korijena (%)
Krastavac	9,223 B	72,22 B
Kres salata	12,443 A	102,54 A
LSD <sub>0,05</sub>	2,366	19,994

\*Slovima su označene razlike između stupaca

Također je utvrđena statistički značajno veća relativna duljina korijena kres salate (102,54 %) nego krastavca (72,22 %).

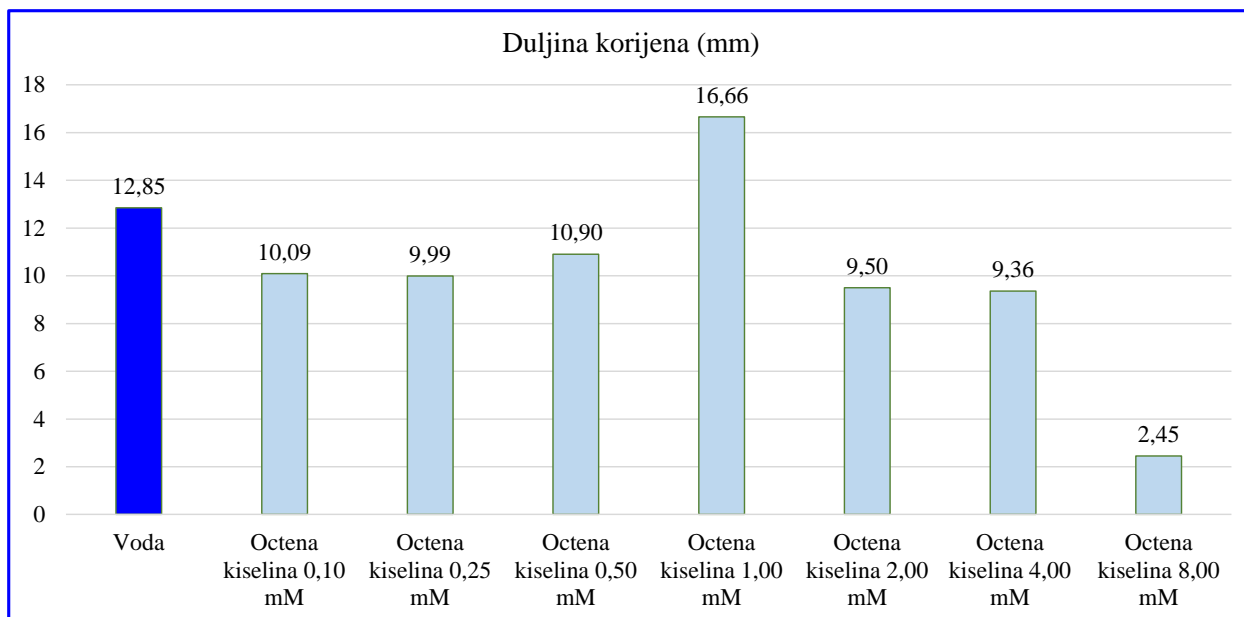
#### 4.1.2. Utjecaj octene i limunske kiseline na duljinu korijena krastavca

Otopine octene i limunske kiseline značajno su utjecale na duljinu korijena krastavca (Tablica 3). Svi su tretmani s octenom kiselinom (osim koncentracije 1,00 mM) rezultirali manjim duljinama korijena u odnosu na kontrolni tretman s vodom (12,85 mm). Međutim, statistički značajno manje duljine korijena krastavca utvrđene su samo uz primjenu otopine najveće koncentracije (8 mM) octene kiseline (2,45 mm) (Grafikon 1).

Također, utvrđen je i fitostimulativan učinak octene kiseline koncentracije 1,00 mM jer je duljina korijena krastavca (16,663 mm) bila veća od duljine korijena na kontrolnom tretmanu (12,85 mm), ali ova razlika nije statistički značajna.

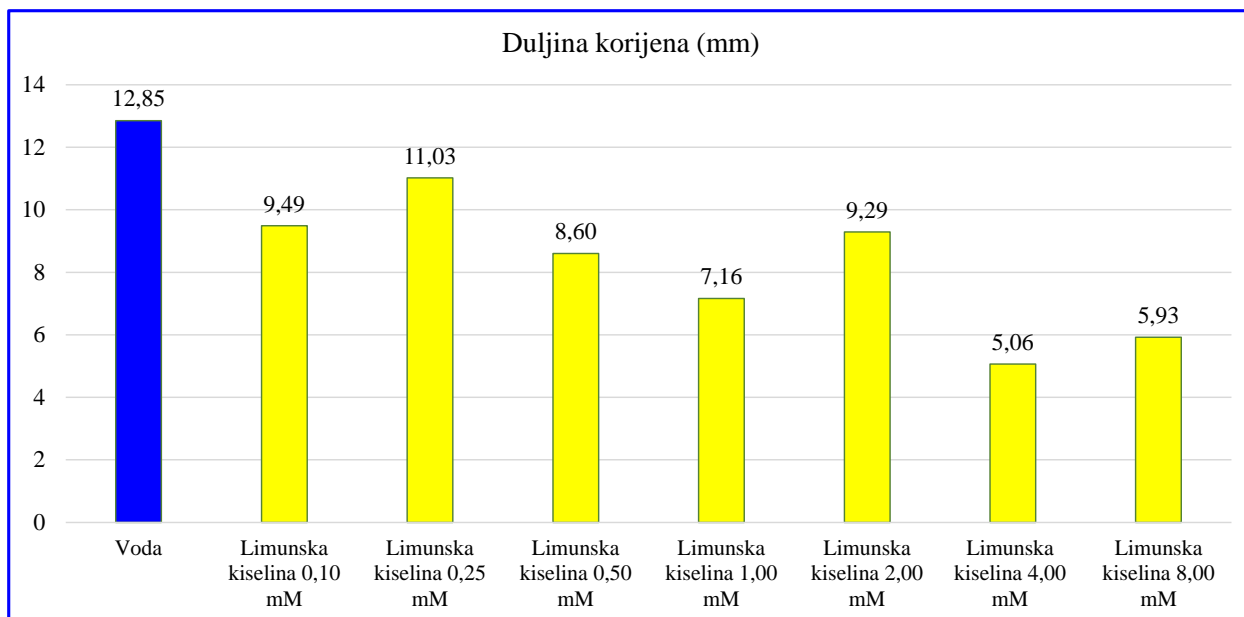
Tablica 3. Utjecaj otopina octene i limunske kiseline na duljinu korijena krastavca

Otopina	Duljina korijena (mm)
Voda	12,850 AB
Octena kiselina 0,10 mM	10,088 BCD
Octena kiselina 0,25 mM	9,988 BCD
Octena kiselina 0,50 mM	10,900 BC
Octena kiselina 1,00 mM	16,663 A
Octena kiselina 2,00 mM	9,500 BCD
Octena kiselina 4,00 mM	9,363 BCD
Octena kiselina 8,00 mM	2,450 F
Limunska kiselina 0,10 mM	9,488 BCD
Limunska kiselina 0,25 mM	11,025 BC
Limunska kiselina 0,50 mM	8,600 BCDE
Limunska kiselina 1,00 mM	7,163 CDE
Limunska kiselina 2,00 mM	9,288 BCDE
Limunska kiselina 4,00 mM	5,063 EF
Limunska kiselina 8,00 mM	5,925 DEF
LSD <sub>0,05</sub>	4,2923



Grafikon 1. Utjecaj otopina octene kiseline na duljinu korijena krastavca

Svi tretmani s limunskom kiselinom rezultirali su manjim duljinama korijena u odnosu na kontrolni tretman s vodom, a statistički značajno manje duljine korijena krastavca utvrđene su samo uz primjenu otopine limunske kiseline s 3 koncentracije (Grafikon 2): 1,00 mM (7,163 mm), 4,00 mM (5,063 mm) i 8,00 mM (5,925 mm).



Grafikon 2. Utjecaj otopina limunske kiseline na duljinu korijena krastavca

#### 4.1.3. Utjecaj octene i limunske kiseline na duljinu korijena kres salate

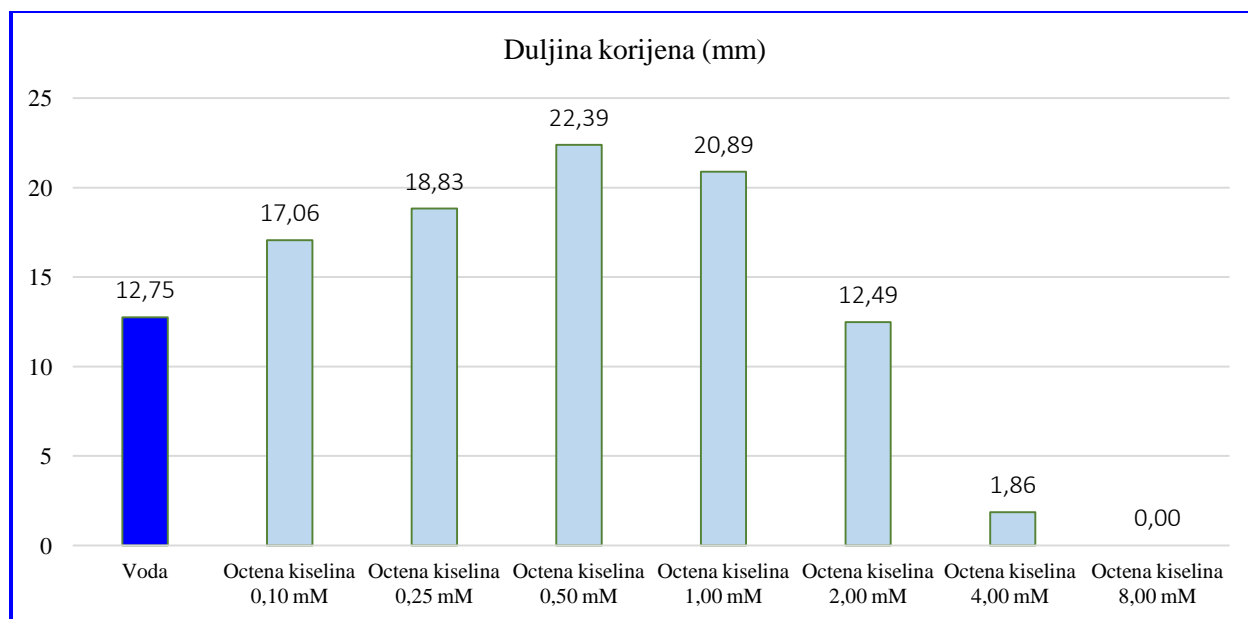
Otopine octene i limunske kiseline značajno su utjecale na duljinu korijena kres salate (Tablica 4). Duljina korijena kres salate u kontrolnom tretmanu s deioniziranom vodom bila je 12,75 mm, u tretmanima s octenom kiselinom duljina korijena bila je u rasponu 0 - 22,39 mm, a u tretmanima s limunskom kiselinom u rasponu 1,26 - 19,56 mm.

Otopine octene kiseline od 0,1 – 1,0 mM imale su određeni fitostimulativni učinak na korijen kres salate jer su duljine korijena bile veće (17,06 – 22,39 mm) nego na kontrolnom tretmanu (Grafikon 3). Pri tome su statistički značajno veće duljine korijena utvrđena na tretmanima octene kiseline 0,25 mM (18,83 mm), 0,5 mM (22,39 mm) i 1,0 mM (20,89 mm) dok fitostimulativni učinak octene kiseline koncentracije 0,1 mM nije bio statistički značajan (Tablica 4).

Nije utvrđen nikakav utjecaj na duljinu korijena kres salate otopine octene kiseline koncentracije 2,0 mM jer je duljina korijena (12,49 mm) bila gotovo kao na kontrolnom tretmanu (12,75 mm). Istovremeno, dva preostala tretmana octene kiseline s najvećim koncentracijama djelovali su statistički vrlo značajno na smanjenje duljine korijena kres salate (Grafikon 3), te je duljina korijena bila 1,86 mm uz tretman 4,0 mM dok uz otopinu koncentracije 8,0 mM nije niti razvijen korijen (duljina 0,0 mm).

Tablica 4. Utjecaj otopina octene i limunske kiseline na duljinu korijena kres salate

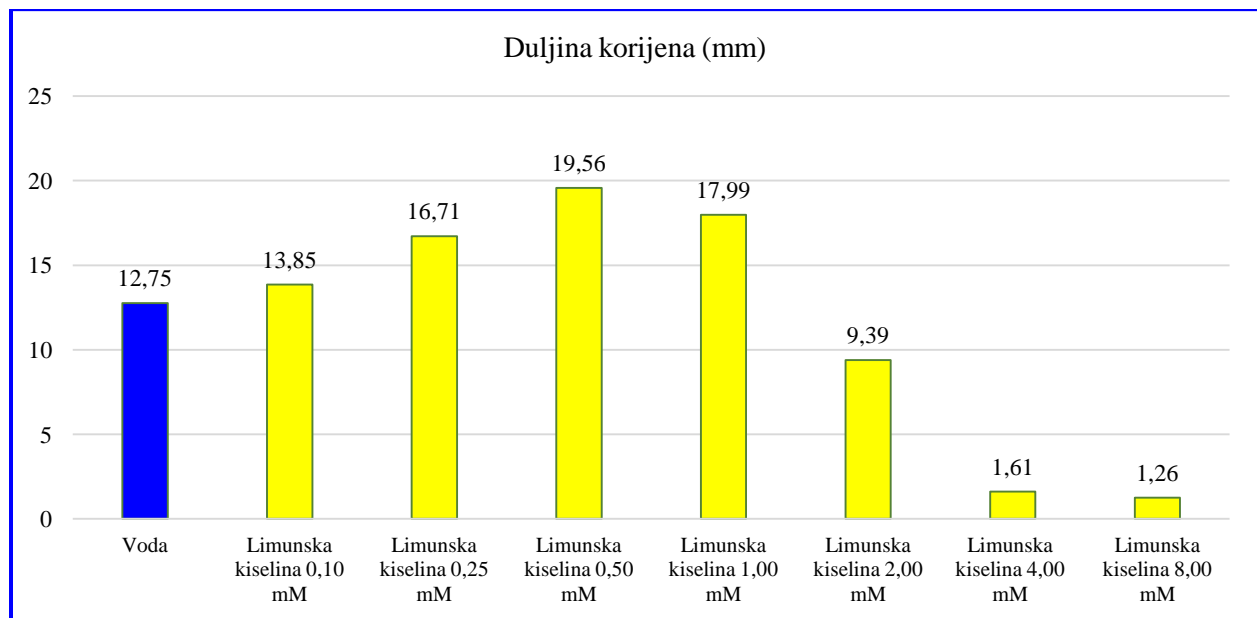
Otopina	Duljina korijena (mm)
Voda	12,750 FDE
Octena kiselina 0,10 mM	17,063 BCDE
Octena kiselina 0,25 mM	18,825 ABC
Octena kiselina 0,50 mM	22,387 A
Octena kiselina 1,00 mM	20,888 AB
Octena kiselina 2,00 mM	12,488 EF
Octena kiselina 4,00 mM	1,863 G
Octena kiselina 8,00 mM	0,000 G
Limunska kiselina 0,10 mM	13,850 CDEF
Limunska kiselina 0,25 mM	16,713 BCDE
Limunska kiselina 0,50 mM	19,563 AB
Limunska kiselina 1,00 mM	17,988 ABCD
Limunska kiselina 2,00 mM	9,388 F
Limunska kiselina 4,00 mM	1,613 G
Limunska kiselina 8,00 mM	1,263 G
LSD <sub>0,05</sub>	5,2713



Grafikon 3. Utjecaj otopina octene kiseline na duljinu korijena kres salate

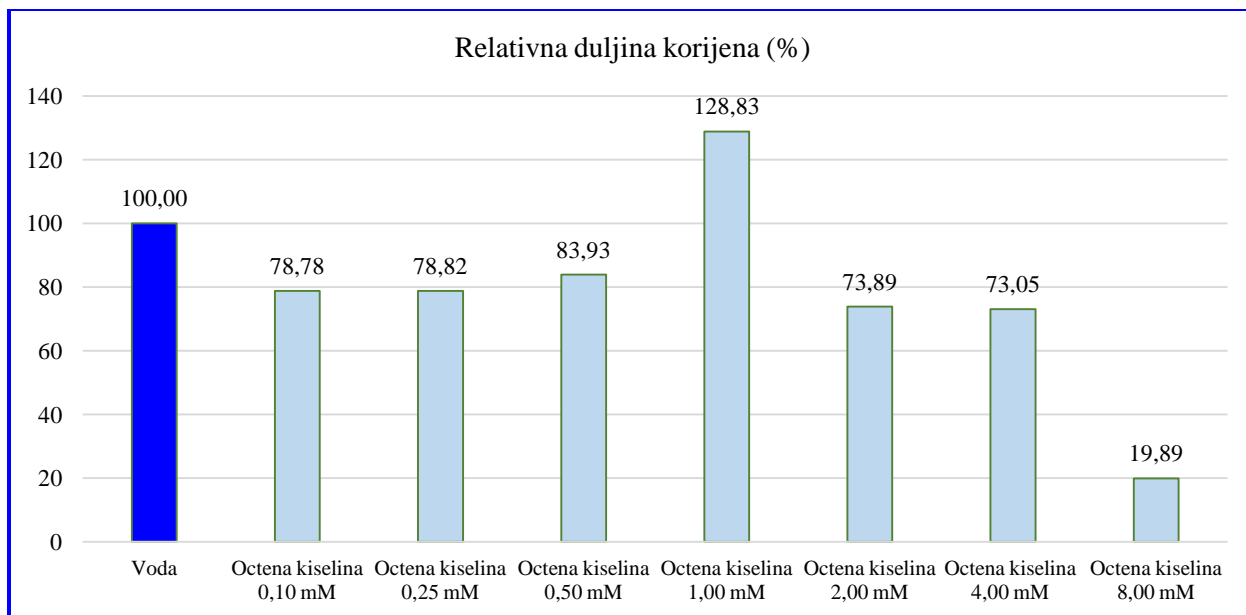
Utvrđen je vrlo sličan učinak limunske kiseline jer su sve duljine korijena kres salate pri koncentracijama otopine limunske kiseline od 0,1 - 1,0 mM bile veće (13,85 - 19,56 mm) od duljine korijena na kontrolnom tretmanu (12,75 mm), ali je statistički značajna razlika utvrđena samo za otopinu koncentracije 0,5 mM limunske kiseline (19,56 mm).

Otopina limunske kiseline koncentracije 2 mM nije značajno utjecala na duljinu korijena kres salate (9,39 mm) u usporedbi s kontrolnim tretmanom (Grafikon 4). Također, vrlo slično utjecaju octene kiseline, otopine najvećih koncentracija limunske kiseline statistički su vrlo značajno utjecale na smanjenje duljine korijena kres salate (1,61 mm pri koncentraciji 4,0 mM i 1,26 mm pri koncentraciji 8,0 mM).

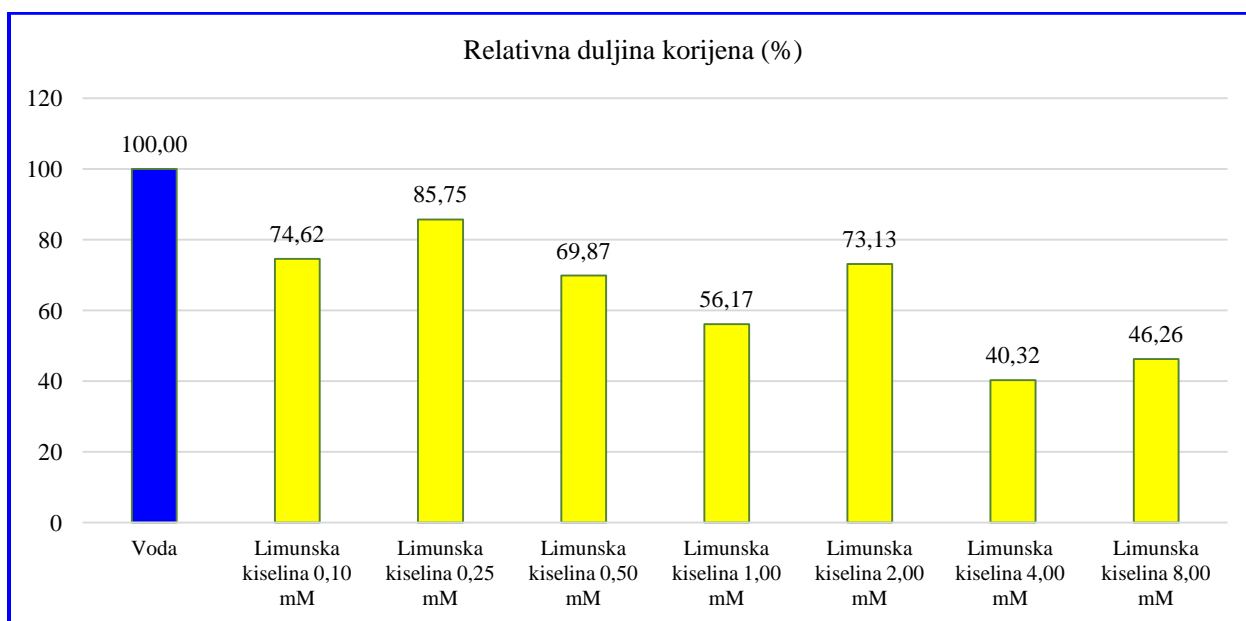


Grafikon 4. Utjecaj otopina limunske kiseline na duljinu korijena kres salate

Prikazi relativne duljine korijena također naglašavaju pozitivan učinak otopine octene kiseline koncentracije 1,0 mM (128,8 %) i negativan učinak otopine koncentracije 8 mM (19,89 %) na duljinu korijena krastavca (Grafikon 5). Istovremeno, niti jedna otopina limunske kiseline nije utjecala na povećanje duljine korijena krastavca jer su sve relativne duljine korijena manje od 100 i kreću se u rasponu 40,32 % - 85,75 % (Grafikon 6).

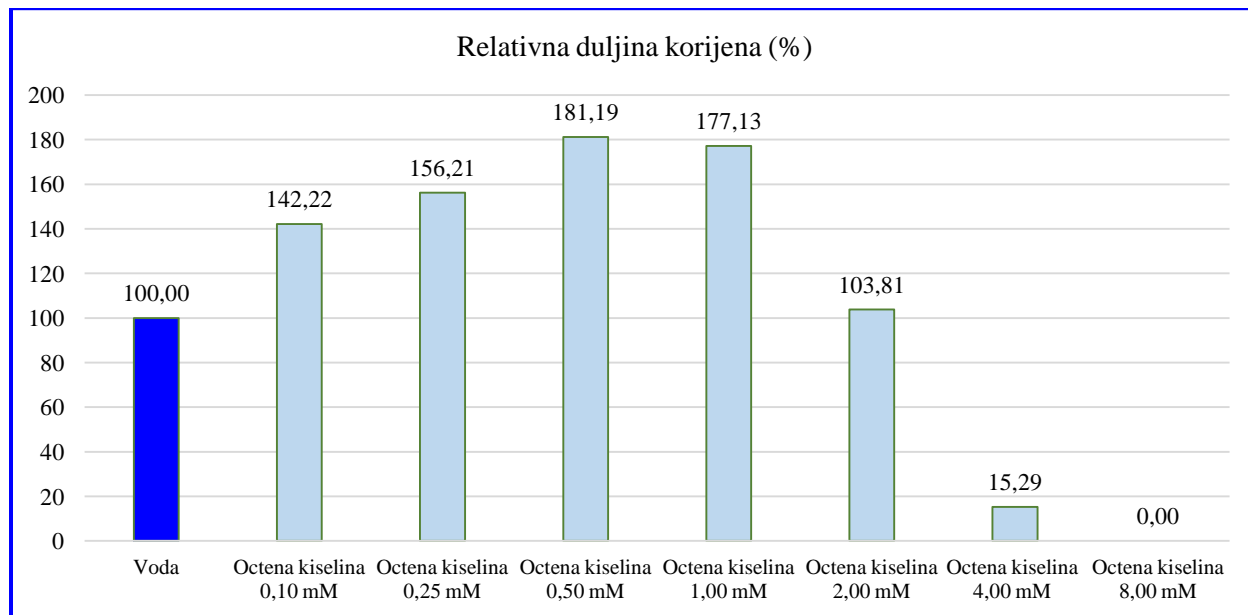


Grafikon 5. Utjecaj otopina octene kiseline na relativnu duljinu korijena krastavca



Grafikon 6. Utjecaj otopina limunske kiseline na relativnu duljinu korijena krastavca

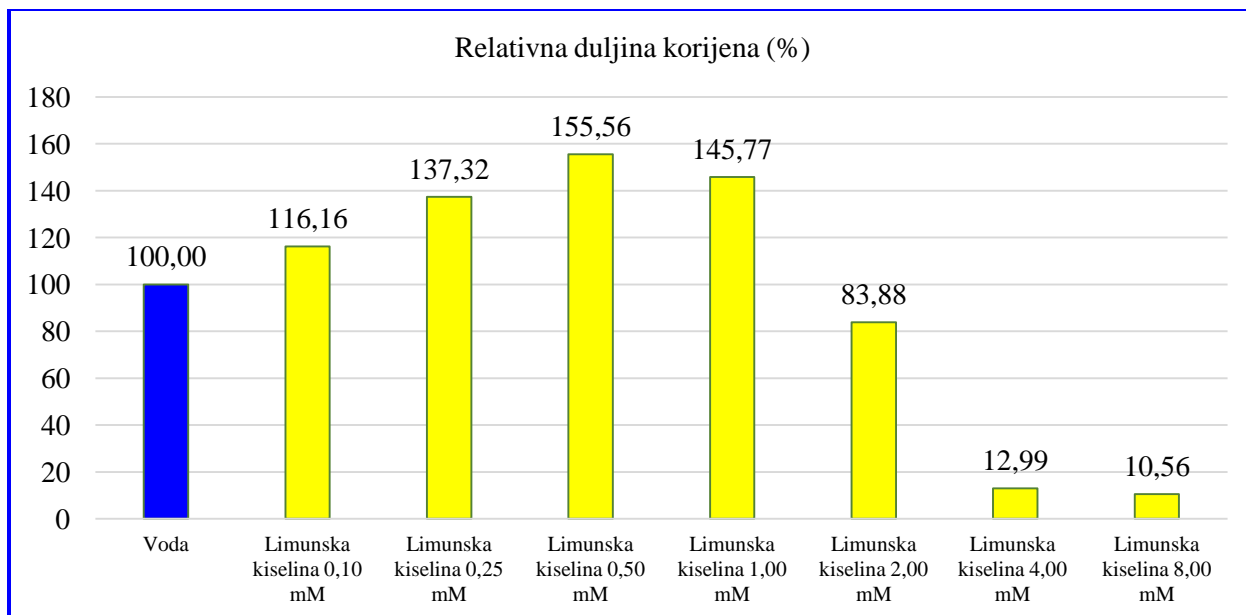




Grafikon 7. Utjecaj otopina octene kiseline na relativnu duljinu korijena kres salate

Tretiranje otopinama octene kiseline pokazalo se relativno dobro jer su sve otopine osim otopine od 4mM (15,29%) i 8mM (0,00%) imale vrijednosti veće od 100% (Grafikon 7.).

Kod tretiranja otopinama limunske kiseline, vrijednosti su nešto manje. Otopina od 2mM (83,88%), od 4mM (12,99%) i od 8mM (10,56%) imaju vrijednosti manje od 100% koliko iznosi vrijednost tretiranja vodom, dok su ostale veće od 100% (Grafikon 8.).



Grafikon 8. Utjecaj otopina limunske kiseline na relativnu duljinu korijena kres salate

## 4.2. Utjecaj tretmana organskim kiselinama na duljinu izdanka

### 4.2.1. Utjecaj testne vrste na duljinu izdanka

U provedenim istraživanjima utvrđena je statistički značajna razlika prosječne duljine izdanka kres salate (4,218 mm) i krastavca (1,808 mm). Pri tome je duljina izdanka kres salate prosječno 2,33 puta veća od duljine izdanka krastavca (Tablica 5). Međutim, iako je relativna duljina kres salate nešto veća (90,85 %) od relativne duljine izdanka krastavca (79,54 %), razlike nisu statistički značajne (Tablica 5), što znači da su otopine octene i limunske kiseline podjednako utjecale na prosječnu duljinu izdanka kres salate i krastavca u odnosu na prosječne duljine njihovih izdanaka na kontrolnim tretmanima s deioniziranom vodom.

Tablica 5. Utjecaj vrste testne biljke na duljinu izdanka u testu klijavosti

Vrsta	Duljina izdanka (mm)	Relativna duljina izdanka (%)
<b>Krastavac</b>	1,808 B	79,539 ns
<b>Kres salata</b>	4,218 A	90,850 ns
<b>LSD<sub>0,05</sub></b>	0,6516	-

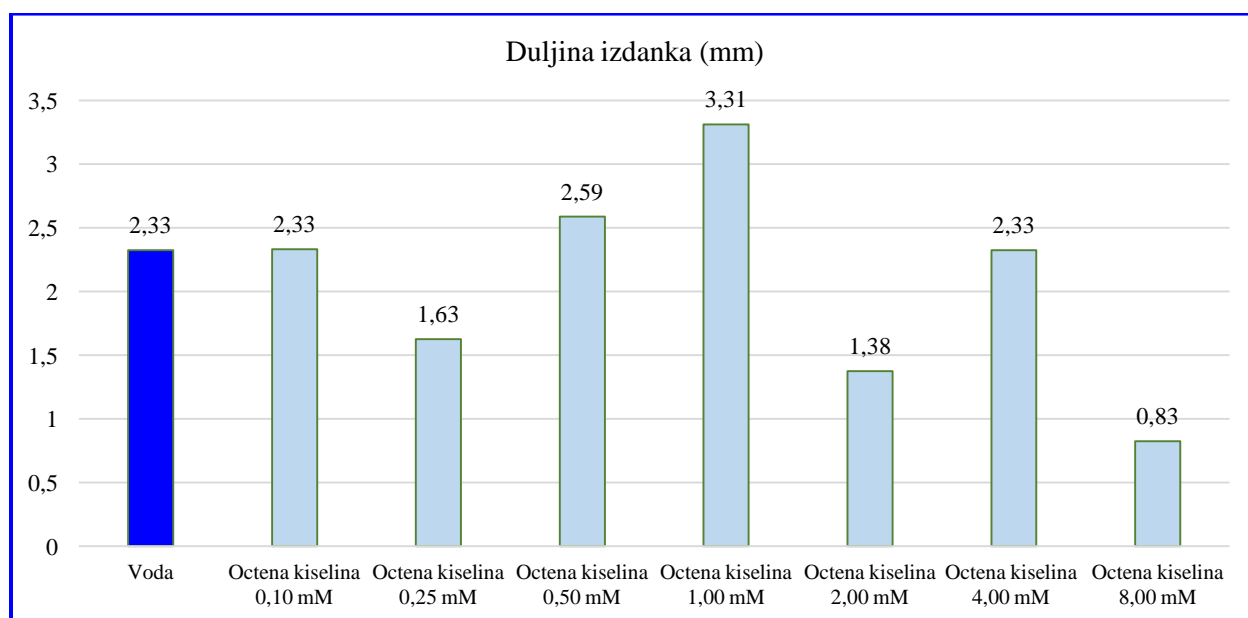
\*Slovima su označene razlike između stupaca

#### 4.2.2. Utjecaj octene i limunske kiseline na duljinu izdanka krastavca

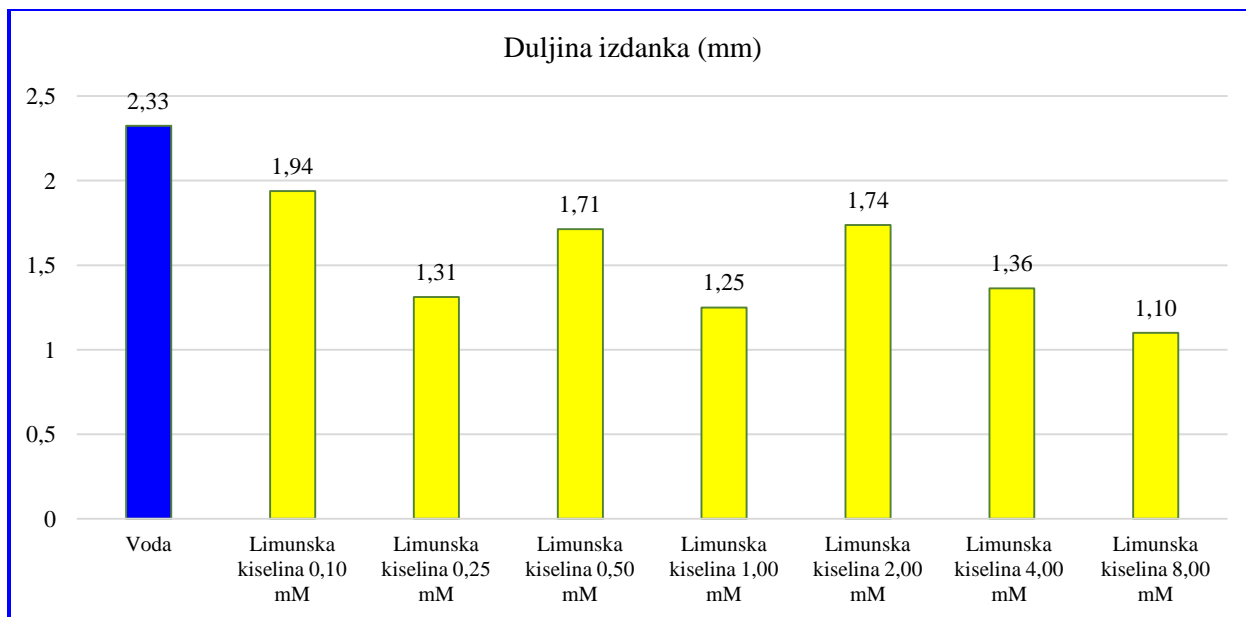
Tablica 6. Utjecaj otopina octene i limunske kiseline na duljinu izdanka krastavca

Otopina	Duljina izdanka (mm)
Voda	2,3250 BC
Octena kiselina 0,10 mM	2,3313 BC
Octena kiselina 0,25 mM	1,6250 CDE
Octena kiselina 0,50 mM	2,5875 AB
Octena kiselina 1,00 mM	3,3125 A
Octena kiselina 2,00 mM	1,3750 DE
Octena kiselina 4,00 mM	2,3250 BC
Octena kiselina 8,00 mM	0,8250 E
Limunska kiselina 0,10 mM	1,9375 BCD
Limunska kiselina 0,25 mM	1,3125 DE
Limunska kiselina 0,50 mM	1,7125 CD
Limunska kiselina 1,00 mM	1,2500 DE
Limunska kiselina 2,00 mM	1,7375 CD
Limunska kiselina 4,00 mM	1,3625 DE
Limunska kiselina 8,00 mM	1,100 DE
<b>LSD<sub>0,05</sub></b>	0,8416

U tablici 6. prikazane su vrijednosti dobivene mjerenjem izdanka krastavca nakon tretiranja octene i limunske kiseline. Grafikon 9 slikovito prikazuje duljinu izdanka krastavca pod utjecajem otopina octene kiseline. Biljke tretirane vodom imaju vrijednosti 2,33mm, dok su vrijednosti onih biljaka koje su tretirane otopinama kiseline malo veće (2,59mm, 3,31mm), jednake (2,33mm) ili malo manje (1,63mm, 1,38mm, 0,83mm). Kod tretiranja otopinama limunske kiseline (Grafikon 10) vrijednosti si manje od vrijednosti nastale tretiranjem vode (2,33mm).



Grafikon 9. Utjecaj otopina octene kiseline na duljinu izdanka krastavca



Grafikon 10. Utjecaj otopina limunske kiseline na duljinu izdanka krastavca

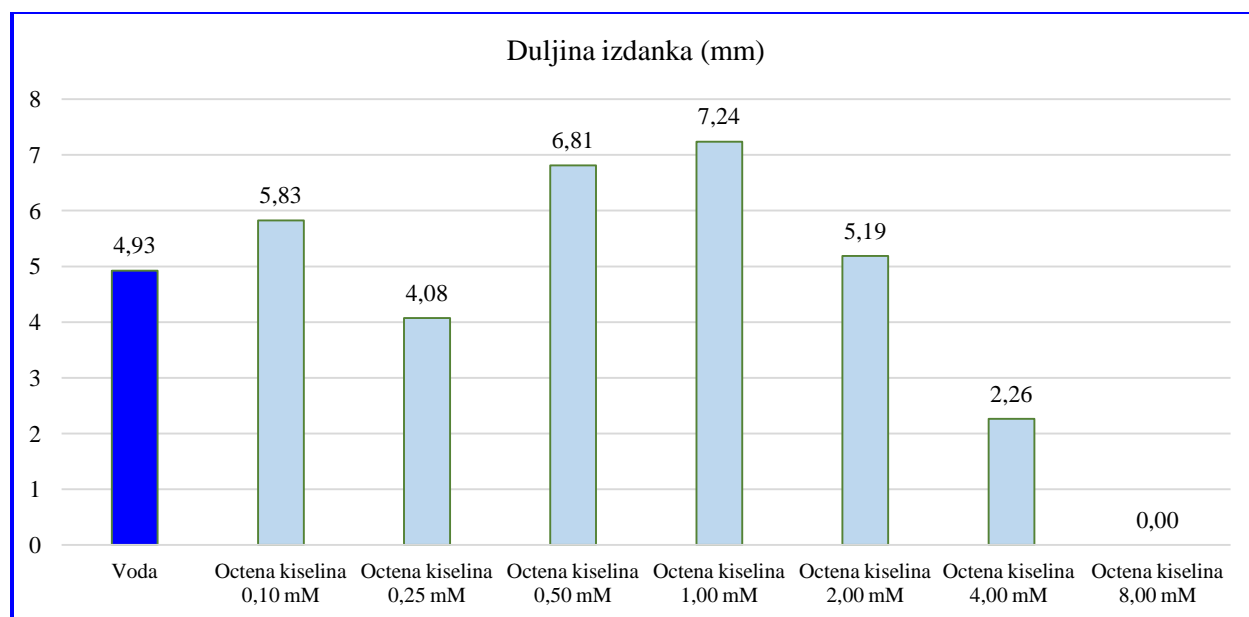
#### 4.2.3. Utjecaj octene i limunske kiseline na duljinu izdanka kres salate

Tablica 7. Utjecaj otopina octene i limunske kiseline na duljinu izdanka kres salate

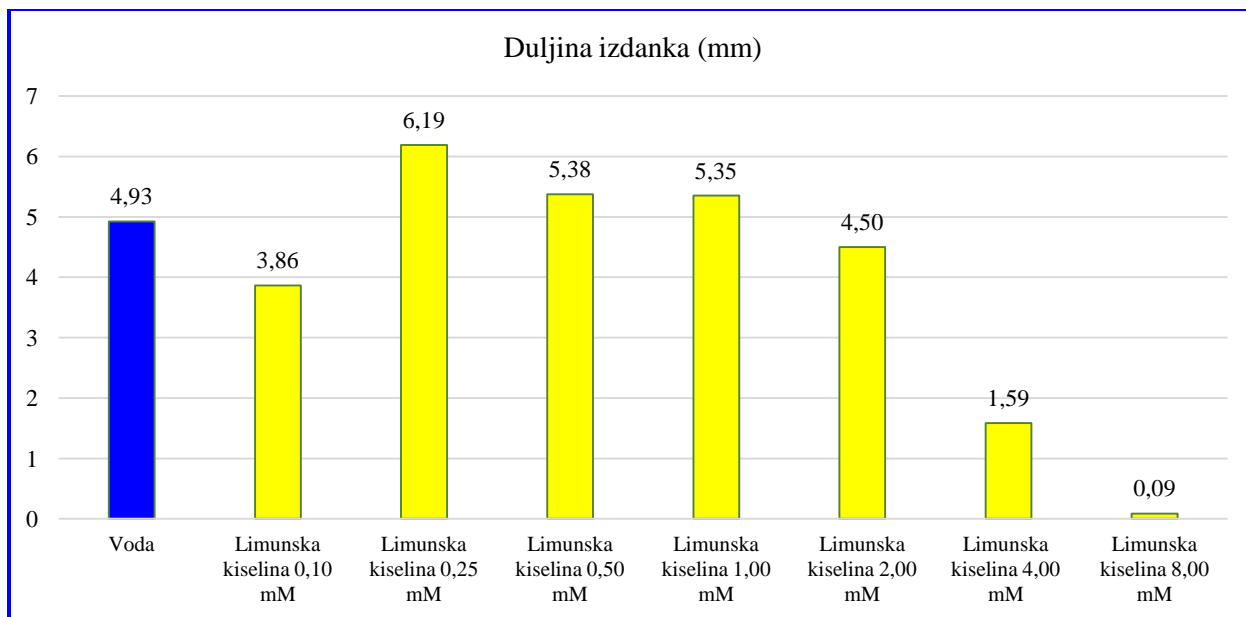
Otopina	Duljina izdanka (mm)
Voda	4,925 CDE
Octena kiselina 0,10 mM	5,825 ABCD
Octena kiselina 0,25 mM	4,075 E
Octena kiselina 0,50 mM	6,813 AB
Octena kiselina 1,00 mM	7,238 A
Octena kiselina 2,00 mM	5,188 CDE
Octena kiselina 4,00 mM	2,263 F
Octena kiselina 8,00 mM	0,000 H
Limunska kiselina 0,10 mM	3,863 E

Limunska kiselina 0,25 mM	6,188 ABC
Limunska kiselina 0,50 mM	5,375 BCDE
Limunska kiselina 1,00 mM	5,350 BCDE
Limunska kiselina 2,00 mM	4,500 DE
Limunska kiselina 4,00 mM	1,588 FG
Limunska kiselina 8,00 mM	0,088 GH
LSD <sub>0,05</sub>	1,5619

Tablica 7., te grafikoni 11 i 12 prikazuju utjecaj otopina octene i limunske kiseline na rast, odnosno duljinu izdanka kres salate. Otopina octene kiseline od 1mM pokazala je najveći učinak, a slijedi ju otopina od 0,50mM. S druge strane, od otopina limunske kiseline, najbolje rezultate dobili smo s onom od 0, 25mM, a najmanje rezultate s onom od 8mM.

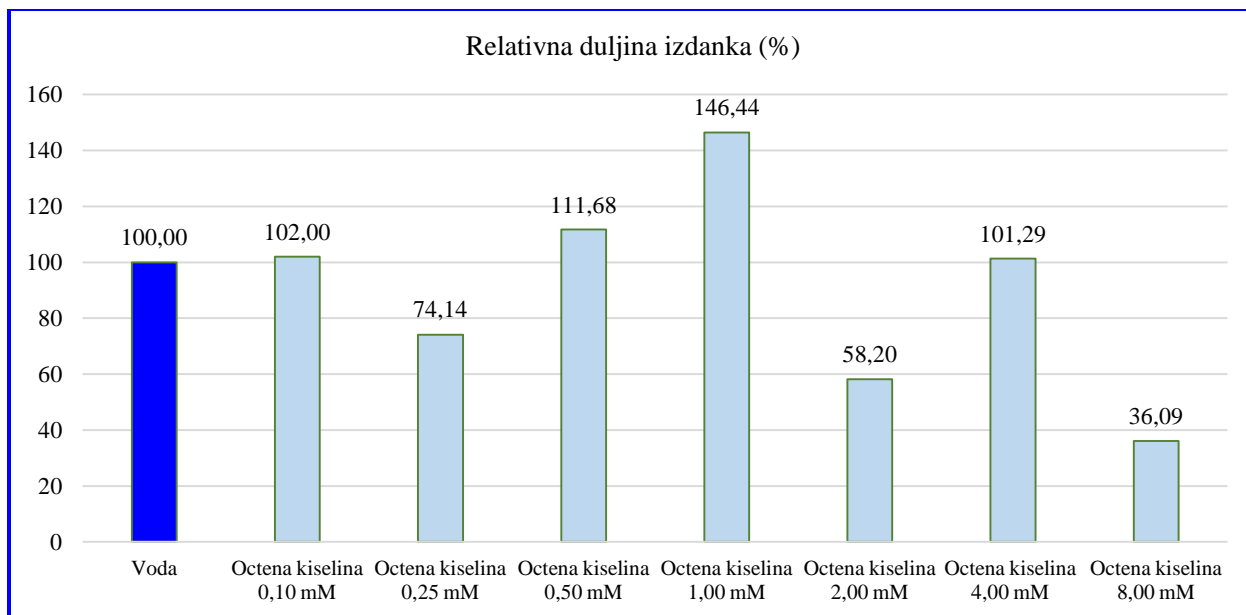


Grafikon 11. Utjecaj otopina octene kiseline na duljinu izdanka kres salate

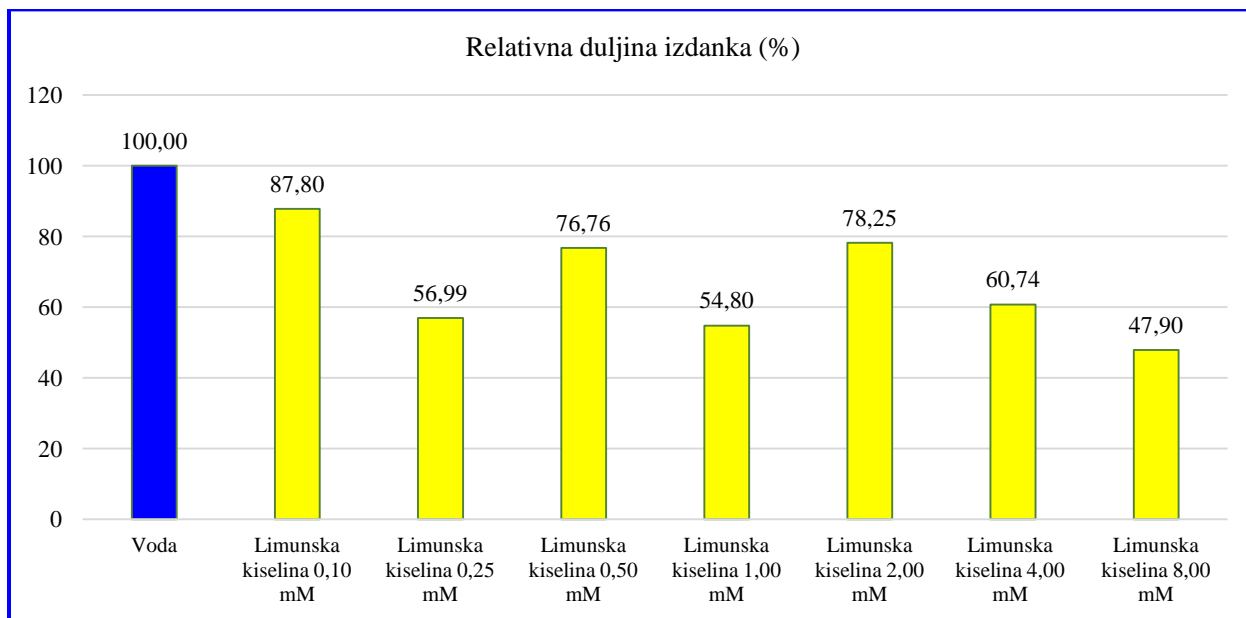


Grafikon 12. Utjecaj otopina limunske kiseline na duljinu izdanka kres salate

Duljina izdanka krastavca kreće se od 1,38 mm do 3,31 mm kod tretiranja otopinama octene kiseline (Grafikon 9) i od 1,10mm do 1,94mm kod tretiranja otopinama limunske kiseline (Grafikon 10). Duljina izdanka salate veća je u odnosu na duljinu izdanka krastavca i kreće se od 2,26mm do 7,24mm kod tretiranja otopinama octene kiseline (Grafikon 11), te od 1,59mm do 6,19mm kod tretiranja otopinama limunske kiseline (Grafikon 12). Relativna duljina izdanka krastavca doseže čak 146,44% kod sjemena tretiranog otopinama octene kiseline (Grafikon 13), te 87,80% kod sjemena tretiranog otopinama limunske kiseline (Grafikon 14). Dok relativna duljina salate tretirane otopinama octene kiseline doseže 164,92% (Grafikon 15), odnosno 135,09% tretirane otopinama limunske kiseline (Grafikon 16).

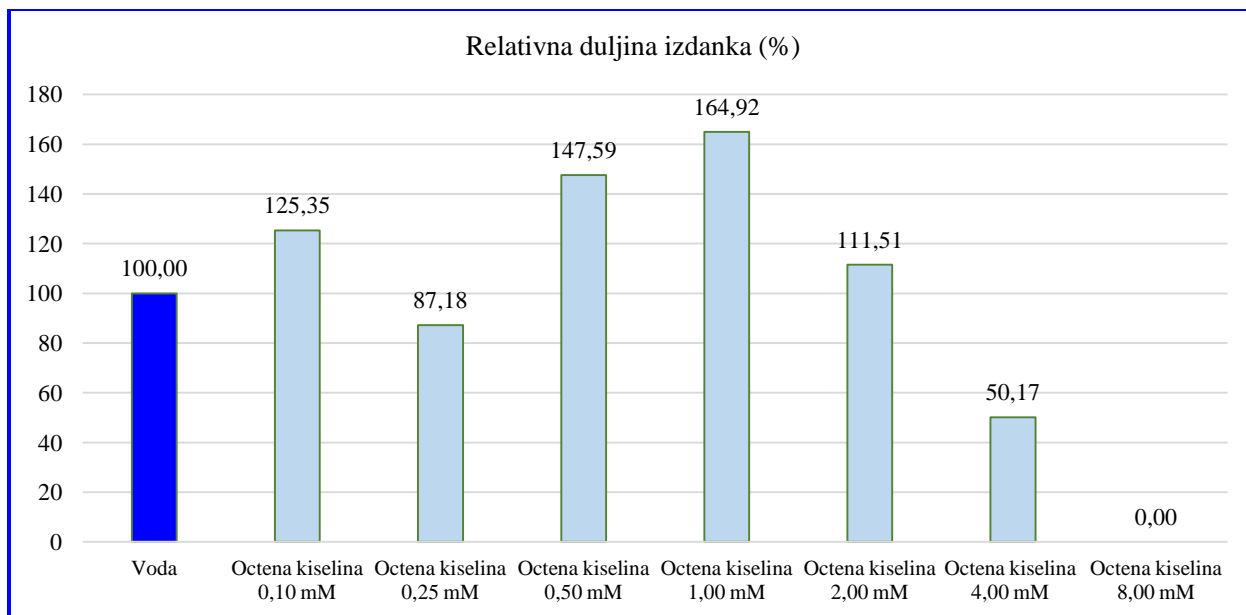


Grafikon 13. Utjecaj otopina octene kiseline na relativnu duljinu izdanka krastavca

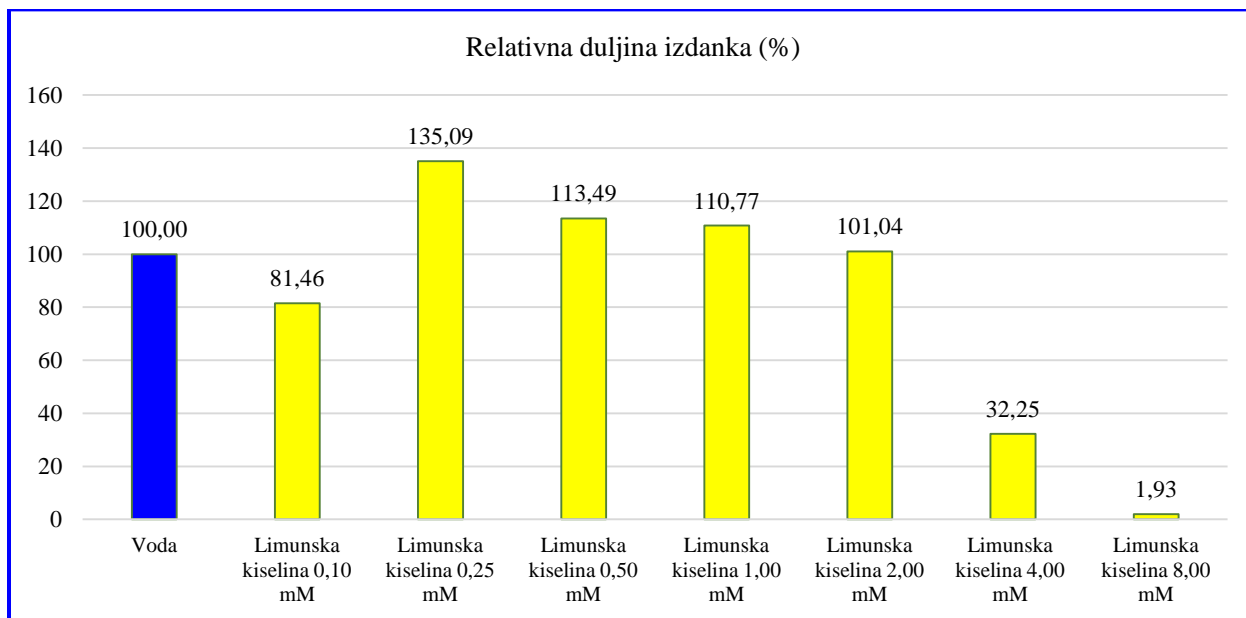


Grafikon 14. Utjecaj otopina limunske kiseline na relativnu duljinu izdanka krastavca





Grafikon 15. Utjecaj otopina octene kiseline na relativnu duljinu izdanka salate



Grafikon 16. Utjecaj otopina limunske kiseline na relativnu duljinu izdanka salate

### 4.3. Utjecaj tretmana organskim kiselinama na klijavost sjemenki

#### 4.3.1. Utjecaj testne vrste na postotak prokljalih sjemenki

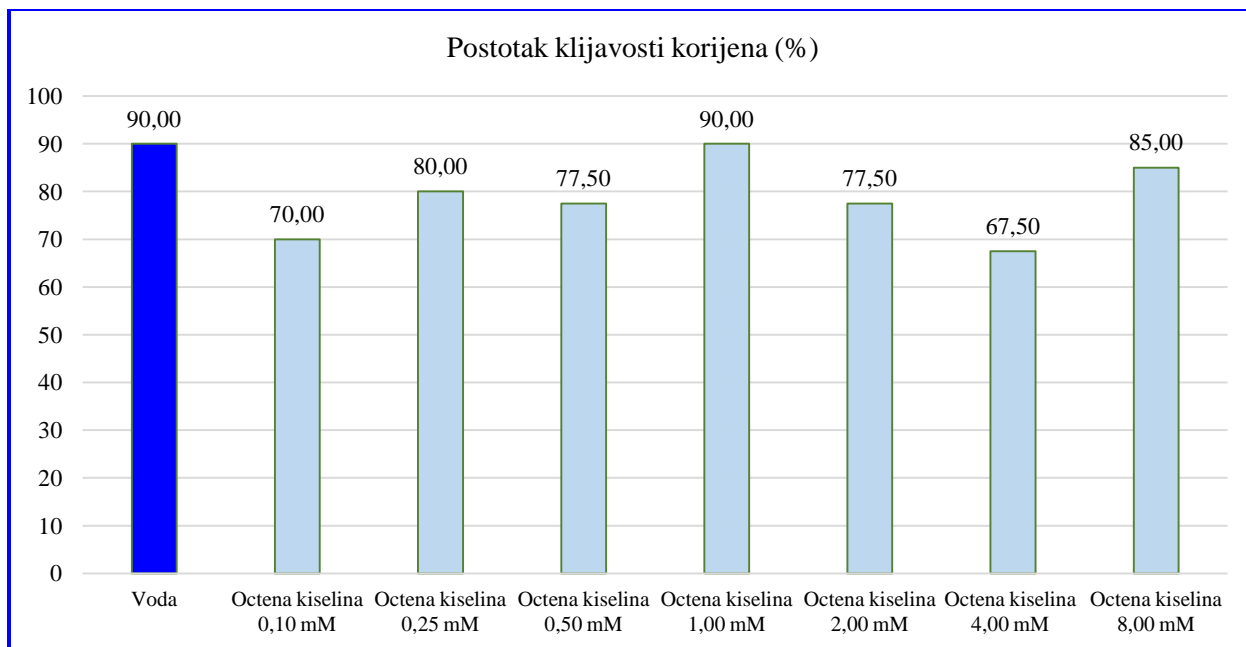
Tablica 8. Utjecaj vrste testne biljke na postotak prokljalih sjemenki

Vrsta	Postotak prokljalih sjemenki s pojavom korijena (%)	Postotak prokljalih sjemenki s pojavom izdanka (%)
Krastavac	83,083 ns	68,500 ns
Kres salata	80,167 ns	73,083 ns
LSD <sub>0,05</sub>	-	-

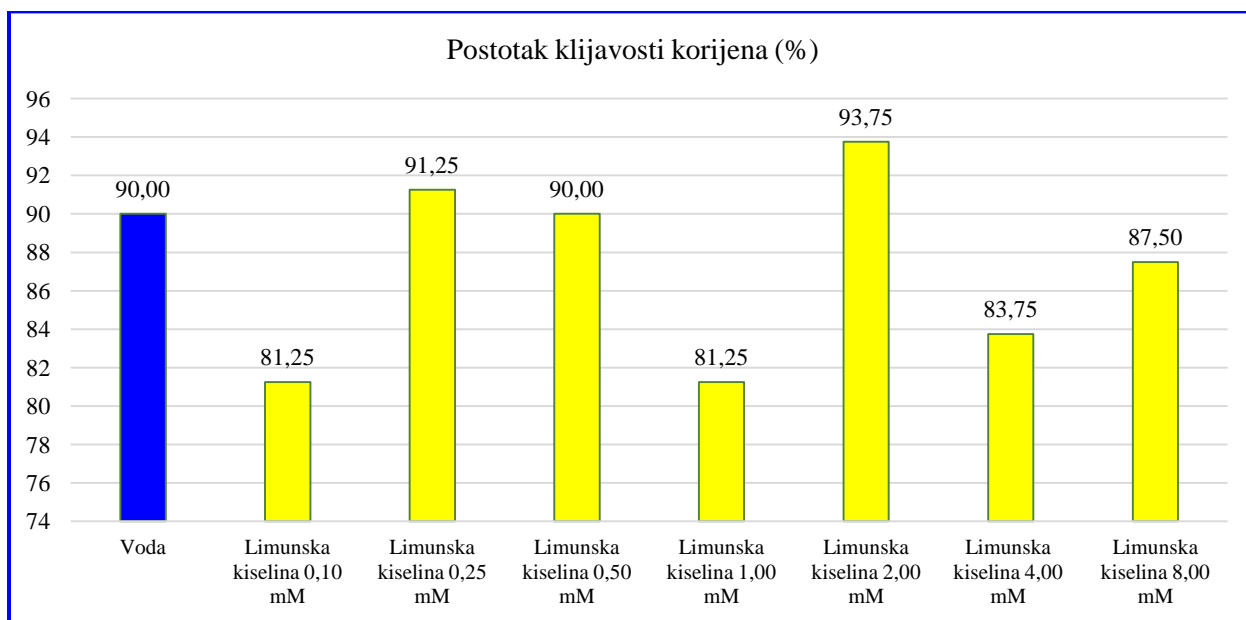
\*Slovima su označene razlike između stupaca

#### 4.3.2. Utjecaj octene i limunske kiseline na klijavost s pojavom korijena

Kada je u pitanju postotak klijavosti korijena kod krastavca, najbolje rezultate donijela je otopina od 1 mM octene kiseline i od 2 mM limunske kiseline. U priloženim grafovima (grafovi 17 i 18) možemo uočiti kako je iz ovog pokusa proizašla relativno visoka klijavost. Najmanji rezultati iznose 67,50% kod octene kiseline (4 mM) i 81,25% kod limunske kiseline (0,10 mM i 1 mM).

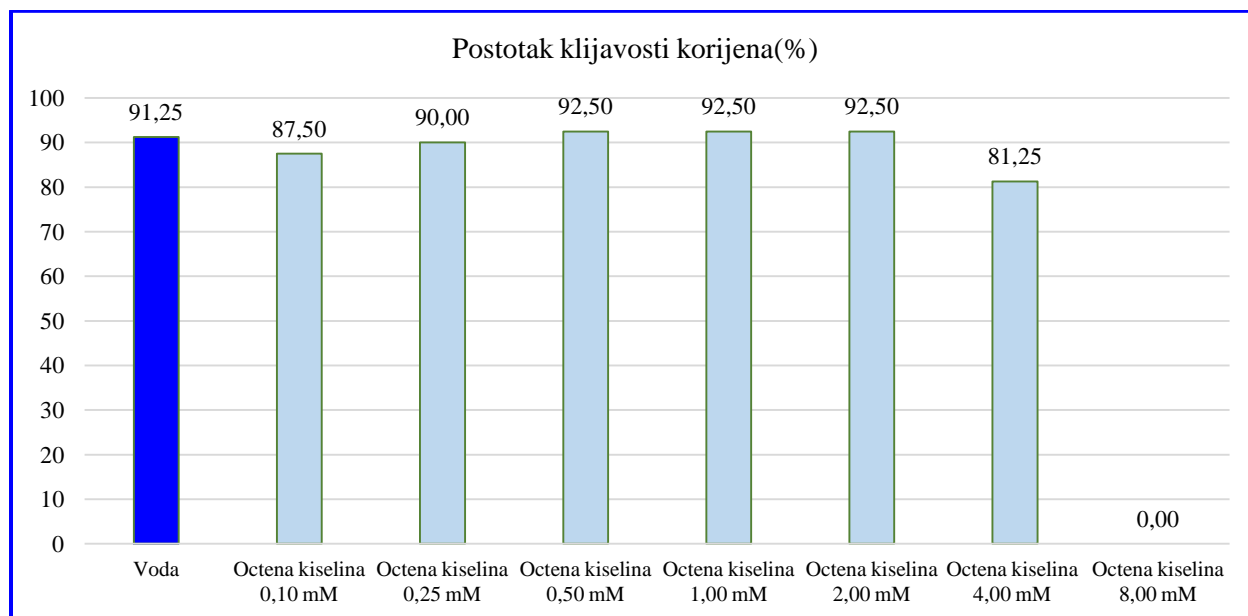


Grafikon 17. Utjecaj otopina octene kiseline na postotak klijavosti s pojavom korijena krastavca

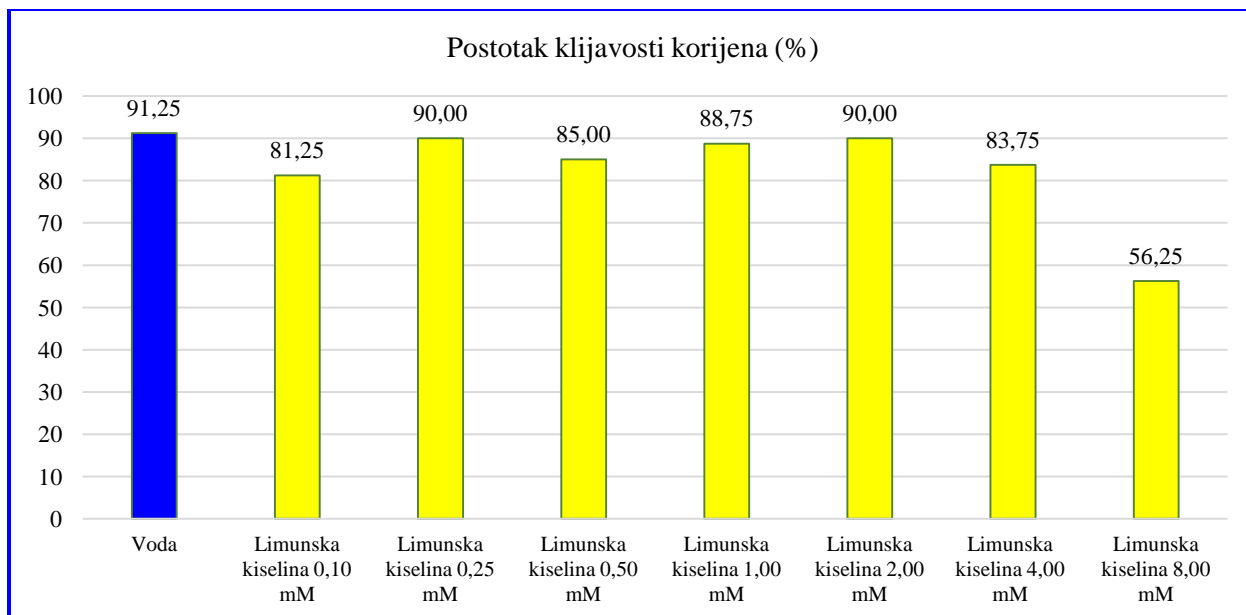


Grafikon 18. Utjecaj otopina limunske kiseline na postotak klijavosti s pojavom korijena krastavca

Klijavost korijena salate također doseže skoro 100%. Najbolje otopine octene kiseline dosežu čak 92,50% (0,50 mM, 1 mM i 2 mM), a najbolje otopine limunske kiseline nešto manje, odnosno okruglih 90% (0,25 mM i 2 mM).



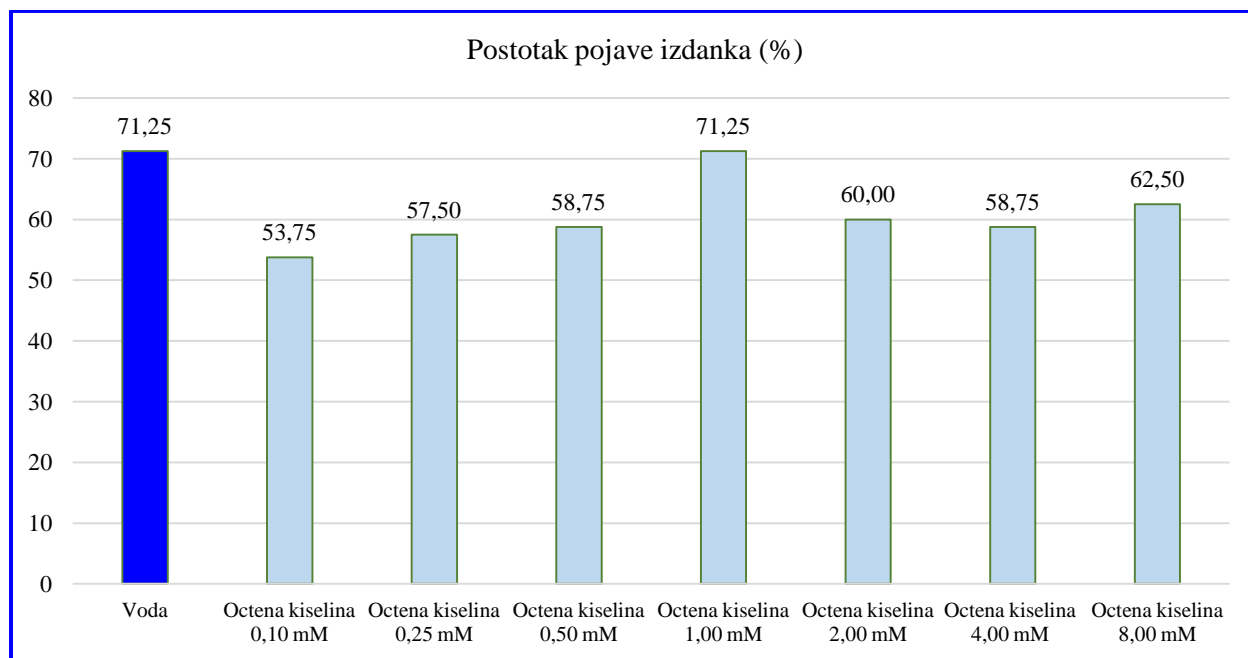
Grafikon 19. Utjecaj otopina octene kiseline na postotak klijavosti s pojavom korijena kres salate



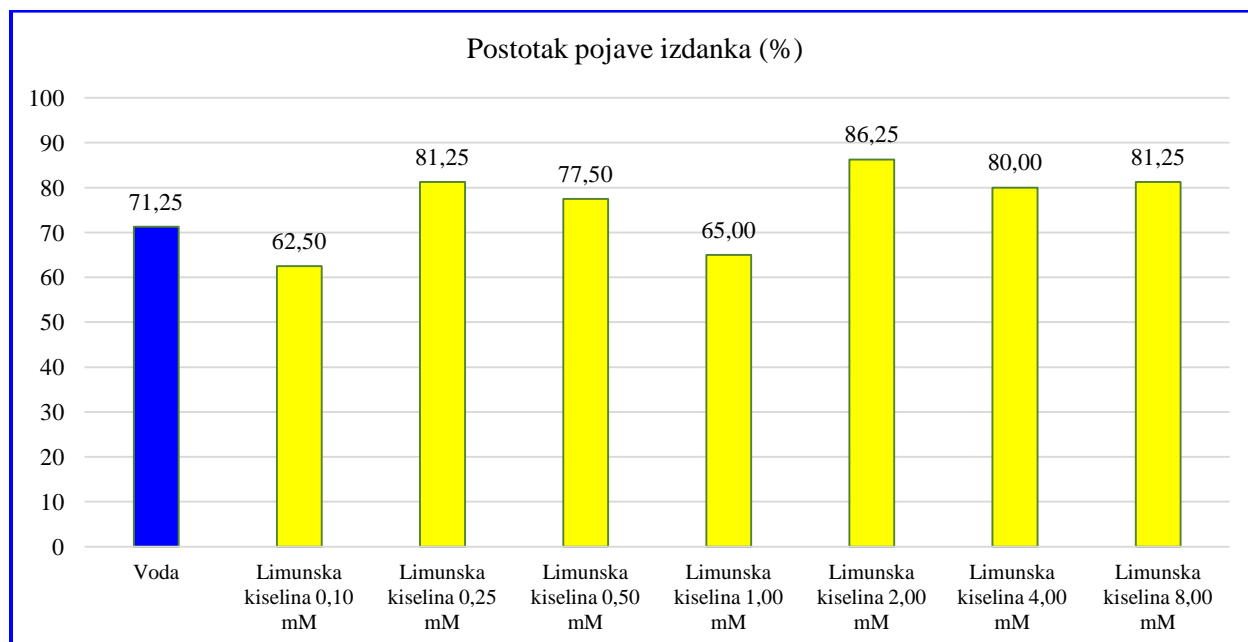
Grafikon 20. Utjecaj otopina limunske kiseline na postotak klijavosti s pojavom korijena kres salate

Kada smo kod izdanka krastavca, grafikon prikazuje njegov postotak koji se kreće od 53,75% do 71,25% (Grafikon 21) gdje je najmanja vrijednost nastala tretiranjem 0,10 mM octene kiseline, a najveća 1 mM također octene kiseline, te od 62,50% do 86,25% (Grafikon 22) gdje je najveća vrijednost nastala tretiranjem 0,10 mM, a najveća 2 mM limunske kiseline.

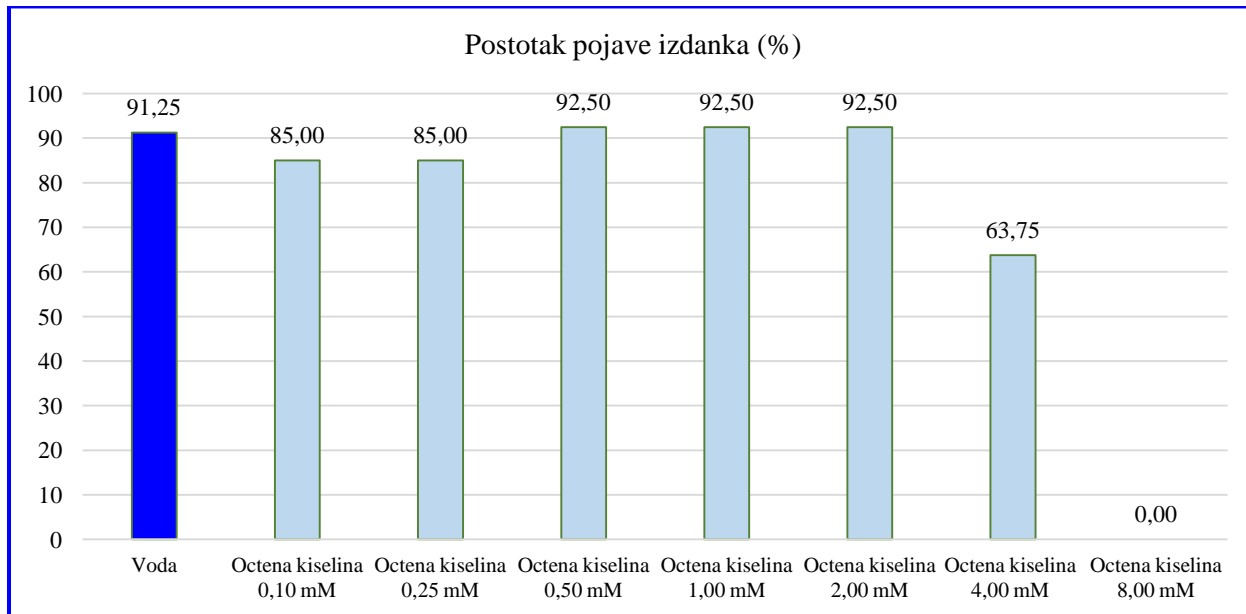
#### 4.3.3. Utjecaj octene i limunske kiseline na klijavost s pojavom izdanka



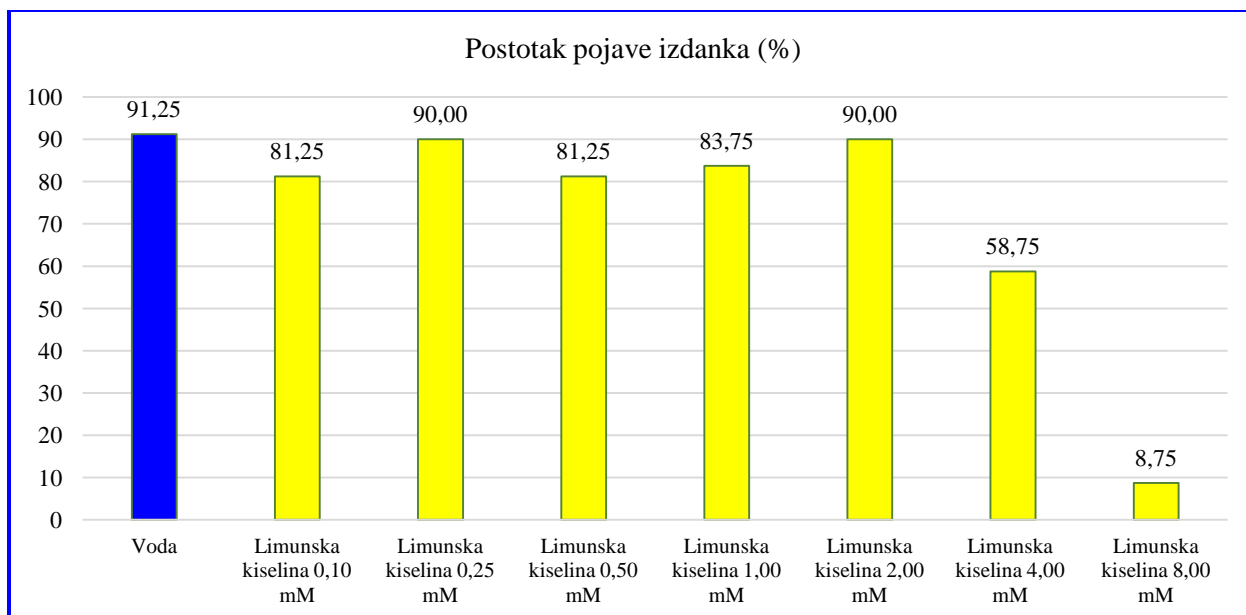
Grafikon 21. Utjecaj otopina octene kiseline na postotak pojave izdanka krastavca



Grafikon 22. Utjecaj otopina limunske kiseline na postotak pojave izdanka krastavca



Grafikon 23. Utjecaj octene kiseline na postotak pojave izdanka salate



Grafikon 24. Utjecaj otopina limunske kiseline na postotak pojave izdanka salate

#### 4.4. Utjecaj tretmana organskim kiselinama na indeks klijavosti

##### 4.4.1. Utjecaj testne vrste na indeks klijavosti

Tablica 9. Utjecaj vrste testne biljke na indeks klijavosti

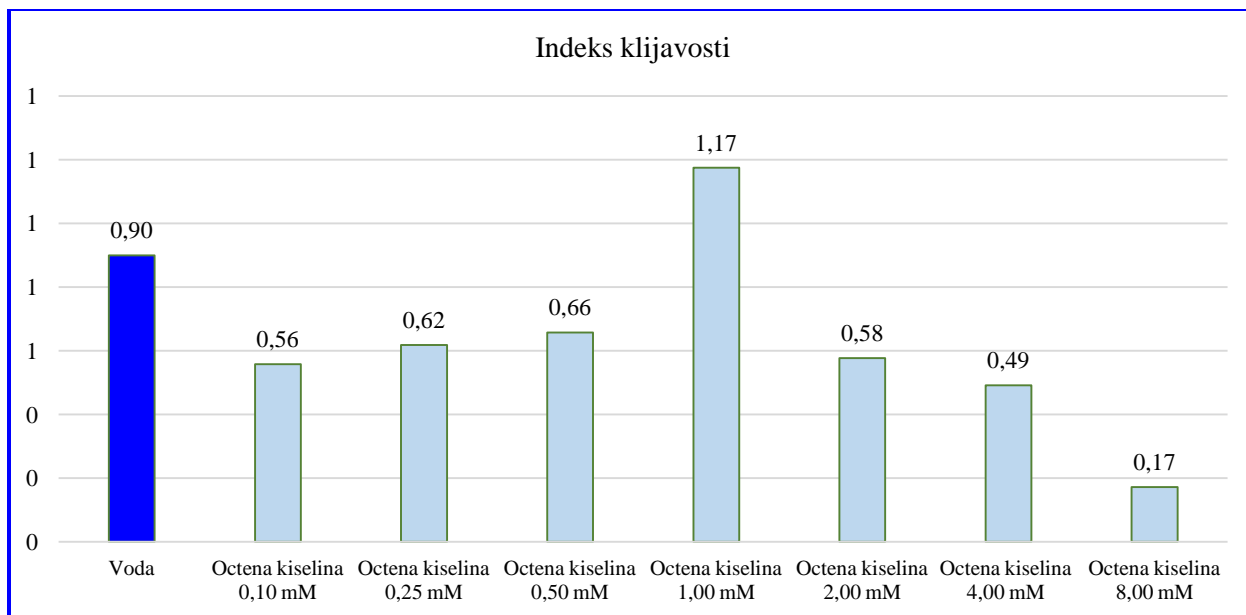
Vrsta	Indeks klijavosti (GI)
Krastavac	0,608 B
Kres salata	0,917 A
LSD <sub>0,05</sub>	0,1881

\*Slovima su označene razlike između stupaca

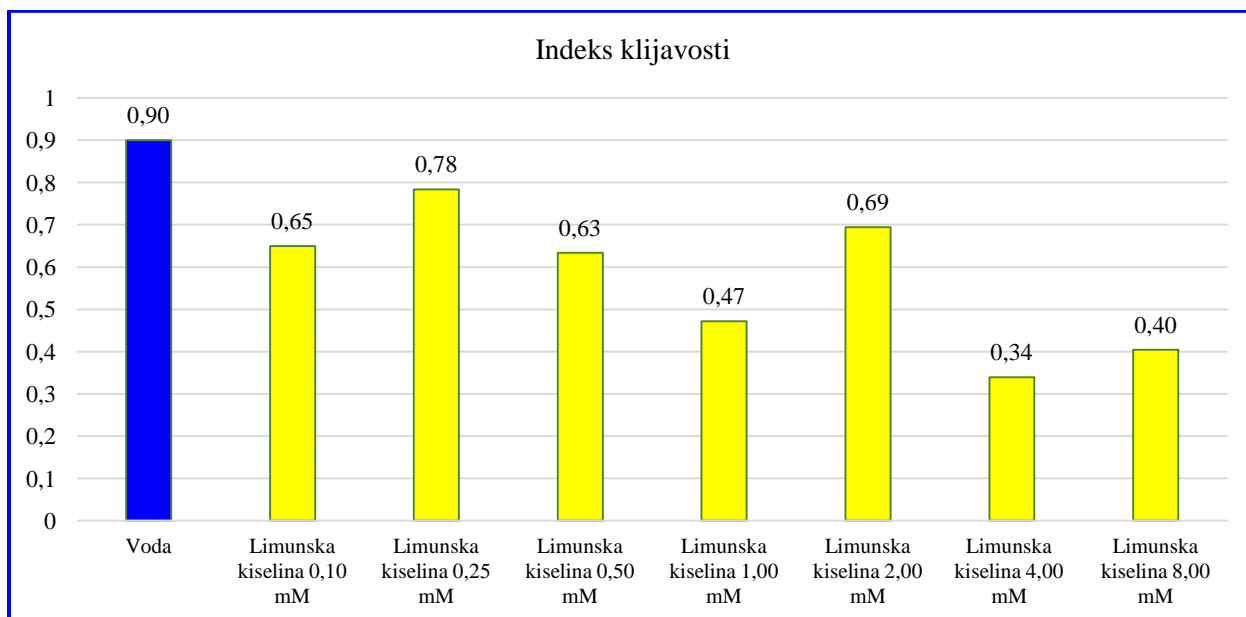
##### 4.4.2. Utjecaj octene i limunske kiseline na indeks klijavosti krastavca

Tablica 9 prikazuje indeks klijavosti tretirane kres salate ( 0,917) i krastavca (0,608). Graf 25 prikazuje rezultate primjenjivanja otopina octene kiseline gdje je najbolje rezultate pokazala otopina od 1 mM (1,17 mm) dok su sve ostale vrijednosti manje od vrijednosti vode (0,90 mm).





Grafikon 25. Utjecaj otopina octene kiseline na indeks klijavosti krastavca

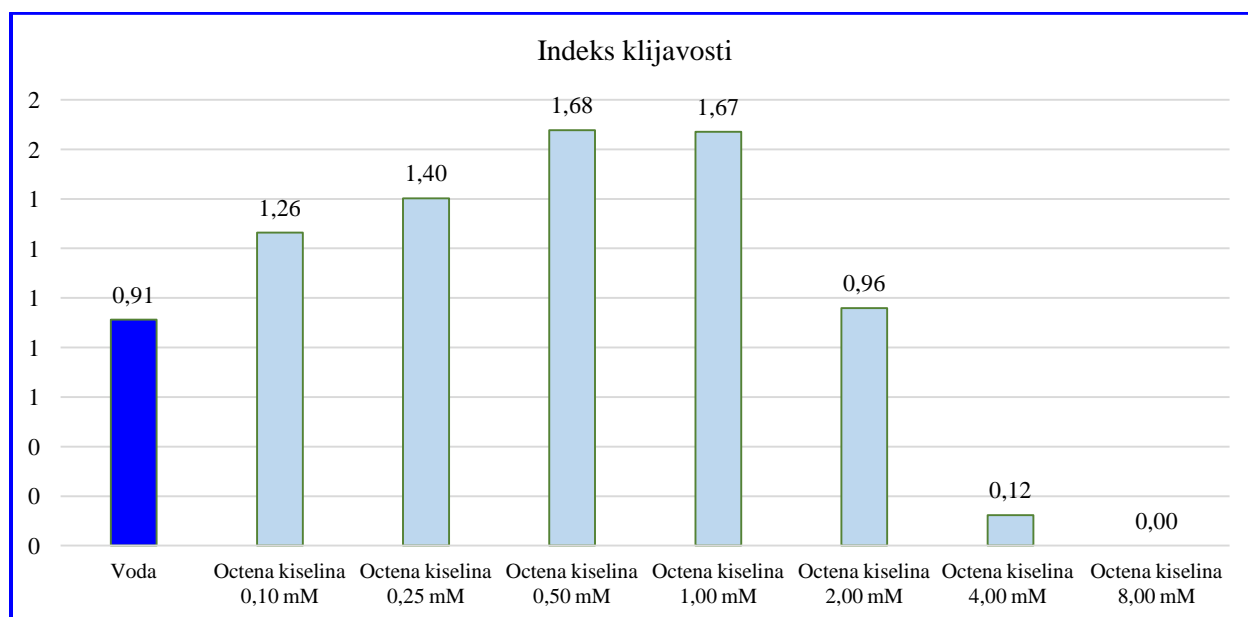


Grafikon 26. Utjecaj otopina limunske kiseline na indeks klijavosti krastavca

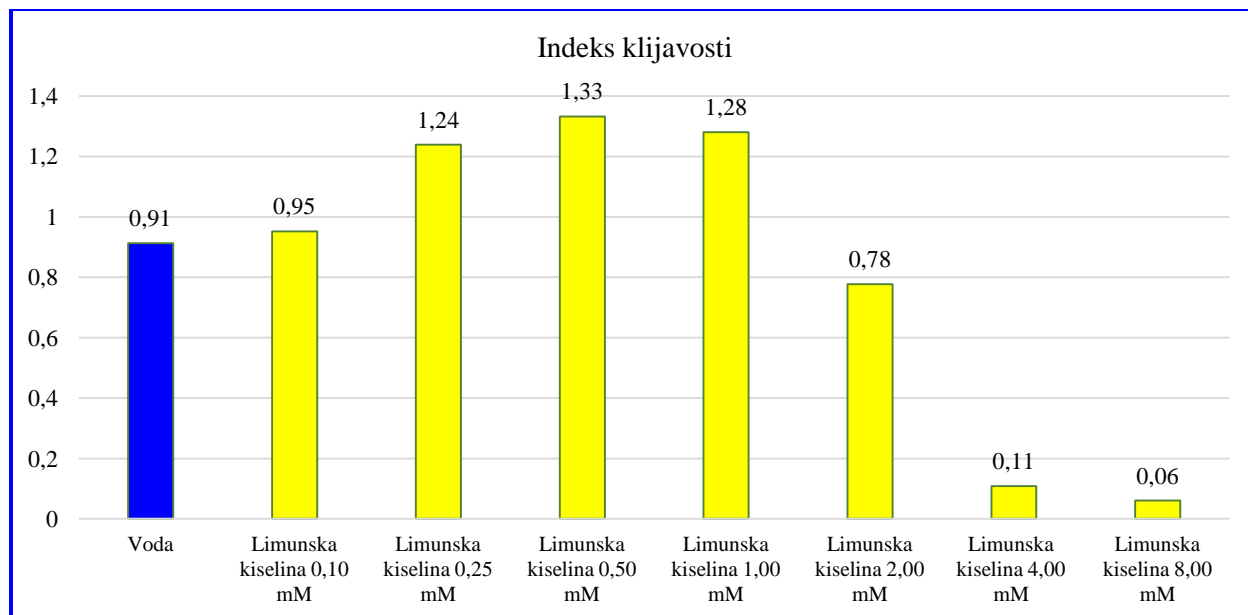
Kod tretiranja otopinama limunske kiseline sve su vrijednosti manje od vrijednosti dobivene tretiranjem vodom koja iznosi 0,90 mm (Grafikon 26).

#### 4.4.3. Utjecaj octene i limunske kiseline na indeks klijavosti kres salate

Indeks klijavosti salate pod utjecajem otopina octene kiseline kreće se od 0,00 (otopina 8 mM) do 1,68 (otopina 0,50 mM), s tim da su samo dvije vrijednosti manje od vrijednosti vode, ona od 4 mM i ona od 8 mM. Graf 27 prikazuje indeks klijavosti kres salate pod utjecajem otopina octene kiseline, dok graf 28 prikazuje indeks klijavosti kres salate pod utjecajem otopina limunske kiseline.



Grafikon 27. Utjecaj otopina octene kiseline na indeks klijavosti salate



Grafikon 28. Utjecaj otopina limunske kiseline na indeks klijavosti salate

## **5. Rasprava**

### **5.1. Utjecaj tretmana organskim kiselinama na duljinu korijena**

Testne biljke u provedenim istraživanjima bile su kres salata i krastavac. Između navedenih biljaka utvrđene su značajne razlike. S obzirom da su obje biljke tretirane octenom kiselinom, najmanja vrijednost kod krastavca iznosi 2,45mm, dok je kod salate najmanja vrijednost (ako izuzmemo onu od 0,00) nešto malo manja, odnosno 1,86mm. Najveća vrijednost kod krastavca iznosi 16,66 mm, a kod salate je 22,39 mm. Otopine limunske kiseline pokazale su nešto malo manju razliku između najmanje (5,06 mm) i najveće (11,03 mm) vrijednosti kod krastavca, dok je kod salate velika razlika među vrijednostima, najmanja iznosi 1,26 mm, a najveća 19,56 mm. Prosječna relativna duljina korijena krastavca kod tretiranja otopinama octene kiseline iznosi 76,74%, dok je kod salate znatno manja, tek 13,36%. Tretiranje otopinama limunske kiseline donosi nešto malo manje vrijednosti kod krastavca i iznosi 63,73%, a kod salate čak 94,61%. Analizirani tretmani u prosijeku nisu imali niti fitotoksičan niti fitostimulativan učinak na kres salatu, dok je prosječni učinak na korijen krastavca umjereno fitotoksičan prema kriterijima u prethodnim istraživanjima (Barral i Paradelo, 2011., Emينو i Watman, 2004., Zucconi i sur., 1981., 1985.).

Prema Kopp (2009.) koncentracija octene kiseline od 2 mM potrebna je da se reducira korijen za 50% kod malo otpornijih biljaka, dok je za neke druge, malo slabije, dovoljna koncentracija od 1,8 mM.

### **5.2. Utjecaj tretmana organskim kiselinama na duljinu izdanka**

Vrijednosti dobivene tretiranjem krastavca otopinama octene kiseline kreću se od 0,83 mm i 3,31 mm. Kod analize pojedinačnih otopina, najveću fitotoksičnost pokazala je otopina od 8 mM jer je njezina vrijednost 0,83 mm. Slijede ju otopina od 2 mM čija je vrijednost 1,38 mm, otopina od

0,25 mM sa vrijednosti 1,63 mm. Nešto veće vrijednosti pokazala je otopina od 0,10 mM sa vrijednosti 2,33 mm. Najveće vrijednosti pripadaju otopinama od 0,50 mM (2,59 mm) i 1 mM (3,31 mm). Voda bilježi vrijednosti od 2,33 mm. Najveću vrijednost kod otopina limunske kiseline pokazala je otopina od 0,10 mM, a njezina vrijednost iznosi 1,94 mm. Slijede ju otopine od 2 mM (1,74 mm) i 0,50 mM (1,71 mm). Slabije fitotoksičnim pokazale su se otopine od 4 mM sa vrijednosti 1,36 mm, zatim 0,25 mM sa vrijednosti 1,31 mm. Najfitotoksičnije su se pokazale otopina limunske kiseline od 1 mM (1,25 mm) i 8 mM (1,10 mm).

Duljina izdanka kres salate tretirana otopinama octene kiseline kreće se između 0,00 što je rezultat otopine od 8 mM, i 7,24 mm, što je rezultat otopine od 1 mM. Vrijednost dobivena tretiranjem vodom iznosi 4,93 mm. U odnosu na vodu, dobre vrijednosti pokazale su otopina od 0,10 mM (5,83), 2 mM (5,19 mm), 0,50 mM (6,81 mm) i 1 mM (7,24 mm). Ostale su vrijednosti ispod vrijednosti vode.

Duljina izdanka kres salate tretirana otopinama limunske kiseline nešto je veća od otopina octene kiseline. Možemo reći da su sljedeće otopine manje fitotoksične: 0,25 mM (6,19 mm), 0,50 mM (5,38 mm), 1 mM (5,35 mm). S obzirom da je vrijednost vode 4,93 mm, a ostale su vrijednosti manje od vrijednosti vode, za njih se može reći da su fitotoksične, s tim da je najviše fitotoksična otopina od 8 mM s vrijednosti 0,09 mm.

Kod relativne duljine izdanka krastavca, otopina octene kiseline od 1 mM pokazala se fitostimulativnom sa vrijednosti 146,44%, dok se kod otopina limunske kiseline otopina od 0,10 mM čija vrijednost iznosi 87,80% nije pokazala niti fitostimulativnom niti fitotoksičnom.

Pri izračunavanju relativne duljine izdanka kres salate, najveću vrijednost pokazala je otopina octene kiseline od 1 mM sa vrijednosti 164,92% što se smatra fitostimulativnom, a nešto malo manju vrijednost, također fitostimulativnu, pokazala je otopina od 0,50 mM sa vrijednosti 147,59%. Fitotoksičan učinak pokazala je otopina od 8 mM sa vrijednosti jednako 0.

Kod tretiranja otopinama limunske kiseline, fitostimulativan učinak uočio se kod otopine od 0,25 mM sa vrijednosti 135,09%. vrijednost vode je 100%, a ispod nje se nalaze samo tri otopine: 0,10 mM (81,46%), 4 mM (32,25%) i 8 mM (1,93%).

Takijina (1964.) demonstrirao je da je koncentracija octene kiseline od 5 mM štetna za rižu jer uzrokuje 50% manji rast korijena i 18% manji rast stabljike (izdanka, klice).

### 5.3. Utjecaj tretmana organskim kiselinama na klijavost sjemenki

Provođenjem pokusa i dodavanjem organskih kiselina, sveukupni bolji rezultat postigao se dodavanjem limunske kiseline. Najmanji postotak pojave korijena krastavca dobiven je dodavanjem od 0,10 mM i 1 mM gdje je rezultat jednak i iznosi 81,25%. Slijede ih otopine od 4 mM s rezultatom od 83,75%, zatim otopina od 8 mM s rezultatom od 87,50%, otopina od 0,50 mM s rezultatom od 90%, 0,25 mM s rezultatom od 91,25%, a najveći rezultat pokazala je otopina od 2 mM s rezultatom od 93,75%.

Otopine octene kiseline pokazale su nešto manje rezultate. Najveći postotak, od 90%, postigao se s otopinom od 1 mM, nešto manji postotak (85%) postigao se s otopinom od 8 mM. Slijede ga otopina od 0,25 mM (80%), otopine od 0,50 mM (77,50%) i 2 mM (77,50%), i na kraju otopine s najmanjim postotcima: 0,10 mM (70%) i 4 mM (67,50%). U oba slučaja postotak pojave korijena kod krastavca tretiranog vodom iznosio je 90%.

Prema izračunima postotka pojave korijena krastavca prilikom tretiranja otopinama octene kiseline najmanja vrijednost uočena je kod otopina od 4 mM (67,50%) i 0,10 mM (70%). Za obje otopine možemo reći da pokazuju fitotoksičan učinak. Prema Parradelu (2010.) u ovom slučaju, otopine octene kiseline imale su dovoljno visoku koncentraciju da izazovu fitotoksičan učinak prilikom provedbe testa klijivosti i produljenja. Tretman vodom doseže 90%, kao i tretman otopinom octene kiseline od 1 mM. Te dvije otopine ne pokazuju niti fitostimulativan, niti fitotoksičan učinak. Vrijednosti ostalih otopina manje su od vrijednosti kontrolnog tretmani pokazuju fitotoksičan učinak.

Rezultati tretiranja otopinama limunske kiseline ipak su malo bolji. Najveći postotak postiže otopina limunske kiseline od 2 mM (93,75%), slijedi ju otopina od 0,25 mM (91,25%), zatim kontrolni tretman i otopina od 0,50 mM koji dijele jednak rezultat od 90%. Navdeni rezultati ne pokazuju ni fitotoksičan ni fitostimulativan učinak, dok su ostali rezultati manji od navedenih i time pokazuju fitotoksičan učinak.

Klijavost korijena kres salate doseže skoro 100%. Najbolje otopine octene kiseline dosežu 92,50% (0,50 mM, 1 mM i 2 mM) što zapravo nije niti fitotoksičan niti fitostimulativan učinak. Otopine limunske kiseline pokazuju nešto manje rezultate. Najveći postotak pokazuje kontrolni

tretman (91,25%), slijede ga otopine od 0,25 mM i 2 mM s jednakim rezultatom od 90% što je također na granici jer nije niti fitotoksičan niti fitostimulativan učinak.

Rezultati tretiranja kres salate bitno se ne razlikuju od rezultata kod krastavca. Čak tri otopine octene kiseline (0,50 mM, 1 mM i 2 mM) imaju jednak postotak od 92,50% što također nije niti fitostimulativno, niti fitotoksično. Kontrolni tretman doseže 91,25%, a ostale otopine pokazuju manje rezultate i samim time ukazuju na činjenicu da imaju fitotoksičan učinak s tim da otopina od 8 mM najviše pokazuje fitotoksičnost s rezultatom od 0,00 mM.

Prema Barralu i Paradelu, octena kiselina imala je dovoljno veliku koncentraciju da njezin učinak bude fitotoksičan (2011.).

#### **5.4. Utjecaj tretmana organskim kiselinama na klijavost s pojavom izdanka**

Na klijavost s pojavom izdanka krastavca otopine octene kiseline nisu pokazale fitostimulativan učinak. U odnosu na kontrolni koji iznosi 71,25%, svi su rezultati manji, izuzev rezultata otopine od 1 mM koji je jednak kontrolnom. Malo bolje rezultate pokazale su otopine limunske kiseline. Najbolji rezultat pokazala je otopina od 2 mM s rezultatom od 86,25%. Kontrolni tretman iznosi 71,25%, a samo su dva tretmana od mogućih 7 pokazala manje rezultate od kontrolnog.

Situacija kod kres salate malo je bolja nego kod krastavca. Kontrolni tretman pokazao je rezultat od čak 91,25%, otopine od 0,50 mM, 1 mM i 2 mM rezultate od 92,50%, a nešto manje rezultate imale su tri otopine: 0,10 mM (85%), 0,25 mM (85%), 4 mM (63,75). Posljednja otopina od 8 mM nije pokazala nikakve rezultate (0,00%). Ovdje je situacija ista kao i kod krastavca jer rezultati ne pokazuju niti fitotoksičan niti fitostimulativan učinak. Slična je situacija i kod

otopina limunske kiseline, samo što su svi rezultati, u odnosu na kontrolni tretman (91,25%), manji.

U svom istraživanju, Lilian Madruga de Tunes navodi činjenicu da samam prisutnost octene kiseline u supstratima za klijanje reducira, odnosno smanjuje, razvoj klice i radikule.

## 5.5 Indeks klijavosti

Indeks klijavosti smatra se najosjetljivijim parametrom kada je u pitanju fititoksičnost organskog gnojiva i pogodnost za njegovu aplikaciju. Test klijavosti i rasta korijena služi za njegovo utvrđivanje (Lončarić, 2019.). Indeks klijavosti smanjuje se i povećanjem koncentracije topljivih soli koje se nalaze u ekstraktu organskog gnojiva i to ispiranjem ili razrjeđivanjem organskog gnojiva. (Lončarić, 2019).

Tablica 9. Utjecaj vrste testne biljke na prosjek indeksa klijavosti

Vrsta	Indeks klijavosti
Krastavac	0,60841 B
Kres salata	0,91730 A
LSD <sub>0,05</sub>	0,1881

\*Slovima su označene razlike između stupaca

Kao što možemo uočiti u tablici 9, indeks klijavosti kres salate iznosi 0,91730 i veći je od indeksa klijavosti krastavca koji iznosi 0,60841.



## 6. Zaključak

Uzgoj biljaka zahtjeva vrijeme, trud, znanje i optimalne uvjete za rast i razvoj. Prvavremena obrada tla i održavanje tla plodnim omogućava i kvalitetan urod. Ali za sve navedeno potrebno je znanje i iskustvo. Danas uvelike postoji mogućnost za stjecanje vještina i znanja potrebnih za bavljenje poljoprivrednim djelatnostima. Mnogi poljoprivrednici, uključujući i one koji možda nisu dovoljno informirani, odlučuju se za dodavanje komposta i to je u svakom slučaju dobar izbor, ali nezreli kompost može izazvati male probleme u tlu koji kasnije prerastaju u velike probleme. Dodavanjem nezrelog komposta dolazi do nakupljanja teških metala i organskih kiselina, a zatim i patogenih mikroorganizama koji imaju sposobnost uzrokovati bolesti biljaka. Zbog nepovoljnih uvjeta dolazi i do inhibiranja rasta i razvoja biljaka i pojave već ranije spomenute fitotoksičnosti.

Tema ovog rada bilo je istraživanje upravo fitotoksičnosti organskih kiselina, octene i limunske, na dvije testne biljke, krastavca i kres salate. Kroz istraživanje, dobiveni su različiti rezultati, negdje se očitovao fitotoksičan, a negdje fitostimulativan utjecaj otopina navedenih organskih kiselina. Između dvije biljne vrste uočene su značajne razlike. Mjerenjem duljine korijena tretirane otopinama octene kiseline najmanja vrijednost kod krastavca iznosi 2,45 mm, dok je kod salate (ako izuzmemo onu od 0,00 mM) 1,86 mm. Najveća vrijednost kod krastavca iznosi 16,66 mm, a kod salate 22,39 mm. otopine limunske kiseline pokazale su nešto manju razliku, pa tako najveća vrijednost krastavca iznosi 11,03 mm, a salate 19,56 mm. najmanja vrijednost krastavca iznosi 5,06 mm, a salate 1,26 mm.

Mjerenjem duljine izdanka krastavca dolazimo do sljedećih rezultata: otopina octene kiseline od 8 mM pokazala je najveću fitotoksičnost jer je njezina vrijednost samo 0,83 mm, najveću vrijednost ima otopina od 0,25 mM sa vrijednosti 163 mm. otopine limunske kiseline bilježe sljedeće rezultate: najveća vrijednost od 1,94 mm pripada otopini od 0,10 mM, a najmanja otopini od 8 mM (1,10 mm). Duljina izdanka kres salate tretirane otopinama octene kiseline kreće se od 0,00 mm ( 8 mM) do 7,24 mm (1 mM). Duljina izdanka kres salate tretirane otopinama limunske kiseline bilježi uglavnom fitotoksične učinke; otopina od 8 mM (0,09 mm) je najviše fitotoksična, a otopina od 0,25 mM (6,19 mm) najmanje fitotoksična.

Mjerenjem klijavosti sjemenki dolazimo do rezultata koji nisu niti fitofoksični, niti fitostimulativni. U ovom djelu, bolja se pokazala limunska kiselina. Najveći rezultat kod krastavca pokazala je otopina od 2 mM s rezultatom od 93,75%, a otopina octene kiseline od 1 mM postotak od 90%.

Klijavost korijena kres salate doseže skoro 100%. Najbolje otopine octene kiseline dosežu 92,50% (0,50 mM, 1 mM i 2 mM), a otopine limunske kiseline nešto manje rezultate; kontrolni tretman (91,25%), zatim otopine od 0,25 mM i 2 mM s jednakim rezultatom od 90%.

Na klijavost s pojavom izdanka krastavca otopine octene kiseline nisu pokazale fitostimulativan učinak. U odnosu na kontrolni koji iznosi 71,25%, svi su rezultati manji, izuzev rezultata otopine od 1 mM koji je jednak kontrolnom. Malo bolje rezultate pokazale su otopine limunske kiseline. Najbolji rezultat pokazala je otopina od 2 mM s rezultatom od 86,25%.

Kontrolni tretman kod krastavca pokazao je rezultat od čak 91,25%, otopine od 0,50 mM, 1 mM i 2 mM rezultate od 92,50%. Slična je situacija i kod otopina limunske kiseline, samo što su svi rezultati, u odnosu na kontrolni tretman (91,25%), manji.

Indeks klijavosti smatra se najosjetljivijim parametrom kod mjerenja fitotoksičnosti. Indeks kres salate iznosi 0,91730 i veći je od indeksa klijavosti krastavca koji iznosi 0,60841.

## 7. Popis literature

1. Agnello A.C., Huguenot D., Hullebusch van E.D., Esposito G. (2015.): Phytotoxicity of Citric Acid and Tween®80 for Potential Use as Soil Amendments in Enhanced Phytoremediation, *International Journal of Phytoremediation*, 17:7, 669-677
2. Amlinger, F., Gotz, B., Dreher, P., Gestzi, J., Weissteiner, C. (2003.): Nitrogen in biowaste and yard waste compost: Dynamic of mobilisation and availability – a review *European Journal of Soil Biology* 39, 107
3. Armstrong, J.; Armstrong, W. (2001.): Rice and Phragmites: effects of organic acids on growth, root permeability, and radial oxygen loss to the rhizosphere. *American Journal of Botany*, v.88, p.1359-1370
4. Asoa, T., Kitazawa, H., Tomita, K., Suyama, K., Yamamoto, H., Hosoki, T., Pramanik, M.H.R. (2004.): Mitigation of cucumber autotoxicity in hydroponic culture using microbial strain. *Sci. Hort.* 99, 204–207
5. Barral, M.T., Paradelo, R. (2011.): A Review on the Use of Phytotoxicity as a Compost Quality Indicator. *Dynamic Soil, Dynamic Plant* 5 (Special Issue 2): 36-44.
6. Baumgarten A., Spiegel H., (2004.): Phytotoxicity (Plant tolerance), *Horizontal* 8, Available online: [http://www.ecn.ne/docs/society/horizontal/hor8\\_phytotoxicity.pdf](http://www.ecn.ne/docs/society/horizontal/hor8_phytotoxicity.pdf)
7. Dumontet, S., Dinel, H., Baloda, S. B., 1999. Pathogen reduction in sewage sludge by composting and other biological treatments: a review *Biological Agriculture and Horticulture* 16(4), 409 - 430
8. Emino, E. R., Warman P.R. (2004.): Biological assay for compost quality. *Compost Science and Utilization*. 12:3, 42-34
9. Fischer, E.J., Benson, D.M., Diab, H.G., Shew, H.D. 2004. Abiotic and biological Suppression of *Phytophthora parasitica* in a horticultural medium containing composted swine waste, *Phytopathology* 94, 780 – 788.
10. Goh, T.B., Huang P.M., Rennie D.A. (1986.): Phytotoxicity of organic acids as influenced by montmorillonite, hydroxy-Al montmorillonite and phosphate fertilization, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 17:5

11. Hoitink, H.A.J., Krause, M.S., 2003.: Biological control of plant diseases induced by compost. In: Siwert, A., Rao, B., Marion, D. (Eds.), Tree and Shrub Fertilization: Proceedings from an International conference of Tree and Shrub Fertilization. International Society of Arboriculture, Campaign, IL, p.p. 59 – 68.
12. Kapanen A., Itavaara M. (2001.): Ecotoxicity test for compost application. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 49,1 -16
13. Kassie F, Rabot S, Uhl M, Huber W, Qin HM, Helma C, Schulte-Hermann, R., Knasmüller, S. (2002): Chemoprotective effects of garden cress (*Lepidium sativum*) and its constituents towards 2-amino-3-methylimidazo [4,5-f]quinoline (IQ)-induced genotoxic effects and colonic preneoplastic lesions. *Carcinogenesis*, 23: 1155-1161.
14. Kebrom T., Woldesenbet S., Bayabil H., Garcia M., Gao M., Ampim P., Awal R., Fares A. (2019.): Evaluation of phytotoxicity of three organic amendments to collard greens using the seed germination bioassay.
15. Kopp, M.M.; Luz, V.K.; Maia, L.C.; Sousa, R.O.; Carvalho, F.I.F.; Oliveira, A.C. (2009.): Avaliação de genótipos de aveiabraca sob estresse de ácidos orgânicos. *Bragantia*, v.68, n.2, p.329-338
16. Lee, J. G., Lee, B. Y., and Lee, H. J. (2006): Accumulation of phytotoxic organic acids in reused nutrient solution during hydroponic cultivation of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Scientia Horticulturae*, 110(2), 119–128.
17. Lešić R., Borošić J., Buturac I., Čustić M., Poljak M., Romić D. (2002.): *Povrčarstvo, Zrinski, Čakovec*, str. 370 – 395
18. Lončarić, Z., Kristek, S., Ivezić, V., Popović, B., Jović, J., Rašić, S. (2019.): Plodnost tala i gospodarenje organskim gnojivima. *Fakultet agrobiotehničkih znanosti Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek*.
19. Madruga de Tunes, L., 2012. et al. Critical levels of organic acids on seed germination and seedling growth of wheat. *Rev. bras. sementes* [online]. vol.34, n.3, pp.366-372. ISSN 0101-3122. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-3122201200030000>
20. Matotan Z. (2004.): *Suvremena proizvodnja povrća*, Nakladni zavod Globus, Zagreb
21. OECD-OCDE (Organization for Economic Cooperation and Development) (2006.): *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals Test No. 208: Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test*, OECD Publishing

22. Ozores – Hampton, M., 1998. Compost as an alternative weed control method, *Hort Science* 33(6), 938 – 940.
23. Parađiković N. (2009.): *Opće I specijalnopovrćarstvo*, Poljoprivrednifakultet Osijek, Osijek, str. 289 – 308
24. Paradelo, R, Villada, A, González, D, Barral, MT (2010c) Evaluation of the toxicity of heavy metals and organic compounds in compost by means of two germination-elongation tests. *Fresenius Environmental Bulletin* 19: 956–962.
25. Rao, D.N.; Mikkelsen, D.S. (1977.): Effect of acetic, propionic, and butyric acids on rice seedlings growth. and nutrition. *Plant and Soil*, v.47, p.323-33
26. Rice, E.I. (1984.): *Allelopathy*, 2nd ed. Academic Press, Orlando, FL, p. 422
27. Selim, Sh M., Zayed, Mona S., Atta, Houssam M. (2012.): Evaluation of phytotoxicity of compost during composting process. *Nature and Science*, 2012.; 10(2):69-77
28. Takijima, Y. (1964.): Growth inhibiting action of organic acids and absorption and decomposition of them by soils. *Soil Science Plant Nutrition*, v.12, p.435-442, 1964
29. Tunes, L.M., Goncalves-Alevar, S.A., Sauza-Albuquerque, A.C., Cardoso-Pedroso, D., Briao-Muniz, M.F., Mendez, N. (2012.): Critical levels of organic acids on seed germination and seedling growth of wheat, vol.34, n.3 pp.366-372.
30. Warman, P. R. (1999): Evaluation of seed germination and growth test for assessing compost maturity. *Compost Science and Utilization*, 7: 33-37
31. Yu, J.Q., Matsui, Y.(1993.): Extraction and identification of phytotoxic substances accumulated in nutrient solution for the hydroponic culture of tomato. *Soil Sci. Plant Nutr.* 39, 691–700
32. Yu, J.Q., Matsui, Y., (1994.): Phytotoxic substances in root exudates of cucumber (*Cucumis sativus* L). *J. Chem. Ecol.* 20, 21–31
33. Zucconi, F., Pera, A., Forte, M., de Bertoldi, M. (1981.): Evaluating toxicity of immature compost. *BioCycle*, 22, 54-57.
34. Zucconi, F., Monaco, A., Forte, M., de Bertoldi, M. (1985.): Phytotoxins during the stabilization of organic matter. *Composting of Agricultural and other Wastes*. Elsevier Applied Science Publishers, Barking, 73-85.
35. Zucconi, F., Pera, A., Forte, M., de Bertoldi, M. (1981.): Evaluating toxicity of immature compost. *BioCycle*, 22, 54-57.. Zucconi, F., Forte, M., Monaco, A., Forte, M. (1985.):

Phytotoxins during the stabilization of organic matters. In: Gasser, J.K.R. (ed.) Composting of Agriculturals and Other Wastes. Elsevier, London. 73-85

36. <https://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=44693>

37. <https://www.enciklopedija.hr/Natuknica.aspx?ID=36605>

## 8. Sažetak

Fitotoksičnost se smatra čestom pojavom u poljoprivrednoj proizvodnji s kojom se mnogi poljoprivrednici suočavaju zbog nepravilne primjene sredstava za zaštitu bilja ili nepravilne gnojidbe. Uzrokuje smanjenu klijavost, inhibira rast i razvoj biljke te ima druge štetne efekte koji uzrokuju odstupanje od normalnog rasta i razvoja biljke. Može biti uzrokovana primjerice organskim kiselinama koje nastaju razgradnjom inkorporirane svježe organske tvari, a nalazimo ih u biljnim, životinjskim i mikrobiološkim izlučevinama, metabolitima i sl. Navedene kiseline smatraju se inhibitorima rasta usjeva.

Cilj provedenog istraživanja bio je utvrditi fitotoksičnost octene i limunske kiseline u sedam različitih koncentracija upotrebom testa klijavosti.

Osnovna hipoteza ovog istraživanja je da postoji razlika u fitotoksičnosti octene kiseline i limunske kiseline, te da postoji razlika između testnih vrsta, u ovom slučaju kres salate i krastavca.

Utjecaj kiseline na testne biljke utvrđen je testom klijavosti kres salate i krastavca, a isti je proveden po modificiranoj metodi klijavosti sjemena prema Zucconi i sur. (1981.). U svaku Petrijevu zdjelicu s filter papirom na dnu, postavlja se 20 sjemenki krastavca i kres salate te se dodaje 5 mL određene otopine octene i limunske kiseline s pripremljenim rastućim koncentracijama (0,00 mM, 0,10 mM, 0,25 mM, 0,50 mM, 1,00 mM, 2,00 mM, 4,00 mM, 8,00 mM), a kao kontrolni tretman (0,00 mM) koristila se deionizirana voda. Nakon postavljanja sjemenki, Petrijeve zdjelice su u 4 ponavljanja postavljene u kontrolirane uvjete na 25°C tijekom 72 sata.

Test klijavosti obuhvatio je sljedeće tretmane:

1. dvije vrste testnih biljaka (kres salata i krastavac)
2. dvije organske kiseline (octena i limunska)
3. 8 različitih koncentracija kiselina.

U istraživanju analizirani su sljedeći pokazatelji: broj prokljalih sjemenki, relativna klijavost, broj izdanaka, relativni broj izdanaka, duljina korijena, relativna duljina korijena, duljina izdanka, relativna duljina izdanka i indeks klijavosti.

Prema rezultatima indeksa klijavosti indeks kres salate iznosi veći je od indeksa klijavosti krastavca.

U prosijeku i u oba slučaja, najmanju fitotoksičnost (u nekim slučajevima i fitostimulativnost) pokazala je otopina od 1mM, a najveću fitotoksičnost pokazala je otopina od 8mM.



## 9. Summary

Phytotoxicity is considered to be a common occurrence in agricultural production that many farmers face due to improper application of plant protection products or improper fertilization. It causes reduced germination, inhibits the growth and development of the plant and has other harmful effects that cause deviation from normal growth and development of the plant. It can be caused, for example, by organic acids formed by the decomposition of incorporated fresh organic matter, which are found in plant, animal and microbiological secretions, metabolites, etc. These acids are considered to be inhibitors of crop growth.

The aim of the study was to determine the phytotoxicity of acetic and citric acid at seven different concentrations using a germination test.

The basic hypothesis of this study is that there is a difference in the phytotoxicity of acetic acid and citric acid, and that there is a difference between the test species, in this case watercress and cucumber.

The effect of acid on the test plants was determined by the test of germination of watercress and cucumber, and the same was carried out according to the modified method of seed germination according to Zucconi and sur. (1981). In each Petri dish with filter paper at the bottom, place 20 cucumber seeds and watercress salad and add 5 mL of a certain solution of acetic and citric acid with prepared increasing concentrations (0.00 mM; 0.10 mM; 0.25 mM; 0.50 mM, 1.00 mM, 2.00 mM, 4.00 mM, 8.00 mM), and deionized water was used as a control treatment (0.00 mM). After seed placement, Petri dishes were placed in 4 replicates under controlled conditions at 25 °C for 72 hours.

The germination test included the following treatments:

1. two types of test plants (watercress and cucumber)
2. two organic acids (acetic and citric)
3. 8 different concentrations of acids.

The following indicators were analyzed in the study: number of germinated seeds, relative germination, number of shoots, relative number of shoots, root length, relative root length, shoot length, relative shoot length and index germination.

According to the results of the germination index, the watercress index of lettuce is higher than the germination index of cucumber.

On average and in both cases, the lowest phytotoxicity (in some cases phytostimulativeness) was shown by the 1mM solution, and the highest phytotoxicity was shown by the 8mM solution.

## 10. Popis tablica i grafikona

Tablica 1 - Prikaz indeksa klijavosti i ocjene fitotoksičnosti

Tablica 2 - Utjecaj vrste testne biljke na prosječnu duljinu korijena u testu klijavosti

Tablica 3 - Utjecaj otopina octene i limunske kiseline na duljinu korijena krastavca

Tablica 4 - Utjecaj otopina octene i limunske kiseline na duljinu korijena kres salate

Tablica 5 - Utjecaj vrste testne biljke na duljinu izdanka u testu klijavosti

Tablica 6 - Utjecaj otopina octene i limunske kiseline na duljinu izdanka krastavca

Tablica 7 - Utjecaj otopina octene i limunske kiseline na duljinu izdanka kres salate

Tablica 8 - Utjecaj vrste testne biljke na postotak proklijalih sjemenki

Tablica 9 - Utjecaj vrste testne biljke na indeks klijavosti

Grafikon 1 - Utjecaj otopina octene kiseline na duljinu korijena krastavca

Grafikon 2 - Utjecaj otopina limunske kiseline na duljinu korijena krastavca

Grafikon 3 - Utjecaj otopina octene kiseline na duljinu korijena kres salate

Grafikon 4 - Utjecaj otopina limunske kiseline na duljinu korijena kres salate

Grafikon 5 - Utjecaj otopina octene kiseline na relativnu duljinu korijena krastavca

Grafikon 6 - Utjecaj otopina limunske kiseline na relativnu duljinu korijena krastavca

Grafikon 7 - Utjecaj otopina octene kiseline na relativnu duljinu korijena kres salate

Grafikon 8 - Utjecaj otopina limunske kiseline na relativnu duljinu korijena kres salate

Grafikon 9 - Utjecaj otopina octene kiseline na duljinu izdanka krastavca

Grafikon 10 - Utjecaj otopina limunske kiseline na duljinu izdanka krastavca

Grafikon 11 - Utjecaj otopina octene kiseline na duljinu izdanka kres salate

Grafikon 12 - Utjecaj otopina limunske kiseline na duljinu izdanka kres salate

Grafikon 13 - Utjecaj otopina octene kiseline na relativnu duljinu izdanka krastavca

Grafikon 14 - Utjecaj otopina limunske kiseline na relativnu duljinu izdanka krastavca

Grafikon 15 - Utjecaj otopina octene kiseline na relativnu duljinu izdanka salate

Grafikon 16 - Utjecaj otopina limunske kiseline na relativnu duljinu izdanka salate

Grafikon 17 - Utjecaj otopina octene kiseline na postotak klijavosti s pojavom korijena krastavca

Grafikon 18 - Utjecaj otopina limunske kiseline na postotak klijavosti s pojavom korijena krastavca

Grafikon 19 - Utjecaj otopina octene kiseline na postotak klijavosti s pojavom korijena kres salate

Grafikon 20 - Utjecaj otopina limunske kiseline na postotak klijavosti s pojavom korijena kres salate

Grafikon 21 - Utjecaj otopina octene kiseline na postotak pojave izdanka krastavca

Grafikon 22 - Utjecaj otopina limunske kiseline na postotak pojave izdanka krastavca

Grafikon 23 - Utjecaj octene kiseline na postotak pojave izdanka salate

Grafikon 24 - Utjecaj otopina limunske kiseline na postotak pojave izdanka salate

Grafikon 25 - Utjecaj otopina octene kiseline na indeks klijavosti krastavca

Grafikon 26 - Utjecaj otopina limunske kiseline na indeks klijavosti krastavca

Grafikon 27 - Utjecaj otopina octene kiseline na indeks klijavosti salate

Grafikon 28 - Utjecaj otopina limunske kiseline na indeks klijavosti salate

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku  
Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek  
Sveučilišni diplomski studij Ishrana bilja i tloznanstvo

Diplomski rad

## Ocjena fitotoksičnosti octene i limunske kiseline testom klijavosti

Matea Kopic

### Sažetak

Fitotoksičnost se smatra čestom pojavom u poljoprivrednoj proizvodnji s kojom se mnogi poljoprivrednici suočavaju zbog nepravilne primjene sredstava za zaštitu bilja ili nepravilne gnojidbe. Uzrokuje smanjenu klijavost, inhibira rast i razvoj biljke te ima druge štetne efekte koji uzrokuju odstupanje od normalnog rasta i razvoja biljke. Može biti uzrokovana primjerice organskim kiselinama koje nastaju razgradnjom inkorporirane svježe organske tvari, a nalazimo ih u biljnim, životinjskim i mikrobiološkim izlučevinama, metabolitima i sl. Navedene kiseline smatraju se inhibitorima rasta usjeva.

Cilj provedenog istraživanja bio je utvrditi fitotoksičnost octene i limunske kiseline u sedam različitih koncentracija upotrebom testa klijavosti.

Osnovna hipoteza ovog istraživanja je da postoji razlika u fitotoksičnosti octene kiseline i limunske kiseline, te da postoji razlika između testnih vrsta, u ovom slučaju kres salate i krastavca.

Utjecaj kiseline na testne biljke utvrđen je testom klijavosti kres salate i krastavca, a isti je proveden po modificiranoj metodi klijavosti sjemena prema Zucconii sur. (1981.). U svaku Petrijevu zdjelicu s filter papirom na dnu, postavlja se 20 sjemenki krastavca i kres salate te se dodaje 5 mL određene otopine octene i limunske kiseline s pripremljenim rastućim koncentracijama (0,00 mM; 0,10 mM; 0,25 mM; 0,50 mM; 1,00 mM; 2,00 mM; 4,00 mM; 8,00 mM), a kao kontrolni tretman (0,00 mM) koristila se deionizirana voda. Nakon postavljanja sjemenki, Petrijeve zdjelice su u 4 ponavljanja postavljene u kontrolirane uvjete na 25°C tijekom 72 sata.

Test klijavosti obuhvatio je sljedeće tretmane:

1. dvije vrste testnih biljaka (kres salata i krastavac)
2. dvije organske kiseline (octena i limunska)
3. 8 različitih koncentracija kiselina.

U istraživanju analizirani su sljedeći pokazatelji: broj proklijalih sjemenki, relativna klijavost, broj izdanaka, relativni broj izdanaka, duljina korijena, relativna duljina korijena, duljina izdanka, relativna duljina izdanka i indeksklijavosti.

Prema rezultatima indeksa klijavosti indeks kres salate iznosi veći je od indeksa klijavosti krastavca.

U prosijeku i u oba slučaja, najmanju fitotoksičnost (u nekim slučajevim i fitostimulativnost) pokazala je otopina od 1mM, a najveću fitotoksičnost pokazala je otopina od 8mM.

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

**Mentor:** prof. dr. sc. Zdenko Lončarić

**Broj stranica:** 62

**Broj grafikona i slika:** 28

**Broj tablica:** 9

**Broj literaturnih navoda:** 37

**Broj priloga:** 0

**Jezik izvornika:** Hrvatski

**Ključne riječi:** test klijavosti, fitotoksičnost, indeks klijavosti, limunska kiselina, octena kiselina

**Datum obrane:** 2020.

**Stručno povjerenstvo za obranu:**

1. dr. sc. Monika Tkalec Kojić, predsjednik
2. prof. dr. sc. Zdenko Lončarić, mentor
3. doc. dr. sc. Vladimir Zebec, član

**Rad je pohranjen u:** Knjižnica Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1

# BASIC DOCUMENTATION CARD

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek**  
**Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek**  
**University Graduate Studies Plant nutrition and Soil science**

**Graduate thesis**

**Evaluation of phytotoxicity of acetic and citric acid using the seed germination bioassay**  
Matea Kopic

## **Abstract:**

Phytotoxicity is considered to be a common occurrence in agricultural production that many farmers face due to improper application of plant protection products or improper fertilization. It causes reduced germination, inhibits the growth and development of the plant and has other harmful effects that cause deviation from normal growth and development of the plant. It can be caused, for example, by organic acids formed by the decomposition of incorporated fresh organic matter, which are found in plant, animal and microbiological secretions, metabolites, etc. These acids are considered to be inhibitors of crop growth.

The aim of the study was to determine the phytotoxicity of acetic and citric acid at seven different concentrations using a germination test.

The basic hypothesis of this study is that there is a difference in the phytotoxicity of acetic acid and citric acid, and that there is a difference between the test species, in this case watercress and cucumber.

The effect of acid on the test plants was determined by the test of germination of watercress and cucumber, and the same was carried out according to the modified method of seed germination according to Zucconi and sur. (1981). In each Petri dish with filter paper at the bottom, place 20 cucumber seeds and watercress salad and add 5 mL of a certain solution of acetic and citric acid with prepared increasing concentrations (0.00 mM; 0.10 mM; 0.25 mM; 0.50 mM, 1.00 mM, 2.00 mM, 4.00 mM, 8.00 mM), and deionized water was used as a control treatment (0.00 mM). After seed placement, Petri dishes were placed in 4 replicates under controlled conditions at 25 ° C for 72 hours.

The germination test included the following treatments:

1. two types of test plants (watercress and cucumber)
2. two organic acids (acetic and citric)
3. 8 different concentrations of acids.

The following indicators were analyzed in the study: number of germinated seeds, relative germination, number of shoots, relative number of shoots, root length, relative root length, shoot length, relative shoot length and index germination.

According to the results of the germination index, the watercress index of lettuce is higher than the germination index of cucumber.

On average and in both cases, the lowest phytotoxicity (in some cases phytostimulativeness) was shown by the 1mM solution, and the highest phytotoxicity was shown by the 8mM solution.

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

**Mentor:** prof. dr. sc. Zdenko Lončarić

**Number of pages:** 62

**Number of figures:** 28

**Number of tables:** 9

**Number of references:** 37

**Number of appendices:** 0

**Original in:** Croatian

**Key words:** compost, germination test, phytotoxicity, germination index, cucumber, garden cress, maturity

**Thesis defended on date:** 2020

**Reviewers:**

1. dr. sc. Monika Tkalec Kojić, chairman

2. prof. dr. sc. Zdenko Lončarić, mentor

3. doc. dr. sc. Vladimir Zebec, member

**Thesis deposited at:** Library, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Vladimira Preloga 1