

ELEKTRIČNI KONDUKTIVITET SJEMENA SOJE NA RAZLIČITIM TEMPERATURAMA IMBIBICIJE

Ivana ČIČIĆ¹, Marija ŠPOLJAREVIĆ¹, Božica JAPUNDŽIĆ-PALENKIĆ², L. ANDRIĆ³,
Tihana TEKLIĆ¹

¹ Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet Osijek
University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek, Faculty of agriculture in Osijek

² Veleučilište u Slavanskom Brodu
University of applied sciences of Slavonski Brod

³ Poljoprivredni institut Osijek
Agricultural institute in Osijek

SAŽETAK

Krupna i srednja frakcija sjemena tri kultivara soje (Zora, Lucija i Korana) su testirani uobičajenim metodama analize kvalitete sjemena (masa 1000 zrna, sadržaj vlage, energija klijanja - EK, standardni test klijavosti - SK) te "cold" testom (CT). Zatim je proveden test konduktiviteta sjemena (EC) "bulk" metodom na tri konstantne temperature imbibicije (10, 20 i 30°C, 24 h), uz određivanje % usvojene vode sjemenom tijekom imbibicije. Ispitivani kultivari soje se nisu značajno razlikovali po EK, SK i CT. Srednja frakcija je imala vrlo značajno veću EK i SK u odnosu na krupnu frakciju. Prema postojećoj kategorizaciji EC sjemena za krupnozrne leguminoze i CT, obje frakcije sjemena pokazuju visok vigor. EC sjemena soje je varirao od 18,0 $\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$ do 29,5 $\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$, s vrlo značajno većim vrijednostima na 30°C. Najveći EC, uz najmanji CT, utvrđen je kod sjemena kultivara Korana. Frakcija sjemena nije značajno utjecala na EC. Značajna negativna korelacija između EC i CT kod sjemena srednje frakcije indicira da je EC na 20°C pogodan za brzu analizu vigora sjemena soje, ukoliko u uzorku prevladava srednja frakcija. Količina usvojene vode sjemenom nakon imbibicije u EC je iznosila od 114,5 do 130,4% u odnosu na početnu masu sjemena. Uz značajan utjecaj kultivara, frakcije i njihove interakcije, najveći intenzitet usvajanja vode utvrđen je pri najvišoj temperaturi imbibicije i kod srednje frakcije sjemena. Dobiveni rezultati upućuju na daljnja istraživanja procesa imbibicije sjemena u laboratorijskim i poljskim uvjetima, sa svrhom boljeg poznavanja genetskog potencijala soje za otpornost na imbibicijsko oštećenje i uspješno nicanje u nepovoljnim uvjetima.

Gljučne riječi: električni konduktivitet sjemena, imbibicija, soja, temperatura, vigor sjemena

UVOD

Proizvodnja dovoljnih količina sjemena visoke kvalitete prema zahtjevima hrvatskog i inozemnog tržišta jedna je od temeljnih zadaća sjemenarstva u Republici Hrvatskoj. Vrlo važno mjesto u sjemenarstvu zauzima laboratorijska kontrola kvalitete sjemena na osnovu čijih rezultata se odlučuje da li će sjeme biti sjemenska roba ili ne. Ispitivanje kvalitete i vigora sjemena soje provodi se analizom različitih pokazatelja, od sadržaja vlage i mase 1000 zrna do standardnog testa klijavosti (SK), energije klijanja (EK) i utvrđivanja zdravstvenog stanja sjemena. Testovi vigora sjemena u kojima se sjeme izlaže određenim nepovoljnim uvjetima za klijanje, poput "cold" testa (CT) i testa električnog konduktiviteta (EC) se ne obavljaju rutinski, iako često mogu preciznije definirati kvalitetu sjemenskog materijala. Navedeni testovi nisu u potpunosti standardizirani niti kalibrirani za sortiment soje koji se proizvodi u Republici Hrvatskoj, stoga predstavljaju nedovoljno poznate pokazatelje vigora sjemena soje i zaslužuju intenzivnija istraživanja.

Cilj ovog istraživanja je bio utvrditi kvalitetu sjemena soje na osnovu izmjerene EC vode u kojoj se odvija imbibicija sjemena, usporediti ovaj pokazatelj s drugim pokazateljima kvalitete - EK, SK i CT te ispitati njihove povezanosti. Poseban naglasak je stavljen na utjecaj temperature imbibicije sjemena tijekom testa EC i utjecaj krupnoće tj. frakcije sjemena na usvajanje vode i ispiranje elektrolita iz sjemena, čija je posljedica konačna izmjerena vrijednost navedenog testa vigora sjemena.

PREGLED LITERATURE

Naklijavanje u sklopu testa SK provodi se u idealnim uvjetima i na temelju rezultata ovog testa, može se precizno predvidjeti nicanje samo za optimalne uvjete u polju (TeKrony, 1995). Sjeme visokog vigora redovito ima i visok potencijal za poljsko nicanje, a važnim metodama za utvrđivanje vigora sjemena soje autor smatra CT i određivanje EC.

Test EC sjemena je primjenjen po prvi put 1928. godine (Hibbard i Miller, 1928), u objašnjenju visoke klijavosti graška u laboratorijskim uvjetima uz nisku klijavost u poljskim uvjetima (Milošević i sur., 2010). Prema Salinas i sur. (2010), test EC sjemena soje je efikasniji pokazatelj poljskog nicanja od SK. Autori navode da se sjeme velikog broja kulturnih biljnih vrsta (riža, soja, kukuruz, pšenica, suncokret, grašak, lupina, pamuk, lucerna, ječam, rajčica, luk, šećerna repa, grah, sjeme cvjetnih i šumskih biljnih vrsta) može ocjenjivati tim testom. Istraživanja provedena na više biljnih vrsta pokazuju da veličina sjemena može utjecati na rezultate ovog testa (Hampton i sur., 1992), stoga se konduktivitet izražava po g početne mase sjemena. Kako i početni sadržaj vlage može biti razlog variranja konduktiviteta, preporučuje se korištenje sjemena s 10-14% vlage.

U poljskim uvjetima poplavljenost tla uslijed obilnih oborina nakon sjetve može izazvati tzv. "flooding stress", propadanje sjemena i gubitak sklopa. Potopljenost sjemena u tom razdoblju često inhibira klijanje i nicanje soje, ali mehanizmi uključeni u toleranciju genotipova soje na imbibicijsko oštećenje nisu dovoljno poznati (T i a n i sur., 2005).

Prema Sørensen i sur. (1996), temperatura vode u kojoj je potopljeno sjeme značajno utječe na ispiranje elektrolita iz sjemena, tako da se ispiranje povećava s porastom temperature. Autori smatraju da su temperature od 18, 20 ili 25°C prihvaćene kao standardne za mjerenje konduktiviteta sjemena. Temperature preporučene za ispitivanje klijavosti soje prema Pravilima za ispitivanje sjemena (20 - 30°C: AOSA, 1995; konst. 25°C: ISTA, 1999; cit po Sekharan, 2006) imaju različit i značajan utjecaj na rast klijanaca soje. Jedan od uzroka može biti različito usvajanje vode od strane sjemena izloženom različitim temperaturama, odnosno različita brzina imbibicije ovisno o temperaturi vode u okolini. Dinamiku imbibicije sjemena soje su detaljno istraživali Meyer i sur. (2007) te Koizumi i sur. (2008), koji u svojim radovima opisuju građu i ulogu sjemenjače u procesu imbibicije, kao i Qutob i sur. (2008). Kako dolazi do rehidracije sjemena u početnoj fazi imbibicije, sposobnost njegovih staničnih membrana da se reorganiziraju i eventualno strukturno korigiraju utječe na intenzitet ispiranja elektrolita iz sjemena. Što su te korekcije brže, ispiranje elektrolita je manje. Posljedično, konduktivitet sjemena visokog vigora je niži nego kod sjemena niskog vigora. Kod posljednjeg, isprane tvari iz sjemena imaju sekundarne učinke, tj. hraniva isprana iz sjemena tijekom klijanja podstiču razvoj mikroorganizama i sekundarnu infekciju.

Andrić i sur. (2007) su proveli testove vigora sjemena soje te iznose da je sjeme s većim vrijednostima laboratorijskih pokazatelja vigora sjemena, CT i EC, u pravilu ostvarilo bolje poljsko nicanje, osobito u lošijim uvjetima u polju.

MATERIJAL I METODE

U istraživanju su provedeni sljedeći testovi: električni konduktivitet sjemena (EC), cold test (CT), energija klijanja (EK) i test standardne klijavosti (SK). Pored toga utvrđen je sadržaj vlage sjemena prije imbibicije u testu konduktiviteta sjemena i nakon toga, da bi se utvrdila količina usvojene vode tijekom imbibicije na 10, 20 i 30°C u termostatu. U ispitivanju su korištene dvije frakcije sjemena (krupna i srednja) te tri kultivara soje Poljoprivrednog instituta u Osijeku: Lucija, Korana i Zora. Sjeme je proizvedeno u 2010. godini na eksperimentalnim površinama Poljoprivrednog instituta gdje je provedena i dorada sjemena, frakcioniranje te utvrđivanje mase 1000 zrna, početnog sadržaja vlage i standardni testovi klijavosti (EK, SK) te CT. Ispitivanje klijavosti sjemena soje provedeno je prema standardnoj metodi na filter-papiru propisanoj Pravilnikom o kvaliteti sjemena poljoprivrednog bilja iz 1991. god. Na navlaženi filter-papir posijano je po 100 sjemenki i naklijavano na temperaturi 20-30°C

I. Čičić i sur.: Električni konduktivitet sjemena soje na različitim temperaturama imbibicije

(12 h mrak, 12 h svjetlo) tijekom ukupno 8 dana. Petog dana naklijavanja je brojanjem prokljalog sjemena utvrđena EK. Utvrđivanje vrijednosti cold testa provedeno je metodom na rolanom filter-papiru (modificirana “rolled towel” metoda, Hampton i TeKrony, 1995). Mjerenje EC sjemena je izvršeno pomoću univerzalnog konduktometra, po tzv. “bulk” metodi (svaka repeticija se sastojala od 50 zrna soje potopljenog 24 h u 250 mL deionizirane vode; Hampton i TeKrony, 1995). Konačan rezultat EC sjemena je izražen na $\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$ početne mase sjemena. Nakon mjerenja konduktiviteta, sjeme je osušeno filter papirom i izvagano na analitičkoj vagi ($\pm 0,01$ g). Na temelju tako utvrđene konačne mase izračunat je % usvojene vode prema početnoj masi svakog uzorka sjemena, izvaganog prije potapanja u vodu.

Sve analize su provedene u 4 ponavljanja. Dobiveni rezultati su obrađeni 2- i 3-faktorijalnom analizom varijance korištenjem programskog paketa SAS po GLM proceduri, uz primjenu F testa i LSD testa. Povezanost ispitivanih pokazatelja je ispitana korelacijskom analizom uz t- test.

REZULTATI ISTRAŽIVANJA

Ispitivani kultivari soje su se vidljivo razlikovali po krupnoći zrna te je kultivar Korana imao najveću masu obje ispitivane frakcije sjemena. Najsitnija zrna među ispitivanim sortama je imao kultivar Zora, čija je masa 1000 zrna kako srednje tako i krupne frakcije bila najmanja (Tablica 1). Sadržaj vlage u sjemenu se kretao 10,2 - 11,6%, uz najviši sadržaj vlage kod obje frakcije sjemena kultivara Korana.

Tablica 1. Masa 1000 zrna i sadržaj vlage u sjemenu soje po kultivarima i frakcijama sjemena
Table 1 1000 grain mass and moisture content in soybean seed depending on cultivar and seed size

Kultivar <i>Cultivar</i>	Frakcija <i>Seed size</i>	Masa 1000 zrna (g) <i>1000 grain mass (g)</i>	Vlaga (%) <i>Seed moisture (%)</i>
Lucija	srednja <i>medium</i>	166,2	10,4
	krupna <i>large</i>	228,9	10,2
Zora	srednja <i>medium</i>	141,9	10,5
	krupna <i>large</i>	188,8	10,3
Korana	srednja <i>medium</i>	177,5	11,0
	krupna <i>large</i>	231,5	11,6

Prosjek 4 repeticije
Means of 4 repetitions

I. Čičić i sur.: Električni konduktivitet sjemena soje na različitim temperaturama imbibicije

Sjeme ispitivanih kultivara soje je podvrgnuto standardnom testu klijavosti u sklopu kojeg je utvrđena i energija klijanja, te cold testu. Frakcija odnosno veličina sjemena je bila vrlo značajan činitelj klijavosti sjemena ispitivanih kultivara soje (Tablica 2). U cjelini, srednja frakcija je imala statistički vrlo značajno veću EK i SK, dok razlike u vrijednosti CT nisu bile značajne. Navedeni pokazatelji klijavosti i vigora sjemena nisu bili pod utjecajem kultivara niti interakcije kultivara i frakcije sjemena.

EC sjemena soje je vrlo značajno ovisio o temperaturi imbibicije (Tablica 3), uz najveću prosječnu vrijednost od $26,8 \mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$ na 30°C , dok se EC sjemena na 10 i 20°C nije značajno razlikovao ($19,5$ odnosno $19,8 \mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$). Utjecaj frakcije sjemena na EC kao i utjecaj interakcije glavnih faktora nisu imali statističku značajnost. U ovom istraživanju je utvrđen i vrlo značajan utjecaj kultivara na EC sjemena, tako da je u prosjeku za obje frakcije i sve tri temperature najveći konduktivitet pokazao kultivar Korana ($24,3 \mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$) koja je imala i najmanju vrijednost CT (Tablica 2), dok se kultivari Zora i Lucija, s nižim prosječnim EC, nisu značajno razlikovali (Tablica 3).

Tablica 2. Značajnost utjecaja frakcije sjemena soje, kultivara i njihove interakcije na pokazatelje klijavosti i vigora sjemena

Table 2 Effects of soybean seed size, cultivar and interaction on seed germination and vigor parameters

		EK (%)	SK (%)	CT (%)
Kultivar <i>Cultivar</i>	Lucija	83,6	86,4	88,5
	Zora	79,5	82,8	89,5
	Korana	83,3	86,9	85,5
Frakcija <i>Seed size</i>	srednja <i>medium</i>	86,6 ^A	89,2 ^A	89,3
	krupna <i>large</i>	77,7 ^B	81,5 ^B	86,3
ANOVA - F test				
<i>P</i>	Kultivar <i>Cultivar</i>	ns	ns	ns
	Frakcija <i>Seed size</i>	0,0098	0,0034	ns
	Interakcija <i>Interaction</i>	ns	ns	ns

EK - energija klijanja %; SK - standardni test klijavosti %; CT - „cold“ test %; ANOVA - F test; ^{A,B} prosjeci označeni različitim slovima se značajno razlikuju po LSD testu na $P=0,01$; ns - nije značajno
EK - germination rate %; SK - standard germination test %; CT - „cold“ test %; ANOVA - F test; ^{A,B} means with different letters are significantly different after LSD test, $P=0.01$; ns - not significant

Na količinu usvojene vode tijekom 24-satne imbibicije sjemena vrlo značajan učinak su imale temperatura i kultivar, a frakcija sjemena je imala manji značaj (Tablica 3). % usvojene vode se nije razlikovao na 10 i 20°C , dok je na 30°C bio vrlo značajno veći. Kultivari Lucija i Korana se nisu značajno razlikovali u količini usvojene vode prema LSD testu (Tablica 3).

I. Čičić i sur.: Električni konduktivitet sjemena soje na različitim temperaturama imbibicije

Tablica 3. Značajnost utjecaja temperature, frakcije sjemena, kultivara i njihovih interakcija na električni konduktivitet sjemena (EC) i % usvojene vode tijekom imbibicije sjemena na 20°C

Table 3 Effects of temperature, seed size, cultivar and their interactions on seed electrical conductivity (EC) and seed water uptake during imbibition at 20°C (treatment means with the same letter do not differ after LSD test: ^{a,b} P=0.05; ^{A,B} P=0.01)

Faktor <i>Effect</i>	Tretman <i>Treatment</i>	EC ($\mu\text{S cm}^{-1}\text{g}^{-1}$)	Usvojena voda (%) <i>Seed water uptake (%)</i>
Temperatura <i>Temperature</i> (A)	10 °C	19,5 ^B	119,6 ^B
	20 °C	19,8 ^B	120,3 ^B
	30 °C	26,8 ^A	126,4 ^A
Frakcija <i>Seed size</i> (B)	srednja <i>medium</i>	22,0 ^a	123,4 ^a
	krupna <i>large</i>	22,0 ^a	120,8 ^b
Kultivar <i>Cultivar</i> (C)	Lucija	20,8 ^B	124,0 ^A
	Zora	21,0 ^B	118,9 ^B
	Korana	24,3 ^A	123,4 ^A
ANOVA - F test (<i>P</i> vrijednost) ANOVA - F test (<i>P</i> value)			
A		<0,0001	<0,0001
B		ns	0,0114
C		<0,0001	0,0008
AxB		ns	ns
AxC		ns	ns
BxC		ns	ns
AxBxC		ns	0,0209

Prosjeci tretmana označeni istim slovom se ne razlikuju prema LSD testu: ^{a,b} P=0,05; ^{A,B} P=0,01
Treatment means with the same letter do not differ after LSD test: ^{a,b} P=0.05; ^{A,B} P=0.01

Srednja frakcija sjemena je prosječno usvojila značajno više vode (123,4%) od krupne frakcije (120,8%). Također se može zaključiti da je potencijal usvajanja vode tijekom testa EC sjemena bio pod značajnim utjecajem interakcije temperature, frakcije sjemena i kultivara.

RASPRAVA

Soja je poznata kao kultura čije je sjeme u poljskim uvjetima nakon sjetve osjetljivo na tzv. „flooding“ stres (Nakayama i sur., 2005), uslijed zasićenosti tla vodom nakon obilnih oborina. Upravo zbog hipoksije kojoj je sjeme izloženo tijekom testa konduktiviteta, ovaj pokazatelj je vrlo često u korelaciji s intenzitetom poljskog nicanja. Pri tome krupnije sjeme vjerojatno treba više kisika za stanično disanje tijekom klijanja, što može pojačati anoksiju u poplavljenom tlu te smanjiti klijavost takvog sjemena (Tian i sur., 2005).

Krupnoća sjemena može imati značajan utjecaj na pokazatelje klijavosti i vigora sjemena, u interakciji s drugim uvjetima. Prema Bradford (2004), početni intenzitet imbibicije i temperatura na kojoj se odvija mogu prilično utjecati na klijanje i vigor sjemena, naročito krupnijeg. Također, krupnoća sjemena se odražava i na klijavost u poljskim uvjetima. Basnal (2004) je dobio najbolje pokazatelje klijavosti u laboratorijskim i poljskim uvjetima sa sjemenom soje srednje krupnoće (promjera 5,0-5,5 mm).

Upravo zbog tih razloga u ovom su istraživanju ispitivane dvije frakcije sjemena soje, kako bi se utvrdio mogući utjecaj krupnoće sjemena na pokazatelje vigora kao što su EK, CT i EC. Prema utvrđenim rezultatima, frakcija sjemena odnosno krupnoća je bila značajan činitelj u EK i SK, gdje je srednja frakcija imala bolju klijavost od krupne (Tablica 2).

Početni sadržaj vlage u sjemenu koje se ispituje testom EC može značajno utjecati na konačan rezultat testa i otežava njegovu standardizaciju (Vieira i sur., 2002), stoga je važno ispitati odnos sadržaja vlage u sjemenu i EC te naći razinu vlage pri kojoj male promjene sadržaja vlage ne utječu značajno na konduktivitet sjemena (Sørensen i sur., 1996). Koizumi i sur. (2008) navode da je imbibijsko oštećenje veliko kod sjemena čiji je sadržaj vlage ispod 10%.

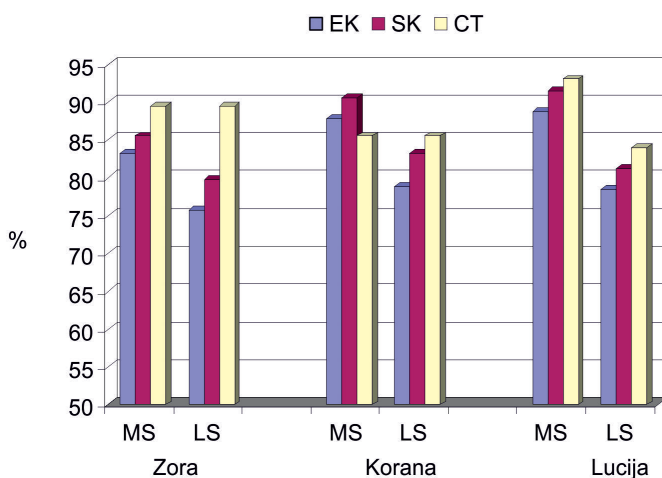
U ovom istraživanju su sva tri ispitivana kultivara imala početni sadržaj vlage iznad 10% pa nije bilo potrebno vršiti kondicioniranje sjemena u smislu korekcije vrijednosti EC matematičkim putem, na osnovu optimalnog sadržaja vlage, kako je to učinjeno u istraživanju Vieira i sur. (2002).

Interesantno je naglasiti da je kod kultivara Lucija i Zora prosječna vrijednost SK bila manja od CT i to kod obje ispitivane frakcije sjemena (Grafikon 1). Kultivar Korana je imao nešto veću prosječnu vrijednost SK od CT (Tablica 2), ali je utjecaj frakcije i kod ovog kultivara vidljiv (Grafikon 1).

I. Čičić i sur.: Električni konduktivitet sjemena soje na različitim temperaturama imbibicije

Grafikon 1. Rezultati laboratorijskih analiza klijavosti i vigora sjemena soje (EK - energija klijanja %; SK - standardni test klijavosti %; CT - „cold“ test %), ovisno o frakciji sjemena i kultivaru

Figure 1 Results of laboratory analysis of soybean seed germinability and vigour (EK - germination rate %; SK - standard germination test %; CT - „cold“ test %), depending on seed size and cultivar



kultivari soje i frakcije sjemena
soybean cultivars and seed size

Krupna frakcija sjemena sorte Korana pokazala je relacije EK - SK - CT slične utvrđenim kod druga dva kultivara, dok je srednja frakcija imala očekivano veću EK i SK od CT. Uobičajeno je da CT daje slabiju konačnu klijavost u odnosu na SK koji se provodi na temperaturama optimalnim za klijanje uslijed stresnih uvjeta niže temperature u prvih 7 dana naklijavanja kao što su u svojim istraživanjima utvrdili Andrić i sur. (2007; 2008). Međutim, ovdje je u testu SK došlo do intenzivnog razvoja patogena, koji su smanjili očekivanu klijavost sjemena dok je u uvjetima CT njihov razvoj bio manje izražen.

Ekstremne temperature se mogu pojaviti u vrijeme nakon sjetve soje u hladnijim odnosno toplijim klimatima, ali i u umjerenom klimatu može doći do kratkotrajnog odstupanja temperature tla uslijed sve učestalijih klimatskih poremećaja. Prema vrijednostima EC na 20°C, može se reći da obje frakcije sva tri ispitivana kultivara u ovom istraživanju pripadaju kategoriji sjemena visokog vigora, pogodnog za ranu sjetvu i nepovoljne uvjete. Na toj temperaturi imbibicije prosječni EC sjemena je iznosio 19,8 $\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$ (Tablica 3) i nije se značajno razlikovao od EC na niskoj temperaturi (10°C: 19,5 $\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$). Vrlo značajno više vrijednosti EC su utvrđene na najvišoj temperaturi imbibicije - prosječno 26,8 $\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$. Dobiveni rezultati ne podržavaju tvrdnje da se pri niskoj temperaturi javlja jače izraženo imbibicijsko oštećenje sjemena. Prema Bradford (2004), niska temperatura povećava imbibicijsko oštećenje sjemena, ovisno

o početnom sadržaju vlage. Autor objašnjava da su membrane u sjemenu s niskim sadržajem vlage u gel stanju i ne predstavljaju dobru zapreku ispiranju elektrolita pri naglom upijanju vode. Promjene stanja membrana (gel - tekuće kristalno) su ovisne o temperaturi. Pri višim temperaturama membrane se "otapaju" u tekuće kristalno stanje i time sprječavaju nagli ulazak vode i imbibicijsko oštećenje sjemena. Prema Parađiković i sur. (2007), toplina ne utječe samo direktno na sjeme u klijanju nego i na dostupnost vode, koja je optimalna pri temperaturama u rasponu od 15-25°C. Kod sjemena sirka je utvrđen povećan intenzitet imbibicije s povećanjem temperature s 10 na 40°C (Kader i Jutzi, 2002). Autori to objašnjavaju nižim viskozitetom vode i posljedično intenzivnijim ulaskom vode u sjeme pri višoj temperaturi. Plenzler i Ciešla (2003) su utvrdili peterostruko povećanje EC sjemena graška, kod povećanja temperature s 282 na 308 K (9 odn. 35°C). Sjeme koje je bilo u vodi na temperaturi 35°C, nije proklijalo kasnijim testom klijavosti na papiru na 21°C, dok je sjeme imbibirano na 9, odnosno 21°C potpuno sačuvalo klijavost. Autori smatraju da se visok porast EC na najvišoj primjenjenoj temperaturi (35°C) može objasniti lezijama plazmaleme i tonoplasta u stanicama sjemena. Wuebker i sur. (2001) su tkđ. ispitivali utjecaj temperature i imbibicije sjemena soje na njegovu klijavost. Pri 25°C, imbibicija sjemena u trajanju 3 dana je značajno snizila % klijavosti u usporedbi sa sjemenom potopljenim 1 ili 2 dana. Općenito, najveća oštećenja sjemena uslijed potapanja su utvrđena na 15°C, a 1 h potapanja na toj temperaturi je rezultirao podjednakim oštećenjem kao kod sjemena potopljenog 3 dana na 25°C. U našem istraživanju nije ispitivana klijavost sjemena nakon provedenog testa EC, stoga bi bilo potrebno nastaviti sa sličnim istraživanjem, dopunjenim s ocjenom klijavosti i vigora klijanaca te bi utvrđeni rezultati još bolje objasnili povezanost konduktiviteta sjemena soje s imbibicijskim oštećenjem.

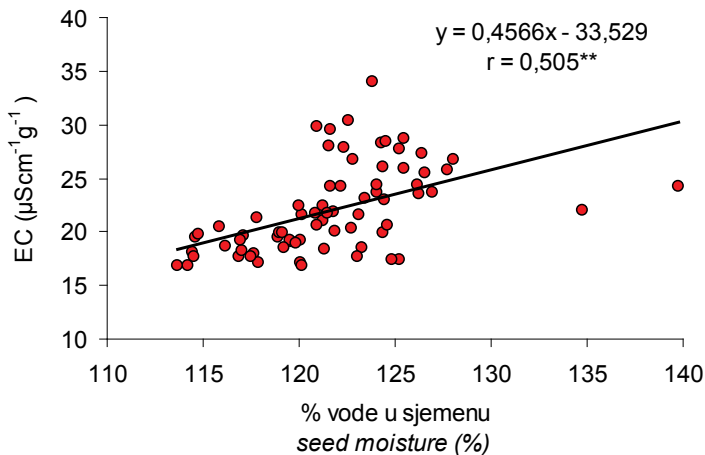
U istraživanju je korišteno sjeme koje je imalo nešto niže vrijednosti EK i SK od očekivanog (Tablica 2), uslijed velikog prisustva patogenih gljiva, čija determinacija je izvan okvira ovog istraživanja. Međutim, vrijednosti CT su bile iznad 80%, što su prema Vieira i sur. (2004) standardne vrijednosti za soju. Isti autori sugeriraju da vrijednosti EC u rasponu 60 - 70 $\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$ znače sjeme visokog vigora a 70 - 80 $\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$ je sjeme srednjeg vigora. U SAD za sjeme koje pokazuje vrijednosti EC iznad 150 $\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$ se smatra da ima nizak vigor i nije pogodno za sjetvu (AOSA, 1983.; cit. po Vieira i sur., 2004). U istraživanju Andrić i sur. (2007), sjeme koje je imalo ispod 50 $\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$ je pokazalo visoku klijavost u SK (više od 89%) i CT (oko 70%), a u poljskim uvjetima dalo zadovoljavajući sklop bez obzira na uvjete tijekom klijanja i nicanja, odnosno rok sjetve. Očigledno je da je teško odrediti klase vigora sjemena samo na temelju EC, već je neophodno uzeti u obzir više pokazatelja, kao što su starost sjemena i već spomenuti značajan efekt genetske osnove.

Krupna frakcija sjemena soje je pokazala vrlo značajno slabiju klijavost u EK i SK u odnosu na sjeme srednje krupnoće (Tablica 2 i Grafikon 1), ali EC sjemena nije ovisio o frakciji, dok je krupnije sjeme usvojilo značajno manje vode u odnosu na početnu

masu (Tablica 3). Količina usvojene vode u sjemenu i utvrđene vrijednosti EC sjemena su bile u čvrstoj pozitivnoj korelaciji (Grafikon 2).

Grafikon 2. Korelacija između električnog konduktiviteta sjemena soje (EC) i % usvojene vode nakon 24 h imbibicije

Figure 2 Correlation between soybean seed electrical conductivity (EC) and seed water uptake (%) after 24 h of imbibition



** $P \leq 0,01$

Većina uzoraka sjemena je usvojila između 115 i 130% vode u odnosu na početnu masu sjemena. To pokazuje veliki intenzitet apsorpcije molekula vode odnosno visok „matriks potencijal“ sjemena soje. Istovremeno, spomenuta korelacija, koja se temelji na EC i konačnom sadržaju vode u sjemenu na sve tri primjenjene temperature, sugerira da uslijed jačeg usvajanja vode od strane sjemena tijekom imbibicije dolazi i do jačeg ispiranja elektrolita iz sjemena. To upućuje na zaključak da bi u tlu zasićenom vodom nakon sjetve, uslijed jakih oborina ili poplavljenosti, uz visoke temperature moglo doći do naglog usvajanje vode i imbibicijskog oštećenja sjemena, uz intenzivno ispiranje elektrolita iz sjemena, što sve pogoduje razvoju patogenih mikroorganizama. Uslijed kombiniranog abiotskog i biotskog stresa, velika je mogućnost propadanja sjemena i slabog intenziteta klijanja i nicanja.

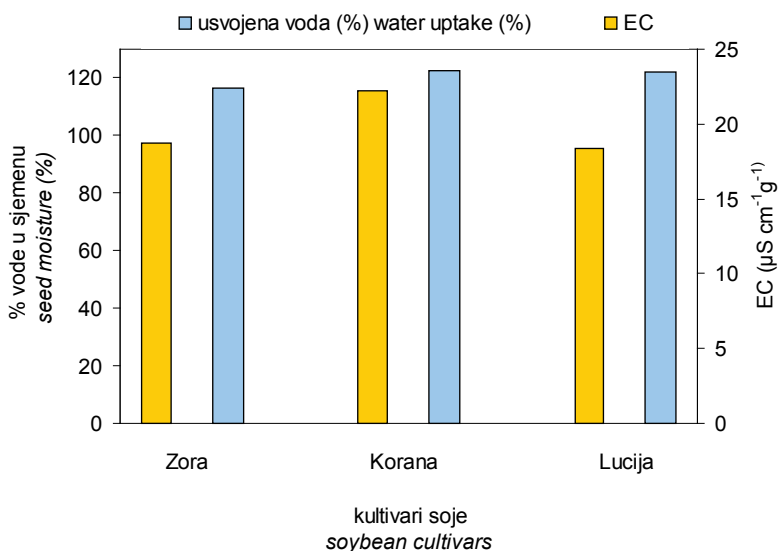
U istraživanju Zaghdan i (2002) mjereno je sadržaj vode u sjemenu graška nakon određenog vremena imbibicije na različitim temperaturama. Nakon 72 h imbibicije na 5, 10 i 20°C, % imbibicije (usvojene vode u odnosu na početnu masu sjemena) je bio 183,3 odnosno 172,01 i 186,72%. Autor zaključuje da dva ispitivana kultivara graška nisu prestala usvajati vodu nakon 24, odnosno 48 h imbibicije. Međutim, uočen je

I. Čičić i sur.: Električni konduktivitet sjemena soje na različitim temperaturama imbibicije

utjecaj temperature pa autor navodi da je pri 24 h imbibicije povećanje temperature s 5 na 15°C odnosno s 10 na 15 ili 20°C rezultiralo značajno većim usvajanjem vode. U našem istraživanju, temperatura imbibicije je također bila vrlo značajan činitelj intenziteta usvajanja vode sjemenom (Tablica 3), te je utvrđen najveći porast mase sjemena uslijed usvojene vode pri imbibiciji na najvišoj temperaturi. Utjecaj kultivara je bio vrlo značajan (Tablica 3) pa je sjeme kultivara Zora usvojilo najmanje vode u odnosu na početnu masu, koja je za obje frakcije bila najmanja među ispitivanim sortama. Ukoliko se analizira samo sjeme izloženo imbibiciji na 20°C, što je temperatura koja se preporučuje za test EC, među ispitivanim kultivarima se izdvaja Lucija, kod koje je unatoč velikoj količini usvojene vode EC bio najmanji (Grafikon 3). Kultivar Korana je pokazao najveći % usvojene vode i najveći konduktivitet.

Grafikon 3. Postotak usvojene vode u sjemenu soje nakon 24 imbibicije na 20°C i električni konduktivitet sjemena ispitivanih kultivara

Figure 3 Percentage of soybean seed water uptake after 24 h imbibition at 20°C and seed electrical conductivity of tested cultivars

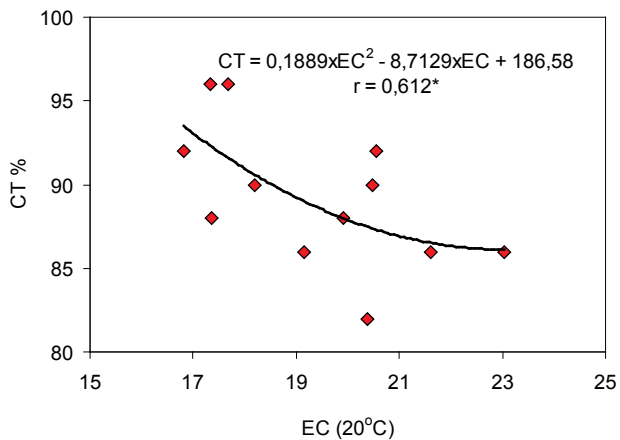


EC; prosjek obje frakcije sjemena i 4 repeticije
EC; means of both seed size categories and 4 repetitions

Iako frakcija sjemena pojedinačno nije bila značajan činitelj za EC, imala je značajan utjecaj na usvajanje vode sjemenom (Tablica 3). Kod sjemena srednje frakcije povezanost između EC na 20°C i CT je bila značajna (Grafikon 4) dok kod sjemena krupne frakcije ta korelacija nije potvrđena.

Grafikon 4. Korelacija između konduktiviteta sjemena soje (EC) na 20°C i „cold“ testa (CT) kod sjemena srednje frakcije

Figure 4 Correlation between soybean seed conductivity (EC) at 20°C and “cold” test (CT) in medium sized seed



Prosjeak tri kultivara i 4 repeticije; * $P \leq 0,05$
Means of 3 cultivars and 4 replicates; * $P \leq 0.05$

Povećanje EC sjemena srednje frakcije bilo je praćeno manjim CT vrijednostima, što znači da veće ispiranje elektrolita tijekom imbibicije na 20°C ukazuje na niži vigor sjemena soje, tj. takvo sjeme ima slabije klijanje u uvjetima CT. Drugim riječima, temperatura od 20°C za test EC sjemena soje je pogodna za brzu analizu vigora sjemena soje ukoliko u uzorku sjemena prevladava srednja frakcija.

Spora i kontrolirana hidratacija sjemena je esencijalna kao prvi korak u reaktivaciji metaboličkih procesa u suhom sjemenu, koji trebaju rezultirati klijanjem i porastom klijanaca (Koizumi i sur., 2008). Pri tome još treba istaći da tkiva klice usvajaju vodu brže od rezervnih tkiva pa posljedično, pojedini dijelovi sjemena se mogu značajno razlikovati po sadržaju vode (V i l l e l a, 1998). Stoga sadržaj vode u sjemenu utvrđen nakon 24-satne imbibicije u deioniziranoj vodi u sklopu testa EC sjemena je samo orijentacijski pokazatelj razlika u intenzitetu usvajanja čiste vode kod ispitivanih kultivara soje i na primjenjenim temperaturama imbibicije. Jasno je da u realnim poljskim uvjetima sjeme nikada nije izloženo imbibiciji u identičnim uvjetima, uslijed čega njegov sadržaj vode i dinamika njenog usvajanja može biti značajno drugačiji. Na

temelju prikazanih rezultata nameće se potreba daljnjeg istraživanja svojstava sjemena soje u pogledu značaja procesa imbibicije sjemena u kontroliranim i poljskim uvjetima, kako bi se što bolje upoznao genetski potencijal kultivara za vigor sjemena, a naročito otpornost na imbibicijsko oštećenje i postizanje dobrog nicanja u nepovoljnim uvjetima nakon sjetve.

ZAKLJUČAK

Na temelju provedenih istraživanja utjecaja temperature, frakcije sjemena i kultivara na EC sjemena soje, može se zaključiti slijedeće:

Prema kategorizaciji EC sjemena za krupnozrne leguminoze i vrijednosti CT, obje frakcije sva tri ispitivana kultivara u ovom istraživanju pokazale su visok vigor sjemena.

EC sjemena soje je vrlo značajno ovisio o temperaturi imbibicije, uz najveću prosječnu vrijednost na 30°C. Utjecaj frakcije sjemena na EC kao i utjecaj interakcije glavnih faktora u ovom istraživanju nisu imali statističku značajnost. U prosjeku za obje frakcije i sve primjenjene temperature najveći EC je pokazao kultivar Korana, koji je imao i najmanju klijavost u CT. Korelacija između EC sjemena i CT je bila značajna i negativnog smjera kod sjemena srednje frakcije, što znači da je test EC sjemena soje koji se provodi na 20°C pogodan za brzu analizu vigora, ukoliko u uzorku sjemena prevladava srednja frakcija.

% usvojene vode pri imbibiciji na 30°C bio je najveći, kao i EC. To bi u poljskim uvjetima uz visoku temperaturu tla značilo veliku mogućnost imbibicijskog oštećenja sjemena soje. Srednja frakcija sjemena je prosječno usvojila relativno više vode od krupne frakcije.

Na temelju prikazanih rezultata preporučuje se daljnje istraživanje procesa imbibicije sjemena u laboratorijskim i poljskim uvjetima, kako bi se što bolje upoznao genetski potencijal kultivara za vigor sjemena, a naročito otpornost na imbibicijsko oštećenje te postizanje dobrog nicanja u nepovoljnim uvjetima nakon sjetve.

ELECTRICAL CONDUCTIVITY OF SOYBEAN SEED AT DIFFERENT IMBIBITION TEMPERATURES

SUMMARY

Large and medium-sized seed of three soybean cultivars (Zora, Lucija and Korana) were evaluated using commonly applied seed quality analytical methods (1000 grain mass, moisture content, rate of germination - EK, standard germination test - SK) as well as cold test (CT). Afterwards, seed electrical conductivity test (EC) - „bulk“

method - was performed at three constant temperatures (10, 20 and 30°C, 24 h), with subsequent determination of seed water uptake during imbibition, as the % of the initial seed sample weight. The tested soybean cultivars did not show significant differences regarding EK, SK and CT. Medium-sized seed showed very significantly higher EK and SK in comparison with large seed. According to the current EC evaluation scale for large-seeded legumes and CT values, both seed categories expressed high vigour. EC test varied between 18.0 – 29.5 $\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$, and significantly higher values were seen at 30°C during imbibition. The highest EC and the lowest CT values were obtained with the seed of cultivar Korana. Seed size had no effect on EC test value. The established significant negative correlation between EC and CT in medium-sized seed implies that EC test performed at 20°C could be suitable tool for fast soybean seed vigour analyses, if medium-sized seed dominated in seed sample. Seed water content after imbibition in EC test varied between 114.5 - 130.4% regarding seed initial weight. Considering significant influence of cultivar, seed size category and their interaction, the highest water uptake rate was observed at the highest imbibition temperature applied, as well as in medium-sized seed. These results suggest further investigation of seed imbibitional processes in both laboratory and field conditions, with aim of better comprehension of soybean genetic potential in imbibitional damage resistance and successful emergence in adverse conditions.

Key words: seed electrical conductivity, imbibition, soybean, temperature, seed vigour

LITERATURA - REFERENCES

1. Anđrić, L., Teklić, T., Vratarić, M., Sudarić, A., Duvnjak, V. (2007): Soybean seed vigour and field emergence under influence of cultivar, seed age and planting date. *Cereal Res. Commun.*, 35(2) pp. 177-180.
2. Anđrić, L., Bešlo, D., Plavšić, H. (2008): Lipid peroxidation and proline content in soybean seedlings under influence of germination conditions. *Cereal Res. Commun.*, 36(Suppl. 1) pp. 1035-1038.
3. B a s n a l, G.S. (2004): Studies on seed size in influencing germination, yield and quality of soybean, wheat and mungbean. Abstracts of the 27th ISTA Congress Seed Symposium; Budapest, Hungary May 17th – 19th, 2004, p. 63.
4. Bradford, K.J. (2004): Seed production and quality. Izvor: <http://veghome.ucdavid.edu/classes/Spring2004/AMR118>, prosinac 2010.
5. H a m p t o n, J.G., Johnstone, K.A., Eua-Umpo, V. (1992): Bulk conductivity test variables for mungbean, soybean and french bean seed lots. *Seed Science and Technology* 20: 677-686.
6. H a m p t o n, J.G., TeKrony, D.M. (1995): Handbook of vigour test methods. 3rd edition. ISTA, pp.1-117.
7. H i b b a r d, R.P., Miller, E.V. (1928): Biochemical studies on seed viability. I. Measurement of conductance and reduction. *Plant Physiol.*, 3 pp. 335-352.
8. K a d e r, M.A., Jutzi, S.C. (2002): Temperature, osmotic pressure and seed treatments influence imbibition rates in sorghum seeds. *Journal of Agronomy and Crop Sci.*, 188 pp. 286-290.

I. Čičić i sur.: Električni konduktivitet sjemena soje na različitim temperaturama imbibicije

9. K o i z u m i, M., Kikuchi, K., Isobe, S., Ishida, N., Naito, S., Kano, H. (2008): Role of seed coat in imbibing soybean seeds observed by micro-magnetic resonance imaging. *Ann. Bot.*, 102(3) pp. 343-352.
10. M e y e r, C.J., Steudle, E., Peterson, C.A. (2007): Patterns and kinetics of water uptake by soybean seeds. *J. Exp. Bot.*, 58(3) pp. 717-732.
11. M i l o š e v i ć, M., Vujaković, M., Karagić, Đ. (2010): Vigour tests as indicators of seed viability. *Genetika*, 42(1) pp. 103-118.
12. N a k a y a m a, N., Shimada, S., Takahashi, M., Kim, Y.-H., Arihara, J. (2005): Effects of water-absorbing rate of seed on flooding injury in soybean. *Japanese Journal of Crop Science* 74(3): 325-329.
13. P a r a đ i k o v i ć, N., Teklić, T., Guberac, V., Vinković, T. (2007): Utjecaj temperature na klijavost i nicanje salate (*Lactuca sativa* L.) i mrkve (*Daucus carota* L.). *Sjemenarstvo* 24(2): 111-119.
14. P l e n z l e r, G.B., Ciešla, L. (2003): Conductivity study of ions efflux from soaked pea seeds. *Acta Agrophysica*, 2(2): 389-395.
15. Q u t o b, D., Ma, F., Peterson, C.A., Bernards, M.A., Gijzen, M. (2008): Structural and permeability properties of the soybean seed coat. *Botany*, 86 pp. 219-227.
16. S a l i n a s, A.R., Cravioito, R.M., Beltrán, C., Bisaro, V., Yoldjian, A.M. (2010): Electrical conductivity of soybean seed cultivars and adjusted models of leakage curves along the time. *Revista Caatinga Mossoró* (23)1: 1-7.
17. S e k h a r a n, S. (2006): Aged soybean (*Glycine max* [L.] Merrill) seeds - their physiology and vigor assessment. PhD dissertation, Ohio State University: 180 p.
18. S ø r e n s e n, A., Lauridsen, E.B., Thomsen, K. (1996): Electrical conductivity test - Technical note no. 45. Danida Forest Seed Centre, Krogerupvej 21, DK-3050 Humlebaek, Denmark; 21 p.
19. T e K r o n y, D.M. (1995): Producing high quality soybean seed. Proceedings of the twenty-fifth soybean seed research conference.
20. T i a n, X.-H., Nakamura, T., Kokubun, M. (2005): The role of seed structure and oxygen responsiveness in pre-germination flooding tolerance of soybean cultivars. *Plant Prod. Sci.*, 8(2) pp. 157-165.
21. V i e i r a, R.D., Neto, A.S., Mudrovitsch de Bittencourt, S.R., Panobianco, M. (2004): Electrical conductivity of the seed soaking solution and soybean seedling emergence. *Scientia agric. Piracicaba*, 61(2) pp. 164-168.
22. V i e i r a, R.D., Penariol, A.L., Perecin, D., Panobianco, M. (2002): Electrical conductivity and initial water content of soybean seeds. *Pesq. Agropec. Brasilia*, 37(9) pp. 1333-1338.
23. V i l l e l a, F.A. (1998): Water relations in seed. *Scientia Agricola* 55: 98-101.
24. W u e b k e r, E.F., Mullen, R. E., Koehler, K. (2001): Flooding and temperature effects on soybean germination. *Crop Sci.*, 41 pp. 1857-1861.
25. Z a g h d a n i, A.S. (2002): Effect of pre-sowing seed treatments for quality of cucumber, pepper, tomato and pea seed. PhD dissertation, Szent István University, Budapest: 145 str.

Adresa autora – Author's address:

Ivana Čičić, student
Marija Špoljarević, prof.
Prof. dr. sc. Tihana Teklić
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera
Poljoprivredni fakultet u Osijeku
Kralja Petra Svačića 1d, 31000 Osijek
E-mail: marija.spoljarevic@pfos.hr

Priljeno-Received:

27. 06. 2012.

I. Čičić i sur.: Električni konduktivitet sjemena soje na različitim temperaturama imbibicije

Božica Japundžić – Palenkić, dipl. ing.
Veleučilište u Slavanskom Brodu
Dr. Mile Budaka 1, 35000 Slavonski Brod

Dr. sc. Luka Andrić
Poljoprivredni institut Osijek
Južno predgrađe 17, 31000 Osijek