

Ispitivanje uticaja vodenih ekstrakata ambrozije (*Ambrosia artemisiifolia*) i njivske lubeničarke (*Hibiscus trionum*) na klijanje semena, rast nadzemnog dela klice i sadržaj fotosintetičkih pigmenata kod pšenice (*Triticum aestivum*)

*U ovom radu je ispitivan alelopatski uticaj ambrozije (*Ambrosia artemisiifolia* L.) i njivske lubeničarke (*Hibiscus trionum* L.) na klijanje semena pšenice (*Triticum aestivum* L.), rast nadzemnog dela klice i sadržaj fotosintetičkih pigmenata. Semena pšenice su tretirana vodenim ekstraktima korena i lista biljaka, koncentracija 10%, 50% i 100%. Uočen je stimulativan efekat ekstrakta korena ambrozije na klijanje semena pšenice. Svi ekstrakti ispoljavaju stimulativan efekat na rast nadzemnog dela klice i sadržaj hlorofila a i b, izuzev koncentrovanog ekstrakta lista ambrozije, koji pokazuje izražen efekat na smanjenje sadržaja hlorofila u nadzemnom delu i inhibira rast klijanaca. U daljim istraživanjima je potrebno izvršiti hemijsku karakterizaciju ekstrakata u cilju izolacije aktivnih supstanci koje mogu pronaći primenu u poljoprivredi.*

Uvod

Biljke imaju mogućnost produkcije različitih jedinjenja koja nisu od posebnog značaja za primarne metaboličke procese, ne koriste se direktno za povećanje biomase, ali mogu imati izražen efekat na druge biljke, mikroorganizme i životinje u njihovoj

neposrednoj okolini. Aktivna jedinjenja sekundarnog metabolizma, označena kao alelohemijske supstance, koja biljke izlučuju u svoje neposredno okruženje mogu poticati iz listova ili korenova, kao i iz razloženih ili uvelih delova biljke. Biohemijske supstance koje luče više biljke i koje uglavnom inhibitorno deluju na druge više biljke nazivaju se kolini (Stevanović i Janković 2001).

Kolini su najčešće masne kiseline kratkog lanca, etarska ulja, fenolna jedinjenja, alkaloidi, steroidi i derivati kumarina. Lako isparljiva organska jedinjenja mogu biti ispuštena u vazduh ili izlučena, bilo iz nadzemnih delova, bilo iz korenova u zemljište. Supstance izlučene na površinu listova ili stabla, ili na površinu tla, spiranjem atmosferskim padavinama dospevaju u zemljište (Stevanović i Janković 2001).

Alelopatskim odnosima među organizmima se pridaje sve veći značaj u poljoprivredi. Utvrđivanjem međusobnih uticaja samoniklih biljaka i gajenih kultura može se uticati na povećanje prinosa ili suzbijanje korova prirodnim putem. Korovima se smatraju one biljke koje protiv čovekove volje rastu na zemljištu zajedno sa gajenim kulturama. Često se veoma brzo razmnožavaju i teško ih je iskoreniti sa obradnog zemljišta, pa zato nepovoljno utiču na kvalitet i kvantitet prinosa. Usvajaju vodu i mineralne materije neophodne za rast i razvoj biljaka, zauzimaju podzemni i nadzemni prostor i na taj način suzbijaju gajene biljke. Dejstvo alelopatskih jedinjenja koje luče određeni korovi može biti različito u zavisnosti od biljke koja ih luči i biljke na koju deluju, inhibitorno ili stimulatивно, različitih intenziteta (Kojić *et al.* 1996).

Ambrozija (*Ambrosia artemisiifolia* L.) je jednogodišnja zeljasta biljka. Visine je 20–80 cm, u optimalnim uslovima i do 2 m. Koren je vretenast; stablo

Ana Radojičić (1993), Beograd, Južni bulevar 136, učenica 4. razreda Matematičke gimnazije u Beogradu

MENTORI:

Tomica Mišljenović, apsolvent Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Vladimir Jovanović, istraživač saradnik Instituta za biološka istraživanja „Siniša Stanković”

je uspravno, obraslo gustim vunastim dlačicama, u gornjem delu razgranato i obraslo perasto deljenim listovima. Pripada familiji Asteraceae, potfamiliji Asteroideae. Biljka je bez mlečnog soka, ali sa žlezdanim kanalima ispunjenim etarskim uljima (Janjić i Vrbničanin 2007). Razmnožava se semenom koje klija u drugoj polovini aprila, tako da se brzo širi na obrađenom zemljištu. Cveta u avgustu i septembru. Cvetovi su jednopolni, grupisani u glavice. Polen ambrozije izaziva alergijske reakcije kod velikog broja ljudi i zato se preduzimaju mere njenog suzbijanja u naseljenim mestima. Javlja se pored puteva, na prugama, ali često napada i useve. Veoma je rasprostranjena u Srbiji (Janjić i Vrbničanin 2007).

Njivska lubeničarka (*Hibiscus trionum* (L.) Woot & Standl.) je jednogodišnja zeljasta biljka. Stablo je visoko 10–60 cm, prekriveno proređenim čekinjastim dlakama. Listovi pri dnu stabla su ovalni i skoro neprimetno prstasto deljeni, a ostali listovi su prstasto deljeni na 3–5 izduženih režnjeva. Cvetovi su pojedinačni, bele ili sumpornožute boje, tamnoljubičasti u sredini. Prečnik cveta je oko 4 cm. Krunični listići su dugi do 3 cm, jajasto-ovalnog oblika, ima ih 5. Čašični listići su prekriveni čekinjastim dlačicama kojih obično ima 10 do 13. Njivska lubeničarka se javlja kao korov na obrađenom zemljištu, ali i na ruderalnim mestima, pored puteva (Kojić *et al.* 1996).

Biljne vrste korišćene u istraživanju su vrlo česti korovi gajenih kultura sa poznatim alelopatskim delovanjem, ali je i dalje dostupno malo podataka o njihovom konkretnom dejstvu na određene useve. Istraživanja koja se bave alelopatskim delovanjem biljke *Ambrosia artemisifolia* L., kao i drugih vrsta koje pripadaju rodu *Ambrosia*, pokazuju da ekstrakti mogu imati i pozitivne i negativne efekte na određene parametre rasta i razvoja gajenih kultura zavisno od metodologije korišćene za pripremu ekstrakta i primenjene koncentracije. Efekti vodenih ekstrakata lista i korena njivske lubeničarke na parametre životnog ciklusa gajenih kultura nisu prethodno ispitivani.

Cilj ovog istraživanja je ispitivanje uticaja vodenih ekstrakata ambrozije i njivske lubeničarke na klijanje semena pšenice i na ranu fazu razvića klica. Za pripremu ekstrakta je korišćena metodologija koja omogućava simuliranje realnih interakcija u prirodi, tj. efekata do kojih dolazi spiranjem aktivnih jedinjenja sa površine lista atmosferskim padavinama i rastavaranjem jedinjenja izlučenih iz korena u vodi.

Materijal i metode

Semena pšenice su tretirana vodenim ekstraktima korena i lista ambrozije i njivske lubeničarke, a zatim je određen broj prokljalih semena, masa nadzemnih delova klice i koncentracija fotosintetičkih pigmenata u nadzemnom delu klice.

Za potrebe eksperimenta korišćena je pšenica belija (*Triticum aestivum* L.), proizvođača „Floridabel“, 2010. Biljni materijal (*Ambrosia artemisifolia* L. i *Hibiscus trionum* (L.) Woot. & Standl.) za ekstrakciju sakupljen je sredinom jula 2011. godine. Cele biljke, uključujući i nadzemni i podzemni deo, uzorkovane su pored njive sa zasadam kukuruza, u blizini IS Petnica. Istog dana kada je biljni materijal sakupljen, izvršena je ekstrakcija tako što je po 20 g sveže mase listova i korena ambrozije i njivske lubeničarke potopljeno u 400 mL destilovane vode i ostavljeno u zatvorenom erlenmajeru 18 h na sobnoj temperaturi. Od svakog ekstrakta napravljeni su vodeni rastvori koncentracija 10 i 50 procenata, koji su, kao i koncentrovani ekstrakti, čuvani u frižideru na temperaturi 4°C. U daljem tekstu će za rastvore biti korišćene sledeće oznake: vodeni ekstrakt lista ambrozije – razblaženje 10% AL10, 50%, AL50 i koncentrovan rastvor AL100. Ekstrakt korena ambrozije – 10% AK10, 50% AK50 i koncentrovan rastvor AK100. Za ekstrakte njivske lubeničarke oznake rastvora su formirane po istom principu sa oznakama HK (koren) i HL (list).

Semena pšenice su potopljena u vodu 30 minuta, a zatim sterilisana jedan minut u desetoprocentnom rastvoru varikine. Nakon toga su više puta isprana vodom i na kraju destilovanom vodom. Semena su tretirana ekstraktima korena ambrozije, lista ambrozije, korena njivske lubeničarke i lista njivske lubeničarke u vidu vodenih rastvora, koncentracija 10, 50 i 100 procenata, a eksperiment je postavljen u triplikatu. Isključivanje semena vršeno je u Petrijevim školjama prečnika 9 cm. U svaku su postavljena dva sloja filter papira, 30 semena pšenice i 5 mL rastvora određene koncentracije. Kontrolne grupe su tretirane destilovanom vodom. Semena su ostavljena da kliju na mračnom mestu, na sobnoj temperaturi. Nakon 24 h i 72 h utvrđivan je broj prokljalih semena. Nakon tri dana izmerene su i mase epikotila.

Sadržaj hlorofila a i b u epikotilu pšenice određen je spektrofotometrijski (Sarić *et al.* 1986). Iz jedne Petrijeve šolje izmerena je masa svih epikotila, a zatim je, postupkom maceracije u acetonu, izvršena

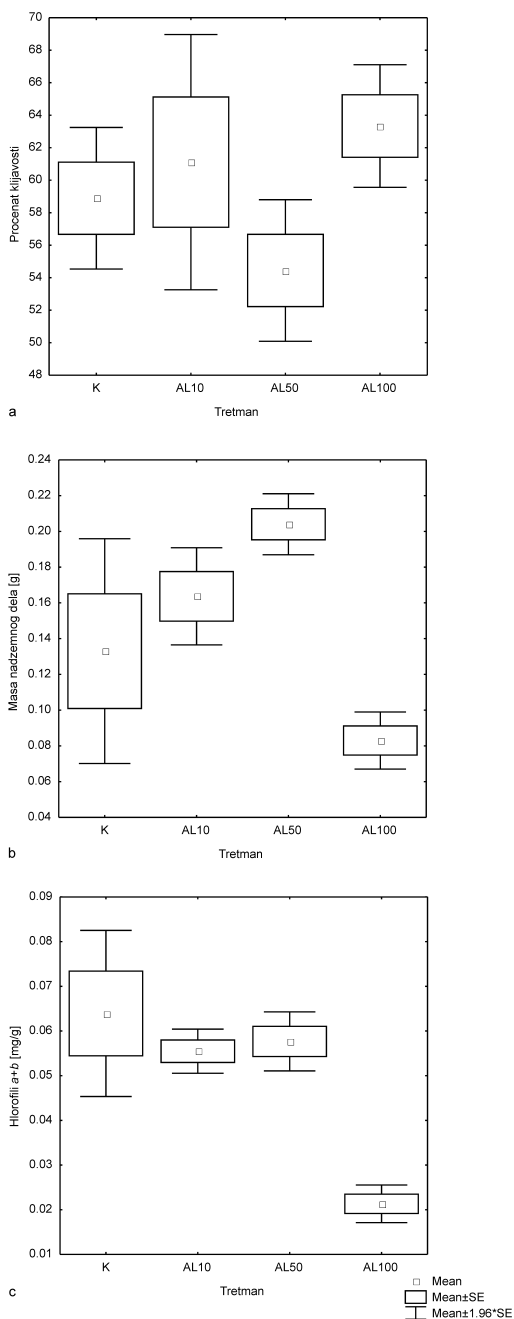
ekstrakcija pigmentata. Dobijeni ekstrakt je filtriran i odložen na tamno mesto. Postupak je ponovljen za svaku Petrijevu šolju u kojoj je klijala pšenica. Ekstrakti su centrifugirani 5 min na frekvenciji od 3500 obrtaja po minutu, a zatim su na spektrofotometru očitane apsorbance na talasnim dužinama 440, 626, 644, 662 i 720 nm. Korišćeni su obrasci za izračunavanje koncentracija pigmentata izraženih u mg/dm^3 za apsolutni acetonski rastvor po Holmu (Sarić *et al.* 1986).

Dobijeni rezultati su statistički obrađeni u programskom paketu Statistica 8.0, a efekti različitih razblaženja ekstrakata utvrđeni su ANOVA testom. Svi podaci su „otežani“ brojem proklijalih semena na kojima je vršena analiza, a razlike među tretmanima su utvrđene Tukey-evim post-hoc testom.

Rezultati i diskusija

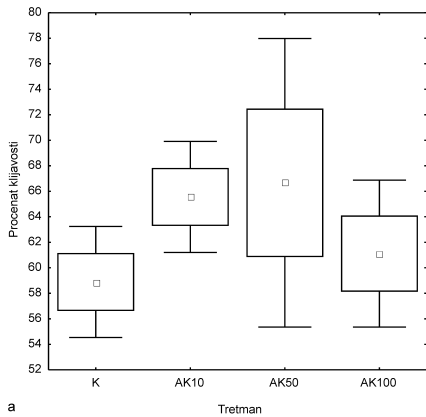
Procenat klijavosti semena pšenice u kontrolnoj i eksperimentalnim grupama tretiranim rastvorima vodenog ekstrakta lista ambrozije prikazan je na slici 1. Na osnovu dobijenih rezultata nije moguće jednoznačno odrediti efekte ekstrakta lista ambrozije na klijavost semena pšenice u zavisnosti od koncentracije. Dobijeni rezultati pokazuju stimulativan efekat rastvora AL10 i AL50 na rast nadzemnog dela klijanca pšenice, dok koncentrovan ekstrakt (AL100) inhibitorno deluje na rast. Uočava se trend smanjenja ukupnog sadržaja hlorofila u nadzemnom delu klijanca pšenice sa povećanjem koncentracije korišćenog ekstrakta (slika 1). Sadržaj karotenoida je takođe ispitan i pokazuje ponašanje slično hlorofilima a i b kod svih ispitivanih ekstrakata (rezultati nisu prikazani). Ekstrakt lista ambrozije koncentracije 100% (AK100), dovodi do inhibicije rasta nadzemnog dela klice i ima izražen efekat na smanjenje sadržaja hlorofila.

Korišćeni ekstrakt korena ambrozije u svim ispitivanim razblaženjima deluje stimulatивно na klijavost semena pšenice, kao i na rast nadzemnog dela klijanca, dok koncentrovani ekstrakt nema izražen efekat (slika 2). Rezultati Wang i Zhu (1996) pokazuju da vodeni ekstrakt korena *Ambrosia artemisiifolia* L. stimuliše rast nadzemnog dela klijanca, ali uz izražen inhibitorni efekat na rast korenčića i bez posebnog efekta na klijavost semena. Naši rezultati pokazuju izrazito stimulatивно dejstvo rastvora AK50 na rast nadzemnog dela klijanca pšenice, što se može objasniti potencijalnim prisustvom određenih biljnih

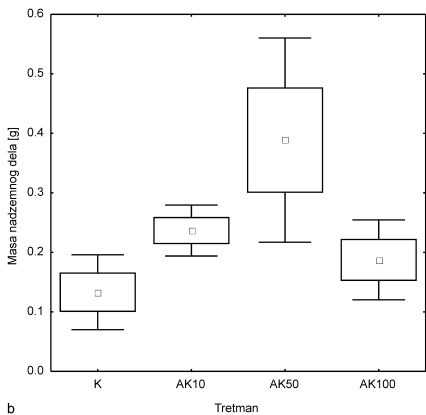


Slika 1. Efekat ekstrakta lista ambrozije na klijanje semena pšenice, masu nadzemnog dela klice i ukupan sadržaj hlorofila

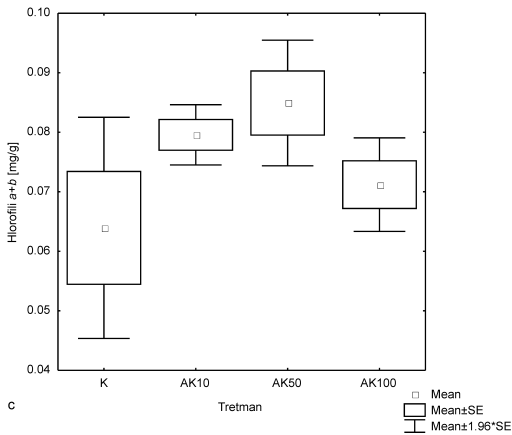
Figure 1. Effects of a ragweed leaf extract on germination of wheat seeds (a), mass of epicotyls (b) and total chlorophyll content (c)



a



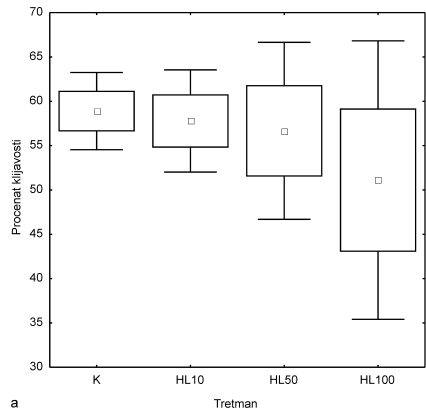
b



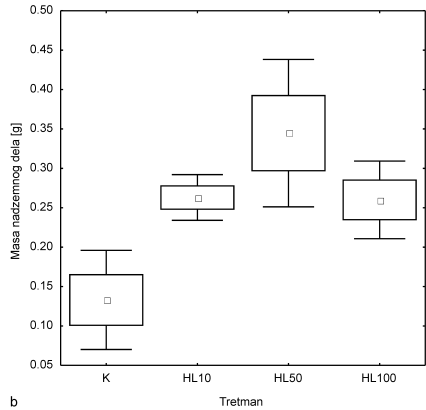
c

Slika 2. Efekat ekstrakta korena ambrozije na klijanje semena pšenice, masu nadzemnog dela klice i ukupan sadržaj hlorofila

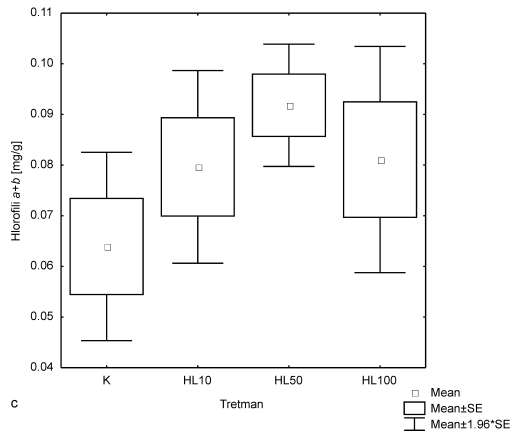
Figure 2. Effects of a ragweed root extract on germination of wheat seeds (a), mass of epicotyls (b) and total chlorophyll content (c)



a



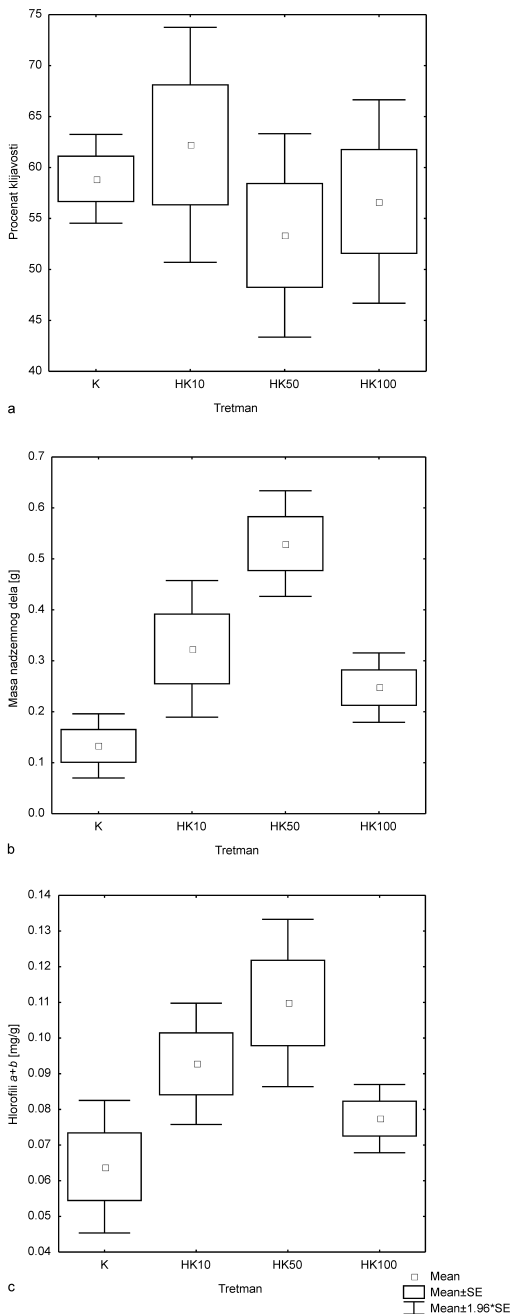
b



c

Slika 3. Efekat ekstrakta lista njvске lubeničarke na klijanje semena pšenice, masu nadzemnog dela klice i ukupan sadržaj hlorofila

Figure 3. Effects of a bladder weed leaf extract on germination of wheat seeds (a), mass of epicotyls (b) and total chlorophyll content (c)



Slika 4. Efekat ekstrakta korena njivske lubeničarke na klijanje semena pšenice, masu nadzemnog dela klice i ukupan sadržaj hlorofila

Figure 4. Effects of a bladder weed roots extract on germination of wheat seeds (a), mass of epicotyls (b) and total chlorophyll content (c)

hormona koji potiču iz korena ambrozije u optimalnoj koncentraciji, ili usled sadržaja određene količine mineralnih materija čiji je sadržaj veći u korenu nego u listu ambrozije. Ispitivani ekstrakt korena ambrozije ispoljava stimulativan efekat na sadržaj svih analiziranih pigmentata (hlorofil a, hlorofil b, karotenoidi) u nadzemnom delu klijanca pšenice, sa posebno izraženim efektom rastvora AK50. Procenat klijavosti, rast nadzemnog dela klice i koncentracija pigmentata pokazuju sličan trend povećanja sa povećanjem koncentracije ekstrakta korena ambrozije (slika 2), uz pad pri najvećoj koncentraciji. Dalrymple i Rogers (1983) ukazuju na izražen inhibicioni efekat ekstrakta korena i lista ambrozije (*Ambrosia psyllostachia* D. C.) na klijavost semena pšenice i rast korena i nadzemnog dela klijanca, uz izraženije dejstvo ekstrakta korena.

Ekstrakt lista njivske lubeničarke smanjuje klijavost pšenice sa porastom koncentracije ekstrakta, i stimulatивно deluje na rast nadzemnog dela klijanaca (slika 3). Ekstrakt lista njivske lubeničarke utiče i na povećanje sadržaja hlorofila a, hlorofila b i karotenoida. Ekstrakt korena njivske lubeničarke nema efekat na klijavost semena pšenice (slika 4). Uočava se stimulativan efekat korena njivske lubeničarke na rast nadzemnog dela klice, uz posebno izraženo dejstvo rastvora HK50. Izrazito stimulatивно dejstvo ekstrakta HK50 moglo bi se objasniti prisustvom određenih aktivnih supstanci u optimalnim količinama u odnosu na ekstrakte HK10 i HK100. Razblaženja ekstrakta korena njivske lubeničarke povećavaju sadržaj hlorofila a i b, dok koncentrovani ekstrakt nema značajan efekat na koncentraciju hlorofila u epikotilu. Od svih ispitivanih ekstrakata, rastvor HK50 ima najizraženije stimulatивно dejstvo na ukupnu količinu hlorofila u nadzemnom delu klice (slika 4).

Zaključak

Dobijeni rezultati pokazuju značajne efekte testiranih ekstrakata na praćene parametre ranog razvika pšenice. Ekstrakt lista ambrozije smanjuje sadržaj pigmentata u nadzemnom delu klice pšenice, dok ostali ispitivani ekstrakti pokazuju efekat povećanja sadržaja pigmentata. Ekstrakt korena njivske lubeničarke pokazuje stimulatивно dejstvo na rast nadzemnog dela klice, sa značajno izraženim efektom pedesetoprocentnog rastvora. Koncentrovani ekstrakt korena njivske lubeničarke ima slabije izraženo dejstvo, na osnovu čega možemo pretpostaviti da rastvor raz-

blaženja 50% sadrži optimalniju koncentraciju određenih aktivnih supstanci poreklom iz korena njivske lubeničarke. U daljim istraživanjima je potrebno izvršiti hemijsku karakterizaciju ekstrakata u cilju izolacije aktivnih supstanci sa izraženim inhibitornim ili stimulativnim efektom na praćene parametre ranog razvića pšenice, što bi moglo biti od izuzetnog značaja u poljoprivredi.

Literatura

Dalrymple R.L., Rogers J.L. 1983. Allelopathic Effects of Western Ragweed on Seed Germination and Seedling Growth of Selected Plants. *Journal of Chemical Ecology*, **9** (8): 1073.

Janjić V., Vrbničanin S. 2007. *Ambrozija*. Beograd: Herbološko društvo Srbije

Kastori R. 1991. *Fiziologija biljaka*. Beograd: Nauka

Kojić M., Janjić V., Stepić R. 1996. *Korovi i njihovo suzbijanje*. Subotica: Birografika

Nešković M., Konjević R., Čulafić Lj. 2003. *Fiziologija biljaka*. Beograd: NNK International

Sarić M., Petrović M., Krstić B., Kastori R., Stanković Ž., Petrović N. 1986. *Praktikum iz fiziologije biljaka*. Beograd: Naučna knjiga

Stevanović B., Janković M. 2001. *Ekologija biljaka*. Beograd: NNK International

Čulafić Lj., Cerović Z., Naunović G., Konjević R. 1992. *Fiziologija biljaka – praktikum*. Beograd: Naučna knjiga

Wang D., Zhu X. 1996. Research on Allelopathy of *Ambrosia artemisiifolia* L. *Acta Ecologica Sinica*, **16** (1): 11.

Ana Radojičić

Effects of Root and Leaf Aqueous Extracts of Common Ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*) and Bladder Weed (*Hibiscus trionum*) on Seed Germination, Epicotyl Growth and Amount of Photosynthetic Pigments in Epicotyl of Wheat (*Triticum aestivum*)

In this study, the allelopathic effect of common ragweed and bladder weed on germination of wheat seeds, epicotyls growth and the amount of photosynthetic pigments in epicotyls of seedlings was investigated. Wheat seeds were treated with aqueous extracts of root and leaf of tested plant species, using solutions of concentrations 10%, 50% and 100%. It is shown that the root extract of *A. artemisiifolia* L. has a stimulative effect on seed germination. All extracts have stimulated the growth of epicotyls and contents of photosynthetic pigments, except for the concentrated leaf extract of *A. artemisiifolia* that has a strong inhibitory effect on epicotyls growth, and contents of pigments.

Chemical characterization of extracts is necessary in further research, in aim of isolation of active substances that might be applied in agriculture. ☞