

Intrapopulation variability in morphological and functional properties of *Ambrosia artemisiifolia* L. seeds

Morfološka i funkcionalna intrapopulacijska varijabilnost sjemena korovne vrste *Ambrosia artemisiifolia* L.

Valentina ŠOŠTARČIĆ¹ (✉), Roberta MASIN², Marika TURČINOV³, Natalija CARIN³, Maja ŠČEPANOVIĆ¹

¹ University of Zagreb Faculty of Agriculture, Department of Weed Sciences, Svetošimunska 25, 10 000 Zagreb, Croatia

² University of Padova, University of Padova, Department of Agronomy, Food, Natural Resources, Animals and Environment (DAFNAE), Viale dell' Università 16, 35020 Legnaro

³ Students at University of Zagreb Faculty of Agriculture, Master Study of Phytomedicine

✉ Corresponding author: vsostarcic@agr.hr

Received: 28 August 2019; accepted: 14 November 2019

ABSTRACT

The aim of the research was to determinate the degree of variation in morphological (seed weight) and functional polymorphism (final germination, dormancy, seed mortality and germination dynamic) within two seed populations of *Ambrosia artemisiifolia* L. Seeds were collected separately from 20 plants/population in Jastebarsko (45°40'18"N; 15°39'03"E), population-J and Popovača (45°34'1"N; 16°40'43"E), population-P in 2014. Seed weight of J and P populations had weak variability (CV-J = 18.2%, CV-P= 29.8%) with an average of 4.05 g (J) and 4.54 g (P). Estimated variability was strong for amount of death seeds in the J (CV = 67.6%), but weak for germinated (CV = 4.9%) and moderate for dormant seeds (CV = 51.0%). Variability within P population was moderate for both germinated and dead seeds (CV = 34.5%; 34.1%), while variability within amount of dormant seeds was weak (CV = 14.2%). Variability in medium germination (T_{50}) was relatively low for both experimental populations (CV - J = 12.0%; CV - P = 22.4%). Despite determined intrapopulation variation, degrees of variability between researched parameters (final germination, dormancy and medium germination - T_{50}) were weak or moderate and therefore acceptable for further experiment base on seed testing.

Keywords: common ragweed, dormancy, germination dynamic, germination, seed weight

SAŽETAK

Cilj istraživanja bio je utvrditi stupanj morfološke (masa sjemena) i funkcionalne (klijavost, dormantnost, smrtnost sjemena i dinamika klijanja) varijabilnosti unutar dvije populacije sjemena korovne vrste *Ambrosia artemisiifolia* L. (ambrozija) sakupljene u sjeverozapadnom dijelu Hrvatske: Jastrebarsko (45 ° 40'18"N; 15 ° 39'03"E), populacija-J i Popovača (45 ° 34'1"N; 16 ° 40'43"E), populacija-P. Prikupljeno je sjeme s 20 biljaka/populaciji u listopadu 2014. Rezultati istraživanja ukazuju na slabu varijabilnost (CV-J = 18,2%, CV-P = 29,8%) mase 1 000 sjemenki s prosječnom masom od 4,05 g (J) i 4,54 g (P). Intrapopulacijska varijabilnost bila je relativno visoka za udio mrtvog sjemena u populaciji-J (CV = 67,6%), ali vrlo slaba za udio klijavog (CV = 4,9%) te umjerena za udio dormantnog sjemena (CV = 51,0%). Varijabilnost unutar populacije-P bila je umjerena za udio klijavog i mrtvog sjemena (CV = 34,5%; 34,1%), a relativno slaba za udio dormantnog sjemena (CV = 14,2%). Dinamika klijanja (T_{10} , T_{50} i T_{90}) obje populacije bila je slabo ili umjereno varijabilna. Sredina klijanja (T_{50}) bila je relativno slabo varijabilna za obje istraživane populacije (CV - J = 12,0%; CV - P = 22,4%).

Ključne riječi: ambrozija, dinamika klijanja, dormantnost, klijavost, masa sjemena

DETAILED ABSTRACT

Predictive weed emergence models are one of the advanced tools in Integrated Weed Management (IWM). These models are based on two parameters specific for each species: base temperature (minimum temperature for seed germination) and base water potential (minimum amount of water seed germination). These biological parameters are used in the equation for calculation time of seed germination and later emergence in the field. Procedure for estimation of biological parameters begins with setting germination tests at different constant temperature for base temperature, and different water potential for base water potential estimation. These laboratory experiments tend to be reliable and repeatable because this data is implemented in predictive weed emergence models used in the field. While conducting germination test on *Ambrosia artemisiifolia* L. seed, difference in germination rate and dynamic were observed on the seed with the same origin previously subjected to same storage conditions. Presence of intrapopulation variation in seed germination is well known for weeds and other wild species. Intrapopulation variation has been defined as variation in morphology (seed weight, size, texture, colour) or function (degree of dormancy, mortality, germinability). Morphological and functional polymorphism can be found for seeds originated from the same inflorescence, within the same plant, within different plants from same population and between different population of the same species. Before testing the seed germination in laboratory and estimating biological parameters for *Ambrosia artemisiifolia* it is interesting to investigate possible intrapopulation variation of this invasive weed species. The aims of this research were: (1) to determine existence and degree of morphological polymorphism (variation in seed weight within the population), and (2) to determine existence and degree of functional polymorphism (percentage of seed germination, mortality, dormancy and dynamics of germination) within the population. Seeds were collected separately from 40 plants (20/population) in October 2014. Chosen plants were two to three meters away from each other at 100 m² of experimental fields located in the northwest part of Croatia: Jastebarsko (45°40'18"N ; 15°39'03"E), population-J and Popovača (45°34'1"N; 16°40'43"E), population-P. Weight of 1 000 seeds was measured and the number of seed per each plant was calculated. Seeds were cleaned and storage at dry and dark conditions until the beginning of the experiment. During 2017 (three years after harvest), germination test was conducted in germination chamber with photoperiods of 12h: 12h (light: dark) at alternating 25/15 °C (day : night) temperatures. Non- germinated seeds were subjected to tetrazolium test to distinguish dormant from dead seed. Results indicate weak variability of seed weight of population-J and -P (CV-J = 18.2%, CV-P= 29.8%) with an average weight of 4.05 g (J) and 4.54 g (P). Results of germination and tetrazolium test indicate significant ($P < 0.05$) difference in final germination, dormancy, seed mortality and germination dynamic among all individuals at each location. Mean germination of population-J was 87.2% and population-P was 23.4%. Amount of dormant seed within population-J was 8.8%, and within population-P was 18.3%. Within population-P higher amount of dead seed was found (58.3%) than within population-P (3.9%). Estimated variability was strong for amount of death seed in the population-J (CV = 67.6%), but weak for germinated (CV = 4.9%) and moderate for dormant seed (CV = 51.0%) in the same population. Variability within population-P was moderate for both germinated and dead seed (CV = 34.5%; 34.1%) while variability within amount of dormant seed was weak (CV = 14.2%). Germination dynamic (T_{10} , T_{50} and T_{90}) had low or moderate variability for both populations. Variability in medium germination (T_{50}) was relatively weak for both experimental populations (CV - J = 12.0%; CV - P = 22.4%). Furthermore, based on overlapping of medium germination values within population-J plants are divided into two groups. First group reached medium germination within 4.98 to 7.68 days, and second within 9.34 to 16.48 days. Specific pattern of overlapping of medium germination values within population-P was not found. In conclusion, as expected intrapopulation variation within seed population was found to be statistically significant. Despite determined intrapopulation variation, degrees of variability between important researched parameters (final germination, dormancy and medium germination - T_{50}) were weak or moderate and therefore acceptable for further experiment based on seed testing.

UVOD

Intrapopulacijska varijabilnost predstavlja genetsku i fenotipsku različitost (veličina, masa, boja) sjemena formiranog unutar različitih biljaka iz iste populacije (Harper i Obeid, 1967; Moles i sur., 2000). Prema Fenneru (1991) dva su faktora koja uvjetuju intrapopulacijsku varijabilnost: genetska raznolikost i majčinski efekt – okolišni uvjeti kojima je podložna majčinska biljka u vrijeme formiranja i dozrijevanja sjemena. Homogenost u prirodnim uvjetima okoliša narušena je djelovanjem mikroklimatskih uvjeta kao i intraspecijskim odnosima između susjednih biljaka. Osim dostupnosti prirodnih resursa i genetskih obilježja, rekombinacija gena kao posljedica seksualne reprodukcije također definira sposobnost usvajanja resursa u datom okolišu. Sjeme koje se pritom razvija očekivano je u manjoj ili većoj mjeri varijabilno u različitim karakteristikama pa se pojava tipološki varijabilnog sjemena unutar iste populacije ili unutar iste biljke naziva sjemenskim polimorfizmom. Ova pojava razvija se na razini cvata, pojedinačne biljke, klona, pojedine vrste i populacije, a moguće ga je podijeliti na: morfološki i funkcionalni polimorfizam (Fenner, 1991). Morfološki polimorfizam podrazumijeva razvoj sjemena različite boje, veličine, teksture i mase na jednoj pojedinačnoj biljci, između biljaka iz iste populacije ili različitih populacija iste vrste (Milberg i sur., 1996, Baloch i sur, 2001; Ellison, 2001). Funkcionalni polimorfizam podrazumijeva razvoj sjemena različite sposobnosti klijanja odnosno različitog stupnja dormantnosti. Kod pojedinih vrsta funkcionalni polimorfizam povezan je s morfološkim polimorfizmom. Tako sjeme koje sadrži tvrdu sjemenu ovojnicu posjeduje veći stupanj dormantnosti od sjemena mekše sjemene ovojnice. Različiti stupanj dormantnog sjemena unutar populacije osigurava opstanak vrste u varijabilnim uvjetima okoliša što je posebice izraženo kod invazivnih korovnih vrsta kao što je ambrozija. Uspješno širenje invazivnih vrsta na određenom lokalitetu najviše i ovisi o prilagodbi na okolišne čimbenike. Populacije s izraženijom genetičkom raznolikošću u pravilu imaju veću stopu invazivnosti koja kod ambrozije rezultira rasprostranjivanjem i do 20 km godišnje (Jovanović-Radovanov i Božić, 2015).

Molekularnim tehnikama potvrđen je visok nivo heterozigotnosti kod autohtonih i alohtonih populacija ambrozije pa se pretpostavlja da je iz Amerike u Europu unijet veći broj manjih populacija ove vrste (Genton i sur., 2005).

Ambrosia artemisiifolia je na području Republike Hrvatske ekonomski štetan korov u poljoprivrednoj proizvodnji, ali i značajan medicinski problem (alergije). Prema učestalosti pojave, kao jedna od napasnih širokolisnih korovnih vrsta, ambrozija se nalazi na prvom mjestu u okopavinskim usjevima u kontinentalnoj Hrvatskoj (Ostojić, 2011). Velika produkcija sjemena, dugovječnost sjemena u tlu, adaptabilnosti kao i obilna produkcija polena čine ovu vrstu jednom od problematičnih korova ruderalnih i segetalnih površina. Istraživanjem provedenim na 39 lokacija diljem Europe utvrđena je visoka varijabilnost između lokacija u produkciji sjemena i polena ambrozije na području cijele Europe. Najveća produkcija sjemena i polena utvrđena je na području Rumunjske, Hrvatske i Mađarske (Lommen i sur., 2018).

S ciljem uspješnijeg suzbijanja, ambrozija je jedna od vrsta čije se biološke karakteristike sjemena trenutno nastoje ugraditi u model prognoze nicanja koji je jedan od naprednijih metoda detekcije i suzbijanja korova u integriranoj zaštiti bilja. Razvoj i implementacija prognoznih modela temelji se na pouzdanoj i ispravnoj nadogradnji prognoznog software-a preciznim laboratorijskim i vjerodostojnim poljskim podacima. Temeljni podaci koji se ugrađuju u svaki prognozni model odnose se na biologiju pojedine korovne vrste, a potom i na okolišne uvjete koji moraju biti zadovoljeni da bi pojedina vrsta ostvarila svoj ekološki uspjeh (razvoj klijanca, odrasle biljke i plodonošenje). U tom smislu, potrebno je utvrditi biološke parametre potrebne za početan rast i razvoj pojedine vrste biološki minimum (minimalna temperatura potrebna za nicanja pojedine vrste) i biološki vodni potencijal (minimalna količina vlage u tlu koja je potrebna za početak nicanja). Ovi biološki parametri utvrđuju se provođenjem testova klijavosti metodološki posebno prilagođenih za svaku istraživanu vrstu (raspon temperatura i vodnih potencijala).

U preliminarnim istraživanjima bioloških parametara za ambroziju često je primijećen intrapopulacijski nesklad u postotku klijavog sjemena. Poznato je da ambrozija posjeduje intrapopulacijsku sjemensku varijabilnost, ali nije poznata jačina te intrapopulacijske varijabilnosti. Poznavanje jačine sjemenske varijabilnosti odredit će daljnju pouzdanost korištenih podataka i po potrebi modificiranje metodologije utvrđivanja bioloških parametara klijanja za ovu korovnu vrstu. Stoga je cilj istraživanja bio utvrditi: (1) postojanje i jačinu morfološkog polimorfizma, u masi sjemena unutar populacije te (2) postojanje i jačinu funkcionalnog polimorfizma, u postotku klijavosti, smrtnosti, dormantnosti i dinamici klijanja unutar različitih biljaka iz iste populacije.

MATERIJALI I METODE

Sjeme korovne vrste *Ambrosia artemisiifolia* sakupljeno je tijekom listopada 2014 na dvije lokacije u sjeverozapadnom dijelu Hrvatske: Jastrebarsko - (populacija-J) i Popovača (populacija-P). Podaci o geografskom smještaju, tipu tla i zakorovljenosti ambrozijom (m²) na lokacijama Jastrebarsko i Popovača prikazani su u Tablici 1.

U godini sakupljanja sjemena, zakorovljene površine na obje lokacije bile su zapušteni travnjaci, iako se prethodnih godina uzgajao krumpir (Jastrebarsko) i održavao vinograd (Popovača). Veličina parcela na kojima je skupljano sjeme iznosila je oko 100 m². Na obje lokacije sjeme je odvojeno sakupljeno s dvadeset biljaka, a biljke su međusobno bile dva do tri metra udaljene jedna od druge. Nakon sakupljanja sjeme je očišćeno od nečistoća i upakirano u papirnate vrećice. Prije skladištenja izmjerena je pojedinačna masa sjemena sakupljenog sa svake biljke (g).

Do provođenja pokusa sjeme je skladišteno na suhom i mračnom mjestu pri sobnoj temperaturi.

Istraživanje s ciljem utvrđivanja varijabilnosti u klijanju, dinamici (brzini) klijanja te masi između biljaka iz iste populacije započeto je u siječnju 2017 godine. Masa 1 000 sjemena i brojnost sjemena po biljci utvrđena je za dvadeset biljaka u svakoj populaciji. Klijavost i brzina klijanja utvrđivana je na ukupno deset biljaka unutar svake populacije. Biljke uključene u istraživanje klijavosti i dinamike klijanja nasumično su odabrane tu su označene kao: B1 – B10, gdje slovo B podrazumijeva biljku, dok brojevi od 1 do 10 označuju broj biljke.

Prije postavljanja testa klijavosti sjeme nije podvrgnuto niti jednom tretmanu prekidanja dormantnosti. Test klijavost proveden je na standardni način postavljanjem sjemena u Petrijeve zdjelice na filter papir prekriven s 5 ml destilirane vode s ukupno 1 000 sjemena po populaciji (25 sjemena x 4 repeticije x 10 biljka). Petrijeve zdjelice zatvorene su parafilmom kako bi se spriječio gubitak vlage te su postavljene u klima komoru na optimalnu temperaturu za klijanje ambrozije od 25 °C/15 °C (Willemsen, 1975) s fotoperiodom od 12 sati dana i 12 sati noći te relativnom vlagom zraka od 60%. Klijavost je provjeravana tri tjedna svakoga dana, zatim svaka tri dana sljedeća dva tjedna i na kraju jednom tjedno, ukupno 43 dana. Proklijale sjemenke uklanjane su sterilnom pincetom, a proklijalim sjemenom je smatrano svako sjeme s radikulom > 1 mm. Test klijavosti prekinut je u trenutku kad deset dana za redom nije utvrđena nova klijavost u pojedinoj Petrijevoj posudi.

Temeljem podatka o dnevnoj klijavosti utvrđena je dinamika klijanja (brzina klijanja) unutar istraživanog perioda. Brzina klijanja označena je kao T_{10} , T_{50} , T_{90} ,

Table 1. Geographical location, soil type and common ragweed infestation (m²) at Jastrebarsko and Popovača

Tablica 1. Geografski smještaj, tip tla i zakorovljenost ambrozijom (m²) na lokacijama Jastrebarsko i Popovača

Location	Latitude	Longitude	Altitude	Density (m ²)	Soil type
Lokacija	Zemljopisna širina	Zemljopisna dužina	Nadmorska visina (m)	Zakorovljenost (m ²)	Tip tla
Jastrebarsko	45°42'73"	15°39'47"	230	41	Muljevita glinenasta ilovača
Popovača	45°34'1"	16°40'43"	196	10	Muljevita ilovača

gdje T_{10} označava početnu (inicijalnu) klijavost, odnosno vrijeme, izraženo u broju dana, potrebno da 10% klijavog sjemena proklije. Oznaka T_{50} , označava sredinu klijavosti, i broj dana potrebno za klijanje 50% sjemena, a T_{90} završnu klijavost i broj dana da proklije 90% sjemena. Nakon provedenog testa klijavosti neprokljalo sjeme podvrgnuto je standardnom tetrazolium testu (ISTA, 1985) kako bi se odvojilo dormantno od mrtvog sjemena te utvrdio postotak viabilnog sjemena (dormantno + klijavog sjeme) za svaku pojedinu biljku ambrozije unutar obje populacije.

Dobiveni podaci (% klijavog, dormantnog i mrtvog sjemena, te dinamika klijanja između biljaka) obrađeni su analizom varijance pri čemu je korišten kompjuterski program SAS 8.0 (SAS Institute, 1997). Nakon signifikantnog F-testa, za usporedbu srednjih vrijednosti korišten je LSD test uz $P \leq 0,05$. Podaci o dnevnom utvrđivanju klijavosti za svih deset biljaka unutar dvije populacije korišteni su za prikaz dinamike klijanja koristeći logističku funkciju u statističkom programu Bioassay97 (Onofri, 2001). Za utvrđivanje varijabilnosti u masi, broju sjemena, % klijavog, mrtvog i dormantnog sjemena i dinamika klijanja između biljaka unutar jedne populacije korišten je koeficijent varijabilnosti (CV) izražen u postotcima.

REZULTATI I RASPRAVA

Masa i brojnost sjemenki unutar populacije

Prosječna masa 1 000 sjemenki 20 biljaka na lokaciji Jastrebarsko iznosi 4,05 g, dok je medijana nešto viša i iznosi 4,08 g. Utvrđena prosječna masa 1 000 sjemenki sakupljenih s 20 biljaka na lokaciji Popovača nije se uvelike razlikovala te iznosi 4,54 g, s medijanom od 4,18 g (Tablica 2). Prema dosad poznatim podacima, raspon težine 1 000 sjemenki ambrozije kreće se od 1,72 do 10,0 g. Za šest različitih populacija ambrozije na području Francuske, Fumanal i sur. (2007) utvrđuju masu 1 000 sjemena od: 1,72 g (Concoeur-Coroin), 3,07 g (Labergement), 3,08 g (Lux), 3,48 g (Chaponnay), 3,60 g (Alex), 3,28 g (St. Pierre de Chandieu). Nietzsche (2010) utvrđuje prosječnu masu 1 000 sjemena za njemačku i mađarsku populaciju od oko 5,00 g, s odstupanjem jedne njemačke populacije

Table 2. Weight of the 1 000 seeds (g) per plants collected from twenty different plants at location Jastrebarsko – population J and Popovača – population P

Tablica 2. Utvrđena masa 1 000 sjemena (g) po pojedinoj biljci ambrozije lokacije Jastrebarsko – populacija J i Popovača – populacija P

Plant No. Br. biljke	JASTREBARSKO (J)	POPOVAČA (P)
B1	4,81	5,44
B2	2,98	3,93
B3	3,20	4,98
B4	3,39	5,70
B5	3,71	8,13
B6	3,47	4,08
B7	4,10	4,89
B8	3,20	4,78
B9	4,41	4,44
B10	3,98	3,86
B11	3,42	2,80
B12	4,70	4,13
B13	4,23	3,56
B14	4,43	3,18
B15	4,59	3,48
B16	4,27	4,14
B17	6,11	3,06
B18	3,19	7,50
B19	4,06	4,57
B20	4,66	4,21
median	4,08	4,18
medijana		
mean		
prosjek	4,05	4,54
CV (%) ^a	18,2	29,8

^a CV - coefficient of variation

^a CV – koeficijent varijabilnosti

čija masa 1 000 sjemena iznosi 10,0 g. Prosječna masa tri američke populacije ambrozije prema Leiblein-Wild i sur. (2014) iznosi 5,7 g. Nadalje, Kazinczi i sur. (2008) navode masu 1 000 sjemenki za mađarsku populaciju od 2 - 2,7 g.

Posljednjih 40-tak godina, istraživanjima je utvrđeno da masa sjemena korovnih vrsta može varirati između različitih populacija ili uvjeta rasta (obradivo tlo, neobradivo tlo), između biljaka iz iste populacije, pa čak i sjemena razvijenog u istom plodu. Mjerenjem mase 300 individualnih sjemena unutar jedne populacije Guillemain i Chauvel (2011) utvrđuju značajno variranje mase sjemena od 1,2 pa do 7,7 mg s medijanom od 3,98 i prosječnom masom od 4,08 mg. Ovisno o težini autori kategoriziraju sjemenke u pet kategorija: lagano sjeme do 3,1 mg, srednje lagano > 3,1 do 3,7 mg; srednje >3,7 do 4,3 mg; srednje teško > 4,3 do 5 mg te teško > 5mg. Shodno navedenoj kategorizaciji podjednak postotak mase sjemena biljaka ambrozije iz populacije-J pripada skupini srednje lakšeg (35%), srednje (20%) i srednje teškog sjemena (35%). Manji postotak, odnosno samo sjeme s jedne biljke pripada u kategoriju lakšeg (5%) i teškog sjemena (5%). Masa sjemena populacije-P također većim djelom pripada kategoriji srednje (30%), srednje teškog (30%) i teškog (20%) sjemena. Manji postotak sjemena iz populacije-P ubraja se u skupinu laganog (10%) i srednje laganog sjemena (15%) (Tablica 2). I u ovom istraživanju, prosječna masa 1 000 sjemenki ambrozije razlikuje se između biljaka iz iste populacije. Najmanja masa 1 000 sjemenki populacije-J (2,98 g) utvrđena je za B2 (Tablica 2). Slična vrijednost (2,80 g) utvrđena je i za B11 unutar populacije-P. Najveća utvrđena masa 1 000 sjemenki biljaka ambrozije populacije-J utvrđena je za B17 (6,11 g), dok je najveća utvrđena masa unutar populacije-P utvrđena za B5 (8,13 g). Iako, je kod svake od istraživanih biljaka utvrđena različita masa sjemena, varijabilnost izražena koeficijentom varijabilnosti (CV) za masu sjemena iz populacije-J iznosi tek 18,2% što podrazumijeva relativno slabu varijabilnost. Promatrano kroz isti raspon, varijabilnost koja se javlja kod populacije-P također je definirana kao relativno slaba (29,8%). Fumanal i sur. (2007) također utvrđuju relativnu slabu varijabilnost u masi sjemena korovne vrste *Ambrosia artemisiifolia* unutar

biljaka iz iste populacije (22,2%) što je Obeso (1993) potvrdio i za vrstu *Asphodelus albus* Mill.

Klijavost ambrozije unutar istraživanih sjemenskih populacija

Rezultati analize varijance za udio klijavog, dormantnog i mrtvog sjemena između deset biljaka unutar dvije populacije ukazuju na postojanje značajne statističke razlike u navedenim parametrima, izuzev % dormantnog sjemena između biljaka iz populacije Popovača (P) gdje nije utvrđena statistički značajna razlika (Tablica 3). Najveći postotak biljaka ambrozije unutar populacije Jastrebarsko (J) imao je visoki udio vijabilnog sjemena (klijavo + dormantno sjeme), 96,0%. Čak devet od deset biljaka imale su više od 80,0% klijavog sjemena. Prosječni postotak klijavog sjemena u populaciji-J iznosio je 87,2%, dormantnog sjemena 8,8% te mrtvog sjemena tek 3,9%. Najveća klijavost (99,0%) utvrđena je kod B2, čija se klijavost statistički nije razlikovala od klijavosti B4 (95,0%), B7 (96,0%) te B9 (97,0%). Najmanja prosječna klijavost utvrđena je kod B8 (50,5%). Od ukupnog udjela dormantnog sjemena u populaciji veći broj biljaka posjeduje nedormantno do slabo dormantno sjeme. Uz najmanju utvrđenu klijavost, B8 ističe se po najvećem postotku dormantnog sjemena (29,4%). Najmanji postotak dormantnog sjemena ima B2 (0,0%) te se statistički ne razlikuje od B7, B9, B4, B6, B5 i B1 s postotkom dormantnog sjemena od 1,0 do 9,0%. Najveći postotak mrtvog sjemena imala je B8 (20,2%), dok su najmanji postotak mrtvog sjemena imale B1, B2, B4, B9 i B10 s 1% mrtvog sjemena. Statistički značajna razlika nije utvrđena ni između B3, B7 i B6 čiji se % mrtvog sjemena kretao od 2,0 do 6,0% (Tablica 3).

Ukupni udio vijabilnog sjemena populacije-P između svih deset biljaka korištenih u pokusu bio je 2,3 puta niži u odnosu na populaciju-J, te je iznosio 41,7%. Utvrđena klijavost između deset biljaka unutar ove populacije iznosila je 23,4%. Najveću prosječnu klijavost ostvarile su biljke B1 (50,8%), B4 (47,0%) i B10 (58,7%) te između istih nije utvrđena značajna statistička razlika. Najmanju prosječnu klijavost ostvarile su B2 (1,0%), B8 (1,0%), B9 (10,0%) i B7 (13,0%) između kojih nije utvrđena značajna statistička

Table 3. Total percentage of germinated, dormant and dead seed of ten plants within the population**Tablica 3.** Ukupni postotak klijavosti, dormantnosti i mrtvog sjemena za 10 biljaka unutar populacije

Plant No. Br. biljke	JASTREBARSKO (%)			POPOVAČA (%)		
	germination klijavost	mortality smrtnost	dormancy dormantnost	germination klijavost	mortality smrtnost	dormancy dormantnost
B1	90,0 bcd*	1,0 b	9,0 bc	50,8 a	32,9 de	16,3 a
B2	99,0 a	1,0 b	0,0 c	1,0 c	83,6 a	15,4 a
B3	84,0 d	2,0 b	14,0 b	16,2 bc	62,7 bc	21,1 a
B4	95,0 abc	1,0 b	4,0 c	47,0 a	35,0 de	18,0 a
B5	89,0 bcd	3,0 b	8,0 bc	30,3 b	49,5 cd	20,0 a
B6	88,0 cd	6,0 b	6,0 bc	6,0 bc	81,0 a	13,0 a
B7	96,0 abc	3,0 b	1,0 c	13,0 c	76,0 ab	11,0 b
B8	50,5 e	20,2 a	29,4 a	1,0 c	74,0 ab	25,0 a
B9	97,0 ab	1,0 b	2,0 c	10,0 c	69,0 ab	21,0 a
B10	84,0 d	1,0 b	15,0 b	58,7 a	19,2 e	22,1 a
CV ^a (%)	4,9	67,6	51,0	34,5	34,1	14,2

* values followed by the same letter are not significantly different

LSD values:

Jastrebarsko: % germination = 8,86; % dormancy = 9,21; % mortality = 5,44

Popovača: % germination = 16,58; % dormancy = 13,37; % mortality = 17,0

^a CV - coefficient of variation

* vrijednosti označene istim slovima međusobno se ne razlikuju

LSD vrijednosti:

Jastrebarsko: % klijavog sjemena = 8,86; % dormantnog sjemena = 9,21; % mrtvog sjemena = 5,44

Popovača: % klijavog sjemena = 16,58; % dormantnog sjemena = 13,37; % mrtvog sjemena = 17,0

^a CV - koeficijent varijabilnosti

razlika. Suprotno populaciji-J, gdje je veći udio sjemena iskazao visoku klijavost (>80%), unutar populacije-P sjeme je većinom definirano kao mrtvo sjeme. Ukupni postotak mrtvog sjemena u populaciji-J iznosio je 58,3%. Ukupni postotak dormantnog sjemena u populaciji-P iznosio je 18,3%, s rasponom od 11,0 do 25,0% između različitih biljaka (Tablica 3). Statistička razlika u klijavosti između sjemena iz iste populacije utvrđena je i kod drugih vrsta. Martinez-Fernandez i sur. (2014) utvrđuju razliku u klijavosti sjemena vrste *Astragalus gines-lopezii* Talavera, Podlech, Devesa, F.M.Vazquez za sjeme sakupljeno unutar iste populacije i iste godine. Mnogi autori razliku u viabilnosti sjemena objašnjavaju različitim masom sjemena. U ovom istraživanju regresijskom analizom nije utvrđena povezanost mase i viabilnosti sjemena ($R^2 =$

0,12). U istraživanju Guillemín i Chauvel (2011) također nije utvrđena povezanost između mase i klijavost sjemena ambrozije. U sličnim istraživanjima nije utvrđena ni povezanost u klijavosti i masi sjemena za vrstu *Centaurea eriophora* L. kao ni *Dactylis glomerata* L. te *Andropogon tectorum* Schumach. Suprotno tome, Milberg i sur. (1996) utvrđuju povezanost težine sjemena (veća težina veća klijavost) i klijavosti vrste *Lithospermum arvense* L., isto vrijedi i za vrstu *Abutilon theophrasti* Medik. (Baloch i sur., 2001), dok sjeme *Erodium brachycarpum* (Godron) Thell. (Stamp, 1990) pokazuje veću klijavost pri manjoj težini sjemena. Jačina varijabilnost u sastavu klijavog, dormantnog i mrtvog sjemena unutar populacije razlikuje se za populaciju J i P. Unutar populacije-J između sjemena sposobnog ostvariti klijanje utvrđena je vrlo slaba

varijabilnost (4,9%). Umjerena varijabilnost u sposobnosti klijanja utvrđena je unutar sjemena populacije-P (34,5%). To podrazumijeva relativno ujednačenu klijavost sjemena sakupljenog s različitih biljaka unutar dvije populacije. Varijabilnost udjela mrtvog sjemena između različitih biljaka unutar iste populacije razlikovao se za dvije populacije. Unutar populacije-J utvrđena je relativno jaka varijabilnost u postotku mrtvog sjemena (67,6%) iako je za sve biljke utvrđen nizak postotak mrtvog sjemena (izuzev B8) dok je unutar populacije-P varijabilnost u postotku mrtvog sjemena bila umjerena (34,1%). Varijabilnost utvrđena u udjelu dormantnog sjemena izraženija je kod populacije-J (51,0%) te je definirana kao vrlo jaka. Nasuprot tome, varijabilnost u udjelu dormantnog sjemena populacije-P definirana je kao relativno slaba (14,2%).

Dinamika klijanja ambrozije za istraživane populacije

Utvrđena slaba (P-J) i umjerena (P-P) varijabilnost u viabilnosti sjemena nije toliko značajna za laboratorijske pokuse utvrđivanja bioloških parametara klijanja korovnih vrsta. U tom pogledu značajnije je utvrditi postoji li razlika u dinamici klijanja između deset biljaka iz iste populacije s obzirom da se vrijednost T_{50} koristi kod određivanja biološkog minimuma i biološkog vodnog potencijala.

Sjeme iz obje populacije ambrozije statistički se značajno razlikovalo u dinamici klijanja (Tablica 4) odnosno vremenu potrebnom da 10%, 50% i 90% sjemena pojedine biljke proklije. Utvrđena jačina varijabilnosti (CV) između deset istraživanih biljaka za obje populacije u sva tri parametra (T_{10} , T_{50} i T_{90}) je relativno do umjereno slaba (12,0 – 32,7). Unutar istraživanih razdoblja za populaciju-J

Table 4. Estimated germination dynamics – T (10%, 50%, 90%) in Biostat97 model and ANOVA for 10 plants expressed in days

Tablica 4. Procijenjena dinamika klijanja – T(10%, 50%, 90%) prema Biostat97 modelu te ANOVA za 10 biljaka izražena u danima

Plant No. Br. biljke	JASTREBARSKO (%)			POPOVAČA (%)		
	T_{10}	T_{50}	T_{90}	T_{10}	T_{50}	T_{90}
B1	6,46 ab*	15,67 a	39,0 ab	5,76 b	11,23 c	22,16 b
B2	3,57 d	7,68 cd	16,7 def	0,00 c	0,00 d	0,00 c
B3	7,28 a	14,50 a	29,3 bc	12,18 a	21,82 a	39,10 a
B4	3,61 d	7,29 cde	17,0 def	6,85 b	14,64 bc	32,40 ab
B5	3,23 d	6,65 de	13,9 ef	7,37 b	16,78 ab	39,80 a
B6	4,91 bcd	10,58 b	23,1 cde	0,00 c	0,00 d	0,00 c
B7	3,29 d	4,98 e	7,8 f	12,10 a	20,95 a	38,30 a
B8	6,38 ab	16,48 a	44,5 a	0,00c	0,00 d	0,00 c
B9	5,42 bc	11,28 b	24,7 cd	11,16 a	14,50 bc	18,90 b
B10	4,35 cd	9,34 bc	20,6 cde	6,48 b	13,13 bc	27,40 ab
CV(%) ^a	17,7	12,0	22,4	22,2	22,4	32,7

*values followed by the same letter are not significantly different
 Jastrebarsko: $LSD_{0,05} T_{10} = 1,76$; $LSD_{0,05} T_{50} = 2,57$; $LSD_{0,05} T_{90} = 10,89$
 Popovaca: $LSD_{0,05} T_{10} = 2,81$; $LSD_{0,05} T_{50} = 5,18$; $LSD_{0,05} T_{90} = 14,69$
^a CV - coefficient of variation

*vrijednosti označene istim slovima međusobno se ne razlikuju
 Jastrebarsko: $LSD_{0,05} T_{10} = 1,76$; $LSD_{0,05} T_{50} = 2,57$; $LSD_{0,05} T_{90} = 10,89$
 Popovaca: $LSD_{0,05} T_{10} = 2,81$; $LSD_{0,05} T_{50} = 5,18$; $LSD_{0,05} T_{90} = 14,69$
^a CV - koeficijent varijabilnosti

za ostvarenje početne klijavosti bilo je potrebno prosječno 4,8 dana (d), za sredinu klijavosti prosječno 10,4 (d), a za završetak klijavosti bilo je potrebno u prosjeku 23,6 (d) (Grafikon 1).

Početak klijavosti izražen u danima između deset različitih biljaka iz populacije-J kretao se u rasponu od 3,23 do 7,28 dana. Najbrže početno klijanje unutar populacije-J ostvarile su B5 (3,23 d), B7 (3,29 d), B2 (3,57 d) i B4 (3,61 d) sa statistički neopravdanom razlikom između tih biljaka. Najsporije klijanje ostvareno je kod sjemena B3 (7,28 d), B1 (6,46 d) i B8 (6,38 d) bez utvrđene statistički značajne razlike između istih. Sredina klijavosti (50%) između deset biljaka unutar populacije-J ostvarena je u rasponu od 4,98 do 16,48 dana. Sjemenu B7, B5 i B4 bilo je potrebno 4,98 do 7,29 dana kako bi ostvarile 50% klijavost od ukupnog broja posijanog sjemena, te između njih nije utvrđena statistička razlika. Statistička razlika nije utvrđena ni između B3 (14,50 d), B1(15,67 d) i B8 (16,48 d) koje su najsporije dosegle 50% klijavosti. Kraj klijavosti za deset biljaka unutar populacije-J kretao se u rasponu od 7,8 do 44,5 dana. S klijanjem je najbrže završila B7 (7,8 d), dok je najsporiji završetak klijavosti ostvarila B8 (44,5 d).

Sjemenska populacija-P ostvarila je dvostruko razvučenije klijanje u istom istraživanom razdoblju.

Raspon početne klijavosti između deset istraživanih biljaka kretao se od 5,76 do 12,18 dana, prosječno 8,84 d. Za ostvarenje sredine klijavosti bilo je potrebno 16,15 d, kraj klijavosti prosječno je ostvaren unutar 31,15 d (Grafikon 2).

Najbrže početno klijanje ostvarile su B1 (5,76 d), B10 (6,48 d), B4 (6,85 d) te B5 (7,37 d). Početna klijavost sjemena populacije-P odvijala se sporo za sjeme biljaka B3, B7 i B9 s rasponom od 12,18 do 11,16 dana (Grafikon 2). Dinamika ostvarivanja sredine klijavosti unutar populacije-P razvučena je kao posljedica sporog ostvarenja inicijalne klijavosti. Raspon unutar kojeg su biljke unutar populacije-P ostvarile sredinu klijavosti kretao se od 11,23 do 21,82 dana. Najbrža srednja klijavost ostvarena je kod sjemena biljaka B1 (11,23 d), B10 (13,13 d), B9 (14,5 d) te B4 (14,64 d) bez utvrđene statistički značajne razlike između istih. Najsporije ostvarena srednja klijavost populacije-P utvrđena je za biljke B3 (21,8 d) i B7 (20,9 d) pri čemu se iste nisu statistički značajno razlikovale. Raspon završne klijavosti kretao se od 18,9 do 39,8 dana. Pri tom su biljke B9 (18,9 d) i B1 (22,2 d) ostvarile najbržu završnu klijavost dok su B5 (39,8 d), B3 (39,1 d) i B7 (38,3 d) najsporije završile klijavost (Grafikon 2).

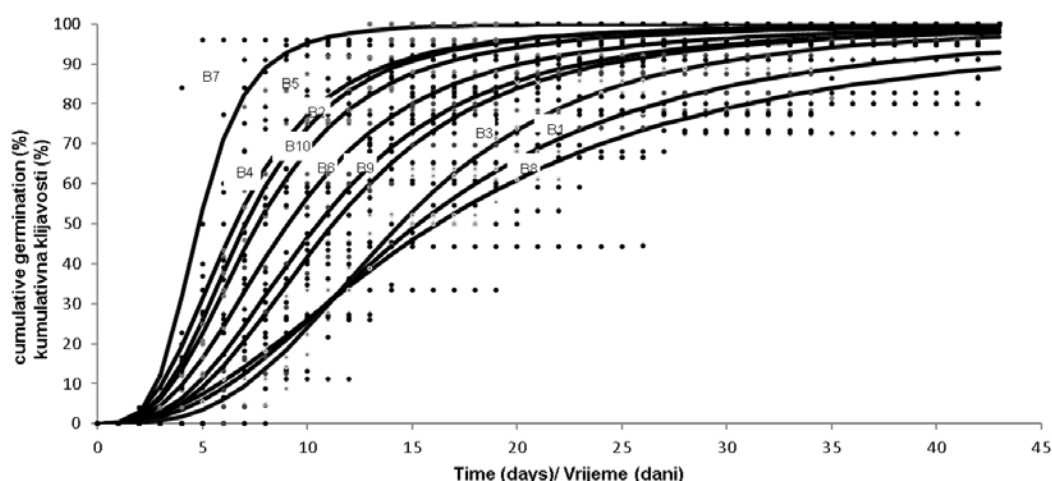


Figure 1. Cumulative germination and the time required for initial (T_{10}), middle (T_{50}) and final germination (T_{90}) of the seed collected from ten different plants from the same population (Jastrebarsko)

Grafikon 1. Kumulativna klijavost i procijenjeno vrijeme potrebno za početak (T_{10}), sredinu (T_{50}) i kraj klijavosti (T_{90}) sjemena sakupljenog s deset različitih biljaka iz iste populacije (Jastrebarsko)

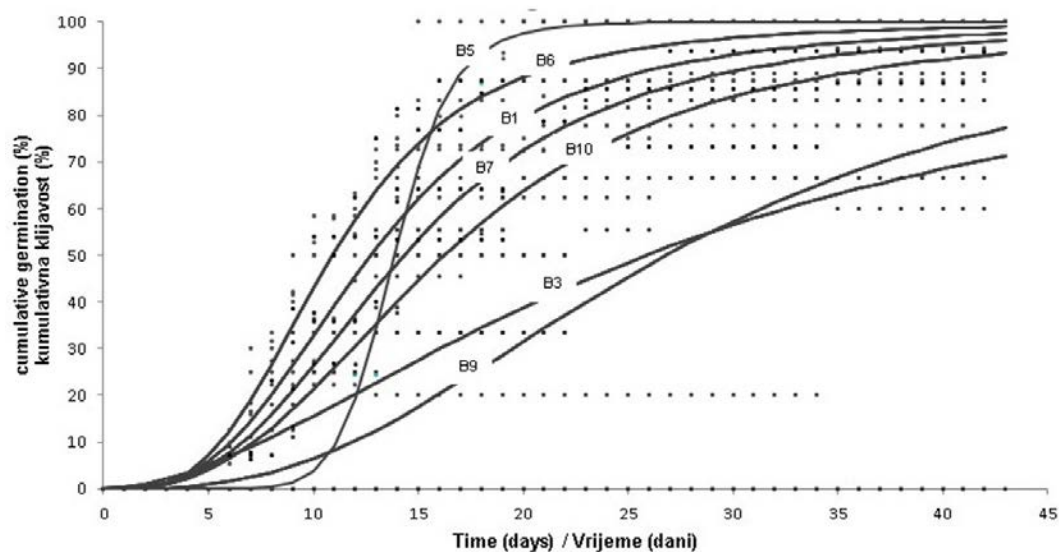


Figure 2. Cumulative germination and the time (days) required for initial (T_{10}), middle (T_{50}) and final germination (T_{90}) of the seed collected from ten different plants from the same population (Popovaca)

Grafikon 2. Kumulativna klijavost i procijenjeno vrijeme (dani) potrebno za početak (T_{10}), sredinu (T_{50}) i kraj klijavosti (T_{90}) sjemena sakupljenog s deset različitih biljaka iz iste populacije (Popovača)

Sposobnost sjemena da ostvari brzu inicijalnu klijavost u kratkom vremenu prednost je u uvjetima ograničenih resursa okoliša. Takva sposobnost definira kompetitivnost određene vrste odnosno jedinke (Ross i Harper, 1972). U tom pogledu, sjeme populacije-J kompetitivnije je u kraćem vremenu ostvariti klijavost. Utvrđivanjem stupnja varijabilnosti između biljaka iz ove populacije (Tablica 4), vidljivo je da iako statistička razlika između sjemena postoji, stupanj varijabilnosti u početnoj klijavosti je relativno slab (17,7%). Početna klijavost sjemena populacije-P razvučenija je, ali trend usporene klijavosti prisutan je ravnomjerno kod svog sjemena u populaciji. Iz tog razloga, kao i kod populacije-J i kod populacije-P varijabilnost između sjemena je relativno slaba (22,2%). Iako je utvrđena statistička razlika između istraživanih biljaka unutar dvije populacije u vremenskom razdoblju ostvarivanja srednje klijavosti varijabilnost koja je pritom utvrđena relativno je slaba pa za populaciju-P iznosi 22,4%, dok za populaciju-J iznosi svega 12,0% (Tablica 4). Fumanal i sur. (2007) utvrđuju vrijednosti srednje klijavosti sjemena ambrozije šest populacija u rasponu od 3,6 do 16,5 d što je sličnije rezultatima dobivenim za populaciju-J. Leiblein-Wild i sur. (2014) utvrđuju prosječnu vrijednost srednje klijavosti (T_{50}) za sjeme američke i europske populacije ambrozije od 13,4 d pri

konstantnih 25 °C. Pri tome, utvrđuju razliku između dvije navedene populacije, pa tako vrijednost srednje klijavosti autohtone (američke) i invazivnih (europskih) populacija ambrozije, iznosi 22,2 i 4,5 d što ukazuje na značajno brže dostizanje sredine klijavosti europskih populacija i time na njen jak invazivni potencijal. Kao što je vidljivo prosječne vrijednosti sredine klijavosti utvrđene u ovom istraživanju nalaze se unutar navedenog raspona stranih autora.

Utvrđena varijabilnost u završnoj klijavosti unutar biljaka iz populacije-J pri tome je relativno slaba (22,4%), dok je kod populacije-P umjerena (32,7%) (Tablica 4).

Kako se za utvrđivanje biološkog minimuma korovnih vrsta koristi podatak o T_{50} važno je utvrditi postoji li određena povezanost, odnosno preklapanje u vremenu potrebnom da deset biljaka unutar iste populacije ostvari 50% klijavosti. Za svaku biljku stoga je utvrđena gornja i donja vrijednost T_{50} kao vrijednost dobivena analizom četiri repeticije za svaku biljku.

S obzirom na vrijednost T_{50} i njihovo međusobno preklapanje biljke iz populacije-J podijeljene su u dvije različite grupe (Grafikon 3). Prva grupa obuhvaća skupinu biljaka čija je vrijednost T_{50} ostvarena u rasponu od 4,98 do 7,68 dana te je ujedno i najbrža grupa po ostvarenom T_{50} . Unutar ove grupe nalaze se biljke B7, B5, B4, B2.

Drugu skupinu obuhvaćaju biljke B10, B9, B8, B6, B3 i B1 čija je vrijednost T_{50} ostvarena u rasponu od 9,34 do 16,48 dana. Nasuprot tome na populaciji-P utvrđena su preklapanja u vremenskom razdoblju ostvarenja srednje klijavosti ostvarena za svih sedam biljaka koje su unutar ove populacije ostvarile klijavost (Grafikon 4).

Dobiveni rezultati istraživanja ukazuju na slabo izraženu varijabilnost u dinamici srednje klijavosti za obje populacije. Vrijednost srednje klijavosti osnova je

utvrđivanja bioloških parametra klijavosti stoga slabo izražena varijabilnost unutar ovog parametra ukazuje na mogućnost dobivanja pouzdanih podataka o biološkim parametrima čitave populacije temeljem korištenja miješanog sjemena s različitih biljaka. Ipak, između sjemena dvije populacije vidljiva je razlika u srednjoj klijavosti sjemena zbog čega bi buduća istraživanja trebala biti usmjerena na istraživanje većeg broja populacija na području RH.

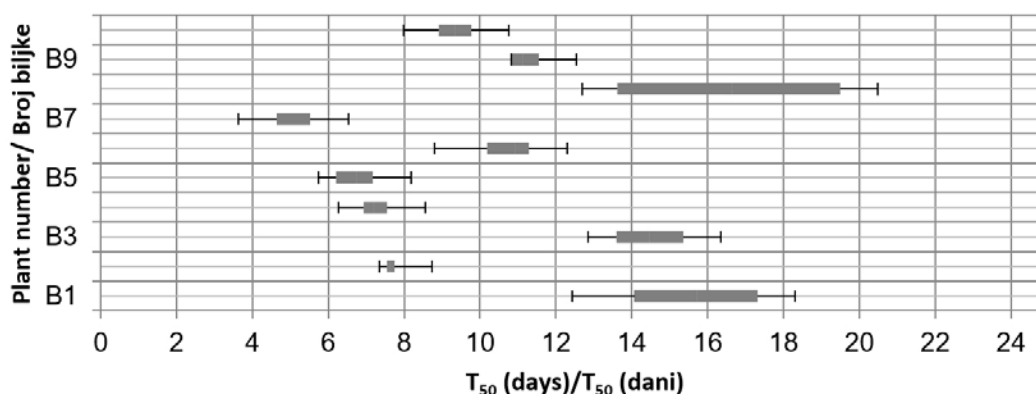


Figure 3. The time required for seed of the ten plants from the same population to achieve T_{50} and the estimated overlapping between each (Jastrebarsko)

Grafikon 3. Vremenski raspon unutar kojeg je ostvaren T_{50} za deset različitih biljaka u populaciji i utvrđena preklapanja istih (Jastrebarsko)

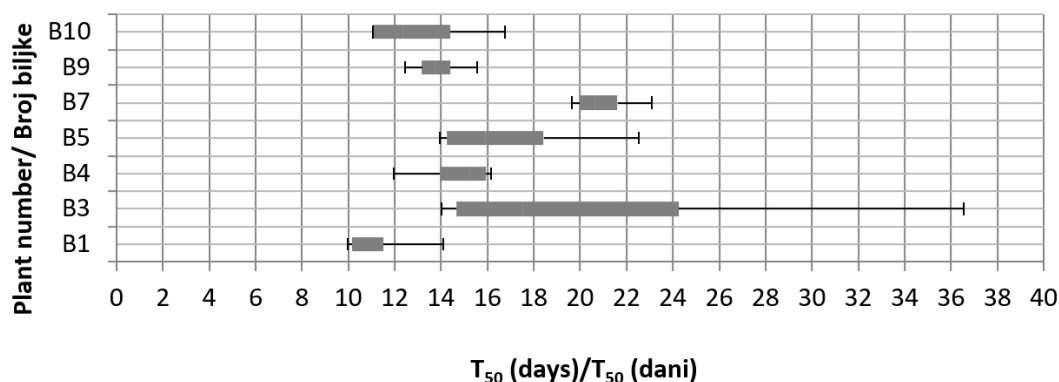


Figure 4. The time required for seed of the ten plants from the same population to achieve T_{50} and the estimated overlapping between each (Popovaca)

Grafikon 4. Vremenski raspon unutar kojeg je ostvaren T_{50} za deset različitih biljaka u populaciji i utvrđena preklapanja istih (Popovaca)

ZAKLJUČAK

Očekivana prisutnost morfološkog polimorfizma u masi sjemena utvrđena je kod obje istraživane populacije. Ipak, utvrđena varijabilnost slabo je izražena za sjeme unutar obje istraživane populacije. Funkcionalna varijabilnost utvrđena provođenjem testa klijavosti i tetrazolium testa razlikuje se između dvije istraživane populacije te je unutar obje utvrđena statistički značajna razlika između biljaka iz iste populacije. Dokazana je intrapopulacijska varijabilnosti između različitih biljaka u postotku klijavosti, dormantnosti, smrtnosti i dinamici klijanja. Iako je između navedene tri funkcionalne karakteristike sjemena utvrđena varijabilnost, stupanj varijabilnosti za iste nalazi se u rasponu od slabo do umjereno varijabilnog. Takav stupanj varijabilnosti prihvatljiv je prilikom korištenja u daljnjim istraživanjima bioloških parametara. Ipak, dobiveni podaci daju samo mali uvid u sjemenske karakteristike izražene unutar sjemena iz iste populacije. Za bolje razumijevanje intrapopulacijskih sjemenskih karakteristika slična istraživanja trebala bi biti usmjerena na proučavanje varijabilnosti svojstava sjemena i na razini pojedinačne biljke (položaju cvatova na biljci). Također, uključivanju i različitih okolišnih faktora koji utječu na razvoj varijabilnosti unutar populacija proučavanjem posrednih i neposrednih okolišnih mikroklimatskih uvjeta.

LITERATURA

- Baloch, H., Tommaso, A., Watson, A. (2001) Intrapopulation variation in *Abutilon theophrasti* seed mass and its relationship to seed germinability. *Seed Science Research*, 11 (4), 335-343. DOI: <https://doi.org/10.1079/SSR200190>
- Ellison, A. M. (2001) Interspecific and intraspecific variation in seed size and germination requirements of Sarracenia (Sarraceniaceae). *American Journal of Botany* 88, 429-437. DOI: <https://doi.org/10.2307/2657107>
- Fenner, M. (1991) The effects of the parent environment on seed germinability. *Seed Science Research* 1, 75-84. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0960258500000696>
- Fumal, B., Chauvel, B., Sabatier, A., Bretagnolle, F. (2007) Variability and cryptic heteromorphism of *Ambrosia artemisiifolia* seeds: what consequences for its invasion in France? *Annals of Botany*, 100 (2), 305-13 DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mcm108>
- Genton, B.J., Shykoff, J.A., Giraud, T. (2005) High genetic diversity in French invasive populations of common ragweed, *Ambrosia artemisiifolia*, as a result of multiple sources of introduction. *Molecular Ecology*, 14 (14), 4275-85. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02750.x>
- Guillemin, J.P., Chauvel, B. (2011) Effects of the seed weight and burial depth on the seed behavior of common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*). *Weed Biology and Management*. 11 (4), 217-223. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1445-6664.2011.00423.x>
- Harper, J.L., Obeid, M. (1967) Influence of seed size and depth of sowing on the establishment and growth of varieties of fiber and oil seed flax. *Crop Science* 7, 527-532. DOI: <https://doi.org/10.2135/cropsci1967.0011183X000700050036x>
- ISTA (1985) International rules for seed testing. *Seed Science Technology*, 13, 300-520.
- Jovanović-Radovanov, K., Božić, D. (2015) Invazivni procesi introdukovanih alohtonih korova i štete u novokolonizovanoj sredini. U: Vrbničanin, S., ur. Invazivni korovi - invazivni procesi, ekološko-genetički potencijal, unošenje, predviđanje, rizici, širenje, štete i kartiranje. Beograd: Herbološko društvo Srbije, pp. 167- 233.
- Kazinczi, G., Béres, I., Novák, R., Bíró, K., Pathy, Z. (2008) Common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*): A review with special regards to the results in Hungary. I. Taxonomy, origin and distribution, morphology, life cycle and reproduction strategy. *Herbologia*, 9 (1), 55-91.
- Leiblein-Wild, M.C., Kaviani, R., Tackenberg, O. (2014) Germination and seedling frost tolerance differ between the native and invasive range in common ragweed. *Oecologia*, 174, 739-750. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00442-013-2813-6>
- Lommen, S., Hallmann, C., Jongejans, E., Chauvel, B., Leitsch Vitalos, M., Aleksanyan, A., Toth, P., Preda, C., Ščepanović, M., Onen, H., Tokarska-Guzik, B., Anastasiu, P., Dorner, Z., Annamária, F., Karrer, G., Nagy, K., Pinke, G., Tiborcz, V., Zagyvai, G., Müller-Schärer, H. (2018) Explaining variability in the production of seed and allergenic pollen by invasive *Ambrosia artemisiifolia* across Europe. *Biological Invasions*, 20 (6), 1475 - 1491. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10530-017-1640-9>.
- Martínez-Fernández, V., Martínez-García, F., Pérez-García, F. (2014) Census, reproductive biology, and germination of *Astragalus gines-lopezii* (Fabaceae), a narrow and endangered endemic species of SW Spain. *Turkish Journal of Botany*, 38 (4), 686-695.
- Milberg, P., Andersson, L., Elfverson, C., Regnér, S. (1996) Germination characteristics of seeds differing in mass. *Seed Science Research* 6 (4), 191 - 198. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0960258500003251>
- Moles, A.T., Hodson, D.W., Webb, C.J. (2000) Seed size and shape and persistence in the soil in the New Zealand flora. *Oikos* 89, 541-545. DOI: <https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2000.890313.x>
- Nitzsche, J. (2010) *Ambrosia artemisiifolia* L. (Beifuß-Ambrosie) in Deutschland. Biologie der Art, Konkurrenzverhalten und Monitoring. PhD thesis. Braunschweig: University of Braunschweig.
- Obeso, J.R. (1993) Seed mass variation in the perennial herb *Asphodelus albus*: sources of variation and position effect. *Oecologia*, 93, 571-575. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00328967>
- Onofri, A. (2001) BIOASSAY97: A New EXCELt VBA Macro to Perform Statistical Analyses on Pesticide Dose-Response Data.
- Ostojić, Z. (2011) The changes of the composition of weed flora in Southeastern and Central Europe as affected by cropping practices - Croatia. U Šarić T., Ostojić Z., Stefanović L., Deneva Milanova S., Kazinczi G., Tyšer L., ur. The changes of the composition of weed flora in Southeastern and Central Europe as affected by cropping practices. *Herbologia*, 12 (1), 8-12.
- Ross, M.A., Harper, J.L. (1972) Occupation of biological space during seedling establishment. *Journal of Ecology*, 60 (1), 77-88. [Online] Available at: <https://www.jstor.org/stable/2258041> [Accessed 8 May 2020].
- SAS Institute (1997) SAS/STAT Software: Changes and Enhancements through Release 6.12. Cary, NC: SAS Institute Inc.

Stamp, N.E. (1990) Production and effect of seed size in a grassland annual (*Erodium brachycarpum* Geraniaceae). American Journal of Botany, 77 (7), 874 - 882.

DOI: <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1990.tb15182.x>

Willemsen, R. W. (1975) Effect of stratification temperature and germination temperature on germination and the induction of secondary dormancy in common ragweed seeds. American Journal of Botany, 62 (1), 1-5.

DOI: <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1975.tb12333.x>