

# UTJECAJ SUMPOROVODIKA (H<sub>2</sub>S) NA VIGOR SJEMENA KRATAVCA (Cucumis sativus L.) U UVJETIMA SOLNOG STRESA

---

Fališevac, Bojan

Master's thesis / Diplomski rad

2014

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:151:583582>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-25**



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](#)



# 1. UVOD

## 1.1. Krastavac (*Cucumis sativus* L.)

### 1.1.1. Podrijetlo i povijesni razvoj krastavca

Krastavac je prastara kulturna biljka koja se koristi kao povrće od pretpovijesnog vremena. Prema de Candollu razvio se od *Cucumis hardvickii* sitnih gorkih plodova s ogranaka Himalaje utjecajem čovjeka (*Tablica 1, Slika 1*) (Lešić i sur. 2004.). Drugi autori smatraju da vrsta *C. sativus* potječe iz tropske Afrike. O dugogodišnjem uzgoju svjedoče nalazi egipatskih grobnica (2000 godina prije Krista). Iz Egipta se uzgoj proširio na Grčku i rimske zemlje, a u srednjem vijeku u srednju Europu i dalje po cijelom svijetu. Uzgoj u staklenicima počeo je u Engleskoj u 19. stoljeću (Lešić i sur., 2004).

**Tablica 1.** Sistematika krastavca (*Cucumis sativus* L.) (<http://bs.wikipedia.org>)

Carstvo:	Plantae
Podcarstvo:	Magnoliophyta
Razred:	Rosopsida
Red:	Cucurbitales
Porodica:	Cucurbitaceae
Rod:	<i>Cucumis</i>
Vrsta:	<i>C. sativus</i>



**Slika 1.** Krastavac (*Cucumis sativus* L.) Pariški kornišon

Izvor: <http://poljainfo.com>

### 1.1.2. Morfološka i biološka svojstva krastavca

Krastavac je jednogodišnja biljka. Korijen krastavca pretežno je površinski, raste više u širinu u gornjih 20 do 30 cm tla, manji dio dopijeva dublje od 50 cm. Raste sporije od nadzemnog dijela s odnosom 1:10 do 1:20, a u zaštićenim prostorima ovaj omjer može biti čak 1:100. Vrlo je osjetljiv na povrede pa se u pravilu presađuje s grudom supstrata odnosno kao presadnice uzgojene u lončićima.

Stabljika je vriježa koja može narasti i više od 10 metara. Iz pazuha listova razvijaju se sekundarne vriježe, na ovim tercijarne, a ovisno o načinu uzgoja i vriježe viših redova. Stabljika se širi horizontalno po tlu, a ako ima potporu penje se pomoću vitica na svakom koljencu.

List je jednostavan, krupan, peterokrpasti, dlakav, a na naličju lista lista jako je izraženo 5 glavnih žila. Prema vrhu glavne i postranih vriježa veličina lišća se ponešto smanjuje.

Cvijet je jednospolan, a biljke su većinom jednodomne. Čaška se sastoji od 5 lapova. Vjenčić je sulatičan i sastoji se od 5 latica. U muškom cvijetu ima 5 prašnika. Rijetko su slobodni, češće srasli po 2 ili 4, a jedan je slobodan. Ginecej se sastoji od 3 plodnička lista, plodnica je podrasla i trodijelna, te u sebi ima mnogobrojne parietalno marginalno smještene sjemene zametke. Ženski cvjetovi su pojedinačni, rjeđe po dva ili više na kratkim stapkama, a muški su u grozdastom cvatu, s više cvjetova.



**Slika 2.** Sjeme krastavca (Pariški kornišon)  
(foto: M. Špoljarević)

Plod krastavca je peponis, koji se razvio iz plodnice i usplođa, valjkastog je oblika, različite veličine, tamnozeleno do svijetlozelene boje, rjeđe s uzdužnim svjetlijim prugama. Na površini

ima pupoljke s crnom ili bijelom bodljicom. U fiziološkoj zrelosti boja ploda se mijenja u žutu, smeđu ili bijelu. U normalno razvijenom plodu ima 100 do 400 sjemenki (*Slika 2*), vretenasto spljoštenog oblika, krem bijele boje, apsolutne težine 25 do 38 g. U dobrim uvjetima klijavost mogu zadržati 6 do 7 godina. Kod krastavca je česta partenokarpija – zametanje i razvoj plodova bez sjemena (Lešić i sur., 2004).

### **1.1.3. Rast i razvoj krastavca**

Sjeme krastavca brzo klija ako su uvjeti optimalni – pri temperaturi 25 do 35°C uz dovoljno vlage, nicanje može nastupiti za 2 do 3 dana. Ako su temperature bliske minimalnim (12 do 13°C) nicanje se produžuje na 15 do 20 dana, a mogu nastati i veliki gubitci u sklopu. Normalna poljska klijavost ne može se očekivati pri temperaturama nižim od 17°C.

Za vegetativni rast krastavca potrebne su temperature više od 15°C, najbrži je rast pri 25 do 27°C, a na 40°C rast se zaustavlja. Pri uzgoju u zaštićenim prostorima optimalna je temperatura za sunčana vremena 26 do 30°C. Temperature ispod 10°C pogubne su za krastavac. Prvi se znakovi oštećenja javljaju već nakon 2 do 3 dana. Prvo odumiru stariji, a potom mlađi listovi i vegetacijski vrh.

U početku rasta korijen brže raste od stabljike, pa je tako u vrijeme pojave prvog lista tri puta duži od stabljike. Kasnije se taj omjer smanjuje, a u vrijeme početka cvatnje dužina stabljike nadmašuje dužinu korijena.

Cvatnja krastavca može započeti pri temperaturi oko 15°C, ali peludne kesice pucaju tek pri 17°C, a oprašivanje je najbolje pri 18 do 21°C. Cvjetovi se u pravilu otvaraju rano ujutro te ovisno o temperaturi mogu ostati otvoreni od 5 do 8 sati, a pri nižim temperaturama i do 2 dana. Oprašuju ih kukci, najviše pčele, kvalitetna oplodnja podrazumijeva nekoliko posjeta pčele.

Plodovima je ovisno o tipu kultivara i oplodnji do tehnološke zriobe potrebno 6 do 11 dana za konzervne kultivare, odnosno 12 do 21 dan za salatne kultivare. Do fiziološke zriobe potrebno je oko 60 dana.

Brzina rasta pojedinih plodova ovisi o broju plodova na biljci, što ih je više, to sporije rastu. Ako se ubere jedan ili više njih, ubrzava se rast preostalih. Plodovi bliži vegetacijskom vrhu brže rastu. Veliki, neubrani i oplodeni plodovi uzrokuju usporen rast preostalih plodova. Neoplodeni partenokarpni plodovi ne uvjetuju tu pojavu. Kod uzgoja na otvorenom u povoljnim uvjetima plodonošenje može trajati i do 90 dana, a u zaštićenom prostoru i dulje.

Krastavac ima velike potrebe prema vodi, tlu i zraku. Optimalni uvjeti za proizvodnju krastavca kreću se od 70 do 100% poljskog vodnog kapaciteta u tlu i 70 do 90% relativne vlage zraka. Danas je bilo koja profesionalna proizvodnja nezamisliva bez navodnjavanja.

Krastavac nema velike zahtjeve prema svjetlu kao paprika i rajčica, ali pri većem intenzitetu postiže brži rast i razvoj cvjetova i plodova. (Lešić i sur., 2004.).

#### 1.1.4. Hranidbena i zdravstvena vrijednost krastavca

Krastavci se najčešće koriste svježi kao salata, a rjeđe kuhani kao varivo ili umak. Poznate su juhe od krastavca ili punjeni krastavci s mesom ili sirom. Neki ljudi slabo podnose krastavce odnosno njihov sastojak kukurbitacin koji uvjetuje teškoće u probavi ili čak grčeve. Općenito za pripremu salata od krastavaca nutricionisti preporučuju da se krastavci ne gule nego tanko narežu i ne sole, a začine se sa sasvim malo limunske kiseline ili vrhnjem te jogurtom. Pored ugodnog mirisa i okusa krastavci su niskokalorična namirnica, što je naročita prednost za dijetalnu prehranu. U 100 g svježeg krastavca ima samo 8 do 10 kcal odnosno 3 do 42 kJ. To se vidi iz sastava osnovnih hranjivih tvari, u gramima na 100 g svježeg ploda (*Tablica 2*). Od minerala je najviše zastupljen kalij 67 do 200, fosfor 17-30, kalcij 10-25, natrij 5-13, željezo 0,3-1,1 mg/100 g svježe tvari.

**Tablica 2.** Udio osnovnih hranjivih tvari, u gramima na 100 g svježeg ploda krastavca (Lešić i sur. 2004.)

Voda	94,3-98,2
Sirove bjelančevine	0,3-1,96
Sirove masti	0,05-0,3
Ugljikohidrati	1,0-2,5
Šećeri	1,1-2
Vlakna	0,3-1,24
Minerali	0,04-0,89

Krastavci se najčešće konzerviraju mariniranjem cijeli ili rezani te u miješanim salatama. Najviše se koriste sitnoplodni kultivari “kornišoni“. U domaćinstvu je uobičajeno konzerviranje mliječno kiselom fermentacijom najviše za uporabu u sezoni, ali se koristi i spremanje za zimu. Tim se biološkim konzerviranjem postiže specifična kakvoća te se kao takva koristi u industrijskoj preradi.

Zdravstvena vrijednost krastavca poznata je od davnina naročito zbog bogatstva vitaminima i mineralima (*Tablice 2 i 3*). Zbog diuretičkog djelovanja preporučuje se srčanim i bubrežnim

bolesnicima. Sok od krastavca smanjuje količinu šećera u krvi. Koristi se protiv oticanja ruku i nogu, probavnih smetnji i pretilosti. Krastavci su još poznati kao najstarije kozmetičko sredstvo zbog blagotvornog djelovanja na kožu. Koriste se oblozi od soka ili cijelih ploški ploda koji pomažu pri opeklinama i ozeblinama, perutanju kože, lišajevima, ekcemima i pjegama.

**Tablica 3.** Udio vitamina u krastavcu (mg/100g) (Lešić i sur. 2004.)

$\beta$ -karoten	0,12-0,29
Vitamin B <sub>1</sub>	0,005-0,15
Vitamin B <sub>2</sub>	0,015-0,15
Vitamin B <sub>3</sub>	0,12-1,7
Vitamin B <sub>5</sub>	0,18-0,3
Vitamin C	2-14

### 1.1.5. Tehnologija uzgoja krastavca

Kao glavni usjev sije se krajem travnja, a kao postrni tijekom lipnja. Kornišoni se siju gušće od ostalih kultivara, a količina sjemena ovisi o gustoći sjetve i iznosi 2 - 4 kg/ha. Najbolji način proizvodnje je proizvodnja na crnoj polietilenskoj foliji. Tlo ispod folije znatno se brže zagrije, što omogućuje brže nicanje i bolji razvoj biljaka. Folija sprječava rast korova, a oblikovani su plodovi čisti jer se većina nalazi na foliji. Biljke nisu u izravnom dodiru s tlom pa su manje izložene infekciji bolestima koje se nalaze u tlu. Za sjetvu na većim površinama koriste se pneumatske jednorodne ili višeredne sijačice, koje u jednom prohodu buše rupe i siju po 3-4 sjemenke na podešeni razmak od 30 cm i na dubinu 2 cm. Najsigurniji način proizvodnje, kojim se ostvaruju najveći prinosi, je uzgoj na armaturi (*Slika 3*). Zbog bolje prozračnosti biljaka na armaturi, manji su problemi s bolestima, plodovi su čisti a berba lakša. Za armaturu se koriste stupovi visoki 2 m, povezani žicom na koju se učvrsti vezivo ili se između stupaca razapne plastična mreža po kojoj se uspinje biljka, a ukopaju se tako da im je vrh 150 - 180 cm iznad tla. Na donjem dijelu stabljike potrebno je redovito zakidati zaperke, u suprotnom lisna masa i vriježe prerastu što dovodi do smanjenja prinosa. Uz redove biljke treba postaviti cijevi za navodnjavanje te redovito 2-5 puta tjedno navodnjavati. To prvenstveno zavisi o vrsti kultivara i vremenu sadnje. Najveće zahtjeve za vodom krastavac ima tijekom plodonošenja, a nedostatak vode u tlu može utjecat na propadanje ženskih cvjetova a time i smanjivanje prinosa (Parađiković, 2009.).



**Slika 3.** Uzgoj kornišona na armaturi (Paradiković 2009.)

Gnojidba organskim gnojivima (25 do 30 t/ha) osigurava stabilnu strukturu tla i kapacitet za zrak i vodu prikladan za uzgoj krastavca. Iskoristivu količinu hraniva iz organskog gnoja treba uzeti u obzir kod primjene mineralnih gnojiva. (Lešić i sur., 2004.)

Paradiković i sur. (2009.) navode kako je moguće primijeniti 3 vrste gnojidbe.

- Prije sadnje u obliku granulata (*Tablica 4*)
- Poslije sadnje preko navodnjavanja kap po kap, kristalonska vodotopiva gnojiva (*Tablica 5*)
- Folijarna gnojidba za potrebe brzog nadomještanja pojedinih hraniva

Krastavci su osjetljivi na visoku koncentraciju tekuće faze u tlu, a naročito na klor. Kalij se pri gnojidbi krastavaca primjenjuje u sulfatnom obliku. Količina potrebnih hraniva ovisi o načinu uzgoja i očekivanom prinosu (Lešić i sur., 2004.).

**Tablica 4.** Gnojidba krastavca prije sadnje (Paradiković, 2009.)

Potrebne količine hranjiva kg/ha			
N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	CaO
150	160	300	65

**Tablica 5.** Prihrana krastavca sustavom kap po kap (Parađiković, 2009.)

Mjesec poslije sjetve	Period uzgoja	Zahtjev za pojedinim hranivom (kg/ha/mjesec)		
		N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O
1	Loza, listovi, cvjetovi	30	30	20
2	Puna cvatnja i plodonošenje	60	30	90
3 do kraja	Puni rod i berba	60	30	90
Ukupno		150	90	200

Krastavci za industrijsku preradu beru se svaki dan. Krastavci koji se uzgajaju za preradu te neki od njih prerastu mogu se podijeliti u klase prema veličini. Tržišnu vrijednost imaju plodovi do dužine 12 cm. Prvu klasu čine plodovi dužine 3-6 cm, promjer 2 cm i prosječne težine 10-12 g, drugu klasu plodovi dužine 6-9 cm, promjera oko 3 cm i prosječne težine 40 g, a treću klasu plodovi dužine 9-12 cm, promjera oko 4 cm i prosječne težine 80-100 g. Berba se obavlja ručno, a samo je na većim površinama mehanizirana ili polumehanizirana. Sortiranje plodova može biti ručno ili se koriste kalibratori. Prinosi ploda krastavca za industrijsku preradu mogu biti 30 - 40 t/ha, a ove razlike su direktno vezane uz način uzgoja, vrijeme uzgoja i financijska ulaganja u proizvodnju (Parađiković, 2009.).

## 1.2. Sumpor

Sumpor je vrlo rasprostranjen element. U tlu se nalazi u organskom i anorganskom obliku. Sumpor u tlu, prema Vukadinović i Lončarić (1997.), potječe iz matičnih stijena, industrijskih pogona i agrotehničkih zahvata. Sumpor se oslobađa raspadanjem sulfida iz matičnih stijena. Pri aerobnim uvjetima podložan je oksidaciji koju vrše bakterije (*Thiobacillus*, *Thiooxidans*, *Beggiatoa*, *Thiothrix*). Sumpor industrijskog podrijetla se akumulira u tlu iz atmosfere u kojoj se nalazi kao SO<sub>2</sub> ili H<sub>2</sub>S. Agrotehnički zahvati pri kojima se u agroekosustav unosi sumpor podrazumijevaju gnojidbu superfosfatima i sredstvima za zaštitu bilja koja ga sadrže.

### 1.2.2. Sumpor u biljci

Sumpor u biljci čini 0,05 do 1% mase suhe tvari, a biljke ga primaju u obliku aniona (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>). Prije ugradnje u organske spojeve moraju ga reducirati. Pokazatelji nedostatka sumpora slični su onima pri nedostatku dušika, uključujući klorozu, kržljiv rast i akumulaciju antocijana. Kloroza se najprije javlja kod mlađih listova zbog toga što se sumpor kod većine biljnih vrsta



ne prenosi lako. Kod nekih biljnih vrsta nekroza se može pojaviti istovremeno na svim listovima. (Pevalek-Kozlina i sur., 2002.)

### **1.2.3. Asimilacija sumpora ( $\text{SO}_4^{2-}$ )**

Sumpor u biljkama najvećim djelom potječe iz sulfata koji se prima preko korijena, a nastaje ispiranjem stijena, atmosferskim onečišćenjem i korištenjem fosilnih goriva. Biljke mogu metabolizirati  $\text{SO}_2$  koji primaju kroz puči, ali i dugotrajno izlaganje (više od 8 h) visokoj koncentraciji u atmosferi ( $>0,3$  ppm) uzrokuje oštećenja. Otapanjem  $\text{SO}_2$  u vodi nastaje sulfatna kiselina ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ )- glavni uzrok kiselih kiša. Glavni organski spojevi koji sadrže sumpor u biljkama su aminokiseline cistein, cistin i metionin, koenzim A, feredoksin te neki drugi spojevi, a također sudjeluje u prijenosu elektrona. Primanje sulfata u korijen je aktivan proces u kojem sudjeluju specifični proteinski nosači. Kad uđe u stanicu, sulfat se ili ugrađuje u organske spojeve ili se kao slobodni sulfat prenosi u vakuolu kroz anionske kanale u tonoplastu. Kod nekih biljnih vrsta višak sumpora nakuplja se u vakuolama. Sumpor se u organske spojeve ugrađuje u reduciranom obliku u procesu asimilacijske redukcije sulfata. Biljke ga primaju gotovo isključivo kao sulfatni ion, i reduciraju do sulfida. Budući da je sulfat stabilan, prvo se mora aktivirati. Redukcija sulfata odvija se u dva stupnja, a enzimi koji kataliziraju ove reakcije smješteni su u kloroplastima stanica lista i proplastidima stanica kore korijena. (Pevalek-Kozlina i sur., 2002.).

### **1.2.2. Sumporovodik ( $\text{H}_2\text{S}$ )**

Molekula sumporovodika ( $\text{H}_2\text{S}$ ) je oblikom slična molekuli vode, ali je polarnost molekule manja, jer je sumpor manje elektronegativan od kisika. Zato između molekula sumporovodika nema vodikovih veza. Često se pojavljuje kod bakterijske razgradnje sumporovih spojeva bez nazočnosti kisika, na mjestima kao što su anoksični dijelovi sedimenta (more, jezera, močvare, itd.), kanalizacija i drugdje. Pojavljuje se i u sastavu vulkanskih plinova, prirodnog plina, kao i u nekim izvorima vode. Miris sumporovodika često se greškom zamjenjuje za miris elementarnog sumpora, koji nastaje od tragova sumporovog (IV) oksida uslijed površinske oksidacije na zraku. Također, zamjenjuje se i za miris inače bezmirisnog metana. Pri sobnoj temperaturi to je otrovan i zapaljiv plin bez boje, neugodna mirisa po pokvarenim jajima. Na sreću, zbog vrlo neugodna mirisa, koji se osjeća u koncentracijama mnogo manjim od otrovnih, može ga se na vrijeme otkriti. Mirisom se može otkriti sumporovodik kojeg je volumni udio u zraku manji od 0,02 ppm. Sumporovodik anestetički djeluje na živac osjetila njuha, što može uzrokovati gubitak osjeta za miris. Letalna doza sumporovodika je 100 ppm.  $\text{H}_2\text{S}$  ima

molekularnu masu 34,08, teži je od zraka s koeficijentom gustoće od 1,19. Njegova točka vrenja je  $-60,3^{\circ}\text{C}$ , topi se na  $-82,3^{\circ}\text{C}$ , a smrzava na  $-86^{\circ}\text{C}$ . Vrijeme poluraspada molekule  $\text{H}_2\text{S}$  u zraku je 12-37 sati, iako to ovisi o ambijentu. Tijekom zime pri niskim temperaturama poluraspad može biti produžen na više od 37 sati. Temperatura isto tako utječe i na topivost  $\text{H}_2\text{S}$ . Na sobnoj temperaturi ( $20^{\circ}\text{C}$ ), 1 g  $\text{H}_2\text{S}$  će se otopiti u 242 ml vode, a povišenje temperature povećava topivost u vodi (Wang, 2011.).

$\text{H}_2\text{S}$  je jako lipofilna molekula i uz CO i NO se smatra trećim „*gasotransmitterom*“ – plinovitim prijenosnikom staničnog signala. Na sobnoj temperaturi, 1g  $\text{H}_2\text{S}$  topi se u 94,3 ml apsolutnog etanola ili 48,5 ml dimetil etera. Kao takva molekula  $\text{H}_2\text{S}$  s lakoćom prolazi kroz lipidne dvoslojne stanične membrane. NO i CO imaju veću lipofilnost od  $\text{H}_2\text{S}$  što ih čini još mobilnijima kroz stanične membrane (Wang, 2011.). U vodenoj otopini  $\text{H}_2\text{S}$  je slaba kiselina i može disocirati na  $\text{H}^+$  i hidrosulfidni anion ( $\text{HS}^-$ ) koji potom može disocirati na  $\text{H}^+$  i sulfidni anion ( $\text{S}^{2-}$ ) u reakciji:



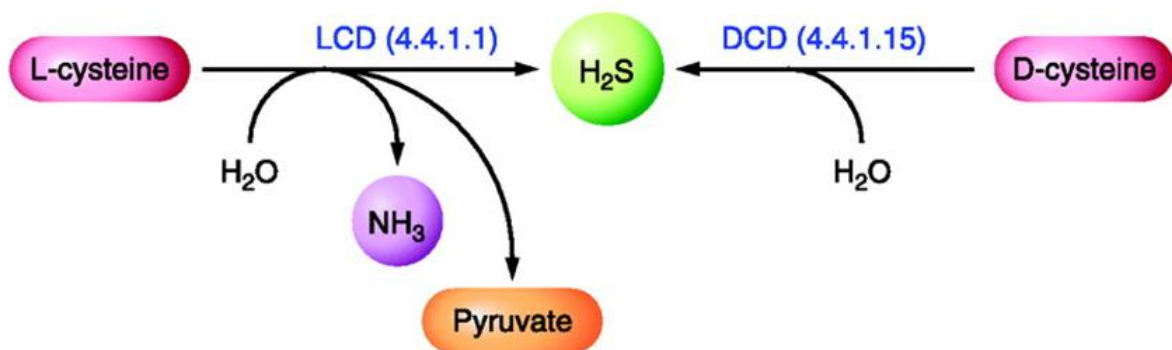
### 1.3. Cilj istraživanja

1. Utvrditi utjecaj osmoprimiranja sjemena donorima H<sub>2</sub>S na energiju klijanja, ukupnu klijavost te mase hipokotila, korijena i kotiledona kod klijanaca krastavca sorte Pariški kornišon, naklijavanih u prisustvu soli.
2. Analizom fizioloških pokazatelja rasta, utvrditi jesu li klijanci krastavca dobiveni iz sjemena različitih proizvodnih godina te naklijavanog u otopini niske koncentracije NaCl bili pod stresom.
3. Utvrditi da li postoji razlika u klijavosti i razvoju klijanaca krastavca s obzirom na primijenjeni donor sumporovodika.
4. Utvrditi da li postoje razlike u klijavosti i razvoju klijanaca s obzirom na starost sjemena krastavca.

Osnovna hipoteza istraživanja je bila da H<sub>2</sub>S značajno utječe na klijavost i energiju klijanja sjemena krastavca naklijavanog na povišenoj razini soli, te da postoje značajne razlike između primijenjenih donora H<sub>2</sub>S; NaHS i GYY4137. Analize pokazatelja rasta (energija klijanja, standardna klijavost, mase hipokotila, korjenčića i kotiledona) također bi trebale dati odgovor na pitanje da li tretmani donorima H<sub>2</sub>S mogu povećati vigor starog sjemena.

## 2. PREGLED LITERATURE

Brojnim istraživanjima je dokazano da biljke asimiliraju ali i proizvode  $H_2S$  te ga koriste u metabolizmu. Rennenberg (1983.) zapaža da koncentracije  $H_2S$  variraju od 1 do 15  $\mu M$  u listovima uročnjaka (*Arabidopsis thaliana* L.). Također su izvijestili kako mlađe lišće i mlađe biljke imaju puno veće koncentracije  $H_2S$  od starijih biljaka i listova. Biosinteza  $H_2S$  kod biljaka većinom potječe od metabolizma cisteina. Najnovija istraživanja pokazuju kako su sintetski i degradacijski enzimi cisteina usko povezani s produkcijom  $H_2S$  u biljkama. Sinteza  $H_2S$  u najvećoj mjeri je posljedica metabolizma L-cisteina gdje uz pomoć enzima L-cistein desulfhidraze (L-CD) nastaje  $H_2S$ , amonijak i piruvat. Wang (2012.) navodi kako je aktivacija L-CD enzima ključan faktor otpuštanja  $H_2S$  tijekom reakcije biljke na napad patogena. Uz L-CD koji razlaže L- cistein, postoji i D- cistein desulfhidraza koja razlaže samo i specifično D- cistein (Slika 4). Osim ova dva načina  $H_2S$  biosinteze, moguća je redukcija iz  $SO_3^{2-}$  uz enzim sulfid reduktazu.



**Slika 4.** Biosinteza  $H_2S$  u biljkama

Izvor: Physiological implications of hydrogen sulfide: A whiff exploration that blossomed (Wang, 2011.)

Također je dokazano da  $H_2S$  ima višestruku ulogu u biljnom organizmu. Ta uloga dolazi do izražaja samo pri niskim koncentracijama  $H_2S$ .  $H_2S$  utječe na fiziološke funkcije, posredovanju u zatvaranju puči i odgovoru na abiotski stres (teški metali, solni, sušni i toplinski stres). Osim navedenoga,  $H_2S$  je uključen u organogenezu i rast, regulaciju starenja, poboljšanje klijanja sjemena i povećanje fotosinteze. Dokazano je da mnoge biljne vrste mogu proizvesti  $H_2S$ , koji je endogena molekula i djeluje kao signalna molekula (Wang, 2011.). Wilson i sur. (1978.) u dokazali da krastavac (*Cucumis sativus* L.), bundeva (*Cucurbita pepo* L.), soja (*Glycine max* (L.) Merr.) i pamuk (*Gossypium hirsutum* L.) mogu proizvesti  $H_2S$ . Količina  $H_2S$  u listovima

se postupno povećava dok lišće prima sumpor kroz peteljke listova ili ako je korijen mehanički oštećen. Koristeći krastavac (*Cucumis sativus* L.) kao model, Sekiya i sur. (1982.) su utvrdili da mlađe lišće emitira puno više H<sub>2</sub>S od starijeg lišća. Otpuštanje H<sub>2</sub>S iz biljaka je potvrdio i Rennenberg (1983.). Otkriveno je da listovi bundeve (*Cucurbita pepo* L.) tretirani sulfatom, sulfitom, cisteinom ili sa SO<sup>2</sup>, emitiraju H<sub>2</sub>S, ali su uključeni drugačiji metabolitički putevi s obzirom na različite oblike dodanih sumpornih spojeva.

Donori H<sub>2</sub>S podrazumijevaju kemijske spojeve koji se apliciraju na bilo koji biljni materijal, u vidu otpuštanja H<sub>2</sub>S. U brojnim istraživanjima korišteni su razni sumporni spojevi kao što su S<sup>2-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, SO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, HSO<sub>4</sub><sup>-</sup> i NaHS koji je jedini pokazao efektivne rezultate otpuštanja H<sub>2</sub>S.

Biljke gube vodu uglavnom kroz puči lista. Mehanizmi njihova otvaranja i zatvaranja kontroliraju se komponentama staničnog signalinga poput Ca<sup>2+</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, NO, ABA, i H<sub>2</sub>S čije je djelovanje u međusobnoj sprezi. Lisjak i sur. (2010.; 2012.) u svojim istraživanjima uz NaHS koriste i GYY4137 (morfolin-4-ium 4 metoksifenil (morfolino) fosfinoditioat). Naime, postoji razlika između otpuštanja plina H<sub>2</sub>S kod ovih dviju molekula. NaHS je vrlo reaktivna molekula i otpuštanje H<sub>2</sub>S je vrlo brzo, dok GYY4137 otpušta puno manje količine H<sub>2</sub>S kroz duže vremensko razdoblje. U konačnici ova svojstva donora H<sub>2</sub>S omogućavaju pojedinačne razlike u rezultatima istraživanja. Navedena grupa autora istražuje efekte donora H<sub>2</sub>S na regulaciju otvora puči kod *A. thaliana* (L.) i *C. annuum* (L.) te dolaze do zaključka da puči kod listova tretiranih s NaHS i GYY4137 imaju veći otvor u uvjetima dnevnog osvjetljenja ali i da navedeni tretmani sprječavaju zatvaranje puči u uvjetima tame. Najveći promjer puči je utvrđen pri tretmanu lišća s 10 mM GYY4137. Također su koristeći tehniku laserske skenirajuće konfokalne mikroskopije (CLSM) uz korištenje specifične fluorescentne probe, dokazali da H<sub>2</sub>S smanjuje akumulaciju NO u stanicama zapornicama, koji utječe na zatvaranje puči. Slično tome NaHS i GYY4137 smanjuju akumulaciju NO induciranu ABA tretmanom na tkivo lista kod *A. thaliana* (Liu i sur. 2011.).

Također je dokazano da H<sub>2</sub>S sudjeluje u adaptaciji na abiotski stres. Teški metali su jedan od češćih uzročnika abiotskog stresa. Zajedničke posljedice toksičnosti teških metala su pretjerano nakupljanje reaktivnih kisikovih spojeva (ROS) koji rezultiraju oksidativnim stresom, što može dovesti do peroksidacije lipida, oksidacije proteina, inaktivacije enzima, oštećenja DNA (Yadav i sur., 2009.). Poznato je da teški metali, od kojih je jedan i aluminij (Al), blokiraju rast biljke. Vođeni tom činjenicom Chen i sur. (2013) tretiraju mlade biljke ječma (*Hordeum vulgare* L.) s NaHS. Ovaj tretman je inhibirao toksični učinak aluminijske soli na rast i izduživanje

korijena. Pri tretmanu s NaHS uočena je smanjena akumulacija Al u mladim biljkama. Zhang i sur. (2010.a) zapažaju kako tretiranje s egzogenim NaHS može ublažiti pad standardne klijavosti kod sjemena pšenice (*Triticum sp. L.*) u uvjetima izloženosti toksičnom djelovanju kroma. Također je utvrđeno kako NaHS ublažava inhibicijski efekt bakra kod pšenice ovisno o dozi. Istraživanja potvrđuju da H<sub>2</sub>S ili HS<sup>-</sup> češće nego drugi sumporni spojevi nastali iz NaHS mogu unaprijediti klijanje pod stresnim uvjetima (povišena koncentracija Cu). Wang i sur. (2010.) ističu kako tretman s NaHS (donor H<sub>2</sub>S) ublažava efekt toksičnosti bora koji kod presadnica krastavaca uzrokuje značajno skraćenje korijena.

Solni stres se manifestira kao multipli štetni učinak na biljke preko osmotskog stresa, toksičnosti iona te narušenom ravnotežom hraniva, što na kraju rezultira oksidativnim stresom. Solni stres je najučestaliji tip abiotskog stresa u svjetskoj biljnoj proizvodnji. Vršena su mnogobrojna istraživanja zasnovana na toleranciji povišenih razina soli kod biljaka i olakšavanju rasta biljaka u uvjetima solnog stresa. Predtretman s NaHS i donorima NO može značajno ublažiti usporeno klijanje sjemena i jednako tako rast mladih biljaka lucerne (*Medicago sativa L.*) pri solnom stresu od 100 mM NaCl, te povećati omjer kalija i natrija u korijenu (Wang i sur., 2011.). Bao i sur. (2011.) istražuju utjecaj egzogenog H<sub>2</sub>S na kultivaru pšenice LM15 osjetljivog na solni stres. Rezultati pokazuju kako tretmani sjemena s 0,01, 0,05, 0,09 i 1,3 mM NaHS kroz 12 sati značajno ublažavaju inhibiciju klijanja sjemena, odnosno povećavaju indeks klijanja i rast mladih biljaka u uvjetima solnog stresa od 100 mM NaCl, ovisno o koncentraciji NaHS.

H<sub>2</sub>S se pokazao djelotvornim i kod otpornosti biljaka na stres uzrokovan sušom. Shan i sur. (2011.) dolaze do zaključka da je predtretman s H<sub>2</sub>S smanjio sadržaj malondialdehida (MDA) i otpuštanje elektrolita, uzrokovanim nedostatkom vode kod biljaka pšenice (*Triticum aestivum L.*) u usporedbi s kontrolom. Jin i sur. (2011.) dokazuju da je sinteza H<sub>2</sub>S u biljkama povezana sa stresom uzrokovanim sušom te navode da se u takvim uvjetima povećala produkcija endogenog H<sub>2</sub>S, koja se nakon dodatka vode smanjuje. Zhang i sur. (2010.b) su otkrili da se klijanje sjemena pšenice uvelike smanjuje povećanjem osmotskog potencijala vanjske otopine te da u takvim uvjetima tretman s NaHS stimulatивно djeluje na klijanje sjemena ovisno o dozi. Rezultati također govore kako Na<sup>+</sup> i različiti spojevi koji sadrže sumpor (S<sup>2-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, SO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, HSO<sub>3</sub><sup>-</sup>) nisu u mogućnosti poboljšati klijanje kao H<sub>2</sub>S ili HS<sup>-</sup> oslobođen iz NaHS, koji pokazuju zaštitnu ulogu kod osmotskog stresa. Nedostatak vode je često povezan sa stresom uzrokovanim visokom temperaturom. Christou i sur. (2011.) su pri hidroponskom uzgoju jagode (*Fragaria x ananassa var. Camarosa*) tretirali korijen biljaka s 10 mM NaHS kroz 48 sati te ispitivali

toleranciju na naknadno izlaganje toplinskom stresu od 42°C tijekom 8 sati. Predtretman korijena s NaHS je rezultirao znatno povišenom tvorbom klorofila u listu, većoj provodljivosti puči i većim relativnim sadržajem vode u listu, kao i smanjenom gubitku iona te nižom razinom lipidne peroksidacije, u odnosu na jagode koje su izložene toplinskom stresu bez predtretmana navedenim donorom.

Jedan od glavnih ciljeva poljoprivredne biljne proizvodnje je postizanje što brže i ujednačenije klijavosti i nicanja mladih biljaka nakon sjetve. Da bi se unaprijedila i poboljšala određena fiziološka svojstva sjemena, koriste se različite metode pa tako i osmoprimiranje, koje se pokazalo kao funkcionalna metoda predsetvenog tretmana sa svrhom povećanja vigora sjemena. Ovakve metode se koriste najčešće kod sjemena gdje postoji isplativost samog tretmana i kod sjemena koje skladištenjem značajno gubi na energiji klijanja (Li, 2012.). Kako je već prije navedeno, tretman sjemena s H<sub>2</sub>S može povećati standardnu klijavost pšenice naklijavane u prisustvu povećanih koncentracija teških metala poput Cr, Al<sup>3+</sup> i Cu<sup>2+</sup>. Prethodno navedeni pozitivni rezultati primjene H<sub>2</sub>S su usko povezani s pojačanom akumulacijom amilaze te antioksidativnih enzima superoksid-dismutaze (SOD), katalaze (CAT), askorbat-peroksidaze (APX) i gvajakol-peroksidaze (GPOD) (Wang i sur., 2010.; Chen i sur., 2013.). Li i sur. (2012.) su također utvrdili kako imbibicija sjemena u otopini H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uvelike povećava standardnu klijavost kod *Jatropha curcas* (L.), stimulirajući aktivnost L-cistein desulfhidraze (L-CD) što dovodi do pojačane akumulacije H<sub>2</sub>S. Predtretman sjemena inhibitorom enzimske biosinteze H<sub>2</sub>S putem L-CD, aminooksiacetilnom kiselinom (AOA), eliminiran je i pozitivan učinak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na povećanje standardne klijavosti sjemena. Također je utvrđeno da egzogeno primijenjeni H<sub>2</sub>S rezultira povećanjem standardne klijavosti kod navedene vrste. Ova istraživanja navode kako se sumporovodiku može pripisati priming efekt koji poboljšava klijanje i vigor sjemena u normalnim uvjetima i u uvjetima stresa.

Osmoprimiranje je najčešća metoda primiranja (kondicioniranja) sjemena a polietilen glikol (PEG) najčešće korišteno osmotsko sredstvo. Prema podacima iz literature, na temelju brojnih istraživanja s različitim biljnim vrstama, postiže se prosječno 11%-tno povećanje klijavosti i do 36% kraće prosječno vrijeme do početka klijanja. Učinak primiranja se uglavnom tumači djelovanjem osmotskog potencijala otopine (u rasponu -0,5 do -2,0 MPa), temperature (većinom 15-20°C) i trajanja tretmana (8 h do 14 dana), pri čemu se aktiviraju biokemijski procesi popravka oštećenih nukleinskih kiselina, priprema za diobu stanica i povećanje antioksidativne aktivnosti u tretiranom sjemenu. Glavni nedostatak ovakvog kondicioniranja

sjemena je skraćenje vremena skladištenja jer je sjeme nakon tretmana potrebno osušiti do početnog sadržaja vlage (Nawaz i sur., 2013.).

Polietilen glikol (PEG) je gotovo nezaobilazan spoj u istraživanjima baziranim na osmoprimiranju sjemena. Pozitivni efekti osmoprimiranja sjemena s PEG-om su brojni te su utvrđeni na sjemenu brojnih biljnih vrsta. Sadegh i sur. (2010.) su istraživali efekte osmoprimiranja sjemenu soje (*Glycine max* [L.] Merr.) s otopinama PEG različitih osmotskih potencijala i pri različitoj duljini osmoprimiranja uz konstantnu temperaturu od 25°C. Općenito, tretirano sjeme je pokazalo bolji vigor u odnosu na kontrolno neprimirano ili samo hidroprimirano sjeme u destiliranoj vodi. Rezultati istog istraživanja pokazuju kako različiti osmotski potencijal i različita duljina osmoprimiranja imaju značajan utjecaj na postotak klijavosti, prosječno vrijeme klijanja, indeks klijavosti, vrijeme potrebno za klijanje 50% sjemenki i električnu provodljivost sjemena. Prema dobivenim rezultatima ističu kako osmotski tlak otopine PEG od -1,2 MPa poboljšava pokazatelje vigora sjemena u odnosu na ostale osmotske vrijednosti ispitivanih otopina (-0.4, -0.8, -1.6, -2 MPa). Također je utvrđeno da je osmoprimiranje u trajanju od 12 sati, u otopini s osmotskim tlakom od -1.2 MPa dalo znatno bolje rezultate u odnosu na tretiranja u trajanju 6, 24 i 48 sati.

Osim PEG-a u istraživanjima efekta osmoprimiranja se koriste i neke druge otopine soli poput, NaCl ili KNO<sub>3</sub>. Farooq i sur. (2005.) su istraživali utjecaj osmoprimiranja na sjeme različitih kultivara rajčice (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Sjeme je osmoprimirano odmah nakon vađenja iz ploda i sušenja. Spomenuti autori su dokazali pozitivan utjecaj tretmana NaCl-om i KNO<sub>3</sub> kao i s PEG-om pri osmotskom tlaku od -1,1 MPa kroz 24 sata, na vigor i klijanje kod svih kultivara rajčice. Svi tretmani su smanjili vrijeme potrebno za klijanje 50% sjemenki kao i prosječno vrijeme klijanja te povećali ukupnu klijavost, indeks klijanja i energiju klijanja, te rezultirali većom dužinom korjenčića i izdanaka u usporedbi s netretiranim sjemenom. Kod svih kultivara najkraće vrijeme potrebno za klijanje 50% sjemenki zabilježeno je pri tretmanu s KNO<sub>3</sub>, kojeg slijede tretmani s NaCl i PEG. Osim toga, tretman sjemena s KNO<sub>3</sub> je rezultirao najmanjim prosječnim vremenom klijanja te najvećom standardnom klijavašću, indeksom i energijom klijanja a također i najvećom dužinom korjenčića i izdanaka.

Kako osmoprimiranje s otopinama različitih soli može negativno utjecati pokazuje istraživanje koje su proveli također Farooq i sur. (2007.), na sjemenu dinje. Sjeme su osmoprimirali koristeći 1, 2 i 3% otopine KNO<sub>3</sub> i CaCl<sub>2</sub> u trajanju od 24 sata. Bez obzira što su dobili pozitivne rezultate prilikom osmoprimiranja sjemena suncokreta, riže i pšenice kalcijevim solima, u



ovom je istraživanju provedenom na sjemenu dinje,  $\text{CaCl}_2$  dao znatno lošije rezultate svih ispitivanih pokazatelja vigora sjemena. Osmoprimiranje s 1%  $\text{KNO}_3$  je poboljšalo energiju klijanja i standardnu klijavost što je rezultiralo ujednačenijim razvojem klijanaca.

Za osmoprimiranje postoje velike mogućnosti kombinacija, od korištenja otopina različitih osmotskih potencijala, različitih koncentracija i vrsta soli, do duljine trajanja tretmana, različitih temperatura te naravno ispitivanje na sjemenu različitih biljnih vrsta. Također je moguća i kombinacija različitih vrsta soli u jednoj otopini što su istraživali Mauromicale i Cavallaro (1995.) na sjemenkama više kultivara rajčice, koristeći PEG na 6 i 8 dana te  $\text{KNO}_3 + \text{K}_3\text{PO}_4$  na 4, 6 i 8 dana, pri osmotskom potencijalu od -1.5 MPa uz temperaturu 20°C. Nakon ispiranja i sušenja sjemenke su posijane u laboratorijskim uvjetima na različite podloge za naklijavanje simulirajući osmotski stres primjenom otopina PEG s različitim osmotskim potencijalom (0, -0,5, -0,7, -0,9, -1,1 i -1,3 MPa). Osmoprimiranje je značajno povećalo standardnu klijavost pri niskim osmotskim potencijalima u odnosu na kontrolu. Pri tretmanu s PEG osmotskog potencijala -0.7 MPa u trajanju od 8 dana, utvrđeno je povećanje standardne klijavosti u usporedbi s kontrolom za 13%. Pri tretmanu sjemena s  $\text{KNO}_3 + \text{K}_3\text{PO}_4$  u trajanju 8 dana uočeno je povećanje standardne klijavosti od 40%, u odnosu na netretirano sjeme. U ovom istraživanju kao najefikasniji se pokazao tretman gdje je sjeme osmoprimirano s kombinacijom  $\text{KNO}_3 + \text{K}_3\text{PO}_4$  u trajanju od 8 dana, kod kojeg je prosječno vrijeme klijanja bilo za 4 dana kraće u usporedbi s kontrolom gdje je ono iznosilo 9,5 dana.

### **3. MATERIJALI I METODE**

#### **3.1. Postavljanje pokusa i korištena oprema**

Sjeme krastavca (*Cucumis sativus* L.) sorte "*Pariški kornišon*" je prije naklijavanja imbibirano u otopinama donora sumporovodika, NaHS (natrij hidrogen sulfid) i GYYY4137 (morfolin-4-ium 4 metoksifenil (morfolino) fosfinoditioat). Odvagano je po 200 sjemenki, odbrojeno u plastične epruvete od 50 mL te su dodani jednaki volumeni otopina GYY4137 odnosno NaHS, u koncentracijama od 300  $\mu$ M. Sjeme je imbibirano u navedenim otopinama 12 sati, nakon čega je osušeno na filter papiru pri sobnoj temperaturi naredna 24 sata, te ponovno odvagano.

Po 50 sjemenki je naklijavano na vlažnom ubrusu navlaženom s 150 mL destilirane vode za varijantu kontrola odnosno 150 mL otopine NaCl, EC vrijednosti podešene na 2,81 mS/cm što je odgovaralo koncentraciji od 25 mM za varijantu u kojoj je ispitivan fiziološki efekt NaCl. Pokus je postavljen u 4 ponavljanja.

Navlaženi ubrusi su nakon postavljanja sjemenki smotani u tuljke, prebačeni u najlonske vrećice te zatvoreni zbog sprječavanja gubitka vlage i postavljeni u uspravnom položaju u vertikalnu klima komoru (Frigomat) na temperaturu od 20°C, u mraku (*Slika 5*).

#### **3.2. Određivanje energije klijanja i standardne klijavosti**

Četvrti dan od dana postavljanja pokusa je izbrojano isklijalo sjeme, te je iz tih podataka izračunata energija klijanja (EK) u postotcima, u odnosu prema ukupnom broju sjemenki postavljenih na naklijavanje za svaki primijenjeni tretman. Osmi dan od dana postavljanja pokusa prebrojavanjem isklijanih, zdravih i normalno razvijenih klijanaca utvrđena je standardna klijavost (SK) u postotcima prema ukupnom broju sjemenki postavljenih na naklijavanje za svaki primijenjeni tretman.

#### **3.3. Određivanje mase hipokotila, korijena i kotiledona**

Nakon određivanja SK, izvagane su ukupne mase klijanaca, a nakon odvajanja hipokotila, korjenčića i kotiledona su izvagane mase pojedinih dijelova klijanaca krastavca.

#### **3.4. Obrada podataka**

Istraživanje je provedeno kao trofaktorijalni pokus u četiri ponavljanja sa po 50 klijanaca po ponavljanju. Ispitivan je utjecaj slijedećih faktora na molekularne pokazatelje stresa: proizvodna godina sjemena (2009./2010., 2010./2011., 2011./2012.), osmoprimiranje sjemena

donorima H<sub>2</sub>S (NaHS i GYY4137), te solni stres (kontrola - destilirana voda, NaCl - EC otopine podešen na 2,81 mS/cm). Svi utvrđeni rezultati su analizirani uobičajenim metodama statističke obrade podataka pomoću SAS Software 9.1.3, programske podrške (2002.-2003., SAS Institute Inc., Cary, USA) i Microsoft Office Excell 2010. Korištene su slijedeće statističke metode: analiza varijance (ANOVA), statistički testovi značajnosti utjecaja primijenjenih tretmana – F test i Fisher's LSD test (eng. Least Significant Difference) te pojedinačna i multipla linearna korelacijska analiza.



**Slika 5:** Postavljanje pokusa  
(foto: M. Špoljarević)

#### 4. REZULTATI

Prema F testu, u prosjeku za sve varijante osmopriranja i naklijavanja sjemena krastavaca, godina proizvodnje sjemena je značajno utjecala na energiju klijanja ( $P=0,0072$ ), standardnu klijavost ( $P=0,0046$ ) te mase hipokotila, korijena i kotiledona ( $P=0,0001$ ) (Tablica 6).

**Tablica 6.** Značajnost utjecaja godine proizvodnje sjemena (2009./2010., 2010./2011., 2011./2012.), i osmopriranja sjemena donorima H<sub>2</sub>S (300 μM GYY4137, 300 μM NaHS), solnog stresa u klijanju (kontrola i NaCl) i njihovih interakcija na energiju klijanja (EK), standardnu klijavost (SK) (%), masu hipokotila (mHIP), kotiledona (mKOT) i korijena (mKOR) (g/biljci).

FAKTOR	VARIJANTA	EK	SK	mHIP	mKOT	mKOR
Godina proizvodnje sjemena	2009./2010.	95 B	94 B	0,264 A	0,053 A	0,050 A
	2010./2011.	98 A	96 A	0,208 B	0,033 C	0,032 B
	2011./2012.	98 A	97 A	0,267 A	0,050 B	0,054 A
	F test	5,68	6,27	68,83	606,94	47,69
	P	0,0072	0,0046	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Osmopriranje sjemena	NaHS	96	95	0,246	0,045	0,043
	GYY4137	98	96	0,248	0,045	0,047
	F test	3,83	1,17	0,19	0,05	4,07
	P	0,0581	0,2862	0,6649	0,8184	0,0512
Solni stres u klijanju	Kontrola	97	96	0,233 B	0,045	0,044
	NaCl	97	95	0,260 A	0,045	0,047
	F test	0,07	1,11	34,44	1,98	2,32
	P	0,7996	0,2999	<0,0001	0,1676	0,1364
Godina x Osmopriranje	F test	1,45	1,29	4,95	0,09	0,43
	P	0,2484	0,2873	0,0126	0,9134	0,6547
Godina x Stres	F test	0,83	1,00	4,54	0,17	2,59
	P	0,4453	0,3793	0,0174	0,6845	0,0892
Osmopriranje x Stres	F test	0,20	0,007	4,36	0,02	0,14
	P	0,6586	0,7913	0,0440	0,8783	0,7110
Godina x Osmopriranje x Stres	F test	0,41	0,07	6,53	2,42	1,69
	P	0,6662	0,9292	0,0038	0,1029	0,1993

\*Podaci su prosjek četiri ponavljanja; ANOVA, F test; prosjeci označeni različitim slovom se razlikuju prema LSD testu (A,B,C; $P=0,05$ ).

Prema rezultatima LSD testa, u prosjeku za obje varijante osmopriranja sjemena i naklijavanja, sjeme iz proizvodne godine 2009./2010. je imalo statistički značajno nižu energiju klijanja (95%) i standardnu klijavost (94%), dok se sjeme iz proizvodnih godina 2010./2011. (EK 98%; SK 96%) te 2011./2012. (EK 98%; SK 97%), nije međusobno značajno razlikovalo u navedena dva pokazatelja vigora sjemena. Kod klijanaca naklijanih iz sjemena proizvodne godine 2010./2011. su utvrđene statistički značajno najmanje mase hipokotila (0,208 g/biljci), mase kotiledona (0,033 g/biljci) i mase korijena (0,032 g/biljci). Klijaneci iz najstarijeg

(2009./2010.) sjemena imali su statistički značajno najveću masu kotiledona (0,053 g/biljci) te najveću masu hipokotila i korijena zajedno s klijancima naklijanim iz najmlađeg sjemena (2011./2012.), koje se statistički nisu značajno razlikovale 2009./2010. (mHIP 0,264; mKOR 0,05 g/biljci) te 2011./2012. (mHIP 0,267; mKOR 0,054 g/biljci).

U prosjeku za sve proizvodne godine sjemena te obje varijante naklijavanja, F testom nije utvrđen značajan utjecaj osmopriranja na pokazatelje vigora.

U prosjeku za sve proizvodne godine sjemena te obje varijante osmopriranja, F testom je utvrđen značajan utjecaj varijante naklijavanja na masu hipokotila ( $P < 0,0001$ ), te je LSD testom utvrđena značajno veća masa pri tretmanu s NaCl (0,26 g/biljci) u usporedbi na kontrolu (0,233 g/biljci). Na ostale pokazatelje vigora sjemena varijanta naklijavanja nije značajno utjecala.

Ispitivanjem značajnosti interakcija, F testom je utvrđen značajan utjecaj svih interakcija samo na masu hipokotila godina x osmopriranje ( $P = 0,0126$ ), godina x stres ( $P = 0,0174$ ), osmopriranje x stres ( $P = 0,044$ ) te godina x osmopriranje x stres ( $P = 0,0038$ ), dok na ostale pokazatelje vigora interakcije nisu imale značajan utjecaj.

**Tablica 7.** Značajnost utjecaja godine proizvodnje sjemena (2009./2010., 2010./2011., 2011./2012.), solnog stresa u klijanju (kontrola i NaCl) i njihovih interakcija pri različitim varijantama osmopriranja sjemena donorima H<sub>2</sub>S (300 μM GYY4137, 300 μM NaHS) na energiju klijanja (EK) i standardnu klijavost (SK) (%).

FAKTOR	VARIJANTA	EK		SK	
		NaHS	GYY4137	NaHS	GYY4137
<b>Godina proizvodnje sjemena</b>	2009./2010.	94 B	97	92 B	95
	2010./2011.	97 A	98	96 A	96
	2011./2012.	98 A	98	97 A	98
	F test	5,23	0,92	4,38	2,52
	P	0,0162	0,4170	0,0283	0,1081
<b>Stres u klijanju</b>	Kontrola	97	98	96	96
	NaCl	96	98	95	96
	F test	0,20	1,34	0,64	0,48
	P	0,6600	0,2616	0,4338	0,4979
<b>Godina x Stres</b>	F test	0,41	1,80	0,41	0,80
	P	0,6706	0,1935	0,6706	0,4645

\*Podaci su prosjek četiri ponavljanja; ANOVA, F test; prosjeci označeni različitim slovom se razlikuju prema LSD testu (A,B,C; $P = 0,05$ ).

U prosjeku za obje varijante naklijavanja sjemena, F testom je utvrđen značajan utjecaj godine proizvodnje sjemena na energiju klijanja i standardnu klijavost pri varijanti osmopriranja

sjemena s NaHS (EK  $P=0,0162$ ; SK  $P=0,0283$ ) dok u varijanti osmoprimiranja s GYY4137 starost sjemena nije značajno utjecala na pokazatelje vigora sjemena. (Tablica 7).

LSD testom je utvrđena značajno niža energija klijanja i standardna klijavost pri sjemenu iz proizvodne godine 2009./2010. pri varijanti osmoprimiranja s NaHS (EK 94%; SK 92%), dok je sjeme iz proizvodnih godina 2010./2011. te 2011./2012. pokazalo statistički značajnu višu klijavost u u varijanti osmoprimiranja s NaHS (u prosjeku od 96% – 98%) te se nije međusobno statistički značajno razlikovalo.

U prosjeku za sve godine proizvodnje sjemena, uvjeti naklijavanja nisu značajno utjecali na energiju klijanja i standardnu klijavost ni u jednoj varijanti osmoprimiranja sjemena kao ni interakcija godina x stres.

U prosjeku za obje varijante naklijavanja, F testom je utvrđen značajan utjecaj godine proizvodnje sjemena na mase hipokotila, kotiledona i korijena pri obje varijante osmoprimiranja sjemena (mHIP: NaHS i GYY4137  $P<0,0001$ ; mKOT: NaHS i GYY4137  $P<0,0001$ ; mKOR: NaHS  $P=0,0135$  i GYY4137  $P=0,0001$ ) (Tablica 8).

**Tablica 8.** Značajnost utjecaja godine proizvodnje sjemena (2009./2010., 2010./2011., 2011./2012.), solnog stresa u klijanju (kontrola i NaCl) i njihovih interakcija pri različitim varijantama osmoprimiranja sjemena donorima H<sub>2</sub>S (300  $\mu$ M GYY4137, 300  $\mu$ M NaHS) na masu hipokotila (mHIP), masu kotiledona (mKOT) i masu korijena (mKOR) (g/biljci).

FAKTOR	VARIJANTA	mHIP		mKOT		mKOR	
		NaHS	GYY4137	NaHS	GYY4137	NaHS	GYY4137
Godina proizvodnje sjemena	2009./2010.	0,268 A	0,260 A	0,053 A	0,053 A	0,047 A	0,053 A
	2010./2011.	0,197 B	0,220 B	0,032 C	0,033 C	0,030 B	0,033 B
	2011./2012.	0,271 A	0,263 A	0,050 B	0,050 B	0,055 A	0,052 A
	F test	55,54	18,38	220,92	499,71	5,52	19,70
	P	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0135	<0,0001
Solni stres u klijanju	Kontrola	0,227 B	0,239 B	0,045	0,046	0,042	0,045
	NaCl	0,264 A	0,256 A	0,045	0,045	0,044	0,049
	F test	31,77	7,12	0,35	2,79	0,57	0,60
	P	<0,0001	0,0157	0,5591	0,1122	0,4614	0,4503
Godina x Stres	F test	0,23	1,80	0,47	4,41	0,34	1,57
	P	0,7733	0,0008	0,6340	0,0277	0,7192	0,2352

\*Podaci su prosjek četiri ponavljanja; ANOVA, F test; prosjeci označeni različitim slovom se razlikuju prema LSD testu (A,B,C; $P=0,05$ ).

U prosjeku za obje varijante naklijavanja, LSD testom su utvrđene značajno najmanje mase hipokotila kod sjemena iz 2010./2011. pri oba tretmana donorima H<sub>2</sub>S (NaHS 0,197 i GYY4137

0,22 g/biljci), dok se mase hipokotila bile najveće kod sjemena iz 2009./2010. (NaHS 0,268; GYY4137 0,260 g/biljci) i 2011./2012. (NaHS 0,271; GYY4137 0,263 g/biljci) pri istim tretmanima te se nisu statistički značajno razlikovale. Mase kotiledona statistički su se najviše međusobno razlikovale po godinama starosti sjemena u oba tretmana donorima H<sub>2</sub>S s time da je najveća masa utvrđena na najstarijem sjemenu 2009./2010. (NaHS 0,053; GYY4137 0,053 g/biljci), dok je masa kotiledona sjemena iz 2011./2012. imala statistički značajno nižu masu u obje varijante tretmana H<sub>2</sub>S donorima (NaHS 0,050; GYY4137 0,050 g/biljci). U oba tretmana donorima H<sub>2</sub>S je utvrđena značajno najniža masa kotiledona kod sjemena iz 2010./2011. (NaHS 0,032; GYY4137 0,033 g/biljci). Masa korijena u obje varijante osmoprimiranja sjemena donorima H<sub>2</sub>S je također bila značajno manja kod klijanaca iz sjemena proizvodne godine 2011./2012. (NaHS 0,030 g/biljci i GYY4137 0,033 g/biljci) dok se sjeme iz proizvodnih godina 2009./2010. (NaHS 0,047 g/biljci i GYY4137 0,053 g/biljci) i 2010./2011. (NaHS 0,055 g/biljci i GYY4137 0,052 g/biljci) nije statistički značajno razlikovalo.

U prosjeku za obje varijante osmoprimiranja sjemena, F testom je utvrđen značajan utjecaj godine proizvodnje sjemena na standardnu klijavost samo kod kontrole (SK; kontrola  $P=0,0025$ ) (Tablica 9).

**Tablica 9.** Značajnost utjecaja godine proizvodnje sjemena (2009./2010., 2010./2011., 2011./2012.), osmoprimiranja sjemena donorima H<sub>2</sub>S (300  $\mu$ M GYY4137, 300  $\mu$ M NaHS) i njihovih interakcija pri solnom stresu u klijanju (kontrola i NaCl) na energiju klijanja (EK) i standardnu klijavost (SK) (%).

FAKTOR	VARIJANTA	EK		SK	
		NaCl	K	NaCl	K
Godina proizvodnje sjemena	2009./2010.	95	96	93	94 B
	2010./2011.	98	98	95	97 A
	2011./2012.	99	97	98	97 A
	F test	3,54	2,58	2,69	8,53
	<i>P</i>	0,0503	0,1034	0,0953	0,0025
Osmoprimiranje sjemena	NaHS	96	97	95	96
	GYY4137	98	98	96	96
	F test	2,06	1,91	0,54	1,03
	<i>P</i>	0,1682	0,1843	0,4708	0,3238
Godina x Osmoprimiranje	F test	1,08	0,58	0,23	3,03
	<i>P</i>	0,3611	0,5692	0,7964	0,0737

\*Podaci su prosjek četiri ponavljanja; ANOVA, F test; prosjeci označeni različitim slovom se razlikuju prema LSD testu (A,B,C;  $P=0,05$ ).

U prosjeku za sve ispitivane godine proizvodnje sjemena, F testom nije utvrđen značajan utjecaj osmoprimiranja sjemena na energiju klijanja i standardnu klijavost, a također nije potvrđen signifikantan utjecaj interakcije godina x osmoprimiranje.

U prosjeku za obje varijante osmoprimiranja sjemena, utvrđen je značajan utjecaj godine starosti sjemena na mase hipokotila, kotiledona i korijena pri obje varijante naklijavanja sjemena (mHIP, mKOT i mKOR: NaCl i kontrola  $P < 0,0001$ ) (Tablica 10).

**Tablica 10.** Značajnost utjecaja godine proizvodnje sjemena (2009./2010., 2010./2011., 2011./2012.), osmoprimiranja sjemena donorima H<sub>2</sub>S (300 μM GYY4137, 300 μM NaHS) i njihovih interakcija pri solnom stresu u klijanju (kontrola i NaCl) na masu hipokotila (mHIP), kotiledona (mKOT) i korijena (mKOR) (g/biljci).

FAKTOR	VARIJANTA	mHIP		mKOT		mKOR	
		NaCl	K	NaCl	K	NaCl	K
Godina proizvodnje sjemena	2009./2010.	0,278 A	0,250 A	0,052 A	0,053 A	0,054 A	0,046 A
	2010./2011.	0,213 B	0,245 A	0,032 C	0,033 C	0,030 B	0,033 B
	2011./2012.	0,289 A	0,204 B	0,050 B	0,050 B	0,056 A	0,051 A
	F test	43,62	26,05	246,45	415,91	31,20	17,23
	P	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Osmoprimiranje sjemena	NaHS	0,264	0,227	0,045	0,045	0,044	0,042
	GYY4137	0,256	0,239	0,045	0,046	0,049	0,045
	F test	1,13	4,04	0,01	0,30	2,52	1,56
	P	0,3028	0,0598	0,9139	0,5888	0,1296	0,2283
Godina x Osmoprimiranje	F test	1,12	12,82	0,77	2,21	0,60	1,66
	P	0,3474	0,0003	0,4769	0,1391	0,5601	0,2185

\*Podaci su prosjek četiri ponavljanja; ANOVA, F test; prosjeci označeni različitim slovom se razlikuju prema LSD testu (A,B,C;  $P=0,05$ ).

Interakcija godina x osmoprimiranje je značajno utjecala samo na masu hipokotila pri naklijavanju sjemena samo kod kontrole ( $P=0,0003$ ).

U prosjeku za obje varijante tretmana sjemena donorima H<sub>2</sub>S, LSD testom je utvrđena značajno veća masa hipokotila i kotiledona u kontroli i uz prisustvo NaCl, kod klijanaca dobivenih iz najstarijeg sjemena 2009./2010. (mHIP: 2009./2010. NaCl 0,278 g/biljci i kontrola 0,250 g/biljci; mKOT 2009./2010. NaCl 0,052 g/biljci i kontrola 0,053 g/biljci). Kod klijanaca dobivenih iz proizvodne godine 2010./2011. utvrđene su značajno najmanje mase kotiledona u kontroli i uz prisustvo NaCl (mKOT: 2010./2011. NaCl 0,032 g/biljci i kontrola 0,033 g/biljci). Također je značajno najmanja masa korijena pri oba uvjeta naklijavanja utvrđena kod klijanaca dobivenih iz sjemena 2010./2011. (NaCl 0,03 g/biljci i kontrola 0,033 g/biljci), dok su značajnu



najveću masu kotiledona imali klijanci iz sjemena najstarije 2009./2010. i najmlađe 2011./2012. proizvodne godine te se nisu statistički značano razlikovali (mKOR: 2009./2010. NaCl 0,054 g/biljci i kontrola 0,046 g/biljci; mKOR: 2011./2012. NaCl 0,056 g/biljci i kontrola 0,051 g/biljci).

Prema F testu, u prosjeku za obje varijante osmoprimiranja sjemena krastavaca donorima H<sub>2</sub>S, uvjeti u kojima je naklijavano sjeme nisu značajno utjecali na energiju klijanja i standardnu klijavost (Tablica 11).

U prosjeku za obje varijante naklijavanja sjemena, osmoprimiranje te interakcija osmoprimiranje x stres, nisu značajno utjecali na energiju klijanja i standardnu klijavost bez obzira na godinu proizvodnje sjemena.

**Tablica 11.** Značajnost utjecaja osmoprimiranja sjemena donorima H<sub>2</sub>S (300 μM GYY4137, 300 μM NaHS), solnog stresa u klijanju (kontrola i NaCl) i njihovih interakcija po godinama proizvodnje sjemena (2009./2010., 2010./2011., 2011./2012.) na energiju klijanja (EK) i standardnu klijavost (SK) (%).

FAKTOR	VARIJANTA	EK			SK		
		2009./10.	2010./11.	2011./12.	2009./10.	2010./11.	2011./12.
Osmoprimiranje sjemena	NaHS	94	97	98	92	96	97
	GYY4137	97	98	98	95	96	98
	F test	3,05	0,36	0,49	2,58	0,12	0,15
	P	0,1065	0,5604	0,4974	0,1340	0,7350	0,7026
Solni stres u klijanju	Kontrola	96	98	97	94	97	97
	NaCl	95	98	99	93	95	98
	F test	0,40	0,28	1,90	0,21	2,89	0,18
	P	0,5377	0,6073	0,1935	0,6536	0,1147	0,6800
Osmoprimiranje x Stres	F test	0,32	0,30	0,51	0,02	0,11	0,13
	P	0,5830	0,5921	0,4898	0,8939	0,7502	0,7204

\*Podaci su prosjek četiri ponavljanja; ANOVA, F test; prosjeci označeni različitim slovom se razlikuju prema LSD testu (A,B,C;P=0,05).

Prema F testu, u prosjeku za obje varijante naklijavanja sjemena krastavaca, osmoprimiranje je značajno utjecalo samo na masu hipokotila kod sjemena iz proizvodne godine 2010./2011. (P=0,0033) te je LSD testom kod klijanaca dobivenih iz istog sjemena utvrđena značajno veća masa u tretmanu s GYY4137 (0,219 g/biljci).

U prosjeku za obje varijante osmoprimiranja sjemena, varijante naklijavanja također su značajno utjecale na mase hipokotila kod klijanaca dobivenih iz najstarijeg i najmlađeg sjemena

(2009./2010.:  $P=0,0255$ ; 2011./2012.  $P<0,0010$ ) te na masu kotiledona kod klijanaca iz sjemena proizvedenog 2010./2011. ( $P=0,026$ ) (Tablica 12).

**Tablica 12.** Značajnost utjecaja osmoprimiranja sjemena donorima H<sub>2</sub>S (300 μM GYY4137, 300 μM NaHS), solnog stresa u klijanju (kontrola i NaCl) i njihovih interakcija po godinama proizvodnje sjemena (2009./2010., 2010./2011., 2011./2012.) na masu (g) hipokotila (mHIP), kotiledona (mKOT) i korijena (mKOR) (g/biljci).

FAKTOR	VARIJANTA	mHIP			mKOT			mKOR		
		09./10.	10./11.	11./12.	09./10.	10./11.	11./12.	09./10.	10./11.	11./12.
Osmopri- miranje sjemena	NaHS	0,268	0,197 B	0,271	0,053	0,030	0,050	0,047	0,031	0,052
	GYY4137	0,260	0,219 A	0,263	0,053	0,033	0,050	0,053	0,033	0,055
	F test	0,55	13,35	2,25	0,01	0,43	0,00	3,41	0,68	0,65
	P	0,4741	0,0033	0,1597	0,9361	0,5252	0,9910	0,0898	0,4264	0,4375
Solni stres u klijanju	Kontrola	0,250 B	0,204	0,245 B	0,053	0,033 A	0,050	0,046	0,033	0,051
	NaCl	0,278 A	0,213	0,289 A	0,052	0,032 B	0,050	0,054	0,030	0,056
	F test	6,50	2,36	61,60	0,28	6,45	0,01	4,42	1,18	1,57
	P	0,0255	0,1501	<0,0010	0,6053	0,0260	0,9087	0,0572	0,2997	0,2339
Osmopr. x Stres	F test	1,51	20,25	5,09	1,62	2,98	1,31	0,38	0,25	2,42
	P	0,2423	0,0007	0,0436	0,2278	0,1098	0,2749	0,5498	0,6243	0,1455

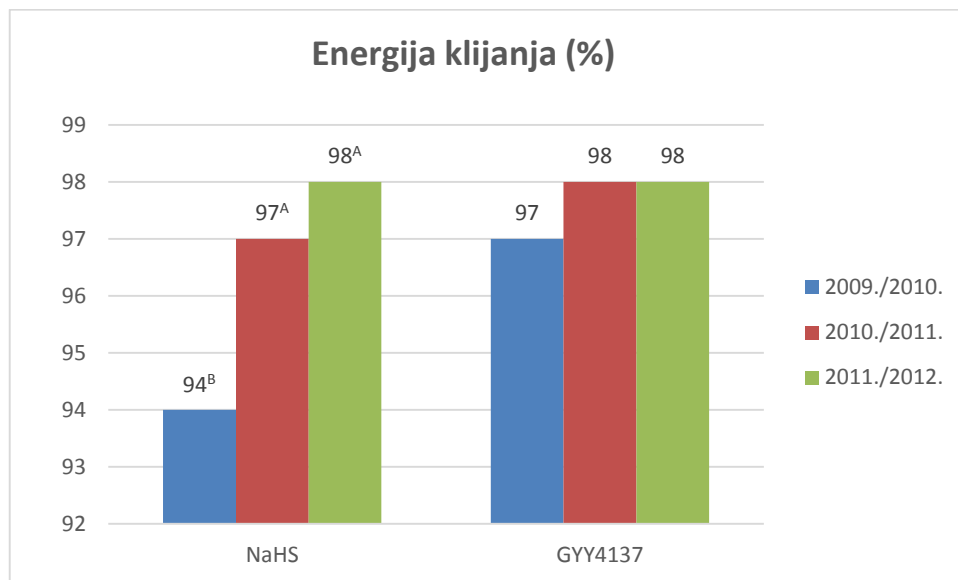
\*Podaci su prosjek četiri ponavljanja; ANOVA, F test; prosjeci označeni različitim slovom se razlikuju prema LSD testu (A,B,C; $P=0,05$ ).

LSD testom je utvrđena značajno veća masa hipokotila kod sjemena naklijavanog u prisustvu NaCl-a (mHIP: 2009./2010. 0,278 g/biljci 2011./2012. 0,289 g/biljci) te masa kotiledona kod kontrolnog sjemena (mKOT: 2010./2011. 0,033g/biljci).

U prosjeku za obje varijante naklijavanja sjemena, osmoprimiranje te interakcija osmoprimiranje x stres značajno su utjecali na masu hipokotila kod sjemena iz mlađih proizvodnih godina 2010./2011. ( $P=0,0007$ ) i 2011./2012. ( $P=0,0436$ ).

## 5. RASPRAVA

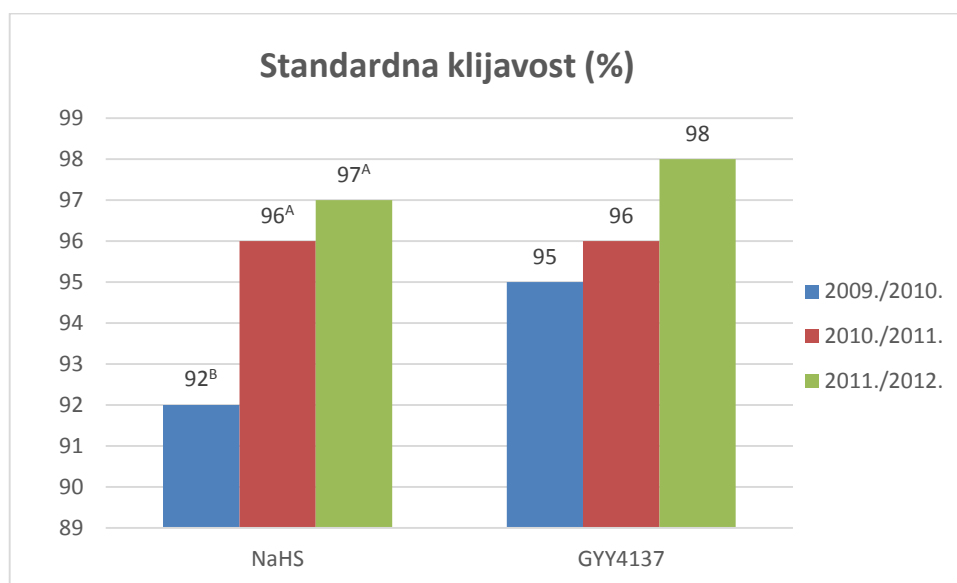
Energija klijanja i standardna klijavost su vrlo bitni pokazatelji kvalitete vigora sjemena, a čiji su rezultati neizostavni u planiranju norme sjetve (Lisjak i sur., 2009.). Na navedene pokazatelje vigora sjemena utječe velik broj parametara poput genetskih svojstava i metoda selekcije sjemena, starosti sjemena, klimatskih uvjeta tijekom uzgoja sjemenskog usjeva, načina dorade sjemena i uvjeta skladištenja (Ibrahim i sur. 2012.; Pimpini i sur., 2002.). U ovom istraživanju, u tretmanu gdje je sjeme osmoprimirano s NaHS, statistički značajno najniže vrijednosti energije klijanja (94%) (*Grafikon 1*) i standardne klijavosti (92%) (*Grafikon 2*) u prosjeku za obje varijante naklijavanja utvrđene su kod najstarijeg sjemena krastavca, iz proizvodne godine 2009./2010. Nasuprot tome, u predsetvenom tretmanu sjemena s GYY4137, sporootpuštajućim donatorom H<sub>2</sub>S, nisu utvrđene značajne razlike između godina deklariranja za navedene pokazatelje vigora sjemena (*Grafikoni 1 i 2*).



**Grafikon 1.** Energija klijanja sjemena krastavca u postotcima (%). Razlike između proizvodnih godina sjemena (2009./2010.; 2010./2011.; 2011./2012.) prikazane po varijantama osmoprimiranja (NaHS i GYY4137).

Zhang i sur. (2010.b) su u istraživanjima utjecaja tretmana sjemena pšenice s NaHS utvrdili da osim povećanja klijavosti u uvjetima osmotskog stresa izazvanog predtretmanom sjemena s PEG-6000, NaHS povećava i produkciju endogenog H<sub>2</sub>S. Također je ispitan i utjecaj ostalih spojeva koji sadrže sumpor poput S<sup>2-</sup>, SO<sub>2</sub><sup>-4</sup>, SO<sub>2</sub><sup>-3</sup>, HSO<sub>4</sub><sup>-</sup> kao i sam Na<sup>+</sup> te je utvrđeno da nijedan navedeni spoj ne poboljšava klijavost toliko značajno kao H<sub>2</sub>S generiran iz NaHS. Rezultati tih istraživanja također upućuju da H<sub>2</sub>S djeluje na povećanje aktivnosti amilaze i esteraze - ključnih enzima u fiziološkim procesima koji prethode klijanju. Aktivacija hidrolize

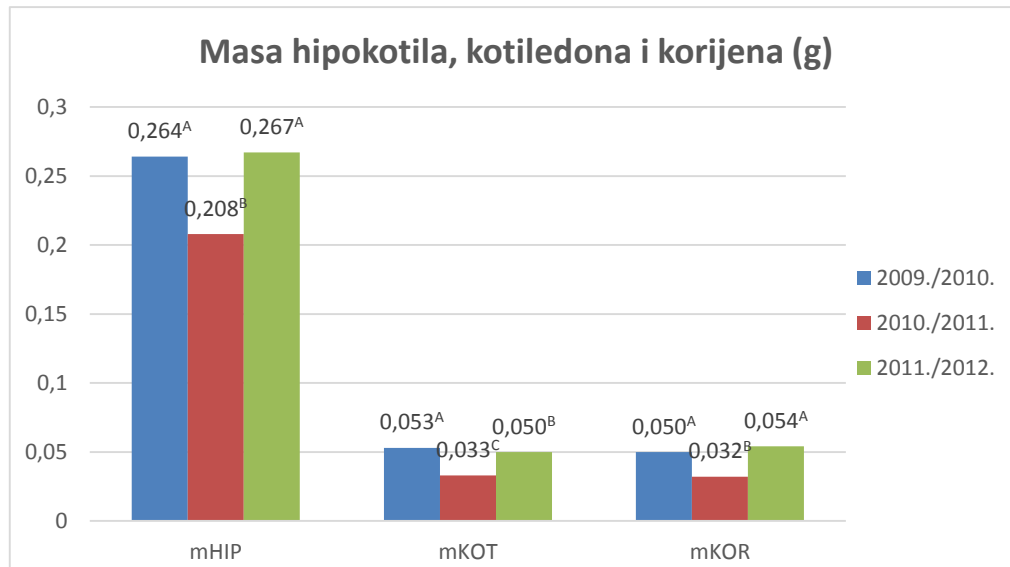
rezervnih spojeva pohranjenih u endospermu te njihovo brzo i učinkovito prevođenje u jednostavnije fiziološki aktivne kemijske spojeve tijekom početne faze klijanja, vrlo je važan fiziološki moment. Naime, što je brža razgradnja ovih spojeva to stanice brže dolaze do energije potrebne za mitotičke diobe te uspostavljanje pune fiziološke funkcije svakog pojedinog organela u novonastalim stanicama. Dakle, stimuliranje funkcije hidrolitičkih enzima u endospermu, uvelike može doprinijeti povećanju energije klijanja i standardne klijavosti te boljem razvoju i većem postotku preživljavanja klijanaca. Usporedbom pokazatelja vigora sjemena krastavca u ovom istraživanju, po godinama starosti sjemena, vidljiv je različit utjecaj varijante osmoprimiranja na standardnu klijavost i energiju klijanja, u prosjeku za obje varijante naklijavanja (u i bez prisustva NaCl). Kod varijante osmoprimiranja s GYY4137 nije uočena značajna razlika između godina proizvodnje sjemena te su utvrđeni vrlo visoki postotci i kod najstarijeg sjemena 2009./2010., gdje je standardna klijavost iznosila 95% (*Grafikon 2*) a energija klijanja (97%) (*Grafikon 1*).



**Grafikon 2.** Standardna klijavost sjemena krastavca u postotcima (%). Razlike između proizvodnih godina sjemena (2009./2010.; 2010./2011.; 2011./2012.) prikazane po varijantama osmoprimiranja (NaHS i GYY4137).

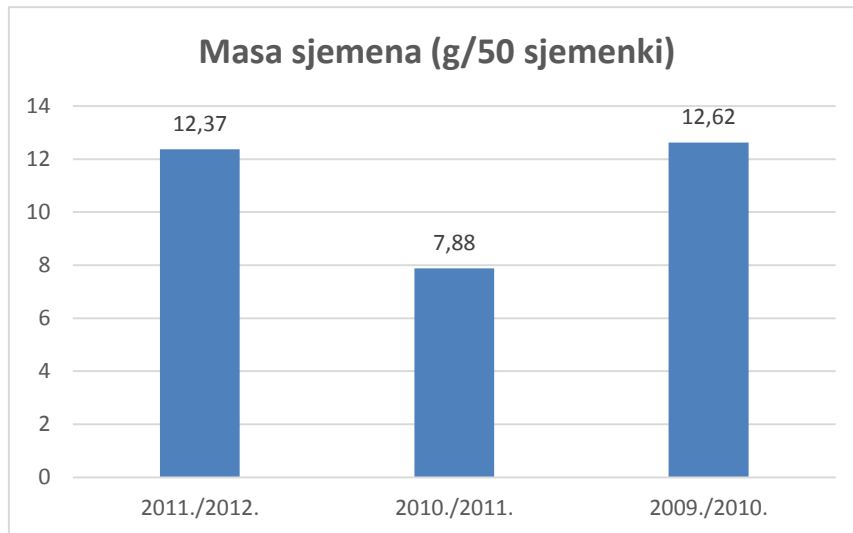
Rezultati ukazuju na pozitivan utjecaj osmoprimiranja sjemena s GYY4137 koji je povećao standardnu klijavost i energiju klijanja najstarijeg sjemena, što nije slučaj kod predtretmana s NaHS. Moguće da je u našem istraživanju, H<sub>2</sub>S generiran iz GYY4137, zbog svojih kemijsko-bioloških karakteristika, produženo djelovao na fiziološke procese u fazi imbibicije ali i tijekom klijanja. U fazi imbibicije voda prelazi kroz sjemenjaču i dolazi do endosperma, a pošto je GYY4137 dobro vodotopiv, zajedno s vodom prolazi preko sjemene ovojnice intercelularnim

prostorima. Nakon imbibicije sjeme je osušeno te je moguće da je GYY4137 zaostao u tkivima sjemena te ponovom rehidracijom pri naklijavanju počeo s otpuštanjem H<sub>2</sub>S, čime bi se mogao protumačiti njegov pozitivni učinak na pokazatelje vigora. S druge strane sumporovodik se iz NaHS vrlo brzo oslobađa te većim dijelom volatizira možda i prije nego što uđe u tkivo. Dakle, ako se i primjene otopine iste koncentracije, zbog samih kemijskih svojstava ova dva spoja, količina H<sub>2</sub>S koja uđe u stanice najvjerojatnije neće biti jednaka.



**Grafikon 3.** Razlike između proizvodnih godina (2009./2010.; 2010./2011.; 2011./2012.) prikazane po varijantama, u masi hipokotila (mHIP), kotiledona (mKOT) i korijena (mKOR).

Interesantno je da su klijanci naklijavani iz sjemena proizvodne godine 2010./2011. imali značajno manje mase hipokotila kotiledona i korijena bez obzira na varijante naklijavanja i stresa (*Grafikon 3*). Međutim, kod sjemena iz navedene proizvodne godine utvrđena je i značajno najmanja masa 50 sjemenki u odnosu na najmlađe 2011./2012. i najstarije 2009./2010. sjeme (*Grafikon 4*). Navedeni rezultati odgovaraju rezultatima brojnih istraživanja koja su ispitivala utjecaj veličine sjemena na klijavost i mase klijanaca kod različitih vrsta poljoprivrednih usjeva (Kawade i sur., 1987; Roy i sur., 1996.; Guberac i sur., 1998.), čiji rezultati ukazuju na veliku varijabilnost ovih pokazatelja između vrsta. Had i sur. (2012.) rezultatima svojih istraživanja na klijancima suncokreta, uzgojenih iz sjemena biljaka uzgajanih pri više varijanti navodnjavanja, potvrđuju vrlo značajne dvosmjerne korelacije između veličine odnosno mase sjemena i mase hipokotila te korijena klijanaca.

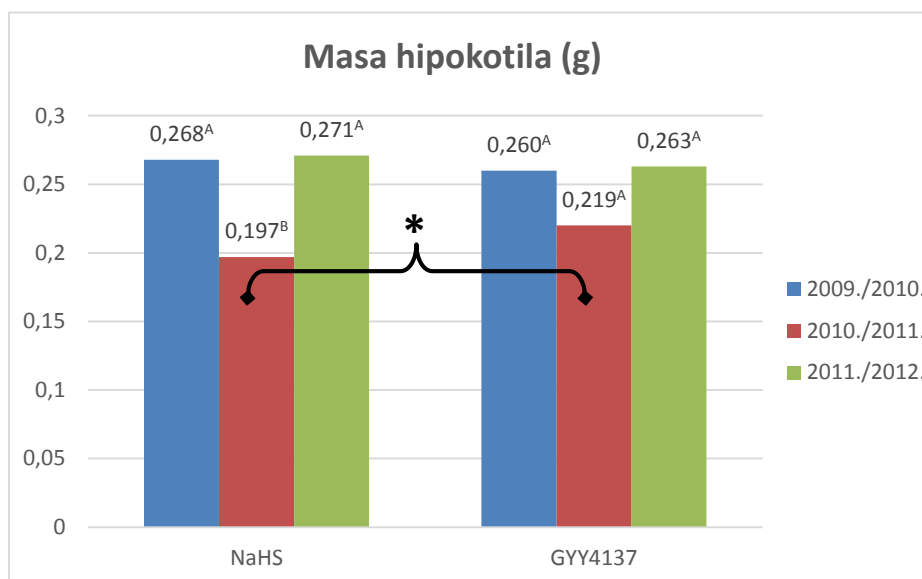


**Grafikon 4.** Prosječna masa 50 sjemenki u gramima. Razlike između proizvodnih godina (2009./2010.; 2010./2011.; 2011./2012.) sjemena krastavca.

Također, u prosjeku za obje varijante solnog stresa, mase hipokotila, korijena i kotiledona pri obje varijante osmoprimiranja su bile prosječno za 30% niže kod klijanaca uzgojenih iz sjemena proizvodne godine 2010./2011., u odnosu na mase utvrđene kod klijanaca iz sjemena preostale dvije godine deklaracije (2009./2010. i 2011./2012.) koje se nisu značajno međusobno razlikovale (*Grafikoni 5, 6 i 7*). Dakle, bez obzira na primijenjene tretmane donorima H<sub>2</sub>S, ipak je na masu klijanaca najznačajnije utjecala sama početna masa sjemena, što opet potvrđuje da se iz sjemena veće početne mase u pravilu razvijaju veći klijanci.

Slične rezultate su dobili Kajdan i Yagmur (2008.) u istraživanjima provedenim na pšenoraži, čije su sjemenke prema veličini svrstali u tri grupe te utvrdili da u uvjetima osmotskog i solnog stresa veće sjeme daje i klijance veće mase. Veća masa kotiledona znači veću zalihu rezervnih hranjiva te će njihovom razgradnjom nove stanice raspolagati s većom količinom energije potrebne za fiziološke procese tijekom razvoja klijanca u periodu dok biljka još nije prešla na autotrofni način ishrane, tj. do sinteze klorofila i uspostave procesa fotosinteze u izdanku.

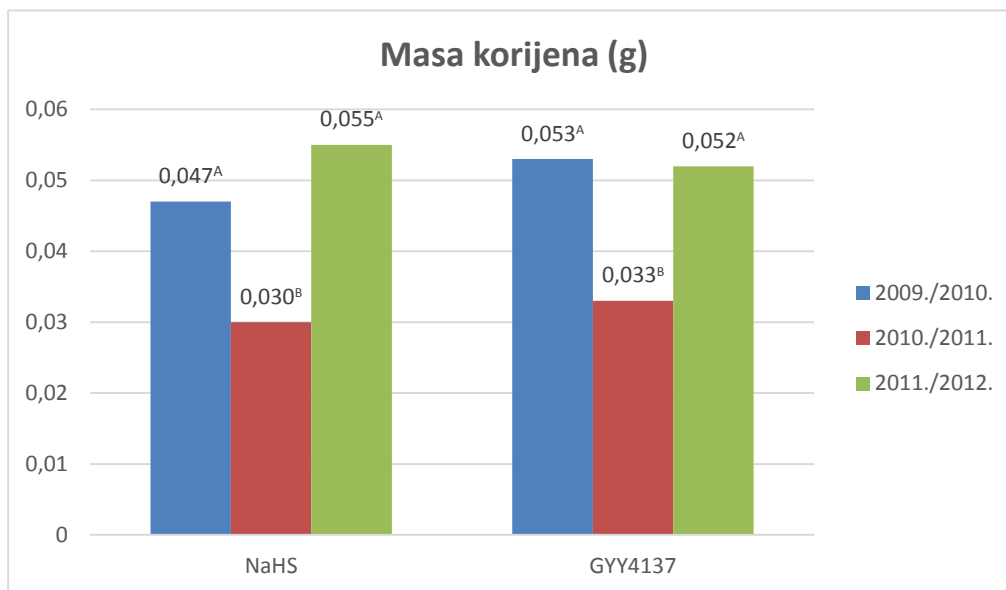
Međutim, upravo kod klijanaca dobivenih iz sjemena iz proizvodne godine 2010./2011., koji su imali najmanju masu hipokotila, utvrđene su značajne razlike u njihovoj masi između dva primijenjena donora H<sub>2</sub>S (*Grafikon 5*).



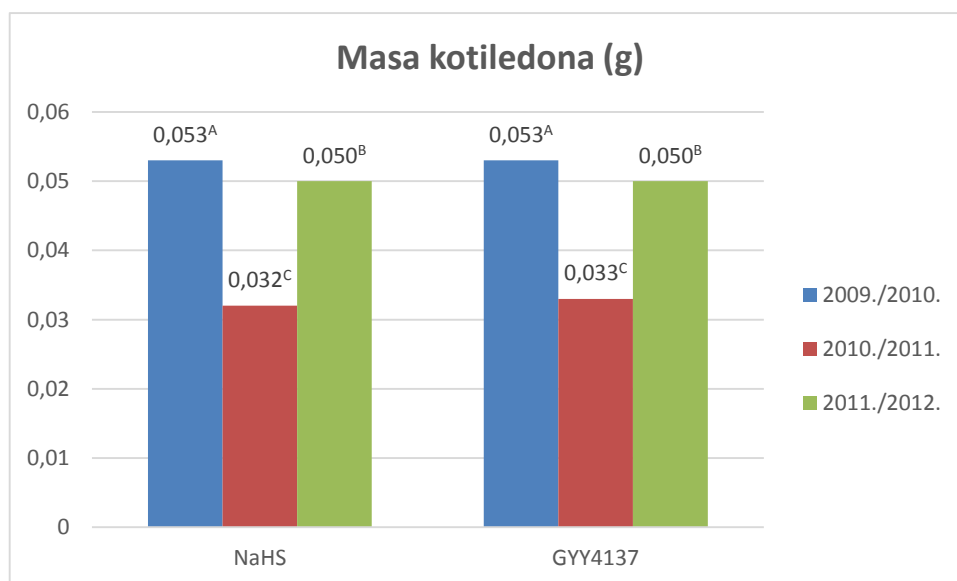
**Grafikon 5.** Masa hipokotila klijanaca u gramima (g). Razlike između proizvodnih godina sjemena (2009./2010.; 2010./2011.; 2011./2012.) prikazane po varijantama osmoprimiranja sjemena (NaHS i GYY4137). \*Statistički značajna razlika između tretmana donorima H<sub>2</sub>S.

Predsjetveni tretman sjemena krastavca sporootpuštajućim donatorom GYY4137 rezultirao je 10% većom masom hipokotila klijanaca (0,219 g) u usporedbi s masom utvrđenom pri tretmanu s NaHS (0,197 g). Također kao i kod energije klijanja i standardne klijavosti, moguće da je ovakav pozitivan učinak kod sjemena tretiranog s GYY4137 rezultat kontinuiranog djelovanja sumporovodika. U konačnici je moguće da je u sjemenu i veća koncentracija sumporovodika jer se on iz GYY4137 otpušta kroz duži vremenski period te su zbog toga i puno manji gubici volatilizacijom u okolnu atmosferu. U nepovoljnim proizvodnim godinama dolazi do pada prosječne mase sjemena kod sjemenskog krastavca, čime je smanjen i njegov vigor. Međutim, moguće je navedenim predsjetvenim tretmanom takvog sjemena ipak povećati početni porast klijanaca, što u konačnici može rezultirati i većim preživljavanjem mladih biljaka u kontroliranim uvjetima pri plasteničkoj proizvodnji te, još značajnije, u uvjetima vanjske sredine ukoliko se radi o proizvodnji na otvorenom.

Ujednačeno nicanje sjemena vrlo je važno za daljnji rast biljaka te se poduzimaju mjere predsjetvene pripreme sjemena kako bi nicanje bilo brže i ujednačenije. Brže klijanje sjemena uvjetovat će bolje i ujednačenije klijanje, bujniji razvoj, veću otpornost na uvjete vanjske sredine, bolesti i štetnike, jer su razvijenije biljke općenito otpornije na uzročnike stresa (Poštić i sur., 2010.).



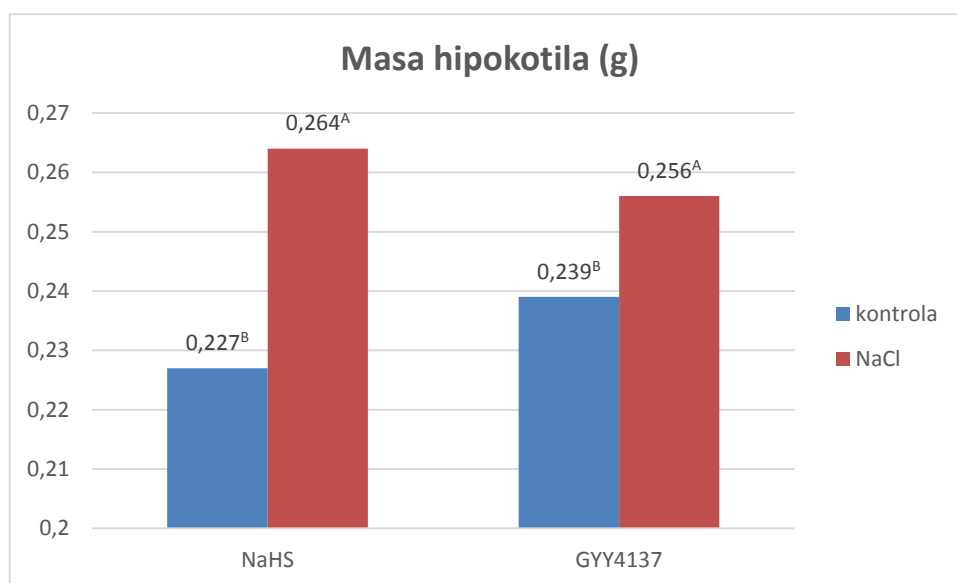
**Grafikon 6.** Masa korijena klijanaca krastavca u gramima (g). Razlike između proizvodnih godina sjemena (2009./2010.; 2010./2011.; 2011./2012.) prikazane po varijantama osmoprimiranja sjemena (NaHS i GYY4137).



**Grafikon 7.** Masa kotiledona klijanaca krastavca u gramima (g). Razlike između proizvodnih godina sjemena (2009./2010.; 2010./2011.; 2011./2012.) prikazane po varijantama osmoprimiranja sjemena (NaHS i GYY3147).



Ukupne mase hipokotila pri obje varijante osmoprimiranja donorima H<sub>2</sub>S u prosjeku za sve ispitivane godine deklaracije sjemena, razlikovale su se ovisno o varijantama naklijavanja. Kod sjemena koje je naklijavano u vodi utvrđena je značajno manja masa hipokotila u usporedbi s klijancima dobivenih iz sjemena naklijavanog pri 25 mM otopini NaCl (Grafikon 8). Veliki broj istraživanja ukazuje kako biljke u uvjetima solnog stresa pokazuju efekte usporavanja rasta korijena i nadzemnog djela biljke, najčešće zbog smanjenog udjela suhe tvari (Rahiimi i sur., 2011.). Međutim Ūnlükara i sur. (2008.) istražujući utjecaj rastućih konduktiviteta fertirigacijske otopine za zalijevanje, na rast i razvoj salate (*Lactuca sativa* var. *crispa*), utvrđuju kako postupno povećanje saliniteta irigacijskih otopina dovodi do povećanja akumulacije suhe tvari u biljkama. Sivritepe i sur. (2003.) su tijekom 3 dana na 20°C osmoprimirali sjeme dinje (*Cucumis melo* L.) otopinom NaCl konduktiviteta 18 mS/cm. Nakon sjetve navodnjavali su biljke dinje otopinama rastućih konduktiviteta (4, 5, 9, 13,5 i 18 mS/cm), što je približno ekvivalentno koncentracijama između 40 mM i 170 mM NaCl, dodajući NaCl u fertirigacijsku otopinu. Utvrdili su da niske razine solnog stresa mogu djelovati stimulatивно na rast biljke, te da osmoprimirao sjeme lakše podnosi solni stres tijekom uzgoja u odnosu na neosmoprimirano sjeme.



**Grafikon 8.** Masa hipokotila klijanaca krastavca u gramima (g). Razlike između varijanti stresa pri klijanju (kontrola i NaCl) prikazane po varijantama osmoprimiranja sjemena (NaHS i GYY4137).

U našim istraživanjima sjeme krastavca je naklijavano uz prisustvo otopine NaCl konduktiviteta 2,81 mS/cm, što je približno ekvivalent 25 mM NaCl. Sukladno rezultatima prethodno navedenih istraživanja, možemo zaključiti da ovakva otopina ne izaziva razinu

solnog stresa koji bi se kroz narušavanje ionske homeostaze i osmotskog potencijala stanice inhibirao porast klijanaca te je također i kod klijanca krastavca utvrđen blagi stimulativni utjecaj otopine niske koncentracije NaCl na pokazatelje ranog porasta. Također, stimulativno djelovanje blage razine solnog stresa na akumulaciju svježe tvari, pri istim tretmanima kao i u našem istraživanju, utvrđen je i kod klijanaca krastavca sorte Levina (Glodić, 2014.).

## 6. ZAKLJUČAK

1. Najstarije sjeme krastavca iz proizvodne godine 2009./2010. je imalo značajno nižu standardnu klijavost i energiju klijanja kod varijante osmoprimiranja sjemena s NaHS.
2. U varijanti gdje je sjeme bilo imbibirano u otopini GYY4137 nije utvrđena značajna razlika u energiji klijanja i standardnoj klijavosti s obzirom na godinu deklaracije sjemena te je i kod najstarijeg sjemena utvrđen vrlo visok postotak za navedena dva parametra. Ovakav rezultat upućuje da GYY4137 kao sporo otpuštajući donor H<sub>2</sub>S može povećati vigor kod starijeg sjemena.
3. Klijanci dobiveni iz sjemena proizvodne godine 2010./2011. su imali značajno manje mase hipokotila, korijena i kotiledona u prosjeku za obje varijante naklijavanja te pri oba primijenjena donora H<sub>2</sub>S. Sjeme iz navedene proizvodne godine je imalo i najmanju prosječnu masu u odnosu na najmlađe 2011./2012. i najstarije 2009./2010., vjerojatno zbog uvjeta proizvodne godine. Dobiveni rezultati potvrđuju kako se iz sjemena veće mase razvijaju i veći klijanci.
4. Kod klijanaca dobivenih iz sjemena iz proizvodne godine 2010./2011. je utvrđena značajno veća masa hipokotila u varijanti gdje je sjeme bilo imbibirano u otopini GYY4137 u odnosu na varijantu s NaHS. Također kao i kod energije klijanja i standardne klijavosti, moguće da je ovakav pozitivan učinak kod sjemena tretiranog s GYY4137 rezultat kontinuiranog djelovanja sumporovodika, zbog sporijeg otpuštanja H<sub>2</sub>S i njegove manje volatizacije u odnosu na NaHS.
5. Pri obje varijante osmoprimiranja sjemena donorima H<sub>2</sub>S te u prosjeku za sve godine deklariranja sjemena, utvrđena je veća masa hipokotila kod klijanaca naklijavanih u prisustvu NaCl, što upućuje na stimulativni učinak niske razine solnog stresa na akumulaciju svježih tvari u hipokotilima klijanaca krastavca.

## 7. POPIS LITERATURE

1. Bao, J., Ding, T.L., Jia, W.J., Wang, L.Y., Wang, B.S. (2011.): Effect of exogenous hydrogen sulfide on wheat seed germination under salt stress. *Modern Agricultural Science Technology* 20, 40–42.
2. Chen, J., Wang, W.H., Wu, F.H., You, C.Y., Liu, T.W., Dong, X.J., He, J.X., Zheng, H.L.(2012.): Hydrogen sulfide alleviates aluminum toxicity in barley seedlings. *Plant Soil* 362, 301–318.
3. Christou, A., Manganaris, G., Papadopoulos, I., Fotopoulos, V. (2011.): The importance of hydrogen sulfide as a systemic priming agent in strawberry plants grown under key abiotic stress factors. Abstract, 4th International Conference Plant Abiotic Stress: From Systems Biology to Sustainable Agriculture, Limassol, Cyprus, 47.
4. Farooq, M., Basra, S.M.A., Saleem, B.A., Nafees, M., Chishti, S.A. (2005.): Enhancement of tomato seed germination and seedling vigor by osmopriming. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences* 42, 3-4.
5. Farooq, M., Basra, S.M.A., Rehman, H., Ahmad, N., Salem, B.A. (2007.): Osmopriming improves the germination and early seedling growth of melons (*Cucumis melo* L.). *Pakistan Journal of Agricultural Sciences* 44, 3.
6. Glodić, S. (2014.): Utjecaj sumporovodika ( $H_2S$ ) na vigor sjemena krastavca (*Cucumis sativus* L.) u uvjetima solnog stresa. Sveučilište J.J. Strossmayera, Poljoprivredni fakultet Osijek, Diplomski rad, str. 50.
7. Guberac, V., Martincic, J., Maric, S. (1998.): Influence of seed size on germinability, germ length, rootlet length and grain yield in spring oat. *Bodenkultur* 49, 13-18.
8. Jin, Z.P., Shen, J.J., Qiao, Z.J., Yang, G.D., Wang, R., Pei, Y.X. (2011.): Hydrogen sulfide improves drought resistance in *Arabidopsis thaliana*, *Biochemical and Biophysical Research Communications* 414, 481–486.
9. Kawade, R.M., Ugale, S.D., Patil, R.B. (1987.): Effect of seed size on germination, seedling vigor and test weight of Pearl millet. *Seed Research* 15, 210–213.
10. Lešić, R., Borošić, J., Butorac, I., Herak-Ćustić, M., Poljak, M., Romić, D. (2004.): *Povrčarstvo*. Zrinski d.d. Čakovec.
11. Li, Z.G. (2012.): Hydrogen sulfide: a multifunctional gaseous molecule in plants. *Russian Journal of Plant Physiology* 60 (6), 733–740.
12. Li, Z.G., Gong, M., Liu, P. (2012.): Hydrogen sulfide is a mediator in  $H_2O_2$ -induced seed germination in *Jatropha curcas*. *Acta Physiologiae Plantarum* 34, 2207–2213.

13. Lisjak, M. (2012.): Interakcije H<sub>2</sub>S i NO u prijenosu signala u listovima uročnjaka (*Arabidopsis thaliana* L.) i paprike (*Capsicum annuum* L.). Sveučilište J.J. Strossmayera, Poljoprivredni fakultet Osijek, Doktorski rad str. 120.
14. Lisjak, M., Srivastava, N., Teklić, T., Civale, L., Lewandowski, K., Wilson, I., Wood, M.E., Whiteman, M., Hancock, J.T. (2010.): A novel hydrogen sulfide donor causes stomatal opening and reduces nitric oxide accumulation. *Plant Physiology Biochemistry* 48, 931–935.
15. Lisjak, M., Špoljarević, M., Agić, D., Andrić, L. (2009.): Praktikum iz fiziologije bilja-ispitivanje kakvoće sjemena, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek.
16. Liu, J., Hou, L.X., Liu, G.H., Liu, X., Wang, X.C. (2011.): Hydrogen sulfide induced by nitric oxide mediates ethylene-induced stomatal closure of *Arabidopsis thaliana*. *Chinese Science Bulletin* 56, 3547–3553.
17. Mauromicale, G., Cavallaro, V. (1995.): Effects of seed osmopriming on germination of tomato at different water potential. *International Seed Testing Association, Zürich* 23 (2), 393-403.
18. Nawaz, J., Hussain, M., Jabbar, A., Nadeem, G.A., Sajid, M., Subtain, M., Shabbir, I. (2013.): Seed Priming a technique. *International Journal of Agriculture Crop Sciences* 6 (20), 1373-1381.
19. Paradiković, N. (2009.): Opće i specijalno povrćarstvo i cvjećarstvo. Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek.
20. Pevalek-Kozlina, B. (2003.): Fiziologija bilja. Profil, Zagreb.
21. Poštić, D., Momirović, N., Bročić, Z., Dolijanović, Ž., Trkulja, N., Dolovac, N., Ivanović Ž. (2010.): Ocena kvaliteta semena paradajza (*Lycopersicum esculentum* L.). 30. Radovi Sa XXV Savetovanja Agronoma, Veterinara i Tehnologa 17, 531-535.
22. Rahimi, A., Biglarifard, A., Mirdehghan, H., Borghei, S.F. (2011.): Influence of NaCl salinity on growth analysis of strawberry cv. camarosa. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry* 4, 145-156.
23. Rennenberg, H. (1983.): The fate excess of sulfur in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology* 35, 121–153.
24. Pimpini, F., Filippini, M.F., Sambo, P., Gianquinto, G. (2002.): The effect of seed quality (seed colour variation) on storability, germination temperature and field performance of radicchio. *Seed Science & Tehnology* 30, 392-402.
25. Roy, S.K.S., Hamid, A., Giashuddin Miah, M., Hashem, A. (1996.): Seed size variation and its effects on germination and seedling vigour in rice. *Journal of Agronomy and Crop Science* 176, 79-82.

26. Sadegh, H., Khazaei, F., Yari, L., Sheidaei, S. (2010.): Effect of seed osmopriming on seed germination behavior and vigor of soybean (*Glycine max* [L.] Merr.). *Journal of Agricultural and Biological Science* 6, 39-43.
27. Sekiya, J., Schmidt, A., Wilson, L.G., Filner, P., (1982.): Emission of hydrogen sulfide by leaf tissue in response to L-cysteine. *Plant Physiology* 70, 430–436.
28. Shan, C.J., Zhan, S.L., Li, D.F., Zhao, Y.Z., Tian, X.L., Zhao, X.L., Wu, Y.X., Wei, X.Y., Liu, R.Q. (2011.): Effects of exogenous hydrogen sulfide on the ascorbate and glutathione metabolism in wheat seedlings leaves under water stress. *Acta Physiologiae Plantarum* 33, 2533–2540.
29. Sivritepe, N., Sivritepe, H.O., Eris, A. (2003.): The effects of NaCl priming on salt tolerance in melon seedling grown under saline condition. *Scientia Horticulturae* 97, 229-237.
30. Ünlükara, A., Cemek, B., Karaman, S., Erşahin, S. (2008.): Response of lettuce (*Lactuca sativa* var. *crispa*) to salinity of irrigation water. *Journal of Crop and Horticultural Science* 36, 256-273.
31. Vukadinović, V., Lončarić, Z. (1997.): Ishrana bilja. Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek. 84-85.
32. Wang, B.L., Shi, L., Li, Y.X., Zhang, W.H. (2010.): Boron toxicity is alleviated by hydrogen sulfide in cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings. *Planta* 231, 1301–1309.
33. Wang, R. (2011.) Physiological implications of hydrogen sulfide: a whiff exploration that blossomed. *Physiological Review*, Department of Biology, Lakehead University, Thunder Bay, Ontario, Canada 92, 791– 896.
34. Wang, Y.Q., Li, L., Cui, W.T., Xu, S., Shen, W.B., Wang, R. (2011.): Hydrogen sulfide enhances alfalfa (*Medicago sativa*) tolerance against salinity during seed germination by nitric oxide pathway. *Plant Soil* 351, 107–119.
35. Wilson, L.G., Bressan, R.A., Filner, P. (1978.): Lightdependent emission of hydrogen sulfide from plants. *Plant Physiology* 61, 184–189.
36. Yadav, S.K. (2009.): Heavy metals toxicity in plants: an overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plants. *South African Journal of Botany* 76, 167–179.
37. Zhang, H., Tan, Z.Q., Hu, L.Y., Wang, S.H., Luo, J.P., Jones, R.L. (2010.a): Hydrogen sulfide alleviates aluminum toxicity in germinating wheat seedlings. *Journal of Integrative Plant Biology* 52, 556–567.

38. Zhang, H., Wang, M.J., Hu, L.Y., Wang, S.H., Hu, K.D., Bao, L.J., Luo, J.P. (2010.b): Hydrogen sulfide promotes wheat seed germination under osmotic stress. *Russian Journal of Plant Physiology* 57, 532–539.

**Internet stranice:**

<http://bs.wikipedia.org/wiki/Krastavac> / Pristupljeno: 8.9.2014.

<http://poljoinfo.com/showthread.php?195-Krastavci-korni%C5%A1oni/page13> / Pristupljeno: 9.10.2014.

## 8. SAŽETAK

Osmoprimiranje je tehnika kojom se sjeme različitih biljnih vrsta djelomično ili u potpunosti hidrira s vodom ili pak otopinama različitih osmotskih vrijednosti s ciljem intenziviranja fizioloških procesa, kako bi se pospješilo i ubrzalo klijanje. U našem istraživanju je sjeme krastavca (*Cucumis sativus* L.) iz tri proizvodne godine, osmoprimirano s 300  $\mu$ M otopinama dva različita donora sumporovodika: sporootpušajući donor GYY4137 i brzootpuštajući donor NaHS. Nakon imbibicije sjeme je osušeno i naklijavano na filter papiru navlaženom s 25 mM NaCl, odnosno vodom. Osnovna hipoteza je bila da H<sub>2</sub>S utječe na klijavost i pokazatelje vigora klijanaca kod sjemena krastavca naklijavanog u prisustvu soli te da postoje značajne razlike između primijenjenih donora H<sub>2</sub>S; NaHS i GYY4137. Pri osmoprimiranju s NaHS, najstarije sjeme iz 2009./2010. je imalo značajno nižu standardnu klijavost i energiju klijanja dok u varijanti osmoprimiranja s GYY4137 nisu utvrđene značajne razlike između godina deklaracije sjemena u navedena dva parametra. Klijanci dobiveni iz sjemena proizvodne godine 2010./2011. su u prosjeku imali najmanje mase hipokotila, korijena i kotiledona ali i najmanju prosječnu masu sjemena. Međutim, kod sjemena iz navedene godine deklaracije, tretman s GYY4137 je rezultirao značajno većom masom hipokotila u usporedbi s varijantom osmoprimiranja s NaHS. Također je utvrđen stimulativni učinak otopine NaCl na masu hipokotila u prosjeku za sve godine deklaracije i pri obje varijante osmoprimiranja. Dobiveni rezultati upućuju da osmoprimiranje s GYY4137 može povećati klijavost sjemena te akumulaciju svježih tvari u hipokotilima klijanaca razvijenih iz sjemena manje mase.



## 9. SUMMARY

Osmopriming is a technique in which the seed of different plant species is partially or fully hydrated with water or solutions with different osmotic potentials aiming to intensify physiological processes, what improves and excellerates germination. In our study cucumber seed (*Cucumis sativus* L.) from three different production years was osmoprimed with 300  $\mu$ M solutions of two different hydrogen sulphide donors: slowly releasing donor GYY4137 and fast releasing donor NaHS. After imbibition, seed was dried and germinated on filter paper moistened with 25 mM NaCl solution or water, respectively. Main hypothesis was that H<sub>2</sub>S influences germination and vigour of cucumber seedlings germinated in the presence of salt, and that applied H<sub>2</sub>S donors (NaHS and GYY4137) will differ significantly in their effect. In treatment with NaHS the oldest seed from production year 2009/2010 had significantly lower standard germination and germination energy, while in treatment with GYY4137 differences among seed production years in aforementioned parameters were not established. Seedlings germinated from seed produced in 2010/2011, had the lowest mass of hypocotyls, roots and cotyledons but also the lowest seed mass. However, seed from this year of production treated with GYY4137, developed significantly higher hypocotyl mass as compared to the treatment with NaHS. Also, stimulative effect of NaCl solution on mass of hypocotyls was seen regarding all years of seed production as well as in both osmopriming variants. The obtained results suggest that osmopriming with GYY4137 can increase seed germination rate and accumulation of fresh mater in hypocotyls of seedlings developed from smaller seed.

## 10. POPIS TABLICA

**Tablica 1.** Sistematika krastavca (*Cucumis sativus* L.). (Stranica 2.)

**Tablica 2.** Udio osnovnih hranjivih tvari, u gramima na 100 g svježeg ploda krastavca. (Stranica 5.)

**Tablica 3.** Udio vitamina u krastavcu (mg/100g). (Stranica 6.)

**Tablica 4.** Gnojidba krastavca prije sadnje (Parađiković 2009.). (Stranica 7.)

**Tablica 5.** Prihrana krastavca sustavom kap po kap (Parađiković 2009.). (Stranica 8.)

**Tablica 6.** Značajnost utjecaja godine proizvodnje sjemena (2009./2010., 2010./2011., 2011./2012.), i osmoprimiranja sjemena donorima H<sub>2</sub>S (300 μM GYY4137, 300 μM NaHS), solnog stresa u klijanju (kontrola i NaCl) i njihovih interakcija na energiju klijanja (EK), standardnu klijavost (SK) (%), masu hipokotila (mHIP), kotiledona (mKOT) i korijena (mKOR) (g/biljci). (Stranica 20.)

**Tablica 7.** Značajnost utjecaja godine proizvodnje sjemena (2009./2010., 2010./2011., 2011./2012.), solnog stresa u klijanju (kontrola i NaCl) i njihovih interakcija pri različitim varijantama osmoprimiranja sjemena donorima H<sub>2</sub>S (300 μM GYY4137, 300 μM NaHS) na energiju klijanja (EK) i standardnu klijavost (SK) (%). (Stranica 21.)

**Tablica 8.** Značajnost utjecaja godine proizvodnje sjemena (2009./2010., 2010./2011., 2011./2012.), solnog stresa u klijanju (kontrola i NaCl) i njihovih interakcija pri različitim varijantama osmoprimiranja sjemena donorima H<sub>2</sub>S (300 μM GYY4137, 300 μM NaHS) na masu hipokotila (mHIP), masu kotiledona (mKOT) i masu korijena (mKOR) (g/biljci). (Stranica 22.)

**Tablica 9.** Značajnost utjecaja godine proizvodnje sjemena (2009./2010., 2010./2011., 2011./2012.), osmoprimiranja sjemena donorima H<sub>2</sub>S (300 μM GYY4137, 300 μM NaHS) i njihovih interakcija pri solnom stresu u klijanju (kontrola i NaCl) na energiju klijanja (EK) i standardnu klijavost (SK) (%). (Stranica 23.)

**Tablica 10.** Značajnost utjecaja godine proizvodnje sjemena (2009./2010., 2010./2011., 2011./2012.), osmoprimiranja sjemena donorima H<sub>2</sub>S (300 μM GYY4137, 300 μM NaHS) i njihovih interakcija pri solnom stresu u klijanju (kontrola i NaCl) na masu hipokotila (mHIP), kotiledona (mKOT) i korijena (mKOR) (g/biljci). (Stranica 24.)

**Tablica 11.** Značajnost utjecaja osmoprimiranja sjemena donorima H<sub>2</sub>S (300 μM GYY4137, 300 μM NaHS), solnog stresa u klijanju (kontrola i NaCl) i njihovih interakcija po godinama proizvodnje sjemena (2009./2010., 2010./2011., 2011./2012.) na energiju klijanja (EK) i standardnu klijavost (SK) (%). (Stranica 25.)

**Tablica 12.** Značajnost utjecaja osmoprimiranja sjemena donorima H<sub>2</sub>S (300 μM GYY4137, 300 μM NaHS), solnog stresa u klijanju (kontrola i NaCl) i njihovih interakcija po godinama proizvodnje sjemena (2009./2010., 2010./2011., 2011./2012.) na masu (g) hipokotila (mHIP), kotiledona (mKOT) i korijena (mKOR) (g/biljci). (Stranica 26.)

## **11. POPIS SLIKA**

**Slika 1.** Krastavac (*Cucumis sativus* L.) Pariški kornišon (Stranica 2.)

**Slika 2.** Sjeme krastavca (Pariški kornišon) (Stranica 3.)

**Slika 3.** Uzgoj kornišona na armaturi (Pariški kornišon) (Stranica 7.)

**Slika 4.** Biosinteza H<sub>2</sub>S u biljkama (Stranica 12.)

**Slika 5:** Postavljanje pokusa (Stranica 19.)

## 12. POPIS GRAFIKONA

**Grafikon 1.** Energija klijanja sjemena krastavca u postocima (%). Razlike između proizvodnih godina sjemena (2009./2010.; 2010./2011.; 2011./2012.) prikazane po varijantama osmoprimiranja (NAHS i GYY4137). (Stranica 27.)

**Grafikon 2.** Standardna klijavost sjemena krastavca u postocima (%). Razlike između proizvodnih godina sjemena (2009./2010.; 2010./2011.; 2011./2012.) prikazane po varijantama osmoprimiranja (NAHS i GYY4137). (Stranica 28.)

**Grafikon 3.** Razlike između proizvodnih godina (2009./2010.; 2010./2011.; 2011./2012.) prikazane po varijantama, u masi hipokotila (mHIP), kotiledona (mKOT) i korijena (mKOR). (Stranica 29.)

**Grafikon 4.** Prosječna masa 50 sjemenki u gramima. Razlike između proizvodnih godina (2009./2010.; 2010./2011.; 2011./2012.) sjemena krastavca. (Stranica 30.)

**Grafikon 5.** Masa hipokotila klijanaca u gramima (g). Razlike između proizvodnih godina sjemena (2009./2010.; 2010./2011.; 2011./2012.) prikazane po varijantama osmoprimiranja sjemena (NaHS i GYY4137). \*Statistički značajna razlika između tretmana donorima H<sub>2</sub>S. (Stranica 31.)

**Grafikon 6.** Masa korijena klijanaca krastavca u gramima (g). Razlike između proizvodnih godina sjemena (2009./2010.; 2010./2011.; 2011./2012.) prikazane po varijantama osmoprimiranja sjemena (NaHS i GYY4137). (Stranica 32.)

**Grafikon 7.** Masa kotiledona klijanaca krastavca u gramima (g). Razlike između proizvodnih godina sjemena (2009./2010.; 2010./2011.; 2011./2012.) prikazane po varijantama osmoprimiranja sjemena (NaHS i GYY3147). (Stranica 32.)

**Grafikon 8.** Masa hipokotila klijanaca krastavca u gramima (g). Razlike između varijanti stresa pri klijanju (kontrola i NaCl) prikazane po varijantama osmoprimiranja sjemena (NaHS i GYY4137). (Stranica 33.)

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera  
Poljoprivredni fakultet u Osijeku  
Sveučilišni diplomski studij, smjer Povrćarstvo i cvjećarstvo

Diplomski rad

### UTJECAJ SUMPOROVODIKA (H<sub>2</sub>S) NA VIGOR SJEMENA KRASTAVCA (*Cucumis sativus* L.) U UVJETIMA SOLNOG STRESA

Bojan Fališevac

#### Sažetak:

Osmoprimiranje je tehnika kojom se sjeme različitih biljnih vrsta djelomično ili u potpunosti hidrira s vodom ili pak otopinama različitih osmotskih vrijednosti s ciljem intenziviranja fizioloških procesa, kako bi se pospješilo i ubrzalo klijanje. U našem istraživanju je sjeme krastavca (*Cucumis sativus* L.) iz tri proizvodne godine, osmoprimirano s 300 μM otopinama dva različita donora sumporovodika: sporootpušajući donor GYY4137 i brzootpušajući donor NaHS. Nakon imbibicije sjeme je osušeno i naklijavano na filter papiru navlaženom s 25 mM NaCl, odnosno vodom. Osnovna hipoteza je bila da H<sub>2</sub>S utječe na klijavost i pokazatelje vigora klijanaca kod sjemena krastavca naklijavanog u prisustvu soli te da postoje značajne razlike između primijenjenih donora H<sub>2</sub>S; NaHS i GYY4137. Pri osmoprimiranju s NaHS, najstarije sjeme iz 2009./2010. je imalo značajno nižu standardnu klijavost i energiju klijanja dok u varijanti osmoprimiranja s GYY4137 nisu utvrđene značajne razlike između godina deklaracije sjemena u navedena dva parametra. Klijanici dobiveni iz sjemena proizvodne godine 2010./2011. su u prosjeku imali najmanje mase hipokotila, korijena i kotiledona ali i najmanju prosječnu masu sjemena. Međutim, kod sjemena iz navedene godine deklaracije, tretman s GYY4137 je rezultirao značajno većom masom hipokotila u usporedbi s varijantom osmoprimiranja s NaHS. Također je utvrđen stimulativni učinak otopine NaCl na masu hipokotila u prosjeku za sve godine deklaracije i pri obje varijante osmoprimiranja. Dobiveni rezultati upućuju da osmoprimiranje s GYY4137 može povećati klijavost sjemena te akumulaciju svježe tvari u hipokotilima klijanaca razvijenih iz sjemena manje mase.

**Rad je izrađen pri:** Poljoprivredni fakultet u Osijeku

**Mentor:** doc.dr.sc. Miroslav Lisjak

**Broj stranica:** 47

**Broj slika i grafikona:** 13

**Broj tablica:** 12

**Broj literaturnih navoda:** 38

**Broj priloga:** 0

**Jezik izvornika:** Hrvatski

**Ključneriječi:** H<sub>2</sub>S, NaHS, GYY4137, osmoprimiranje, krastavac, sjeme

**Datum obrane:**

**Stručno povjerenstvo za obranu**

**1. prof.dr.sc. Tihana Teklić, predsjednik**

**2. doc.dr.sc. Miroslav Lisjak, mentor**

**3. prof.dr.sc. Nada Parađiković, član**

**Rad je pohranjen u:** Knjižnica Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, Sveučilište u Osijeku, Kralja Petra Svačića 1d.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek**  
**Faculty of Agriculture University**  
**University Graduate Studies, course Vegetable and flower growing**

**Graduate thesis**

INFLUENCE OF HYDROGEN SULFIDE (H<sub>2</sub>S) ON CUCUMBER  
(*Cucumis sativus* L.) SEED VIGOR IN SALT STRESS CONDITIONS

Bojan Fališevac

### Summary:

Osmopriming is a technique in which the seed of different plant species is partially or fully hydrated with water or solutions with different osmotic potentials aiming to intensify physiological processes, what improves and excellerates germination. In our study cucumber seed (*Cucumis sativus* L.) from three different production years was osmoprimed with 300 μM solutions of two different hydrogen sulphide donors: slowly releasing donor GYY4137 and fast releasing donor NaHS. After imbibition, seed was dried and germinated on filter paper moistened with 25 mM NaCl solution or water, respectively. Main hypothesis was that H<sub>2</sub>S influences germination and vigour of cucumber seedlings germinated in the presence of salt, and that applied H<sub>2</sub>S donors (NaHS and GYY4137) will differ significantly in their effect. In treatment with NaHS the oldest seed from production year 2009/2010 had significantly lower standard germination and germination energy, while in treatment with GYY4137 differences among seed production years in aforementioned parameters were not established. Seedlings germinated from seed produced in 2010/2011, had the lowest mass of hypocotyls, roots and cotyledons but also the lowest seed mass. However, seed from this year of production treated with GYY4137, developed significantly higher hypocotyl mass as compared to the treatment with NaHS. Also, stimulative effect of NaCl solution on mass of hypocotyls was seen regarding all years of seed production as well as in both osmopriming variants. The obtained results suggest that osmopriming with GYY4137 can increase seed germination rate and accumulation of fresh mater in hypocotyls of seedlings developed from smaller seed.

**Thesis performed at:** Faculty of Agriculture in Osijek

**Mentor:** PhD Miroslav Lisjak, assistant professor

**Number of pages:** 47

**Number of figures:** 13

**Number of tables:** 12

**Number of references:** 38

**Number of appendices:** 0

**Original in:** Croatian

**Key words:** H<sub>2</sub>S, NaHS, GYY4137, osmopriming, cucumber, seed

**Thesis defended on date:**

**Reviewers:**

1. PhD *Tihana Teklić*, full professor
2. PhD *Miroslav Lisjak*, assistant professor
3. PhD *Nada Parađiković*, full professor

**Thesis deposited at:** Library, Faculty of Agriculture in Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Kralja Petra Svačića 1d.