

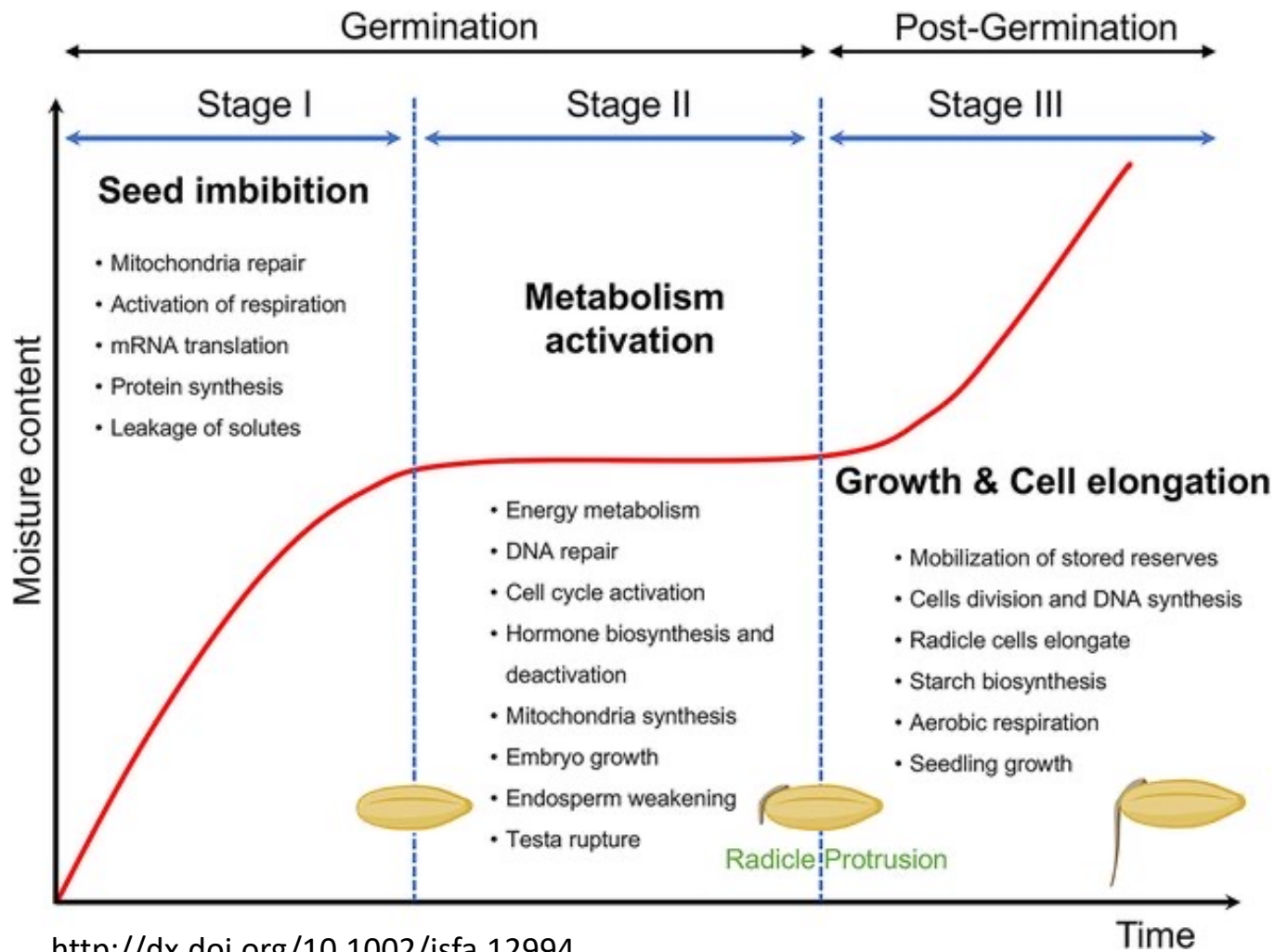
TESTOVI KLIJAVOSTI





KLIJANJE – proces u kojem počinje aktivni rast embrija što dovodi do probijanja sjemene lupine i pojave nove biljke.

- I faza: primanje vode
- II faza: pripreme za rast embrija, metabolička aktivnost
- III faza: rast embrija



<http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.12994>

- Proces klijanja počinje kad suho sjeme prima vodu, a završava kad se produlji os embrija.
- Faza I (imbibicija sjemena) karakterizirana je brzim ulaskom vode zbog niskog vodnog potencijala sjemena. **REVERZIBILNO!**
- Voda ulazi u sjeme na temelju difuzije i kapilarnog djelovanja.
- U fazi II, sadržaj vode se ne mijenja značajno prije probijanja korijena (radikule).
- Faza III obilježena je pucanjem sjemene lupine, čime je omogućen prvi vidljivi znak klijanja (probijanje radikule). **IREVERZIBILNO!**

ČIMBENICI KOJI UTJEČU NA KLIJANJE

Okolišni čimbenici:

- voda
- kisik
- temperatura
- svjetlost
- dubina sisanja
- tlo i njegov kemijski sastav
- kvaliteta (vijabilnost) sjemena

Dormancija – razdoblje mirovanja sjemenki.

- neke sjemenke trebaju dodatni poticaj za klijanje:
 - svjetlost (potrebna za duhan i salatu, dok klijanje crnjike (*Nigella*) inhibira)
 - niske temperature (0-10 °C), poznato i kao stratifikacija



salata



duhan



crnjika



**IDEJE ZA
TESTOVE
KLIJAVOSTI U
ŠKOLI**

Učinak temperature:

- Klijanje sjemena u hladnjaku, sobnoj temperaturi i toplijem mjestu (npr. iznad radijatora).

Učinak svjetla i tame:

- Klijanje sjemena u mraku (npr. prekriveno folijom) i na svjetlu (npr. učionica).

Učinak vlage i dostupnosti kisika:

- Klijanje sjemena pri različitim razinama vlage (potpuno suho, umjereno vlažno i natopljeno).

Fitotoksičnost tvari:

- Klijanje sjemena u pristustvu pesticida i herbicida za zaštitu poljoprivrednih vrsta biljaka i drveća.

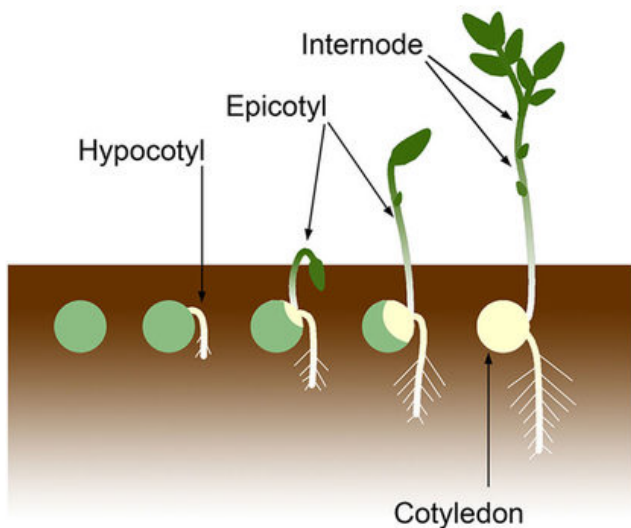
Učinak hranjivih supstrata za poboljšanje kultivacije i prinosa

Alelopatski učinci (orah, pelin, luk, raž, pšenica)

BILJKE POGODNE ZA TESTOVE KLIJAVOSTI

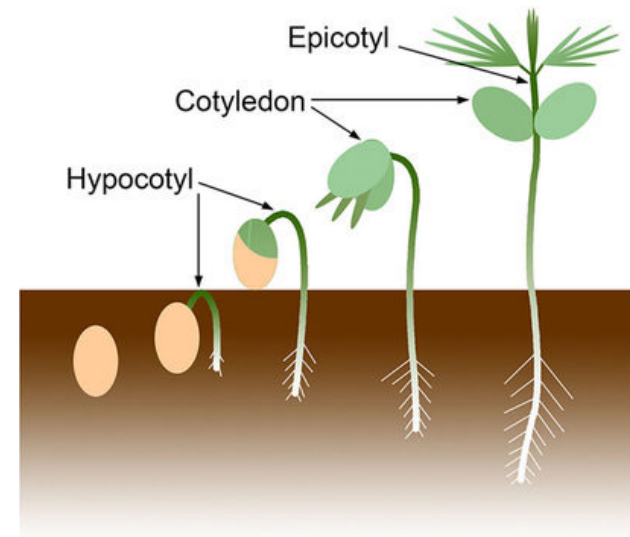
Izbor sjemena na temelju nekoliko kriterija:

- tipa klijanja (hipogejsko, epigejsko)
- brzine klijavosti
- važnosti (poljoprivreda, šumarstvo, hortikultura)
- osjetljivosti
- jednostavnosti uzgoja
- ponovljivosti



HIPOGEJSKO KLIJANJE

supke ostaju obavijene sjemenom lupinom i skrivene ispod zemlje



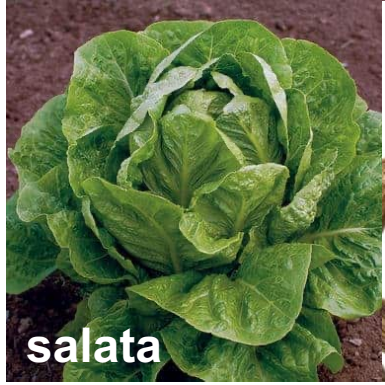
EPIGEJSKO KLIJANJE

supke probijaju sjemenu lupinu, zauzimaju nadzemni položaj, ozelene, te kraće ili dulje vrijeme asimiliraju

JEDNOSUPNICE



DVOSUPNICE



salata



vrtna kresa



soja



gorušica



rajčica



krastavac



uljana repica



Što možemo pratiti i/ili mjeriti?

1. Trajanje klijanja – vrijeme potrebno od buprenja (primanja vode) do pojave radikule.

2. Stopa klijanja (klijavost) – postotak proklijalih sjemenki u određenom vremenu.

- kriterij dužine praćenja: dužina radikule (1-5 mm).

3. Razvoj i rast klijanca

- razvoj prvog pravog lista
- praćenje rasta izdanka i korijena:
 - duljina korijena i izdanka
 - svježa masa korijena i izdanka
 - suha masa korijena i izdanka



REZULTATI

- prikupljaju se tijekom pokusa ili na kraju pokusa

$$\text{Klijavost (\%)} = \frac{\text{broj proklijalih sjemenki}}{\text{ukupni broj sjemenki}} \times 100 \quad \longrightarrow \quad \text{uspoređuju se vrijednosti dobivene za kontrolne i tretirane skupine sjemenki}$$

$$\text{Relativna klijavost (\%)} = \frac{\text{broj proklijalih sjemenki u testiranom uzorku}}{\text{broj proklijalih sjemenki u kontroli}} \times 100$$

$$\text{Relativni rast (\%)} = \frac{\text{duljina korijena/izdanka u testiranom uzorku}}{\text{duljina korijena/izdanka u kontroli}} \times 100$$

(korijena ili izdanka)

- izračunati srednje vrijednosti mjenog parametra (od n replika) \pm standardna devijacija

REZULTATI – „napredniji” parametri

Procjena vitalnosti

$$\text{Vitalnost (\%)} = \frac{\text{br. dobro razvijenih klijanaca u tretmanu}}{\text{br. dobro razvijenih klijanaca u kontroli}}$$

Krivulja odgovora na dozu određene kemikalije

- npr. % inhibicije rasta

$$i (\%) = \frac{L_c - L_t}{L_c} \times 100$$

i – inhibicija rasta, %

L_c – duljina izdanka ili korijena u kontroli, %

L_t – duljina izdanka ili korijena u tretiranoj grupi biljaka, %

PRAĆENJE UČINKA NEKE TVARI NA KLIJAVOST

Dva pristupa

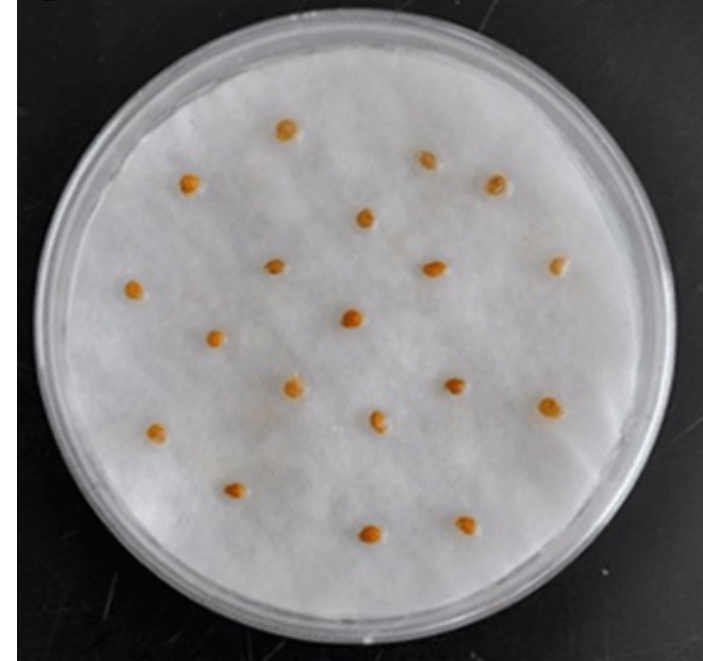
1. klijanje direktno u istraživanom materijalu (tlo, supstrat, otopina)
2. klijanje u inernom supstratu ili u hidroponici, a ispitivana tvar se dodaje u obliku otopine ili ekstrakta

Testirana tvar

- priređuje se niz koncentracija:
 - testirana otopina priređena otapanjem testirane tvari u dH_2O ili hranjivoj otopini
 - krutine se miješaju sa supstratom ili nezagađenim tlom

Vrsta testa

- **test klijavosti sjemenki:** testirana otopina dodaje se kad je sjeme posijano na supstrat
- **test na klijancima:** kad sjemenke prokliju, rani rast promatra se u istoj posudi ili se klijanci razmjestu u druge posude (npr. po 10 klijanaca po posudi) u koje se dodaje testirana otopina



O ČEMU TREBA RAZMIŠLJATI PRIJE POSTAVLJANJA POKUSA?

Uvjeti uzgoja

- konstantni, optimalni za odabrane vrste biljaka
 - temperatura
 - svjetlost
 - fotoperiod
 - vlažnost
- klijališta, fitotron, staklenik

Dovoljno podataka za izvesti zaključke

- broj sjemenki po posudi (> 5, 20, 40)
- broj biljaka po posudi (npr. 5 -10)
- broj replika 3 – 5 (jedna posuda = jedna replika?)

Trajanje testa

- klijavost 7-10 dana (vrijeme u kojem proklije barem 65% kontrole, korjenčić 1 cm)
- rast klijanaca 14-21 dan od pojave 50% klijanaca u kontroli

O ČEMU TREBA RAZMIŠLJATI PRIJE POSTAVLJANJA POKUSA?

Odabir testa

- statički
- statički s periodičkim obnavljanjem podloge
(zalijevanjem se ispitivana tvar može dodati više puta)
- protočni

NEGATIVNA KONTROLA

- dH₂O ili hranjiva otopina, supstrat za rast, tlo
- izostavljena je testirana tvar

POZITIVNA KONTROLA

- kemikalija (otopina ili dodana u supstrat) s poznatim učinkom
- radi provjere ponovljivosti pokusa i osjetljivosti biljke

PREDNOSTI TESTOVA KLIJAVOSTI

- osjetljiv testni sustav
 - tijekom klijanja se odvijaju metabolički procesi, prijenos hranjivih tvari, stanična dioba...
- brzi test – 7 dana, najdulje 14 ili 21 dan
- jednostavan, jeftin
- ne zahtijeva sterilne uvjete
- ne zahtijeva podloge obogaćene hranjivim tvarima

OGRANIČENJA I NEDOSTACI

- npr. određeni testovi klijavosti nisu osjetljivi za neke tvari zbog nemogućnosti primanja tih tvari u sjemenku te zbog prisutnosti spremišnih tvari kao izvora hrane
- koje sjemenke su osjetljiviji testni sustav – grah, kukuruz, soja, salata, ljulj i/ili vrtna kresa?

Utjecaj različitih koncentracija aspirina na klijavost sjemenki poriluka

Cilj:

Istražiti utječe li aspirin (acetilsalicilna kiselina) na klijavost sjemenki poriluka i ako da, u kojoj mjeri različite koncentracije aspirina utječu na postotak klijavosti.

Potrebni materijal:

- Sjemenke poriluka (50 ili više komada po tretmanu)
- Aspirin tablete (acetilsalicilna kiselina)
- Destilirana voda
- Petrijeve zdjelice ili plitke posudice (jedna za svaki tretman)
- Filter papir ili papirnate maramice
- Mjerne čaše ili pipeta za mjerenje volumena vode
- Laboratorijska vaga (za precizno doziranje aspirina)
- Zapisnički list za prikupljanje podataka
- Termometar (po želji)
- Folija ili poklopac (za održavanje vlage u posudicama)

Postupak:

1. Priprema otopina aspirina:

1. Zgnječite tablete aspirina i izmjerite potrebnu količinu praha kako biste napravili različite koncentracije.
2. Pripremite otopine različitih koncentracija aspirina u vodi. Preporučene koncentracije mogu biti:
 - 0 ppm (kontrola, samo destilirana voda)
 - 50 ppm (0.05 g aspirina u 1 L vode)
 - 100 ppm (0.1 g aspirina u 1 L vode)
 - 200 ppm (0.2 g aspirina u 1 L vode)
 - 400 ppm (0.4 g aspirina u 1 L vode)
3. Svaka otopina treba biti u dovoljnoj količini da održava vlagu u Petrijevim zdjelicama tijekom cijelog trajanja pokusa (oko 20 mL po posudici).

2. Postavljanje sjemenki:

1. Obložite dno svake Petrijeve zdjelice s dva sloja filter papira ili papirnatih maramica.
2. Stavite 10 sjemenki poriluka u svaku zdjelicu, pazeći da budu ravnomjerno raspoređene.
3. Dodajte 10 mL pripremljene otopine u svaku zdjelicu. Osigurajte da svaki tretman ima zasebnu zdjelicu, a u zdjelicu s kontrolom dodajte samo destiliranu vodu.

100 mg aspirina = 100 mg acetilsalicilne kiseline = 100 ppm

3. Inkubacija:

1. Pokrijte Petrijeve zdjelice folijom ili stavite poklopac kako biste spriječili isparavanje i održali vlagu.
2. Postavite zdjelice na svijetlo mjesto s kontroliranom temperaturom (oko 20-25 °C) i osigurajte da sve zdjelice budu pod jednakim uvjetima.

4. Promatranje:

1. Svakodnevno provjeravajte klijanje sjemenki kroz 7-10 dana.
2. Zabilježite broj sjemenki koje su proklijale u svakoj zdjelici.
3. Klijavost definirajte kao pojavu korjenčića (radikule) koja je duža od same sjemenke.
4. Dodajte 2-3 mL svake otopine u zdjelice svaki drugi dan kako biste održali vlagu.

5. Prikupljanje podataka:

1. Za svaki tretman, zabilježite broj proklijalih sjemenki svaki dan.
2. Pratite i zabilježite svaku promjenu u izgledu ili brzini klijanja sjemenki između tretmana.

6. Obrada podataka:

A. Izračun postotka klijavosti:

1. Za svaku koncentraciju, izračunajte prosječan postotak klijavosti na kraju eksperimenta.

B. Usporedba podataka:

1. Napravite tablicu s različitim koncentracijama aspirina i postotkom klijavosti za svaku koncentraciju.
2. Prikaz klijavosti po danima može pomoći da se vidi brzina klijanja.

C. Grafički prikaz:

1. Prikažite podatke grafički koristeći stupčasti ili linijski graf, gdje će x-osi predstavljati različite koncentracije aspirina, a y-osi postotak klijavosti.
2. Alternativno, koristite linijski graf s brojem proklijalih sjemenki po danima kako biste pratili trendove klijanja tijekom vremena.

D. Analiza rezultata:

1. Usporedite postotak klijavosti između kontrolne skupine i skupina tretiranih različitim koncentracijama aspirina.
2. Istražite uzorak – povećava li se ili smanjuje klijavost s povećanjem koncentracije aspirina?
3. Diskutirajte o rezultatima: može li aspirin imati stimulativni ili inhibicijski učinak na klijavost sjemenki poriluka i u kojoj mjeri?

Na temelju dobivenih podataka, donesite zaključak o utjecaju različitih koncentracija aspirina na klijavost sjemenki poriluka.