

Provjera klijavosti sjemena vrste *Hypericum olympicum* L.

Bakotić, Željka

Master's thesis / Diplomski rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:155473>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-25**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Željka Bakotić

Provjera klijavosti sjemena vrste

Hypericum olympicum L.

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2019.

Ovaj diplomski rad prijavljen je na predmetu Farmaceutska botanika Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko – biokemijskog fakulteta, i izrađen na Zavodu za farmaceutsku botaniku Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko – biokemijskog fakulteta pod stručnim vodstvom pokojne prof. dr. sc. Kroate Hazler Pilepić i prof. dr. sc. Željana Maleša.

Želim zahvaliti svima koji su mi pomogli u izradi diplomskog rada :

Pokojnoj prof. dr. sc. Kroati Hazler Pilepić i prof. dr. sc. Željenu Malešu, mentorima diplomskog rada, na stručnom vođenju, savjetima, dobroj volji i pomoći tijekom izrade ovog rada, te obitelji i prijateljima na podršci i strpljenju koje su imali za mene tijekom školovanja.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. UVOD	2
1.2. GRAĐA SJEMENA	4
1.3. DORMANTNOST SJEMENA	6
1.3.1. Oblici dormantnosti sjemena.....	6
1.3.1.1. Fiziološka dormantnost	7
1.3.1.2. Morfološka dormantnost	7
1.3.1.3. Morfofiziološka dormantnost.....	7
1.3.1.4. Fizikalna dormantnost.....	7
1.3.1.5. Kombinirana dormantnost (fiziološka i fizikalna).....	8
1.3.2. Kontrola dormancije.....	8
1.4. KLIJANJE.....	9
1.4.1. Čimbenici koji utječu na klijavost.....	11
1.4.1.1. Čimbenici okoliša.....	11
1.4.1.2. Ostali čimbenici.....	13
1.5. LABORATORIJSKI UVIJETI ZA PROCJENU KVALITETE SJEMENA.....	14
1.6. GIBERELINSKA KISELINA (GA ₃).....	16
1.7. STRATIFIKACIJA.....	19
1.8. BOTANIČKI PODATCI O VRSTI <i>HYPERICUM OLYMPICUM</i> L.	20
1.8.1. Morfološka obilježja ispitivane biljne vrste	20
1.8.2. Ljekovitost i primjena	22
2. OBRAZLOŽENJE TEME	24
2.1. OBRAZLOŽENJE TEME.....	25
3. MATERIJALI I METODE	26
3.1. BILJNI MATERIJAL	27
3.2. PROVJERA KLIJAVOSTI.....	27
3.3. MATEMATIČKA OBRADA PODATAKA	30

4. REZULTATI I RASPRAVA.....	31
4.1. PRIKAZ REZULTATA TESTA KLIJAVOSTI	32
4.2. REZULTATI TESTA KLIJAVOSTI SJEMENA VRSTE <i>H. OLYMPICUM</i> L. SABRANIH TIJEKOM 2008. GODINE	36
4.3. REZULTATI TESTA KLIJAVOSTI SJEMEA VRSTE <i>HYPERICUM OLYMPICUM</i> L. SABRANIH TIJEKOM 2009. GODINE.....	40
4.4. USPOREDBE KLIJAVOSTI SJEMENKI VRSTE <i>H. OLYMPICUM</i> L. SABRANIH TIJEKOM 2008. I 2009. GODINE	42
5. ZAKLJUČAK.....	46
5.1. ZAKLJUČAK.....	47
6. LITERATURA	48
6.1. LITERATURA.....	49
7. SAŽETAK / SUMMARY	51
7.1. SAŽETAK	52
7.2. SUMMARY	53
8. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA / BASIC DOCUMENTATION CARD	

1. UVOD

1.1. UVOD

Osnovna namjena botaničkih vrtova u proteklih pet stoljeća njihova postojanja u Europi mijenjala se i prilagođavala potrebama društva i vremena u kojem su djelovali. Najstariji europski botanički vrt osnovan je 1543. godine u Pisi u Italiji radi uzgoja ljekovitog bilja za potrebe studija medicine. I ostali vrtovi osnovani kasnije, u 16. i 17. stoljeću, uzgajali su uglavnom ljekovito bilje. U 18. i 19. stoljeću počelo se i s uzgojem biljaka koje nisu ljekovite, a najvažnija djelatnost tadašnjih botaničkih vrtova bila je istraživanje srodstvenih odnosa među biljkama i imenovanje svake biljne vrste stručnim latinskim nazivom. Prema definiciji međunarodne organizacije za očuvanje biljnog pokrova Zemlje *Botanic Gardens Conservation International*, botanički vrtovi su institucije koje u svojem vlasništvu posjeduju dokumentirane zbirke živih biljaka u svrhu provedbe znanstvenih istraživanja, konzervacije, javnog prikazivanja i edukacije. Istražujući biljni svijet i njegove međudnose, botanički vrtovi pokušavaju zaštititi i održati bioraznolikost za dobrobit čovječanstva i planeta Zemlje. Iz istog razloga mnogi botanički vrtovi posjeduju herbarijske zbirke, tj. zbirke osušenog biljnog materijala kao i velike zbirke sjemenja autohtonih i egzotičnih biljnih vrsta (www.bgci.org).

Budući da spori proces propadanja sjemena započinje njegovim skupljanjem sa biljke, potrebno je spremati sjeme što prije. Sjeme za pohranu mora biti adekvatno spremljeno u prostor sa kontroliranim uvjetima koji će osigurati vijabilnost sjemena za duže vrijeme. Sjemenke vrlo brzo gube svoju vijabilnost na sobnoj temperaturi i relativnoj vlažnosti, dok će sjeme pohranjeno u kontroliranim uvjetima (niska temperatura i niska vlažnost) zadržati svoju vijabilnost na duže vrijeme (Ellis i sur., 1980, 1983).

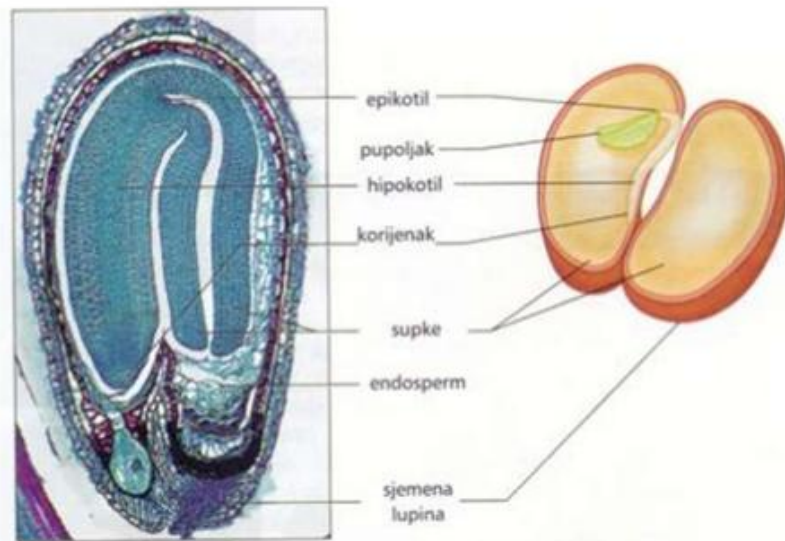
Vijabilnost sjemena je mjera koja određuje koliko sjemena je zdravo i može se razviti u biljke koje će se reproducirati s obzirom na odgovarajuće uvjete.

Važno je da sjeme spremljeno u bankama sjemena bude valjano za proizvodnju biljaka. Takvo sjeme mora imati visoku vijabilnost na početku i tijekom skladištenja. Vijabilnost se određuje na početku skladištenja i u redovitim razmacima tijekom skladištenja. Test vijabilnosti traje od nekoliko dana do tjedana ili čak mjeseci te daje točne rezultate. Po mogućnosti bi rezultati trebali biti dostupni prije spremanja sjemena u banku kako bi se uklonilo sjeme loše kvalitete. Ako se pak rezultati ne mogu procijeniti prije skladištenja, sjeme je potrebno staviti u dugotrajnu pohranu kako bi se osigurala njegova sigurnost dok se čekaju rezultati testa vijabilnosti. Najprecizniji test vijabilnosti je test klijanja koji će biti

ovdje opisan. Test klijanja je napravljen u kontroliranim uvjetima kako bi vidjeli kako će proklijati sjeme i razviti se biljka koja bi se mogla razviti u normalnu reproduktivnu zrelu biljku. Međunarodno udruženje za biljne genetske resurse (*International Board for Plant Genetic Resources*) preporučuje da se za početno ispitivanje klijavosti naprave najmanje dva ponavljanja koristeći 200 sjemenki (100 zrna po pokusu), pod uvjetom da je klijavost iznad 90%. Ako nije trebalo bi uzeti još 200 sjemenki, a kao ukupni rezultat za vijabilnost sjemena uzeti rezultate od oba testa. Ostali biokemijski testovi za testiranje vijabilnosti su brži, ali nisu točni i zahtijevaju više vještine i prakse u njihovoj primjeni i tumačenju, pa ih Međunarodno udruženje za biljne genetske resurse ne preporučuje (ISTA, 1976).

1.2. GRADA SJEMENKE

Sjemenka je dio biljke koji služi za razmnožavanje biljke generativnim putem i njeno daljnje rasprostiranje. Razvija se iz sjemenog zametka nakon oplodnje. (Slika 1.) .



Slika 1. Razvoj sjemenke kod dvosupnica

(preuzeto iz www.slideshare.net)

Nakon oplodnje najčešće se listovi ocvjeća, prašnici i vrat s njuškom tučka sasuše i otpadnu. Na cvjetnoj stapci ostaje samo plodnica sa sjemenim zamecima. Iz plodnice se počinje razvijati usplođe ploda, a iz sjemenih zametaka sjemenka.

Sjemenka kritosjemenjača se sastoji od:

- sekundarnog endosperma
- klice ili embrija
- sjemene lupine.

Sekundarni endosperm nastaje diobama oplodene sekundarne jezgre čije je triploidno tijelo, staničje bogato pričuvnim tvarima.

Uloga sekundarnog endosperma je prehrana embrija i mlade biljke dok se ne razviju pravi listovi.

Klica ili embrij razvija se iz oplodene oosfere, a smještena je u endospermu. Ako nema endosperma, embrij ispunjava čitavu unutrašnjost sjemenke i početni razvoj biljčice.

Sjemena lupina se razvija iz dijela integumenta ili dijela nucela, a uloga joj je zaštita sjemenke, odnosno klice, a veliko značenje ima i pri rasprostranjivanju.

Izgrađena je od nekoliko slojeva stanica koji s vanjske i unutarnje strane imaju kutikulu, a razlikuju se po debljini, čvrstoći, boji i vanjskom izgledu (Štefanić, 2013).

Embrij se sastoji od:

- **hipokotila** (stručak) koji se nalazi između ishodišta kotiledona i korijenčića. Iz njega i plumule nastaje biljčica koja nosi kotiledone i prave listove ili samo prve listove;
- **radikula** (sjemenski korjenčić) je smješten na vršnom, ušiljenom dijelu hipokotila;
- **endosperma** koji se nalazi unutar sjemene ljuske. Služi kotiledonima kao rezervoar hrane (ulje, škrob, bjelančevine, mineralne tvari), koja daje energiju potrebnu za klijanje embrija i početni razvoj biljčice;
- **sjemene ljuske** koja se razvija iz integumenta. Osnovna zadaća je da štiti sjeme od nepovoljnih vanjskih utjecaja te da regulira komuniciranje sjemena sa okolinom;
- **kotiledona** (sjemenski listovi, supke) koji služe da iz endosperma crpe hranu za razvoj embrija dok se ne stvore pravi listovi, a ako nema endosperma, kotiledoni služe i sami kao izvor hrane;
- **plumule** (sjemenski pup, vegetacijski vršak) - razvija se između stapki kotiledona. Plumula predstavlja ishodište za produženje stabljike. Ona stvara i prve prave listove, tzv. primarne listove (www.wikipedia.org).

1.3. DORMANTNOST SJEMENA

Razvitak sjemena može se podijeliti u dvije faze, s tim da prvu fazu karakteriziraju stanične diobe, te razvoj embrija i tkiva, a druga faza počinje prestankom staničnih dioba i završava dehidratacijom i prekidom razvoja. Kao posljedica dehidratacije prekida se metabolizam i sjemenke ulaze u stanje mirovanja.

Može se reći da je dormantnost prirodna osobina sjemena koja omogućuje mnogim biljnim vrstama mirovanje sve dok se ne steknu povoljni uvjeti za klijanje sjemena. Dormantno sjeme neće proklijati niti u uvjetima koji osiguravaju normalno klijanje sve dok se ne ostvari prekid mirovanja (Pevalek-Kozlina, 2003).

Uzroci dormantnosti mogu biti vrlo različiti, a postoje dvije vrste dormantnosti: primarna i sekundarna. Netom ubrano sjeme se odlikuje primarnom dormantnošću, a sekundarna dormantnost se može pojaviti zbog nepovoljnog djelovanja nekog vanjskog čimbenika (Čmelik i sur., 2007).

Sjemenke mnogih biljnih vrsta neće proklijati odmah nakon dozrijevanja, čak i kad su uvjeti za klijanje povoljni. Suho dormantno sjeme obično sadrži više koncentracije apscizinske kiseline (ABA) nego nedormantno sjeme. Sjeme će proklijati kada se apscizinska kiselina (ABA) savlada inaktivacijom, ukloni ili uslijed povećane aktivnosti giberlina.

Sadržaj apscizinske kiseline je u sjemenkama tijekom ranih stadija embriogeneze vrlo nizak, nakon toga se povećava, a kako sjemenka dostiže zrelost, opet se postupno smanjuje. Jedna od glavnih uloga apscizinske kiseline u sjemenkama je poticanje sinteze proteina uključenih u toleranciju isušivanja. Tijekom srednjih i kasnih stadija sjemenki, u embrijima se uz visoke razine apscizinske kiseline nakupljaju specifične mRNA koje kodiraju proteine uključene u toleranciju isušivanja (Pevalek-Kozlina, 2003).

1.3.1. Oblici dormantnosti sjemena

Značajne korake u sistematiziranju problematike dormantnosti sjemena učinila je Nikolaeva (1967), podjelom na endogenu (fiziološka, morfološka i morfofiziološka dormantnost) i egzogenu (fizikalna, kemijska i mehanička dormantnost). Kasnije su tu podjelu proširili Baskin i Baskin (2004) podjelom dormantnosti sjemena u pet razreda: fiziološka, morfološka, morfofiziološka, fizikalna i kombinirana dormantnost (fiziološka i fizikalna), te daljom podjelom razreda na razine i tipove (Čmelik i sur., 2007).

1.3.1.1. Fiziološka dormantnost

Fiziološka dormantnost sjemena je najzastupljeniji oblik, kojeg Baskin i Baskin (2004) dijele na tri razine: dugotrajna, prijelazna i kratkotrajna dormantnost. Dugotrajnu fiziološku dormantnost odlikuje nemogućnost klijanja ili razvoj abnormalnih klijanaca (nanizam) ukoliko sjeme nije bilo izloženo određeno vrijeme hladnoj (tip a) ili toploj (tip b) stratifikaciji. Dugotrajnu fiziološku dormantnost nije moguće prekinuti egzogenim tretmanom s giberelinskom kiselinom. Sjeme većine voćnih vrsta odlikuje se dugotrajnom fiziološkom dormantnošću. Nasuprot dugotrajnoj, kratkotrajna dormantnost može se prekinuti tretmanom s giberelinima, hladnom ili toplom stratifikacijom, te skarifikacijom (oštećivanje sjemene ovojnice i/ili endokarpa).

1.3.1.2. Morfološka dormantnost

Morfološka dormantnost nalazi se u sjemena čiji je embrij nedostatno razvijen, ali normalno diferenciran. Takav embrij nije fiziološki dormantan već zahtijeva određeno vrijeme za rast i klijanje.

1.3.1.3. Morfofiziološka dormantnost

Morfofiziološka dormantnost također se javlja u sjemena čiji embrij nije dostatno razvijen, ali koje pored toga sadrži i fiziološke komponente dormancije (Baskin i Baskin, 2004). Sjeme s tim oblikom dormantnosti zahtijeva tretmane za prekid mirovanja, kao npr. stratifikaciju (hladnu ili toplu u definiranom razdoblju) ili se mirovanje može prekinuti tretmanom s giberelinskom kiselinom.

1.3.1.4. Fizikalna dormantnost

Fizikalna dormantnost je posljedica sjemene ljuske koja je slabo propusna za plinove i vodu, pa sjemenka može proklijati tek nakon omekšavanja ili propadanja sjemene ljuske. Ovaj oblik dormantnosti prekida mehaničko ili kemijsko oštećivanje sjemene ljuske (skarifikacija).

1.3.1.5. Kombinirana dormantnost (fiziološka i fizikalna)

Kombinirana dormantnost javlja se u sjemena, koje pored fiziološki dormantnogembrija, ima i ovojnicu slabo propusnu za vodu i plinove (Čmelik i sur., 2007).

1.3.2. Kontrola dormancije

U većini slučajeva odnos razina apscizinske kiseline i giberelina određuje da li će sjeme ostati dormantno ili će proklijati. Stanje dormancije karakterizirano je povećanom biosintezom apscizinske kiseline (ABA), te smanjenjem sadržaja giberelinske kiseline (GA).

Tijekom klijanja opažen je porast sadržaja citokinina i giberelina, što je dokaz da hormonska ravnoteža kontrolira prijelaz iz stanja dormancije u stanje klijanja (Pevalek-Kozlina, 2003).

Održavanje dormantnosti sjemena uvjetovano je visokim omjerom ABA:GA, a nasuprot tome prekid dormancije je uvjetovan niskim omjerom ABA:GA. Iz toga se zaključuje da je apscizinska kiselina primarni biljni hormon uključen u proces iniciranja, održavanja i prekida dormancije (Čmelik i sur., 2007). Ona inhibira sintezu hidrolitičkih enzima, nužnih za razgradnju pričuvnih tvari u sjemenkama. npr. transkripciju mRNA za α -amilazu (Pevalek-Kozlina, 2003).

Smatra se da je blokiranje mobilizacije pričuvnih tvari jedan od mehanizama kontrole dormancije sjemena (Čmelik i sur., 2007).

1.4. KLIJANJE

Klijanje (germinacija) sjemena je aktivni rast embrija koji započinje ulaskom vode u sjeme (imbibicija), a završava pucanjem sjemene ovojnice. Voda i enzimi unutar sjemena uvjetuju hidrolizu složenih organskih spojeva na jednostavne, koje apsorbira embrij. Potom započinju mitotske diobe u skupu apikalnih meristema vegetacijom vrška korijena i pupoljka. Pucanjem sjemene ovojnice izlazi korijenak i započinje s upijanjem vode i mineralnih tvari, te se diferencira u glavni korijen. Na površini sjemena se pojavljuju gornji dio plumule koji podiže supke i pupoljak iznad površine tla, te započinje rast i diferencijacija pupoljka u izdanak.

Sjeme nekih vrsta sposobno je za klijanje ubrzo nakon fertilizacije, dok neka mogu biti dormantna i zahtijevati razdoblje mirovanja prije nego nastupi klijanje. Tijekom tog razdoblja mirovanja sjeme je u relativno inaktivnom stanju i ima vrlo nisku metaboličku razinu. Mirovanje embrija završava klijanjem. Klijanje je proces u kojem se transformira embrio sjemena u samostalnu reproducibilnu biljku. Da bi došlo do klijanja, sjeme mora biti vijabilno, opskrbljeno odgovarajućom temperaturom, vodom i kisikom, a u nekim slučajevima je nužno prisustvo ili odsustvo svjetla.

Bez obzira na duljinu vremena između zrelosti i nastavka rasta, klijanje sjemena karakterizira nekoliko općih procesa.

Razvoj suhog sjemena u novu biljku uključuje četiri grupe procesa: imbibiciju vode, formiranje enzimskih sustava, inicijaciju rasta (pucanje sjemene ovojnice i izlazak korjenka), te rast i razvoj klijanca.

Imbibicija - apsorpcija i ulaz vode u sjeme

Sjeme je hidrofilno i voda koja se apsorbira kroz sjemenu ovojnicu difundira u sva tkiva sjemena. Voda omekšava sjemenu ovojnicu čineći je propusnijom za respiratorne plinove i cijelo sjeme bubri kako stanice postaju turgidne. Tijekom prvih sati imbibicije dolazi do brzog povećanja mase od 5%-20% do 70%-75%. To početno razdoblje povećanja mase je razdoblje hidracije. Imbibicija je potpuno mehanički proces tijekom kojeg dolazi do apsorpcije vode u sjeme, a pojavljuje se i kod vijabilnog i kod dormantnog sjemena.

Formiranje enzimskih sustava

Nakon imbibicije slijedi period platoa ili Lag faze u kojoj dolazi do vrlo male promjene u masi. Tijekom tog perioda stanice embrija formiraju vakuole. Razvija se metabolički sustav potreban za rast i enzimske komponente sustava. Dolazi do generalne mobilizacije rezervi hrane u sjemenu (ugljikohidrata, masti/ulja i proteina) koje su netopljive. Netopljivost pohranjenih spojeva sprječava njihov gubitak tijekom imbibicije, iako se prije upotrebe moraju prevesti u topljive pomoću enzima. Ti se enzimi sintetiziraju ili aktiviraju tijekom Lag faze. Ovaj proces se događa samo kod vijabilnog sjemena. Završetak Lag faze počinje pucanjem sjemene ovojnice i izlaženjem embrija.

Inicijacija rasta

Rani rast embrija zbog ulaska vode uzrokuje stanično istezanje i širenje. Javlja se korjenčić ponekad i u mrtvom sjemenu. Kasniji rast vijabilnog sjemena je posljedica stanične diobe i sinteze novih tvari. U pravilu korijen izbija prije pucanja sjemena omogućujući mu da uspostaviti vezu sa vlažnim tlom, iako kod nekih vrsta prvo dolazi do pucanja sjemena. Rast mlade biljke je moguć zbog rezervi hrane koja se skladišti u tkivima i postupno se smanjuje kako se rezerve crpe. Mlade biljke su u stanju sintetizirati vlastitu hranu prije nego je pričuvna hrana iz tkiva iscrpljena.

Rast i razvoj biljke

Od nastanka korjenčića do nicanja biljke iz tla, biljka raste i razvija se ispod zemlje. U nedostupnosti svjetla rast je proces pojačanog istezanja stabljike kako bi se olakšalo probijanje kroz tlo (ISTA, 2009).

1.4.1. Čimbenici koji utječu na klijavost

Različiti čimbenici mogu utjecati na proces klijanja, kako vanjski tako i unutarnji, i time utjecati na konačni ishod. Vanjski čimbenici uključuju one koji djeluju na okolinu klijanja, a unutarnji čimbenici su oni koji se odnose na povijest pojedinog sjemena.

1.4.1.1. Čimbenici okoliša

Kako bi došlo do klijanja sjeme mora biti na određenoj temperaturi, opskrbljeno vodom i kisikom. Kod nekih sjemena nužna je prisutnost ili odsutnost svjetla.

Voda

Voda je nužna za nicanje. Zrelo sjeme je poprilično suho i treba velike količine vode, ovisno o masi sjemena da bi došlo do staničnog metabolizma i rasta (ISTA, 2009). Potrebna količina vode ovisi od veličine sjemena i o njegovom kemijskom sastavu - na primjer sjeme koje posjeduje veći sadržaj bjelančevina upija više vode od sjemena koje sadrži veću količinu škroba (Jovičić i sur.,2011).

Apsorpcijom vode dolazi do aktiviranja hidrolitičkih enzima, razgrađuju se rezervne materije u sjemenu koje omogućavaju početni rast i razvoj embrija. U ovoj fazi povećava se intenzitet disanja, zapaža se prvo dioba stanica, sinteza proteina i nukleinskih kiselina (Jovičić i sur.,2011).

Temperatura

Temperatura utječe na stanični metabolizam i brzinu rasta. Djeluje na brzinu apsorpcije vode, na brzinu difuzije respiratornih plinova i metaboličkih reakcija u sjemenu (ISTA, 2009).

Za proces klijanja određenog sjemena važna su tri osnovna temperaturna praga: temperaturni minimum (ispod kojeg se proces klijanja prekida), temperaturni optimum (kada ovaj proces teče najpovoljnije) i temperaturni maksimum kod kojeg se ovaj proces također prekida (Jovičić i sur., 2011).

Sjeme različitih vrsta, pa čak i sjeme iz iste biljke proklijevaju u različitim temperaturnim rasponima. Sjemenke obično imaju temperaturno područje unutar kojeg će

proklijati. Većina sjemenki će proklijati na temperaturama malo iznad sobne temperature (16-24 °C). Na niskim temperaturama klijavost je slaba, dok kod visokih temperatura može doći do denaturacije i redukcije enzima. Neke sjemenke zahtijevaju prvotno izlaganje niskim temperaturama (stratifikacija) da se prekine mirovanje. Sjeme u mirovanju neće proklijati čak i ako su uvjeti povoljni (ISTA, 2009).

Zbog toga se u laboratorijima za ispitavanje kvalitete sjemena za prekidanje dormantnosti koriste tretmani prethodnog grijanja i prethodnog hlađenja (Jovičić i sur., 2011).

Svjetlo ili mrak

Svjetlo ili mrak mogu biti okolišni okidač za klijanje i vrstu fiziološkog mirovanja (ISTA, 2009).

Svjetlost nije ograničavajući faktor neophodan za klijanje, ali kod nekih biljnih vrsta povoljno utječe na klijanje. Djelovanje svjetlosti na klijanje sjemena naziva se fotoblastičnost, a u zavisnosti u kojoj mjeri svjetlost utječe na klijanje biljne vrste mogu se svrstati u tri grupe: vrste kod kojih svjetlost stimulira klijanje, vrste kod kojih svjetlost inhibira klijanje i biljne vrste koje su indiferentne za prisustvo svjetlosti (Jovičić i sur., 2011).

Vrlo malo sjeme ima samo minimalne količine pohranjene za rani rast zametka, te je za njih vrlo važno da što prije same proizvode hranu. Ako proklije duboko u tlu može doći do iscrpljenja zaliha hrane prije nego što biljka nikne iz tla. Svjetlo sprječava da se to dogodi i omogućava klijavost sjemena koje se nalaze blizu površine tla (ISTA, 2009).

Atmosferski plinovi

Atmosferski plinovi su smjesa plinova koji se nalaze u zraku, oko 20% kisika, 0,03% ugljikovog dioksida i 80% dušika. Sjeme većine biljaka dobro klije u prisustvu takvog sastava zraka. Kisik je potreban za metabolizam u procesu klijanja. On se koristi kod aerobnog disanja i glavni je izvor energije biljci dok se ne razviju listovi, pa je njegova koncentracija vrlo važna. Više koncentracije ugljikovog dioksida od normalnih vrijednosti sprječavaju klijanje, dok dušik nema utjecaj na isto. Neko sjeme ima nepropusnu sjemenu ovojnicu za respiratorne plinove, što uzrokuje mirovanje, koje završava pucanjem ovojnice (ISTA, 2009).

1.4.1.2. Ostali čimbenici

Ponekad se može dogoditi da ne dođe do klijanja svakog sjemena iako su zadovoljeni svi čimbenici okoliša. Postoje određeni čimbenici koji mogu utjecati na sjeme i time onemogućiti njegovu klijavost, dovodeći do abnormalnosti embrija ili pak smrti.

Ti čimbenici su:

- a) insekti i grinje,
- b) nedostatak mineralnih tvari tijekom rasta biljke,
- c) mehanička oštećenja,
- d) djelovanje kemikalija (fungicidi i/ili insekticidi),
- e) nezrelost sjemena,
- f) starost sjemena,
- g) toplinska oštećenja,
- h) utjecaj vremena (suho, vlažno) tijekom transporta,
- i) biljni patogeni.

(ISTA, 2009).

1.5. LABORATORIJSKI UVIJETI ZA PROCJENU KVALITETE SJEMENA

Međunarodna pravila za testiranje klijavosti sjemena propisuju uvjete za provjeru kvalitete sjemena u *in vitro* uvjetima.

Kao podloga za testiranje klijavosti koristi se filter papir, pijesak ili organska podloga (vlakna kokosovog oraha ili drveta, pijesak, perlit, vermikulit).

Opće specifikacije za podloge klijavosti

Sljedeće opće specifikacije odnose se na sve podloge i trebale bi biti kontrolirane kao dio laboratorijskog postupka kontrole kvalitete:

Zadržavanje vode: kada se doda odgovarajuća količina vode čestice podloge bi trebale imati kapacitet zadržavanja dovoljne količine vode kako bi se osiguralo kontinuirano kretanje vode do sjemena i klijanaca. Podloge bi također trebale pružiti dovoljno prostora za prozračivanje, potrebnog za optimalno klijanje i rast korijena. Sadržaj vode u podlozi trebao bi biti prilagođen maksimalnom kapacitetu vezanja vode. Ukoliko je potrebno zadržavanje vode može se prilagoditi potrebama pojedine vrste sjemena, i u tim slučajevima bi trebalo biti izraženo kao postotak od maksimalnog zadržavanja vode.

pH: podloga za klijavost mora imati pH vrijednost u rasponu od 6.0-7.5.

Provodljivost: podloga za klijanje mora imati provodljivost ne manju od 40mS (miliSiemens) po metru.

Čistoća i netoksičnost: podloga za klijavost mora biti bez tragova sjemena, gljivica, bakterija ili toksičnih tvari koje bi mogle ometati klijavost sjemena, rast klijanca ili procjene testa.

Prema potrebi je moguće primjeniti jedan od tretmana kojim se prekida dormancija.

Predtretmani sjemena

Cilj procjene testa klijavosti sjemena je odrediti maksimalni potencijal klijavosti skupine sjemena, što se može koristiti za usporedbu kvalitete različitih skupina sjemena, kao i za procjenu vrijednosti uzgoja. Kako bi se postigao taj cilj potrebno je da proklija što je više moguće sjemenki i da se klijanci mogu procijeniti unutar razdoblja testiranja.

Postoji nekoliko razloga zašto iako su izložene povoljnim uvjetima klijanja sjemenke neće proklijati. Najvažniji razlozi su dormantnost sjemena i otvrdnutost sjemena. Te prepreke za klijavost mogu se odstraniti različitim predtretmanima. Najčešće korišteni tretmani koji potiču klijavost prekidanjem dormantnosti su:

1. *predgrijanje,*
2. *predhlađenje,*
3. *predspiranje,*
4. *odstranjivanje struktura sjemena.*

Tretmani tijekom testa klijavosti su :

1. *upotreba kalijevog nitrata (KNO₃)*
2. *uporaba giberelinske kiseline (GA₃)*
3. *promjene temperature,*
4. *izlaganje svjetlosti.*

(ISTA, 2009).

1.6. GIBERELINSKA KISELINA (GA₃)

Oblik i funkcioniranje višestaničnih biljaka ili životinja ovisi o komunikaciji između stanica. U višim biljkama regulacija i koordinacija metabolizma, rasta i morfogeneze često ovisi o kemijskim signalima koji putuju iz jednog dijela biljke u drugi –o regulatorima rasta ili biljnim hormonima.

Biljni regulatori rasta dijele se u pet skupina: auksini, giberelini, citokinini, etilen i abscizinska kiselina (ABA) (Pevalek-Kozlina, 2003).

Giberelini

Giberelini su skupina fitohormona koja je karakterizirana kemijski (prisutnost gibanskog prstena u molekuli) i fiziološki (aktivni su u posebnim biotestovima) (Denffer i Ziegler, 1982).

Danas se zna da su giberelini prirodno prisutni u velikom broju kritosjemenjača i golosjemenjača. Poznato je više od stotinu različitih giberelina koji se označavaju brojevima prema redoslijedu njihova otkrića (GA₁, GA₂ GA_X), a od kojih je trećina fiziološki aktivna.

Istraživanja su pokazala da su giberelini osobito aktivni u stimuliranju staničnih dioba i produženog rasta patuljastih biljaka i biljaka s rozetom.

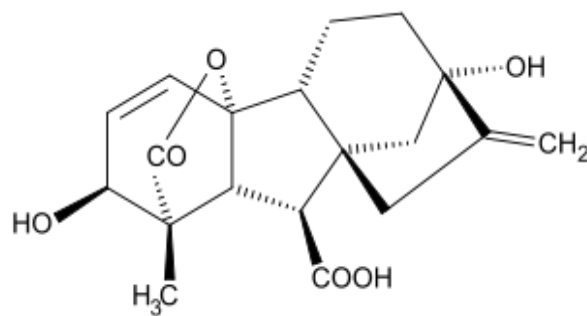
Giberelini su diterpeni. To je velika skupina srodnih spojeva koji u molekuli imaju entgiberelanski kostur sastavljen od četiri prstena (A, B, C i D). U biljnim tkivima giberelini mogu biti prisutni kao molekule s 20 C-atoma i molekule s 19 C-atoma.

Mladi listovi vršnog pupa glavno su mjesto sinteze giberelina. U starijim listovima koji još rastu stvaraju se manje količine giberelina koji putuju u stabljiku. Sinteza giberelina zbiva se i u vrškovima korijena, ali je ograničena samo na vršnih 3 do 4 mm. Nezrele sjemenke predstavljaju bogati izvor giberelina.

Giberelini su terpenoidi izgrađeni od četiri izoprenske jedinice. Putovi biosinteze različitih giberelina nisu u potpunosti poznati. Sinteza većine giberelina u biljkama zbiva se u kloroplastima i njihovim prekursorima. Početni spoj u biosintezi terpenoida je mevalonska kiselina. Mevalonska kiselina se fosforilira i dekarboksilira do izopentenil-pirofosfata.

Na biosintezu i metabolizam giberelina snažno utječu okolišni čimbenici kao što su niska temperatura i duljina dana.

Giberelini se prirodno javljaju kao slobodni giberelini i kao vezani giberelini. Fiziološki su aktivni samo slobodni giberelini. Slobodni giberelini se javljaju kao molekule s 19 ili 20 C-atoma. Poznati predstavnik giberelina je giberelinska kiselina. (slika 2.). Metabolizam giberelina odvija se u kloroplastima (reakcije ciklizacije), a prijenos giberelina obavlja se u inaktivnom obliku od mjesta sinteze (list, meristemi) do mjesta djelovanja. Prijenos se odvija bazipetalnim putem, najčešće kroz floem pasivnim prijenosom zajedno sa asimilatima.



Slika 2. Struktura giberelinske kiseline
<http://www.bionet-skola.com/w/Giberelini>

Fiziološki učinci giberelina su brojni:

- stimulacija produženog rasta stabljike, osobito u genetski uvjetovanih patuljastih mutanti i biljaka s rozetom,
- indukcija cvjetanja u biljaka s rozetom (giberelini nadomještaju izlaganje uvjetima dugog dana i/ili razdoblju hladnoće) i određivanje spola cvjetova,
- stimuliranje staničnih dioba i produženog rasta stanica,
- promjena odraslog u juvenilno stanje ili juvenilnog u odraslo stanje,
- stimuliranje rasta plodova i indukcija partenokarpije,
- pojačavanje apikalne dominacije,
- prekid dormancije vršnih pupova,
- prekid dormancije sjemenki i indukcija klijanja,

- stimuliranje sinteze brojnih hidrolaza, posebice α -amilaze u aleuronskom sloju sjemenki žitarica koje kliju.

Jedan od bitnih fizioloških učinaka giberelina je prekid dormantnosti sjemenki i indukcija klijanja. Egzogeno primijenjeni giberelin može ne samo pospješiti klijanje nego ga u mnogim slučajevima i omogućiti kada nisu prisutni potrebni okolišni uvjeti. Mnoge sjemenke sadrže visoke koncentracije giberelina, osobito embrij. Nakon imbibicije vodom, otpuštanje giberelina iz embrija predstavlja signal za prekid dormancije i početak klijanja.

Giberelini stimuliraju proizvodnju brojnih hidrolaza, osobito α -amilaze u aleuronskom sloju sjemenki žitarica koje kliju. Sjemenke žitarica se sastoje od dva dijela: diploidnog embrija (sam embrij i specijalizirani kotiledon za apsorpciju, skutelum) i triploidnog endosperma koji se sastoji od dva tkiva.

U procesu klijanja pod utjecajem embrija u živim stanicama aleuronskog sloja se stvaraju i otpuštaju specifični enzimi nužni za razgradnju škrobnog dijela endosperma. Te stanice izlučuju u endosperm enzime koji mobiliziraju rezervne tvari koje su neophodne biljci za klijanje i rast. Sjemenke bez embrija također mogu proklijati uz prisustvo giberelina što je dokaz za njegovo djelovanje. Mehanizam djelovanja giberelina temelji se na njihovu djelovanju na ekspresiju gena. Giberelin koji je često ponovo dokazan u višim biljkama i koje koji je osobito aktivan i upotrebljava se u mnogim pokusima je giberelinska kiselina (GA_3) (Pevalek- Kozlina, 2003).

1.7. STRATIFIKACIJA

Stratifikacija je proces predobrade sjemena, a koristi se za prekid mirovanja nekih vrsta sjemena koje koriste promjenu temperature kao signal da se „probude“ prije klijanja. Neke sjemenke mogu klijeti tek nakon djelovanja niskih temperatura, a kod drugih se klijanje samo pospješi. Trajanje niskih temperatura je specifično ovisno o biljnoj vrsti (uglavnom nekoliko tjedana). Za stratifikaciju su sposobne samo nabubrene i ne suhe sjemenke, što znači da točka zahvaćanja hladnoće ima biokemijski karakter. Niske temperature prekidaju dormantnost na različite, često kompleksne načine. One mogu sjemenu lupinu učiniti propustljivom, pospješiti naknadno dozrijevanje sjemenke, izazvati djelovanje hormona, odnosno enzima ili sniziti sadržaj inhibirajuće tvari npr. apscizinske kiseline (Denffer i Ziegler, 1982).

1.8. BOTANIČKI PODATCI O VRSTI *Hypericum olympicum* L.

1.8.1. Morfološka obilježja ispitivane biljne vrste

Hypericum olympicum* L., *Hypericaceae

Nizak grm s brojnim tankim stabljikama. (Slika 3.) Stabljike su visoke, uspravne ili se izdižu, gole, ponekad crvenkasto-žučkaste boje. Listovi su 5-30mm dugi, izduženo eliptični do lancetasti, pri osnovi suženi, sjedeći, plavičasto sivozeleni, sa prozirnim točkama. Cvjetovi su u promjeru 20-60 mm, pojedinačni ili do pet zajedno. Listovi čaške su nejednaki, široko jajasti, na vrhu sa kratkim šiljkom, superponirajući, po rubu cijeli ili slabo nazubljeni, po površini mogu imati crne točke. Listovi vjenčića su dva do četiri puta duži od listova čaške bez žlijezda ili se javlja manji broj crnih žlijezda na vrhu ili po obodu. Plod je čahura, gladak ili sa jedva primjetnim uzdužnim uljnim žlijezdama (Josifović, 1972).

Stanište

Na suhim mjestima, kamenjaru, suhima livadama, pseudomakiji (Josifović, 1972).

Opća rasprostranjenost

U istočnom i južnom dijelu balkanskog poluotoka (Bosna i Hercegovina i Makedonija, rijetka u Srbiji), (Josifović, 1972). Također se može pronaći u Euroaziji uključujući Bugarsku, Tursku i Siriju (Robson, 1968).



Slika 3. *Hypericum olympicum* L.

(<http://www.botanicni-vrt.si/component/rastline/hypericum-olympicum>)



Slika 4. Cvijet vrste *Hypericum olympicum* L.

(<https://www.rhs.org.uk/Plants/9017/Hypericum-olympicum/Details>)

1.8.2. Ljekovitost i primjena

Od vrsta roda *Hypericum*, najpoznatija i napriznatija ljekovita vrsta je *Hypericum perforatum* L., narodnih naziva rupičasta pljuskavica, gospina trava ili kantarion. Ljekovitost gospine trave opisana je već u Starom i Srednjem vijeku. Krvavo crveni sok iz cvjetova dao je od davnine povod za čitav niz praznovjernih priča i tajanstvenih primjena. U Srednjem vijeku se vjerovalo da ova biljka ima moć da štiti od zla. U medicini je bila korištena kao lijek protiv depresije i duševnih bolesti. U 19. st. pada njezina popularnost i malo se koristi, dok je danas u fitoterapiji i narodnoj medicini jedna od najdragocjenijih biljaka (www.ekologija.net).

Gospina trava se koristi u biljnoj terapiji i kozmetologiji zbog antiseptičnih i zacjeljujućih učinaka (Bruneton, 1995). Ljekoviti dijelovi nalaze se na gornjoj polovini biljke u cvatu. Za pripremu, oni se suše i kasnije koriste u ljekovitim pripravcima: ulju, čaju, vinu i tinkturi (www.avia.croadria.com).

Biljka sadrži mnogobrojne ljekovite i djelotvorne tvari: eterično ulje, ugljikohidrate, bjelančevine, pektinsku i miristinску kiselinu, vitamin C, oko 9-11% raznih trjeslovina, smole, antocijan, crvene boje hiperin i hipericin, karoten, flavonoide, holin, fitosterol i tragove alkaloida. Eterično ulje miriše na crnogorična ulja, a sadrži kadinen, terpen, azulent i izovalerijansku kiselinu. Flavonski heterozidi sadrže hiperozid, rutozid i kvercitrin (www.avia.croadria.com). Hipericinu se pripisuje lagani sedativni i antidepresivni učinci, treslovine su odgovorne za adstringirajuće učinke, a diuretski se učinci pripisuju flavonoidima (Gelenčir i Gelenčir, 1991). Fenolski spojevi imaju antibakterijsko i antiparazitno djelovanje (www.avia.croadria.com).

Kantarion je opisan kao umirujuća, aromatična, adstringentna, digestivna, diuretska, sedativna, stimulirajuća i zacjeljujuća biljka (Duke, 1987). Ulje se osobito preporuča u njezi i zaštiti kože u kozmetici i medicini (masaža, suha koža, ljuskava koža, prištevi, akne, opekotine, u liječenju rana koje su posljedica zračenja i sunčanja...). Korisna je upotreba kod rana koje krvare; ozljeda mišića, hematoma, otekline kod udaraca, uganuća i iščašenja; mnogobrojnih reumatskih oboljenja (upalni reumatizam, degenerativni reumatizam-artroze kralješnice, kukova, koljena, ramena; metabolički reumatizam-giht, te bolnih sindroma ramena i križa-lumbago (www.croadria.com)). Opisano je i djelovanje eteričnog ulja kantariona protiv crijevnih parazita (Gursky, 1983), te njihovo preventivno i kurativno ginekološko djelovanje (Ašić, 1999). Ulje se može uzimati i za unutrašnju uporabu jer pospješuje lučenje žuči i oporavlja funkciju jetre, te smiruje tegobe želuca. Izvana se stavlja na

rane, opekline i hemeroide jer djeluje antiseptično (Živković, 1997). Čaj je koristan kod liječenja upalno-bolnih sindroma dišnog, probavnog, mokraćnog i spolnog sustava, te neuroza, glavobolja, nesаницe i funkcionalnih srčanih smetnji (www.avia.croadria.com). Vodeni biljni ekstrakt se koristi i za oporavak kose, a djeci se čaj može dati prije spavanja. U homeopatskom liječenju pripisuje se ekstrakt gospine trave i za adenitis, astmu, potres mozga, kod modrica, kurjeg oka, složenih prijeloma, reumatizma, ožiljaka, išijasa, spastične paralize, ukočenog vrata, tetaničkih ozljeda, hripavca i rana (Duke, 1987). Hipericin izaziva kod osjetljivih osoba, osobito bjeloputih, fotosenzibilizaciju. Pod utjecajem sunčevog svjetla javljaju se upalni procesi na koži slični opekotinama od sunca (Gelenčir i Gelenčir, 1991). Biljka može izazvati serotoniniski sindrom kod osjetljivih pacijenata čiji simptomi uključuju promjene u mentalnom statusu, promjene autonomnog nervnog sustava i neuromuskularne promjene uz glavobolju, mučninu, anksioznost, dijareju i drhtavicu. Utvrđeno je da je serotoniniski sindrom izazvan paralelnim korištenjem kantariona i antidepresiva koji međusobno pojačavaju djelovanje (www.doktor.co.yo). Kod ovaca, može uzrokovati odbacivanje vune, nadutost lica, generalizirane iritacije kože, gubitak apetita, i ponekad gubitak vida. Ostali biljožderi su podložniji toksičnosti koja je praćena dramatičnim ponašanjem životinja pogođenih fotosenzitacijom (Duke, 1987).

2. OBRAZLOŽENJE TEME

2.1. OBRAZLOŽENJE TEME

U razdoblju između 2006. i 2008. u Farmaceutskom botaničkom vrtu Fran Kušan Farmaceutsko – biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu posijano je 56 različitih vrsta roda *Hypericum*. Sjeme je dobiveno temeljem razmjene koja je tradicija između botaničkih vrtova. Većina sjemena uspješno je proklijala, klijanci su presađeni u klijalište, a neke vrste, koje su dosegle odgovarajući stupanj razvoja, slijedeće su vegetacijske sezone presađene na plohe u vrtu. Većina tih vrsta nastavila se uspješno razvijati tijekom idućih vegetacijskih razdoblja tako da je došlo do formiranja cvjetova i plodova bogatih sjemenjem.

U ovom će se radu provjeriti klijavost sjemena jedne od tih vrsta, *Hypericum olympicum* L. sa sljedeća četiri cilja:

1. Budući je promatrana vrsta autohtona u području Grčke, namjera ovog istraživanja je provjeriti da li je u novim ekološkim uvjetima za ovu vrstu efikasnost oprašivanja i oplodnje efikasna, odnosno da li je dobiveno sjeme vijabilno.
2. Budući da se radi o populaciji od samo nekoliko jedinki, odnosno ograničenim genskim zalihama, što je normalna situacija u vrtnom uzgoju, potrebno je pratiti mijenja li se vijabilnost sjemena kroz više vegetacijskih razdoblja i to kroz dva aspekta: a) da li i u kojoj mjeri se vijabilnost smanjuje starenjem biljke i b) da li i u kojoj mjeri godišnje oscilacije u meteorološkim prilikama utječu na vijabilnost sjemena.
3. Zbog potrebe očuvanja biljnog genofonda, što je jedan od primarnih zadataka svakog botaničkog vrta, potrebno je testirati klijavost sjemena čuvanog kroz nekoliko godina.
4. Budući da o testiranju klijavosti sjemenki ove vrste nema literaturnih podataka, a o drugim vrstama ovog roda tek nekoliko, provjerit će se da li se nekom od metoda prekida dormancije ili poticanja klijavosti mijenja klijavost.

3. MATERIJALI I METODE

3.1. BILJNI MATERIJAL

Vrsta *Hypericum olympicum* L. uzgaja se u Farmaceutskom botaničkom vrtu F. Kušan Farmaceutsko – biokemijskog fakulteta od 2006. god. Tobolci sa sjemenjem sabrani su 28. 8. 2008. i 22. 10. 2009., sušeni su na sobnoj temperaturi do prosinca kada su sjemenke izvađene i očišćene. Do početka pokusa provjere klijavosti, sjemenke su čuvane u suhoj prostoriji sobne temperature. Pokusi su izvedeni na temperaturi od 25 °C.

3.2. PROVJERA KLIJAVOSTI

U ovom radu provjerena je klijavost sjemena vrste *Hypericum olympicum* L. prema Međunarodnim pravilima za testiranje sjemena (*International Rules for Seed Testing*) za vrstu *Hypericum perforatum* L. (ISTA, 2010).

Pokus klijanja se odvija u sljedećim uvjetima:

1. na dvostrukom sloju papira,
2. pri temperaturi između 20 i 30°C,
3. prve proklijale sjemenke mogu se očekivati 4-7 dana nakon postavljanja pokusa,
4. pokus završava 28. dan od polaganja sjemena na papir.

Pripreme se po četiri Petrijeve zdjelice za svaki pokus i za svaku godinu te se u svaku stavi dvostruki sloj filter papira. Prvo brojanje se izvrši nakon 4-7 dana, a završno brojanje 28 dana od polaganja sjemena na papir.

Klijavost je provjerena na sjemenkama sabranim 2008. i 2009. godine, kroz tri pokusa:

a. Klijavost bez tretmana

U ovom pokusu sjeme je položeno na filter papir koji je prethodno natopljen s 3,5 ml destilirane vode i ostavljeno na temperaturi od 25°C.

b. Klijavost nakon tretmana sa GA₃

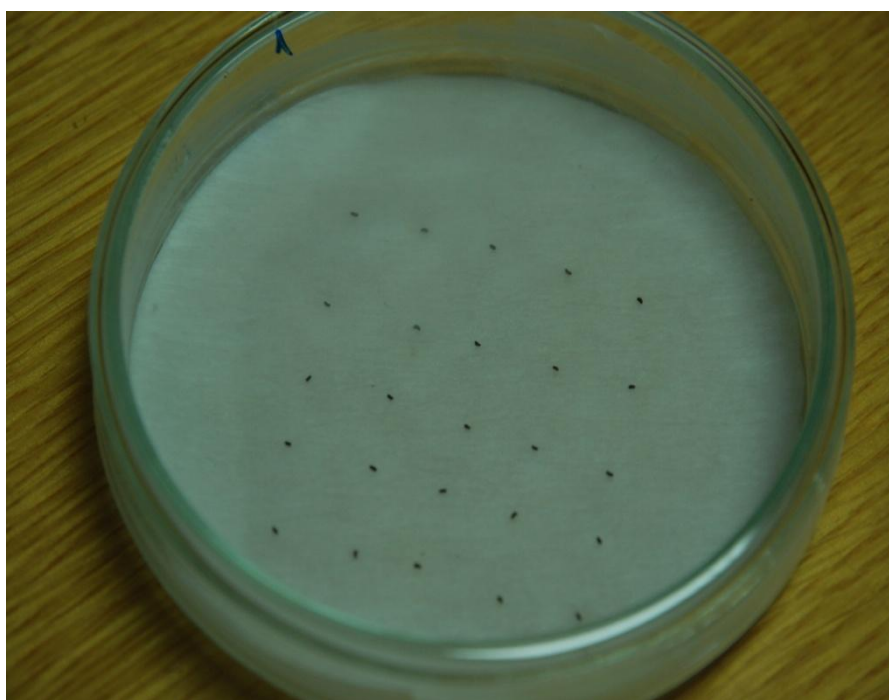
U ovom pokusu sjeme je položeno na filter papir koji je prethodno natopljen s 3,5 ml

otopine giberelinske kiseline. Koncentracija primjenjene otopine bila je 25 mg/ml.

c. **Klijavost stratificiranih sjemenki**

U ovom pokusu sjeme koje je položeno na filter papir prethodno je bilo pohranjeno 7 dana na 8 °C. Taj se postupak naziva stratifikacija, a pospešuje klijanje dormantnih sjemenki.

U četiri zdjelice je pincetom raspoređeno po 25 sjemenki u pet redova i pet stupaca. Pod lupom se provjerava izgled svake sjemenke pri čemu se sve loše sjemenke ili eventualna onečišćenja uklanjaju te zamjenjuju novim sjemenkama. Petrijeva zdjelica se poklopi i oblijepi trakom parafilma M kako bi se spriječilo isparavanje vode (Slika 5.).



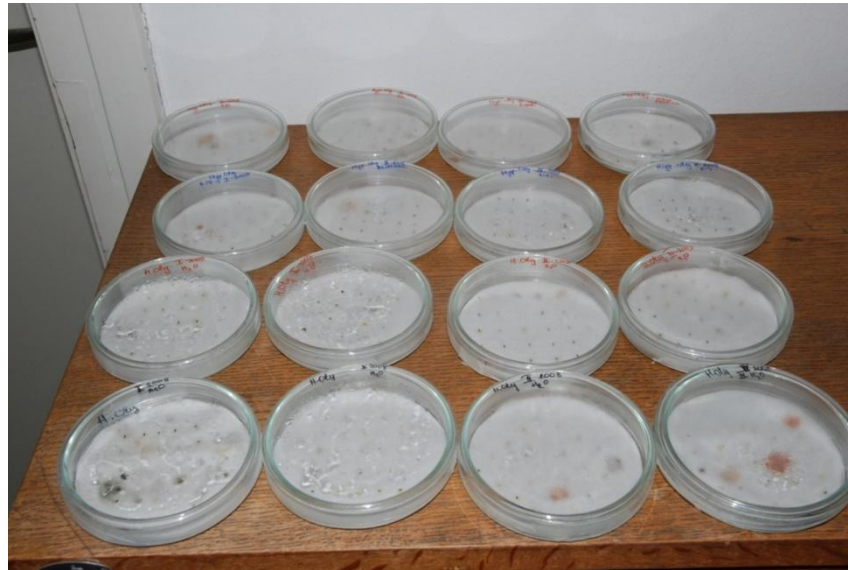
Slika 5. Petrijeva zdjelica sa sjemenom vrste *H. olympicum* L.

(slikano tijekom izvođenja pokusa)

Vodootpornim markerom označi se naziv biljne vrste čije se sjeme testira (*H. olympicum* L.), godina sabiranja (2008. ili 2009.) te vrsta tretmana (bez tretmana (∅), giberelinska kiselina (GA₃), stratifikacija (strat.), te broj Petrijeve zdjelice (#1, #2, #3, #4)).

Petrieve zdjelice se ostave u prostoriji pod kontroliranim uvjetima pravilne izmjene dana i

noći i stalnom temperaturom od 25 °C te se prati klijanje tijekom 28 dana. Svaka se sjemenka provjeri pod lupom pri čemu se proključale sjemenke ili pak loše sjemenke (npr. one koje su kontaminirane s plijesni) vade pincetom iz Petrijeve zdjelice i bacaju. U dnevnik se bilježi broj proključalih sjemenaka te broj loših sjemenaka u svakoj Petrijevoj zdjelici. Također se bilježi bilo kakva uočena promjena kao opaska (npr. promjena temperature u prostoriji, suhi filter papir, pojava plijesni...). Nakon provjere, Petrijeva se zdjelica ponovo oblijepi parafilmom.(Slike 6. i 7.)



Slika 6. Petrijeve zdjelice sa sjemenkama vrste *H. olympicum* L. tijekom procesa klijanja



Slika 7. Petrijeve zdjelice sa sjemenkama vrste *H. olympicum* L. tijekom procesa klijanja

3.3. MATEMATIČKA OBRADA PODATAKA

Za provjeru klijavosti izračunati su slijedeći indeksi klijavosti:

1. G_T - ukupna klijavost (*Total germination*) – postotak proklijalih sjemenaki u praćenom vremenskom razdoblju.

$$GT = [NT \times 100] / N$$

2. T_{50} - broj dana koji je bio potreban da bi proklijalo 50% od ukupnog broja proklijalih sjemenaki.

3. S - brzina klijavosti

$$S = (N_1 \times 1) + (N_2 - N_1) \times 1/2 + (N_3 - N_2) \times 1/3 + \dots + (N_n - N_{n-1}) \times 1/n$$

4. AS - brzina akumulirane klijavosti

$$AS = [N_1/1 + N_2/2 + N_3/3 + \dots + N_n/n]$$

$N_1, N_2, N_3, \dots, N_n$ broj sjemenki koje su proklijale u vremenu 1, 2, 3, 4, ..., n.

5. CRG - koeficijent brzine klijavost

$$CRG = [N_1 + N_2 + N_3 + \dots + N_n] \cdot X 100 / \\ (N_1 \times T_1) + (N_2 \times T_2) + (N_3 \times T_3) + \dots + (N_n \times T_n)$$

N – broj proklijalih sjemenki u vremenu T

(Anjum i Bajawa, 2005).

Da bi se provjerio statistički značaj (signifikantnost) uspoređenih uzoraka primijenjen je statistički : Studentov T test ($p=0,05$).

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. PRIKAZ REZULTATA TESTA KLIJAVOSTI

Testirana je klijavost sjemena vrste *H. olympicum* L. sabranih tijekom 2008. i 2009. godine kroz sljedeća tri pokusa:

1. u uvjetima bez tretmana (destilirana voda),
2. uz dodatak promotora klijavosti (giberelinska kiselina- GA₃),
3. uz prethodnu stratifikaciju- pothlađivanje.

Faza 1.



Slika 8. Neprokljalo sjeme vrste *Hypericum olympicum* L.

Faza 2.



Slika 9. Početak klijanja sjemena vrste *Hypericum olympicum* L.

Faza 3.



Slika 10. Prokljalo sjeme vrste *Hypericum olympicum* L.

Prilikom klijanja sjemena uočene su sljedeće tri faze klijanja (Prikazane na slikama 9. i 10.):

Faza 1. neprokljalo sjeme (vidi se pucane sjemene ovojnice)

Faza 2. početak klijanja sjemena (izlazak klice)

Faza 3. prokljalo sjeme (vidi se razvoj klice)

Tijekom pokusa, zbog vlage i topline, na nekim od sjemenki razvile su se plijesni, kao što je vidljivo na Slici 11.



Slika 11. Sjeme vrste *Hypericum olympicum* L. kontaminirano sa plijesni.

U **Tablici 1.** prikazani su podaci u postotcima (%) prokljalog sjemena (**GT**), broj dana koji je bio potreban da proklije polovica od ukupnog broja prokljalog sjemena (**T50**), te tri različita indeksa klijavosti koje su osmislili različiti autori s ciljem boljeg definiranja kvalitete sjemena (**S**, **AS** i **CRG**)

Tablica 1. Rezultati provjere klijavosti sjemenki vrste *H. olympicum* L.

	∅/2008	∅/2009	GA₃/2008	GA₃/2009	Strat./2008	Strat./2009
G_T (%)	63	39	68	70	54	33
T₅₀	6	15	6	13	6	15
S	1,18	0,35	1,25	0,54	1,34	0,27
AS	8,68	3,21	9,64	5,68	8,96	2,77
CRG	1,58	6,14	13,44	6,54	15,43	6,98

∅ – klijanje bez tretmana

GA₃ – klijanje uz tretman sa giberelinskom kiselinom

Strat. – klijanje uz predtretman stratifikacije (pothlađivanje)

G_T (%) – ukupna klijavost

T₅₀ – broj dana koji je bio potreban da bi prokljalo 50% sjemenki od ukupnog broja prokljalog sjemena

S – brzina klijavosti

AS – brzina akumulirane klijavosti

CRG – koeficijent brzine klijavosti

2008 / 2009 – godine kada su sjemenke sabrane

4.2. REZULTATI TESTA KLIJAVOSTI SJEMENA VRSTE *H. olympicum* L. SABRANIH TIJEKOM 2008. GODINE

U **tablici 2.** prikazani su rezultati testa klijavosti sjemenki vrste *Hypericum olympicum* L. sabranih 2008. godine, tj. broj prokljalih i loših sjemenaka za svaki pojedini pokus.

Tablica 2. Rezultati testa klijavosti sjemenki *H. olympicum* L. sabranih 2008.godine

	PROKLIJALE SJEMENKE	LOŠE SJEMENKE	T₅₀
Bez tretmana	63	12	6
GA₃	68	17	6
Stratifikacija	54	19	6

T₅₀ broj dana koji je bio potreban da bi prokljalo 50% sjemenki od ukupnog broja prokljalog sjemena

Najbolji rezultati, odnosno najveći broj prokljalih sjemenki, dobiveni su u pokusu u kojem je primjenjena giberelinska kiselina koja je bitna fiziološki aktivna tvar u poticanju klijavosti sjemenki. Ipak, klijavost uz tretman giberelinskom kiselinom (68%) nije signifikantno veća od klijavosti u sjemenki bez tretmana (63%, $p=0,05$).

Najlošiji rezultati dobiveni su u pokusu sa sjemenkama koje su podvrgnute prethodnom predtretmanu pothlađivanja (stratifikacije) u kojem je prokljao najmanji broj sjemenki u usporedbi s ostalim pokusima. Ipak, i u ovom pokusu klijavost sjemenki prelazi 50% od ukupnog broja testiranih sjemenki (54%).

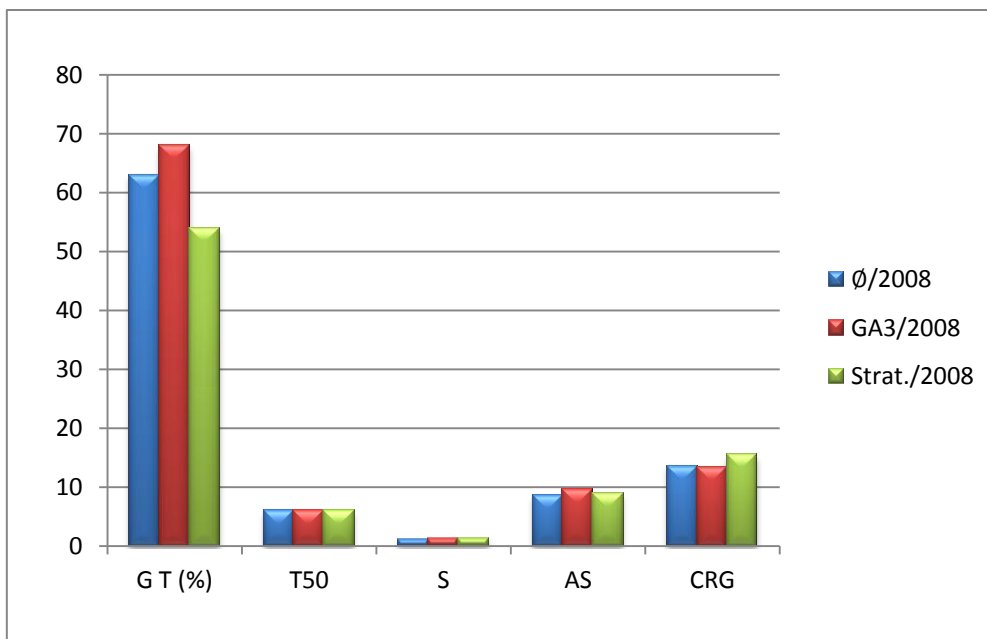
Najveći broj loših sjemenki je uz predtretman pothlađivanja zbog kontaminiranosti sjemenki sa plijesni (sjeme je okruženo hifama i ne klije).

Brzina prokljavanja sjemena je otprilike ista u sva tri pokusa, nešto je veća kod predtretmana pothlađivanja, ali razlika nije statistički značajna.

Od triju indeksa klijavosti koji su izračunati kako bi se ustvrdilo koji najbolje pokazuje klijavost vrste *Hypericum olypicum* L. pogodnim se pokazao indeks brzine klijavosti (S), dok indeks brzine akumulirane klijavosti (AS) nije pokazao dovoljnu osjetljivost za prikazivanje manjih razlika u stupnju klijavosti između uzoraka ili niski stupanj klijavosti sjemenki (Anjum i Bajawa, 2005)(Tablica 3.).

Tablica 3. Rezultati ispitivanja klijavosti sjemenki vrste. *H. olympicum* L. sabranih 2008.godine

	Ø/2008	GA₃/2008	Strat./2008
G_T (%)	63	68	54
T₅₀	6	6	6
S	1,18	1,25	1,34
AS	8,68	9,64	8,96
CRG	13,58	13,44	15,43



Graf 1. Grafički prikaz usporedbe indeksa klijavosti za sva tri pokusa klijanja sjemena vrste *Hypericum olypicum* L. sabranog 2008.godine.: Ø/2008 - pokus bez tretmana, GA₃/2008 - sjeme tretirano sa giberelinskom kiselinom, Strat./2008 – sjeme predtretirano stratifikacijom.

4.3. REZULTATI TESTA KLIJAVOSTI SJEMENA VRSTE *Hypericum olympicum* L. SABRANIH TIJEKOM 2009. GODINE

U **tablici 4.** su prikazani rezultati testa klijavosti sjemenki vrste *H.olympicum* L. sabranih 2009. Godine,tj.broj proklijalih sjemenki za svaki pojedini pokus.

Tablica 4.

Rezultati testa klijavosti sjemenki *H.olympicum* L. sabranih 2009. godine

	PROKLIJALE SJEMENKE	LOŠE SJEMENKE	T₅₀
Bez tretmana	39	18	15
GA₃	70	22	13
Stratifikacija	33	26	15

T₅₀ broj dana koji je bio potreban da bi proklijalo 50% sjemenki od ukupnog broja proklijalog sjemena

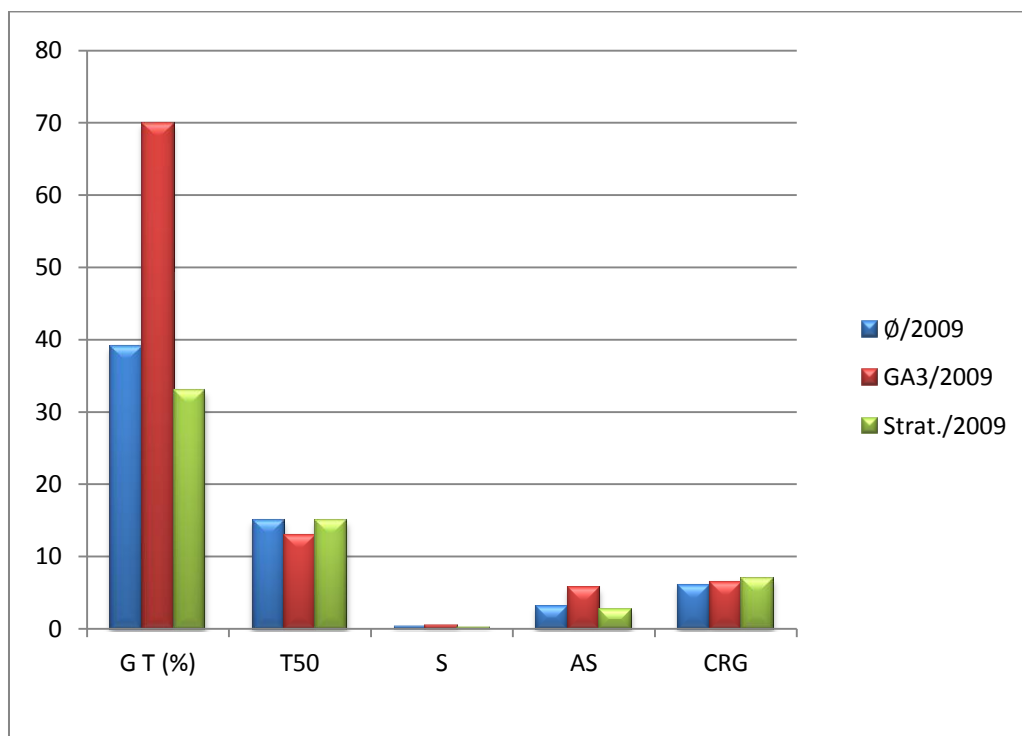
Iz dobivenih rezultata uočljivo je da je klijavost sjemenki bez tretmana i stratificiranih sjemenki znatno lošija u usporedbi sa sjemenkama tretiranih giberelinskom kiselinom, a razlika je statistički značajna. U pokusu sa sjemenkama koje su predtretirane stratifikacijom najizraženija je kontaminiranost sjemenki sa plijesnima. Brzina klijavosti sjemenki podjednaka je u sva tri pokusa, premda je kod tretmana s giberelinskom kiselinom nešto brža (nema signifikantne razlike).

Od triju indeksa klijavosti koji su izračunati kako bi se utvrdilo koji od njih najbolje prikazuje klijavost vrste *H. olympicum* L .pogodnim se, kao i u slučaju pokusa sa sjemenkama sabrnim 2008. godine, pokazao samo indeks brzine klijavosti (S), dok indeksi brzine akumulirane klijavosti (AS) i koeficijent brzine klijavosti (CRG) nisu pokazali dovoljnu osjetljivost za prikazivanje manjih razlika u stupnju klijavosti između uzoraka ili niski stupanj klijavosti sjemenki. Nisku osjetljivost pokazuje koeficijent brzine klijavosti i u drugim

istraživanjima (Anjum i Bajawa, 2005).(Tablica 5.).

Tablica 5. Rezultati ispitivanja klijavosti sjemenki vrste. *H. olympicum* L. sabranih 2009. godine

	Ø/2009	GA₃/2009	Strat./2009
G_T (%)	39	70	33
T₅₀	15	13	15
S	0,35	0,54	0,27
AS	3,21	5,68	2,77
CRG	6,14	6,54	6,98



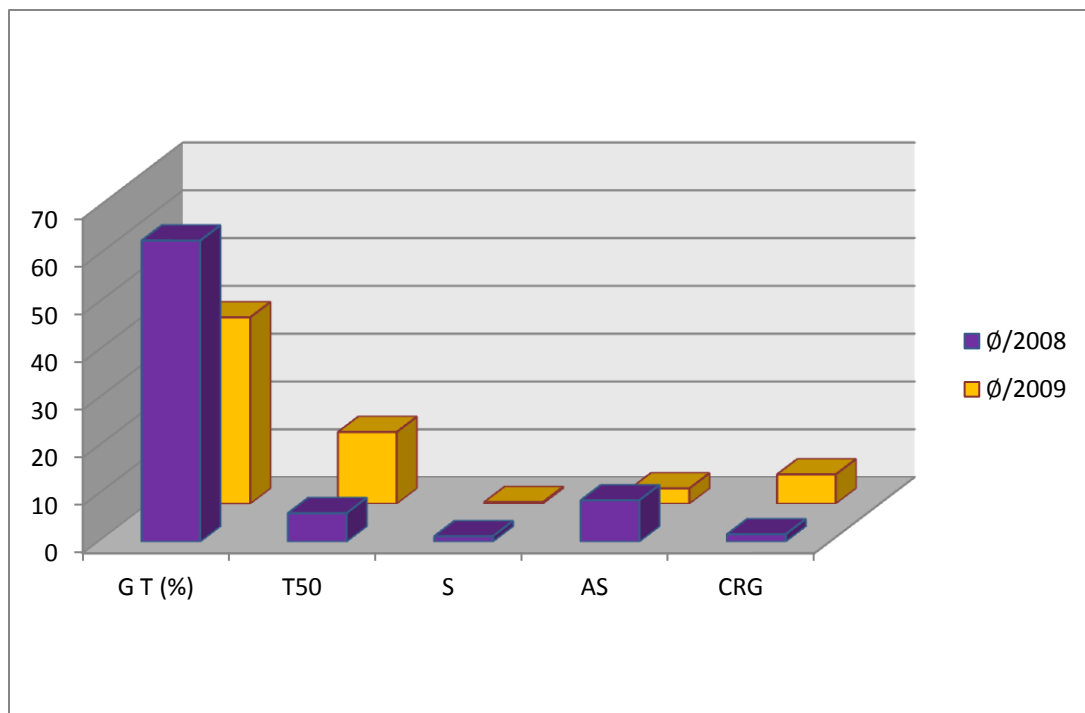
Graf 2. Grafički prikaz usporedbe indeksa klijavosti za sva tri pokusa klijanja sjemena vrste *Hypericum olypicum* L. sabranog 2009.godine.: Ø/2009 - pokus bez tretmana, GA₃/2009 - sjeme tretirano sa giberelinskom kiselinom, Strat./2009 - sjeme predtretirano stratifikacijom.

4.4. USPOREDBE KLIJAVOSTI SJEMENKI VRSTE *H. olympicum* L. SABRANIH TIJEKOM 2008. I 2009. GODINE

Sjemenke sabrane tijekom 2009. godine pokazuju znatno lošiju klijavost. U pokusu bez tretmana prokljalo je 63 sjemenke sabranih tijekom 2008. godine, a samo 39 sjemenki sabranih tijekom 2009. godine. Ovakav je rezultat moguće objasniti dugom fazom dormantnosti koja je osobina nekih vrsta ovog roda. Naime, na temelju rezultata istraživanja klijavosti sjemena vrste *H. perforatum* var. *angustifolium* provedenog početkom XX stoljeća (Cashmore, 1939.), utvrđeno je da nakon sabiranja sjeme prolazi kroz fazu dormantnosti u trajanju od 4-6 mjeseci, a najviši stupanj klijavosti postiže se tek nakon 12 mjeseci. Naši rezultati, odnosno loša klijavost tek ubranog sjemena i dobra klijavost godinu dana starog sjemena, potvrđuju postojanje dormancije u prvih nekoliko mjeseci nakon sabiranja, kao i njezin prekid i najviši stupanj klijavosti 12 mjeseci nakon sabiranja. Također, ovim je istraživanjem utvrđeno da tip dormantnosti sjemenki vrste *H. olympicum* nije dugotrajna fiziološka dormantnost, nego da je morfofiziološka budući je uočen signifikantan pozitivni utjecaj giberelinke kiselina kao promotora klijavosti (Baskin i Baskin, 2004). Iz dobivenih se rezultata može zaključiti da stratifikacija nema utjecaja na klijavost vrste *H. olympicum*.

Tablica 6. Usporeba rezultata klijavosti sjemenki vrste *H. olympicum* L. sabranih tijekom 2008.i 2009. godine u pokusu bez tretmana.

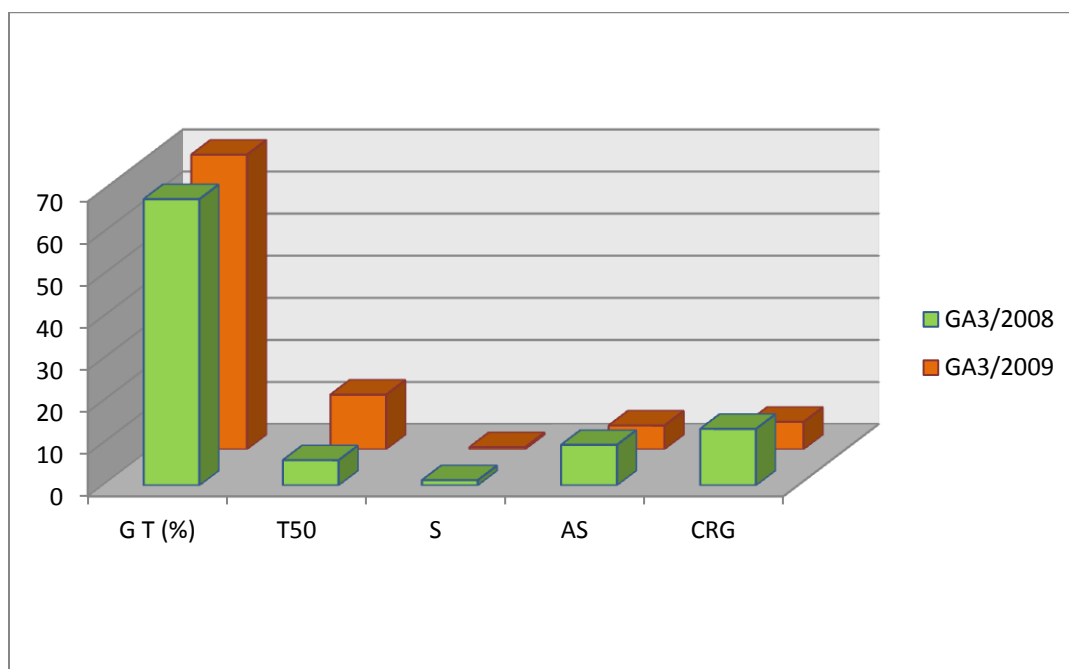
	Ø/2008	Ø/2009
G_T (%)	63	39
T₅₀	6	15
S	1,18	0,35
AS	8,68	3,21
CRG	1,58	6,14



Graf 3. Grafički prikaz usporedbe indeksa klijavosti sjemena vrste *H. olympicum* L. sabranih tijekom 2008. i 2009. godine u pokusu bez tretmana.

Tablica 7. Usporedba rezultata klijavosti sjemenki vrste *H. Olympicum* L. sabranih tijekom 2008.i 2009. godine u pokusu sa tretmanom giberelinskom kiselinom.

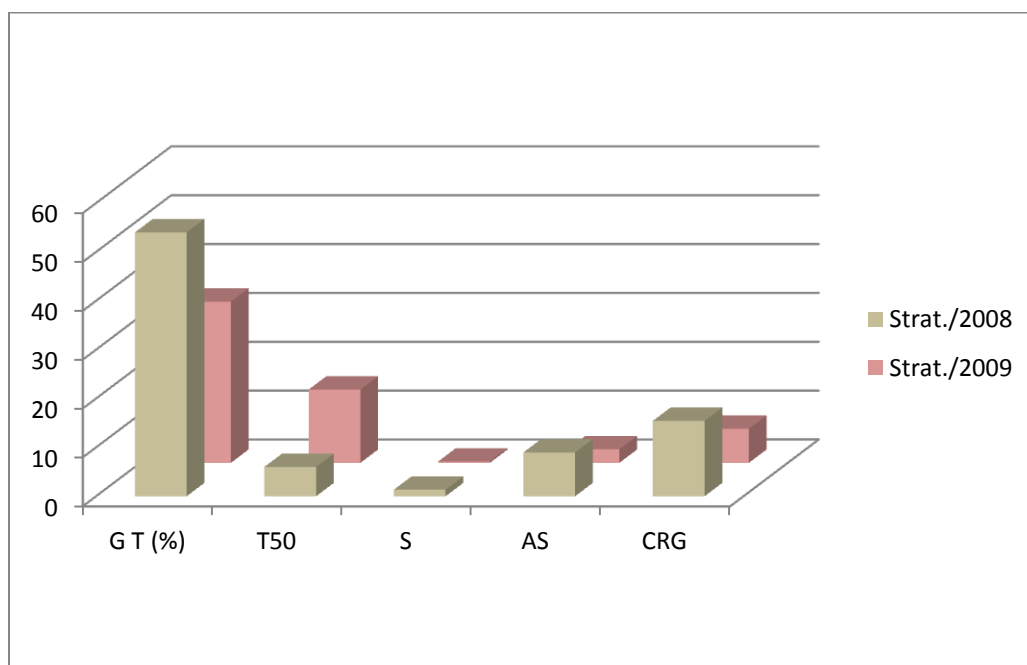
	GA₃/2008	GA₃/2009
G_T (%)	68	70
T₅₀	6	13
S	1,25	0,54
AS	9,64	5,68
CRG	13,44	6,54



Graf 4. Grafički prikaz usporedbe indeksa klijavosti sjemena vrste *H. olympicum* L. sabranih tijekom 2008. i 2009. godine u pokusu sa tretmanom giberelinskom kiselinom.

Tablica 8. Usporedba indeksa klijavosti sjemena vrste *H. olympicum* L. sabranih tijekom 2008. i 2009. godine u pokusu sa tretmanom pothlađivanja (stratifikacije)

	Strat./2008	Strat./2009
G_T (%)	54	33
T₅₀	6	15
S	1,34	0,27
AS	8,96	2,77
CRG	15,43	6,98



Graf 5. Grafički prikaz usporedbe indeksa klijavosti sjemena vrste *H. olympicum* L. sabranih tijekom 2008. i 2009. godine u pokusu sa tretmanom pothlađivanja

5. ZAKLJUČAK

5.1. ZAKLJUČAK

Cilj ovog diplomskog rada bio je provjeriti klijavost sjemena vrste *Hypericum olympicum* L. u laboratorijskim uvjetima. Sjeme za ispitivanje klijavosti sakupljeno je u jesen 2008. i 2009. godine, a testiranje je provedeno kroz tri različita pokusa: u uvjetima bez tretmana, uz dodatak giberelinske kiseline koja je promotor klijavosti i uz predtretman pothlađivanja (stratifikacije). Sjeme sabrano tijekom 2008. godine pokazalo je bolju klijavost u odnosu na sjeme sabrano 2009. godine, čime je potvrđena dormantnost tek ubranog sjemena i dobra klijavost godinu dana starog sjemena, utvrđena i za vrstu *H. perforatum* var. *angustifolium* (Cashmore, 1939.). Također, našim je istraživanjem utvrđeno da tip dormantnosti sjemenki vrste *H. olympicum* nije dugotrajna fiziološka dormantnost, nego da sjeme prolazi kroz fazu morfofiziološke dormancije budući je uočen signifikantan pozitivni utjecaj giberelinke kiseline kao promotora klijavosti (Baskin i Baskin, 2004). Iz dobivenih se rezultata može zaključiti da stratifikacija nema utjecaja na prekid dormantnosti i klijanje sjemena vrste *H. olympicum* L.

6. LITERATURA

6.1. LITERATURA

- Anjum T, Bajawa R. Importance of germination indices in interpretation of allelochemical effects. *Int J Agri Biol*, 2005, 7, 417-419.
- Ašić S. Ljekovito bilje. Rijeka, Dušević & Kršovnik d.o.o., 1999.
- Baskin JM, Baskin CC. A classification system for seed dormancy. *See Sci Res*, 2004, 14, 16. Botanički vrt, <http://www.bgci.org>, pristupljeno 26.08.2013.
- Bruneton J. Pharmacognosy phytochemistry medical plants. Paris, Lavoisier Publishing Inc., 1995.
- Cashmore AB. A note on the germination of St John's wort seed. *J Sc Ind Res*, 1939, 12, 181-182.
- Čmelik Z, Perica S. Dormantnost sjemena voćaka. Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 2007, str. 51-53.
- Denffer D, Ziegler H. Botanika – morfologija i fiziologija. Zagreb, Školska knjiga; 1982, str. 425-449, 439-440.
- Duke JA. Handbook of medicinal herbs, CRS Press Inc. Florida, 1987.
- Ellis RH, Roberts EH, Whitehead J. A new, more economic and accurate approach to monitoring the viability of accessions during storage in seed banks. *Pl Genet Resources Newsl*, 1980, 41, 3-18.
- Ellis RH, Wetzel M. Recent developments on applying sequential analysis to gene bank seed viability monitoring tests. *Pl Genet Resources Newsl*, 1983, 55, 2-15.
- Gelenčir J, Gelenčir J. Atlas ljekovitog bilja. Zagreb: Prosvjeta-Zagreb, 1991, str. 125.
- Giberelinska kiselina struktura, <http://www.bionet-skola.com/w/Giberelini>, pristupljeno 25. 1. 2015.
- Građa sjemena, <http://hr.wikipedia.org/wiki/Sjeme>, pristupljeno 10. 1. 2015.
- Građa sjemena slika, <http://www.slideshare.net>, pristupljeno 25. 1. 2015.
- Gursky Z, Zlatna knjiga ljekovitog bilja. Zagreb, Nakladni zavod Matice hrvatske, 1983, str. 37.
- Hypericum olympicum* L., slika, <https://www.rhs.org.uk/Plants/9017/Hypericum-olympicum/Details>, pristupljeno 27. 1. 2015.
- Hypericum olympicum* L., slika, <http://www.botanicni-rt.si/component/rastline/hypericum-olympicum>, pristupljeno 27. 1. 2015.
- The International Seed Testing Association (ISTA). Handbook on seedling evaluation, Bassersdorf, ISTA, 2009, str. 1-18.

The International Seed Testing Association (ISTA). International rules for seed testing rules. Germination. Basserdorf, ISTA, 2010, str. 5-50.

Josifović M. Flora SR Srbije 3. Beograd, Srpska akademija nauka i umetnosti, 1972, str. 108.

Jovičić D, Nikolić Z, Petrović D, Ignjatov M, Taški-Ajduković K, Tatić M. Uticaj abiotičkih faktora na klijanje i klijavost semena. Novi Sad, Institut za ratarstvo i povrtlarstvo, 2011.

Ljekovitost i primjena gospine trave , <http://www.avia.croadria.com>, pristupljeno 25.01. 2015.

Ljekovitost i primjena gospine trave, <http://www.ekologija.net>, pristupljeno 25.01.2015.

Nikolaeva MG. Physiology of deep dormancy in seeds. Leningrad, Russia. 1967.

Pevalek-Kozlina B. Fiziologija bilja. Zagreb, Profil International; 2003, str. 315, 339-348, 354-357.

Robson NKB. Hypericum L. U Flora Europae 2. Tutin TG i sur., urednici,)Cambridge, 1968, str. 261-269.

Štefanić E. Građa generativnih biljnih organa: cvijet, plod. Osijek, Poljoprivredni fakultet, 2013.

Živković R. Prirodno liječenje probavnih organa ljekovitim biljem i dijetom. Zagreb, Školska knjiga, 1997, str. 25.

7. SAŽETAK / SUMMARY

7.1. SAŽETAK

Cilj ovog rada bio je provjeriti klijavost sjemena vrste *Hypericum olympicum* L. u laboratorijskim uvjetima. Sjeme je sakupljeno je u jesen 2008. i 2009. godine, a testiranje je provedeno kroz tri različita pokusa: u uvjetima bez tretmana, uz dodatak giberelinske kiseline koja je promotor klijavosti i uz predtretman pothlađivanja (stratifikacije). Sjeme sabrano tijekom 2008. godine pokazalo je bolju klijavost u odnosu na sjeme sabrano 2009. godine, čime je potvrđena dormantnost tek ubranog sjemena i dobra klijavost godinu dana starog sjemena, utvrđena i za vrstu *H. perforatum* var. *angustifolium*. Također, ovim je istraživanjem utvrđeno da tip dormantnosti sjemenki vrste *H. olympicum* nije dugotrajna fiziološka dormantnost, nego da sjeme prolazi kroz fazu morfofiziološke dormancije budući je uočen signifikantan pozitivan utjecaj giberelinske kiseline kao promotora klijavosti. Iz dobivenih se rezultata može zaključiti da stratifikacija nema utjecaja na prekid dormantnosti i klijanje sjemena vrste *H. olympicum*.

7.2. SUMMARY

The aim of this thesis was to investigate seed germination of *Hypericum olympicum* L. in laboratory conditions. The seeds were gathered in autumn of 2008. and 2009., and the testing was done in three different experiments: in conditions without any treatment, in conditions where gibberelic acid was added as a seed promotor and in conditions of seed stratification. The seeds from 2008. showed better germination than the seeds gathered in 2009., which showed the dormancy of seeds that where gathered later and good seed germination of one year old seeds, traits that were confirmed also for *H. perforatum* var. *angustifolium*.

The experiments also showed that the type of dormancy of *H. olympicum* seeds is not a long-lasting physiological dormancy, but that the seeds go through the phase of morphophysiological dormancy, the fact that was confirmed from the significantly positive influence of gibberlic acid as a promotor of seed germination. From the results of the experiments it can be concluded that stratification has no influence on termination of dormancy, as well as on germination of seed of *H. olympicum*.

**8. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA/BASIC
DOCUMENTATION CARD**

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Zavod za farmaceutsku botaniku
Šrotova 39, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

PROVJERA KLIJAVOSTI SJEMENA VRSTE *Hypericum Olympicum* L.

Željka Bakotić

SAŽETAK

Cilj ovog rada bio je provjeriti klijavost sjemena vrste *Hypericum olympicum* L. u laboratorijskim uvjetima. Sjeme je sakupljeno je u jesen 2008. i 2009. godine, a testiranje je provedeno kroz tri različita pokusa: u uvjetima bez tretmana, uz dodatak giberelinske kiseline koja je promotor klijavosti i uz predtretman pothlađivanja (stratifikacije). Sjeme sabrano tijekom 2008. godine pokazalo je bolju klijavost u odnosu na sjeme sabrano 2009. godine, čime je potvrđena dormantnost tek ubranog sjemena i dobra klijavost godinu dana starog sjemena, utvrđena i za vrstu *H. perforatum* var. *angustifolium*. Također, ovim je istraživanjem utvrđeno da tip dormantnosti sjemenki vrste *H. olympicum* nije dugotrajna fiziološka dormantnost, nego da sjeme prolazi kroz fazu morfofiziološke dormancije budući je uočen signifikantan pozitivni utjecaj giberelinske kiseline kao promotora klijavosti. Iz dobivenih se rezultata može zaključiti da stratifikacija nema utjecaja na prekidanje dormantnosti i klijanje sjemena vrste *H. Olympicum* L.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 53 stranice, 5 grafička prikaza, 8 tablica i 30 literaturnih navoda.
Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: *Hypericum olympicum* L., klijavost, giberelinska kiselina, stratifikacija

Mentori: **Dr. sc. Kroata Hazler Pilepić**, redovita profesorica Sveučilišta u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta
Dr. sc. Željko Maleš, redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-
biokemijskog fakulteta

Ocjenjivači: **Dr. sc. Željko Maleš**, redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-
biokemijskog fakulteta
Dr. sc. Ana Mornar Turk, redovita profesorica Sveučilišta u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta
Dr. sc. Maja Šegvić Klarić, redovita profesorica Sveučilišta u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta

Rad prihvaćen: listopad 2019.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Department of Pharmaceutical Botany
Schrottova, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

SEED GERMINATION OF *Hypericum olympicum* L.

Željka Bakotić

SUMMARY

The aim of this thesis was to investigate seed germination of *Hypericum olympicum* L. in laboratory conditions. The seeds were gathered in autumn of 2008. and 2009., and the testing was done in three different experiments: in conditions without any treatment, in conditions where gibberelic acid was added as a seed promotor and in conditions of seed stratification. The seeds from 2008. showed better germination than the seeds gathered in 2009., which showed the dormancy of seeds that were gathered later and good seed germination of one year old seeds, traits that were confirmed also for *H. perforatum* var. *angustifolium*.

The experiments also showed that the type of dormancy of *H. olympicum* seeds is not a long-lasting physiological dormancy, but that the seeds go through the phase of morphophysiological dormancy, the fact that was confirmed from the significantly positive influence of gibberelic acid as a promotor of seed germination. From the results of the experiments it can be concluded that stratification has no influence on termination of dormancy, as well as on germination of seed of *H. olympicum*.

The thesis is deposited in the Central Library of Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 53 pages, 5 figures, 8 tables and 30 references.
Original is in Croatian language.

Keywords: *Hypericum olympicum* L., germination, gibberellic acid, stratification

Menthor: **Kroata Hazler Pilepić, Ph. D.** Full Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Željkan Maleš, Ph. D. Full Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Reviewers: **Željkan Maleš, Ph.D.** Full Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Ana Mornar Turk, Ph.D. Full Proffesor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Maja Šegvić Klarić, Ph.D. Full Proffesor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

The thesis accepted: October 2019.