

# UTJECAJ POLIETILEN GLIKOLA I ASKORBINSKE KISELINE NA RANI RAST CRVENE DJETELINE

---

Šujdović, Slobodan

Undergraduate thesis / Završni 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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:265499>

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](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA**  
**POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU**

Slobodan Šujdović, apsolvent

Preddiplomski studij smjera Bilinogojstvo

**UTJECAJ POLIETILEN GLIKOLA I ASKORBINSKE KISELINE NA RANI**  
**RAST CRVENE DJETELINE**

**Završni rad**

Osijek, 2014.

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA**  
**POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU**

Slobodan Šujdović, apsolvent

Preddiplomski studij smjera Bilinogojstvo

**UTJECAJ POLIETILEN GLIKOLA I ASKORBINSKE KISELINE NA RANI  
RAST CRVENE DJETELINE**

**Završni rad**

Povjerenstvo za ocjenu i obranu završnog rada:

1. izv. prof. dr. sc. Drago Bešlo, predsjednik
2. dr. sc. Dejan Agić, mentor
3. prof. dr. sc. Tihana Teklić, član

Osijek, 2014.

## Sadržaj:

<b>1. Uvod</b> .....	1
<b>1.1. Tipovi crvene djeteline</b> .....	1
<b>1.2. Klasifikacija i morfološka svojstva</b> .....	2
<b>1.3. Korijen</b> .....	3
<b>1.4. Nadzemni organi</b> .....	3
<b>1.5. Stabljika</b> .....	4
<b>1.6. List</b> .....	5
<b>1.7. Cvijet</b> .....	6
<b>1.8. Cvat</b> .....	7
<b>1.9. Plod</b> .....	7
<b>1.10. Sjeme</b> .....	8
<b>1.11. Agroekološki uvjeti za uzgoj crvene djeteline</b> .....	8
<b>1.12. Zahtjevi prema zemljištu</b> .....	9
<b>1.13. Agrotehnika u proizvodnji crvene djeteline</b> .....	10
1.13.1. Plodored.....	10
1.13.2. Obrada.....	10
1.13.3. Gnojidba.....	11
1.13.4. Sjetva.....	11
1.13.5. Njega.....	12
1.13.6. Način i vrijeme korištenja.....	12
1.13.7. Proizvodnja sjemena.....	13
1.13.8. Žetva sjemenske crvene djeteline.....	14
<b>1.14. Klijanje sjemena</b> .....	15
<b>1.15. Vodni stres</b> .....	15
<b>1.16. Polietilenglikol</b> .....	16
<b>1.17. Askorbinska kiselina</b> .....	16
<b>1.18. Cilj istraživanja</b> .....	17
<b>2. Materijali i metode</b> .....	17
2.1. Materijali.....	17
2.2. Metode.....	18
<b>3. Rezultati i rasprava</b> .....	19
3.1. Klijavost.....	19

3.2 Dužina korjenčica.....	21
<b>4. Zaključak .....</b>	<b>23</b>
<b>5. Popis literature .....</b>	<b>24</b>
<b>6. Sažetak .....</b>	<b>27</b>
<b>7. Summary .....</b>	<b>28</b>
<b>8. Popis tablica .....</b>	<b>29</b>
<b>9. Popis slika .....</b>	<b>30</b>
<b>10. Popis grafikona .....</b>	<b>31</b>
<b>11. Temeljna dokumentacijska kartica .....</b>	<b>32</b>

## 1. Uvod

Crvena djetelina (*Trifolium pratense* L.), je jedna od najznačajnijih višegodišnjih krmnih leguminoza, može se uzgajati u čistoj kulturi ili u smjesi s travama te koristiti u ishrani stoke kao zelena masa, sijeno i silaža. Ova kultura može rasti u različitim okolišnim uvjetima, npr. na tipovima tala sa širokim rasponom pH vrijednosti. Usjev se najčešće koristi 2 - 3 godine nakon čega produktivnost crvene djeteline značajno pada. U našim agroekološkim uvjetima ova kultura u trogodišnjem ciklusu ostvari prosječne godišnje prinose zelene mase od 45,61 t/ha i suhe tvari od 8.92 t/ha u nizinskom području, odnosno 54,14 t/ha i 9,86 t/ha u brdsko-planinskom. Može dati krmu visoke kvalitete koja u zelenoj masi ima 18% suhe tvari, od čega oko 2,5% probavljivih bjelančevina, te celuloze oko 4,5%. Sijeno sadrži oko 85% suhe tvari, od čega je oko 9% probavljivih bjelančevina, te oko 25% celuloze. Crvena djetelina sadrži vitamine B1 i B2, karotin (provitamin A), mineralne tvari P, K, Ca, Mg itd. Ova biljka u tlu godišnje ostavlja i do 100 kg N/ha a također ostavlja i veliku masu korijenova sustava, čime povoljno utječe na strukturu tla, pa je samim tim vrlo značajna kultura u plodoredu. Crvena djetelina se može sijati u dva termina a to su proljetni i kasno ljetni, preciznije jesenski termin, tako da se klijanje sjemena i početni porast odvijaju pri vrlo različitim temperaturama i stanju vlažnosti tla.

### 1.1. Tipovi crvene djeteline

Kulturne forme crvene djeteline se mogu prije svega razvrstati prema vremenu sazrijevanja: rani (južni) tip i kasni (sjeverni) tip. Južni tip crvene djeteline se odlikuje nešto nižom, tanjom i nježnijom stabljikom. Sorte su prinosnije i daju 2 - 3 otkosa tijekom vegetacije. Ovaj tip crvene djeteline je osjetljiv na zimu pogotovo golomrazice, ali sušu u tlu i u zraku puno bolje podnosi. Odlikuje se većim sadržajem rastvorljivih šećera u biljnoj masi. Uzgaja se u južnim dijelovima zemlje. Sjeverni tip crvene djeteline se karakterizira višljom stabljikom, većim brojem izdanaka u krunici, jače razvijenom krunicom. Stabljike su deblje i grublje sa sitnijim listom i manjom količinom lišća. Cvjetaju i plod nose tek u

drugo godini za razliku od južnog tipa koje to rade već u prvoj godini. Otporna je na zimu, ali sušu teško podnosi. Pri jačoj zračnoj suši se teško oplodava. Sijeno sadrži u prosjeku manje za 2,0% sirovih proteina od južnog tipa, Slabije se regenerira, daje do 2 otkosa.

## 1.2. Klasifikacija i morfološka svojstva

Vrsta *Trifolium pratense* L. pripada botaničkoj porodici *Fabaceae* ili mahunarkama. Taj naziv porodica je dobila prema plodu - mahuni. Ovu porodicu čini oko 19.500 ekonomski važnih vrsta.

CARSTVO:	Plantae
PODCARSTVO:	Tracheobionta
PODODJELJAK:	Spermatophyta
ODJELJAK:	Magnoliophyta
RAZRED:	Magnoliopsida - Dicotyledoneae
PODRAZRED:	Rosidae
RED:	Fabales
PORODICA:	Fabaceae
ROD:	Trifolium L.
VRSTA:	Trifolium pratense L.

### VARIJETETI:

- Trifolium pratense var. pratense – široko rasprostranjena
- Trifolium pratense var. americanum – sjevero-istočna europa
- Trifolium pratense var. frigidum – planine centralne i južne Europe
- Trifolium pratense var. maritum – obala južnog Baltičkog mora
- Trifolium pratense var. parviflorum – Europa
- Trifolium pratense var. sativum Mediteran
- Trifolium pratense var. villosum – Alpe

### 1.3. Korijen

Crvena djetelina ima jak i dubok korijen: glavni korijen je vretenast, raste duboko 1,5- 2,0 m, debljina mu je ispod krunice u prosjeku oko 1 cm, a dostiže debljinu 2 - 2,5 cm. Ima krupne i preko 1m dugačke bočne žile koje se razvijaju na glavnom korijenu do dubine tla oko 40 cm. Višegodišnja crvena djetelina razvija glavni korijen jače po dubini, a dvogodišnja i trogodišnja ima plići korijen. Korijen se razvija više u prvoj godini, a znatno manje u drugoj godini. Crvena djetelina ima dobro razvijenu simbiozu, posebno sa sojevima bakterija *Rhizobium leguminosarum* bv. *Trifolii*. Kvržice su najčešće okrugle, brojne na rastresitim tlima, često grupirane, međusobno srasle, dok su na zbijenim tlima raspoređene posvuda po korijenovom sustavu. Kvržice su velike 0,6 - 1 mm u presjeku, u početku razvoja su ružičaste, starije su mrke boje. Najbolje su razvijene do 20 cm dubine ali dopiru i do 40 cm zemljišnog profila (Slika 1.).



Slika 1. Korijen crvene djeteline

(<http://www.sciencephoto.com/media/13096/view>)

### 1.4. Nadzemni organi

Crvena djetelina je dikotledona biljka, pri nicanju iznosi kotiledone na površinu. Kotiledoni su elipsoidni, više okrugli, horizontalni, svijetlo zelene boje, sočni i glatki. Veličine su 3 - 4 mm na kratkoj dršci. Prvi listić djeteline je srcolikog oblika, prekriven dlačicama, na tankoj 1 - 1,5 cm dugoj dršci. Poslije dvanaest do četrnaest dana djetelina razvija prave troperaste listove i primarno stabalce, koje se u prvim fazama razvija



usporeno zbog ubrzanog razvoja korijenovog sustava. U prvoj godini, već poslije šest do osam tjedana intenzivno se razvija rozeta iznad korijenovog vrata. Iz nje se svake godine u tijeku vegetacije iz pupoljaka začetih u prethodnoj godini razvijaju novi jednogodišnji izdanci. Iz rozete se, još u prvoj godini ovisno od tipa - sorte i agroekoloških uvjeta, može razviti pri drugom košenju šest do deset stabljika. U drugoj godini može dostići šesnaest do osamnaest stabljika, ovisno od gustoće sklopa, može dostići i do 50 stabala na čemu se zasniva snaga regeneracije. Krunica crvene djeteline se razvija na samoj površini tla i ne uvlači se u tlo. Zbog toga djetelina bolje pokriva tlo, i štiti ga od erozije, bolje od lucerne (Slika 2.).



Slika 2. Nadzemni organi crvene djeteline

([http://www.wpclipart.com/plants/clover/Red\\_Clover.png.html](http://www.wpclipart.com/plants/clover/Red_Clover.png.html))

## 1.5. Stabljika

Stabljika crvene djeteline je jednogodišnja, zeljasta, prosječno visoka 70 cm, a ponekad kod prvog otkosa dostiže 90 - 100 cm, razgranata je od osnove i po visini. U razdoblju razvoja do pupoljanja je nježna, poluispunjena ili djelimično šuplja, malo koljenasta; uspravna i dosta stabilna, poliježe samo kada je pregust sklop, visoka i u slučaju olujne kiše. U osnovi raste u početku malo ukoso, potom obično uspravno zbog međusobnog potiskivanja u busu. Stabljika je hranjiva do početka cvjetanja, kada počinje

biti gruba zbog povećanja lignoceluloze. Stabljika i bočne grane se završavaju glavičastim cvatima (Slika 3.).



Slika 3. Stabljika crvene djeteline

([http://chestofbooks.com/flora-plants/weeds/Fodder-Pasture-Plants/Red-Clover-Trifolium-Pratense-L.html#.VA2wgfl\\_suc](http://chestofbooks.com/flora-plants/weeds/Fodder-Pasture-Plants/Red-Clover-Trifolium-Pratense-L.html#.VA2wgfl_suc))

## 1.6. List

List crvene djeteline je složen i troperast. Lisna drška je u početku vegetacije dugačka, oko 12 - 15 cm. Kasnije je sve kraća, neposredno ispod cvata list je skoro sjedeći. U osnovi lisne drške razvijen je rukavac koji skoro obuhvaća stabljiku, rukavac s obje strane ima dva šiljasta zaliska blijedo zelene boje. Listići su dužine 2 - 4 cm, a široki su ~ 1,5 cm. Boja lista je tamnozeleno s rijetkim tankim dlačicama po površini. Na listićima se nalaze karakteristične poprečne pjege, simetrične su, svjetlije su boje, obično sivozelene. Oblik, položaj, boja ovih pjege varira dosta kod različitih sorata. Poliploidne crvene djeteline imaju znatno krupniji list, dok karakteristične pjege kod njih nema. Slično lucerni, list je najkrupniji kod crvene djeteline u vrijeme pupanja a kasnije je nešto sitniji. Udjel lista u cijeloj biljnoj masi je dosta velik, a iznosi 40%. (Slika 4.).



Slika 4. List crvene djeteline

(<http://www.ediblewildfood.com/red-clover.aspx>)

## 1.7. Cvijet

Crvena djetelina ima karakterističan cvijet za mahunarke. Čašični i krunični listići su uski i dugački zbog međusobnog stisnutog položaja. Cvjetovi su grupirani u glavičaste tj. izdužene cvatove eliptičnog oblika, koji se nalaze na vrhovima glavnih stabljika i bočnih grana. Boja cvjetova je ružičasto do ljubičasto-crvena (Slika 5.). Oplodnja je najčešće entomofilna, najčešće uz pomoć bumbara i pčela. Cvjetovi luče dosta nektara što je vrlo bitno iz ovog kuta gledanja. Autogamije gotovo da i nema.



Slika 5. Cvijet crvene djeteline

(<http://val-znanje.com/index.php/component/content/section/4?layout=blog&start=63>)

## 1.8. Cvat

Cvatovi crvene djeteline su dužine između 3 i 5 cm, a u prosjeku 3 - 4 cm. U njima se obično nalazi 40 - 50, a varira od 30 - 120 cvjetova. Cvjetovi su zbijeni, sjedeći na izduženoj cvjetnoj loži, vretenastog oblika (Slika 6.). Najčešće je jedan ali često srećemo i po dva cvata zajedno. Cvjetanje je sukcesivno od osnove prema vrhu cvati, traje 5 - 6 dana, dok cvjetanje biljaka u cjelini traje duže, 15 - 20 dana ponekad i duže. Poslije oplodnje počinje sazrijevanje. Cvati dobivaju tamnomrku boju od sasušenih kruničnih listića.



Slika 6. Cvat crvene djeteline

(<http://www.coolinarika.com/clanak/ljekovitost-djeteline/>)

## 1.9. Plod

Crvena djetelina ima plod jednosjemenu mahunu (Slika 7.). Mahuna je veličine 2 - 3 mm, sive boje, zavijena u čašične, šiljaste i dlakave listiće u složenom cvatu. U zreлом stanju mahune vrlo lako opadaju, što treba imati u vidu pri žetvi sjemena.



Slika 7. Plod crvene djeteline

(<http://www.plantatlas.eu/za.php>)

## 1.10. Sjeme

Sjeme crvene djeteline je sitno, srcolikog oblika, malo spljošteno s nešto udubljenim pupkom (hilumom), veličine 1,5 do 2 mm. Boja svježeg sjemena je žuta s modro plavičastom do ružičastom nijansom, starije sjeme je smeđe boje (Slika 8.). Broj sjemenki u jednom gramu kreće se od 650 - 750. Klijavost sjemena traje 4 - 5 godina. Masa 1000 sjemenki iznosi 1,7 g.



Slika 8. Sjeme crvene djeteline

(<http://www.panoramio.com/photo/51413556>)

## 1.11. Agroekološki uvjeti za uzgoj crvene djeteline

Kulturna crvena djetelina najbolje uspijeva u humidnom i subhumidnom klimatu, u uvjetima kratke vegetacije i hladnije klime. Odgovaraju joj nešto više proljetne temperature bez većih ljetnih vrućina. U hladnom klimatu je smanjena simbioza, pa u takvim uvjetima zelena masa i sijeno sadrži manje proteina, a prirod je smanjen. Otpornost na niske temperature ovisi o sortimentu, o agrotehnici i načinu korištenja. Crvena djetelina ne smije biti previsoka kad ulazi u zimu, a mora skupiti dovoljno rezervnih hraniva u korijenu. Zato je treba pravodobno prestati koristiti (košnja, ispaša). Osjetljivost na duljinu dnevnog osvjetljenja je različita. U uvjetima kratkog dana stabljika je niža i razvija se više lišća. Za prijelaz iz vegetativnog u generativni stadij razvoja kasniji kultivari trebaju uvjete dugog dana, a u uvjetima dugoga dana količina je korijena veća. Dobro uspijeva na srednje teškim, zbijenim ali propusnim tlima. Ne podnosi suviše vlažna tla. Odgovara joj slabo kisela reakcija tla, ali podnosi i nešto kiselijsa tla. Na siromašnim tlima gnojivom treba osigurati pravilnu i dobru hranidbu. Traži dosta vode i umjerenu toplinu, sušu slabije

podnosi. U područjima s manje od 500 mm padalina godišnje teško uspijeva a jače suše je oštećuju jer nije prilagođena aridnim uvjetima. Optimalne količine padalina za uspješan uzgoj crvene djeteline su oko 800 mm godišnje, ali je bitan i njihov ravnomjeran raspored tijekom godine, pogotovo u vrijeme ljetnih mjeseci tijekom vegetacijskog razdoblja. Poljski vodni kapacitet zemljišta za crvenu djetelinu je najbolji 70 - 80%. Crvena djetelina ne može izdržati ni tako niske temperature kao lucerna, pogotovo golomrazice s temperaturama -15 stupnjeva celzijusa pri kojima izmrzava. Prema Jakimovoj (1972.), crvena djetelina pri dužoj suši u jesenjem razdoblju, ulaskom u zimu izmrzava iznad -8 stupnjeva celzijusa, kada korijen naglo uzima vodu, snižava koncentraciju sokova, a uvjeti za novu asimilaciju organskih tvari više ne postoje. Pod dubljim snijegom od 25 - 30 cm može izdržati mraz do -25 stupnjeva celzijusa. U proljeće rano kreće pri temperaturama od 3 stupnja celzijusa, a pun porast počinje na 5 - 6 °C .

## **1.12. Zahtjevi prema zemljištu**

Crvena djetelina nema velike zahtjeve prema tlu, zbog toga nije strogo ograničeno gdje se može uzgajati. Najbolje joj odgovaraju srednje teška i rastresita, manje pjeskovita i vodopropusna tla, ali da su dovoljno osigurana vlagom. Ne podnosi visoku podzemnu vodu, niti dužu poplavljenost. Zemljišni pH za djetelinu je najbolji u granicama 5,5 - 7,0. Odlično uspijeva na pseudogleju, na brdsko - planinskom tlu te aluvijalnim ocjeditim riječnim nanosima i na černozemu. Traži visoku plodnost tj. dovoljno pristupačne mineralne elemente. Tijekom druge godine života, kada je njena produktivna snaga najveća, odnosi prinosom oko 300 kg/ha dušika, 53 kg/ha fosfora, 160 kg/ha kalija i 210 kg/ha kalcija. Zbog toga pri uzgoju crvene djeteline na siromašnijim tlima uz prijašnje poznavanje njihove plodnosti, obavezna je jača gnojidba.

## **1.13. Agrotehnika u proizvodnji crvene djeteline**

### **1.13.1. Plodored**

Imajući u vidu da je crvena djetelina višegodišnja krmna kultura, njen brzi razvoj, dinamika iskorištavanja i druga biološka svojstva značajno utječu na tlo, a preko njega i na druge usjeve.

Crvena djetelina ostaje u plodoredu 2 - 3 godine, ako se uzgaja u smjesi s višegodišnjim travama ostaje i do 4 - 5 godina. Zbog određenih zahtjeva prema tlu, dolazi na najbolje mjesto u rotaciji usjeva. Djetelina dosta iscrpljuje tlo, napada je znatan broj štetnika i bolesti. Osim toga crvena djetelina ostavlja veliku količinu organskih ostataka korijena, krunice i nadzemnih organa, koji u procesu razlaganja razvijaju specifične kemijske produkte u tlu, koji su za većinu leguminoza, a specijalno za višegodišnje, netolerantni. Ova pojava je specifična za crvenu djetelinu zbog čega se često u literaturi daje važnost da tlo mora imati pauzu od leguminoza najmanje 4 - 5 godina, a osobito za crvenu djetelinu. Najpogodniji predusjevi za crvenu djetelinu su oni usjevi koji tlo ostavljaju rastresito, aerirano, plodno i čisto od korova, što pripada okopavinama a to su kukuruz, šećerna repa, krmna repa, suncokret i dr., iako se crvena djetelina najčešće u praksi uzgaja poslije strnih žitarica kojima su prethodile okopavine. Djetelina je pogodan predusjev za većinu okopavina, za pšenicu, pogotovo za industrijske, uljane i tekstilne biljke i neke vrste povrća.

### **1.13.2. Obrada**

Osnovna i predstjetvena priprema tla za crvenu djetelinu, uglavnom je ista kao i za lucernu. Treba imati u vidu kada predusjev napušta tlo, te uskladiti tako da poslije dubokog oranja ima dovoljno vremena da se tlo slegne, što je neophodno za uspjeh sjetve djeteline, najmanje je potrebno 3 - 4 mjeseca ali ponekad i više. Kod sjetve djeteline poslije strnih žitarica, poželjno je izvršiti što prije zaoravanje strništa, tlo zatvoriti radi provociranja sjemena korovskog bilja na nicanje, ako je potrebno trebalo bi izvršiti navodnjavanje u 7. mjesecu da brže kliju i niknu korovi, koji će jesenjom dubokom obradom biti zaorani i uništeni a ujedno poslužiti i kao organsko gnojivo. Duboka jesenja obrada omogućava dobar razvoj korjenovog sustava, povoljne uvjete razvoja, životnu i proizvodnu trajnost crvene djeteline i pogotovo njeno uspješno i raznovrsno iskorištavanje.

### 1.13.3. Gnojidba

Osnovnom gnojidbom crvenoj djetelini treba osigurati dovoljno hraniva za cijelo razdoblje korištenja. Dušika je potrebno oko 50 kg/ha, na bogatijim tlima dovoljno je do 30 kg/ha, a daje se u pripremi tla za sjetvu. Taj će dušik omogućiti dobar početni rast i razvoj biljaka, dok se ne uspostavi simbioza, a tada se biljka sama opskrbljuje potrebnim dušikom. U osnovnoj gnojidbi treba dati oko 150 kg/ha  $P_2O_5$  i 200 kg/ha  $K_2O$ . Polovicu do dvije trećine fosfornih i kalijevih gnojiva zaoravamo u osnovnoj obradi, a ostatak dajemo u pripremi tla za sjetvu. Na lakšim i nagnutim tlima, s kojih je moguće ispiranje ili odnošenje hraniva, više gnojiva dajemo u pripremi tla za sjetvu.

### 1.13.4. Sjetva

Najbolje je sijati čistu crvenu djetelinu. U jesen se sije u prvoj polovici rujna da bi mlade biljke do zime dovoljno ojačale, a u proljeće (na kraju zime) čim se tlo dovoljno prosuši da se može pripremiti za sjetvu i obaviti sjetvu. Ranom sjetvom osiguravamo bolje klijanje i nicanje, bolji razvoj usjeva do ljetnih suša, pa zato i bolje korištenje zimske vlage, a to omogućuje postizanje većeg priroda. Ako se crvena djetelina sije u strne žitarice, kao nadusjev mogu poslužiti sve strne žitarice, ali su bolje one koje se ranije žanju, imaju kraću slamu i manju gustoću sklopa. Najbolja je zob jer se može pokositi ranije u zelenom stanju pa se tako osigurava kvalitetna krma. Ječam može jače busati i poleći, pa iako rano napušta tlo, nije pogodan nadusjev. Pšenica se sije u gušćem sklopu, pa crvena djetelina ima malo vegetacijskog prostora za svoj razvoj. Usijavanje crvene djeteline u žitarice treba obaviti poprijeko na pravac redova žitarica. Često se sjetva izvodi omaške. Nakon sjetve treba obaviti drljanje laganim drljačama, također poprijeko ili dijagonalno na pravac redova žitarica.

Sjetvu u golo tlo možemo obaviti omaške ili sijačicama. Bolje je koristiti specijalne sijačice za sjetvu sitnosjemenih kultura, jer one mogu posijati sjeme na najbolju dubinu a to je 1 do 1,5 cm i smanjiti količinu sjemena na oko desetak kilograma. Sjetvom omaške ili žitnim sijačicama, količina sjemena se povećava na oko 20 do 30 kg/ha. Za sjetvu treba koristiti doručeno sjeme, dobre klijavosti i čistoće. Takvo je sjeme očišćeno od viline kosice, pa se izbjegava zaraza usjeva crvene djeteline, što je inače veliki problem u proizvodnji crvene djeteline. Razmak je između redova oko 12 - 14 cm. Prije sjetve same crvene djeteline dobro je obaviti valjanje tla osobito ako se tlo teško priprema za sjetvu.



Nakon sjetve treba obaviti drljanje, da se sjeme pokrije, a nakon drljanja treba obaviti valjanje, da se tlo stisne, usitni i dijelom poravna. Valjanjem se uspostavi bolji kontakt sjemena i tla, omogući se kapilarni uspon vode do sjemena, pa one puno brže, potpunije i jednoličnije klija i niče.

#### 1.13.5. Njega

Crvena djetelina od nicanja traži njegu. Prije svega je vrlo osjetljiva na korove, osobito širokolisne koji su isti kao i kod lucerne. U početku se nadzemni organi sporo razvijaju zbog bržeg razvoja korijenovog sustava pa je treba štiti od korova, što se izvodi mehaničkim ili kemijskim sredstvima zaštite. Posebno treba obratiti pozornost na pojavu viline kosice. Pokoricu treba uništavati ali nikako u vreme ili odmah posle nicanja, jer su biljke nježne i male, s još plitkim korijenom, lako se čupaju i zatrpavaju, što može usjev jako prorijediti i usporiti razvoj. Razbijanje pokorice kao i uništavanje poniklih korova, vrši se 4 – 5 nedjelja poslije nicanja usjeva. Ostale mjere njege su: navodnjavanje prema potrebi, zaštita od bolesti gdje je vrlo česta pojava pepelnica. Prihrana crvene djeteline se u predzimskom razdoblju obično vrši sa PK gnojivima odnosa 40:60, oko 150 - 200 kg/ha radi zaštite od izmrzavanja. U proljeće treba prema potrebi dati 30 - 40 kg/ha dušika. Košenje posljednjeg otkosa ubraja se u mjere njege jer njegova pravovremenost i način izvođenja ima značaj utjecaj na daljnji život i iskorištavanje djeteline. Posljedni otkos trebalo bi kositi bliže početku zime i nisko iznad tla.

#### 1.13.6. Način i vrijeme korištenja

Crvena djetelina se višestruko koristi: kao zelena stočna hrana, za pravljenje sijena i sjenaže, kao i za brašno i silaže. Kao zelena stočna hrana koristi se najviše u obliku paše, sama kao čist usjev ili u smjesama sa različitim vrstama trava. Korištenje crvene djeteline ispašom treba da počne nešto ranije, još u fazi pupanja kako bi se počekom cvjetanja završilo. Ispašu je najbolje i najekonomičnije provesti u sistemu pregona. Stoka na paši u pregonu se ne može dugo zadržavati, jer zagriža krunice suviše nisko a i pored toga pretjeranim gaženjem oštećuju se krunice i to utječe na proizvodnost djeteline. Korištenje djeteline za ispašu najčešće se vrši u sustavu djetelinsko - travnih smijesa, rjeđe kao čist usjev. Ovaj način ispaše, znači u smjesi, bolji je kako za postojanost usjeva, njegovo duže i potpunije korištenje, tako i zbog manje pojave nadimanja, naročito kod govoda.

Za pripremu sijena crvenu djetelinu treba kositi u vrijeme punog cvjetanja primarnih cvati, u ovoj fazi crvena djetelina ima najbolju masu. Kasna košnja djeteline može uzrokovati slabiju regeneraciju novog otkosa. Usjev se znatno i prerano prorjeđuje i proizvodno iscrpljuje. Crvena djetelina se u prvoj i drugoj godini može kositi 3 - 4 puta, dok u trećoj godini daje 2 – 3 otkosa zbog toga što je dosta prorjeđena i manje prinosa.

Priprema silaže od crvene djeteline se često vrši u nekim zemljama, pogotovo korištenjem prvog i zadnjeg otkosa. Najbolje je djetelinu koristiti za silažu u fazi punog cvjetanja, tada ona ima puno više suhe tvari, a manje vode (Tablica 1). Silaža se dosta teško priprema od djeteline jer ima dosta vode u biljci. Najbolje se silira kada je uzgajana u smjesi s nekim travama koje sadrže puno više suhe tvari, što je za siliranje vrlo bitno. Za uspješniju pripremu silaže od djeteline, često se koriste kemijska sredstva siliranja, tj. ukiseljavanja dodatkom sredstava kao što je mravlja, propionska i druge kiseline.

Tablica 1: Sadržaj važnijih hranjivih tvari u crvenoj djetelini po fazama razvoja u % suhe tvari.

<b>FAZA RAZVOJA</b>	Mineralnih tvari	Sirovih proteina	Sirove celuloze	B.E.M
Vegetativno pupanje	10,00	24,70	13,40	46,30
Pred cvjetanje	11,30	21,30	22,50	42,00
Cvijetanje	8,50	16,60	27,00	45,60
Faza sazrijevanja	8,30	18,40	24,00	41,10

### 1.13.7. Proizvodnja sjemena

Proizvodnja sjemena crvene djeteline je dosta složen ali značajan i vrlo koristan posao. Ona se može proizvoditi na dva načina, na specijalnom osnovanim sjemenskim usjevima i na usjevima za redovnu proizvodnju djeteline za krmu, odnosno za stočnu hranu. Osnivanje djetelišta specijalno namijenjenih za proizvodnju sjemena razlikuje se od redovnog osnivanja djetelišta za stočnu hranu, kako po načinu sjetve, količinama sjemena i mineralne ishrane tako i po načinu iskorištavanja. Priprema tla je ista ali se gnojidba

razlikuje. Primjenjuju se uglavnom fosforna, kalijeva i sumporna gnojiva. Dušična gnojiva se primjenjuju vrlo malo, tek 30 - 40 kg/ha, dok se fosfor i kalij normiraju 100 - 140 kg/ha : 120 - 150 kg/ha, ovisno od njihovog sadržaja u tlu. Sjetva sjemenske crvene djeteline se vrši širokoredno, najčešće na 40 - 50 cm međurednog razmaka. Količina sjemena je 4 - 5 kg/ha. Dubina sjetve i mjere njege su iste kao i kod djeteline za stočnu hranu. Kod sjemenske djeteline treba provesti preventivnu zaštitu, jer kad se pojavi bolest je prekasno. Kod specijalne proizvodnje crvene djeteline za sjeme, koristi se u prvom otkosu, ponekad i drugom, ali je proizvodnja sjemena niža.

Ako se crvena djetelina namijenjena za proizvodnju stočne hrane koristi za proizvodnju sjemena, onda se najčešće koristi drugi otkos. U tom slučaju se obično skidanje prvog otkosa vrši nešto ranije, najčešće u fazi pupanja biljaka da bi drugi otkos uspješno donio sjeme.

#### 1.13.8. Žetva sjemenske crvene djeteline

Da je djetelina za proizvodnju sjemena zrela poznaje se po tome što su glavičaste cvati suhe, tamnomrke ili mrkosive boje, lako se krune sitne mahunice cvjetne lože i opadaju. Ali, u to vrijeme stabljike i listovi su još zeleni i sadrže dosta vode. Ako se čeka da se i stabljika osuši doći će do naglog osipanja i gubitka sjemena. Da ne bi došlo do toga, vrši se desikacija različitim sredstvima, ponedje i naftom pomiješanom s vrelom vodom u odnosu 50 : 50 i drugim jakim sredstvima koja dehidriraju zelene dijelove biljke, i nakon isušnja 3 - 4 dana poslije vrši se žetva. Crvena djetelina za sjeme može se kositi običnom kosom i motornom kosačicom, nakon čega se ona prosuši, sakuplja i vrši kombajnom ili vršalicom. Ovim načinom košenja gubitci sjemena dostižu 15 - 20%. Bolji je monofazni način žetve i vršidbe crvene djeteline pomoću kombajna. Kombajni se moraju prethodno namjestiti ali postoje i posebni dodatni uređaji za žetvu djeteline. Posebno je važno podesiti brzinu okretanja bubnja i njegov razmak od kontra bubnja, regulirati jačinu zračne struje ventilatora, s obzirom na vrlo sitno sjeme djeteline. Brzina kombajna mora biti manja nego za pšenicu i drugo krupnosjemene usjeve. Ubrano sjeme, zavisno od sadržaja vlage i čistoće, odlazi na određeno vrijeme na sušenje i prečišćavanje, potom se pakuje i šalje u promet sjemenskim kućama.

## 1.14. Klijanje sjemena

Klijanje sjemena je važna faza u životnom ciklusu sjemena jer predstavlja početnu etapu razvoja biljke. Sam proces klijanja sjemena obuhvaća četiri faze: bubrenje (imbibicija), aktiviranje enzimskih sustava, početak razvoja klijanca i na kraju daljnji rast i razvoj klijanca (ISTA, 2006.). Pod bubrenjem podrazumjevamo pojavu da makromolekulski sustav (tijelo koje bubri) prima tekućinu ili paru uz povećanje volumena. U sjemenu koje bubri vodni je potencijal snižen elektrostatskom privlačnošću vodenih dipola nabijenih skupina makromolekula te se prema okolini uspostavlja gradijent vodnog potencijala. Ulazna struja vode u sjemenu koje bubri može se zaustaviti tlakom određene jačine u suprotnome smjeru, a taj je tlak po iznosu jednak, a po predznaku suprotan tzv. tlaku bubrenja. Mnogi abiotički i biotički čimbenici utječu na klijanje sjemena, a takođe i na glavnu komponentu kvaliteta sjemena - klijavost. Različite biljne vrste zahtijevaju različite uslove neophodne za klijanje koji su često povezani s ekološkim uslovima prirodnih staništa tih biljnih vrsta. Voda, temperatura, svjetlost, kisik, zajedno sa svojstvima tla su faktori koji imaju najviše utjecaja na klijanje sjemena (Gorai i Neffati, 2007.).

## 1.15. Vodni stres

Prema Jonesu stres predstavlja nepovoljno stanje ili silu koja sprječava normalno funkcioniranje i dobrobit nekog biološkog sustava (Mahajan i Tuteja. 2005.). Niinemets (2010.) objašnjava stres kod biljke kao odstupanje bilo kojeg stanja okoliša koje seže izvan opsega optimalnog, a rezultira smanjenjem potencijalne produktivnosti biljke. Vodni stres kod biljaka često je uzrokovan sušom, a tijekom ranog klijanja sjemena uveliko može utjecati na daljnju fiziologiju klijanja te predstavlja jedan od najvažnijih abiotičkih čimbenika koji ograničava biljnu proizvodnju i prinose širom svijeta (Boyer, 1982.).

Iako je imbibicija u fazi klijanja reverzibilan proces, pod utjecajem vodnog stresa može doći do nedovoljnog usvajanja vode čime sjeme slabije bubri, a metabolički procesi (npr. aktivacija hidrolitičkih enzima, razgradnja pričuvnih tvari, sinteza proteina i nukleinskih kiselina) koji bi trebali rezultirati klijanjem ne započinju ili započinju slabijim intenzitetom. Kako je voda glavni pokretač metaboličkih procesa neophodnih za klijanje, njen nedostatak u ovoj fazi nepovoljno će utjecati na razvijanje klijanca te daljnji rast i

razvoj biljke. Pojava vodnog stresa kod biljke u njenoj vegetativnoj i generativnoj fazi ima negativan učinak na unos i prijenos hranjivih tvari i metabolita, a također i na njihovu raspodjelu među biljnim organima. Pod utjecajem vodnog stresa kod biljaka dolazi do nakupljanja apscizinske kiseline te osmolita poput prolina kao reakcije na osmotski stres (Wang i sur., 2003.). Negativni učinak vodnog stresa je poremećaj homeostaze i ionske raspodjele te sinteze novih proteina i mRNA (Adair i sur., 1992.). Daljnji učinak vodnog stresa predstavlja prekomjerno nastajanje reaktivnih kisikovih spojeva (engl. Reactive oxygen species, ROS) i stvaranje slobodnih radikala koji imaju daljnji nepovoljan učinak na rast i razvoj biljke (Foyer i sur., 1997.). Kao reakciju na vodni stres u ovoj fazi, biljke uglavnom akumuliraju široki spektar antioksidanasa, uključujući enzime (peroksidaze, superoksid dismutaze i katalaze) te neenzimske antioksidanse (fitokemikalije) za hvatanje reaktivnih kisikovih spojeva (Sofa i sur., 2005.).

### **1.16. Polietilenglikol**

Polietilen glikol (PEG) je dugolančani inertni neionski polimer: HOCH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>),CH<sub>2</sub>OH (Couperi Eley, 1948.). Kako se za molekulu PEG-a ne očekuje brzo prodiranje u unutrašnjost biljnog tkiva (Nepomuceno i sur., 1998.), a za PEG s  $M_r \geq 6000$  je pokazano da ne može prodrijeti kroz pore stanične stijenke (Carpita i sur., 1979.), PEG se često koristi kao medij u laboratorijskim istraživanjima za postizanje otopina željenog osmotskog potencijala (Kaufmann, 1969., Parmar i Moore, 1966., Thill i sur., 1979.). Obzirom da PEG ne ulazi u apoplast, otopine PEG-a se koriste za „oponašanje“ suše u tlu i to u većoj mjeri nego li otopine osmolita niže relativne molekulske mase (Verslues i sur., 1998.).

### **1.17. Askorbinska kiselina**

Askorbinska kiselina (vitamin C) važan je metabolit koji je uključen u mnoge stanične procese uključujući diobu stanice (De Gara i sur., 2003.), a zbog njenog antioksidacijskog potencijala djeluje kao primarni supstrat cikličkog puta detoksikacije i neutralizacije superoksid radikala (O<sub>2</sub><sup>-\*</sup>) i singletnog kisika (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) (Noctor i Foyer, 1998.). Utjecaj egzogene primjene askorbinske kiseline na poticanje mitotičke aktivnosti pronađen

je primjerice u korijenu kukuruza i češnjaka (Kerk i Feldman, 1995.) te u klijancima bijele lupine (Arrigoni i sur., 1997.), vjerojatno potičući progresiju staničnog ciklusa od G1 do S faze (Liso i sur., 1988.). Asadi-kavan i sur. (2009.) izvješćuju kako egzogena primjena askorbinske kiseline zaštitno djeluje na sjeme anisa izloženo sušnom stresu te ima pozitivan utjecaj na klijavost ove biljke. Također, rezultati mnogih istraživanja upućuju kako je brza obnova biosinteze askorbinske kiseline i aktivnosti askorbat peroksidaze bitna za klijavost sjemena (De Gara i sur., 1991., 2000.; Innocenti i sur., 1994.). Međutim, druga istraživanja otkrivaju kako primjena visokih doza askorbinske kiseline može potaknuti staničnu smrt u stanicama mezotelioma i potisnuti klijavost sjemena pšenice (Takemura i sur., 2010.; Ishibashi i Iwaya-Inoue, 2006.). Ovakvi oprečni utjecaji askorbinske kiseline na klijavost sjemena upućuju da bi njena biosinteza u sjemenu vjerojatno trebala biti dobro kontrolirana ili regulirana.

## **1.18. Cilj istraživanja**

Cilj rada je bio istražiti utjecaj primjene polietilen glikola i askorbinske kiseline na rani rast različitih genotipova crvene djeteline te procijeniti može li egzogena primjena askorbinske kiseline pozitivno utjecati na svladavanje negativnog učinka vodnog stresa.

## **2. Materijali i metode**

### **2.1. Materijali**

U istraživanju je korišteno sjeme 9 genotipova crvene djeteline: 4 eksperimentalne populacije, TPEXP1, TPEXP2, TPEXP3, TPEXP4 (Poljoprivredni institut Osijek), 2 domaća kultivara, Croatia i Nada (BC Institut Zagreb) te 3 uvozna kultivara, Viola, Rajah i Diana (Poljska, Danska, Mađarska). Za izazivanje vodnog stresa u istraživanju je korištena vodena otopina neionskog polimera polietilen glikola PEG 6000 Merck (Darmstadt, Njemačka) osmotskog potencijala  $\psi = -0,315$  MPa ( $\gamma = 0,15$ ), dok je askorbinska kiselina (ASC) bila proizvod Sigma-Aldrich, (St. Louis, MO, SAD). Za naklijavanje sjemena korišten je filter papir 67N Munktell&Filtrak GmbH (Bärenstein, Njemačka) te klima komora RUMED 3501 Rubarth Apparate GmbH (Laatzen, Njemačka), dok je za vaganje sjemena korištena analitička vaga AB204 Mettler (Toledo, Švicarska).

## 2.2. Metode

### Bubrenje i naklijavanje sjemena

Za potrebe eksperimenta sjeme 9 genotipova crvene djeteline podvrgnuto je sljedećim tretmanima:

1. nabubreno (3 sata, 20°C) u destiliranoj vodi i naklijavano na podlozi navlaženoj destiliranom vodom;
2. nabubreno (3 sata, 20°C) u destiliranoj vodi, te naklijavano na podlozi s otopinom PEG 6000;
3. nabubreno (3 sata, 20°C) u 0,56 mM ASC, te naklijavano na podlozi s otopinom PEG 6000;
4. naklijavano na podlozi s otopinom PEG 6000 i 0,56 mM ASC;
5. prvih 48 sati naklijavano na podlozi s otopinom PEG 6000, a potom na podlozi s otopinom PEG 6000 i 0,56 mM ASC.

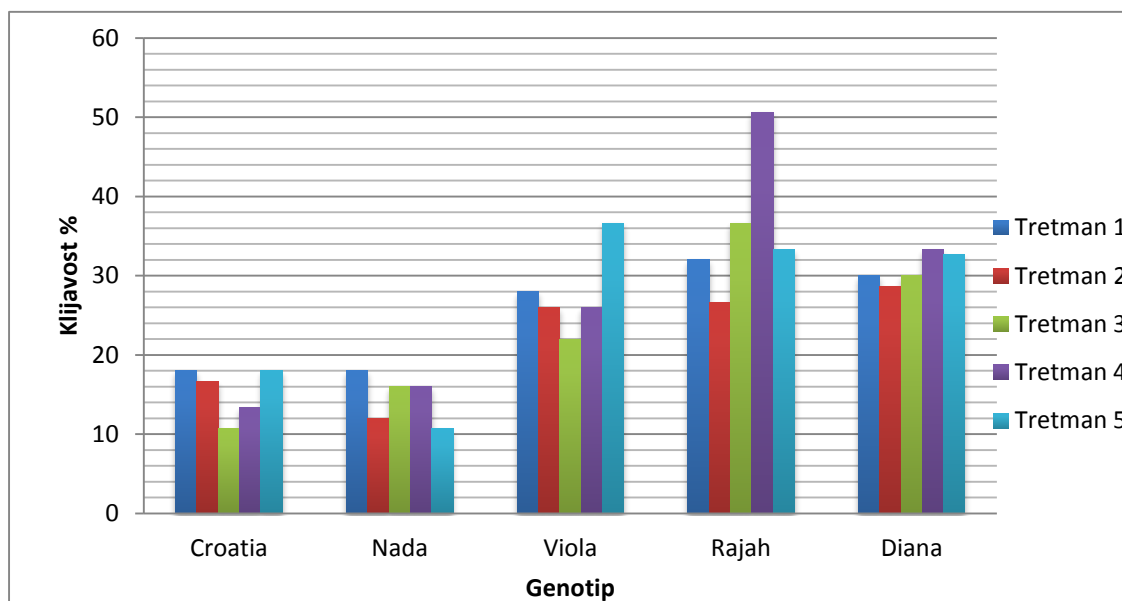
Neposredno nakon bubrenja sjeme je isprano protočnom i destiliranom vodom te posušeno pri sobnoj temperaturi tijekom 2 sata. Posušeno je sjeme naklijavano u petrijevim zdjelicama ( $\varnothing = 90$  mm) na podlozi 2 filter papira navlaženim s 5 mL destilirane vode (kontrola) odnosno otopinama PEG 6000 i/ili ACS prema tretmanima kako je to ranije navedeno. Radi sprječavanja isparavanje vode tijekom naklijavanja svaka je petrijeva zdjelica zamotana u plastičnu vrećicu. Naklijavanje je trajalo 5 dana u klima komori pri stalnoj temperaturi od 17°C bez svjetla.

Veličina osnovnog uzorka bila je 50 sjemenki po genotipu i tretmanu a svaki je tretman izvršen u 4 ponavljanja. Postotak klijavosti te dužina korjenčića određeni su na kraju eksperimenta dok je statistička analiza podataka izvršena u SAS-u. Osmotski potencijal otopina PEG 6000 izračunat je po formuli koju su opisali Michael i sur. (1973.).

### 3. Rezultati i rasprava

#### 3.1. Klijavost

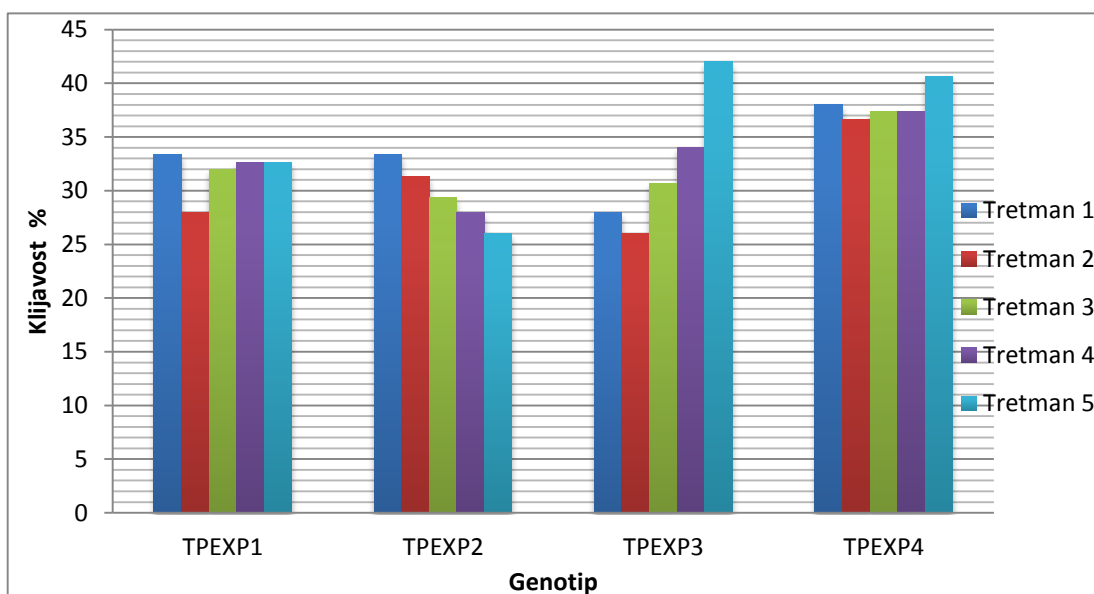
Prosječna klijavost ispitanih domaćih i stranih genotipova crvene djeteline je 24,87%, dok je zasebno prosječna klijavost stranih genotipova bila 31,50%, a domaćih genotipova 14,93%. Od stranih genotipova najbolje se u prosjeku pokazao genotip Rajah sa prosječnom klijavošću od 35,86%, dok je kod domaćih genotipova Croatia s 15,33% klijavosti nešto bolja od Nade kod koje je klijavost bila 14,53%. Najbolju klijavost je imao genotip Rajah s 50,44% u tretmanu 4 gdje je sjeme naklijavano na podlozi s otopinom PEG 6000 i 0,56 mM ASC (Grafikon 1.). Najlošiju klijavost su imali genotipovi Croatia s prosječnom klijavošću od 10,66%, gdje je sjeme u 3. tretmanu bilo nabubreno u 0,56 mM ASC te naklijavano na podlozi s otopinom PEG 6000, i genotip Nada s istom prosječnom klijavošću gdje je sjeme u tretmanu 5 u prvih 48 sati naklijavano na podlozi s otopinom PEG 6000, a potom na podlozi s otopinom PEG 6000 i 0,56 mM.



Grafikon 1. Klijavost (%) domaćih i stranih genotipova crvene djeteline po tretmanima: 1. nabubreno u destiliranoj vodi i naklijavano na podlozi navlaženoj destiliranom vodom; 2. nabubreno u destiliranoj vodi te naklijavano na podlozi s 15% PEG 6000; 3. nabubreno u 0,56 mM ASC te naklijavano na podlozi s 15% PEG 6000; 4. naklijavano na podlozi s 15% PEG 6000 i 0,56 mM ASC; 5. naklijavano na podlozi s 15% PEG 6000 prvih 48 sati, a potom na podlozi s 15% PEG 6000 i 0,56 mM ASC.



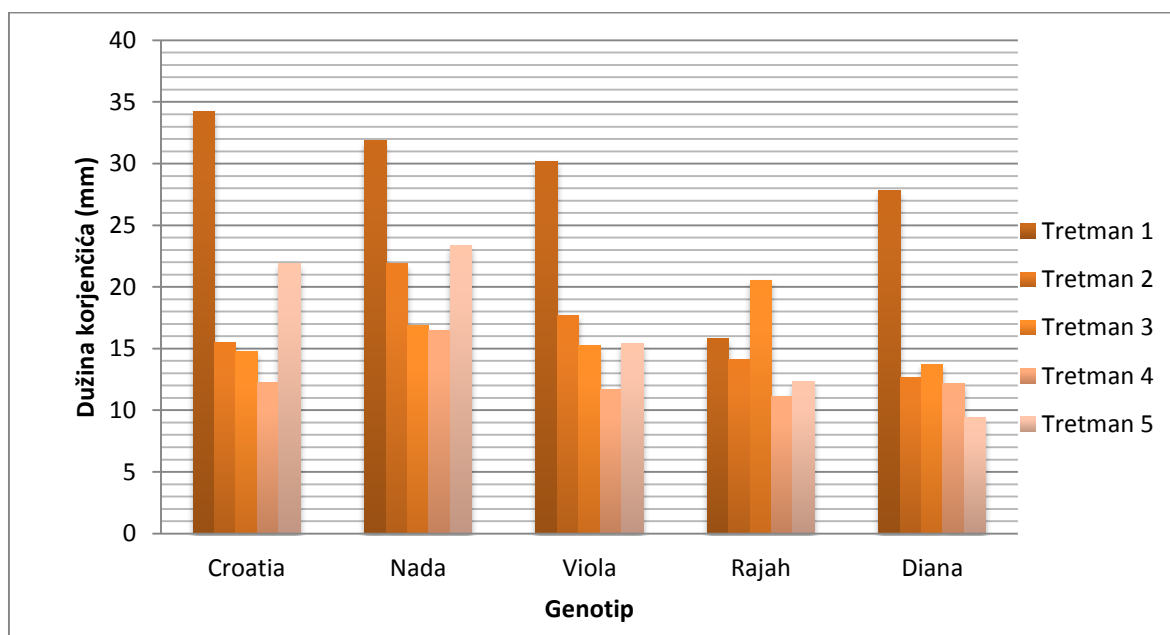
Prosječna klijavost kod eksperimentalnih genotipova crvene djeteline je 32,86%. Najbolju klijavost u prosjeku imao je eksperimentalni genotip TPEXP4 koja je iznosila 37,99%, dok je najlošiju klijavost u prosjeku imao genotip TPEXP2 koja je iznosila 39,59%. S najboljom klijavošću od 42%, pokazao se eksperimentalni genotip TPEXP3 u 5. tretmanu gdje je sjeme u prvih 48 sati naklijavano na podlozi s otopinom PEG 6000, a potom na podlozi s otopinom PEG 6000 i 0,56 mM ASC. Najlošiju klijavost su imali eksperimentalni genotipovi TPEXP2 od 26% u 5. tretmanu gdje je sjeme u prvih 48 sati naklijavano na podlozi s otopinom PEG 6000, a potom na podlozi s otopinom PEG 6000 i 0,56 mM ASC, i genotip TPEXP3 s istom klijavošću u tretmanu 2 gdje je sjeme bilo nabubreno u destiliranoj vodi te naklijavano na podlozi s otopinom PEG 6000 (Grafikon 2.).



Grafikon 2. Klijavost (%) eksperimentalnih genotipova crvene djeteline po tretmanima: 1. nabubreno u destiliranoj vodi i naklijavano na podlozi navlaženoj destiliranom vodom; 2. nabubreno u destiliranoj vodi te naklijavano na podlozi s 15% PEG 6000; 3. nabubreno u 0,56 mM ASC te naklijavano na podlozi s 15% PEG 6000; 4. naklijavano na podlozi s 15% PEG 6000 i 0,56 mM ASC; 5. naklijavano na podlozi s 15% PEG 6000 prvih 48 sati, a potom na podlozi s 15% PEG 6000 i 0,56 mM ASC.

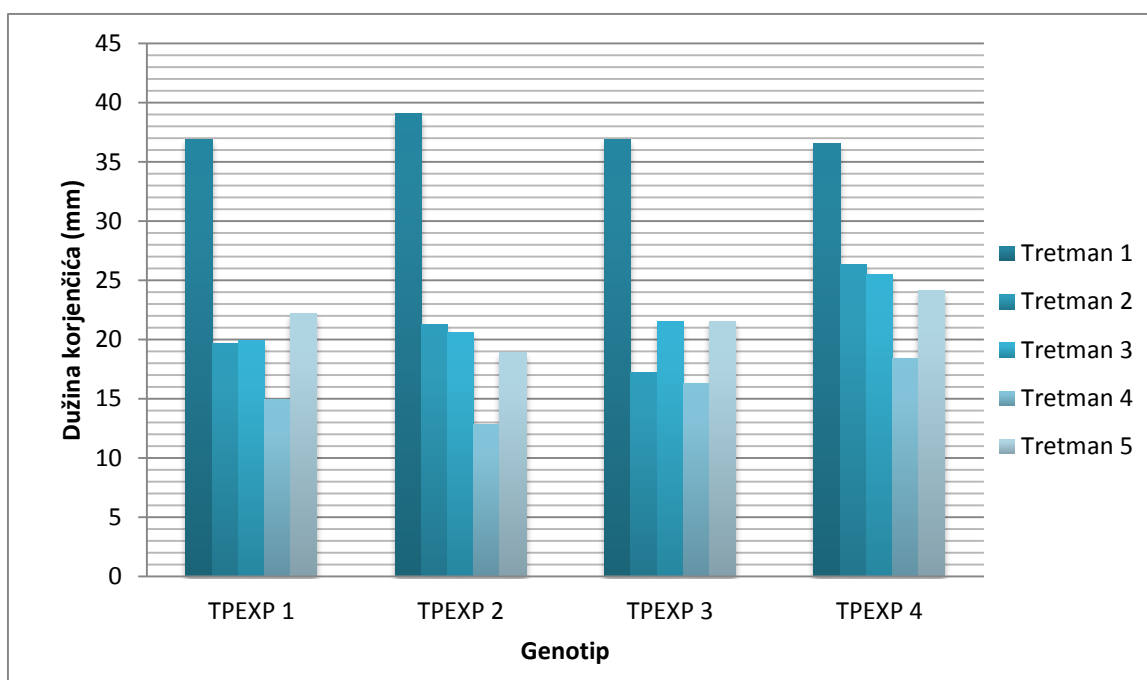
### 3.2 Dužina korjenčića

Prosječna dužina korjenčića ispitivanih domaćih i stranih genotipova crvene djeteline iznosila je 17,96 mm. Od domaćih genotipova najbolje se pokazao genotip Nada s prosječnom dužinom korjenčića 22,09 mm. Od stranih genotipova najbolje se pokazala Viola s prosječnom dužinom korjenčića od 18,05 mm. Od domaćih genotipova najduži korjenčić je imao genotip Croatia koji je iznosio 34,26 mm u tretmanu 1 gdje je sjeme bilo nabubreno u destiliranoj vodi i naklijavano na podlozi navlaženoj destiliranom vodom. Najkraći korjenčić od domaćih genotipova također je imao genotip Croatia koji je bio dužine 12,23 mm u tretmanu 4. Od stranih genotipova najduži korjenčić je imao genotip Viola sa dužinom korjenčića od 30,2 mm gdje je sjeme bilo nabubreno u destiliranoj vodi i naklijavano na podlozi navlaženoj destiliranom vodom, dok je najkraći korjenčić imao genotip Diana dužine 9,4 mm gdje je sjeme naklijavano na podlozi s otopinom PEG 6000 i 0,56 mM ASC (Grafikon 3.).



Grafikon 3. Dužina korjenčića domaćih i stranih genotipova crvene djeteline po tretmanima: 1. nabubreno u destiliranoj vodi i naklijavano na podlozi navlaženoj destiliranom vodom; 2. nabubreno u destiliranoj vodi te naklijavano na podlozi s 15% PEG 6000; 3. nabubreno u 0,56 mM ASC te naklijavano na podlozi s 15% PEG 6000; 4. naklijavano na podlozi s 15% PEG 6000 i 0,56 mM ASC; 5. naklijavano na podlozi s 15% PEG 6000 prvih 48 sati, a potom na podlozi s 15% PEG 6000 i 0,56 mM ASC.

Kod eksperimentalnih genotipova prosjek dužine korjenčića iznosio je 23,53 mm. Najveći prosjek dužine korjenčića imao je genotip TPEXP 4 koji je iznosio 26,16 mm, dok su ostali imali prosjek od ~ 22 mm. Najbolje se pokazao genotip TPEXP 2 gdje je korjenčić bio 39,1 mm a sjeme je u tom tretmanu bilo nabubreno u destiliranoj vodi i naklijavano na podlozi navlaženoj destiliranom vodom, dok su se ostala tri genotipa također najbolje pokazala u prvom tretmanu gdje je dužina bila 36 mm. Najkraći korjenčić imao je genotip TPEXP 2, u tretmanu 4 gdje je sjeme naklijavano na podlozi s otopinom PEG 6000 i 0,56 mM ASC.(Grafikon 4.)



Grafikon 4. Dužina korjenčića eksperimentalnih genotipova crvene djeteline po tretmanima: 1. nabubreno u destiliranoj vodi i naklijavano na podlozi navlaženoj destiliranom vodom; 2. nabubreno u destiliranoj vodi te naklijavano na podlozi s 15% PEG 6000; 3. nabubreno u 0,56 mM ASC te naklijavano na podlozi s 15% PEG 6000; 4. naklijavano na podlozi s 15% PEG 6000 i 0,56 mM ASC; 5. naklijavano na podlozi s 15% PEG 6000 prvih 48 sati, a potom na podlozi s 15% PEG 6000 i 0,56 mM ASC.

## 4. Zaključak

Utjecaj vodnog stresa izazvan polietilen glikolom (tretman 2) je utvrđen kod sjemena svih ispitivanih genotipova koji su reagirali smanjenjem postotka klijavosti kao i dužine korjenčića u odnosu na kontrolnu skupinu (tretman 1).

Egzogena primjena askorbinske kiseline tijekom bubrenja sjemena (tretman 3) je imala pozitivan učinak na postotak klijavosti i dužinu korjenčića kod većine ispitivanih genotipova koji su bili izloženi vodnom stresu.

U odnosu na tretman 2, međudjelovanje askorbinske kiseline i polietilen glikola tijekom ranog rasta i razvoja klijanaca genotipova crvene djeteline (tretman 4) uglavnom je imalo utjecaja na povećanje postotka klijavosti sjemena dok je na dužinu korjenčića pokazalo negativan učinak.

Naknadna primjena askorbinske kiseline na klijance koji su bili pod tretmanom polietilen glikola (tretman 5) utjecala je na povećanje postotka klijavosti kao i dužine korjenčića kod većine ispitivanih genotipova u odnosu na tretman 4.

## 5. Popis literature

1. Adair, L. S., Andrews, D. L., Cairney, J., Funkhouser, E. A., Newton, R. J., Aldon, E. F., (1992): Characterizing gene responses to drought stress in fourwing saltbush *Atriplex canescens* Pursh. Nutt. *Journal of Range Management* 45(5): 454-461.
2. Arrigoni, O., Calabrese, G., De Gara, L., Bitonti, M. B., Liso, R. (1997): Correlation between changes in cell ascorbate and growth of *Lupinus albus* seedlings. *Journal of Plant Physiology* 150: 302-308.
3. Asadi-kavan, Z., Ghorbanli, M., Pessarakli, M., Sateei, A. (2009): Effect of polyethylene glycol and its interaction with ascorbate on seed germination index in *Pimpinella anisum* L. *Food, Agriculture and Environment* 79: 662-666.
4. Boyer J. S. (1982): Plant productivity and environment. *Science* 218: 443-448.
5. Carpita, N., Sabularse, D., Monfezinos, D., Delmer, D.P. (1979): Determination of the pore size of cell walls of living plant cells. *Science* 205: 1144-1147.
6. Cornic, C., Massacci, A. (1996): Leaf photosynthesis under drought stress. In: *Photosynthesis and Environment*. Kluwer Acad. Publs. 347-366.
7. Couper, A., Eley, D. (1948): Surface tension of polyethylene glycol solutions. *Journal of Polymer Science* 3: 345-349.
8. De Gara, L., De Pinto, M. C., Moliterni, V. M., D'Egidio, M. G., (2003): Redox regulation and storage processes during maturation in kernels of *Triticum durum*. *Journal of Experimental Botany* 54: 249-258.
9. De Gara, L., Paciolla C., De Tullio, M.C., Motto, M., Arrigoni, O. (2000): Ascorbate-dependent hydrogen peroxide detoxification and ascorbate regeneration during germination of a highly productive maize hybrid: evidence of an improved detoxification mechanism against reactiveoxygen species. *Physiologia Plantarum* 109: 7-13.
10. De Gara, L., Paciolla, C., Liso, R., Stefani, A., Arrigoni, O. (1991): Correlation between ascorbate peroxidase activity and some anomalies of seedlings from aged caryopses of *Dasypyrum villosum* (L.) Borb. *Journal of Plant Physiology* 137: 697-700.

11. Foyer, C. H., Lopez-Delgado, H., Dat, J. F., Scott, I. M. (1997): Hydrogen peroxide-and glutathione-associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signaling. *Physiologia Plantarum* 100: 241-254.
12. Gagro, M. (1998.): Ratarstvo obiteljskog gospodarstva: Industrijsko i krmno bilje, Zagreb: 213-317.
13. Gorai, M., Neffati, M. (2007): Germination responses of *Reaumuria vermiculata* to salinity and temperature. *Annals of Applied Biology* 151: 53-59
14. Innocenti, A.M., Mazzuca, S., Bitonti, M.B., De Gara, L., Liso, R., Arrigoni, O. (1994): Endogenous rhythm of ascorbic acid in seedling roots of broad bean. *Plant Physiology and Biochemistry* 32: 521-525.
15. Ishibashi, Y., Iwaya-Inoue, M. (2006): Ascorbic acid suppresses germination and dynamic states of water in wheat seeds. *Plant Production Science* 9: 172-175.
16. ISTA Germination Committee (2006): Ronnie Don (ed): Handbook on Seedling Evaluation, 3rd Edition, International Seed Testing Association, Switzerland.
17. Kaufmann, M.R. (1969): Effects of water potential on germination of lettuce, sunflower, and citrus seeds. *Canadian Journal of Botany* 47: 1761-1764.
18. Kerk, N. M., Feldman L. J. A. (1995): A biochemical model for the initiation and maintenance of quiescent center, implications for organization of root meristems. *Development* 121: 2825-2833.
19. Liso, R. G., Innocenti, A. M., Bitonti, A., Arrigoni, O. (1988): Ascorbic acid-induced progression of quiescent center cells from G1 to S phase. *New Phytologist* 110: 469-417.
20. Mahajan, S., Tuteja, N. (2005): Cold, salinity and drought stresses: An overview. In: *Archives of Biochemistry and Biophysics* 444 (2): 139-158.
21. Michael, B.E., Kaufman, M.R. (1973): The osmotic potential of polyethylene glycol-6000. *Plant Physiology* 51(5): 914-916.
22. Mišković, B. (1986.): Krmno bilje, Beograd: 237-255.

23. Nepomuceno, A.L., Oosterhuis, D.M., Stewart, J.M. (1998): Physiological responses of cotton leaves and roots to water deficit induced by polyethylene glycol. *Environmental and Experimental Botany* 40: 29-41.
24. Niinemets, Ülo (2010): Responses of forest trees to single and multiple environmental stresses from seedlings to mature plants: Past stress history, stress interactions, tolerance and acclimation. In: *Forest Ecology and Management* 260 (10): 1623-1639.
25. Noctor, G., Foyer, C. H. (1998): Ascorbate and glutathione, Keeping active oxygen under control. *Annual Review of plant physiology and plant Molecular Biology* 49: 249-279.
26. Parmar, M.T., Moore, R.P. (1966): Effects of simulated drought by polyethylene glycol solutions on corn (*Zea mays* L.) germination and seedling development. *Agronomy Journal* 58: 391-392.
27. Sofo, A., Tuzio, A.C., Dichio, B. and Xiloyannis, C. (2005): Influence of water deficit and rewatering on the components of the ascorbate-glutathione cycle in four interspecific *Prunus* hybrids. *Plant Science* 169: 403-412.
28. Takemura, Y., Satoh, M., Satoh, K., Hamada, H., Sekido, Y., Kubota, S. (2010): High dose of ascorbic acid induces cell death in mesothelioma cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 394: 249-53.
29. Thill, D.C., Schirman, R.D., Appleby, A.P. (1979): Osmotic stability of mannitol and polyethylene glycol 20,000 solution used as seed germination media. *Agronomy Journal* 71: 105-108.
30. Wang, W., Vinocur, B., Altman, A. (2003): Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta* 218: 1-14.
31. Verslues, P.E., Ober, E.S., Sharp, R.E., (1998): Root growth and oxygen relations at low water potentials, Impact of oxygen availability in polyethylene glycol solutions. *Plant Physiology* 116: 1403-1412.

## 6. Sažetak

Unos vode u sjeme u ranoj fazi klijanja i reakcija genotipova na manjak vode tijekom imbibicije od velike su važnosti za rast, razvoj i realizaciju visoko kvalitetnih prinosa crvene djeteline. Cilj rada je bio istražiti utjecaj vodnog stresa izazvan primjenom polietilen glikola na rani rast različitih genotipova crvene djeteline te procijeniti može li egzogena primjena askorbinske kiseline (ASC) pozitivno utjecati na svladavanje negativnog učinka vodnog stresa. Sjeme 9 genotipova crvene djeteline (eksperimentalne populacije-TPEXP1, TPEXP2, TPEXP3, TPEXP4; domaći kultivari-Croatia, Nada i uvozni kultivari-Viola, Rajah, Diana) podvrgnuto je sljedećim tretmanima: 1. nabubreno u destiliranoj vodi i naklijavano na podlozi navlaženoj destiliranom vodom; 2. nabubreno u destiliranoj vodi te naklijavano na podlozi s 15% PEG 6000; 3. nabubreno u 0,56 mM ASC te naklijavano na podlozi s 15% PEG 6000; 4. naklijavano na podlozi s 15% PEG 6000 i 0,56 mM ASC; 5. naklijavano na podlozi s 15% PEG 6000 prvih 48 sati, a potom na podlozi s 15% PEG 6000 i 0,56 mM ASC. Nakon 96 sati naklijavanja utvrđen je postotak klijavosti i izmjerena je dužina korjenčića. Utjecaj vodnog stresa izazvan polietilen glikolom utvrđen je kod sjemena svih ispitivanih genotipova koji su reagirali smanjenjem postotka klijavosti kao i dužine korjenčića. Pozitivan utjecaj egzogene primjene ASC na svladavanje negativnog učinka vodnog stresa bio je u prosjeku najviši za tretman 5.

**Ključne riječi:** polietilen glikol, askorbinska kiselina, crvena djetelina, genotip, klijanje sjemena



## 7. Summary

Seed water uptake in the early stage of germination and reaction of different cultivars to water deficit during imbibition are of great importance for growth, development and realisation of highly qualitative yields of red clover. The aim of this study was to investigate the reaction of different red clover genotypes on water stress induced by polyethylene glycol and to evaluate if the exogenously applied ascorbic acid (ASC) can alleviate the negative effects of water stress. Seeds of 9 red clover genotypes (experimental populations-TPEXP1, TPEXP2, TPEXP3, TPEXP4; domestic cultivars-Croatia, Nada and foreign cultivars-Viola, Rajah, Diana) were under following treatments: 1. imbibed in distilled water and germinated on media moisturized by distilled water; 2. imbibed in distilled water and germinated on media with 15% PEG 6000; 3. imbibed in 0.56 mM ASC, and germinated on media with 15% PEG 6000; 4. germinated on media with 15% PEG 6000 and 0.56 mM ASC; 5. germinated on media with 15% PEG 6000 for the first 48 hours and after that on media with 15% PEG 6000 and 0.56 mM ASC. Percentage of germination was estimated and radicle length was measured after 96 hours of germination. Effect of water stress induced by polyethylene glycol was observed in seeds of all genotypes which responded by reducing the percentage of germination and radicle length. Alleviation of the negative water stress effects through exogenously applied ASC was highest in the treatment 5.

**Key words:** polyethylene glycol, ascorbic acid, red clover, genotype, seed germination

## **8. Popis tablica**

1. Tablica 1: Sadržaj važnijih hranjivih tvari u crvenoj djetelini po fazama razvoja u % suhe tvari.

## **9. Popis slika**

1. Slika 1. Korižen crvene djeteline.
2. Slika 2. Nadzemni organi crvene djeteline.
3. Slika 3. Stabljika crvene djeteline.
4. Slika 4. List crvene djeteline.
5. Slika 5. Cvijet crvene djeteline.
6. Slika 6. Cvat crvene djeteline.
7. Slika 7. Plod crvene djeteline.
8. Slika 8. Sjeme crvene djeteline.

## **10. Popis grafikona**

1. Grafikon 1. Klijavost (%) domaćih i stranih genotipova crvene djeteline po tretmanima.
2. Grafikon 2. Klijavost (%) eksperimentalnih genotipova crvene djeteline po tretmanima.
3. Grafikon 3. Dužina korjenčića domaćih i stranih genotipova crvene djeteline po tretmanima.
4. Grafikon 4. Dužina korjenčića eksperimentalnih genotipova crvene djeteline po tretmanima.

## **TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA**

Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku

Poljoprivredni fakultet u Osijeku

### **Završni rad**

**UTJECAJ POLIETILEN GLIKOLA I ASKORBINSKE KISELINE NA RANI RAST CRVENE DJETELINE**

**EFFECT OF POLYETHYLENE GLYCOL AND ASCORBIC ACID ON EARLY GROWTH OF RED CLOVER**

**Slobodan Šujdović**

**Sažetak:** Unos vode u sjeme u ranoj fazi klijanja i reakcija genotipova na manjak vode tijekom imbibicije od velike su važnosti za rast, razvoj i realizaciju visoko kvalitetnih prinosa crvene djeteline. Cilj rada je bio istražiti utjecaj vodnog stresa izazvan primjenom polietilen glikola na rani rast 9 različitih genotipova crvene djeteline (eksperimentalne populacije-TPEXP1, TPEXP2, TPEXP3, TPEXP4; domaći kultivari-Croatia, Nada i uvozni kultivari-Viola, Rajah, Diana) te procijeniti može li egzogena primjena askorbinske kiseline pozitivno utjecati na svladavanje negativnog učinka vodnog stresa. Utjecaj vodnog stresa izazvan polietilen glikolom utvrđen je kod sjemena svih ispitivanih genotipova koji su reagirali smanjenjem postotka klijavosti kao i dužine korjenčića. Pozitivan utjecaj egzogene primjene askorbinske kiseline na svladavanje negativnog učinka vodnog stresa bio je u prosjeku najviši kada je sjeme naklijavano na podlozi s 15% PEG 6000 prvih 48 sati, a potom na podlozi s 15% PEG 6000 i 0,56 mM askorbinske kiseline.

**Ključne riječi:** polietilen glikol, askorbinska kiselina, crvena djetelina, genotip, klijanje sjemena

**Summary:** Seed water uptake in the early stage of germination and reaction of different cultivars to water deficit during imbibition are of great importance for growth, development and realisation of highly qualitative yields of red clover. The aim of this study was to investigate the reaction of different red clover genotypes (experimental populations-TPEXP1, TPEXP2, TPEXP3, TPEXP4; domestic cultivars-Croatia, Nada and foreign cultivars-Viola, Rajah, Diana) on water stress induced by polyethylene glycol and to evaluate if the exogenously applied ascorbic acid can alleviate the negative effects of water stress. Effect of water stress induced by polyethylene glycol was observed in seeds of all genotypes which responded by reducing the percentage of germination and radicle length. Alleviation of the negative water stress effects through exogenously applied ascorbic acid was highest when seeds germinated on media with 15% PEG 6000 for the first 48 hours and after that on media with 15% PEG 6000 and 0.56 mM ascorbic acid.

**Key words:** polyethylene glycol, ascorbic acid, red clover, genotype, seed germination