

Alelopatsko djelovanje ekstrakta listova običnog oraha i nekih invazivnih biljnih vrsta na klijanje pšenice (*Triticum aestivum* L.) i gorušice (*Sinapis alba* L.)

Pavićević, Maša

Master's thesis / Diplomski rad

2013

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:504985>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-21**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Maša Pavićević

**ALELOPATSKO DJELOVANJE EKSTRAKTA LISTOVA OBIČNOG
ORAHA I NEKIH INVAZIVNIH BILJNIH VRSTA NA KLIJANJE
PŠENICE (*Triticum aestivum* L.) I GORUŠICE (*Sinapis alba* L.)**

Diplomski rad

Zagreb, 2013. godina

Ovaj rad, izrađen u Botaničkom zavodu pod vodstvom prof. dr. Svena Jelaske, predan je na ocjenu Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja zvanja dipl. ing. biologije, smjer ekologija.

Zahvaljujem mentoru prof. dr. sc. Svenu Jelaski bez kojega ovaj rad ne bi bilo moguće provesti. Također, zahvaljujem članovima svoje obitelji na bezuvjetnoj podršci koju su mi pružali tijekom čitavog studija, prijatelju Bernardu koji mi je pomogao pri izvođenju pokusa te asistentici Nini Vuković na pregledavanju rada i dragocjenim savjetima u vezi izbora literature.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Diplomski rad

ALELOPATSKO DJELOVANJE EKSTRAKTA LISTOVA OBIČNOG ORAHA I NEKIH INVAZIVNIH BILJNIH VRSTA NA KLIJANJE PŠENICE (*Triticum aestivum* L.) I GORUŠICE (*Sinapis alba* L.)

Maša Pavićević

Termin alelopatija odnosi se na pozitivan ili negativan, izravan ili neizravan učinak jedne biljke na drugu stvaranjem kemikalija koje se ispuštaju u okoliš. Polazna je hipoteza da invazivne biljke povećavaju vlastitu uspješnost na novom području izlučivanjem (alelo)kemikalija koje izravno ili neizravno inhibiraju rast okolnih biljaka. Kako bih provjerila tu hipotezu, pripremila sam ekstrakte listova negundovca, pajasena, čivitnjače, običnog oraha, japanskog pridvornika i mirisavog bagrema u tri različite koncentracije. Njima sam jedan dan natapala sjeme pšenice i bijele gorušice, a zatim to sjeme prenijela u Petrijeve posudice i navlažila istim ekstraktima. U većini slučajeva ekstrakti listova inhibirali su klijanje i rast testnih biljaka, a inhibicijsko djelovanje povećavalo se s porastom koncentracije ekstrakata. Klijanje i rast testnih biljaka najjače su inhibirali ekstrakti listova bagrema. U svrhu pouzdanijih zaključaka o alelopatskom djelovanju neke invazivne vrste potrebno je ispitivanja provesti u uvjetima što bližima onima u prirodi, koristeći samonikle biljne vrste kao testne organizme.

Rad sadrži 33 stranice, 18 slika, 36 literaturnih navoda. Jezik izvornika: hrvatski.

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici.

Ključne riječi: alelopatija, invazivne biljne vrste, alelokemikalije, juglon, *Juglans regia* L., *Sinapis alba* L., *Triticum aestivum* L.

Voditelj: dr. sc. Sven Jelaska, izv. prof.

Ocjenitelji: dr. sc. Sven Jelaska, izv. prof.

dr. sc. Ana Galov, doc.

dr. sc. Jasna Hrenović, izv. prof.

Rad prihvaćen: 26. 06. 2013.

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Graduation Thesis

THE ALLELOPATHIC EFFECTS OF LEAF EXTRACTS OF COMMON WALNUT AND SOME INVASIVE PLANT SPECIES ON THE GERMINATION OF WHEAT (*Triticum aestivum* L.) AND WHITE MUSTARD (*Sinapis alba* L.) SEEDS

Maša Pavićević

The term allelopathy refers to positive or negative, direct or indirect effect of one plant on another through the production of chemicals that are emitted into the environment. The initial hypothesis is that invasive plants increase their own success in new environment by exuding (allelo)chemicals which directly or indirectly inhibit the growth of neighbouring plants. To check that hypothesis I made extracts of leaves of boxelder maple, tree of heaven, false indigo-bush, common walnut, japanese knotweed and black locust in three different concentrations. I soaked wheat and white mustard seeds in these extracts for one day after which I transferred those seeds into Petri dishes and wetted them with the same extracts. In most cases the extracts of leaves inhibited the germination and growth of the tested plants and the inhibitory effects increased proportionally with the concentration of extracts. The germination and growth of the tested plants were most inhibited by the extracts of leaves of black locust. In order to get more certain conclusions about the allelopathic effects of an invasive species, it is necessary to conduct the experiment in the conditions most similar to those in nature, using wild plant species as test organisms.

Thesis contains 33 pages, 18 figures, 36 references. Original in: Croatian.

Thesis deposited in the Central biological library

Key words: allelopathy, invasive plant species, allelochemicals, juglone, *Juglans regia* L., *Sinapis alba* L., *Triticum aestivum* L.

Supervisor: Dr. Sven Jelaska, Assoc. Prof.

Reviewers: Dr. Sven Jelaska, Assoc. Prof.

Dr. Ana Galov, Assist. Prof.

Dr. Jasna Hrenović, Assoc. Prof.

Thesis accepted: June 26th, 2013

SADRŽAJ

1. UVOD	1
<i>1.1. Alelopatsko djelovanje biljaka</i>	<i>1</i>
<i>1.2. Invazivna flora</i>	<i>2</i>
<i>1.3. Cilj istraživanja</i>	<i>3</i>
2. MATERIJAL I METODE	4
<i>2.1. Korišten biljni materijal</i>	<i>4</i>
2.1.1. Biljne vrste s ispitivanim alelopatskim djelovanjem	4
2.1.2. Testne biljne vrste	10
<i>2.2. Eksperimentalni dio</i>	<i>11</i>
2.2.1. Priprema ekstrakta listova i sjemenskog materijala	11
2.2.2. Dizajn eksperimenta	13
2.2.3. Kontrolirano klijanje	14
2.2.4. Analiza klijanja i rasta	14
3. REZULTATI	18
<i>3.1. Klijavost bijele gorušice i obične pšenice</i>	<i>18</i>
<i>3.2. Rast klijanaca bijele gorušice</i>	<i>21</i>
4. RASPRAVA	24
5. ZAKLJUČAK	28
6. POPIS LITERATURE	29
7. PRILOZI	33

1. UVOD

1.1. Alelopatsko djelovanje biljaka

Pojam alelopatija porijeklo vuče iz dvije grčke riječi: *allélon* – uzajamno, međusobno i *páthos* – trpljenje, bol. Iako su primjeri alelopatije poznati iz antičkih vremena, pojam je prvi put uveo i definirao austrijski botaničar Hans Molisch 1937. godine kako bi opisao korisna i štetna kemijska međudjelovanja biljaka i mikroorganizama (Siddiqui i sur. 2009). Iako se pod tim terminom najčešće podrazumijeva negativan utjecaj jedne biljke na rast i razvoj druge, definicija je više puta mijenjala značenje i bivala proširena. Danas se alelopatija odnosi na pozitivan ili negativan, izravan ili neizravan učinak jedne biljke, gljive ili mikroorganizma na drugu, stvaranjem kemijskih spojeva (alelokemikalija) koji se ispuštaju u okoliš (Rice 1984). Alelokemikalije se iz biljaka oslobađaju različitim mehanizmima koji uključuju razgradnju biljnih ostataka, ispiranje i hlapljenje iz lišća i stabljike te izlučivanje iz korijena.

Inhibicijski učinak crnog oraha na rast susjednih biljaka jedan je od najstarijih poznatih primjera alelopatije. Uzrokuje ga fenolni spoj juglon izoliran iz mnogih vrsta porodice oraha (uključujući obični orah), čiji se bezbojni, reducirani, neotrovni oblik hidrojuglon obilno nalazi u listovima, ljuskama oraha, deblu i korijenju (Terzi 2008).

U nastojanjima da se odredi alelopatsko djelovanje neke tvari, razvijena je i metoda juglon-indeksa (Szabó 1999), koja se temelji na usporedbi učinka 1mM otopine juglona i tvari nepoznatog alelopatskog potencijala. Juglon-indeks je kvocijent dobiven na temelju mjerenja duljine korijena, izdanka i postotka klijavosti sjemenki bijele gorušice u 1 mM otopini juglona i otopini tvari nepoznatog alelopatskog potencijala. Ako je juglon-indeks, odnosno kvocijent veći od 1, inhibicijski učinak ispitivane tvari jači je od inhibicijskog učinka juglona što znači da tvar ima izraženiji alelopatski potencijal. Ukoliko je kvocijent manji od 1, inhibicijski učinak ispitivane tvari slabiji je od inhibicijskog učinka juglona, odnosno alelopatski potencijal tvari je manji. Ako je pak kvocijent manji od 0,5, uopće se ne može govoriti o alelopatskom potencijalu tvari koju ispitujemo.

Jedan je od glavnih ciljeva alelopatskih istraživanja primjena alelokemikalija kao dodatne mjere borbe protiv korova i biljnih štetočina radi smanjenja uporabe sintetičkih herbicida i pesticida. Alelopatske interakcije također se istražuju radi smanjenja negativnog utjecaja alelokemikalija na rast i prinos usjeva (Šćepanović i sur. 2007).

1.2. Invazivna flora

Ljudi su od najranije povijesti radi poljoprivrednog uzgoja te u hortikulturne i ornamentalne svrhe namjerno u neka područja unosili biljke koje prirodno rastu negdje drugdje. Tijekom vremena ljudska je populacija rasla i razvijala se, a usporedno s tim procesom putem trgovine, putovanja i turizma povećao se namjerno i nenamjerno unos stranih vrsta (Lambdon i sur. 2008). Neke alohtone vrste prošle su proces naturalizacije, odnosno savladale su biotske i abiotske prepreke okoliša te postigle sposobnost normalnog razmnožavanja i uspostavljanja samoodrživih populacija u novom okolišu. Invazivne alohtone biljke podskupina su naturaliziranih biljaka koje su se još bolje prilagodile na uvjete u novom okolišu. Njihovo je osnovno svojstvo stvaranje brojnog reproduktivnog potomstva, često i na priličnoj udaljenosti od roditeljskih biljaka. Svojom agresivnošću i velikim potencijalom širenja ugrožavaju biološku raznolikost na razini ekosustava, staništa i vrsta te imaju negativan utjecaj na ljude (Mitić i sur. 2008). Williamson (1993) smatra da se od mnoštva unesenih vrsta samo 10% uspije održati u novom okolišu i da od njih tek 10% postane invazivnima. Drugi autori (Hayes i Barry 2008) smatraju da je ta stopa još veća.

Invazivne vrste uzrokuju ogromne ekonomske i ekološke štete širom svijeta te su, nakon gubitka staništa, drugi najveći uzrok smanjenja biološke raznolikosti (Genovesi i Shine 2003). To je u posljednje vrijeme rezultiralo značajnim povećanjem interesa svjetske znanstvene zajednice u vezi s navedenim problemom. Zahvaljujući europskom projektu DAISIE (2005-2008) stvorena je velika baza podataka o invazivnim vrstama. Napori znanstvenika usmjereni su ne samo na popisivanje invazivnih vrsta i pronalaženje najučinkovitijih načina njihove kontrole i potiskivanja, već i na rano otkrivanje potencijalno invazivnih vrsta kako bi se u začetku spriječila mogućnost njihovog širenja.

U Hrvatskoj je problem invazivnih biljaka aktualiziran tek nedavno. Najvažniji rezultati nacionalnih projekata o invazivnoj flori Hrvatske obuhvaćaju prijedlog nacionalnih standarda, kriterija i terminologije u tretiranju alohtone flore, a osobito invazivnih biljnih vrsta (Mitić i sur. 2008) te nastanak preliminarnog popisa alohtonih invazivnih biljnih vrsta u Hrvatskoj na kojem se nalaze 64 svojte (Boršić i sur. 2008). Također, razvijen je zasebni modul “Alohtone biljke” unutar baze Flora Croatica (Mitić i sur. 2008). Posljednjih godina provedena su i istraživanja čiji je cilj bolje razumijevanje raširenosti invazivnih biljnih vrsta (Vuković i sur. 2010, Hulina 2010, Miletić 2010, Šćepanović i sur. 2007).

Jedan je od mehanizama kojima se pokušava objasniti uspjeh invazivnih biljaka u novom okolišu tzv. “hipoteza novih oružja”. Ona podrazumijeva da invazivne biljke mijenjaju okoliš i povećavaju svoju kompeticijsku moć izlučivanjem alelokemikalija koje inhibiraju rast susjednih autohtonih biljaka, jer one, za razliku od biljaka autohtonih u područjima iz kojih invazivne biljke potječu, nisu naviknute na te kemijske spojeve (Callaway i Ridenour 2004, Holzmueller i Jose 2009).

1.3. Cilj istraživanja

Glavni je cilj ovoga istraživanja ispitati učinke otopina različitih koncentracija pripremljenih od suhih listova pet invazivnih (*Acer negundo* L., *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle, *Amorpha fruticosa* L., *Reynoutria japonica* Houtt., *Robinia pseudoacacia* L.) i jedne neinvazivne, ali alelopatski djelotvorne biljne vrste (*Juglans regia* L.), na klijanje obične pšenice i bijele gorušice, odnosno na rast klijanaca bijele gorušice. Polazna hipoteza je da invazivne vrste povećavaju vlastitu uspješnost u novom području izlučivanjem (alelo)kemikalija koje izravno ili neizravno inhibiraju rast okolnih biljaka. Očekujem stoga da će klijanje i rast bijele gorušice i obične pšenice biti slabiji nego u kontrolnom tretmanu te da će se smanjivati povećanjem koncentracije otopine.

2. MATERIJAL I METODE

2.1. Korišten biljni materijal

2.1.1. Biljne vrste s ispitivanim alelopatskim djelovanjem

Acer negundo L. (negundovac) listopadno je drvo iz porodice Aceraceae. Potječe iz Sjeverne i Srednje Amerike, a udomaćilo se u Europi, Argentini, Kini, Australiji i Novom Zelandu (Šoštarić 2007a). Naraste od 10 do 25 metara uvis, ima široko razgranatu krošnju i često po nekoliko debala. Stablo je brzorastuće i u pravilu ne doživi duboku starost (oko 75 do 100 godina). Kora debla je svijetlosive do svijetlosmeđe boje. Za razliku od većine ostalih javora koji imaju cjelovite listove, negundovac ima neparno perasto sastavljene listove koji sadrže od 3 do 7 liski cjelovitog ili nepravilno nazubljenog ruba. Vršna liska ponekad ima tri režnja. Biljka je dvodomna, a žutozeleni cvjetovi bez latica pojavljuju se u rano proljeće prije listova. Ženski cvjetovi nalaze se u visećim grozdastim cvatovima, a muški čine gronje. Cvjetove oprašuju pčele. Obilno plodonosi. Plod kalavac nema dlaka, a sastoji se od dvije okriljene samare sparene pod oštrim kutom (Slika 1). U rano ljeto plodovi dosegnu potpunu veličinu, sazriju i otpadaju u jesen, a nekada se zadrže i tijekom zime. Krilca služe za disperziju vjetrom, a neke vrste ptica i vjeverica hrane se sjemenkama. Preferira dobro osunčana područja, ali podnosi i zasjenjenje. Često raste uz obale i na poplavnim ravnicama, odnosno područjima s obilnim zalihama vode. Podnosi snažne vjetrove, ali ne i izlaganje morskom okruženju. Jedan je od najčešće kultiviranih javora. Brzo se širi i lako osvaja kultivirana i nekultivirana područja.

Listove negundovca ubrala sam u Zagrebu na području Kajzerice, početkom listopada 2010. godine.



Slika 1: listovi i plodovi vrste *Acer negundo* L.

Ailanthus altissima (Mill.) Swingle (pajasen) iz porodice Simaroubaceae listopadno je drvo autohtono u Kini, na Tajvanu i u Koreji. Sađeno diljem svijeta u ornamentalne svrhe, brzo se otelo kontroli, naturaliziralo i postalo invazivno te se danas smatra jednom od najagresivnijih invazivnih vrsta. U Europu je uneseno 1751. godine, u Sjedinjene Američke Države 1784. (Heisey 1997), a nalazimo ga na svim kontinentima osim Antarktike. Svi dijelovi biljke neugodno mirišu. Doseže visinu do 25 metara. Jedno je od najbrže rastućih stabala u umjerenoj zoni (Heisey 1997), a živi kratko – pedesetak godina. Kora je glatka, svijetlosiva s uzdužnim bijelim prugama, a starenjem puca. Listovi su izmjenični, neparno perasto sastavljeni i najčešće sadrže od 13 do 25 liski. Svaka je liska cjelovitog ruba, duguljastog kopljastog oblika i zašiljenog vrha, a odozdo pri bazi ima poveću žljezdu. Biljka je dvodomna. Cvjeta u srpnju i kolovozu. Cvjetovi se nalaze u metlicama, a muške biljke ispuštaju neugodan, jak miris tijekom cvjetanja kako bi privukle kukce. Plodovi su okriljene samare sa sjemenkom u sredini, crvenkaste boje kad su mlade. Pojavljuju se u gustom grozdu, sazrijevaju od rujna do studenog, a mogu ostati na biljci do idućeg proljeća ([Slika 2](#)). Rasprostranjuju se anemohorijom i hidrohorijom. Biljka se agresivno širi proizvodnjom ogromnih količina sjemenki te snažnim izbojcima iz korijena, koji se mogu pojaviti i na udaljenosti do 20 metara od matičnog stabla. Proizvodi alelokemikaliju ailanton koja sprečava rast drugih biljaka (Heisey 1997). Iznimno je prilagodljiva, oportunistička vrsta, tolerantna na stres, poremećaje, sušu i gradsko

zagađenje, a najčešće raste na granicama različitih staništa i u predjelima s poremećajima (Motard i sur. 2011). Ne podnosi poplave i duboku sjenu. Korijenom dobro veže tlo pa je pogodna za stabilizaciju strmih terena.

Listove pajasena ubrala sam u Zagrebu na području Kajzerice, početkom listopada 2010. godine.



Slika 2: listovi, plodovi i kora stabla vrste *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle.

Amorpha fruticosa L. (čivitnjača) listopadni je grm bez trnova iz porodice Fabaceae. Može narasti do 5 metara u visinu i 10 metara u širinu. Čivitnjača je u Europu unesena 1724. godine iz Sjeverne Amerike, a sađena je za ukras (DZZP, 2013). Osim u Europi, biljka se udomaćila u Aziji, Africi i Južnoj Americi. Listovi joj nalikuju na listove bagrema. Neparno su perasto sastavljeni, a sadrže od 11 do 25 liski eliptičnog oblika i cjelovitog ruba (Slika 3). Cvjeta u lipnju i srpnju. Cvjetovi su dvospolni, nalaze se u uspravnim vršnim klasovima, a otvaraju se od dna prema vrhu cvata. Svaki cvijet ima jednu laticu (zastavicu) plave do ljubičaste boje i deset prašnika žutonarančaste boje. Plodovi su sitne, oko 1 centimetar duge bradavičaste mahune koje sadrže jednu do dvije sjemenke. Dugo zadržavaju klijavost i raznose se poplavnim vodama. Biljci najviše odgovaraju svijetla i vlažna staništa te raste uz obale rijeka i potoka. Podnosi sušu i jake vjetrove, ali ne i morsko okruženje. Veže atmosferski dušik uz pomoć simbiotskih bakterija. Početkom 20. stoljeća proširila se i udomaćila na području poplavnih nizinskih šuma hrasta lužnjaka u Posavini, Podravini, Pokupju i Podunavlju gdje se smatra najopasnijim korovom. Obilno plodonosi, a obnavlja se i vegetativno izdancima iz korijena. Izuzetna je medonosna

vrsta na koju se skuplja veliki broj pčela, a koristi se i za uređenje krajobraza te stabilizaciju tla i nasipa. Ranije se koristila za dobivanje indigo (čivit) boje i pletenje košara.

Biljni materijal sakupila sam početkom listopada 2010. godine, u zagrebačkom parku Maksimir uz istočnu obalu III. jezera.



Slika 3: listovi vrste *Amorpha fruticosa* L.

Juglans regia L. (obični orah) pripada u porodicu Juglandaceae. Podrijetlom je iz središnje i zapadne Azije te središnje i jugoistočne Europe (Balkana), a kako je prilagođen na umjerenu kontinentalnu klimu, u takvim je predjelima i udomaćen diljem svijeta. Uzgaja se radi kvalitetnih plodova i vrlo cijenjenog drva. Orah je listopadno stablo kratke vegetacijske sezone koje raste relativno sporo. Visoko je do 30 metara i ima vitko deblo koje se ubrzo grana u podjednako snažne debele grane. Krošnja je široka, prozirna i kuglasto zaobljenog oblika. Mlada kora drveta glatka je i siva, a starija crnkastosiva i uzdužno raspucana. Listovi su izmjenično raspoređeni, neparno su perasto sastavljeni i sadrže od 5 do 11 liski. Liske su jajastog ili eliptičnog oblika, na vrhu šiljaste, cjelovitog ruba, zelene boje i karakterističnog mirisa. Postrane se liske nalaze na vrlo kratkim peteljčicama, dok se terminalna nalazi na dužoj. Biljka je jednodomna, a cvjetovi su jednospolni. Mnogobrojni muški cvjetovi (100 do 160) nalaze se u sjedećim visećim resama, a ženski su pojedinačni ili po 2 do 3 u skupini. Cvjeta u svibnju prije nego što se pojave listovi, a oprašivanje se odvija pomoću vjetrova (anemofilija). Plod, okrugla koštunica s jednom hranjivom sjemenkom, sazrijeva u listopadu ([Slika 4](#)). Orah može živjeti i više od 200 godina. Ispod njega

često ne rastu druge biljke, jer opali listovi i ljuske oraha sadrže prirodni herbicid juglon (Cosmulescu i sur. 2011, Terzi 2008). Preferira vlažno tlo, zahtijeva mnogo svjetla i ne podnosi niske temperature.

Listove oraha ubrala sam u Zagrebu na području Kajzerice, početkom listopada 2010. godine.



Slika 4: listovi i mladi plodovi vrste *Juglans regia* L.

Reynoutria japonica Houtt. (japanski pridvornik) višegodišnja je zeljasta biljka iz porodice Polygonaceae s dubokom i opsežnom mrežom podzemnih rizoma. Autohtona je u Japanu, Kini, Koreji i Tajvanu, a unesena je u Europu i Sjevernu Ameriku početkom 19. stoljeća (Maurel i sur. 2010). Također je udomaćena u Južnoj Americi, Australiji i Novom Zelandu. Jednogodišnje stabljike izrazito su člankovite i šuplje, crvene boje kad su mlade, a kasnije modrozeleno. Narastu do 3 metra u visinu i granaju se tvoreći izrazito guste sastojine. Listovi su izmjenični, cjeloviti, ovalno trokutastog oblika, dugi 7 do 14 i široki 5 do 12 centimetara (Slika 5). Cvjetovi su kremasto bijeli, a pojavljuju se u kasno ljeto ili ranu jesen unutar metlica. Iako se rudimenti prašnika nalaze na ženskim, a rudimenti gineceja na muškim cvjetovima, biljka je funkcionalno dvodomna i stvara mnoštvo sjemenki s visokim postotkom klijavosti. Oprašuju je kukci. U svom prirodnom arealu razmnožava se vegetativno i sjemenkama koje se rasprostranjuju u jesen, a klijavaju u proljeće. No, sjemenke su

rijetko klijave pa se razmnožavanje odvija primarno putem opsežnih rizoma (Townsend 1997). Uzgaja se kao ukrasna biljka i opsežno je naturalizirana. Koristi se i u kontroli erozije. To je biljka svjetla koja raste uz obale rijeka i potoka, ali je tolerantna i široko rasprostranjena na staništima s poremećajima (tzv. ruderalna staništa), npr. uz ceste, željezničke pruge, krajeve šuma, odlagališta otpada i pustopoljine. Smatra se jednom od sto najgorih invazivnih vrsta svijeta (Lowe i sur. 2000). Teško ju je ukloniti sječom, jer se intenzivno obnavlja iz rizoma stvarajući monokulture i istiskujući autohtone vrste. Može se donekle kontrolirati višestrukom uporabom herbicida. Važan je izvor nektara pčelama u vrijeme kada cvatnja nije česta pojava.

Listove japanskog pridvornika ubrala sam početkom listopada 2010. godine, na području Kajzerice u Zagrebu.

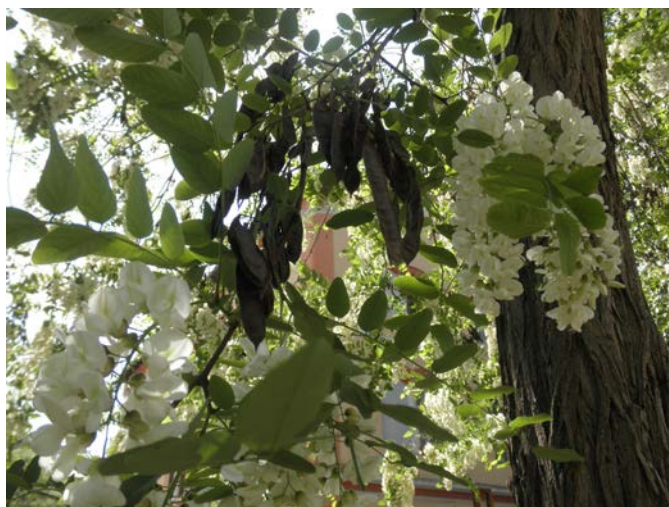


Slika 5: listovi vrste *Reynoutria japonica* Houtt.

Robinia pseudoacacia L. (mirisavi bagrem) listopadno je stablo iz porodice Fabaceae. Bagrem potječe iz Sjeverne Amerike odakle je početkom 17. stoljeća prenesen u Francusku, a odatle se proširio po Europi (Rahmonov 2009, Šošarić 2007b). Udomaćen je na svim kontinentima osim Antarktike. Naraste do 25 m u visinu, a ima dosta rijetku krošnju. Kora mu je glatka i smeđa, kasnije s mrežasto razgranjenim pukotinama. Ima neparno perasto sastavljene listove koji sadrže od 9 do 17 liski eliptičnog oblika i cjelovitog ruba. Palistići su metamorfozirani u 2 trna koji ostaju i odrvene nakon otpadanja listova. Cvjeta od travnja do lipnja. U visećem grozdu nalazi se od 15 do 30 mirisnih bijelih cvjetova. Plod je plosnata smeđa mahuna koja sadrži od 4 do 10 sjemenki (Slika 6). Bagrem se obično sadi za ukras i

stabiliziranje suhog tla, a raste na nizinskim i brežuljkastim područjima u svijetlim šumama. Vrlo je proširen i udomaćen u Hrvatskoj. Zbog simbioze s bakterijama koje fiksiraju dušik može rasti na siromašnim tlima i rano osvajati poremećena područja (Rahmonov 2009). Čest je na rubovima putova, željezničkih pruga te na zapuštenim antropogenim staništima. Jako brzo raste, a koristi se kao medonosna biljka (bagremov med jedan je od najcjenjenijih) te u drvanoj industriji zbog tvrdoće drveta, njegove trajnosti i otpornosti na truljenje. Osim cvjetova, svi su dijelovi biljke otrovni, posebno kora. Pokušaji kontrole trebali bi se temeljiti na uništavanju korijena, jer se vrlo uspješno vegetativno razmnožava tjerajući mladice iz korijena i stvarajući međusobno povezane nakupine drveća. Podnosi atmosfersko zagađenje i sušu, ali ne podnosi zasjenu.

Listove bagrema ubrala sam početkom listopada 2010. godine, u zagrebačkom parku Maksimir, u blizini III. jezera.



Slika 6: listovi, cvatovi, plodovi i kora stabla vrste *Robinia pseudoacacia* L.

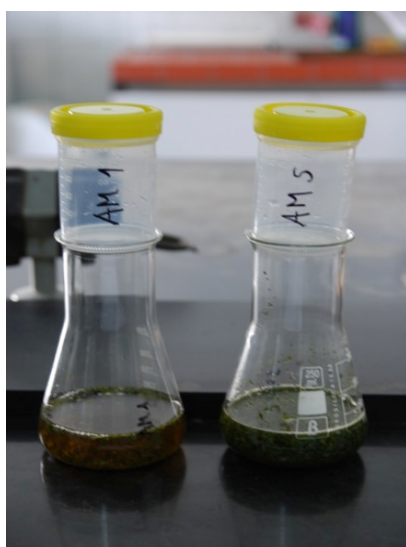
2.1.2. Testne biljne vrste

U pokusima sam koristila sjemenski materijal dvaju testnih biljnih vrsta, obične pšenice (*Triticum aestivum* L.) iz porodice Poaceae (komercijalno dostupna «božićna pšenica») i bijele gorušice (*Sinapis alba* L.) iz porodice Brassicaceae (komercijalno dostupna bijela gorušica).

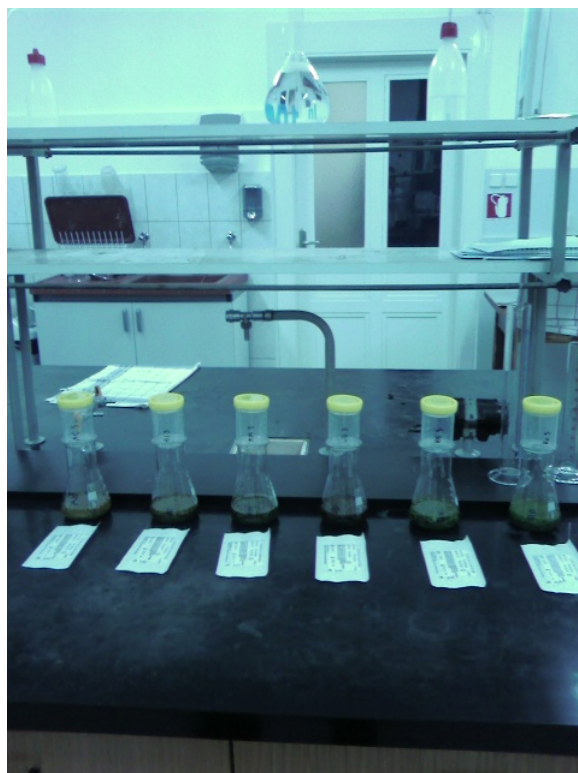
2.2. Eksperimentalni dio

2.2.1. Priprema ekstrakta listova i sjemenskog materijala

Listove biljaka čije sam alelopatsko djelovanje ispitivala sušila sam nakon branja tijekom 48 sati u sušioniku na temperaturi od 70 °C. Osušene listove svake pojedine vrste pohranila sam odvojeno u prozirne najlonske vrećice. Kako bih spriječila ovlaživanje materijala prije početka samog pokusa, u svaku sam vrećicu dodala granule silikagela, a potom sam vrećice čvrsto zatvorila. Dva mjeseca kasnije napravila sam ekstrakte sakupljenih listova u tri različite koncentracije. Najprije sam izvagala potrebnu količinu osušenih listova svake vrste (1, 3 i 5 grama), pri čemu sam uklonila deblje peteljke. Zatim sam izvagane listove stavila u posudu i u nju ulila 100 ml destilirane vode. Listove u posudi usitnila sam električnim štapnim mikserom. Heterogenu smjesu s usitnjenim listovima prelila sam u Erlenmeyerovu tikvicu i ostavila je namakati na sobnoj temperaturi (Slika 7 i 8). Tikvicu sam svakih 10 minuta kratko protresala. Nakon sat vremena sadržaj tikvice profiltrirala sam kroz više slojeva sterilne gaze u plastičnu posudicu s poklopcem. Zasebno sam napravila 1mM otopinu juglona ($C_{10}H_6O_3$), otopivši 0,0174 g komercijalnog juglona (CAS 481-39-0; SIGMA-ALDRICH, H47003-1G) u 100 ml destilirane vode, ručno miješajući kristale staklenim štapićem. Razrijeđivši 1mM otopinu 10 puta, u drugoj sam posudici dobila 0,1 mM otopinu juglona. Sve sam posudice s otopinama čuvala u hladnjaku.



Slika 7: priprema ekstrakta listova u Erlenmeyerovim tikvicama.

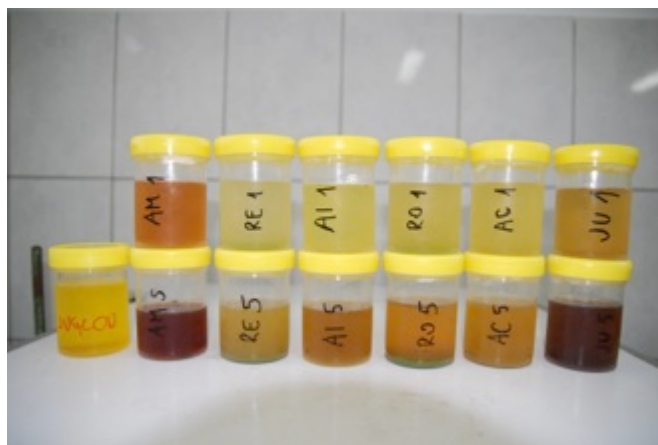


Slika 8: heterogene smjese s usitnjenim listovima u Erlenmeyerovim tikvicama.

Idućeg dana sterilizirala sam sjemenski materijal dvaju testnih biljnih vrsta u 1%-tnoj otopini natrijevog hipoklorita. Nakon 20 minuta sterilizacije dobro sam isprala sjeme destiliranom vodom kako bih uklonila kemikaliju. Zatim sam pincetom prenijela po 60 sjemenki obične pšenice, odnosno bijele gorušice u zasebne plastične posudice u koje sam dodala po 10 ml ekstrakata pripremljenih prethodnog dana. U kontrolnu skupinu dodala sam 10 ml destilirane vode. Sve sam sjemenke ostavila da se 24 sata natapaju u mraku na sobnoj temperaturi. Sutradan sam pincetom prenijela po 20 nabubrenih sjemenki testnih biljnih vrsta iz plastičnih posudica s otopinama u Petrijeve posudice s filter-papirom Whatman No. 1, promjera 9 centimetara. Nakon toga sam u svaku Petrijevu posudicu otpipetirala po 5 ml ekstrakta označenog na posudici, počevši od najniže koncentracije (1 gram) prema najvišoj (5 grama). Potom sam sve Petrijeve posudice prenijela u klimatiziranu komoru.

2.2.2. Dizajn eksperimenta

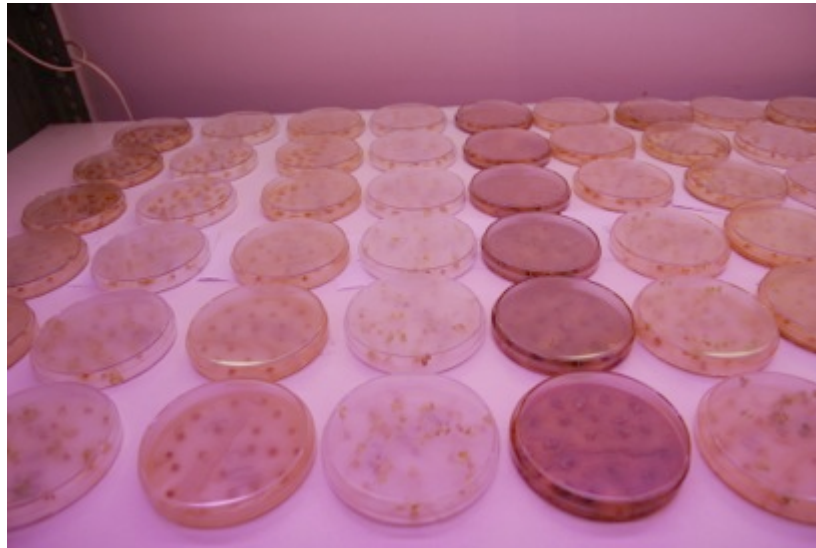
U pokusu sam koristila otopine triju različitih koncentracija ekstrakata pripremljenih od 1, 3 i 5 grama osušenih listova u 100 ml destilirane vode sljedećih biljnih vrsta: *Acer negundo* L., *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle, *Amorpha fruticosa* L., *Juglans regia* L., *Reynoutria japonica* Houtt. i *Robinia pseudoacacia* L. (Slika 9). Kao referentnu tvar poznatog alelopatskog djelovanja koristila sam otopine juglona dvaju različitih koncentracija (1 mM i 0,1 mM), dok sam kao kontrolu koristila destiliranu vodu. Učinak svake otopine i kontrole ispitivala sam *in vitro* u Petrijevim posudicama, i to na sjemenu dvaju testnih biljnih vrsta: obične pšenice (*Triticum aestivum* L.) i bijele gorušice (*Sinapis alba* L.) Nakon jednodnevnog namakanja sjemenki testnih biljnih vrsta u pripremljenim otopinama, odnosno u destiliranoj vodi, sjeme sam ravnomjerno razmjestila u Petrijeve posudice na filter-papir koji sam potom navlažila s 5 ml pripremljenih otopina. Za sve kombinacije otopina i biljaka testiranih na klijanje, u svaku Petrijevu posudicu stavila sam 20 sjemenki u tri ponavljanja (replikacije), što je ukupno iznosilo 60 sjemenki svake testne biljne vrste po tretmanu. Sjeme je ostavljeno na klijanju pet dana u klimatiziranoj komori pri 19 °C bez izlaganja svjetlu.



Slika 9: 1 mM otopina juglona te ekstrakti listova 5 invazivnih biljnih vrsta i običnog oraha koncentracije 1 i 5 g/100 ml destilirane vode u posudicama čuvanim u hladnjaku.

2.2.3. Kontrolirano klijanje

Petrijeve posudice s testnim sjemenkama stavila sam u klimatiziranu komoru. Temperatura u komori bila je stalna - 19 °C. Nakon što sam posložila Petrijeve posudice na dno stalaže (Slika [10](#)), prekrila sam ih aluminijskom folijom kako do njih ne bi dopirala svjetlost. Posudice sam ostavila klijeti u klimatiziranoj komori pet dana.



Slika [10](#): Petrijeve posudice posložene na stalaži u klimatiziranoj komori.

2.2.4. Analiza klijanja i rasta

Pet dana nakon postavljanja Petrijevih posudica u klimatiziranu komoru svaku sam posudicu fotografirala digitalnim fotoaparatom (Slika [11](#) i [12](#)). Sve sam fotografije unijela u računalo i označila ih kraticama.

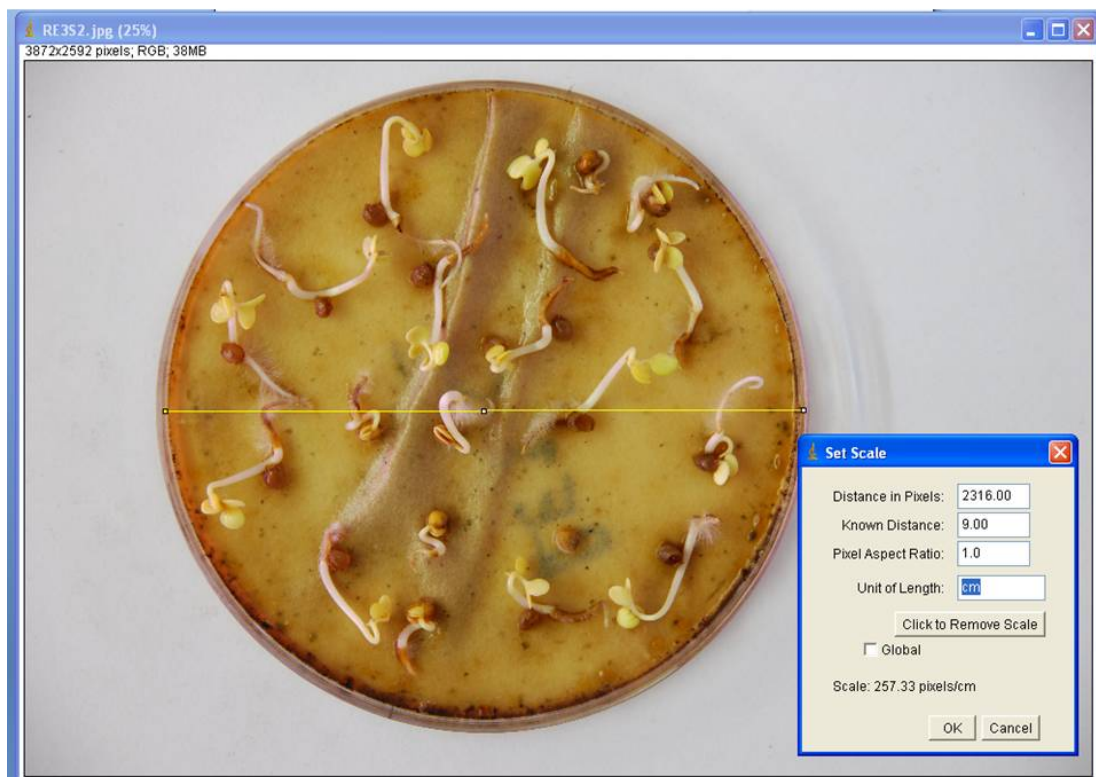


Slika 11: Petrijeva posudica navlažena ekstraktom listova čivitnjače koncentracije 1 g/100 ml destilirane vode i običnom pšenicom kao testnom biljnom vrstom nakon pet dana klijanja u klimatiziranoj komori.

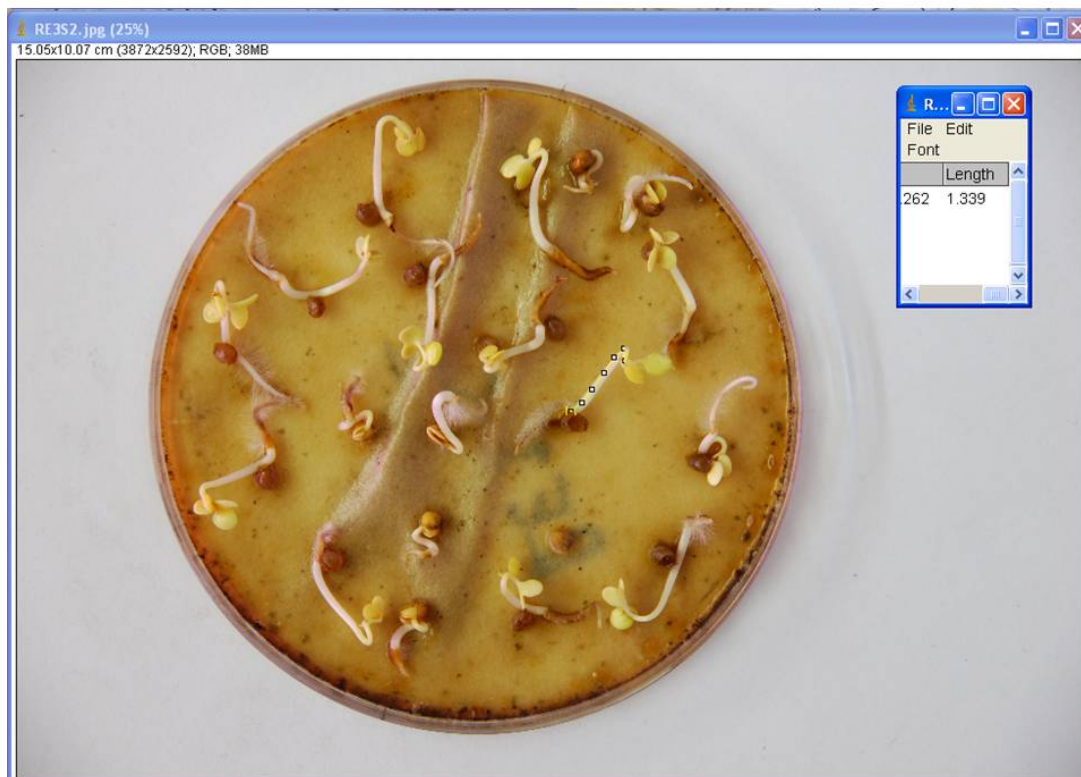


Slika 12: Petrijeva posudica navlažena [ekstraktom listova čivitnjače koncentracije 1 g/100 ml destilirane vode](#) i bijelom gorušicom kao testnom biljnom vrstom nakon pet dana klijanja u klimatiziranoj komori.

Duljine korijena i izdanaka klijanaca bijele gorušice određivala sam računalnim programom ImageJ. U tom programu najprije treba namjestiti mjernu ljestvicu (Slika 13) pomoću referentne duljine (u mom slučaju to je bio promjer Petrijeve posudice). Zatim se u alatima izabere segmentirana linija kojom se ocrtaju konture izdanka (Slika 14), odnosno korijena klijanca. Po završetku ocrtavanja treba pritisnuti “Measure” (“izmjeri”) (ta se naredba nalazi pod poljem “Analyze”). Izmjerene duljine zasebno sam pohranila u računalo.



Slika 13: Namještanje mjerne ljestvice računalnim programom ImageJ. Na slici se vidi Petrijeva posudica navlažena ekstraktom listova japanskog pridvornika koncentracije 3 g/100 ml destilirane vode i bijelom gorušicom kao testnom biljnom vrstom nakon pet dana klijanja u klimatiziranoj komori te referentna duljina – promjer Petrijeve posudice (žuta linija).



Slika 14: Ocrtavanje i mjerenje duljine izdanka klijanca bijele gorušice u Petrijevoj posudici navlaženoj ekstraktom listova japanskog pridvornika koncentracije 3 g/100 ml destilirane vode nakon pet dana klijanja u klimatiziranoj komori.

Dobivene rezultate usporedila sam t-testom zavisnih uzoraka za klijanje te ANOVA-testom za klijanje obične pšenice i bijele gorušice te za rast bijele gorušice.

3. REZULTATI

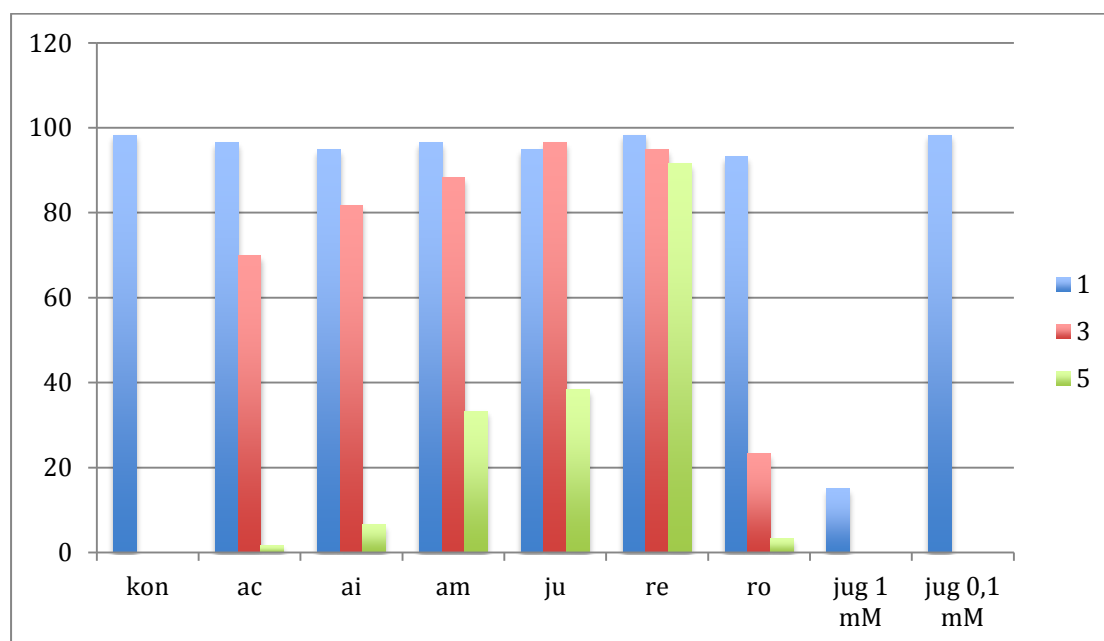
3.1. Klijavost bijele gorušice i obične pšenice

T-test zavisnih uzoraka pokazao je da postoji statistički značajna razlika između klijavosti bijele gorušice i obične pšenice ($t = 3,68889$, $df = 22$, $p = 0,0013$).

Kontrolna skupina klijanaca bijele gorušice srednje klijavosti 98,33% bolje je klijala od kontrolne skupine klijanaca obične pšenice srednje klijavosti 91,67%. Klijavost je kod obje testne biljne vrste u pravilu opadala s porastom koncentracije otopina. Pri koncentraciji 1 i 3 g/100 ml destilirane vode klijavost bijele gorušice bila je mnogo veća od klijavosti obične pšenice kod negundovca, pajasena, čivitnjače, običnog oraha i japanskog pridvornika te kod otopine bagrema koncentracije 1 g/100 ml destilirane vode (kod otopine bagrema koncentracije 3 g/100 ml destilirane vode klijavost bijele gorušice bila je manja od klijavosti obične pšenice). Kod otopina koncentracije 5 g/100 ml destilirane vode klijavost je bila nešto veća kod obične pšenice, nego kod bijele gorušice kod tretmana s negundovcem, pajasenom i čivitnjačom, a manja kod obične pšenice, nego kod bijele gorušice u ostalim tretmanima (obični orah, japanski pridvornik i bagrem).

Što se tiče klijanja bijele gorušice, tretmani pokazuju smanjenje klijavosti s povećanjem koncentracije otopina. Jedina su iznimka klijanci tretirani orahovom otopinom koncentracije 3 g/100 ml destilirane vode koji su imali statistički zanemarivo bolju klijavost od onih tretiranih orahovom otopinom koncentracije 1 g/100 ml destilirane vode. Inače, svi klijanci tretirani otopinama koncentracije 1 g/100 ml destilirane vode pokazali su klijavost sličnu klijancima u kontrolnom tretmanu s preko 90% proklijalih sjemenki. Klijavost je drastično smanjena kod tretmana otopinom bagrema gdje se bilježi statistički značajan pad od 70% između otopine koncentracije 1 g/100 ml destilirane vode i 3 g/100 ml destilirane vode. Veliki su i statistički značajni padovi zabilježeni i između otopina koncentracije 3 g/100 ml destilirane vode i 5 g/100 ml destilirane vode kod pajasena (75%) te između otopina koncentracije 3 g/100 ml destilirane vode i 5 g/100 ml destilirane vode kod negundovca (68,33%). Otopine japanskog pridvornika najslabije su smanjile klijavost sjemenki bijele gorušice: čak i kod otopine koncentracije 5 g/100 ml destilirane vode

klijavost je bila veća od 90% i nije bilo statistički značajne razlike između različitih koncentracija (Slika 15).



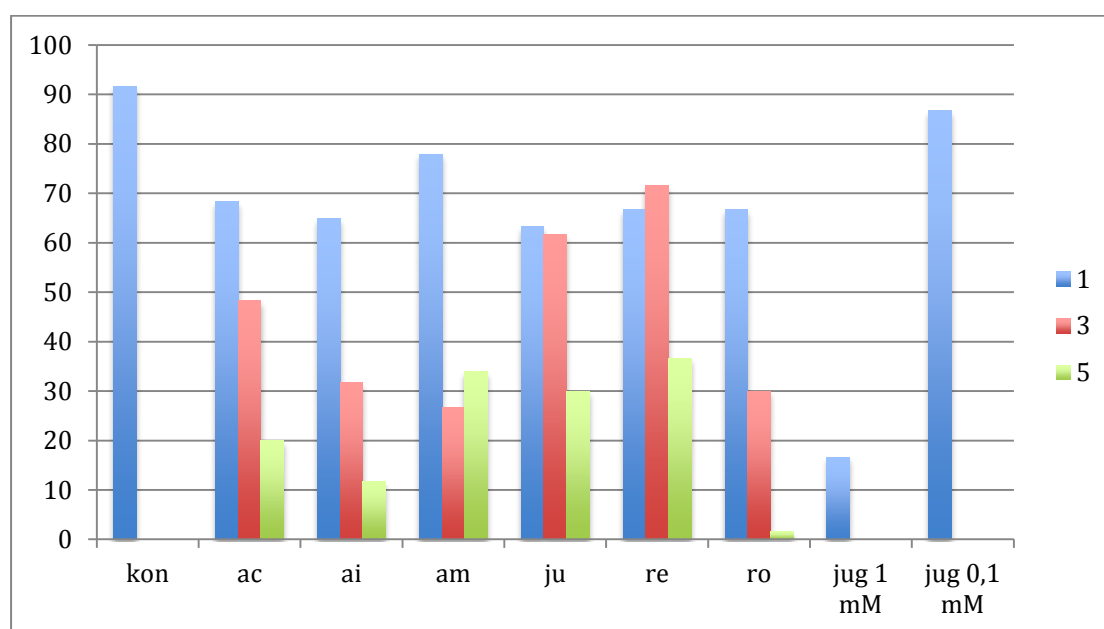
Slika 15: postotak klijavosti testne biljne vrste *Sinapis alba* L. za tri koncentracije ekstrakata listova (1, 3 i 5 g u 100 ml destilirane vode): kon – kontrola, ac – *Acer negundo* L., ai – *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle, am – *Amorpha fruticosa* L., ju – *Juglans regia* L., re – *Reynoutria japonica* Houtt., ro – *Robinia pseudoacacia* L., jug 1 mM – otopina juglona koncentracije 1 mM, jug 0,1 mM – otopina juglona koncentracije 0,1 mM.

Statistički značajne razlike u odnosu na kontrolu pokazali su klijanci tretirani 1 mM otopinama juglona te svi oni tretirani otopinama koncentracije 5 g/100 ml destilirane vode (uz iznimku klijanaca tretiranih otopinom japanskog pridvornika navedene koncentracije koji se nisu statistički razlikovali od kontrole). Osim njih, statistički su značajno manje od kontrole klijali klijanci bijele gorušice tretirani otopinama koncentracije 3 g/100 ml destilirane vode negundovca i bagrema, dok oni tretirani ostalim otopinama koncentracije 3 g/100 ml destilirane vode nisu pokazali statistički značajnu razliku od kontrole. Također, statistički se od kontrole nisu značajno razlikovali klijanci tretirani otopinama koncentracije 1 g/100 ml destilirane vode te oni tretirani 0,1 mM otopinom juglona.

Općenito se može zaključiti da su klijanje sjemenki bijele gorušice najsnažnije inhibirale otopine bagrema. Sljedeće su po jačini inhibicije redom od najsnažnije

prema najslabijoj bile otopine negundovca, pajasena, čivitnjače, običnog oraha te japanskog pridvornika.

Što se tiče klijanja obične pšenice, također vrijedi obrnuto proporcionalan odnos između postotka klijavosti i koncentracije otopina, jer se povećanjem koncentracije otopina klijavost smanjuje. Od ovoga pravila odstupaju tretmani otopinama čivitnjače i japanskog pridvornika: klijanje je bilo statistički zanemarivo bolje kod klijanaca tretiranih otopinom čivitnjače koncentracije 5 g/100 ml destilirane vode od klijanja onih tretiranih otopinom iste vrste koncentracije 3 g/100 ml destilirane vode. Isto vrijedi i za klijanje tretirane otopinom japanskog pridvornika koncentracije 3 g/100 ml destilirane vode koji su klijali statistički beznačajno bolje od onih tretiranih otopinom iste vrste koncentracije 1 g/100 ml destilirane vode (Slika 16).



Slika 16: postotak klijavosti testne biljne vrste *Triticum aestivum* L. za tri koncentracije ekstrakata listova (1, 3 i 5 g u 100 ml destilirane vode): kon – kontrola, ac – *Acer negundo* L., ai – *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle, am – *Amorpha fruticosa* L., ju – *Juglans regia* L., re – *Reynoutria japonica* Houtt., ro – *Robinia pseudoacacia* L., jug 1 mM – otopina juglona koncentracije 1 mM, jug 0,1 mM – otopina juglona koncentracije 0,1 mM.

Statistički značajne razlike u odnosu na kontrolu pokazali su klijanci tretirani 1 mM otopinama juglona te svi oni tretirani otopinama koncentracije 5 g/100 ml destilirane vode. Uz njih, statistički su značajno slabije od kontrole klijaile sjemenke obične pšenice tretirane otopinama koncentracije 3 g/100 ml destilirane vode

negundovca, pajasena, čivitnjače i bagrema. Statistički se od kontrole nije značajno razlikovala klijavost sjemenki obične pšenice tretiranih otopinama koncentracije 1 g/100 ml destilirane vode i 0,1 mM otopinom juglona.

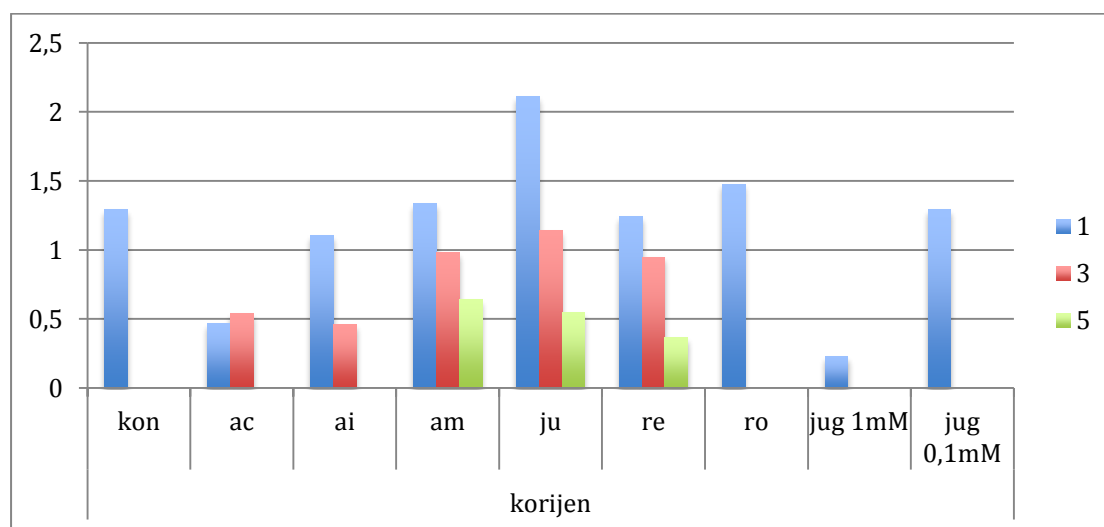
Pri koncentraciji od 3 g/100 ml destilirane vode najsnažnije su klijanje inhibirale redom od najjače k najslabijoj otopine čivitnjače, bagrema, pajasena, negundovca, običnog oraha i japanskog pridvornika. Pri koncentraciji od 5 g/100 ml destilirane vode isto su učinile otopine bagrema, pajasena, negundovca, običnog oraha, čivitnjače i japanskog pridvornika (Slika 16).

3.2. Rast klijanaca bijele gorušice

U kontrolnoj skupini klijanaca bijele gorušice izdanak je narastao više od korijena. Isto sam zabilježila kod klijanaca tretiranih otopinama negundovca, pajasena, japanskog pridvornika, bagrema, običnog oraha koncentracije 3 i 5 g/100 ml destilirane vode te 1 mM i 0,1 mM otopinama juglona. Korijen je narastao više od izdanka kod klijanaca tretiranih otopinama čivitnjače i otopinom običnog oraha koncentracije 1 g/100 ml destilirane vode.

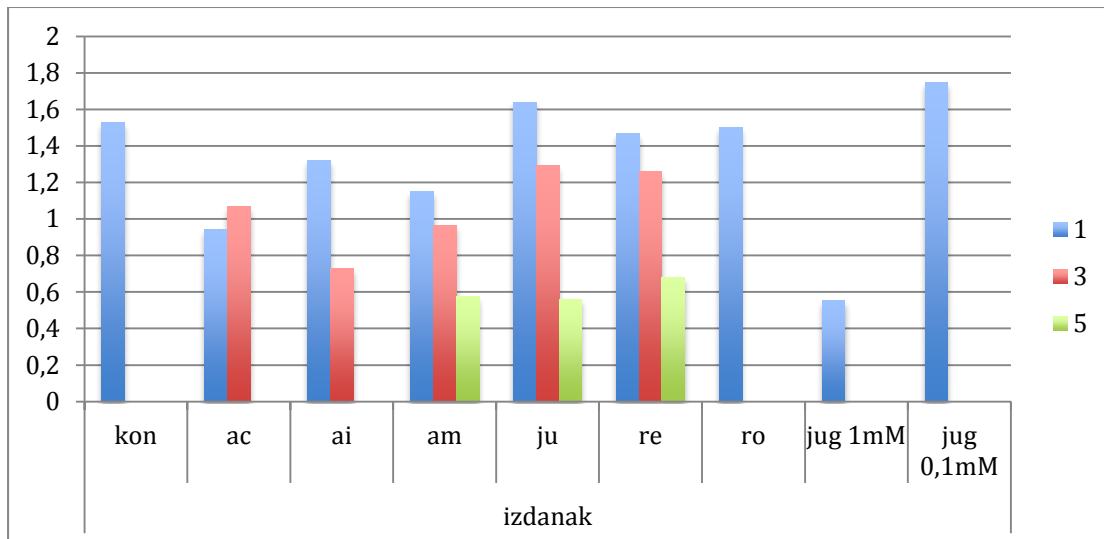
Najmanji rast korijen je postigao pri tretmanu otopinom 1 mM juglona, duljine 0,23 cm što se statistički nije pokazalo značajnim. Tomu je uzrok premali uzorak (samo dva klijanca narasla su toliko da ih je bilo moguće razdijeliti na korijen i izdanak) koji smanjuje vjerodostojnost rezultata usporedbe, odnosno Post-hoc testa. Slijedi korijen tretiran otopinom japanskog pridvornika koncentracije 5 g/100 ml destilirane vode čija je srednja vrijednost duljine bila 0,37 cm. Sljedeći su po veličini korijen tretiran otopinom pajasena koncentracije 3 g/100 ml destilirane vode s vrijednošću od 0,46 cm, zatim onaj tretiran otopinom negundovca koncentracije 1 g/100 ml destilirane vode čija je srednja duljina bila 0,47 cm te korijen tretiran otopinom negundovca koncentracije 3 g/100 ml destilirane vode čija je srednja duljina bila 0,54 cm. Zadnji je u nizu korijen tretiran otopinom običnog oraha koncentracije 5 g/100 ml destilirane vode srednje vrijednosti 0,55 cm. Sve se navedene veličine korijena statistički značajno razlikuju od kontrole čija je srednja vrijednost 1,29 cm. Najvišu vrijednost postigao je korijen tretiran otopinom običnog oraha koncentracije 1 g/100 ml destilirane vode čija se veličina značajno razlikuje od kontrole, ali i od

svih drugih tretmana. Ostale veličine korijena ne razlikuju se statistički značajno od kontrole (Slika 17).



Slika 17: srednje vrijednosti duljine korijena kod testne biljne vrste *Sinapis alba* L. pri tretiranju otopinama juglona i ekstraktima listova koncentracije 1, 3 i 5 g/100 ml destilirane vode (kon – kontrola, ac – *Acer negundo* L., ai – *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle, am – *Amorpha fruticosa* L., ju – *Juglans regia* L., re – *Reynoutria japonica* Houtt., ro – *Robinia pseudoacacia* L., jug 1 mM – otopina juglona koncentracije 1 mM, jug 0,1 mM – otopina juglona koncentracije 0,1 mM).

Kao kod korijena, najmanji rast postigli su izdanci klijanaca tretirani 1 mM otopinom juglona srednje vrijednosti 0,55 cm, koja zbog premalog uzorka nije statistički značajno različita od kontrole. Slijede izdanci klijanaca tretiranih otopinom oraha koncentracije 5 g/100 ml destilirane vode srednje vrijednosti 0,56 cm, otopinom čivitnjače koncentracije 5 g/100 ml destilirane vode srednje vrijednosti 0,58 cm, otopinom japanskog pridvornika koncentracije 5 g/100 ml destilirane vode srednje vrijednosti 0,68 cm, zatim otopinom pajasena koncentracije 3 g/100 ml destilirane vode srednje vrijednosti 0,73 cm, otopinom negundovca koncentracije 1 g/100 ml destilirane vode srednje vrijednosti 0,94 cm, otopinom čivitnjače koncentracije 3 g/100 ml destilirane vode srednje vrijednosti 0,96 cm, otopinom negundovca koncentracije 3 g/100 ml destilirane vode srednje vrijednosti 1,07 cm te otopinom čivitnjače koncentracije 1 g/100 ml destilirane vode srednje vrijednosti 1,15 cm. Sve su navedene veličine izdanka statistički značajno različite od kontrole čija je srednja duljina 1,53 cm (Slika 18).



Slika 18: srednje vrijednosti duljine izdanaka kod testne biljne vrste *Sinapis alba* L. pri tretiranju otopinama juglona i ekstraktima listova koncentracije 1, 3 i 5 g/100 ml destilirane vode (kon – kontrola, ac – *Acer negundo* L., ai – *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle, am – *Amorpha fruticosa* L., ju – *Juglans regia* L., re – *Reynoutria japonica* Houtt., ro – *Robinia pseudoacacia* L., jug 1 mM – otopina juglona koncentracije 1 mM, jug 0,1 mM – otopina juglona koncentracije 0,1 mM).

U gotovo svim tretmanima rast korijena i izdanka smanjuje se od manje prema većoj koncentraciji, osim kod tretmana negundovcem gdje su i korijen, i izdanak narasli nešto više kod otopine koncentracije 3 g/100 ml, nego kod one koncentracije 1 g/100 ml, međutim, taj podatak nije statistički značajan (Slika 17 i 18). Statistički se značajno razlikuju otopine pajasena koncentracije 1 i 3 g/100 ml destilirane vode, otopine čivitnjače koncentracije 1 i 5 g/100 ml destilirane vode, otopine oraha koncentracije 1, 3 i 5 g/100 ml destilirane vode, otopine japanskog pridvornika koncentracije 3 i 5 g/100 ml destilirane vode te otopine iste vrste koncentracije 1 i 5 g/100 ml destilirane vode.

4. RASPRAVA

Dobiveni rezultati govore u prilog polaznoj hipotezi da prisutnost alelokemikalija (koje izravno ili neizravno inhibiraju rast susjednih biljaka) u invazivnim vrstama može povećavati njihovu uspješnost u novom području. Što je bila veća koncentracija ekstrakta listova, to su klijavost i rast testnih biljaka bili manji.

Ispitujući alelopatske učinke invazivnih drvenastih vrsta u Mađarskoj, Csiszár (2009) je izračunala juglon-indekse ispitivanih biljnih vrsta po metodi koju je razvio Szabó (1999). Najveći juglon-indeks u navedenom istraživanju imala je čivitnjača, a slijede je pajasen te crni orah. Bagrem je zauzeo sedmo, a negundovac deveto mjesto među 15 ispitivanih invazivnih drvenastih vrsta u Mađarskoj. Uspoređujući klijanje i rast bijele gorušice s kontrolnim tretmanom u istom istraživanju, čivitnjača je ponovno pokazala najjači inhibicijski učinak, a slijede je pajasen, crni orah, negundovac te bagrem. U ovome su istraživanju klijanje sjemenki bijele gorušice naj snažnije inhibirale otopine bagrema i negundovca, a zatim pajasena, čivitnjače i običnog oraha, što je redoslijed različit od onog u Csiszár (2009). S obzirom na to da količina alelokemikalija u biljnim tkivima može varirati tijekom godine, razlika u rezultatima može biti posljedica prikupljanja biljnog materijala u različitim dijelovima godine: ja sam prikupila biljni materijal u listopadu, a Csiszár u svibnju.

Murrell i sur. (2011) svojim su radom pokazali da utjecaj svojte *Reynoutria x bohemica* na autohtone srednjoeuropske vrste sadrži snažnu alelopatsku komponentu: dodatak aktivnog ugljena (koji apsorbira organske spojeve) u zemlju poboljšao je rast autohtonih vrsta, a taj je učinak bio sličan učinku redovne sječe izdanaka vrste *Reynoutria x bohemica*. Nadalje, ustvrdili su da oštećivanje nadzemnog dijela pridvornika ne uzrokuje povećanu alelopatiju (što nije slučaj s nekim drugim invazivnim biljkama) te stoga drže da je redovna sječa siguran i ekološki nerizičan način da se *Reynoutria x bohemica* drži pod kontrolom, odnosno da se umanju njen ekološki učinak barem u ranim fazama invazije. Vrchotová i Šerá (2008) navode da je klijavost sjemenki bijele gorušice tretirane otopinama dobivenima iz rizoma triju različitih vrsta pridvornika bila malo manja od kontrole (100% klijavosti), ali veća od 90% kod svih navedenih tretmana. Također navode da ekstrakti nadzemnih dijelova pridvornika imaju jači inhibicijski učinak na bijelu gorušicu, nego ekstrakti rizoma te da su vodeni ekstrakti žutih jesenskih i zelenih ljetnih listova japanskog pridvornika smanjili klijavost bijele gorušice za 22%. To odudara od mojih rezultata u kojima je

klijavost bijele gorušice bila veća od 90% pri tretiranju svim koncentracijama ekstrakata listova japanskog pridvornika i time se pokazala sličnija djelovanju ekstrakata rizoma, nego listova japanskog pridvornika iz pokusa koje su izvele Vrchotová i Šerá.

Otopina ekstrakta listova običnog oraha koncentracije 1 g/100 ml destilirane vode stimulirala je rast korijena bijele gorušice koji je narastao značajno više od korijena u kontrolnoj skupini i svim ostalim tretmanima. Ekstrakti listova običnog oraha pokazuju i najveći raspon vrijednosti unutar jedne vrste: korijen bijele gorušice tretirane otopinom običnog oraha koncentracije 1 g/100 ml destilirane vode značajno je veći od kontrole, onaj tretiran otopinom koncentracije 3 g/100 ml destilirane vode nije pokazao značajnu razliku od kontrole, a korijen tretiran otopinom koncentracije 5 g/100 ml destilirane vode značajno je manje narastao od kontrole. Juglon se nalazi u svim zelenim i rastućim dijelovima oraha, no najviše ga ima u zelenoj ljusci ploda, a manje u listovima (Cosmulescu i sur. 2011). Cosmulescu i sur. (2011) također navode da sadržaj juglona opada tijekom vegetacijske sezone. Kako sam ja biljni materijal skupljala u listopadu, vjerojatno je količina juglona u listovima bila vrlo mala pa je izostao inhibicijski učinak. Bez analize kemijskog sastava nije moguće ustvrditi je li juglon u vrlo malim koncentracijama djelovao stimulirajuće na rast korijena klijanaca bijele gorušice ili je za to zaslužan neki drugi spoj prisutan u ekstraktu listova oraha.

U pokusu Pisule i Meinersa (2010) ekstrakt listova pajasena pokazao je najveći alelopatski potencijal među deset ispitivanih invazivnih vrsta i najsnažnije je inhibirao klijanje testne biljne vrste – rotkve. Motard i sur. (2011) proučavali su vegetaciju koja raste ispod stabala pajasena u šumi blizu Pariza i zaključili da je ona siromašnija vrstama od one koja raste ispod autohtonih vrsta. Taj su učinak pripisali interspecifičnoj kompeticiji i alelopatskim svojstvima pajasena. Heisey (1997) na temelju svoga pokusa zaključuje da najviše ailantona sadrži unutarnja kora drveta i korijenja pajasena, srednju količinu sadrže listovi, a najmanju vanjska kora, te da je izlučivanje iz korijena, a ne iz lišća, mehanizam kojim se ailanton oslobađa u okoliš. U sljedećim istraživanjima trebalo bi ispitati i učinke ekstrakata korijena pajasena na klijanje i rast testnih biljaka. Svojim pokusom Heisey (1997) također pokazuje da su toksični učinci ailantona u zemlji kratkog vijeka, vjerojatno zbog mikrobiološke razgradnje te, stoga, dovodi u pitanje alelopatski potencijal pajasena u prirodnim uvjetima.

Neki su autori (Nasir i sur. 2005) dokazali da je izostanak vegetacije ispod bagremovih stabala posljedica alelopatskih aktivnosti tvari koje se ispuštaju u okoliš tijekom razgradnje. Oni su izolirali alelopatske kemikalije (robinetin, miricetin i kvercetin) iz lišća i drugih dijelova biljke te smatraju da alelopatija igra bitnu ulogu kod invazije bagrema na sve veća područja. Tu bi pretpostavku trebalo potkrijepiti pokusima na terenu, s vrstama koje se prirodno pojavljuju uz bagrem. Benesperi i suradnici (2012) pokazali su da su biljne zajednice prirodnih šuma u sjevernim Apeninima raznolikije i bogatije vrstama od zajednica kojima dominira mirisavi bagrem. Ranija su istraživanja također pokazala da su biološka homogenizacija i smanjenje biološke raznolikosti među najštetnijim učincima bioloških invazija (Sax i sur. 2002, Davis 2003).

Soltys i sur. (2012) ispitivali su učinke alelokemikalije cijanamida koju proizvode neke mahunarke (uključujući bagrem) na neke korovne i poljoprivredne vrste. Zaključili su da se cijanamid može koristiti kao prirodni herbicid u specifičnim sustavima u kojima usjeve jednosupnica, koje nisu jako osjetljive na cijanamid (npr. pšenice i kukuruza), prate korovne dvosupnice osjetljive na tu alelokemikaliju.

Zanimljiva je činjenica da su kod kontrole, otopina juglona i otopina svih ispitivanih biljnih vrsta osim čivitnjače, izdanci klijanaca bijele gorušice narasli više od korijena. To upućuje na moguću stimulaciju rasta korijena nauštrb izdanka kod tretmana otopinama čivitnjače. Također, uočena je stimulacija rasta korijena pri tretmanu otopinom običnog oraha koncentracije 1 g/100 ml destilirane vode gdje se veličina korijena statistički značajno razlikovala od kontrole, ali i od svih ostalih tretmana.

Kako se ispitivanje alelopatskih učinaka invazivnih biljnih vrsta najčešće provodi u Petrijevim posudicama u laboratoriju, vjerojatno je učinak otopina jači nego što bi bio u prirodnim uvjetima. Razumljiva je stoga sumnjičavost mnogih znanstvenika u vezi alelopatije kao značajnog faktora biljnih interakcija. Unatoč tome, s relativno velikom vjerojatnošću može se zaključiti da ispitivane invazivne vrste i obični orah u okoliš ispuštaju kemijske tvari koje mogu negativno djelovati na rast okolnih biljaka u slučaju da one nisu razvile toleranciju na dotične tvari. Kakav će biti konačni učinak na okolne biljke u prirodnim uvjetima, ovisit će o djelatnoj koncentraciji tvari ispuštenih u okoliš.

Drugi je metodološki problem što se u tim pokusima kao testni biljni organizmi najčešće koriste poljoprivredne kulture ili alohtone korovne vrste umjesto

autohtonih vrsta koje su u prirodnim uvjetima potisnute invazivnim vrstama (Hiero i Callaway 2003). Iz svega navedenog jasno je da daljnja ispitivanja potencijalnog alelopatskog djelovanja invazivnih vrsta treba znatno proširiti s većim brojem samoniklih biljnih vrsta kao testnim organizmima, i to u različitim medijima.

5. ZAKLJUČAK

U većini slučajeva, ekstrakti listova pokazali su inhibicijsko djelovanje na klijanje i rast testnih biljaka koje se povećavalo s povećanjem koncentracije ekstrakata.

Za razliku od pšenice koja razvija adventivno korijenje, bijela gorušica ima pravi korijen koji je lako mjeriti. Zbog toga se bijela gorušica čini kao bolji testni organizam u ispitivanju alelopatskog djelovanja na rast. Ipak, zbog veće osjetljivosti pšenice, pšenica je možda bolji izbor za testiranje klijavosti pri manjim koncentracijama ekstrakata ispitivanog biljnog materijala.

Ekstrakt bagremovih listova pokazao je najsnažnije inhibitorno djelovanje na klijanje i rast testnih biljaka, što upućuje na njegovo moguće alelopatsko djelovanje koje doprinosi invazivnosti vrste.

U svrhu pouzdanijih zaključaka o alelopatskom djelovanju neke invazivne vrste ispitivanja je potrebno provesti u uvjetima što bližima onima u prirodi, koristeći samonikle biljne vrste kao testne organizme.

6. POPIS LITERATURE

- Benesperi R., Giuliani C., Zanetti S., Gennai M., Mariotti Lippi M., Guidi T., Nascimbene J., Foggi B. (2012): Forest plant diversity is threatened by *Robinia pseudoacacia* (black-locust) invasion. *Biodivers Conserv* 21: 3555-3568.
- Boršić I., Milović M., Dujmović I., Bogdanović S., Cigić P., Rešetnik I., Nikolić T., Mitić B. (2008): Preliminary check-list of invasive alien plant species (IAS) in Croatia. *Nat. Croat.* 17 (2): 55-71.
- Callaway R. M., Ridenour W. M. (2004): Novel weapons: invasive success and the evolution of increased competitive ability. *Frontiers in Ecology and the Environment* 2 (8): 436-443.
- Cosmulescu S., Trandafir I., Achim G., Baciú A. (2011): Juglone Content in Leaf and Green Husk of Five Walnut (*Juglans regia* L.) Cultivars. *Not Bot Hort Agrobot Cluj* 39 (1): 237-240.
- Csiszár Á. (2009): Allelopathic Effects of Invasive Woody Plant Species in Hungary. *Acta Silv. Lign. Hung.* 5: 9-17.
- Davis M. A. (2003): Biotic globalization: does competition from introduced species threaten biodiversity? *Bioscience* 53: 481-489.
- DZZP (2013): Strane invazivne vrste u Hrvatskoj – čivitnjača (*Amorpha fruticosa*). DZZP – Državni zavod za zaštitu prirode, <http://www.dzzp.hr/novosti/bez-podkategorije/strane-invazivne-vrste-u-hrvatskoj-civitnjaca-amorpha-fruticosa-1100.html>; pristupljeno 21. 1. 2013.
- Genovesi P., Shine C. (2003): European strategy on invasive alien species. Council of Europe T-PSV 2003/7.
- Hayes K.R., Barry S. C. (2008): Are there any consistent predictors of invasion success? *Biological Invasions* 10: 483-506.

- Heisey R. M. (1997): Allelopathy and the Secret Life of *Ailanthus altissima*. *Arnoldia*: 28-36.
- Hierro J. L., Callaway R. M. (2003): Allelopathy and exotic plant invasion. *Plant and Soil* 256: 29-39.
- Holzmueller E. J., Jose S. (2009): Invasive plant conundrum: What makes the aliens so successful? *Journal of Tropical Agriculture* 47 (1-2): 18-29.
- Hulina, N. (2010): "Planta Hortifuga" u Flora of the Continental Part of Croatia. *Agriculturae Conspectus Scientificus* 75 (2): 57-65.
- Lambdon P. W., Pyšek P., Basnou C., Arianoutsou M., Essl F., Hejda M., Jarošík V., Pergl J., Winter M., Anastasiu P., Andriopoulos P., Bazos I., Brundu G., Celesti-Grapow L., Chassot P., Delipetrou P., Josefsson M., Kark S., Klotz S., Kokkoris Y., Kühn I., Marchante H., Perglova I., Pino J., Vilà M., Zikos A., Roy D., Hulme P. E. (2008): Alien flora of Europe: species diversity, temporal trends, geographical patterns and research needs. *Preslia* 80: 101-149.
- Lowe S., Browne M., Boudjelas S., De Poorter M. (2000): 100 of the World's Worst Invasive Alien Species. A selection from the Global Invasive Species Database. Invasive Species Specialist Group (ISSG). Auckland, New Zealand.
- Maurel N., Salmon S., Ponge J.-F., Machon N., Moret J., Muratet A. (2010): Does the invasive species *Reynoutria japonica* have an impact on soil and flora in urban wastelands? *Biological Invasions* 12: 1709-1719.
- Miletić M. (2010): Analiza CSR-strategija invazivne flore Hrvatske. Diplomski rad. Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.
- Mitić B., Boršić I., Dujmović I., Bogdanović S., Milović M., Cigić P., Rešetnik I., Nikolić T. (2008): Alien flora of Croatia: proposals for standards in terminology, criteria and related database. *Nat. Croat.* 17 (2): 73-90.

- Motard E., Muratet A., Clair-Maczulajtyś D., Machon N. (2011): Does the invasive species *Ailanthus altissima* threaten floristic diversity of temperate peri-urban forests? *C. R. Biologies* 334: 872-879.
- Murrell C., Gerber E., Krebs C., Parepa M., Schaffner U., Bossdorf O. (2011): Invasive knotweed affects native plants through allelopathy. *American Journal of Botany* 98 (1): 38-43.
- Nasir H., Iqbal Z., Hiradate S., Fujii Y. (2005): Allelopathic potential of *Robinia pseudoacacia* L. *Journal of Chemical Ecology* 31 (9): 2179-2192.
- 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 (1): 81-87.
- Rahmonov O. (2009): The chemical composition of plant litter of black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) and its ecological role in sandy ecosystems. *Acta Ecologica Sinica* 29: 237-243.
- Rice E. L. (1984): *Allelopathy*. Second Edition. Academic Press, Orlando.
- Sax D. F., Gaines S. D., Brown J. H. (2002): Species invasions exceed extinctions on islands worldwide: a comparative study of plants and birds. *Am Nat* 160: 766-783.
- Siddiqui S., Bhardway 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 (2): 81-84.
- Soltys D., Bogatek R., Gniazdowska A. (2012): Phytotoxic effects of cyanamide on seed germination and seedling growth of weed and crop species. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 54 (2): 87-92.

- Szabó L. Gy. (1999): Juglone index – a possibility for expressing allelopathic potential of plant taxa with various life strategies. *Acta Botanica Hungarica* 42 (1-4): 295-305.
- Šćepanović M., Novak N., Barić K., Ostojić Z., Galzina N., Goršić M. (2007): Alelopatski utjecaj korovnih vrsta *Abutilon theophrasti* Med. i *Datura stramonium* L. na početni razvoj kukuruza. *Agronomski glasnik* 6: 459-472.
- Šoštarić R. (2007a): *Acer negundo*. U Nikolić T. ur. (2013): Flora Croatica Database (<http://hirc.botanic.hr/fcd>). Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu; pristupljeno 21. 1. 2013.
- Šoštarić R. (2007b): *Robinia pseudoacacia*. U Nikolić T. ur. (2013): Flora Croatica Database (<http://hirc.botanic.hr/fcd>). Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu; pristupljeno 21. 1. 2013.
- 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 (12): 1870-1874.
- Townsend A. (1997): Japanese knotweed: a reputation lost. *Arnoldia* 57 (3): 13-19.
- Vrchotová N., Šerá B. (2008): Allelopathic properties of knotweed rhizome extracts. *Plant Soil Environ.* 54 (7): 301-303.
- Vuković N., Bernardić A., Nikolić T., Hršak V., Plazibat M., Jelaska S. D. (2010): Analysis and distributional patterns of the invasive flora in a protected mountain area – a case study of Medvednica nature park (Croatia). *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 79 (4): 285-294.
- Williamson, M. (1993): Invaders, weeds, and the risk from genetically manipulated organisms. *Experientia* 49: 219-244.

7. PRILOZI

Tablica 1: Tukey post-hoc test za usporedbu klijavosti [bijeke gorušice i obične pšenice](#).

Tablica 2: Tukey post-hoc test za rast korijena [i izdanaka](#) bijele gorušice.

Tablica 2: Tukey post-hoc test za rast korijena (korijen) i izdanaka (izdanak) bijele gorušice.

KORIJEN	Tretman	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}	{11}	{12}	{13}	{14}	{15}	{16}	{17}
1	KON		0.000	0.000	0.913	0.000	1.000	0.182	0.061	0.000	0.990	0.001	1.000	0.060	0.000	0.952	0.324	1.000
2	AC1	0.000		1.000	0.000	1.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	1.000	0.000	1.000	0.000
3	AC3	0.000	1.000		0.000	1.000	0.000	0.015	1.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.027	0.985	0.000	1.000	0.000
4	AI1	0.913	0.000	0.000		0.000	0.656	0.999	0.580	0.000	1.000	0.091	0.995	0.987	0.000	0.031	0.693	0.928
5	AI3	0.000	1.000	1.000	0.000		0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.001	1.000	0.000	1.000	0.000
6	AM1	1.000	0.000	0.000	0.656	0.000		0.054	0.029	0.000	0.892	0.000	1.000	0.013	0.000	0.997	0.255	1.000
7	AM3	0.182	0.000	0.015	0.999	0.000	0.054		0.956	0.000	0.982	0.521	0.463	1.000	0.000	0.000	0.892	0.202
8	AM5	0.061	1.000	1.000	0.580	1.000	0.029	0.956		0.000	0.420	1.000	0.127	0.979	0.994	0.002	1.000	0.065
9	JU1	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
10	JU3	0.990	0.000	0.000	1.000	0.000	0.892	0.982	0.420	0.000		0.043	1.000	0.892	0.000	0.100	0.616	0.993
11	JU5	0.001	1.000	1.000	0.091	1.000	0.000	0.521	1.000	0.000	0.043		0.005	0.630	1.000	0.000	1.000	0.002
12	RE1	1.000	0.000	0.000	0.995	0.000	1.000	0.463	0.127	0.000	1.000	0.005		0.213	0.000	0.695	0.413	1.000
13	RE3	0.060	0.000	0.027	0.987	0.001	0.013	1.000	0.979	0.000	0.892	0.630	0.213		0.000	0.000	0.919	0.068
14	RE5	0.000	1.000	0.985	0.000	1.000	0.000	0.000	0.994	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000		0.000	1.000	0.000
15	RO1	0.952	0.000	0.000	0.031	0.000	0.997	0.000	0.002	0.000	0.100	0.000	0.695	0.000	0.000		0.102	0.941
16	JUG	0.324	1.000	1.000	0.693	1.000	0.255	0.892	1.000	0.000	0.616	1.000	0.413	0.919	1.000	0.102		0.332
17	0.1 JUG	1.000	0.000	0.000	0.928	0.000	1.000	0.202	0.065	0.000	0.993	0.002	1.000	0.068	0.000	0.941	0.332	
IZDANAK	Tretman	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}	{11}	{12}	{13}	{14}	{15}	{16}	{17}
1	KON		0.000	0.002	0.787	0.000	0.010	0.000	0.000	0.999	0.570	0.000	1.000	0.305	0.000	1.000	0.394	0.659
2	AC1	0.000		0.999	0.008	0.796	0.757	1.000	0.863	0.000	0.023	0.632	0.000	0.090	0.353	0.000	1.000	0.000
3	AC3	0.002	0.999		0.592	0.160	1.000	1.000	0.434	0.000	0.777	0.185	0.016	0.944	0.028	0.007	0.995	0.000
4	AI1	0.787	0.008	0.592		0.000	0.944	0.030	0.005	0.073	1.000	0.000	0.988	1.000	0.000	0.930	0.805	0.001
5	AI3	0.000	0.796	0.160	0.000		0.003	0.709	1.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	1.000	0.000	1.000	0.000
6	AM1	0.010	0.757	1.000	0.944	0.003		0.907	0.129	0.000	0.990	0.027	0.075	1.000	0.000	0.035	0.975	0.000
7	AM3	0.000	1.000	1.000	0.030	0.709	0.907		0.813	0.000	0.071	0.558	0.000	0.210	0.281	0.000	1.000	0.000
8	AM5	0.000	0.863	0.434	0.005	1.000	0.129	0.813		0.000	0.009	1.000	0.000	0.020	1.000	0.000	1.000	0.000
9	JU1	0.999	0.000	0.000	0.073	0.000	0.000	0.000	0.000		0.027	0.000	0.928	0.007	0.000	0.995	0.202	1.000
10	JU3	0.570	0.023	0.777	1.000	0.000	0.990	0.071	0.009	0.027		0.001	0.932	1.000	0.000	0.792	0.848	0.000
11	JU5	0.000	0.632	0.185	0.000	1.000	0.027	0.558	1.000	0.000	0.001		0.000	0.002	1.000	0.000	1.000	0.000
12	RE1	1.000	0.000	0.016	0.988	0.000	0.075	0.000	0.000	0.928	0.932	0.000		0.743	0.000	1.000	0.516	0.202
13	RE3	0.305	0.090	0.944	1.000	0.000	1.000	0.210	0.020	0.007	1.000	0.002	0.743		0.000	0.531	0.896	0.000
14	RE5	0.000	0.353	0.028	0.000	1.000	0.000	0.281	1.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000		0.000	1.000	0.000
15	RO1	1.000	0.000	0.007	0.930	0.000	0.035	0.000	0.000	0.995	0.792	0.000	1.000	0.531	0.000		0.446	0.511
16	JUG	0.394	1.000	0.995	0.805	1.000	0.975	1.000	1.000	0.202	0.848	1.000	0.516	0.896	1.000	0.446		0.091
17	0.1 JUG	0.659	0.000	0.000	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.202	0.000	0.000	0.511	0.091	