

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za biologiju

Preddiplomski sveučilišni studij Biologija

Dragica Marinčić

Djelovanje čivitnjače na klijavost i razvoj lucerne i suncokreta

Završni rad

Osijek, 2018.

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za biologiju

Preddiplomski sveučilišni studij Biologija

Znanstveno područje: Prirodne znanosti

Znanstveno polje: Biologija

DJELOVANJE ČIVITNJAČE NA KLIJAVOST I RAZVOJ LUCERNE I SUNCOKRETA

Dragica Marinčić

Rad je izrađen na: Zavodu za ekologiju voda

Mentor: Dr.sc. Ljiljana Krstin, doc.

Komentor: Dr.sc. Tanja Žuna Pfeiffer, doc.

Kratak sažetak završnog rada: Čivitnjača je invazivna biljka koja sadrži alelokemikalije koje mogu utjecati na rast i razvoj biljaka u njezinoj neposrednoj blizini. Cilj ovog rada bio je utvrditi utjecaj otopine juglona i vodenih ekstrakata suhih listova čivitnjače različitih koncentracija (1, 3 i 5%) na klijavost i rast sjemena lucerne i suncokreta. Sjeme obje testne biljne vrste tretirano otopinom juglona i ekstraktom čivitnjače najveće koncentracije najslabije je klijalo, a mlade su se biljke slabije razvijale (manja masa izdanka i korijena). Rezultati istraživanja ukazuju da čivitnjača ima alelopatski potencijal. S obzirom da se čivitnjača razvija i u blizini poljoprivrednih površina, njeno daljnje nekontrolirano širenje moglo bi imati negativan utjecaj na rast i prinos različitih poljoprivrednih kultura.

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: alelopatija, tretiranje sjemenki, vodeni ekstrakti, inhibicija, klijavost

Rad je pohranjen: na mrežnim stranicama Odjela za biologiju te u Nacionalnom repozitoriju završnih i diplomskih radova Nacionalne i sveučilišne knjižnice u Zagrebu.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

Department of Biology

Undergraduate university study programme in Biology

Scientific Area: Natural sciences

Scientific Field: Biology

INDIGO BUSH EFFECT ON GERMINATION AND GROWTH OF ALFALFA AND SUNFLOWER

Dragica Marinčić

Thesis performed at: Sub-department of Water Ecology

Supervisor: Ljiljana Krstin, PhD, Asst. Prof.

Cosupervisor: Tanja Žuna Pfeiffer, PhD, Asst. Prof.

Short abstract: Indigo bush is an invasive plant with allelochemicals which effect on germination and growth of other plants in its vicinity. The main goal of this research was to test how solution of juglon and water extracts, made from dry leaves of indigo bush, in three different concentration (1, 3, 5%) affect seed germination and growth of alfalfa and sunflower. Seed of both plants tested with solution of juglon and indigo bush extract in the biggest concentration showed the smallest germination and young plants have developed less, too (mass of shoot and root decreased). The result of this research show that indigo bush have allelopathic potential. Considering that indigo bush is developing in the vicinity of agricultural areas, its further spreading can have negative effect on growth and yield of different agricultures.

Original in: Croatian

Key words: allelopathy, seed treatment, water extracts, inhibition, germination

Thesis deposited: on the Department of Biology website and the Croatian Digital Theses Repository of the National and University Library in Zagreb.

SADRŽAJ:

1. UVOD.....	1
1.1. Čivitnjača (<i>Amorpha fruticosa</i> L.).....	1
1.2. Alelopatija.....	2
1.3. Cilj istraživanja	4
2. MATERIJALI I METODE.....	5
2.1. Prikupljanje i obrada listova čivitnjače.....	5
2.2. Pripremanje vodenih ekstrakata.....	5
2.3. Istraživanje alelopatiskog djelovanja čivitnjače	6
3. REZULTATI	8
3.1. Utjecaj čivitnjače na ukupnu klijavost sjemena lucerne	8
3.2. Utjecaj čivitnjače na prosječno vrijeme klijanja i indeks klijavosti sjemena lucerne.	9
3.3. Utjecaj čivitnjače na masu izdanka i korijena klijanaca lucerne	9
3.4. Utjecaj čivitnjače na ukupnu klijavost sjemena suncokreta	11
3.5. Utjecaj čivitnjače na prosječno vrijeme klijanja i indeks klijavosti sjemena suncokreta	12
3.6. Utjecaj čivitnjače na masu izdanka i korijena klijanaca suncokreta.....	13
4. RASPRAVA.....	15
5. ZAKLJUČAK.....	17
6. LITERATURA	18

1. UVOD

1.1. Čivitnjača (*Amorpha fruticosa* L.)

Čivitnjača je listopadna grmolika biljna vrsta koja pripada porodici Fabaceae. Prirodno je rasprostranjena na istočnom i jugoistočnom području SAD-a. U Europu je, iz Sjeverne Amerike, unesena 1724. godine, a u Hrvatskoj je zabilježena tek početkom 20. stoljeća (Krpan i sur. 2011).

S obzirom da brzo raste i brzo se razmnožava, ova je vrsta vrlo agresivna na staništima koja naseljava te je uvrštena na popis invazivnih biljaka na području Hrvatske (Nikolić i sur. 2014).

Prema dosadašnjim spoznajama u Hrvatskoj je čivitnjača najrasprostranjenija na području Posavine te u nizinskim dijelovima Uprave šuma podružnice (UŠP) Zagreb, Sisak, Karlovac, Nova Gradiška i Vinkovci. U UŠP Zagreb najviše su čivitnjačom zahvaćeni nizinski dijelovi šumarija Lipovljani, Kutina i Popovača, a u UŠP Nova Gradiška šumarije Jasenovac, Novska, Stara Gradiška, Nova Gradiška te Trnjani, Slavonski Brod, Oriovac i Nova Kapela, s istočne strane. Na području UŠP Vinkovci čivitnjačom su najzahvaćenija područja Mikanovci i Strizivojna (Krpan i sur. 2011). Čivitnjača se širi i u parku prirode Lonjsko polje, selu Čikoč te oko jezera Šumbar kod Karlovca (Novak i Kravarščan 2011). U kontinentalnoj Hrvatskoj raširena je uz Posavsku autocestu A3 gdje s obje strane autoceste formira nekoliko desetaka kilometara tzv. „zelenog zida“ (Novak i Kravarščan 2011). Na području Dalmacije raširena je na otocima Lokrumu (Hećimović 1982) i Mljetu (Regula-Bevilacqua i Ilijanić 1984) te u dolini Cetine (Šilić i Šolić 2002) i Omišu (Pandža i Tafra 2008).

Čivitnjača je heliofilna biljka koja može narasti do 3 m u visinu. Listovi su joj neparno perasto sastavljeni (Slika 1). Cvate krajem proljeća i početkom ljeta, a cvjetovi su joj ljubičaste boje, različitog spola i skupljeni u grozdaste cvatove koje najčešće oprašuju pčele. Plodovi su joj mahune koje sadrže po jednu sjemenku (Novak i Kravarščan 2011). Raste na vlažnim, slabo kiselim i bazičnim tlima uz obale rijeka i jezera gdje dinamika plavljenja pridonosi njezinom širenju (Krpan i sur. 2011).



Slika 1: Listovi i cvat čivitnjače (*Amorpha fruticosa* L.) (Fotografija Web 1).

1.2. Alelopatija

Pojam alelopatija nastao je od grčkih riječi *allélon* što znači uzajamno i riječi *páthos* što znači trpljenje, bol. Ovaj je naziv prvi put primijenio austrijski botaničar Hans Molisch 1937. godine u svrhu opisivanja štetnih ili korisnih kemijskih međudjelovanja biljaka ili mikroorganizama (Siddiqui i sur. 2009). Alelopatija obuhvaća pozitivan ili negativan, ali također i izravan ili neizravan učinak jedne biljke, gljive ili mikroorganizma na drugu temeljem izlučivanja različitih kemijskih spojeva tzv. alelokemikalija (Rice 1984).

Alelokemikalije su uglavnom sekundarni metaboliti ili ostaci glavnih metabolita koji nemaju veliku ulogu u primarnom metabolizmu biljaka (Swain 1977). Prisutne su u većini biljnih tkiva u različitim biljnim organima kao što su korijen, stabljika, listovi, cvjetovi, plodovi i sjeme (Alam i sur. 2001). Oslobođaju se na različite načine: volatizacijom i ispiranjem iz biljnih organa, izlučivanjem putem korijena ili razgradnjom, odnosno dekompozicijom biljnih ostataka (Whittaker i Feeny 1971). Ovakvi kemijski spojevi negativno utječu na klijanje i rast okolnih biljaka, odnosno smanjuju klijavost, ograničavaju rast korijena i izdanka u duljinu, smanjuju akumulaciju suhe mase te sprječavaju razvoj korijenovih dlačica (Rice 1974). Prema Aldrichu i Kremeru (1997) alelokemikalije utječu na klijanje i rast biljaka djelujući na različite metaboličke procese u biljkama, posebno na diobu i rast stanica, regulatore rasta, mineralnu ishranu, fotosintezu, disanje, otvaranje puči, sintezu proteina i masti, metabolizam organskih kiselina, propustljivost membrana i aktivnost enzima.

Pojedina istraživanja su pokazala da alelokemikalije, prisutne u većoj koncentraciji, djeluju inhibirajuće na rast nekih biljaka, dok u manjim koncentracijama mogu stimulirati njihov rast. Općenito, alelopatsko djelovanje biljaka nastaje kao rezultat zajedničkog djelovanja svih alelokemikalija prisutnih u određenoj biljci (Putnam 1986). Mnoge biljne vrste poput vrsta *Polygonum aviculare* (ptičji dvornik) (Costea i Tardif 2005) i *Tripleurospermum inodorum* (bezmirisna kamilica) (Kwiecińska-Poppe i sur. 2011; Ravlić i sur. 2012) oslobađanjem specifičnih spojeva djeluju alelopatski na biljke u svom okruženju. Ekstrakti aromatskih i ljekovitih biljaka kao što su *Calendula officinalis* (neven) i *Ocimum basilicum* (bosiljak) inhibiraju rast korovnih vrsta (Mikulas i sur. 1994), dok ekstrakti listova i korijena vrste *Cirsium arvense* (poljski osjak) inhibiraju klijanje i rast krastavca, suncokreta, kukuruza, pšenice i ječma (Kazinczi i sur. 1999). Rice (1984) i Einhellig i suradnici (1985) utvrdili su da stimulativan ili inhibitoran učinak alelokemikalija ovisi o biljnoj vrsti, koncentraciji spojeva, starosti rezidua i fazi razlaganja. Osim toga, pojedini biljni organi imaju različit alelopatski potencijal, a najveći inhibitorni učinak pokazali su ekstrakti izdvojeni iz listova (Xuan i sur. 2004).

Glavni cilj istraživanja alelopatskog djelovanja biljaka je pronalaženje i primjena alelokemikalija učinkovitih u suzbijanju korova i biljnih štetočina, a u svrhu smanjenja upotrebe sintetičkih herbicida i pesticida, kao i negativnog djelovanja alelokemikalija na prinos i rast usjeva (Šćepanović i sur. 2007). U svrhu određivanja alelopatskog učinka neke tvari, razvijena je metoda tzv. juglon-indeksa koja se temelji na usporedbi učinka 1mM otopine juglona (tvar izolirana iz listova oraha, *Juglans regia* L.) i tvari čiji je alelopatski potencijal nepoznat (Szabó 1999). Kvocijent koji se dobije na temelju mjerenja duljine izdanka, korijena i postotka klijavosti sjemenki u 1mM otopini juglona te u otopini tvari nepoznatog alelopatskog učinka naziva se juglon-indeks. Kvocijent veći od 1 ukazuje da je inhibicijski učinak ispitivane tvari jači od inhibicijskog učinka juglona, dok kvocijent manji od 1 ukazuje da ispitivana tvar ima slabiji inhibicijski učinak od juglona, tj. manji alelopatski potencijal. Ukoliko je kvocijent manji od 0,5, smatra se da ispitivana tvar ne posjeduje alelopatski potencijal, a samim time nema ni inhibicijski učinak (Šćepanović i sur. 2007). Istraživanje koje je proveo Csiszar (2009) pokazalo je da *Amorpha fruticosa* (čivitnjača) već i pri nižim koncentracijama ima juglon- indeks veći od 1, a slijede je vrste *Ailanthus altissima* (žljezdasti pajasen) i *Celtis occidentalis* (američki koprivić) s juglon indeksom od 1,49 i 1,36.

1.3. Cilj istraživanja

Cilj je ovog istraživanja ispitati alelopatski učinak juglona te vodenih ekstrakata listova čivitnjače različitih koncentracija na klijanje i rast sjemena lucerne (*Medicago sativa* L.) i suncokreta (*Helianthus annuus* L.).

2. MATERIJALI I METODE

2.1. Prikupljanje i obrada listova čivitnjače

Zdravi i potpuno razvijeni listovi čivitnjače prikupljeni su u prijepodnevnim satima u srpnju 2017. godine s grmova razvijenih uz kanal na području Pokupskog bazena. Listovi su u jutenim vrećama preneseni u laboratorij na daljnju obradu.

2.2. Pripremanje vodenih ekstrakata

Prikupljeni listovi su sušeni u sušioniku na 70 °C tijekom 48 sati, odnosno sve dok se masa listova više nije mijenjala. Nakon sušenja, peteljke su odvojene, a lisne plojke su spremljene u eksikator kako bi se spriječilo nakupljanje vlage.

Otopina juglona pripravljena je otapanjem 0,0174g g juglona u 100 ml destilirane, sterilne vode.

Za pripremu 5%-tnog vodenog ekstrakta čivitnjače izvagano je 5g osušenih listova. Listovi su usitnjeni u tarioniku te su prebačeni u sterilnu odmjernu tikvicu od 100 mL i preliveni sa 100 mL destilirane, sterilne vode. Ekstrakcija se odvijala pri sobnoj temperaturi sat vremena uz stalno miješanje (Slika 2A). Nakon toga, vodeni ekstrakt je procijeđen kroz višeslojnu sterilnu gazu kako bi se uklonile grube čestice te je preliven u sterilnu reagens bocu. Otopina juglona i pripremljeni vodeni ekstrakt čuvani su u hladnjaku na +4°C do upotrebe. 3%-tni i 1%-tni ekstrakt dobiveni su razrjeđivanjem pripremljenog 5%-tnog ekstrakta neposredno prije upotrebe (Slika 2B.)

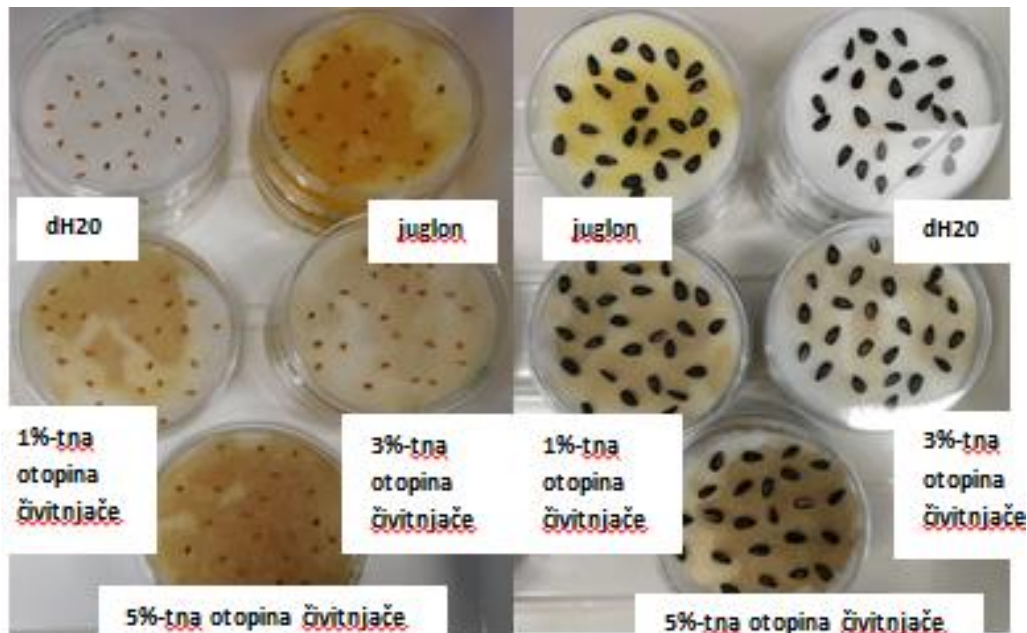


Slika 2: Priprema 5%-tnog vodenog ekstrakta listova čivitnjače (A); pripremljeni 1%-, 3%- i 5%-tni vodeni ekstrakti (B) (Fotografija: Dragica Marinčić).

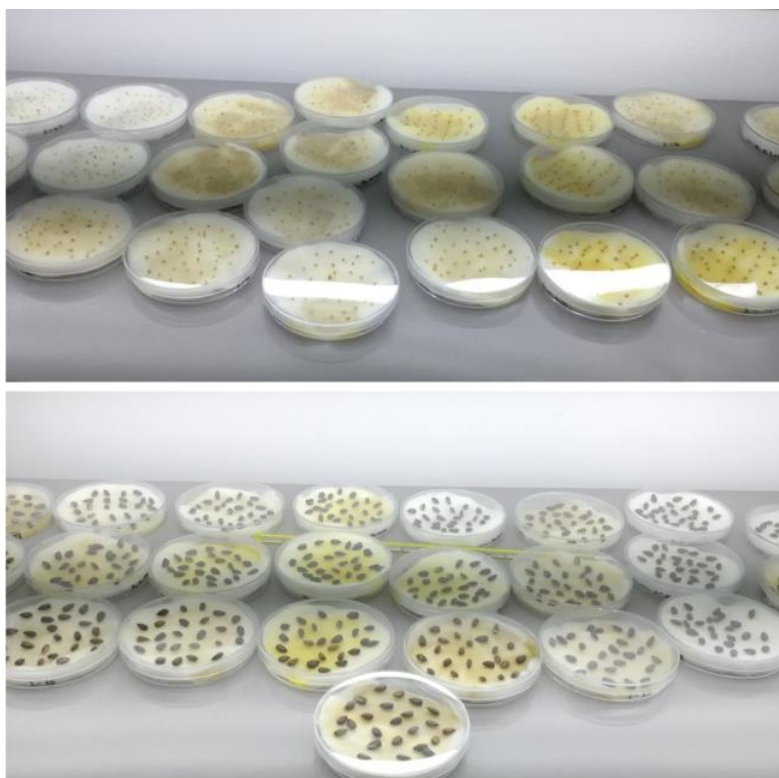
2.3. Istraživanje alelopatskog djelovanja čivitnjače

Za ispitivanje alelopatskog učinka dobivenih vodenih ekstrakata korišteno je sjeme lucerne i suncokreta. Sjeme obje biljne vrste je kratko površinski sterilizirano uranjanjem u 70%-tni etanol, a potom je dobro isprano destiliranom, sterilnom vodom. Nakon toga, sjeme je tri puta po 5 minuta uranjano u 1,5%-tnu otopinu izosana te svaki put nakon toga isprano u destiliranoj, sterilnoj vodi. Nakon sterilizacije sjeme je ostavljeno da nabubri tijekom 24h u čašicama s destiliranom, sterilnom vodom. Čašice su bile prekrivene sterilnom aluminijskom folijom.

Na dno sterilnih petrijevih zdjelica raširen je tanji sloj sterilne vate na koji je zatim položen sterilni filter-papir. Na površini filter-papira u svakoj petrijevoj zdjelici raspoređeno je po 40 sjemenki lucerne, odnosno 25 sjemenki suncokreta (Slika 3). Sjeme je zaliveno s 8 ml otopine juglona, odnosno vodenog ekstrakta određene koncentracije, dok je kao kontrola korištena destilirana, sterilna voda. Petrijeve zdjelice sa sjemenom prenesene su u klimakomoru u kojoj su držane 6 dana pri temperaturi od $26,07 \pm 2,34$ °C (Slika 4). Sjeme je promatrano svaki dan, a po potrebi je dodavana destilirana voda kako se sjeme ne bi osušilo. Svakodnevno je bilježena temperatura u komori te broj prokljalih sjemenki u svakoj petrijevoj zdjelici. Svaki tretman je imao pet ponavljanja, a pokus je ponovljen tri puta.



Slika 3: Prikaz petrijevih zdjelica u kojima je sjeme lucerne (A) i suncokreta (B) tretirano destiliranom vodom, otopinom juglona, 1%-tnom otopinom čivitnjače, 3%-tnom otopinom čivitnjače i 5%-tnom otopinom čivitnjače (Fotografija: Dragica Marinčić).



Slika 4: Uzgoj sjemena lucerne (A) i suncokreta (B) u komori (Fotografija: Dragica Marinčić).

Nakon šest dana izmjerena je svježa masa listova i korijena (g) klijanaca te su izračunati ukupna klijavost, prosječno vrijeme klijanja i indeks klijavosti.

Ukupna klijavost izračunata je za svako ponavljanje prema formuli:

$$G = (\text{broj iskljalih sjemenki} / \text{ukupan broj sjemenki}) \times 100.$$

Prosječno vrijeme klijanja (MGT – *Mean germination time*) izračunato je prema jednadžbi (Ellis i Roberts 1981): $MGT = \Sigma (Dn) / \Sigma n$

gdje je n broj sjemenki koje je iskljalo u danu D, a D je broj dana od početka klijanja.

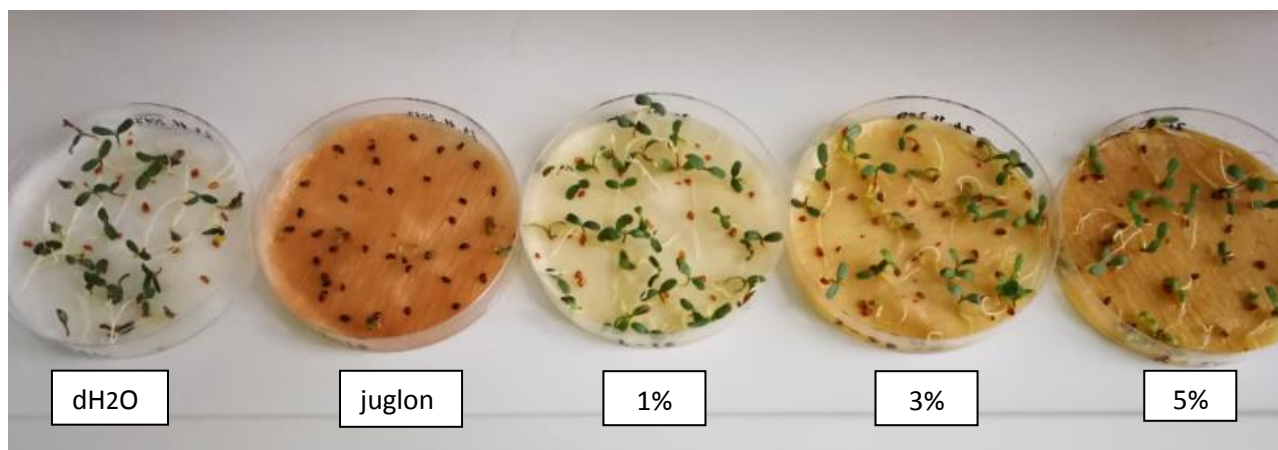
Indeks klijavosti (GI) je izračunat pomoću formule (AOSA 1983):

$$GI = \frac{\text{Broj prokljalih sjemenki} / \text{Dani prvog prebrojavanja} + \dots + \text{Broj prokljalih sjemenki} / \text{Konačni broj dana}}{\text{Konačni broj sjemenki}}$$

3. REZULTATI

3.1. Utjecaj čivitnjače na ukupnu klijavost sjemena lucerne

Klijanje sjemena lucerne tretiranog vodom, juglonom i vodenim ekstraktima listova čivitnjače prikazani su na Slici 5.



Slika 5: Klijanje sjemena lucerne tretiranog vodom, otopinom juglona i ekstraktima listova čivitnjače različitih koncentracija (1, 3 i 5 %) (Fotografija: Dragica Marinčić).

Najveći broj sjemenki lucerne proklijao je u petrijevim zdjelicama u kojima je sjeme zalijeivano destiliranom vodom te je ukupna klijavost bila veća od 90% (Tablica 1). Tretman sjemena lucerne otopinom juglona značajno je inhibirao klijanje sjemena (ukupna klijavost < 50%), dok su ekstrakti listova čivitnjače različitih koncentracija pokazali različit utjecaj na klijanje sjemena. Ekstrakt čivitnjače najveće koncentracije (5%) najjače je inhibirao klijanje sjemena.

Tablica 1: Ukupna klijavost sjemena lucerne tretiranom vodom, juglonom i ekstraktima listova čivitnjače različitih koncentracija.

Tretman	Ukupna klijavost (G)
Kontrola	94,33 ± 2,21
Juglon	45,50 ± 27,08
1%	77,17 ± 14,63
3%	72,00 ± 14,21
5%	55,00 ± 12,92

3.2. Utjecaj čivitnjače na prosječno vrijeme klijanja i indeks klijavosti sjemena lucerne

Prosječno vrijeme klijanja sjemena lucerne tretirano vodom iznosilo je $1,43 \pm 0,51$ dana, a slično je vrijeme klijanja utvrđeno i u tretmanu sjemena 1%-tnim ekstraktom lista čivitnjače (Tablica 2). Tretmani juglonom i 5%-tnim ekstraktom produžili su prosječno vrijeme klijanja na $2,23 \pm 0,47$, odnosno $2,45 \pm 0,63$ dana.

Tablica 2: Prosječno vrijeme klijanja sjemena lucerne tretiranog vodom, otopinom juglonom i ekstraktima listova čivitnjače različitih koncentracija.

Tretman	Prosječno vrijeme klijanja (MGT)
Kontrola	$1,43 \pm 0,51$
Juglon	$2,23 \pm 0,47$
1%	$1,49 \pm 0,25$
3%	$1,93 \pm 0,55$
5%	$2,45 \pm 0,63$

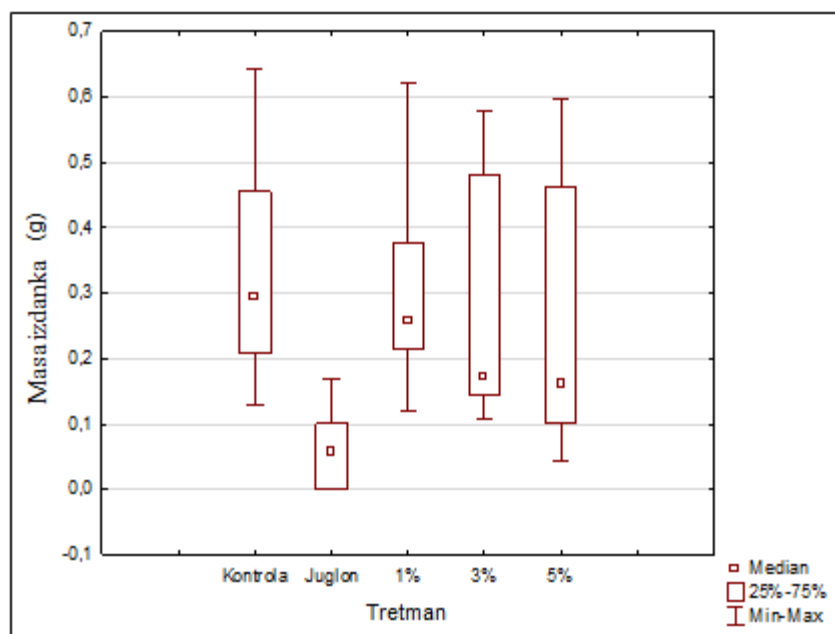
Indeks klijavosti sjemena lucerne u kontrolnom tretmanu bio je najveći i iznosio je $80,24 \pm 13,14$ (Tablica 3). Tretmani otopinom juglona i 5%-tnim ekstraktom listova čivitnjače najviše su smanjili indeks klijavosti sjemena lucerne.

Tablica 3: Indeks klijavosti sjemena lucerne tretiranog vodom, otopinom juglona i ekstraktima listova čivitnjače različitih koncentracija.

Tretman	Indeks klijavosti (GI)
Kontrola	$80,24 \pm 13,14$
Juglon	$28,71 \pm 19,47$
1%	$63,07 \pm 14,52$
3%	$49,28 \pm 10,28$
5%	$31,11 \pm 7,91$

3.3. Utjecaj čivitnjače na masu izdanka i korijena klijanaca lucerne

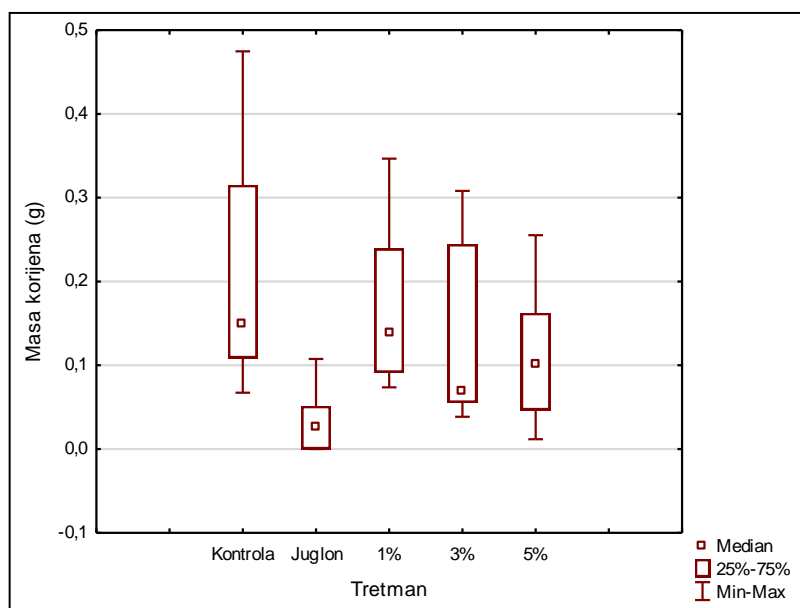
Tretmani sjemena juglonom i ekstraktima listova čivitnjače utjecali su na rast izdanka lucerne (Slika 6).



Slika 6: Masa izdanka klijanaca lucerne tretiranih vodom, otopinom juglona i ekstraktima listova čivitnjače različitih koncentracija.

Ukupna svježa masa izdanka lucerne u kontrolnim uzorcima varirala je od 0,13 do 0,64 g i bila je slična ukupnoj masi izdanka utvrđenoj u tretmanima sjemena lucerne ekstraktima listova čivitnjače. Ukupna masa izdanka bila je najmanja kod klijanaca tretiranih juglonom, a vrijednosti mase kretale su se od 0,05 do 0,17 g.

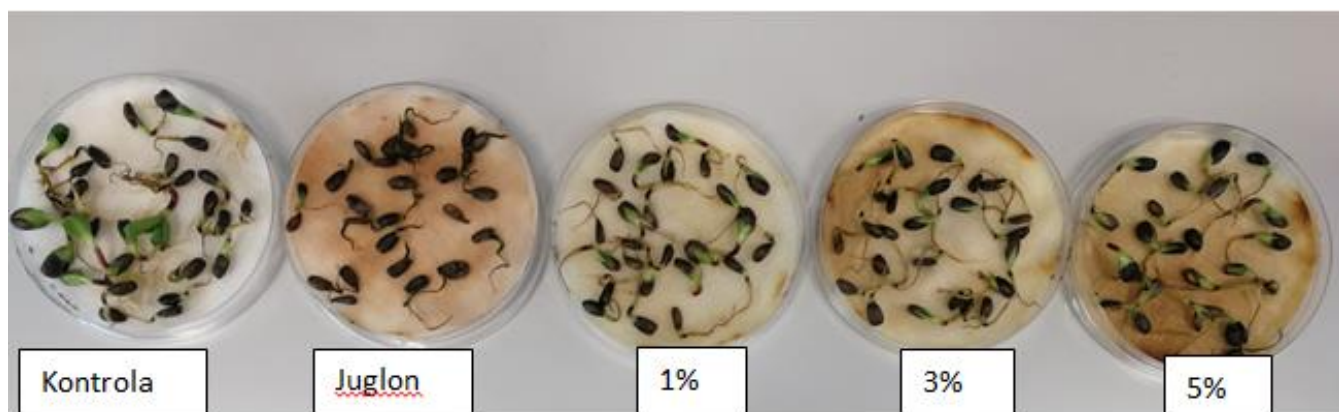
Tretmani sjemena juglonom i ekstraktima listova čivitnjače utjecali su i na rast korijena lucerne (Slika 7). Ukupna svježa masa korijena lucerne u kontrolnim uzorcima varirala je od 0,07 do 0,48 g. Najmanju masu korijena imali su klijanci lucerne tretirani juglonom, a vrijednosti mase kretale su se od 0,02 do 0,11 g.



Slika 7: Masa korijena klijanaca lucerne tretiranih vodom, juglonom i ekstraktima listova čivitnjače različitih koncentracija.

3.4. Utjecaj čivitnjače na ukupnu klijavost sjemena suncokreta

Klijanje sjemena suncokreta tretiranog vodom, otopinom juglona i vodenim ekstraktima listova čivitnjače prikazani su na Slici 8.



Slika 8: Klijanje sjemena suncokreta tretiranog vodom, otopinom juglona i ekstraktima listova čivitnjače različitih koncentracija (1, 3 i 5 %) (Fotografija: Dragica Marinčić).

Klijavost sjemenki suncokreta u svim je tretmanima bila viša od 90% (Tablica 4). Tretman sjemena suncokreta otopinom juglona najviše je smanjio klijavost sjemena.

Tablica 4: Ukupna klijavost sjemena suncokreta tretiranog vodom, otopinom juglona i ekstraktima listova čivitnjače različitih koncentracija.

Tretman	Ukupna klijavost (G)
Kontrola	98,93 ± 2,37
Juglon	94,13 ± 6,21
1%	98,13 ± 3,66
3%	98,93 ± 1,83
5%	98,13 ± 2,56

3.5. Utjecaj čivitnjače na prosječno vrijeme klijanja i indeks klijavosti sjemena suncokreta

Prosječno vrijeme klijanja sjemena suncokreta tretiranog vodom iznosilo je $1,12 \pm 0,90$ dana, a slično je bilo i vrijeme klijanja sjemena tretiranog ekstraktima čivitnjače različitih koncentracija (Tablica 5). Najduže prosječno vrijeme klijanja zabilježeno je kod sjemena suncokreta tretiranom juglonom a iznosio je $1,66 \pm 0,23$ dana.

Tablica 5: Prosječno vrijeme klijanja sjemena suncokreta tretiranog vodom, otopinom juglona i ekstraktima listova čivitnjače različitih koncentracija.

Tretman	Prosječno vrijeme klijanja (MGT)
Kontrola	1,12 ± 0,90
Juglon	1,66 ± 0,23
1%	1,06 ± 0,06
3%	1,09 ± 0,08
5%	1,15 ± 0,12

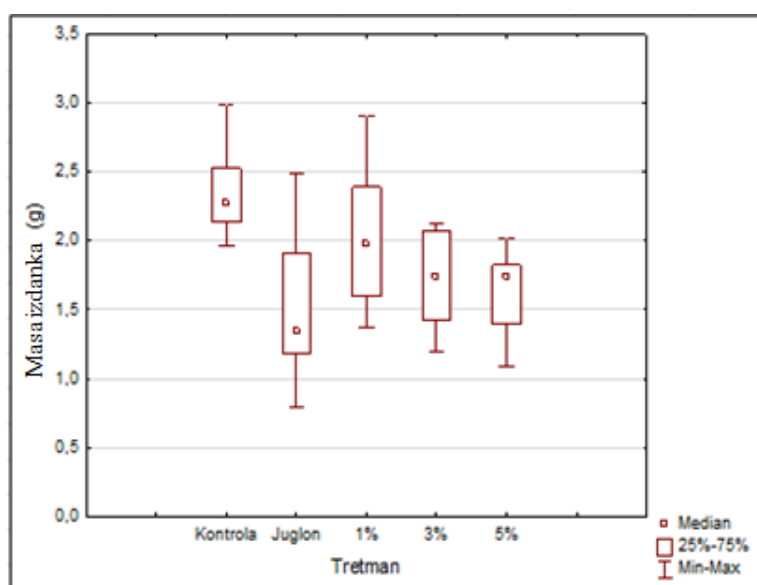
Indeks klijavosti sjemena suncokreta bio je vrlo sličan u tretmanima sjemena vodom, 1 i 3%-tnim ekstraktom listova čivitnjače. Najmanji indeks klijavosti zabilježen je za sjeme tretirano otopinom juglona (Tablica 6).

Tablica 6: Indeks klijavosti sjemena suncokreta tretiranog vodom, otopinom juglona i ekstraktima listova čivitnjače različitih koncentracija.

Tretman	Indeks klijavosti (GI)
Kontrola	58,12 ± 2,41
Juglon	42,85 ± 4,12
1%	58,77 ± 3,16
3%	58,54 ± 2,13
5%	56,72 ± 2,40

3.6. Utjecaj čivitnjače na masu izdanka i korijena klijanaca suncokreta

Tretmani sjemena otopinom juglona i ekstraktima listova čivitnjače utjecali su na rast izdanka suncokreta (Slika 9).

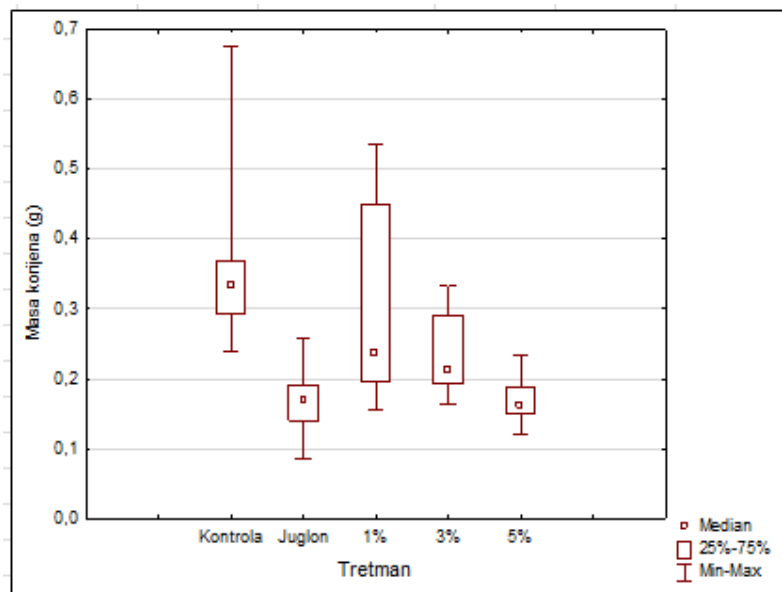


Slika 9 : Masa izdanka klijanaca suncokreta tretiranih vodom, otopinom juglona i ekstraktima listova čivitnjače različitih koncentracija.

Ukupna svježa masa izdanka suncokreta u kontrolnim uzorcima varirala je od 1,97 do 2,98 g. Najmanja masa izdanka zabilježena je kod klijanaca tretiranih juglonom, a vrijednosti mase kretale su se od 0,8 do 2,5 g.

Tretmani sjemena juglonom i ekstraktima listova čivitnjače utjecali su i na rast korijena suncokreta (Slika 10). Ukupna svježa masa korijena suncokreta u kontrolnim uzorcima

varirala je od 0,24 do 0,68 g. Najmanja svježa masa korijena suncokreta utvrđena je kod klijanaca tretiranih juglonom, a vrijednosti mase kretale su se od 0,09 do 0,26 g.



Slika 10: Masa korijena klijanaca suncokreta tretiranih vodom, juglonom i ekstraktima listova čivitnjače različitih koncentracija.

4. RASPRAVA

Otopina juglona i vodeni ekstrakti listova čivitnjače utjecali su na klijavost i početni rast obje istraživane biljne vrste, tj. lucerne i suncokreta. Sjeme tretirano otopinom juglona slabije je klijalo, a klijanci su se slabije razvijali. Poznato je da pojedine biljne vrste pokazuju tolerantnost na prisutnost juglona, međutim, ovaj spoj većinom ima negativan utjecaj na biljke tako što uzrokuje oksidacijski stres (Sytykiewicz 2011) i usporava klijanje i razvoj mladih biljaka (Rietveld 1983; Koçaçaliskan i Terzi 2001; Terzi 2008). Nedavna istraživanja utjecaja juglona na dvije različite vrste roda *Medicago* pokazala su da je oštrodlakava vija (*M. polymorpha*) puno osjetljivija na juglon u odnosu na hmeljastu viju (*M. lupulina*), što se očituje u vrlo brzom pojavu kloroze njenih listova (Torabi i sur. 2015).

S obzirom da je poznato da juglon ima alelopatsko djelovanje, u ovom je istraživanju korišten kako bi se što bolje objasnio utjecaj čivitnjače na sjeme lucerne i suncokreta. Vodeni ekstrakti listova čivitnjače većih koncentracija, posebno 5%-tni uzrokovali su smanjenje klijavosti sjemena, smanjenje indeksa klijavosti, produžili vrijeme klijanja i doveli do slabijeg početnog rasta mladih biljaka. Iako su ovi negativni utjecaji na sjeme lucerne i suncokreta bili manje izraženi u odnosu na utjecaj otopine juglona, slabiji razvoj mladih biljaka ipak ukazuje na alelopatsko djelovanje ekstrakata listova čivitnjače. Prisutnost određenih kemikalija u biljnim organima određuje njihovo alelopatsko djelovanje. Alelopatsko djelovanje ekstrakata listova čivitnjače može biti uzrokovano visokim sadržajem polifenola koji u doticaju s proteinima utječu na mitotičke diobe, oštećuju stanične stijenke i sjemenke te inhibiraju klijanje. Također se smatra da flavonoidi prisutni u većim koncentracijama u listovima čivitnjače imaju inhibirajući učinak na elongaciju korijena drugih biljnih vrsta (Hovanet i sur. 2015). Prethodnim je istraživanjima utvrđeno da ekstrakti čivitnjače inhibiraju klijanje i rast bijele gorušice (*Sinapis alba* L.) (Csiszár 2009; Pavićević 2013) dok su istraživanja koja su proveli Wu i suradnici (2012) pokazala da vodeni ekstrakti čivitnjače u koncentraciji od 2,5% potiču elongaciju korijena pšenice (*Triticum aestivum* L.), a koncentracije od 5 do 10% je inhibiraju. S obzirom da su mlade biljke tijekom ovog istraživanja izložene ekstraktima čivitnjače viših koncentracija razvile veću svježnu masu izdanka nego korijena, ovo ukazuje na moguću stimulaciju rasta izdanka u odnosu na korijen kod tretmana ekstraktima čivitnjače.

Tretmani otopinom juglona i ekstraktima čivitnjače imali su izraženiji utjecaj na klijanje i razvoj mladih biljaka lucerne u odnosu na suncokret. Rezultati prethodnih istraživanja pokazali su da veličina sjemena može imati veliku ulogu u njegovu preživljavanju. Veće

sjemenje ima veću stopu preživljavanja (80%) te razvija korijen većeg promjera, dok sitno sjemenje ima značajno manju stopu preživljavanja (71%) (Cicek i Tilki 2007).

Sjeme lucerne osjetljivo je i na utjecaje drugih biljnih vrsta. Tawaha (2003) je ispitivao učinak vodenih ekstrakata crne vrzine (*Brassica nigra* L.) na klijavost sjemena i rast klijanaca lucerne te je utvrdio da sve primijenjene koncentracije ekstrakata crne vrzine značajno inhibiraju klijanje i rast klijanaca. Međutim, suncokret koji je u ovom istraživanju korišten kao testna biljka, također može imati alelopatski utjecaj na pojedine biljne vrste. Tako je Kamal (2011) utvrdio alelopatski učinak ekstrakata korijena suncokreta na pšenicu (*Triticum aestivum* L.), dok su Oliva i sur. (2017) utvrdili da ekstrakti suncokreta inhibiraju klijanje bijele gorušice pri koncentraciji od 10%, dok pri manjoj koncentraciji (5%) potiču rast mladih biljaka.

Osim čivitnjače, i neke druge invazivne biljne vrste djeluju alelopatski na biljke u svom okruženju te uzrokuju velike ekonomske i ekološke štete i narušavaju biološku raznolikost (Genovesi i Shine 2004). Tako ekstrakti listova pajasena (*Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle) imaju vrlo velik alelopatski potencijal i značajno inhibiraju klijanje rotkve (Pisula i Meiners 2010), dok ekstrakti, invazivne vrste, velikocvjetne zlatnice (*Solidago gigantea* Ait.) imaju negativan utjecaj na usjeve (mrkva, ječam, korijandar) i korovne vrste kao što su oštrodлакavi šćir (*Amaranthus retroflexus* L.) i teofrastov mračnjak (*Abutilon theophrasti* Medik.) (Baličević i sur. 2005). Teofrastov mračnjak inhibira klijanje mrkve te rast korijena mrkve, cikle i zelene salate (Galzina i sur. 2008). Negativan učinak na indeks klijavosti, indeks stope klijavosti i duljinu korijena zelene salate (*Lactuca sativa* L.) imaju i ekstrakti pripremljeni od listova invazivne vrste kanadska zlatošipka (*Solidago canadensis* L.) (Wang i sur. 2016).

Ispitivanje alelopatskog učinka ekstrakata čivitnjače u ovom je istraživanju provedeno u kontroliranim laboratorijskim uvjetima te je moguće da su vodeni ekstrakti čivitnjače imali veći utjecaj na sjeme testnih biljaka, lucerne i suncokreta, nego što bi to bilo u prirodnom okruženju (Keeley 1988; Wardle i sur. 1998). Zbog toga bi bilo nužno provesti daljnja istraživanja u cilju pronalaska najmanjih koncentracija koje bi mogle ostvariti alelopatski učinak na okolne biljke. Potrebno je ispitati i alelopatsko djelovanje ekstrakata dobivenih iz drugih biljnih dijelova čivitnjače te provjeriti postoji li razlika u alelopatiji svježih i sušenih biljnih materijala koji se koriste za samu izradu vodenih ekstrakata.

5. ZAKLJUČAK

Istraživanje utjecaja vodenih ekstrakata na klijavost i razvoj sjemena lucerne i suncokreta pokazalo je da juglon kao i vodeni ekstrakti listova čivitnjače većih koncentracija imaju alelopatski učinak na testne biljke. S obzirom da se čivitnjača razvija i u blizini poljoprivrednih površina, njeno daljnje nekontrolirano širenje moglo bi imati negativan utjecaj na rast i prinos različitih poljoprivrednih kultura.

6. LITERATURA

Al Tawaha, A. R. (2003) Inhibitory effects of aqueous extracts of black mustard on germination and growth of alfalfa. *Weed Biology and Management* 3: 37-40.

Alam, A. M., Ala, S. A., Azmi, A. R., Khan, M. A., Ansari, R. (2011) Allelopathy and its role in agriculture. *Online Journal of Biological Science* 1: 308-315.

Aldrich, R. J., Kremer, R. J. (1997) *Principles in Weed Management*. Second Edition, Iowa State University Press, Ames.

Baličević, R., Ravlić, M., Živković, T. (2015) Allelopathic effect of invasive species giant goldenrod (*Solidago gigantea* Ait.) on crops and weeds. *Herbologia* 15: 19-29.

Baličević, R., Ravlić, M., Ravlić, I. (2015) Allelopathic effect of aromatic and medicinal plants on *Tripleurospermum inodorum* (L.) C.H. Schultz. *Herbologia* 15: 42-53.

Bansal, G. L. (1990) Allelopathic potential of Linseed on buttercup (*Ranunculus arvensis* L.), Today and Tomorrow Printers and Publishers 801-805.

Chengxu, W., Mingxing, Z., Xuhui, C., Bo, Q. (2011) Review on allelopathy of exotic invasive plants. *Procedia Engineering* 18: 240-246.

Cicek, E., Tilki, F. (2007) Seed size effects on germination, survival and seedling growth of *Castanea sativa* Mill. *Journal of Biological Sciences* 7: 438-441.

Costea, M., Tardif, F. J. (2005) The biology of Canadian weeds. 131. *Polygonum aviculare* L. *Canadian Journal of Plant Science* 85: 481-506.

Cruz-Ortega, R., Anaya, A. L., Ramos, L. (1988) Effects of allelopathic compounds of corn pollen on respiration and cell division of watermelon. *Journal of Chemical Ecology* 14: 71-86.

Csiszár, Á. (2009) Allelopathic effects of invasive woody plant species in Hungary. *Acta Silvatica and Lignaria Hungarica* 5: 9-17.

Einhellig, F. A. (1996) Interactions involving allelopathy in cropping systems. *Agronomy Journal* 88: 886-893.

Ercisli, S., Esitken, A., Turkkal, C., Orhan, E. (2005) The allelopathic effects of juglone and walnut leaf extract on yield, growth, chemical and PNE compositions of strawberry cv. Fern. *Plant Soil Environment* 51: 283-287.

Friedman, J., Rushkin, E., Waller, G. R. (1982) Highly potent germination inhibitors in aqueous eluate of fruits of bishops weed (*Ammi majus* L.) and avoidance of autoinhibition. *Journal of Chemical Ecology* 8: 55-65.

Galzina, N., Šćepanović, M., Goršić, M., Turk, I. (2008) Allelopathic effect of invasive species *Abutilon theophrasti* Med. on lettuce, carrot and red beet. *Herbologia* 12: 125-131.

Genovesi, P., Shine, C. (2004) European strategy on invasive alien species. Council of Europe Publishing, Nature and environment 137.

Gorički, D. (2014) Alelopatski utjecaj korovne vrste *Polygonum lapathifolium* L. na klijavost i početni porast soje. Diplomski rad. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet, Osijek.

Hećimović, S. (1982) Flora otoka Lokruma, Bobare i Mrkana. *Acta Botanica Croatica* 41: 155-170.

Horsley, S. B. (1977) Allelopathic interference among plants. II. Physiological modes of action, Proceedings Fourth North American Forest Biology Workshop, in: Wilcox H.E., Hamer A.F. (Eds.), Syracuse, New York, 93-136.

Hovanet, M. V., Marinas, I. C., Dinu, M., Oprea, E., Chifiriuc, M. C., Stavropoulou, E., Lazar, V. (2015) The phytotoxicity and antimicrobial activity of *Amorpha fruticosa* L. leaves extract. *Romanian Biotechnological Letters* 20: 10670-10678.

Jadhar, B. B., Gayanar, D. G. (1992) Allelopathic effects of *Acacia auriculiformis* on germination of rice and cowpea. *Indian Journal of Plant Physiology* 1: 86-89.

Kalinova, S., Golubinova, I., Hristoskov, A., Ilieva, A. (2012) Allelopathic effect of aqueous extract from root system of johnsongrass on the seed germination and initial development of soybean, pea and vetch. *Ratarstvo Povrtarstvo* 49: 250-256.

Kamal, J. (2011) Impact of allelopathy of sunflower (*Helianthus annuus* L.) roots extract on physiology of wheat (*Triticum aestivum* L.). *African Journal of Biotechnology* 10: 14465-14477.

Kazinczi, G., Mikulas, J., Horvath, J., Torma, M., Hunyadi, K. (1999) Allelopathic effects of *Asclepias syriaca* roots on crops and weeds. *Allelopathy Journal* 6: 267-270.

Keating, K. I. (1999) Allelochemicals in plankton communities, Boca Raton: CRC press 165-178.

Keeley, J. E. (1988) Allelopathy. *Ecology* 69: 293-294.

Kocacaliskan, I., Terzi, I. (2001) Allelopathic effects of juglone and walnut leaf and fruit hull extracts on seed germination and seedling growth in muskmelon and cucumber. *Journal of Horticultura, Science and Biotechnology* 76: 436-440.

Krpan, A. P. B., Tomašić, Ž., Bašić Palković, P. (2011) Biopotencijal amorfe (*Amorpha fruticosa* L.)-druga godina istraživanja. *Šumarski list* 135: 103-113.

Krpan, A. P. B., Tomašić, Ž., Stankić I. (2014) Istraživanja bioprodukcijских i energetskih potencijala amorfe (*Amorpha fruticosa* L.). *Šumarski list*, 1-2: 43-54.

Kwiecińska-Poppe, E., Kraska, P., Palys, E. (2011) The influence of water extracts from *Galium aparine* L. and *Matricaria maritima subsp.inodora* (L.) Dostal on germination of winter rye and triticale. *Acta Scientiarum Polonorum Agricultura* 10: 75-85.

Marinov-Serafimov, P. (2010) Determination of allelopathic effect of some invasive weed species on germination and initial development of grain legume crops. *Pesticides and Phytomedicine* 25: 251-259.

Mikulas, J., Polos, E., Varadi, G., Kazinczi, G., Hunyadi, K. (1994) Results of allelopathic research in Hungary. In: Abstracts of International Symposium of Allelopathy in Sustainable Agriculture, Forestry and Environment, New Delhi.

Oliwa, J., Mozdzeń, K., Rut, G., Rzepka, A. (2017) The influence of alcoholic extract from leaves of *Helianthus annuus* L. on germination and growth of *Sinapis alba* L. *Modern Phytomorphology* 11: 91-97.

Pavičević, M. (2013) Alelopatsko djelovanje ekstrakta listova običnog oraha i nekih invazivnih biljnih vrsta na klijanje pšenice (*Triticum aestivum* L.) i gorušice (*Sinapis alba* L.). Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb.

Pejić, T. (2013) Alelopatski utjecaj zajedničkog klijanja sjemena aromatičnog bilja i sjemena korova. Diplomski rad. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet, Osijek.

Pisula, N. L., Meiners, S. J. (2010) Relative allelopathic potential of invasive plant species in a young disturbed woodland. *Journal of the Torrey Botanical Society* 137: 81-87.

Putnam, A. R., Weston, L. A. (1986) Adverse impacts of allelopathy in agricultural systems. *The Science of Allelopathy*, New York.

Ravlić, M., Baličević, R., Knežević, M., Ravlić, I. (2012) Allelopathic effect of scentless mayweed and field poppy on seed germination and initial growth of winter wheat and winter barley. *Herbologia* 13: 1-7.

Rice, E. L. (1984) *Allelopathy*. 2nd Edition, Academic Press London.

Rietveld, W. J. (1983) Allelopathic effects of juglone on germination and growth of several herbaceous and woody species. *Journal of Chemical Ecology* 9: 295-308.

Siddiqui, S., Bhardwaj, S., Khan, S. S., Meghvanshi, M. K. (2009) Allelopathic effect of different concentration of water extract of prosopis juliflora leaf on seed germination and radicle length of wheat (*Triticum aestivum* Var-Lok-1). American-Eurasian Journal of Scientific Research 4: 81-84.

Swain, T. (1977) Secondary compounds as protective agents. Annual Review of Plant Physiology 28: 479-482.

Sytykiewicz, H. (2011) Expression patterns of glutathione transferase gene (*GstI*) in maize seedlings under juglone-induced oxidative stress. International Journal of Molecular Sciences 12: 7982-7995.

Šćepanović, M., Barić, K., Galzina, N., Goršić, M., Ostojić, Z. (2007). Alelopatski utjecaj korovnih vrsta *Abutilon theophrasti* Med. i *Datura stramonium* L. na početni razvoj kukuruza. Agronomski glasnik 6: 459-472.

Tanveer, A., Rehman, A., Javaid, M. M., Abbas, R. N., Sibtain, M., Ahmad, A. U. H., Ibin-i-zamir, M. S., Chaudhary, K. M., Aziz, A. (2010.) Allelopathic potential of *Euphorbia helioscopia* L. against wheat (*Triticum aestivum* L.), chickpea (*Cicer arietinum* L.) and lentil (*Lens culinaris* Medic.). Turkish Journal of Agriculture and Forestry 34: 75-81.

Terzi, I. (2008) Allelopathic effects of juglone and decomposed walnut leaf juice on muskmelon and cucumber seed germination and seedling growth. African Journal of Biotechnology 7: 1870-1874.

Torabi, Z., Rafiei, F., Shabani, L., Shahraki, A. D. (2015) Physiological and molecular response of annual Medicago species to juglone. Acta Physiologiae Plantarum 37: 248.

Wardle, D. A., Nilsson, M. C., Gallet, C., Zackrisson, O. (1998) An ecosystem-level perspective of allelopathy. Biological Reviews 73: 305-319.

Whittaker, R., Feeny, P. (1971) Allelochemicals: chemical interactions between species. Science 171: 757-770.

Wu, Y. H., Cheng, X., Cai, Q. N., Lin, C. W. (2012) Allelopathic effects of twelve hedgerow plant species on seed germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Advanced Materials Research* 356-360: 2767-2773.

Xuan, T. D., Hong, N. H., Khanh, T. D., Min, C. I. (2004) Assessment of phytotoxic action of *Ageratum conyzoides* L. (billy goat weed) on weeds. *Crop Protection* 23: 915-922.

Mrežna stranica:

Web1. http://www.zastita-prirode.hr/var/ezflow_site/storage/images/zasticena-priroda/vrste-i-stanista/vrste/invazivne-strane-vrste/amorpha-fruticosa/6215-1-cro-HR/Amorpha-fruticosa_imagelarge.jpg (16.5.2018.)