

# ULOGA SUMPOROVODIKA U OTPORNOSTI SUNCOKRETA (*Helianthus annuus* L.) NA SUŠNI STRES U KLIJANJU I RANOM PORASTU

---

Ocvirk, Dijana

Doctoral thesis / Disertacija

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj  
Strossmayer University of Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:236:435917>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-11**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Doctoral School, Josip Juraj University  
in Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

INSTITUT RUĐER BOŠKOVIĆ, ZAGREB

Interdisciplinarni doktorski studij Zaštita prirode i okoliša

Mr. sc. Dijana Ocvirk

**ULOGA SUMPOROVODIKA U OTPORNOSTI SUNCOKRETA  
(*Helianthus annuus* L.) NA SUŠNI STRES  
U KLIJANJU I RANOM PORASTU**

Doktorski rad

OSIJEK, 2024.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

INSTITUT RUĐER BOŠKOVIĆ, ZAGREB

Interdisciplinarni doktorski studij Zaštita prirode i okoliša

Mr. sc. Dijana Ocvirk

**ULOGA SUMPOROVODIKA U OTPORNOSTI SUNCOKRETA  
(*Helianthus annuus* L.) NA SUŠNI STRES  
U KLIJANJU I RANOM PORASTU**

Doktorski rad

OSIJEK, 2024.

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

---

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku  
Institut Ruđer Bošković, Zagreb  
Interdisciplinarni doktorski studij Zaštita prirode i okoliša

Doktorski rad

Znanstveno područje: Interdisciplinarno područje znanosti  
Znanstveno polje: Biologija, Poljoprivreda

## ULOGA SUMPOROVODIKA U OTPORNOSTI SUNCOKRETA (*Helianthus annuus* L.) NA SUŠNI STRES U KLIJANJU I RANOM PORASTU

mr. sc. Dijana Ocvirk

Doktorski rad je izrađen na Fakultetu agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Mentor: prof. dr. sc. Miroslav Lisjak

Komentor: izv. prof. dr. sc. Selma Mlinarić

### Sažetak doktorskog rada:

U ovom istraživanju je provedena serija pokusa s dva hibrida suncokreta (*Helianthus annuus* L.), Luka i Apolon, naklijavanjem sjemena na filter papiru u kontroliranim uvjetima u klima komori te s hibridom Luka i njegovim roditeljskim linijama, u poljskim uvjetima naklijavanjem u posudama s tlom. Cilj istraživanja je bio utvrditi fiziološku ulogu sumporovodika ( $H_2S$ ) u klijancima uzgojenim iz sjemena koje je prethodno primirano u otopinama natrijevog hidrosulfida ( $NaHS$ ) te su klijanci uzgajani u uvjetima sušnog stresa. U pokusu u kontroliranim uvjetima, povećanje razine osmotskog stresa primjenom rastućih koncentracija polietilen glikola (PEG) 6000 je smanjilo vigor sjemena kod oba testirana hibrida te je najistaknutiji pozitivan učinak prethodnog primiranja sjemena donorom sumporovodika utvrđen pri niskoj (2,5 % PEG) i srednjoj (5 % PEG) razini osmotskog stresa. U poljskom pokusu, primiranje sjemena otopinom  $NaHS$  rezultiralo je zadržavanjem visokog postotka klijavosti kod hibrida Luka te obje roditeljske linije uzgajane pri sušnom stresu iniciranom saturacijom tla vodom do 30 % poljskog vodnog kapaciteta (PVK). Najistaknutiji pozitivan učinak  $NaHS$  na povećanje klijavosti, mase nadzemnog dijela i listova u uvjetima sušnog stresa, utvrđen je kod majčinske linije te je općenito odgovor na osmoprimiranje ovisio o genotipu. Također, primiranje sjemena  $NaHS$ -om nije rezultiralo stimulacijom enzimatskog antioksidativnog obrambenog mehanizma. Dobiveni rezultati ovog istraživanja mogu dati buduće smjernice selekcijskom i oplemenjivačkom procesu s ciljem povećanja otpornosti suncokreta na sušu, što je u vrijeme izraženih klimatskih promjena od velikog značaja za proizvodnju ove strateški važne uljarice.

Broj stranica: 124

Broj grafikona: 4

Broj tablica: 59

Broj literaturnih navoda: 141

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: osmotski stres, primiranje sjemena, sumporovodik, sušni stres, vigor sjemena

Datum obrane: 05.02.2024.

### Povjerenstvo za obranu:

- prof. dr. sc. Tihana Teklić, redovita profesorica u trajnom izboru, predsjednica
- izv. prof. dr. sc. Ivna Štolfa Čamagajevac, izvanredna profesorica, član
- dr. sc. Ivica Liović, znanstvenik savjetnik u trajnom izboru, član
- doc. dr. sc. Ivana Varga, docentica, zamjenski član
- izv. prof. dr. sc. Rosemary Vuković, izvanredna profesorica, zamjenski član

Rad je pohranjen u: Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici Zagreb, Ul. Hrvatske bratske zajednice 4, Zagreb; Gradskoj i sveučilišnoj knjižnici Osijek, Europska avenija 24, Osijek; Sveučilištu Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Trg sv. Trojstva 3, Osijek

## BASIC DOCUMENTATION CARD

---

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek  
Ruder Bošković Institute, Zagreb

PhD thesis

Interdisciplinary Doctoral Study of Environmental Protection and Nature Conservation

**Scientific Area:** Interdisciplinary area of science

**Scientific Fields:** Biology, Agronomy

### THE ROLE OF HYDROGEN SULFIDE IN THE RESISTANCE OF SUNFLOWER (*Helianthus annuus* L.) TO DROUGHT STRESS IN GERMINATION AND EARLY GROWTH

MSc Dijana Ocvirk

**Thesis performed at** Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek

**Supervisor:** *PhD Miroslav Lisjak, full professor*

**Co-supervisor:** *PhD Selma Mlinarić, associate professor*

#### Summary:

In this research, a series of experiments was carried out with two sunflower (*Helianthus annuus* L.) hybrids, Luka and Apolon, by germinating seeds on filter paper under controlled conditions in a climate chamber, as well as with hybrid Luka and his parental lines, in a field conditions by germinating seed in pots filled with the soil. The aim of the research was to determine the physiological role of hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) in seedlings grown from seeds previously primed in sodium hydrosulfide (NaHS) solutions and exposed to drought stress conditions during germination. In an experiment under controlled conditions, increasing the level of osmotic stress by applying increasing concentrations of polyethylene glycol (PEG) 6000 reduced seed vigor in both tested hybrids, and the most prominent positive effect of pre-sowing seed priming with a hydrogen sulfide donor was determined at low (2.5% PEG) and medium (5% PEG) level of osmotic stress. In a field experiment, seed priming with NaHS solution resulted in maintaining a high percentage of germination in the hybrid Luka and both parental lines grown under drought stress initiated by soil saturation with water up to 30% of the field water capacity (FWC). The most prominent positive effect of NaHS on the increase in germination, mass of the aerial part and leaves under conditions of drought stress was determined in the maternal line, and the response to osmopriming depended on the genotype in general. Also, seed priming with NaHS did not result with stimulation of the enzymatic antioxidant defense mechanism. The obtained results of this research can provide future guidelines for the selection and breeding process with the aim of increasing sunflower drought resistance, which is of great importance for the production of this strategically important oil crop in times of severe climate change.

**Number of pages:** 124

**Number of figures:** 4

**Number of tables:** 59

**Number of references:** 141

**Original in:** Croatian

**Key words:** osmotic stress, hydrogen sulfide, drought stress, seed priming, seed vigor

**Date of the thesis defense:** 05.02.2024

#### Reviewers:

1. *PhD Tihana Teklić, full professor, president*
2. *PhD Ivna Štolfa Čamagajevac, associate professor, member*
3. *PhD Ivica Liović, senior scientific adviser, member*
4. *PhD Ivana Varga, assistant professor, substitute member*
5. *PhD Rosemary Vuković, associate professor, substitute member*

**Thesis deposited in:** National and University Library in Zagreb, Ul. Hrvatske bratske zajednice 4, Zagreb; City and University Library of Osijek, Europska avenija 24, Osijek; Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Trg sv. Trojstva 3, Osijek

## Zahvala

Na ovoj stranici doktorandi se obično zahvaljuju ljudima koji su im pomogli tijekom pisanja disertacije ili koji su pak bili iznimno tolerantni u tom procesu. S obzirom da mi je bila potrebna cijela vječnost da napišem ovu disertaciju, na ovoj stranici nema dovoljno mjesta da se *primjereno* zahvalim samo jednoj od sljedećih osoba na ogromnoj pomoći, razumijevanju i podršci. Samo se nadam da će svatko od vas shvatiti koliko ste mi bili važni i koliko ste mi još uvijek važni...

Zahvaljujem:

Prof. dr. sc. Miroslavu Lisjaku svome mentoru, učitelju i prijatelju, za nesebično i strpljivo prenošenje na mene svojeg znanja, prijateljstva i mudrosti, čije su povjerenje, pomoć, podrška i razumijevanje potpuni i bezrezervni i bez kojega ova disertacija ne bi bila napisana.

Izv. prof. dr. sc. Selmi Mlinarić, komentorici, koja je uložila svoje vrijeme i trud te mi svojim sugestijama omogućila da doktorski rad bude uspješan i kvalitetan.

Prof. dr. sc. Tihani Teklić, još jednoj mentorici i učiteljici, na znanstvenom i stručnom usmjeravanju, korisnim savjetima te nesebičnoj pomoći i razumijevanju tijekom izrade ovog dokorskog rada.

Dr. sc. Ivici Lioviću, izv. prof. dr. sc. Ivni Štolfi Čamagajevac te doc. dr. sc. Ivani Vargi, na brzom pregledu dokorskog rada i korisnim savjetima.

Dr. sc. Mariji Špoljarević, na angažmanu i nesebičnoj pomoći tijekom obavljanja laboratorijskih analiza mog znanstveno istraživačkog rada.

Dr. sc. Mariji Kristić, na pomoći u laboratorijskim analizama.

Svim djelatnicama Hrvatske agencije za poljoprivredu i hranu, Centra za sjemenarstvo i rasadničarstvo, Laboratorija za ispitivanje sjemena i Odjela za biotehnološke analize, mikotoksine i rezidue pesticida, na strpljenu i potpori tijekom pisanja disertacije.

Mojoj dragoj obitelji i prijateljima zahvaljujem na ljubavi, bezuvjetnoj podršci i neizmjernej vjeri u moj uspjeh.

Svetom Judi Tadeju, zaštitniku nemogućeg, ovaj put si uložio mnogo truda. Hvala ti!

Ovaj rad posvećujem svom suprugu i prijatelju već punih dvadeset godina.

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Ciljevi istraživanja .....</b>	<b>2</b>
<b>1.2. Hipoteze .....</b>	<b>2</b>
<b>2. PREGLED LITERATURE.....</b>	<b>3</b>
<b>2.1. Suncokret.....</b>	<b>3</b>
<b>2.2. Djelovanje stresa na staničnoj i molekularnoj razini.....</b>	<b>3</b>
<b>2.3. Stanični prijenos signala u uvjetima sušnog stresa.....</b>	<b>6</b>
<b>2.4. Uloga sumpora u otpornosti suncokreta na sušni i osmotski stres.....</b>	<b>9</b>
<b>3. MATERIJAL I METODE .....</b>	<b>12</b>
<b>3.1. Postavljanje laboratorijskog pokusa.....</b>	<b>12</b>
3.1.1. Određivanje energije klijanja i standardne klijavosti .....	12
3.1.2. Određivanje mase klijanaca.....	12
3.1.3. Određivanje sadržaja vodikovog peroksida.....	12
3.1.4. Određivanje intenziteta lipidne peroksidacije .....	13
3.1.5. Određivanje sadržaja slobodnog prolina .....	13
<b>3.2. Poljski pokus .....</b>	<b>14</b>
3.2.1. Ekstrakcija topljivih proteina .....	15
3.2.2. Određivanje aktivnosti askorbat-peroksidaze (EC 1.11.1.11).....	16
3.2.3. Određivanje aktivnosti katalaze (EC 1.11.1.6).....	16
3.2.4. Određivanje aktivnosti glutation-reduktaze (EC 1.6.4.2).....	16
3.2.5. Određivanje aktivnosti dehidroaskorbat-reduktaze (EC 1.8.5.1.) .....	17
3.2.6. Određivanje sadržaja proteina .....	17
<b>3.3. Obrada podataka .....</b>	<b>18</b>
<b>4. REZULTATI.....</b>	<b>19</b>
<b>4.1. Laboratorijski pokus .....</b>	<b>19</b>
4.1.1. Utjecaj primiranja sjemena suncokreta na vigor i biokemijske pokazatelje stresa u klijanjima hibrida Luka u uvjetima smanjene pristupačnosti vode .....	19

4.1.2. Utjecaj primiranja sjemena suncokreta na vigor i biokemijske pokazatelje stresa u klijancima hibrida Apolon u uvjetima smanjene pristupačnosti vode .....	32
<b>4.2. Poljski pokus .....</b>	<b>44</b>
4.2.1. Utjecaj primiranja sjemena suncokreta hibrida Luka i njegovih roditeljskih linija na pokazatelje rasta klijanaca uzgajanih u uvjetima sušnog stresa .....	44
4.2.2. Utjecaj primiranja sjemena suncokreta hibrida Luka i njegovih roditeljskih linija na aktivnost antioksidativnih enzima u klijancima uzgajanim u uvjetima sušnog stresa .....	58
<b>5. RASPRAVA .....</b>	<b>88</b>
<b>6. ZAKLJUČAK .....</b>	<b>99</b>
<b>7. POPIS LITERATURE .....</b>	<b>102</b>
<b>8. POPIS TABLICA .....</b>	<b>115</b>
<b>9. POPIS GRAFIKONA.....</b>	<b>123</b>
<b>10. ŽIVOTOPIS .....</b>	<b>124</b>



## 1. UVOD

Biljke su se evolucijski razvile kao sesilni organizmi te su tijekom rasta i razvoja neprekidno suočene s velikim odstupanjem okolišnih uvjeta od optimuma, koji biljni metabolizam često dovode do gornje granice elastičnosti. Zasljenost tla, nedostatak vode, visoke ili niske temperature, različite toksične tvari, patogeni mikroorganizmi i štetnici su faktori koji često izazivaju stres kod biljaka koji nepovoljno utječe na rast, a što se u biljnoj proizvodnji reflektira kroz gubitak kvantitete i kvalitete prinosa.

Tolerantnost biljke na stres odnosi se na preživljavanje odnosno oporavak biljke kako bi, s agronomskog gledišta, utjecaj na kvalitetu i kvantitetu prinosa ostvarenog u stresnim uzgojnim uvjetima bio što manji. Adekvatna opskrba vodom i hranjivim tvarima važni su čimbenici koji utječu na optimalan rast biljaka i uspješnu poljoprivrednu proizvodnju. Sušni stres je među najznačajnijim ograničavajućim faktorima rasta usjeva, posebno u sušnim i polu-sušnim regijama svijeta jer voda ima vitalnu ulogu u rastu i razvoju biljaka kroz sve faze rasta. Istraživanja pokazuju da sumporovodik ( $H_2S$ ) ima vrlo važnu fiziološku ulogu u biljnim stanicama, naročito u uvjetima biotičkog i abiotičkog stresa. Poboljšana organogeneza korijena i klijavost sjemena egzogenom primjenom sumporovodika je zabilježena kod nekoliko biljnih vrsta. Također je dokazano da sumporovodik povećava toleranciju na smrzavanje izdanaka te štiti biljku od osmotskog stresa.

Zbog brzih klimatskih promjena te velike oscilacije klimatskih faktora koji utječu na rast i produktivnost biljaka, poboljšanje otpornosti na sušu jedan je od glavnih oplemenjivačkih ciljeva (De Leonardis i sur., 2012.). U tropskim i suptropskim regijama očekuje se da će povećanje sezonske temperature od  $1\text{ }^{\circ}\text{C}$  izravno uzrokovati gubitke prinosa od 2,5 % do 16 % kod najznačajnijih usjeva (Sehar i sur., 2022.). Na globalnoj razini, kulturni suncokret (*Helianthus annuus* L.) je po važnosti četvrta uljarica nakon soje, uljane repice i šafranike te se smatra najprofitabilnijom i najekonomičnijom uljaricom (Adeleke i Babalola, 2020.). Otpornost suncokreta prema suši zavisi od njegovih morfoloških, genetskih i fizioloških svojstava. Iz ovih razloga jedan od glavnih mehanizama otpornosti prema suši realizira se ciljanom selekcijom na određene fiziološke i morfološke parametre čije poboljšanje omogućava racionalnije korištenje zalihama vode u vrijeme stresnog razdoblja. Oplemenjivački procesi kod suncokreta usmjereni su na produženje vijeka trajanja listova s ciljem očuvanja fotosintetski aktivne površine i smanjenja štetnog učinka nedostatka vode. Osim selekcije, primjena ekološki prihvatljivih kemijskih spojeva poput  $H_2S$ , koji osim što djeluju fungicidno, utječu i na povećanje tolerancije na abiotičke tipove stresa poput suše, naročito u početnom porastu usjeva te ima veliku perspektivu u poljoprivrednoj proizvodnji.

Na temelju navedenog, ovaj doktorski rad ima za cilj istražiti potencijalnu upotrebu donora  $H_2S$ , NaHS, kao sredstva za primiranje sjemena suncokreta, očekujući njegove povoljne učinke na klijanje sjemena u PEG-induciranom vodenom stresu u kontroliranim uvjetima uzgojne komore, kao i na ranom rastu klijanaca suncokreta izloženih suši u prirodnim uvjetima. Analizirani morfo- i fiziološki parametri mogu doprinijeti boljem

razumijevanju tolerancije suncokreta na sušu i H<sub>2</sub>S-posredovanog odgovora na sušu ove važne vrste usjeva.

### **1.1. Ciljevi istraživanja**

- Utvrditi da li sumporovodik, kao plin koji dospijeva u atmosferu procesima raspadanja organske materije, geološkom aktivnošću ali i unutarnjom produkcijom i oslobađanjem iz živih stanica, ima zaštitnu ulogu kod biljaka u uvjetima okolišnog stresa.
- Utvrditi utjecaj primiranja sjemena s otopinama NaHS na pokazatelje vigora suncokreta naklijavanog u uvjetima osmotskog stresa.
- Utvrditi da li postoji genetska specifičnost u metaboličkom odgovoru klijanaca na spomenute predstetvene tretmane sjemena naklijavanog u uvjetima osmotskog stresa.
- Utvrditi utjecaj primiranja sjemena s NaHS na vigor sjemena i antioksidativni odgovor kod klijanaca uzgajanih pri sušnom stresu kod 30 % PVK.
- H<sub>2</sub>S je kao plin prisutan u atmosferi tijekom cijele njezine evolucije te se očekuje da biljne stanice reagiraju na njegovo prisustvo, pošto je evolucija živog svijeta usko povezana uz promjenu uvjeta u atmosferi.

### **1.2. Hipoteze**

Osnovne hipoteze istraživanja su da H<sub>2</sub>S utječe na vigor sjemena suncokreta i biokemijske pokazatelje stresa kod klijanaca, da postoji genetska specifičnost u odgovoru na osmotski i sušni stres te da H<sub>2</sub>S može smanjiti štetne učinke osmotskog i sušnog stresa.

## 2. PREGLED LITERATURE

### 2.1. Suncokret

Suncokret potječe iz Amerike, točnije Meksika i Perua. Najprije je uzgajan kao ukrasna biljka, zatim se sjeme koristilo za prehranu ptica, a naposljetku su ljudi počeli jesti jezgru iz sjemena. Putt (1978.) navodi da je 1840. godine prvi put dobiveno ulje iz suncokreta. Kulturni suncokret (*Helianthus annuus* L.) u svjetskom uljnom kompleksu rangira se kao jedna od četiri najvažnije jednogodišnje kulture za proizvodnju kvalitetnog jestivog ulja (Kaya i sur., 2012.; Seiler i Gulya, 2016.). Prema FAOSTAT podacima za 2021. g. suncokret se uzgajao na većini kontinenta a najviše u Europi (74 %). U svijetu je bilo zasijano 29 531 998 ha suncokreta s prosječnim urodom od 1 970 kg ha<sup>-1</sup>, odnosno proizvedeno je 58 185 634 t zrna. U Republici Hrvatskoj je u istoj godini zasijano 40 969 ha, prosječni urod je bio 2 984 kg ha<sup>-1</sup> i proizvedeno je 124 363 t zrna. Suncokret je u Republici Hrvatskoj relativno nova kultura u odnosu na glavne ratarske kulture, jer se sije u kontinuitetu zadnjih pedesetak godina (Bilolić, 2020.). Sadašnja proizvodnja suncokreta u zemlji nije dostatna za domaće potrebe te se uvoze značajne količine ulja. Suncokret se ističe širokim spektrom upotrebe: proizvodnja jestivog ulja i margarina, majoneze, stearina (služi u proizvodnji svijeća, plastike, sapuna, kozmetike i za omekšivanje gume), farmaceutskih proizvoda, boja, lakova i dr. Glave suncokreta imaju puno hranjivih tvari, pa se mogu koristiti za prehranu domaćih životinja. Može se uzgajati kao uljani ili proteinski te kao glavni, naknadni i postrni usjev. Iako se suncokret prilagođava širokom rasponu tala i klimatskim uvjetima, otpornost suncokreta prema suši zavisi od njegovih morfoloških, strukturnih i fizioloških osobina (Connor i Hall, 1997.). Iz ovih razloga jedan od glavnih mehanizama otpornosti prema suši realizira se izmjenom određenih fizioloških i morfoloških parametara što omogućava racionalnije korištenje zaliha vode u vrijeme stresnog razdoblja. Prema rezultatima Škorića (1989., 1992.) vrlo djelotvornim se pokazalo korištenje fenomena “stay green” u selekciji na otpornost prema zemljišnoj i zračnoj suši. Izbor genotipova s ovim svojstvom ne dovodi samo do povećanja otpornosti prema suši, već i prema zarazi vrstama *Phomopsis*-u i *Macrophomina phaseoli* (Tančić-Živanov i sur., 2021.). U oplemenjivačkim centrima koriste se različite tehnike i parametri za ocjenu i izbor genotipova.

### 2.2. Djelovanje stresa na staničnoj i molekularnoj razini

Cheeseman (2013.) navodi da velika odstupanja osnovnih okolišnih čimbenika uzrokuju fiziološki i metabolički odgovor kod biljaka, koji se reflektira kroz poremećaje rasta i razvoja, što na globalnoj razini predstavlja prijetnju održivoj poljoprivredi. U poljskim uvjetima, usjevi i druge biljke su najčešće izložene kombinaciji različitih abiotičkih stresova (Boyer, 1982.; Ahuja i sur., 2010.; Atkinson i Urwin, 2012.). Na primjer, toplinski stres često prati nedostatak vode, a sušu prekomjerna zastupljenost soli u tlu. Stoga je učinak abiotskog stresa na biljke postao važna tematika zbog zabrinutosti o učincima klimatskih promjena na biljne resurse, bioraznolikost i globalnu nestašicu hrane.

Prema Lichtenthaleru (1996.), stres kod biljaka podrazumijeva svako nepovoljno stanje ili tvar koja utječe ili blokira metabolizam, rast ili razvoj biljaka. Rasheed (2009.) smatra da su stresni okolišni uvjeti odgovorni za promjene na molekularnoj i fiziološkoj razini pojedinih biljnih tkiva kao i cijele biljke, pri čemu nastaju vidljive morfološke promjene na biljkama kao rezultat učinka kumulativnog djelovanja pojedinih činitelja, kao i specifičnog sortnog odgovora na stres koji se temelji na promjeni ekspresije gena i metaboličkih procesa. S tim se slažu Dubravec i Regula (1995.) koji ističu da se na određen način, čimbenici vanjske sredine odražavaju na stupanj intenziteta, oblikovanja i manifestacije nasljednih potencijala. Na pojedine utjecaje vanjske sredine biljke reagiraju nejednakim intenzitetom. One posjeduju određenu otpornost prema okolišnim čimbenicima, a svaka otpornost ima kompleksno značenje. Na razinu otpornosti s jedne strane utječu biološka svojstva biljke, a s druge niz faktora koji su djelovali u određenom momentu tijekom životnog procesa biljke. Tolerantnost biljke na stres odnosi se na preživljavanje odnosno oporavak biljke, kako bi utjecaj stresa na kvalitetu i kvantitetu prinosa ostvarenog u nepovoljnim uzgojnim uvjetima bio što manji. Adekvatna opskrba vodom i hranjivim tvarima važni su čimbenici koji utječu na optimalan rast biljaka i uspješnu poljoprivrednu proizvodnju. Svi živi organizmi imaju niz mehanizama za borbu protiv ekološkog stresa (Capaldi i sur., 2015.). Otpornost prema suši je svojevrsna osobina biljaka da podnose nedostatak vode. Nedostatak vode može se pojaviti u tlu ali i zraku. Otpornost biljaka prema suši ovisi o njihovim morfološkim, anatomskim i fiziološkim svojstvima, odnosno o sposobnosti prilagodbe u takvim uvjetima. Otpornost na sušu ima dinamički značaj koji se razvija kao proces tijekom ontogeneze. Veliki značaj također imaju koloidno-kemijska svojstva protoplazme: elastičnost, viskozitet, količina vezane vode, itd. Wang i sur. (2003.) tvrde da su suša, ekstremne temperature te solni i oksidativni stres najčešće međusobno povezani te mogu izazvati slična stanična oštećenja. Slijedom toga i reakcije biljaka na sušu i zaslanjenost su u korelaciji. Stanični i molekularni odgovori biljaka na okolišni stres intenzivno su proučavani posljednjih godina (Zhang i sur., 2020.; Mittler i sur., 2022.; Priya i sur., 2023.). Razumijevanje mehanizama pomoću kojih biljke primaju signale iz okoline te ih prenose staničnim mehanizmima kako bi se aktivirali adaptivni odgovori, od temeljnog su značaja za biologiju. Znanje o pretvorbi signala stresa je također od vitalnog značaja za daljnji razvoj racionalnog uzgoja i transgene strategije za poboljšanje otpornosti na stres kod usjeva (Xiong i sur., 2002.).

Signalni putevi predstavljaju odgovor na stres u okolišu i nedavne molekularne i genetske studije su pokazale da ti putevi uključuju mnoge komponente. Raznovrsnost informacija ugrađenih u abiotske signale stresa u osnovi je složenosti signalizacije stresa. Ipak, većina studija o signalizaciji vodnog stresa usredotočena je prvenstveno na solni stres, jer su reakcije biljaka na sol i sušu usko povezane i mehanizmi se preklapaju (Zhu, 2002.). Biljke reagiraju na stres kako na molekularnoj tako i na staničnoj razini. Mnoštvo različitih gena dolazi do izražaja kao odgovor na stres. Smatra se da proizvodi ovih gena djeluju ne samo u toleranciji na stres već i u regulaciji ekspresije gena i prijenosu signala u reakciji na stres (Shinozaki, 2003.). Sušni stres je među najznačajnijim ograničavajućim faktorima rasta usjeva, posebno u sušnim i polu- sušnim regijama svijeta, jer voda ima

vitalnu ulogu u rastu i razvoju biljaka kroz sve faze rasta. Mnogi znanstvenici sušnu smatraju najvažnijom prijetnjom za proizvodnju usjeva u svijetu (Balestrini i sur., 2018.; Farook i sur., 2009., 2012.; Fotopoulos i sur., 2013.; Li i sur., 2016.; Paul i Roychoudhury, 2020.). Ovisno o biljnoj vrsti, nedostatak pristupačne vode u tlu za biljku je najkritičniji u stadijima klijanja, nicanja i cvatnje. Procjenjuje se da suša uzrokuje više od 50 % smanjenja prinosa usjeva (Bukhari i sur., 2019.), a šteta uzrokovana sušnim stresom predstavlja značajan gubitak količine i kvalitete prinosa usjeva. Bez sumnje, postoji međunarodni interes za povećanjem proizvodnje biljaka otpornih na sušni stres (Ilyas i sur., 2020.). Razvoj usjeva s povećanom otpornošću na sušu, prema Farooqu i sur. (2009.), između ostalog, zahtijeva poznavanje fizioloških mehanizama i genetske kontrole svojstava koja pridonose otpornosti biljaka u različitim fazama razvoja. Početni učinak suše na biljke je loša klijavost i slabo razvijeni klijanci (Fahad i sur., 2017.). Ako biljke u ovoj fazi budu izložene suši, ne postoji agrotehnička mjera koja bi omogućila optimalan sklop kao preduvjet za postizanje željenog prinosa. Međutim, Kaya i sur. (2006.) su naveli da tehnike primiranja mogu pomoći u smanjenju rizika od lošeg sklopa i omogućiti ujednačeniji rast u uvjetima nepravilnih padalina i suše na slanim tlima. Stoga, značajna se pozornost pridaje štetnim učincima ekstremnih okolišnih uvjeta na biljke i njihovo ublažavanje egzogenom primjenom različitih sredstava primiranja. Postoji mnoštvo izvješća koja se bave kemijskim predtretmanom biljaka, s ciljem učinkovitijeg aktiviranja staničnih obrambenih mehanizama koji su izazvani čimbenicima abiotskog stresa (Fotopoulos i sur., 2013.). Dakle, jedan od kratkoročnih i najpragmatičnijih pristupa za povećanje otpornosti biljaka na nedostatak vode je primiranje sjemena. Ovaj pristup je primijenjen za prevladavanje učinaka sušnog stresa u mnogim biljnim vrstama (Farooq i sur., 2009.), ali nije isključivo povezan sa sušnim stresom. Posljednjih godina primiranje sjemena je dobilo veliku pozornost kao nezamjenjiva metoda za proizvodnju biljaka otpornih na različite stresove (Sen i Puthur, 2020.; Rhaman i sur., 2020.; Liu i sur., 2022.). U usporedbi sa pojedinačnim kemijskim spojevima, neke mješavine aktivnih tvari koje se koriste kao agensi za primiranje mogu značajno poboljšati toleranciju različitih biljnih vrsta na abiotički stres (Antoniou i sur., 2020.). Kako navode Balestrini i sur. (2018.), primjena takvih spojeva za primiranje prije izlaganja biljaka stresu rezultira mnogim transkripcijskim modifikacijama koje mogu ali i ne moraju biti specifične za upotrijebljeno aktivno sredstvo. Autori su utvrdili da je potrebno detaljnije istražiti zaštitni potencijal različitih kemijskih spojeva koji se koriste za primiranje sjemena. Ukratko, primiranje sjemena je predtretman u kojemu se sjeme tretira s otopinama na bazi vode kako bi se sjeme umjereno hidratiziralo, do točke kada započinju metabolički procesi prije klijanja, bez vidljivog klijanja. Nakon toga, sjeme se ponovno suši do skladišne vrijednosti udjela vlage kako bi bilo spremno za daljnje korištenje (Farooq i sur., 2019.). Primiranje sjemena utječe na klijavost, vigor sjemena i razvoj klijanaca u različitim ekološkim uvjetima (Draganić i Lekić, 2012.). Uz uobičajeno ranu i ujednačenu klijavost, biljke uzgojene iz primiranog sjemena uglavnom pokazuju brze obrambene reakcije stanica na različite abiotičke stresove, a ukupni rast biljaka je poboljšan (Jisha i sur., 2013). Potrebno je naglasiti da se primiranje sjemena razlikuje od primiranja biljaka, iako oba postupka vode do poboljšane otpornosti na stres (Chen i Arora, 2012.). Kako primiranje uključuje različite mehanizme, Tanou i sur. (2012.)

sugeriraju da je važno okarakterizirati različite značajke kao i potencijalnu interakciju tih mehanizama na razini proteoma.

### 2.3. Stanični prijenos signala u uvjetima sušnog stresa

Sumporovodik u biljci ima u osnovi zadaću signalne molekule. Prema Hancock i sur. (2011.) postoji nekoliko reaktivnih spojeva za koje se smatra da sudjeluju u staničnoj signalizaciji. U takve spojeve spadaju reaktivne kisikove jedinice (eng. *Reactive Oxygen Species*, ROS), kao što su vodikov peroksid, superoksidni radikal, hidroksilni radikal itd., te reaktivne dušikove jedinice (RNS) kao što su dušik oksid radikal, peroksinitrit itd. Fiziološki i metabolički mehanizmi regulacije antioksidativnog odgovora te signalne uloge pojedinih specifičnih i kemijski jednostavnih plinovitih spojeva poput ugljičnog monoksida, dušikovog oksida, molekularnog vodika te sumporovodika, još uvijek su nedovoljno istražene (Raza i sur., 2022.). Donedavno se smatralo da je H<sub>2</sub>S fitotoksičan, no danas većina dokaza potvrđuje činjenicu da H<sub>2</sub>S također može imati signalnu ulogu i da po funkciji koju obavlja u stanici treba biti rangiran uz RNS i ROS. Pri visokim koncentracijama sumporovodik inhibira enzime poput citokrom c-oksidge, no pri nižim koncentracijama djeluje na pozitivan način. Postoji nekoliko kriterija prema kojima se ROS i RNS ocjenjuju kao signalizacijske komponente. Signalne molekule moraju se proizvoditi u slučaju potrebe te se kretati prema mjestu djelovanja, gdje će biti prepoznate i nakon toga izazvati stanične odgovore. Signalne molekule često tvore mrežu unakrsnog provođenja signala pa iz tog razloga postoje fiziološki putevi koji uklanjaju signalne molekule nakon prestanka potrebe za njihovim djelovanjem.

Sumporovodik (H<sub>2</sub>S) je 2013. godine prvi puta opisan kao potencijalni spoj za primiranje sjemena (Christou i sur., 2013.). Savvides i sur. (2015.) su zaključili da primiranje biljaka kemijskim agensima kao što su natrijev nitroprusid (koji oslobađa dušikov oksid: NO), vodikov peroksid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), natrijev hidrosulfid (koji oslobađa H<sub>2</sub>S), melatonin i poliamini povećava toleranciju biljaka na različite abiotske stresove, poboljšavajući staničnu homeostazu i rast biljaka u uvjetima stresa. H<sub>2</sub>S je prepoznat kao novi plinoviti prenositelj signala koji je aktivno uključen u različite biološke procese, kao što su klijanje sjemena, razvoj korijena, rad puči, fotosinteza, starenje i rast biljaka općenito. Štoviše, istraživanja pokazuju da primjena egzogenog H<sub>2</sub>S povećava toleranciju biljaka na uvjete abiotskog stresa, kao što su suša, salinitet, visoke koncentracije teških metala i temperaturni ekstremi (Fotopoulos i sur., 2013.; Calderwood i Kopriva, 2014.; Li i sur., 2017.; Hancock, 2019.; Singh i sur., 2020.). H<sub>2</sub>S je u interakciji s ROS-posredovanom mrežom odgovora na oksidativni stres na više razina, uključujući regulaciju sustava za obradu ROS transkripcijskim ili posttranslacijskim modifikacijama (Chen i sur., 2020.). Osim određenih specifičnih odgovora, u većini slučajeva, čini se da primjena egzogenog H<sub>2</sub>S poboljšava ekspresiju gena koji kodiraju enzime povezane s rezistencijom, kao što su katalaza (CAT), superoksid-dismutaza (SOD), kao i enzimske i neenzimske komponente askorbat-glutationskog ciklusa, koje smanjuju razinu H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> i stope peroksidacije lipida u biljkama pod stresom (Xuan i sur., 2020; Corpas i Palma, 2020.). Utvrđeno je da tretman s H<sub>2</sub>S povećava dostupnost reduciranog sumpora za sintezu glutaciona, glavnog sudionika u obrani od širokog spektra stresnih čimbenika (Calderwood i Kopriva, 2014.). Također,

opće je prihvaćeno da ova hlapljiva molekula ima važnu signalnu ulogu u različitim staničnim procesima i interakcijama u okolišu biljaka (Jin i Pei, 2016.; Zulfiqar i Hancock, 2020.; Chen i sur., 2020.). Ovaj plinoviti prenositelj signala je intenzivno proučavan posljednjih godina, a novi podaci promijenili su koncept uloge H<sub>2</sub>S od toksične molekule do ključne signalne molekule usporedive s H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> i NO (Hancock i sur., 2011.; Lisjak i sur., 2013.; Pandey i Gautam, 2020.). Tijekom određenih biljnih procesa, kao što su pokreti puči, koji su važan odgovor na stres od suše, H<sub>2</sub>S bi mogao djelovati uzvodno ili nizvodno od signalizacije NO i abscizinska kiselina (ABA) (Lisjak i sur., 2011.; Jin i sur., 2013.; Paul i Roychoudhury, 2020.). Doista, kada su biljke ugrožene raznim stresovima kao što su suša, temperaturni stres i salinitet, interakcija NO i H<sub>2</sub>S, između ostalih signalnih putova, regulira procese rasta i razvoja. Singh i sur. (2020.) navode da oni također pokreću formiranje unakrsne prilagodbe. Prema Shi i sur. (2013.), povećanje endogene razine H<sub>2</sub>S nakon tretmana stresa ukazuje na to da bi H<sub>2</sub>S također mogao biti važan sekundarni glasnik otkrivanja stresa, koji zauzvrat modulira fiziološke promjene u biljkama i ekspresiju gena nizvodno. Sadržaj endogenog H<sub>2</sub>S povećava se tijekom klijanja sjemena, dok tretman egzogenim natrijevim hidrosulfidom (NaHS - najviše korišteni donor H<sub>2</sub>S) pospješuje njegovo nakupljanje, što zauzvrat štiti klijance od oštećenja pojačavanjem aktivnosti amilaze i esteraze, smanjenjem oksidativnog oštećenja, sprječavanjem apsorpcije metalnih iona i potiskivanjem ABA signalizacije (Xuan i sur., 2020.).

Uzimajući u obzir H<sub>2</sub>S kao primirajuće sredstvo, do sada prijavljeni učinci njegove egzogene primjene nedvojbeno su pokazali povoljan učinak na različite biljne vrste, posebno one od značajnog agronomskog interesa, u nepovoljnim uvjetima okoliša (Corpas, 2019.; Corpas i Palma, 2020.). Zanimljivo je da H<sub>2</sub>S može imati i kratkoročne i dugoročne učinke u biljnim stanicama (Zulfiqar i Hancock, 2020.). Iako je koncentraciju, vrijeme izlaganja i vrstu donora H<sub>2</sub>S potrebno prilagoditi svakom specifičnom stanju, biljke jasno pokazuju vanjske vizualne znakove oporavka nakon tretmana s H<sub>2</sub>S (Corpas, 2019.). Međutim, detaljni mehanizmi učinaka H<sub>2</sub>S na stresne reakcije biljaka u uvjetima nedostatka vode i dalje ostaju nejasni (Chen i sur., 2016.) i općenito nedovoljno istraženi (Kolupaev i sur., 2019.). Stoga je uloga H<sub>2</sub>S u povećanju tolerancije na stres biljaka suočenih s globalnim klimatskim promjenama iznimno važna, a egzogena primjena H<sub>2</sub>S čini se obećavajućim pristupom za ublažavanje problema sigurnosti hrane, posebno pod klimatskim fluktuacijama koje uzrokuju stresove u okolišu (Zulfiqar i Hancock, 2020.). Rezultati istraživanja Ding i sur. (2018.) pokazuju da H<sub>2</sub>S može ublažiti negativni utjecaj sušnog stresa kod klijanaca pšenice uključivanjem u različite biokemijske puteve te da metabolizam energije i ugljika, prijenos signala, antioksidativni kapacitet i sinteza proteina mogu igrati važnu ulogu u regulaciji sušnog stresa kod biljaka. Po mišljenju Baudouina i sur. (2016.), budući da su tretmani s donorima H<sub>2</sub>S učinkovito ublažili inhibiciju klijanja uzrokovanu abiotičkim stresom, budući radovi bi se trebali usredotočiti na otkrivanje uloge endogeno izazvanog H<sub>2</sub>S u toleranciji na abiotički stres tijekom klijanja sjemena i njegove važnosti za odabir i poboljšanje sorti.

Huang i Liao (2021.) smatraju da odgovor na izlaganje biljaka H<sub>2</sub>S, primjenom H<sub>2</sub>S donora, potvrđuje važnost uloge ovog spoja u odgovoru biljaka na abiotske tipove stresa

koje izazivaju teški metali, salinitet, suša i ekstremne temperature. Natrijev hidrosulfid je najčešće korišten donor u biljkama zbog izravnog i trenutnog otpuštanja H<sub>2</sub>S, a slijedi ga GYY4137. H<sub>2</sub>S može povećati otpornost biljaka na solni stres reguliranjem homeostaze Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>, a kada je riječ o stresu izazvanom povećanom koncentracijom teških metala, H<sub>2</sub>S se uključuje u regulaciju unosa i transporta metalnih iona. H<sub>2</sub>S također promiče ravnotežu ciklusa H<sub>2</sub>S-Cys u uvjetima abiotskog stresa te je istaknuta uloga u regulaciji antioksidativnog sustava, alternativnog respiratornog puta i sinteze kelatora teških metala. H<sub>2</sub>S koordinira stanični prijenos signala kroz interakciju s ostalim plinovitim signalnim molekulama, ROS i NO, izravno se uključujući u puteve njihove sinteze i nizvodnu regulaciju prijenosa signala. Štoviše, ističu autori, H<sub>2</sub>S stupa u interakciju s fitohormonima uključujući ABA, etilen, salicilnu kiselinu i melatonin kao i poliamine, kako bi regulirao odgovor biljaka na abiotske tipove stresa.

Thakur i Anand (2021.) navode da je sumporovodik mala, reaktivna signalna molekula koja se proizvodi unutar kloroplasta biljnih stanica, kao međuproizvod u asimilacijskoj redukciji sulfata pomoću enzima sulfit-reduktaze. Osim toga, H<sub>2</sub>S se također proizvodi u citoplazmi i mitohondrijima desulfhidratacijom l-cisteina koju katalizira l-cistein-desulfhidraza (DES1) u citoplazmi, odnosno iz β-cijanoalanina u mitohondrijima, u reakciji koju katalizira β-cijano-Ala sintaza C1 (CAS-C1). Također, H<sub>2</sub>S ima brojne biološke funkcije u post-translacijskoj modifikaciji koja uključuje oksidaciju cisteinskih ostataka (RSH) u persulfide (RSSH). Primjenom nižih koncentracija (10–1000 μmol l<sup>-1</sup>), H<sub>2</sub>S pokazuje veliki poljoprivredni potencijal jer povećava postotak klijanja, veličinu i masu sjemena te konačno prinos usjeva. Kod biljaka izloženih sušnom stresu, egzogena primjena H<sub>2</sub>S-a koristeći donore, poput natrijevog hidrosulfida (NaHS), rezultirala je pojačanom akumulacijom poliamina, šećera, glicin betaina te pojačavanjem aktivnosti antioksidativnih enzima, što je doprinijelo boljoj prilagodbi na stres (Thakur i Anand, 2021.). Na biokemijskoj razini, primjena donora sumporovodika smanjuje sadržaj malondialdehida i aktivnost lipoksigenaze kako bi se održao integritet stanice, utječe na mehanizme regulacije zatvaranja puči posredovano ABA, čime se smanjuje intenzitet transpiracije i ubrzava ciklus oporavka fotosustava II u uvjetima nedostatka vode.

Zhang i sur. (2008.) su istraživali utjecaj visokih koncentracija bakra (Cu) na klijavost pšenice uzgojene iz sjemena prethodno primiranog otopinama NaHS, donora sumporovodika. Uočili su brzu akumulaciju H<sub>2</sub>S u sjemenu te praćenjem parametara porasta klijanaca došli do zaključka da H<sub>2</sub>S smanjuje toksični efekat visoke koncentracije bakra. Zaključuju da je sumporovodik važan dio obrambenog mehanizma prilikom klijanja sjemena pri visokim koncentracijama bakra. Sumporovodik je također uključen u obrani stresa uzrokovanog deficitom vode te je dokazano da sudjeluje u mehanizmima regulacije otvaranja i zatvaranja puči. Jin i sur. (2011.) su kod klijanaca *Arabidopsis thaliana* L. utvrdili da tretman s H<sub>2</sub>S zatvara puči u uvjetima deficita vode te se na taj način smanjuje transpiracija što u konačnici rezultira povećanom stopom preživljavanja biljaka.

Shi i sur. (2013.) su istraživali utjecaj donora sumporovodika NaHS na povećanje tolerancija na više tipova abiotskog stresa kod prstastog troskota (*Cynodon dactylon* L.).



U istraživanjima je ispitivan solni stres izazvan primjenom 150 i 300 mM otopine NaCl, osmotski stres induciran s 15 % i 30 % otopinom PEG 6000 i stres izazvan niskom temperaturom gdje su biljke uzgajane pri 4 °C. Svi stresni tretmani su inducirali nakupljanje endogenog H<sub>2</sub>S, što ukazuje da H<sub>2</sub>S ima ulogu u reakcijama na solni, osmotski i hladni stres. Egzogeno primjena natrijevog hidrogensulfida rezultirala je povećanom tolerancijom na sve tipove induciranog stresa što se očitovalo kroz smanjenje ispiranja elektrolita i povećanja stope preživljavanja klijanaca u navedenim uvjetima.

#### **2.4. Uloga sumpora u otpornosti suncokreta na sušni i osmotski stres**

Suncokret je biljka s različitim primjenama, u prehrani ljudi i životinja, ali i za industrijsku i energetska upotrebu (Bonciu i sur., 2020.).

Usha i sur. (2009.) smatraju da je sumpor jedan od značajno ograničenih nutrijenata u polusušnim tropskim regijama. Autori ističu da njegova primjena ima važnu ulogu u poboljšanju prinosa i kvalitete kod uljarica. Ispitali su utjecaj elementarnog sumpora i sumpora dodanog u obliku kalcijevog sulfata (CaSO<sub>4</sub>) pri standardnoj gnojidbi fosforom i dušikom, na prinos i sadržaj ulja suncokreta (MSFH-8), uzgajanog pri visokim temperaturama na pjeskovitom ilovastom tlu. Zaključuju da sumpor dodan u obliku CaSO<sub>4</sub> ima značajno istaknutiji pozitivni učinak na povećanje prinosa i sadržaja ulja u sušnim uvjetima, u usporedbi s elementarnim sumporom te je najznačajnije povećanje prinosa postignuto u varijanti gnojidbe s 60 kg S ha<sup>-1</sup> uz 40 kg N i 30 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ha<sup>-1</sup>.

Osim nedostatka vode, prisustvo soli u tlu također može izazvati osmotski stres, sprječavajući usvajanje vode iz tla i u uvjetima kada pristupačne vode ima dovoljno. Aziz i sur. (2019.) smatraju da zaslanjivanje tla smanjuje prinos usjeva i pogoršava kvalitetu proizvoda u sušnim i polusušnim agroekološkim regijama. Autori smatraju da u takvim uvjetima regulacija usvajanja i translokacije mineralnih hraniva može pomoći u održavanju produktivnosti usjeva. Stoga su proveli pokus kako bi utvrdili optimalnu razinu sumpora za povećanje prilagodljivosti suncokreta na jaku zaslanjenost. Testirali su učinak dodanog sumpora u elementarnom obliku te u obliku kalijevog sulfata (K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), u rasponu koncentracija od 20 do 100 mg kg<sup>-1</sup> tla, pri razini zaslanjenosti od 100 mM NaCl. Dodatak sumpora uzrokovao je smanjenje nakupljanja Na<sup>+</sup> u tkivu i ispiranja elektrolita, dok je povećanje K<sup>+</sup> i Ca<sup>2+</sup> u tkivu uzrokovalo naknadno povećanje relativnog sadržaja vode i stope fotosinteze kod suncokreta. Povećanje razine sumpora primijenjenog u obliku K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> rezultiralo je linearnim povećanjem rasta biljaka i komponenti prinosa do razine 80 mg kg<sup>-1</sup> tla, nakon čega je došlo do opadanja navedenih pokazatelja, što sugerira da bi primjena sumpora u obliku K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> u dozi od 80 mg kg<sup>-1</sup> tla mogla biti optimalna koncentracija s pozitivnim učinkom na ublažavanje toksičnosti NaCl kod suncokreta.

Osmotski stres uslijed visoke zaslanjenosti tla, predstavlja ekološki izazov koji drastično utječe na rast i razvoj poljoprivrednih usjeva a time i na kvantitetu i kvalitetu prinosa. Stoga je nužna potraga za učinkovitim strategijama za poboljšanje otpornosti usjeva na osmotski stres uvjetovan nedostatkom vode i zaslanjenošću i održavanjem poljoprivredne

produktivnosti u takvim uvjetima. Primiranje sjemena je pouzdana, jednostavna, niskorizična i jeftina tehnika. Younis i sur. (2023.) su ispitali učinak primiranja sjemena s 0,5 mM otopinom NaHS, na ublažavanje štetnog utjecaja solnog stresa kod klijanaca suncokreta. Primirano i neprimirano sjeme zasijano je u tlo, navodnjavano vodom kroz 14 dana, a zatim 150 mM otopinom NaCl u trajanju od 7 dana. Solni stres je značajno smanjio porast klijanaca, akumulaciju biomase, usvajanje  $K^+$  i  $Ca^{2+}$  te je došlo do povećanog usvajanja i translokacije  $Na^+$  kationa. Štetni učinak solnog stresa bio je značajno niži kod klijanaca suncokreta uzgojenih iz sjemena koje je bilo prethodno primirano s  $H_2S$ . Također, tretman sjemena sumporovodikom je smanjio peroksidaciju lipida, ispiranje elektrolita i sadržaj vodikovog peroksida (HP) te podigao antioksidativni obrambeni sustav klijanaca u uvjetima solnog stresa. Obrambena uloga  $H_2S$  u uvjetima solnog stresa očitovala se u povećanju razine askorbata, glutationa i  $\alpha$  tokoferola, kao i aktivnosti enzima askorbat-glutation ciklusa, askorbat-peroksidaze, monodehidroaskorbat-reduktaze, dehidroaskorbat-reduktaze, glutation-reduktaze i glutation S-transferaze u kljancima suncokreta. Povećana razina endogenog  $H_2S$  i ukupnih tiola u uvjetima solnog stresa također je dodatno stimulirana primiranjem sjemena  $H_2S$ . Primiranje sjemena s donorima  $H_2S$  je potencijalno učinkovita strategija za poboljšanje tolerancije mladih biljaka suncokreta na osmotski stres i zaslanjenost. Pozitivni učinci ovog spoja vidljivi su kroz zadržavanje ionske homeostaze, smanjenje oksidativnog oštećenja, moduliranje ekspresije gena uključenih u ionsku homeostazu i uklanjanje ROS te poticanjem sinteze endogenog  $H_2S$ . Autori zaključuju da  $H_2S$  djeluje kao regulatorna molekula koja aktivira funkcionalne procese odgovorne za adaptivne mehanizme suncokreta u uvjetima osmotskog i solnog stresa.

Kaya i sur. (2006.) su istraživali utjecaj predsjetvenih tretmana sjemena suncokreta te utvrđivali čimbenike odgovorne za inhibiciju klijanja i rast klijanaca u uvjetima visoke zaslanjenosti ili osmotskog stresa. Autori su istraživali toleranciju sjemena suncokreta primiranog destiliranom vodom odnosno otopinom  $KNO_3$ , na povećano prisustvo soli (NaCl) i na osmotski stres induciran primjenom PEG. Rezultati su pokazali da oba navedena tretmana izazivaju osmotski stres kod sjemena te odgađaju početak klijanja, ali da su učinci pojedinog tipa stresa različiti. Kljavost, korijen i duljina izdanka bili su veći u varijanti gdje je dodan NaCl ali prosječno vrijeme kljavosti i postotak nenormalnih klijanaca su bili niži u usporedbi s varijantom u kojoj je dodana otopina PEG jednakog osmotskog potencijala. Kljavost sjemena je bila inhibirana pri svim koncentracijama NaCl, ali ne i pri -1,2 MPa otopine PEG. Na temelju dobivenih rezultata autori zaključuju je da je inhibicija klijanja istim osmotskim potencijalom otopina NaCl i PEG izazvana više osmotskim učinkom otopine nego toksičnošću soli.

Štetni učinci nedostatka vode na klijanje i rast klijanaca također su uočeni kod različitih kultura kao što su pšenica (Dhanda i sur., 2004.), šećerna repa (Sadeghian i Yavari, 2004.), sirak (Gill i sur., 2002.) i suncokret (Mohammad i sur., 2002.). Generalno gledano, mišljenja o otpornosti suncokreta na sušu i osmotski stres su različita, pa se istovremeno smatra da je tolerantna kultura (Markulj Kulundžić i sur., 2016.; Mahpara i sur., 2019.) kao i osjetljiva na sušu (Hussain i sur., 2014., 2015., 2018.; Sarvari i sur., 2016.). Zabilježeno je da je suncokret posebno osjetljiv na nedostatak vode u fazi klijanja

(Ahmad i sur., 2009.; Amin i sur., 2014.), te tijekom ranih vegetativnih faza (Vassilevska-Ivanova i sur., 2014.). Sajjan i sur. (1999.) izvijestili su o smanjenoj klijavosti i smanjenoj akumulaciji biomase suncokreta s povećanjem osmotskog stresa u mediju za naklijavanje, dok se prosječno vrijeme klijanja povećavalo s porastom deficita vode (El-Midaoui i sur., 2001.). Štoviše, različiti genotipovi suncokreta pokazali su različite reakcije na primijenjene tretmane stresa. Lenzi i sur. (1995.) su izvijestili da mutirano sjeme suncokreta kojemu nedostaje gen za sintezu abscizinske kiseline, pokazuje veću otpornost na osmotski stres, tj. sposobno je zadržati klijavost pri većem negativnom osmotskom potencijalu za razliku od sjemena izvornih hibrida ili sorti. Klijanje suncokreta je inhibirano u prisutnosti PEG 6000, pri osmotskom tlaku nižem od -5 bara (Smok i sur., 1993.).

Iz navedenih razloga je jasno da bi trebalo bolje poznavati fiziološke mehanizme otpornosti suncokreta na sušu, s ciljem poboljšanja njegovih agronomskih svojstava i dobivanja otpornijih hibrida u selekcijskom i oplemenjivačkom procesu (Baloğlu i sur., 2012.).

### **3. MATERIJAL I METODE**

#### **3.1. Postavljanje laboratorijskog pokusa**

Sjeme suncokreta (*Helianthus annuus* L.) F1 hibrida Luka i Apolon (proizvođač: Poljoprivredni institut Osijek) je prije naklijavanja primirano u otopinama donora sumporovodika, NaHS (natrijev hidrosulfid). Po 850 sjemenki je odbrojano u staklenke s poklopcem te primirano u 500 ml otopine NaHS koncentracija: 100  $\mu$ M, 500  $\mu$ M, 1000  $\mu$ M i 1500  $\mu$ M. Sjeme je primirano u navedenim otopinama 2 sata, nakon čega je osušeno na filter papiru pri sobnoj temperaturi narednih 36 sati.

Po 4 ubrusa navlažena su s 250 ml vode, odnosno otopina PEG 6000 u koncentracijama 2,5 %, 5 % i 10 %, osmotskog potencijala -0,19 MPa, -0,499 MPa, -1,483, MPa, ovisno o varijanti tretmana. Svaka varijanta primiranja je bila zastupljena s 4 ponavljanja te 50 sjemenki po ponavljanju.

Navlašeni ubrusi su nakon postavljanja sjemenki smotani u tuljke, prebačeni u najlonske vrećice te zatvoreni zbog sprječavanja gubitka vlage. Pet dana prije naklijavanja sjeme je inkubirano pri temperaturi od 7 °C, prema ISTA metodi (ISTA rules, 2015.). Nakon toga sjeme je postavljeno na naklijavanje u klimatiziranu prostoriju pri naizmjeničnoj temperaturi 20 - 30 °C uz svjetlo u trajanju 8 sati pri višoj temperaturi odnosno 16 sati u mraku pri nižoj temperaturi.

##### **3.1.1. Određivanje energije klijanja i standardne klijavosti**

Četvrti dan od dana postavljanja pokusa je izbrojano isključivo sjeme te je iz tih podataka izračunata energija klijanja (EK) u postocima, u odnosu prema ukupnom broju sjemenki postavljenih na naklijavanje za svaki primijenjeni tretman. Deseti dan od dana postavljanja pokusa prebrojavanjem isključivih, zdravih i normalno razvijenih klijanaca utvrđena je standardna klijavost (SK) u postocima prema ukupnom broju sjemenki postavljenih na naklijavanje za svaki primijenjeni tretman.

##### **3.1.2. Određivanje mase klijanaca**

Nakon određivanja SK su izvagane ukupne mase klijanaca, nakon čega su od klijanaca odvojeni hipokotili te pohranjeni na -80 °C. Na dan analize, tkivo hipokotila je izmacerirano tekućim dušikom u tarioniku do finog praha, te su odvagane adekvatne mase macerata biljnog tkiva za pojedinu analizu na vagi s četiri decimale.

##### **3.1.3. Određivanje sadržaja vodikovog peroksida**

Posrednim mjerenjem koncentracije titanovog peroksida koji se taloži kada se ekstraktu tkiva doda titanov oksisulfat u sulfatnoj kiselini i otopina amonijevog hidroksida, određena je koncentracija vodikovog peroksida (Mukherjee i Choudhuri, 1983.).

Tkivo za analizu je pripremljeno u tekućem dušiku maceracijom do finog praha te je odvagano 0,2 g po uzorku u Eppendorf epruvete od 2 ml. Uzorcima je dodano po 1 ml 80 %-tnog hladnog acetona. Za slijepu probu, u posebnu epruvetu također je dodan 1 ml

hladnog acetona, bez tkiva. Na vrtložnoj treskalici uzorci su dobro homogenizirani te stavljeni na centrifugiranje 3 minute na 1 000 RCF (eng. *Relative Centrifugal Force* - relativna centrifugalna sila), pri temperaturi od 4 °C. U drugu epruvetu od 2 ml odvojen je supernatant i dodano je 0,4 ml titan-sulfata i 0,5 ml amonijevog hidroksida. Dodavanje kemikalije je obavljeno u hladnom bloku na -20 °C. Uzorci su dobro promiješani na vrtložnoj treskalici te zbog taloženja centrifugirani 10 minuta na 15 000 RCF pri 4 °C. Supernatant je dekantiran, a talog otopljen dodavanjem 1 ml 2M sulfatne kiseline. Uzorci su promiješani na vrtložnoj treskalici do izbistrivanja otopine te su ponovno centrifugirani 10 minuta na 15 000 RCF pri temperaturi od 4 °C. Nakon zadnjeg centrifugiranja, bistri dio je mikropipetom prebačen u kivetu sa suženim dnom za spektrofotometar te je izmjerena apsorbancija na 415 nm. Slijepom probom je određena nula, a koncentracija vodikovog peroksida (HP) je izračunata koristeći ekstincijski koeficijent 1,878 mM cm<sup>-1</sup>, a konačni rezultati izraženi u nM HP g<sup>-1</sup> sv.t.

#### **3.1.4. Određivanje intenziteta lipidne peroksidacije**

Određujući u uzorku specifične produkte raspadanja lipida koji reagiraju s tiobarbiturnom kiselinom mjeri se lipidna peroksidacija, prema metodi Heath i Packer (1968.) uz neke izmjene. U Eppendorf epruvete od 2 ml, odvagano je po 0,2 g macerata tkiva hipokotila. Uzorcima je dodano po 0,1 ml 0,1 %-tne TCA (trikloroctena kiselina) pripremljene otapanjem u destiliranoj vodi. Nakon toga uzorci su centrifugirani 5 minuta na 6 000 RCF na temperaturi od 4 °C. Supernatant je odvojen u epruvetu s čepom na navoj od 1,5 ml i uzorcima je dodano po 0,5 ml 0,5 %-tne tiobarbiturne kiseline (TBA) u 20 %-tnoj TCA, koja je ranije pripremljena u omjeru 1:2 u destiliranoj vodi. Slijepa proba je pripremljena od 1,5 ml 0,5 % TBA u 20 % TCA. Uzorci su dobro promiješani na vrtložnoj treskalici, nakon čega su inkubirani u vodenoj kupelji na temperaturi od 95 °C u vremenu od 30 minuta, bez miješanja. Potapanjem u hladnu vodu na 15 minuta, uzorci su ohlađeni i centrifugirani 15 minuta na 18 000 RCF pri 4 °C. Nakon toga uzorci su presipani u kivetu sa suženim dnom te je provedeno mjerenje apsorbance. Slijepom probom je određena nula i mjerena je specifična i nespecifična apsorbancija na 532 i 600 nm, a krajnji rezultat predstavlja njihovu razliku. Koncentracija produkata lipidne peroksidacije (pretežno malon-dialdehid, MDA) izračunata je pomoću ekstincijskog faktora  $\epsilon=155 \text{ mM cm}^{-1}$  i izražena u nM g<sup>-1</sup> sv.t.

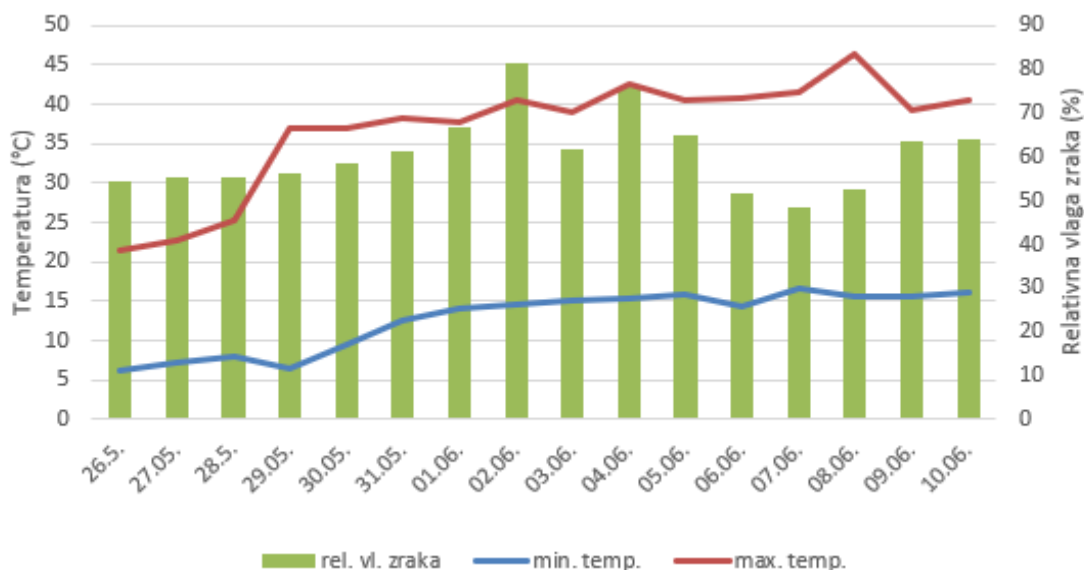
#### **3.1.5. Određivanje sadržaja slobodnog prolina**

U hipokotilu klijanaca suncokreta, koncentracija slobodnog prolina određena je metodom prema Bates i sur. (1973.). Za određivanje sadržaja prolina (PRO) odvagano je po 0,25 g macerata u plastične epruvete od 15 ml. Uzorcima je dodano po 5 ml 3 % sulfosalicilne kiseline te su uzorci dobro promiješani na vrtložnoj treskalici i centrifugirani 15 minuta na 4 000 RCF. Nakon toga je pipetirano po 1 ml supernatanta te je takvom dijelu uzorka dodano po 1 ml kiselog ninhidrin reagensa i 1 ml ledene octene kiseline. Uzorci su ponovno promiješani na vrtložnoj treskalici i inkubirani 1h na 100 °C u vodenoj kupelji. Nakon inkubacije, reakcija je prekinuta prenošenjem uzoraka na hladni blok. Prolin je ekstrahiran sa po 4 ml toluena uz snažno miješanje 15-20 sekundi na vrtložnoj treskalici.

Nakon što su se epruvete zagrijale na sobnu temperaturu, ekstrahirani prolin zajedno s toluenskim slojem je prebačen automatskom pipetom u kivetu za spektrofotometar. Čistim toluenom je podešena nula, a za stupnjeve transmisije pripremljeni su standardi točno poznatih koncentracija prolina. Za pripremu standarda pripremljen je osnovni standard koncentracije  $20 \mu\text{g ml}^{-1}$  od kojeg su pripremljena razrjeđenja s koncentracijama 0, 1, 2, 4, 8, 10, 12, 16 i  $20 \mu\text{g PRO ml}^{-1}$ . Standard 0 je predstavljao 100 %-tnu transmisiju. Mjerenja su obavljena na 520 nm te je pomoću navedenih standarda izrađena kalibracijska krivulja iz koje je dobivena funkcija za izračun količine prolina prema podacima o apsorbanci uzoraka. Konačan sadržaj slobodnog prolina u biljnom tkivu je izražen u  $\mu\text{g g}^{-1}$  svježe mase biljnog tkiva (sv.t).

### **3.2. Poljski pokus**

Poljski pokus je postavljen sa sjemenom suncokreta hibrida Luka te njegovom majčinskom i očinskom linijom (proizvođač: Poljoprivredni institut Osijek). Pripremljena je matična otopina NaHS koncentracije 100 mM. Sjeme suncokreta primirano je u otopinama NaHS koncentracije 500 i 1000  $\mu\text{M NaHS}$ . Po 450 sjemenki je primirano u 250 ml otopine NaHS odnosno vode u trajanju od 2 sata. Nakon toga sjemenke su stavljene na sušenje 24 sata te je 50 sjemenki po ponavljanju posijano u plastične posude dimenzija 20 x 20 x 7 cm, u tlo tipa eutrični kambisol, po WRB klasifikaciji (IUSS Working group, WRB., 2022.). Tlo je uzeto s parcele Poljoprivrednog instituta Osijek gdje se uzgaja suncokret te zasićeno do poljskog vodnog kapaciteta (PVK). PVK je preračunat po Cassel i Nielsen (1986.). U kontroli se održavao PVK tako da su svakodnevno vage posude s tlom te je dodavana evapotranspirirana voda do iste mase kao što je bila pri postavljanju pokusa. U varijanti sušnog stresa, redovito je provjeravana masa posuda te je nadoknađivana evapotranspirirana voda do 30 % PVK. U svaku posudu s tlom je dodan proračunati volumen vode s obzirom na masu tla u posudi i postotak PVK tla te je uzeta u obzir i trenutna vlaga tla koja je iznosila 4,85 %. Iz proračuna je dobiveno da maseni udio vode koji je potrebno dodati tlu navedene vlage da bi se postigao PVK, iznosi 24,76 % mase suhog uzorka tla. Dakle, 100 g suhog tla trebalo je sadržavati 24,76 ml vode te je volumen vode koju je bilo potrebno dodati umanjen za trenutnu vlagu tla (4,85 %) i iznosio je približno 19,91 ml. Istom analogijom odvagana je masa tla, određena trenutna vlažnost te određen volumen vode koju je bilo potrebno dodati za postizanje 30 % PVK, što je iznosilo 2,58 ml  $100 \text{ g}^{-1}$  tla. Poljski pokus je postavljen u plasteniku 26.05.2015., a biljke su uzorkovane 10.06.2015. godine. U tom periodu svakodnevno je praćeno stanje posuda s klijancima te je mjerena min. i max. temperatura i postotak relativne vlage zraka (Grafikon 1.). Nakon završetka pokusa klijanci su prebrojani te je određena poljska klijavost. Također je izvagana masa nadzemnog djela i listova za svako ponavljanje.



**Grafikon 1.** Minimalne i maksimalne temperature (°C) te relativna vlaga zraka (%) u plasteniku tijekom poljskog pokusa, od 26.5.2015. do 10.6.2015.

### 3.2.1. Ekstrakcija topljivih proteina

Tkivo hipokotila i listova suncokreta uzorkovanih s poljskog pokusa je usitnjeno maceriranjem s tekućim dušikom u tarioniku uz dodatak polivinil-polipirolidona (PVPP, dodaje se radi uklanjanja polifenola iz biljnih ekstrakata). Nakon maceriranja prvih pravih listova u plastične epruvete je odvažano oko 0,2 g (za askorbat-peroksidazu i glutation-reduktazu); 0,25 g tkiva (za katalazu) te oko 0,1 g za dehidroaskorbat-reduktazu. Iz usitnjenog tkiva proteini su ekstrahirani s 1 ml hladnog pufera tijekom 15 minuta, a zatim odijeljeni od ostataka tkiva centrifugiranjem 15 minuta pri 18 000 RCF. Supernatant je dekantiran u novu plastičnu epruvetu. Nakon ekstrakcije napravljena je i reekstrakcija dodavanjem 1 ml istog pufera. Nakon odjeljivanja supernatanta iz postupka reekstrakcije supernatanti iz ekstrakcije su korišteni za odrađivanje aktivnosti enzima i sadržaja ukupnih proteina. Pufer korišten za ekstrakciju askorbat-peroksidaze i glutation-reduktaze je sadržavao 0,1 M  $K_2HPO_4$ , 0,1 M  $KH_2PO_4$ , 5 mM natrijev askorbat i 1 mM EDTA (pH 7,0). Ekstrakcijski pufer za katalazu je sadržavao 0,1 M  $K_2HPO_4$ , 0,1 M  $KH_2PO_4$  (pH 7,0). Pufer korišten za ekstrakciju dehidroaskorbat-reduktaze je sadržavao 0,1 M  $K_2HPO_4$ , 0,1 M  $KH_2PO_4$ , 2 mM 2-merkaptetanola i 1 mM EDTA (pH 7,0). Ukupna i specifična aktivnost navedenih enzima izračunata je prema sljedećim formulama:

$$AEu (\mu M \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ sv.t.}) = ((\Delta A / \Delta t) * V_{RS} * V_U) / (\epsilon * V_A * m_{sv.t.})$$

$$AEs (\mu M \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ prot.}) = AEU / c_{prot.}$$

AEu - ukupna aktivnost enzima

AEs - specifična aktivnost enzima

$\Delta A/\Delta t$  - srednja vrijednost razlika u promjeni apsorbancije u određenom vremenskom intervalu ( $\Delta A \text{ min}^{-1}$ )

$V_{RS}$  - volumen reakcijske smjese u ml

$V_U$  - ukupni volumen proteinskog ekstrakta u ml

$\epsilon$  - molarni ekstinkcijski koeficijent  $\text{mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

$V_A$  - volumen mjernog alikvota u ml

$m_{sv.t.}$  - masa svježe tvari u g

$c_{prot.}$  - koncentracija proteina u  $\text{mg prot. g}^{-1} \text{ sv.t.}$

### **3.2.2. Određivanje aktivnosti askorbat-peroksidaze (EC 1.11.1.11)**

Ukupna aktivnost askorbat-peroksidaze (APXu, EC 1.11.1.11) određena je prema Nakano i Asada (1981.). Reakcijska smjesa za mjerenje aktivnosti APXu sadržavala je 50 mM kalij-fosfatni pufer (KP pufer; 50 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  i 50 mM  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ; pH 7), 0,1 mM EDTA, 50 mM askorbinsku kiselinu i 12 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$ . U kivetu od kvarcnog stakla dodano je 880  $\mu\text{l}$  KP pufera s EDTA, 10  $\mu\text{l}$  askorbinske kiseline, 100  $\mu\text{l}$  proteinskog ekstrakta i 10  $\mu\text{l}$   $\text{H}_2\text{O}_2$ . Stupanj oksidacije askorbinske kiseline praćen je smanjenjem apsorbancije pri valnoj duljini od 290 nm tijekom 60 sekundi, uz očitavanje svake sekunde. Svaki je uzorak mjeren u triplikatu. Aktivnost APXu izražena je u  $\mu\text{M min}^{-1} \text{ g}^{-1}$  svježeg tkiva koristeći ekstinkcijski koeficijent ( $\epsilon=2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). Na kraju je izračunata i specifična aktivnost askorbat-peroksidaze (APXs) izražena u  $\mu\text{M min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ prot.}$

### **3.2.3. Određivanje aktivnosti katalaze (EC 1.11.1.6)**

Ukupna aktivnost enzima katalaze (CATu, EC 1.11.1.6.) u proteinskim ekstraktima određena je spektrofotometrijski prema Aebi (1984.). Reakcijska smjesa za mjerenje aktivnosti CATu sadržavala je 50 mM kalij-fosfatni pufer (50 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 50 mM  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ; pH 7,0) i 10 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Enzimaska reakcija započela je dodavanjem 50 - 100  $\mu\text{l}$  proteinskog ekstrakta te reakcijskog pufera do ukupno 2000  $\mu\text{l}$  reakcijske smjese u kvarcnu kivetu za mjerenje na spektrofotometru. Pad apsorbancije, uslijed razgradnje  $\text{H}_2\text{O}_2$ , mjeren je svakih 10 sekundi tijekom 120 sekundi pri valnoj duljini od 230 nm. Svaki je uzorak mjeren u triplikatu. Aktivnost CATu izražena je kao količina razgrađenog  $\text{H}_2\text{O}_2$  u  $\mu\text{M min}^{-1} \text{ g}^{-1}$  svježeg tkiva koristeći ekstinkcijski koeficijent ( $\epsilon=81 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ; Duh i sur., 1999.). Iz ukupne aktivnosti CAT i sadržaja proteina izražena je specifična aktivnost katalaze (CATs). Zbog interferencija s neželjenim supstancama proteinski ekstrakti svježeg tkiva lista iz kojih je mjerena aktivnost CATu pročišćeni su propuštanjem kroz kolonice za odsoljavanje PD-10 (PD-10 Desalting Columns) od proizvođača GE Healthcare Bio-Sciences AB. Postupci pročišćavanja provedeni su u skladu s nuputcima proizvođača (Instructions 52-1308-00 BB).

### **3.2.4. Određivanje aktivnosti glutation-reduktaze (EC 1.6.4.2)**

U proteinskim ekstraktima ukupna aktivnost enzima glutation-reduktaze (GRu; EC 1.6.4.2) određena je metodom prema Dolphin i sur. (1989.). Reakcijska smjesa sadržavala je 0,1 M KP pufer (0,1 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  i 0,1 M  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ; pH 7,5), 1 mM EDTA, 2 mM



NADPH (nikotinamid-adenin-dinukleotid fosfat) i 2 mM GSSG (oksidirani oblik glutationa). U kvarcnu kivetu je dodano 500  $\mu$ L GSSG, 400  $\mu$ l KP pufera s EDTA, 50  $\mu$ l ekstrakta proteina te 50  $\mu$ l otopine NADPH, čime je započela reakcija. Smanjenje apsorbancije praćeno je svakih 10 sekundi tijekom 100 sekundi pri valnoj duljini od 340 nm. Svaki uzorak mjeran je u triplikatu. Do pada apsorbancije dolazi zbog oksidacije NADPH uslijed redukcije oksidiranog glutationa (GSSG) u reducirani glutation (GSH) u prisutnosti GR. Ukupna aktivnost enzima glutation-reduktaze (GRu) izražena je kao promjena apsorbancije u minuti po gramu svježeg tkiva. Specifična aktivnost (GRs) određena je kao kvocijent GRu i koncentracije proteina te izražena u  $\mu$ M  $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  prot. Ekstinkcijski koeficijent korišten za izračun GRu je  $\epsilon=6,22 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ . Proteinski ekstrakti za određivanje GRs iz svježeg tkiva lista soje pročišćeni su propuštanjem kroz kolonice za odsoljavanje PD-10.

### 3.2.5. Određivanje aktivnosti dehidroaskorbat-reduktaze (EC 1.8.5.1.)

Ukupna aktivnost dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu, EC 1.8.5.1.) određena je prema Hossain i Asada (1984.). Reakcijska smjesa za mjerenje aktivnosti DHAR sadržavala je 50 mM kalij-fosfatni pufer (KP pufer; 50 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  i 50 mM  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ; pH 7), 2,5 mM GSH (glutation), 0,2 mM DHA (dehidroaskorbat) i 0,1 mM  $\text{EDTANa}_2$  (Etilendiamintetraoctena kiselina dinatrijeva sol). U kivetu od kvarcnog stakla dodano je 880  $\mu$ l 50 mM KP pufera pH 7,0, 500  $\mu$ l 0,8 mM DHA, 500  $\mu$ l 10 mM GSH. Za početak reakcije dodalo se 200  $\mu$ l enzimatskog ekstrakta koji sadrži 1 mM EDTA koji je bio razrijeđen s 2 ml EDTA. Stupanj oksidacije askorbinske kiseline praćen je smanjenjem apsorbancije pri valnoj duljini od 265 nm tijekom 60 sekundi, uz očitavanje svakih 10 sekundi. Svaki je uzorak mjeran u triplikatu. Ukupna aktivnost dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu) je izražena je u  $\mu$ M  $\text{min}^{-1} \text{g}^{-1}$  svježeg tkiva koristeći ekstinkcijski koeficijent ( $\epsilon=2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). Na kraju je izračunata i specifična aktivnost dehidroaskorbat-reduktaze (DHARs) te izražena u  $\mu$ M  $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  prot.

### 3.2.6. Određivanje sadržaja proteina

Koncentracija proteina u proteinskim ekstraktima je određena spektrofotometrijski metodom prema Bradfordu (1976.). Postupak se temelji na pomaku apsorbancije (s 465 nm na 595 nm valne duljine) do kojeg dolazi zbog vezivanja boje Coomassie briljant plavo G-250 (eng. *Coomassie Brilliant Blue* - CBB) na proteine, u kiselj otopini. Razrijeđeni proteinski ekstrakt (100  $\mu$ l) je pomiješan s 1 ml CBB (100 mg CBB G-250, 50 ml etanola, 100 ml 85 % fosforne kiseline,  $\text{dH}_2\text{O}$  do 1 l) te inkubiran 5 minuta na sobnoj temperaturi. Intenzitet obojenja otopine izmjerena je pri 595 nm valne duljine na spektrofotometru. Koncentracija proteina ekstrapolirana je iz kalibracijske krivulje napravljene s poznatim koncentracijama albumina goveđeg seruma (eng. *Bovine Serum Albumine* - BSA) pripremljene u rasponu koncentracija 0,01 - 0,4 mg BSA  $\text{ml}^{-1}$ . Koncentracija proteina je izražena u mg  $\text{g}^{-1}$  svježeg tkiva i korištena je za izračun specifičnih aktivnosti antioksidativnih enzima. Uzorci standardne otopine, kao i otopine uzoraka, priređeni su u triplikatu.

### **3.3. Obrada podataka**

Laboratorijski pokus u klima komori i poljski pokus postavljeni su kao dvofaktorijelni pokus u četiri ponavljanja sa po 50 klijanaca po ponavljanju. Dobiveni rezultati su analizirani metodama statističke obrade podataka pomoću programa za statističku obradu podataka (SAS Institute, 2003.) i Microsoft Office Excell 2010. Korištene su slijedeće statističke metode: opisna statistika, analiza varijance (ANOVA), statistički testovi značajnosti utjecaja primijenjenih tretmana – F test i Fisher's LSD test (eng. *Least Significant Difference*).

## 4. REZULTATI

### 4.1. Laboratorijski pokus

#### 4.1.1. Utjecaj primiranja sjemena suncokreta na vigor i biokemijske pokazatelje stresa u klijancima hibrida Luka u uvjetima smanjene pristupačnosti vode

U laboratorijskom dijelu pokusa testiran je utjecaj primiranja sjemena otopinama NaHS na vigor sjemena, početni porast klijanaca i fiziološke pokazatelje stresa u hipokotilima dvaju hibrida suncokreta, Luka i Apolon, uzgajanih u uvjetima sušnog stresa.

Prema F testu, za sve razine osmotskog stresa u klijanju, osmoprimiranje sjemena s NaHS je vrlo značajno utjecalo ( $p=1\%$ ) na sve ispitivane parametre vigora sjemena, energiju klijanja ( $p=0,0010$ ), standardnu klijavost ( $p=0,0012$ ), mrtvo sjeme ( $p=0,0084$ ) osim na nenormalne klijance gdje je bio značajan utjecaj ( $p=0,0393$ ). Utjecaj na ukupnu masu klijanaca je bio na vrlo značajnoj razini ( $p<0,0001$ ) (Tablica 1.).

**Tablica 1.** Značajnost utjecaja osmoprimiranja sjemena (Bez primiranja; H<sub>2</sub>O; 100  $\mu$ M NaHS; 500  $\mu$ M NaHS; 1000  $\mu$ M NaHS; 1500  $\mu$ M NaHS) i osmotskog stresa u klijanju (H<sub>2</sub>O; 2,5 % PEG; 5 % PEG; 10 % PEG) te njihovih interakcija na energiju klijanja (EK), standardnu klijavost (SK), nenormalne klijance (NK), mrtvo sjeme (MS) (%) i masu klijanaca (MK) (g) kod hibrida Luka.

FAKTOR	VARIJANTA	EK	SK	NK	MS	MK
Osmoprimiranje	Bez primiranja	70 <sup>bc,AB</sup>	78 <sup>bc,BC</sup>	14 <sup>ab</sup>	9 <sup>a,AB</sup>	0,46 <sup>a,AB</sup>
	H <sub>2</sub> O	65 <sup>c,B</sup>	75 <sup>c,C</sup>	16 <sup>a</sup>	9 <sup>a,A</sup>	0,43 <sup>bc,C</sup>
	100 $\mu$ M NaHS	72 <sup>ab,AB</sup>	83 <sup>ab,AB</sup>	10 <sup>bc</sup>	7 <sup>ab,ABC</sup>	0,44 <sup>b,BC</sup>
	500 $\mu$ M NaHS	74 <sup>ab,A</sup>	87 <sup>a,A</sup>	8 <sup>c</sup>	5 <sup>b,BC</sup>	0,47 <sup>a,A</sup>
	1000 $\mu$ M NaHS	75 <sup>ab,A</sup>	81 <sup>ab,ABC</sup>	12 <sup>abc</sup>	8 <sup>ab,ABC</sup>	0,42 <sup>c,C</sup>
	1500 $\mu$ M NaHS	77 <sup>a,A</sup>	85 <sup>a,AB</sup>	10 <sup>bc</sup>	5 <sup>b,C</sup>	0,43 <sup>bc,C</sup>
	F test	4,63	4,53	2,48	3,38	10,46
p	0,0010	0,0012	0,0393	0,0084	<0,0001	
Stres u klijanju	H <sub>2</sub> O	79 <sup>a,A</sup>	84 <sup>a</sup>	10	6 <sup>b,B</sup>	0,60 <sup>a,A</sup>
	2,5 % PEG	75 <sup>a,A</sup>	81 <sup>ab</sup>	13	6 <sup>b,B</sup>	0,46 <sup>b,B</sup>
	5 % PEG	76 <sup>a,A</sup>	83 <sup>a</sup>	10	7 <sup>b,B</sup>	0,41 <sup>c,C</sup>
	10 % PEG	58 <sup>b,B</sup>	77 <sup>b</sup>	13	10 <sup>a,A</sup>	0,30 <sup>d,D</sup>
	F test	30,25	2,94	1,30	4,47	99,63
p	<0,0001	0,0388	0,2805	0,0062	<0,0001	
Osmoprimiranje x Stres u klijanju	F test	1,36	1,01	1,16	1,06	2,37
	p	0,1888	0,4557	0,3207	0,4118	0,0080

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup>  $p=0,05$ ; <sup>ABC</sup>  $p=0,01$ ).

LSD testom su utvrđene značajne razlike ( $p=5\%$ ) između pojedinih varijanti osmoprimiranja sjemena te je sjeme osmoprimirano vodom imalo značajno najniži postotak energije klijanja (65 %) i standardne klijavosti (75 %) koji se nije značajno razlikovao od varijante bez primiranja (EK 70 %; SK 78 %). Također, kod ove dvije

varijante je utvrđen i najveći postotak nenormalnih klijanaca ( $\text{H}_2\text{O}$  16 %; bez primiranja 14 %) te mrtvog sjemena (9 %). Nadalje, sjeme osmoprimirano s  $500 \mu\text{M}$  NaHS imalo je značajno najvišu masu klijanaca (MK 0,47 g). Osmoprimiranje sjemena s rastućim koncentracijama NaHS je rezultiralo proporcionalnim povećanjem energije klijanja koja se kretala od 72 ( $100 \mu\text{M}$  NaHS) do 77 % ( $1500 \mu\text{M}$  NaHS) te se utvrđene vrijednosti pri različitim koncentracijama primijenjenog donora  $\text{H}_2\text{S}$  nisu međusobno statistički značajno razlikovale. Tretman sjemena s  $500 \mu\text{M}$  NaHS rezultirao je najvećom standardnom klijavošću (87 %), najmanjim brojem nenormalnih klijanaca (8 %), najmanjim postotkom mrtvog sjemena (5 %) te najvećom ukupnom masom klijanaca (0,47 g).

Prema F testu, utvrđen je vrlo značajan utjecaj osmotskog stresa na energiju klijanja, mrtvo sjeme i masu klijanaca (EK  $p < 0,0001$ , MS=0,0062 i MK  $p < 0,0001$ ) dok je značajan utjecaj bio za standardnu klijavost (SK  $p = 0,0388$ ).

LSD test je pokazao da se energije klijanja u kontrolnoj varijanti (79 %) te 2,5 i 5 % PEG (75 i 76 %) nisu statistički značajno razlikovale. U varijanti gdje je sjeme suncokreta naklijavano na 10 % PEG, utvrđen je statistički značajno najniži postotak klijavosti (58 %). Rezultati dobiveni kod standardne klijavosti su slični rezultatima energije klijanja. Postotak standardne klijavost utvrđen pri 10 % PEG (77 %) nije se značajno razlikovao od onog utvrđenog pri 2,5 % PEG (81 %). Najveći postotak mrtvog sjemena utvrđen je očekivano pri 10 % PEG (10 %). Povećanje razine osmotskog stresa pratio je pad mase klijanaca te su se utvrđene vrijednosti u svim varijantama statistički značajno razlikovale ( $\text{H}_2\text{O}$  0,60 g; 2,5 % PEG 0,46 g; 5 % PEG 0,41 g; 10 % PEG 0,30 g).

Prema F testu utvrđena je značajnost interakcije osmoprimiranje x stres u klijanju samo za masu klijanaca ( $p = 0,0080$ ) dok na ostale ispitivane parametre vigora interakcija ispitivana dva faktora nije značajno utjecala.

U prosjeku za sve razine osmotskog stresa u klijanju, prema F testu, osmoprimiranje sjemena nije statistički značajno utjecalo na razinu lipidne peroksidacije (MDA) ( $p = 0,6074$ ), sadržaj HP ( $p = 0,1896$ ) te na količinu slobodnog prolina (PRO) ( $p = 0,0918$ ) (Tablica 2.). Prema F testu, osmotski stres u klijanju je vrlo značajno utjecao na sve ispitivane pokazatelje stresa (MDA, HP, PRO  $p < 0,0001$ ). Također je utvrđen vrlo značajan utjecaj interakcije osmoprimiranje x stres u klijanju na razinu lipidne peroksidacije ( $p < 0,0001$ ) i sadržaj HP ( $p < 0,0001$ ) dok na sadržaj slobodnog PRO interakcija ispitivanih faktora nije značajno utjecala.

Prema LSD testu značajno najviši sadržaj slobodnog PRO je bio u varijanti bez primiranja ( $2,648 \text{ nM g}^{-1}$  sv.t.), dok je značajno najniži sadržaj bio u varijanti s  $500 \mu\text{M}$  NaHS ( $2,080 \text{ nM g}^{-1}$  sv.t.), ostale varijante se nisu međusobno razlikovale. LSD testom je utvrđena značajno najviša razina lipidne peroksidacije pri varijanti gdje je sjeme suncokreta naklijavano na 10 % PEG ( $10,293 \text{ nM g}^{-1}$  sv.t.). Razina MDA utvrđena u tretmanu s 5 % PEG ( $6,974 \text{ nM g}^{-1}$  sv.t.) je bila značajno niža od one utvrđene pri 10 % PEG te značajno viša od onih kod kontrole ( $\text{H}_2\text{O}$   $5,006 \text{ nM g}^{-1}$  sv.t.) i 2,5 % PEG ( $4,442 \text{ nM g}^{-1}$  sv.t.), koje se nisu međusobno statistički značajno razlikovale. Najviše HP su akumulirale stanice

hipokotila kod suncokreta naklijavanog pri 10 % PEG (0,125 nM g<sup>-1</sup> sv.t.). U varijanti gdje je sjeme suncokreta naklijavano pri 5 % PEG je utvrđena značajno najniža koncentracija HP u hipokotilima klijanaca (0,083 nM g<sup>-1</sup> sv.t.). Sadržaj HP kod kontrole (H<sub>2</sub>O 0,095 nM g<sup>-1</sup> sv.t.) i 2,5 % PEG (0,094 nM g<sup>-1</sup> sv.t.) se nije statistički značajno razlikovao. Povećanje razine osmotskog stresa u klijanju pratio je rast sadržaja slobodnog PRO u hipokotilima te su se utvrđene vrijednosti PRO pri svim varijantama značajno razlikovale (H<sub>2</sub>O 0,554 μM g<sup>-1</sup> sv.t.; 2,5 % PEG 1,410 μM g<sup>-1</sup> sv.t.; 5 % PEG 2,496 μM g<sup>-1</sup> sv.t.; 10 % PEG 4,649 μM g<sup>-1</sup> sv.t.).

**Tablica 2.** Značajnost utjecaja osmoprimiranja (Bez primiranja; H<sub>2</sub>O; 100 μM NaHS; 500 μM NaHS; 1000 μM NaHS; 1500 μM NaHS) i osmotskog stresa u klijanju (H<sub>2</sub>O; 2,5 % PEG; 5 % PEG; 10 % PEG) te njihovih interakcija na razinu lipidne peroksidacije (MDA) (nM g<sup>-1</sup> sv.t.<sup>-1</sup>), sadržaj vodikovog peroksida (HP) (nM g<sup>-1</sup> sv.t.) i prolina (PRO) (μM g<sup>-1</sup> sv.t.), u hipokotilima klijanaca hibrida Luka.

FAKTOR	VARIJANTA	MDA	HP	PRO
<b>Osmoprimiranje</b>	Bez primiranja	6,775	0,098	2,648
	H <sub>2</sub> O	6,940	0,108	2,289
	100 μM NaHS	6,547	0,100	2,156
	500 μM NaHS	6,874	0,096	2,080
	1000 μM NaHS	6,369	0,096	2,134
	1500 μM NaHS	6,569	0,098	2,342
	F test	0,72	1,54	1,98
p	0,6074	0,1896	0,0918	
<b>Stres u klijanju</b>	H <sub>2</sub> O	5,006 <sup>c,C</sup>	0,095 <sup>b,B</sup>	0,544 <sup>d,D</sup>
	2,5 % PEG	4,442 <sup>c,C</sup>	0,094 <sup>b,B</sup>	1,410 <sup>c,C</sup>
	5 % PEG	6,974 <sup>b,B</sup>	0,083 <sup>c,C</sup>	2,496 <sup>b,B</sup>
	10 % PEG	10,293 <sup>a,A</sup>	0,125 <sup>a,A</sup>	4,649 <sup>a,A</sup>
	F test	157,38	36,84	216,44
p	<0,0001	<0,0001	<0,0001	
<b>Osmoprimiranje x Stres u klijanju</b>	F test	7,91	10,35	1,79
	p	<0,0001	<0,0001	0,0527

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup> p=0,05; <sup>ABC</sup> p=0,01).

Prema F testu, kod neprimiranog tj. suhog sjemena osmotski stres u klijanju je vrlo značajno utjecao samo na masu klijanaca (p<0,0001), dok na ostale ispitivane parametre nije utvrđen statistički značajan utjecaj (Tablica 3.).

Kod svih varijanti osmoprimiranja sjemena pad mase klijanaca je pratio povećanje razine osmotskog stresa te je u svim varijantama osmotskog stresa značajno najmanja masa utvrđena u kontroli H<sub>2</sub>O a značajno najveća pri 10 % PEG. Kod varijante bez osmoprimiranja, LSD testom je utvrđena značajno najveća masa klijanaca kod suncokreta naklijavanog na vodi (0,68 g). Varijanta 10 % PEG je očekivano rezultirala značajno najmanjom masom klijanaca (0,31 g).

**Tablica 3.** Značajnost utjecaja osmotskog stresa u klijanju (H<sub>2</sub>O; 2,5 % PEG; 5 % PEG; 10 % PEG) na energiju klijanja (EK), standardnu klijavost (SK), nenormalne klijanice (NK), mrtvo sjeme (MS) (%) i masu klijanaca (MK) (g) po varijantama osmoprimiranja sjemena (Bez primiranja; H<sub>2</sub>O; 100 μM NaHS; 500 μM NaHS; 1000 μM NaHS; 1500 μM NaHS) kod hibrida Luka.

<b>Bez primiranja</b>					
<b>VARIJANTA</b>	<b>EK</b>	<b>SK</b>	<b>NK</b>	<b>MS</b>	<b>MK</b>
H <sub>2</sub> O	80	83	10	7	0,68 <sup>a,A</sup>
2,5 % PEG	65	71	22	7	0,46 <sup>b,B</sup>
5 % PEG	72	82	7	12	0,39 <sup>c,B</sup>
10 % PEG	62	75	16	10	0,31 <sup>d,C</sup>
F test	1,79	1,03	2,03	0,97	105,09
p	0,2033	0,4150	0,1637	0,4396	<0,0001
<b>H<sub>2</sub>O</b>					
H <sub>2</sub> O	70 <sup>a,A</sup>	78	13	10	0,54 <sup>a,A</sup>
2,5 % PEG	72 <sup>a,A</sup>	80	14	7	0,46 <sup>b,B</sup>
5 % PEG	66 <sup>a,AB</sup>	71	21	9	0,41 <sup>c,B</sup>
10 % PEG	50 <sup>b,B</sup>	72	17	12	0,29 <sup>d,C</sup>
F test	6,87	0,82	0,73	1,62	37,43
p	0,0060	0,5052	0,5534	0,2362	<0,0001
<b>100 μM NaHS</b>					
H <sub>2</sub> O	86 <sup>a,A</sup>	90	7	4	0,58 <sup>a,A</sup>
2,5 % PEG	73 <sup>b,A</sup>	82	12	7	0,46 <sup>b,B</sup>
5 % PEG	76 <sup>ab,A</sup>	86	7	8	0,40 <sup>c,C</sup>
10 % PEG	54 <sup>c,B</sup>	76	15	10	0,32 <sup>d,D</sup>
F test	13,62	2,77	1,49	3,07	210,27
p	0,0004	0,0875	0,2682	0,0688	<0,0001
<b>500 μM NaHS</b>					
H <sub>2</sub> O	83 <sup>a,A</sup>	89	9	2 <sup>b</sup>	0,63 <sup>a,A</sup>
2,5 % PEG	81 <sup>a,A</sup>	85	10	6 <sup>ab</sup>	0,49 <sup>b,B</sup>
5 % PEG	74 <sup>a,AB</sup>	91	6	4 <sup>b</sup>	0,43 <sup>c,C</sup>
10 % PEG	60 <sup>b,B</sup>	82	9	10 <sup>a</sup>	0,32 <sup>d,D</sup>
F test	8,53	1,75	0,74	4,40	199,42
p	0,0026	0,2108	0,5463	0,0263	<0,0001
<b>1000 μM NaHS</b>					
H <sub>2</sub> O	74 <sup>a,AB</sup>	83	10	8	0,53 <sup>a,A</sup>
2,5 % PEG	82 <sup>a,A</sup>	84	11	6	0,43 <sup>b,B</sup>
5 % PEG	83 <sup>a,A</sup>	85	10	6	0,41 <sup>c,B</sup>
10 % PEG	63 <sup>b,B</sup>	73	16	12	0,30 <sup>d,C</sup>
F test	7,50	1,63	0,69	1,13	351,64
p	0,0044	0,2335	0,5780	0,3744	<0,0001
<b>1500 μM NaHS</b>					
H <sub>2</sub> O	82 <sup>A</sup>	83	12	6	0,59 <sup>A</sup>
2,5 % PEG	79 <sup>A</sup>	84	10	7	0,46 <sup>B</sup>
5 % PEG	84 <sup>A</sup>	85	12	3	0,39 <sup>C</sup>
10 % PEG	63 <sup>B</sup>	88	7	5	0,28 <sup>D</sup>
F test	7,12	0,60	0,58	0,71	623,40
p	0,0053	0,6262	0,6370	0,5669	<0,0001

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup> p=0,05; <sup>ABC</sup> p=0,01).

Prema F testu, kod varijante osmoprimiranja sjemena suncokreta vodom (H<sub>2</sub>O), primijenjene varijante osmotskog stresa su značajno utjecale na energiju klijanja ( $p=0,0060$ ) i masu klijanaca ( $p<0,0001$ ), dok na standardnu klijavost, postotak nenormalnih klijanaca i mrtvo sjeme, navedeni faktor nije značajno utjecao.

Prema LSD testu, značajno najnižu energiju klijanja (50 %) je imalo sjeme pri varijanti 10 % PEG, dok se vrijednosti energije klijanja utvrđene pri ostalim varijantama osmotskog stresa i kod kontrole, nisu međusobno značajno razlikovale (H<sub>2</sub>O 70 %; 2,5 % PEG 72 %; 5 % PEG 66 %). Pri spomenutoj varijanti osmoprimiranja sjemena pad mase klijanaca pratio je povećanje razine osmotskog stresa te je značajno najmanja masa utvrđena pri najvišoj razini stresa (0,29 g), dok je najveća masa utvrđena kod kontrole (0,54 g).

Pri varijanti osmoprimiranja sjemena sa 100  $\mu$ M NaHS inducirani osmotski stres u klijanju je značajno utjecao na energiju klijanja ( $p=0,0004$ ) i masu klijanaca ( $p<0,0001$ ) dok na ostale ispitivane parametre vigora sjemena nije značajno utjecao.

U prethodno navedenoj varijanti osmoprimiranja, najveći postotak energije klijanja je utvrđen u varijanti gdje je sjeme suncokreta naklijavano na vodi (86 %) te se ova vrijednost nije značajno razlikovala od utvrđene pri tretmanu s 5 % PEG (76 %) koja se nadalje nije značajno razlikovala od energije klijanja utvrđene pri 2,5 % PEG (73 %).

Značajno najniža energija klijanja je dobivena pri najvišoj razini osmotskog stresa (54 %). Pad mase klijanaca je, kao i kod svih ostalih varijanti osmoprimiranja sjemena, pratio povećanje razine osmotskog stresa te je značajno najveća masa utvrđena u kontroli (H<sub>2</sub>O 0,58 g) a značajno najmanja pri 10 % PEG (0,32 g).

Pri varijanti osmoprimiranja sjemena s 500  $\mu$ M NaHS, F testom je utvrđen značajan utjecaj razine osmotskog stresa na energiju klijanja ( $p=0,0026$ ), postotak mrtvog sjemena ( $p=0,0263$ ) te na masu klijanaca ( $p<0,0001$ ), dok na standardnu klijavost i broj nenormalnih klijanaca primijenjeni tretmani nisu značajno utjecali.

Pri varijanti osmoprimiranja sjemena s 500  $\mu$ M NaHS, LSD testom je utvrđena značajno najniža energija klijanja pri najvišoj razini osmotskog stresa, 10 % PEG te je iznosila 60 %. Vrijednosti energije klijanja pri ostale tri varijante stresa u klijanju se nisu međusobno značajno razlikovale (H<sub>2</sub>O 83 %; 2,5 % PEG 81 %; 5 % PEG 74 %). Najviši postotak mrtvog sjemena (10 %) je zabilježen na najvećoj razini osmotskog stresa te se nije značajno razlikovao od vrijednosti utvrđene kod varijante 2,5 % PEG (6 %). Također, postotci mrtvog sjemena utvrđeni u varijantama 2,5 % PEG, 5 % PEG (4 %) te kod kontrole (2 %), se nisu međusobno značajno razlikovali.

Pri koncentracijama 1000 i 1500  $\mu$ M NaHS korištenog u osmoprimiranju sjemena suncokreta, F testom je utvrđen značajan utjecaj razine osmotskog stresa na energiju klijanja i masu klijanaca (1000  $\mu$ M NaHS: EK  $p=0,0044$ , MK  $p<0,0001$ ; 1500  $\mu$ M NaHS: EK  $p=0,0053$ , MK  $p<0,0001$ ) dok na ostale ispitivane pokazatelje vigora sjemena nije utvrđen statistički značajan utjecaj.

Pri obje spomenute varijante osmoprimiranja sjemena s NaHS (1000 i 1500  $\mu$ M), LSD testom je utvrđena značajno najniža energija klijanja pri najvišoj razini osmotskog stresa (63 %) dok se vrijednosti dobivene na prve dvije razne stresa te kod kontrole, nisu

međusobno značajno razlikovale (1000  $\mu\text{M}$  NaHS:  $\text{H}_2\text{O}$  74 %, 2,5 % PEG 82 %, 5 % PEG 83 %; 1500  $\mu\text{M}$  NaHS:  $\text{H}_2\text{O}$  82 %, 2,5 % PEG 79 %, 5 % PEG 84 %). Također, pad mase klijanaca je pratio povećanje razine osmotskog stresa. Značajno najveća masa je utvrđena u kontroli (1000  $\mu\text{M}$  NaHS:  $\text{H}_2\text{O}$  0,53 g; 1500  $\mu\text{M}$  NaHS:  $\text{H}_2\text{O}$  0,59 g) a značajno najmanja pri 10 % PEG (1000  $\mu\text{M}$  NaHS: 0,30 g; 1500  $\mu\text{M}$  NaHS: 0,28 g).

U svim varijantama osmoprimiranja sjemena, F testom je utvrđen značajan utjecaj osmotskog stresa na razinu lipidne peroksidacije, sadržaj HP te akumulaciju PRO (Tablica 4.).

Kod sjemena koje nije prethodno osmoprimirano, značajno najveća razina lipidne peroksidacije je utvrđena na najvišoj razini stresa (10,832  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) dok su najniže vrijednosti lipidne peroksidacije utvrđene u klijanacima naklijavanim pri 2,5 % PEG (4,201  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) i 5 % PEG (4,814  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) te se ove vrijednosti nisu međusobno statistički značajno razlikovale. Razina lipidne peroksidacije utvrđena kod kontrole (7,252  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) je bila značajno viša od vrijednosti utvrđenih na prve dvije razine osmotskog stresa. Sadržaj HP kod kontrole (0,121  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) i pri 5 % PEG (0,114  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) se nije statistički značajno razlikovao, isto kao što nisu utvrđene ni značajne razlike u vrijednostima spomenutog parametra između tretmana 5 % PEG (0,077  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) i 10 % PEG (0,080  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.). Značajno najveća akumulacija PRO zabilježena je pri najvišoj razini osmotskog stresa (5,950  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.), a značajno najmanja kod kontrole (0,462  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.) i 2,5 % PEG (1,168  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.) te se ove vrijednosti nisu međusobno značajno razlikovale.

U varijanti osmoprimiranja s vodom značajno najveća razina lipidne peroksidacije je utvrđena pri 10 % PEG (12,565  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) dok se vrijednosti lipidne peroksidacije utvrđene kod kontrole te preostale dvije razine solnog stresa nisu značajno razlikovale ( $\text{H}_2\text{O}$  4,729  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.; 2,5 % PEG 5,097  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.; 5 % PEG 5,368  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.). Sadržaj HP utvrđen kod kontrole (0,101  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) i 5 % PEG (0,112  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) se međusobno nije statistički značajno razlikovao, dok je značajno najviša vrijednost navedenog pokazatelja stresa utvrđena pri 10 % PEG (0,136  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.), a značajno najniža pri 2,5 % PEG (0,082  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.). Povećanje sadržaja akumuliranog PRO pratilo je povećanje razine osmotskog stresa te su hipokotili klijanaca na najvišoj razini osmotskog stresa akumulirali značajno najviše PRO (4,654,  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.) dok se sadržaj PRO kod kontrole (0,548  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.) i pri 2,5 % PEG (1,354  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.) nije značajno razlikovao.

Kod sjemena osmoprimiranog s 100  $\mu\text{M}$  NaHS, utvrđene su značajno najviše razine lipidne peroksidacije pri varijantama osmotskog stresa 5 % PEG (8,400  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) i 10 % PEG (8,420  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) koje se međusobno nisu značajno razlikovale prema LSD testu. Najniža razina navedenog pokazatelja stresa u biljkama je utvrđena pri 2,5 % PEG (4,668  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) te se nije značajno razlikovala od vrijednosti utvrđene kod kontrole (4,701  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.). Značajno najviša akumulacija HP je utvrđena pri 10 % PEG (0,126  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.), dok se vrijednosti utvrđene kod kontrole (0,097  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) te preostale dvije razine stresa (2,5 % PEG 0,092  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.; 5 % PEG 0,083  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) nisu međusobno značajno razlikovale.



**Tablica 4.** Značajnost utjecaja osmotskog stresa u klijanju (H<sub>2</sub>O; 2,5 % PEG; 5 % PEG; 10 % PEG) na razinu lipidne peroksidacije (MDA) (nM g<sup>-1</sup> sv.t.), sadržaj vodikovog peroksida (HP) (nM g<sup>-1</sup> sv.t.) i prolina (PRO) (μM g<sup>-1</sup> sv.t.), u hipokotilima klijanaca hibrida Luka, po varijantama osmoprimiranja sjemena (Bez primiranja; H<sub>2</sub>O; 100 μM NaHS; 500 μM NaHS; 1000 μM NaHS; 1500 μM NaHS).

<b>Bez primiranja</b>			
<b>VARIJANTA</b>	<b>MDA</b>	<b>HP</b>	<b>PRO</b>
H <sub>2</sub> O	7,252 <sup>b,B</sup>	0,121 <sup>a,A</sup>	0,462 <sup>c,C</sup>
2,5 % PEG	4,201 <sup>c,C</sup>	0,077 <sup>b,B</sup>	1,168 <sup>c,BC</sup>
5 % PEG	4,814 <sup>c,C</sup>	0,114 <sup>a,A</sup>	3,011 <sup>b,B</sup>
10 % PEG	10,832 <sup>a,A</sup>	0,080 <sup>b,B</sup>	5,950 <sup>a,A</sup>
F test	32,07	10,95	23,77
p	<0,0001	0,0009	<0,0001
<b>H<sub>2</sub>O</b>			
H <sub>2</sub> O	4,729 <sup>b,B</sup>	0,101 <sup>b,BC</sup>	0,548 <sup>c,C</sup>
2,5 % PEG	5,097 <sup>b,B</sup>	0,082 <sup>c,C</sup>	1,354 <sup>c,C</sup>
5 % PEG	5,368 <sup>b,B</sup>	0,112 <sup>b,AB</sup>	2,602 <sup>b,B</sup>
10 % PEG	12,565 <sup>a,A</sup>	0,136 <sup>a,A</sup>	4,654 <sup>a,A</sup>
F test	34,82	15,11	39,04
p	<0,0001	0,0002	<0,0001
<b>100 μM NaHS</b>			
H <sub>2</sub> O	4,701 <sup>b,B</sup>	0,097 <sup>b</sup>	0,632 <sup>c,C</sup>
2,5 % PEG	4,668 <sup>b,B</sup>	0,092 <sup>b</sup>	1,414 <sup>bc,BC</sup>
5 % PEG	8,400 <sup>a,A</sup>	0,083 <sup>b</sup>	2,251 <sup>b,B</sup>
10 % PEG	8,420 <sup>a,A</sup>	0,126 <sup>a</sup>	4,328 <sup>a,A</sup>
F test	14,85	4,73	29,97
p	0,0002	0,0211	<0,0001
<b>500 μM NaHS</b>			
H <sub>2</sub> O	5,939 <sup>b,C</sup>	0,103 <sup>b,A</sup>	0,491 <sup>d,C</sup>
2,5 % PEG	4,172 <sup>c,BC</sup>	0,100 <sup>b,A</sup>	1,241 <sup>c,C</sup>
5 % PEG	7,519 <sup>b,AB</sup>	0,050 <sup>c,B</sup>	2,412 <sup>b,B</sup>
10 % PEG	9,864 <sup>a,A</sup>	0,130 <sup>a,A</sup>	4,175 <sup>a,A</sup>
F test	18,25	23,68	45,32
p	<0,0001	<0,0001	<0,0001
<b>1000 μM NaHS</b>			
H <sub>2</sub> O	4,114 <sup>c,C</sup>	0,071 <sup>b,B</sup>	0,637 <sup>c,C</sup>
2,5 % PEG	4,370 <sup>c,C</sup>	0,112 <sup>a,A</sup>	1,711 <sup>b,B</sup>
5 % PEG	6,969 <sup>b,B</sup>	0,067 <sup>b,B</sup>	1,896 <sup>b,B</sup>
10 % PEG	10,022 <sup>a,A</sup>	0,132 <sup>a,A</sup>	4,291 <sup>a,A</sup>
F test	47,75	11,88	87,69
p	<0,0001	0,0007	<0,0001
<b>1500 μM NaHS</b>			
H <sub>2</sub> O	3,303 <sup>c,B</sup>	0,075 <sup>c,C</sup>	0,495 <sup>d,D</sup>
2,5 % PEG	4,143 <sup>c,B</sup>	0,102 <sup>b,B</sup>	1,569 <sup>c,C</sup>
5 % PEG	8,773 <sup>b,A</sup>	0,071 <sup>c,C</sup>	2,805 <sup>b,B</sup>
10 % PEG	10,055 <sup>a,A</sup>	0,146 <sup>a,A</sup>	4,497 <sup>a,A</sup>
F test	94,37	37,60	148,29
p	<0,0001	<0,0001	<0,0001

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup> p=0,05; ABC p=0,01).

Značajno najviši sadržaj slobodnog PRO pri ovoj varijanti osmoprimiranja je utvrđen kod klijanaca na 10 % PEG (4,328  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.) dok se vrijednosti utvrđene kod kontrole (0,632  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.) i pri 2,5 % PEG (1,414  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.) kao ni one utvrđene na 2,5 i 5 % PEG (2,251  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.) nisu statistički značajno razlikovale.

Pri varijanti osmoprimiranja sjemena s 500  $\mu\text{M NaHS}$  najveća razina MDA je utvrđena u varijanti osmotskog stresa 10 % PEG (9,864 nM  $\text{g}^{-1}$  sv.t.), a najmanja u varijanti 2,5 % PEG (4,172 nM  $\text{g}^{-1}$  sv.t.). Razine lipidne peroksidacije utvrđene u kontroli (5,939 nM  $\text{g}^{-1}$  sv.t.) te pri 5 % PEG (7,519 nM  $\text{g}^{-1}$  sv.t.) se nisu međusobno statistički značajno razlikovale. Značajno najviša akumulacija HP pri navedenoj varijanti osmoprimiranja je utvrđena na najvišoj razini osmotskog stresa (0,130 nM  $\text{g}^{-1}$  sv.t.), dok su najmanje HP akumulirali klijaneci suncokreta naklijavani pri 5 % PEG (0,050 nM  $\text{g}^{-1}$  sv.t.). Vrijednosti sadržaja HP u stanicama hipokotila kod kontrolnih klijanaca (0,103 nM  $\text{g}^{-1}$  sv.t.) te pri 2,5 % PEG (0,100 nM  $\text{g}^{-1}$  sv.t.) se nisu međusobno značajno razlikovale. Povećanje sadržaja slobodnog PRO je, kao i u ostalim varijantama osmoprimiranja, bilo proporcionalno porastu razine osmotskog stresa te su se pri svim varijantama stresa u klijanju, dobivene vrijednosti statistički značajno razlikovale ( $\text{H}_2\text{O}$  0,491  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.; 2,5 % PEG 1,241  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.; 5 % PEG 2,412  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.; 10 % PEG 4,175  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.).

Kod sjemena osmoprimiranog s 1000 odnosno 1500  $\mu\text{M NaHS}$  značajno najviša razina lipidne peroksidacije je utvrđena također pri 10 % PEG (1000  $\mu\text{M NaHS}$  10,022 nM  $\text{g}^{-1}$  sv.t.; 1500  $\mu\text{M}$  10,055 nM  $\text{g}^{-1}$  sv.t.). Kod obje varijante osmoprimiranja sjemena niže vrijednosti lipidne peroksidacije su utvrđene kod kontrole te pri najnižoj razini osmotskog stresa (1000  $\mu\text{M NaHS}$ :  $\text{H}_2\text{O}$  4,114 nM  $\text{g}^{-1}$  sv.t., 2,5 % PEG 4,370 nM  $\text{g}^{-1}$  sv.t.; 1500  $\mu\text{M NaHS}$ :  $\text{H}_2\text{O}$  3,303 nM  $\text{g}^{-1}$  sv.t., 2,5 % PEG 4,143 nM  $\text{g}^{-1}$  sv.t.) te se ove vrijednosti nisu međusobno značajno razlikovale. Hipokotili suncokreta u varijanti osmoprimiranja s 1000  $\mu\text{M NaHS}$  su pri varijantama stresa 2,5 % PEG (0,112 nM  $\text{g}^{-1}$  sv.t.) i 10 % PEG (0,132 nM  $\text{g}^{-1}$  sv.t.) akumulirali značajno više HP u usporedbi s varijantama kontrola (0,071 nM  $\text{g}^{-1}$  sv.t.) i 5 % PEG (0,067 nM  $\text{g}^{-1}$  sv.t.). Varijanta naklijavanja 10 % PEG je rezultirala značajno najvećim sadržajem PRO (4,291  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.) dok je kod kontrolnih biljaka utvrđena najniža akumulacija navedene aminokiseline (0,637  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.). Sadržaj PRO akumuliran u hipokotilima u varijanti 2,5 % PEG (1,711  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.) i 5 % PEG (1,896  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.) se nije statistički značajno razlikovao. Pri varijanti osmoprimiranja sjemena s 1500  $\mu\text{M}$  otopinom NaHS, značajno najviše HP su sadržavali hipokotili u varijanti naklijavanja 10 % PEG (0,146 nM  $\text{g}^{-1}$  sv.t.), najniža vrijednost je utvrđena pri 5 % PEG (0,071 nM  $\text{g}^{-1}$  sv.t.) a zatim u kontroli (0,075 nM  $\text{g}^{-1}$  sv.t.) te se međusobno nisu statistički značajno razlikovale. Sadržaj slobodnog PRO se povećavao povećanjem razine osmotskog stresa te su se pri svim varijantama dobivene vrijednosti statistički značajno razlikovale ( $\text{H}_2\text{O}$  0,495  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.; 2,5 % PEG 1,569  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.; 5 % PEG 2,805  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.; 10 % PEG 4,497  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.).

F testom je utvrđen značajan utjecaj osmoprimiranja sjemena na energiju klijanja ( $p=0,0462$ ) te vrlo značajan na masu klijanaca ( $p<0,0001$ ) naklijavanih u prisustvu vode (Tablica 5.).

**Tablica 5.** Značajnost utjecaja osmopririranja sjemena (Bez primiranja; H<sub>2</sub>O; 100 μM NaHS; 500 μM NaHS; 1000 μM NaHS; 1500 μM NaHS) na energiju klijanja (EK), standardnu klijavost (SK), nenormalne klijanke (NK), mrtvo sjeme (MS) (%) i masu klijanaca (MK) (g), po varijantama osmotskog stresa u klijanju (H<sub>2</sub>O; 2,5 % PEG; 5 % PEG; 10 % PEG) kod hibrida Luka.

<b>H<sub>2</sub>O</b>					
<b>VARIJANTA</b>	<b>EK</b>	<b>SK</b>	<b>NK</b>	<b>MS</b>	<b>MK</b>
Bez primiranja	80 <sup>abc</sup>	83	10	7	0,68 <sup>a,A</sup>
H <sub>2</sub> O	70 <sup>c</sup>	78	13	10	0,54 <sup>de,DE</sup>
100 μM NaHS	86 <sup>a</sup>	90	7	4	0,58 <sup>cd,CD</sup>
500 μM NaHS	83 <sup>ab</sup>	89	9	2	0,63 <sup>b,B</sup>
1000 μM NaHS	74 <sup>bc</sup>	83	10	8	0,53 <sup>e,D</sup>
1500 μM NaHS	82 <sup>ab</sup>	83	12	6	0,60 <sup>bc,BC</sup>
F test	2,84	1,93	0,47	2,39	20,41
p	0,0462	0,1382	0,7956	0,0789	<0,0001
<b>2,5 % PEG</b>					
Bez primiranja	65	71	22	7	0,45 <sup>b,BC</sup>
H <sub>2</sub> O	72	80	14	7	0,46 <sup>b,AB</sup>
100 μM NaHS	73	82	12	7	0,46 <sup>b,AB</sup>
500 μM NaHS	81	85	10	6	0,48 <sup>a,A</sup>
1000 μM NaHS	82	84	11	6	0,43 <sup>c,C</sup>
1500 μM NaHS	79	84	10	7	0,46 <sup>b,AB</sup>
F test	2,00	1,04	1,24	0,09	7,57
p	0,1271	0,4244	0,3321	0,9933	0,0006
<b>5 % PEG</b>					
Bez primiranja	72 <sup>bc</sup>	82 <sup>ab</sup>	7 <sup>b</sup>	12	0,39 <sup>c</sup>
H <sub>2</sub> O	66 <sup>c</sup>	71 <sup>b</sup>	21 <sup>a</sup>	9	0,42 <sup>ab</sup>
100 μM NaHS	76 <sup>abc</sup>	86 <sup>a</sup>	7 <sup>b</sup>	8	0,40 <sup>bc</sup>
500 μM NaHS	74 <sup>abc</sup>	91 <sup>a</sup>	6 <sup>b</sup>	4	0,43 <sup>a</sup>
1000 μM NaHS	83 <sup>ab</sup>	85 <sup>a</sup>	10 <sup>b</sup>	6	0,41 <sup>ab</sup>
1500 μM NaHS	84 <sup>a</sup>	85 <sup>a</sup>	12 <sup>b</sup>	3	0,38 <sup>c</sup>
F test	2,88	2,98	3,52	2,61	3,58
p	0,0444	0,0395	0,0215	0,0605	0,0202
<b>10 % PEG</b>					
Bez primiranja	62	75	16	10	0,31
H <sub>2</sub> O	50	72	17	12	0,29
100 μM NaHS	54	76	15	10	0,32
500 μM NaHS	60	82	9	10	0,32
1000 μM NaHS	63	73	16	12	0,30
1500 μM NaHS	63	88	7	5	0,29
F test	1,39	2,08	1,17	1,57	1,07
p	0,2761	0,1150	0,3633	0,2181	0,3949

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup> p=0,05; <sup>ABC</sup> p=0,01).

Nadalje, na razini osmotskog stresa 5 % PEG, primijenjeni tretmani sjemena donorom H<sub>2</sub>S su značajno utjecali na sve analizirane pokazatelje vigora sjemena (EK p=0,0444; SK p=0,0395; NK p=0,0215; MK p=0,0042), osim na postotak mrtvog sjemena. Na najnižoj razini osmotskog stresa (2,5 % PEG), osmoprimiranje sjemena je značajno utjecalo samo na masu klijanaca (p=0,0006), dok na ostale pokazatelje nije značajno utjecalo. Na najvišoj razini osmotskog stresa (10 % PEG), osmoprimiranje nije značajno utjecalo ni na jedan analizirani pokazatelj.

Kod sjemena naklijavanog na vodi, LSD testom su utvrđene značajne razlike između pojedinih varijanti osmoprimiranja sjemena, te su tretmani bez primiranja kao i sa 100, 500 i 1500 μM NaHS rezultirali značajno većom energijom klijanja (bez primiranja 80 %; 100 μM NaHS 86 %; 500 μM NaHS 83 %; 1500 μM NaHS 82 %) u usporedbi s varijantom gdje je sjeme osmoprimirano s vodom (70 %) odnosno s 1000 NaHS (74 %), pri čemu se ove dvije vrijednosti nisu međusobno značajno razlikovale. Energija klijanja kod suhog sjemena (80 %) postavljenog na naklijavanje se nije značajno razlikovala u usporedbi s ostalim varijantama osmoprimiranja. Značajno najveća masa klijanaca je utvrđena u varijanti bez primiranja (0,68 g). U varijanti gdje je sjeme osmoprimirano vodom, utvrđena je značajno najmanja masa klijanaca (0,54 g) koja se nije statistički značajno razlikovala od mase klijanaca u varijanti 1000 μM NaHS (0,53 g).

U varijanti osmotskog stresa u klijanju s 2,5 % PEG, osmoprimiranje sjemena s koncentracijom 500 μM NaHS je rezultiralo najvećom masom klijanaca (0,48 g) dok je najmanja masa klijanaca zabilježena pri varijanti osmoprimiranja s 1000 μM NaHS (0,43 g).

U varijanti osmotskog stresa u klijanju s 5 % PEG, osmoprimiranje sjemena suncokreta s NaHS je rezultiralo povećanjem energije klijanja za sve koncentracije primijenjenog donora H<sub>2</sub>S (100 μM NaHS 76 %; 500 μM NaHS 74 %; 1000 μM NaHS 83 %; 1500 μM NaHS 84 %), te se dobivene vrijednosti nisu međusobno statistički značajno razlikovale. Najniža energija klijanja je utvrđena u varijanti primiranja s vodom (66 %) koja se nije značajno razlikovala od vrijednosti dobivenih u varijantama bez primiranja (72 %) te pri 100 μM NaHS i 500 μM NaHS. Značajno najniža standardna klijavost je utvrđena u varijanti osmoprimiranja vodom (71 %) te se nije značajno razlikovala od one utvrđene u varijanti bez primiranja (82 %).

Osmoprimiranje sjemena različitim koncentracijama NaHS je rezultiralo povećanjem standardne klijavosti (100 μM NaHS 86 %; 500 μM NaHS 91 %; 1000 μM NaHS 85 %; 1500 μM NaHS 85 %) ali se ove vrijednosti međusobno nisu značajno razlikovale. Značajno najviši postotak nenormalnih klijanaca je utvrđen u varijanti naklijavanja u prisustvu vode (21 %) dok se ostale dobivene vrijednosti nisu međusobno statistički značajno razlikovale te su se kretale u rasponu od 6 - 12 %, ovisno o varijanti osmoprimiranja. Najmanja masa klijanaca pri spomenutoj varijanti osmotskog stresa, je utvrđena pri varijanti bez osmoprimiranja (0,39 g) i s koncentracijom 1500 μM NaHS (0,38 g), te se nije značajno razlikovala od masa utvrđenih u varijantama s H<sub>2</sub>O (0,42 g), 100 μM NaHS (0,40 g) i 1000 μM NaHS (0,41 g). Najveća masa klijanaca je utvrđena u varijanti 500 μM NaHS (0,43 g).

U varijanti naklijavanja sjemena na vodi, F testom je utvrđen značajan utjecaj tretmana osmoprimiranja sjemena na razinu lipidne peroksidacije ( $p < 0,0001$ ), sadržaj HP ( $p < 0,0001$ ) i slobodnog PRO ( $p = 0,0287$ ) (Tablica 6.).

Prema LSD testu, u varijanti naklijavanja sjemena na vodi ( $H_2O$ ), najviša razina lipidne peroksidacije ( $7,252 \text{ nM g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ) je zabilježena kod neprimiranog sjemena. Klijanci dobiveni iz sjemena osmoprimiranog s  $1500 \mu\text{M NaHS}$  su imali značajno najnižu razinu lipidne peroksidacije ( $3,303 \text{ nM g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ). Razine lipidne peroksidacije utvrđene u varijantama osmoprimiranja s  $1000 \mu\text{M NaHS}$  ( $4,114 \text{ nM g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ),  $100 \mu\text{M NaHS}$  ( $4,701 \text{ nM g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ) i  $H_2O$  ( $4,729 \text{ nM g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ), se nisu statistički značajno razlikovale.

Sadržaji HP utvrđen u varijanti naklijavanja  $H_2O$  ( $0,101 \text{ nM g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ),  $100 \mu\text{M NaHS}$  ( $0,097 \text{ nM g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ) i  $500 \mu\text{M NaHS}$  ( $0,103 \text{ nM g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ) se međusobno nisu statistički značajno razlikovali, dok je značajno najveća vrijednost navedenog pokazatelja stresa utvrđena u varijanti bez primiranja ( $0,121 \text{ nM g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ). Niži sadržaj HP utvrđen je pri najvišim razinama osmotskog stresa ( $1000 \mu\text{M NaHS}$   $0,071 \text{ nM g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ;  $1500 \mu\text{M NaHS}$   $0,075 \text{ nM g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ) te se ove vrijednosti nisu statistički značajno razlikovale. Najviše slobodnog PRO akumulirali su hipokotili klijanaca u varijantama osmoprimiranja sjemena s  $1000 \mu\text{M NaHS}$  ( $0,637 \mu\text{M g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ) i  $100 \mu\text{M NaHS}$  ( $0,631 \mu\text{M g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ) te se ove vrijednosti nisu značajno razlikovale. Najniži sadržaj PRO je utvrđen u varijanti bez primiranja ( $0,462 \mu\text{M g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ), zatim pri varijanti osmoprimiranja s  $500 \mu\text{M NaHS}$  ( $0,491 \mu\text{M g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ) i varijanti  $1500 \mu\text{M NaHS}$  ( $0,495 \mu\text{M g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ), pri čemu se ove vrijednosti nisu međusobno značajno razlikovale.

Na razini osmotskog stresa  $2,5 \%$  PEG, osmoprimiranje sjemena je značajno utjecalo na sadržaj HP ( $p = 0,0016$ ) i slobodnog PRO ( $p = 0,0082$ ).

Prema LSD testu, u varijanti naklijavanja sjemena suncokreta pri  $2,5 \%$  PEG značajno najviše HP su akumulirali klijanci suncokreta čije sjeme je bilo osmoprimirano s  $1000 \mu\text{M NaHS}$  ( $0,112 \text{ nM g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ) te nije bilo značajne razlike u usporedbi s tretmanima  $500 \mu\text{M NaHS}$  ( $0,100 \text{ nM g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ) i  $1500 \mu\text{M NaHS}$  ( $0,102 \text{ nM g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ). Manji sadržaj HP je utvrđen u varijantama bez primiranja ( $0,077 \text{ nM g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ), voda ( $0,082 \text{ nM g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ) te  $100 \mu\text{M NaHS}$  ( $0,092 \text{ nM g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ) te se navedene vrijednosti nisu značajno razlikovale. Najviši sadržaj slobodnog PRO je utvrđen kod klijanaca čije je sjeme tretirano s  $1000 \mu\text{M NaHS}$  ( $1,711 \mu\text{M g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ) i nije se značajno razlikovao od onog utvrđenog pri  $1500 \mu\text{M NaHS}$  ( $1,569 \mu\text{M g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ). Sadržaj PRO u varijanti bez primiranja sjemena ( $1,168 \mu\text{M g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ) i osmoprimiranja s  $500 \mu\text{M NaHS}$  ( $1,241 \mu\text{M g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ) je imao niži sadržaj PRO u hipokotilima te se ove vrijednosti nisu međusobno statistički značajno razlikovale, kao što se nisu razlikovale ni od vrijednosti utvrđenih u varijantama voda ( $1,354 \mu\text{M g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ) i  $100 \mu\text{M NaHS}$  ( $1,414 \mu\text{M g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ).

U varijanti naklijavanja sjemena pri  $5 \%$  PEG, utvrđen je značajan utjecaj osmoprimiranja sjemena na sve ispitivane parametre (MDA  $p = 0,0011$ ; HP  $p = 0,0018$ ; PRO  $p = 0,0285$ ).

**Tablica 6.** Značajnost utjecaja osmoprimiranja sjemena (Bez primiranja; H<sub>2</sub>O; 100 μM NaHS; 500 μM NaHS; 1000 μM NaHS; 1500 μM NaHS) na razinu lipidne peroksidacije (MDA; nM g<sup>-1</sup> sv.t.), sadržaj vodikovog peroksida (HP; nM g<sup>-1</sup> sv.t.) i prolina (PRO; μM g<sup>-1</sup> sv.t.), u hipokotilima klijanaca hibrida Luka, po varijantama osmotskog stresa u klijanju (H<sub>2</sub>O; 2,5 % PEG; 5 % PEG; 10 % PEG).

<b>H<sub>2</sub>O</b>			
<b>VARIJANTA</b>	<b>MDA</b>	<b>HP</b>	<b>PRO</b>
Bez primiranja	7,252 <sup>a,A</sup>	0,121 <sup>a,A</sup>	0,462 <sup>b</sup>
H <sub>2</sub> O	4,729 <sup>c,BC</sup>	0,101 <sup>b,AB</sup>	0,548 <sup>ab</sup>
100 μM NaHS	4,701 <sup>c,BC</sup>	0,097 <sup>b,B</sup>	0,631 <sup>a</sup>
500 μM NaHS	5,939 <sup>b,AB</sup>	0,103 <sup>b,AB</sup>	0,491 <sup>b</sup>
1000 μM NaHS	4,114 <sup>c,CD</sup>	0,071 <sup>c,C</sup>	0,637 <sup>a</sup>
1500 μM NaHS	3,303 <sup>d,D</sup>	0,075 <sup>c</sup>	0,495 <sup>b</sup>
F test	14,85	13,19	3,26
p	<0,0001	<0,0001	0,0287
<b>2,5 % PEG</b>			
Bez primiranja	4,201	0,077 <sup>C,c</sup>	1,168 <sup>c,C</sup>
H <sub>2</sub> O	5,097	0,082 <sup>BC,c</sup>	1,354 <sup>bc,ABC</sup>
100 μM NaHS	4,668	0,092 <sup>ABC,bc</sup>	1,414 <sup>bc,ABC</sup>
500 μM NaHS	4,172	0,100 <sup>AB,ab</sup>	1,241 <sup>c,BC</sup>
1000 μM NaHS	4,370	0,112 <sup>A,a</sup>	1,711 <sup>a,A</sup>
1500 μM NaHS	4,143	0,102 <sup>AB,ab</sup>	1,569 <sup>ab,AB</sup>
F test	0,81	6,26	4,44
p	0,5585	0,0016	0,0082
<b>5 % PEG</b>			
Bez primiranja	4,814 <sup>c,C</sup>	0,114 <sup>a,A</sup>	3,011 <sup>a</sup>
H <sub>2</sub> O	5,368 <sup>bc,BC</sup>	0,112 <sup>a,AB</sup>	2,602 <sup>ab</sup>
100 μM NaHS	8,400 <sup>a,A</sup>	0,08 <sup>ab,ABC</sup>	2,251 <sup>bc</sup>
500 μM NaHS	7,519 <sup>ab,A</sup>	0,050 <sup>c,C</sup>	2,412 <sup>abc</sup>
1000 μM NaHS	6,969 <sup>abc,AB</sup>	0,067 <sup>bc,C</sup>	1,896 <sup>c</sup>
1500 μM NaHS	8,773 <sup>a,A</sup>	0,071 <sup>bc,BC</sup>	2,805 <sup>ab</sup>
F test	6,69	6,11	3,26
p	0,0011	0,0018	0,0285
<b>10 % PEG</b>			
Bez primiranja	10,832 <sup>ab,AB</sup>	0,080 <sup>b,B</sup>	5,950
H <sub>2</sub> O	12,565 <sup>a,A</sup>	0,136 <sup>a,A</sup>	4,654
100 μM NaHS	8,420 <sup>c,B</sup>	0,126 <sup>a,A</sup>	4,328
500 μM NaHS	9,864 <sup>bc,B</sup>	0,130 <sup>a,A</sup>	4,175
1000 μM NaHS	10,022 <sup>bc,B</sup>	0,132 <sup>a,A</sup>	4,291
1500 μM NaHS	10,055 <sup>bc,B</sup>	0,146 <sup>a,A</sup>	4,497
F test	4,94	11,05	1,50
p	0,0051	<0,0001	0,2376

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup> p=0,05; <sup>ABC</sup> p=0,01).

Na spomenutoj razini osmotskog stresa, LSD testom je utvrđena viša razina MDA u svim varijantama osmoprimiranja s NaHS (100  $\mu\text{M}$  NaHS 8,400  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.; 500  $\mu\text{M}$  NaHS 7,519  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.; 1000  $\mu\text{M}$  NaHS 6,969  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.; 1500  $\mu\text{M}$  NaHS 8,773  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) u usporedbi s neprimiranim sjemenom (4,814  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) odnosno primiranim vodom (5,368  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.). Vrijednosti lipidne peroksidacije utvrđene u svim varijantama osmoprimiranja s NaHS se nisu međusobno značajno razlikovale, kao ni vrijednosti utvrđene kod neprimiranog i sjemena primiranog vodom. Povećana akumulacija HP u klijancima suncokreta je utvrđena u varijantama bez primiranja (0,114  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) i primiranja vodom (0,112  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) ali se ove vrijednosti nisu značajno razlikovale. Sadržaji HP utvrđeni na razinama 500  $\mu\text{M}$  NaHS (0,050  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.), 1000  $\mu\text{M}$  NaHS (0,0673  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) i 1500  $\mu\text{M}$  NaHS (0,071  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) se nisu značajno razlikovali. Najviši sadržaj slobodnog PRO je utvrđen kod neprimiranog sjemena (3,011  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.) i nije se značajno razlikovao od varijanti primiranja s vodom (2,602  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.) i 1500  $\mu\text{M}$  NaHS (2,805  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.). Najniži sadržaj slobodnog PRO u klijancima je utvrđen u varijanti osmoprimiranja s 1000  $\mu\text{M}$  NaHS (1,896  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.) te se nije značajno razlikovao od vrijednosti utvrđenih pri 100  $\mu\text{M}$  NaHS (2,251  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.) i 500  $\mu\text{M}$  NaHS (2,412  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.).

Na najvišoj razini osmotskog stresa, pri 10 % PEG, utvrđen je vrlo značajan utjecaj osmoprimiranja sjemena suncokreta na razinu lipidne peroksidacije ( $p=0,0051$ ) te na akumulaciju HP ( $p<0,0001$ ), dok na sadržaj PRO spomenuti tretmani nisu značajno utjecali.

Prema LSD testu, najviše razine lipidne peroksidacije su utvrđene u klijancima dobivenim iz sjemena primiranog vodom (12,565  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) i kod neprimiranog sjemena (10,832  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) te se međusobno nisu značajno razlikovale. Osmoprimiranje s NaHS je smanjilo razinu lipidne peroksidacije te se dobivene vrijednosti, bez obzira na korištenu koncentraciju otopine NaHS, nisu međusobno značajno razlikovale (100  $\mu\text{M}$  NaHS 8,420  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.; 500  $\mu\text{M}$  NaHS 9,864  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t., 1000  $\mu\text{M}$  NaHS 10,022  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.; 1500  $\mu\text{M}$  NaHS 10,055  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.). Značajno najniža akumulacija HP je zabilježena kod neprimiranog sjemena (0,080  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.). Sadržaj HP u hipokotilima klijanaca pri svim ostalim varijantama osmoprimiranja se nije međusobno značajno razlikovao ( $\text{H}_2\text{O}$  0,136  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t. 100  $\mu\text{M}$  NaHS 0,126  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.; 500  $\mu\text{M}$  NaHS 0,130  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.; 1000  $\mu\text{M}$  NaHS 0,132  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.; 1500  $\mu\text{M}$  NaHS 0,146  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.).

#### 4.1.2. Utjecaj primiranja sjemena suncokreta na vigor i biokemijske pokazatelje stresa u klijancima hibrida Apolon u uvjetima smanjene pristupačnosti vode

Prema F testu, osmoprimiranje sjemena s NaHS je imalo vrlo značajan utjecaj na energiju klijanja ( $p=0,0059$ ) i ukupnu masu klijanaca ( $p<0,0001$ ). Osmoprimiranje sjemena s NaHS nije značajno utjecalo na standardnu klijavost ( $p=0,0818$ ), broj nenormalnih klijanaca ( $p=0,2767$ ), te na postotak mrtvog sjemena ( $p=0,1123$ ) (Tablica 7.).

**Tablica 7.** Značajnost utjecaja osmoprimiranja sjemena (Bez primiranja; H<sub>2</sub>O; 100  $\mu$ M NaHS; 500  $\mu$ M NaHS; 1000  $\mu$ M NaHS; 1500  $\mu$ M NaHS) i osmotskog stresa u klijanju (H<sub>2</sub>O; 2,5 % PEG; 5 % PEG; 10 % PEG) te njihovih interakcija na energiju klijanja (EK), standardnu klijavost (SK), nenormalne klijance (NK), mrtvo sjeme (MS; %) i masu klijanaca (MK; g) kod hibrida Apolon.

FAKTOR	VARIJANTA	EK	SK	NK	MS	MK
Osmoprimiranje	Bez primiranja	76 <sup>ab,AB</sup>	81	11	8	0,44 <sup>ab,AB</sup>
	H <sub>2</sub> O	77 <sup>ab,AB</sup>	83	11	6	0,44 <sup>ab,AB</sup>
	100 $\mu$ M NaHS	71 <sup>b,B</sup>	83	9	8	0,41 <sup>d,C</sup>
	500 $\mu$ M NaHS	76 <sup>ab,AB</sup>	82	13	6	0,42 <sup>cd,BC</sup>
	1000 $\mu$ M NaHS	80 <sup>a,A</sup>	86	9	5	0,45 <sup>a,A</sup>
	1500 $\mu$ M NaHS	80 <sup>a,A</sup>	85	9	5	0,43 <sup>bc,ABC</sup>
	F test	3,59	2,05	1,29	1,86	6,46
p	0,0059	0,0818	0,2767	0,1123	<0,0001	
Stres u klijanju	H <sub>2</sub> O	79 <sup>a,A</sup>	84	10	6	0,55 <sup>a,A</sup>
	2,5 % PEG	81 <sup>a,A</sup>	83	10	7	0,50 <sup>b,B</sup>
	5 % PEG	81 <sup>a,A</sup>	85	9	6	0,39 <sup>c,C</sup>
	10 % PEG	66 <sup>b,B</sup>	82	13	6	0,29 <sup>d,D</sup>
	F test	26,97	1,25	2,14	0,95	599,01
p	<0,0001	0,2980	0,1028	0,4206	<0,0001	
Osmoprimiranje x Stres u klijanju	F test	4,26	1,76	1,80	1,21	7,46
	p	<0,0001	0,0587	0,0505	0,2842	<0,0001

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup>  $p=0,05$ ; <sup>ABC</sup>  $p=0,01$ ).

LSD testom utvrđene su značajne razlike za postotak energije klijanja u ovisnosti o varijanti osmoprimiranja. Sjeme suncokreta osmoprimirano s 1000  $\mu$ M NaHS i 1500  $\mu$ M NaHS imalo je najveću energiju klijanja (80 %), dok je sjeme osmoprimirano s 100  $\mu$ M NaHS imalo najmanju energiju klijanja (71 %). Varijante osmoprimiranja sjemena nisu imale statistički značajan utjecaj na standardnu klijavost, nenormalne klijance i mrtvo sjeme. Sjeme suncokreta osmoprimirano s 1000  $\mu$ M NaHS imalo je najvišu (86 %), dok je sjeme bez primiranja imalo najnižu standardnu klijavost (81 %). Najviši postotak mrtvog sjemena zabilježen je u varijanti bez primiranja te osmoprimirano s 100  $\mu$ M NaHS (8 %) dok je najmanje mrtvog sjemena bilo u varijantama 1000 i 1500  $\mu$ M NaHS (5 %). Sjeme osmoprimirano s 1000  $\mu$ M NaHS imalo je najveću masu klijanaca (MK 0,45 g)



dok je sjeme osmoprimirano s 100  $\mu\text{M}$  NaHS imalo najmanju masu klijanaca (MK 0,41 g).

LSD testom je utvrđeno da se energija klijanja u varijantama naklijavanja  $\text{H}_2\text{O}$  (79 %) te 2,5 i 5 % PEG (81 %) nije statistički značajno razlikovala. U varijanti gdje je sjeme suncokreta naklijavano pri 10 % PEG, utvrđen je statistički značajno najniži postotak klijavosti (66 %). Najveći postotak nenormalnih klijanaca utvrđen je u varijanti 10 % PEG (13 %), dok je najmanje nenormalnih klijanaca bilo u varijanti naklijavanja 5 % PEG (9 %).

Prema F testu utvrđen je vrlo značajan utjecaj osmotskog stresa na energiju klijanja i masu klijanaca ( $p < 0,0001$ ) dok na standardnu klijavost ( $p = 0,2980$ ), nenormalne klijanice ( $p = 0,1028$ ) te mrtvo sjeme ( $p = 0,4206$ ), nije bilo utjecaja.

Povećanje razine osmotskog stresa pratio je pad mase klijanaca te su se utvrđene vrijednosti u svim varijantama statistički značajno razlikovale ( $\text{H}_2\text{O}$  0,55 g; 2,5 % PEG 0,50 g; 5 % PEG 0,39 g; 10 % PEG 0,29 g).

Prema F testu utvrđena je vrlo značajna interakcija osmoprimiranje x stres u klijanju za energiju klijanja i masu klijanaca ( $p < 0,0001$ ). Za ostale ispitivane parametre vigora, interakcija navedena dva faktora nije značajno utjecala.

U prosjeku za sve razine osmotskog stresa u klijanju, prema F testu, osmoprimiranje sjemena nije statistički značajno utjecalo na razinu lipidne peroksidacije ( $p = 0,0554$ ), sadržaj HP ( $p = 0,2169$ ) te na količinu slobodnog PRO ( $p = 0,2189$ ) (Tablica 8.).

Najviša razina lipidne peroksidacije utvrđena je u varijanti osmoprimiranja s 500  $\mu\text{M}$  NaHS (7,337  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) zatim pri 500  $\mu\text{M}$  NaHS (7,330  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) dok su najniže razine utvrđene u varijantama osmoprimiranja s vodom (6,715  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) i 1500  $\mu\text{M}$  NaHS (6,700  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.). U varijantama osmoprimiranja sjemena s 1500  $\mu\text{M}$  NaHS utvrđen je najveći sadržaj HP a zatim u varijanti primiranja s vodom (0,157  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.), dok je najmanja vrijednost utvrđena pri 500  $\mu\text{M}$  NaHS (0,144  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.).

Prema F testu, osmotski stres u klijanju je vrlo značajno utjecao na sve ispitivane pokazatelje stresa (MDA, HP, PRO;  $p < 0,0001$ ). Također je utvrđen značajan utjecaj interakcije osmoprimiranje x stres u klijanju na razinu lipidne peroksidacije ( $p < 0,0103$ ) dok na sadržaj HP ( $p < 0,0587$ ) i sadržaj slobodnog PRO ( $p < 0,1282$ ) interakcija navedenih faktora nije značajno utjecala.

LSD testom je utvrđena značajno najviša razina lipidne peroksidacije u varijanti gdje je sjeme suncokreta naklijavano na 10 % PEG (10,650  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.). Razina MDA utvrđena u tretmanu s 5 % PEG (6,669  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) i 2,5 % PEG (6,090  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) je bila značajno niža od one utvrđene pri 10 % PEG ali značajno viša od kontrole ( $\text{H}_2\text{O}$  4,550  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.).

Najviše HP je akumulirano u hipokotilima suncokreta u varijanti naklijavanja  $\text{H}_2\text{O}$  (0,199  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) a zatim pri 5 % PEG (0,191  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) te se ove dvije vrijednosti nisu statistički značajno razlikovale. Sadržaj HP kod sjemena naklijavanog pri 10 % PEG

(0,161 nM g<sup>-1</sup> sv.t.) i 2,5 % PEG (0,150 nM g<sup>-1</sup> sv.t.) se također nije statistički značajno razlikovao. Povećanje razine osmotskog stresa u klijanju pratio je rast sadržaja slobodnog PRO u hipokotilima te su se utvrđene vrijednosti PRO pri svim varijantama vrlo značajno razlikovale (H<sub>2</sub>O 0,914 μM g<sup>-1</sup> sv.t.; 2,5 % PEG 1,966 μM g<sup>-1</sup> sv.t.; 5 % PEG 3,688 μM g<sup>-1</sup> sv.t.; 10 % PEG 7,641 μM g<sup>-1</sup> sv.t.).

**Tablica 8.** Značajnost utjecaja osmoprimiranja sjemena (Bez primiranja; H<sub>2</sub>O; 100 μM NaHS; 500 μM NaHS; 1000 μM NaHS; 1500 μM NaHS) i osmotskog stresa u klijanju (H<sub>2</sub>O; 2,5 % PEG; 5 % PEG; 10 % PEG) te njihovih interakcija na razinu lipidne peroksidacije (MDA) (nM g<sup>-1</sup> sv.t.), sadržaj vodikovog peroksida (HP) (nM g<sup>-1</sup> sv.t.) i prolina (PRO) (μM g<sup>-1</sup> sv.t.), u hipokotilima klijanaca hibrida Apolon.

FAKTOR	VARIJANTA	MDA	HP	PRO
Osmoprimiranje	Bez primiranja	7,112	0,153	3,731
	H <sub>2</sub> O	6,715	0,157	3,312
	100 μM NaHS	7,330	0,153	3,745
	500 μM NaHS	7,337	0,144	3,672
	1000 μM NaHS	6,772	0,150	3,443
	1500 μM NaHS	6,700	0,159	3,412
	F test	2,28	1,45	1,44
p	0,0554	0,2169	0,2189	
Stres u klijanju	H <sub>2</sub> O	4,550 <sup>d,C</sup>	0,199 <sup>a,A</sup>	0,914 <sup>d,D</sup>
	2,5 % PEG	6,090 <sup>c,B</sup>	0,150 <sup>b,B</sup>	1,966 <sup>c,C</sup>
	5 % PEG	6,669 <sup>b,B</sup>	0,191 <sup>a,A</sup>	3,688 <sup>b,B</sup>
	10 % PEG	10,650 <sup>a,A</sup>	0,161 <sup>b,B</sup>	7,641 <sup>a,A</sup>
	F test	242,20	91,33	547,93
p	<0,0001	<0,0001	<0,0001	
Osmoprimiranje x Stres u klijanju	F test	2,29	1,76	1,50
	p	0,0103	0,0587	0,1282

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup> p=0,05; <sup>ABC</sup> p=0,01).

Prema F testu, kod neprimiranog tj. suhog sjemena osmotski stres u klijanju je vrlo značajno utjecao na energiju klijanja (EK p=0,0004) i masu klijanaca (p<0,0001), dok je na mrtvo sjeme imao značajan utjecaj (MS p=0,0402). Kod ostalih ispitivanih parametara nije utvrđen statistički značajan utjecaj osmotskog stresa (Tablica 9.). Kod svih varijanti osmoprimiranja sjemena pad mase klijanaca je pratio povećanje razine osmotskog stresa te je u svim varijantama osmotskog stresa značajno najviša masa utvrđena u kontroli (H<sub>2</sub>O) a značajno najniža pri 10 % PEG.

Kod varijante bez osmoprimiranja sjeme naklijavano na 10 % PEG imalo je vrlo značajno najnižu energiju klijanja (63 %) dok se ostale varijante nisu statistički značajno razlikovale. Kod spomenute varijante, LSD testom je utvrđena vrlo značajno najveća masa klijanaca kod suncokreta naklijavanog na vodi (0,56 g) i 2,5 % PEG (0,54 g) dok je varijanta 10 % PEG očekivano rezultirala vrlo značajno najmanjom masom klijanaca (0,27 g).

**Tablica 9.** Značajnost utjecaja osmotskog stresa u klijanju (H<sub>2</sub>O; 2,5 % PEG; 5 % PEG; 10 % PEG) na energiju klijanja (EK), standardnu klijavost (SK), nenormalne klijance (NK), mrtvo sjeme (MS) (%) i masu klijanaca (MK) (g) po varijantama osmopririranja sjemena (Bez primiranja; H<sub>2</sub>O; 100 μM NaHS; 500 μM NaHS; 1000 μM NaHS; 1500 μM NaHS) kod hibrida Apolon.

<b>Bez primiranja</b>					
<b>VARIJANTA</b>	<b>EK</b>	<b>SK</b>	<b>NK</b>	<b>MS</b>	<b>MK</b>
H <sub>2</sub> O	84 <sup>a,A</sup>	86	9	6 <sup>b</sup>	0,56 <sup>a,A</sup>
2,5 % PEG	77 <sup>a,A</sup>	78	12	11 <sup>a</sup>	0,54 <sup>a,A</sup>
5 % PEG	80 <sup>a,A</sup>	82	10	9 <sup>ab</sup>	0,36 <sup>b,B</sup>
10 % PEG	63 <sup>b,B</sup>	81	14	6 <sup>b</sup>	0,27 <sup>c,C</sup>
F test	13,53	1,76	0,47	3,79	148,00
p	0,0004	0,2086	0,7067	0,0402	<0,0001
<b>H<sub>2</sub>O</b>					
H <sub>2</sub> O	84 <sup>a,A</sup>	86	10	5 <sup>ab</sup>	0,53 <sup>a,A</sup>
2,5 % PEG	81 <sup>a,A</sup>	84	8	9 <sup>a</sup>	0,51 <sup>a,A</sup>
5 % PEG	77 <sup>a,A</sup>	82	16	3 <sup>b</sup>	0,42 <sup>b,B</sup>
10 % PEG	66 <sup>b,B</sup>	80	12	9 <sup>a</sup>	0,30 <sup>c,C</sup>
F test	10,59	0,89	1,69	2,38	53,12
p	0,0011	0,4764	0,2210	0,1212	<0,0001
<b>100 μM NaHS</b>					
H <sub>2</sub> O	71 <sup>b,B</sup>	80 <sup>b</sup>	11 <sup>ab</sup>	10 <sup>ab</sup>	0,50 <sup>a,A</sup>
2,5 % PEG	87 <sup>a,A</sup>	87 <sup>a</sup>	7 <sup>ab</sup>	7 <sup>ab</sup>	0,47 <sup>b,A</sup>
5 % PEG	79 <sup>ab,AB</sup>	85 <sup>ab</sup>	6 <sup>b</sup>	11 <sup>a</sup>	0,39 <sup>c,B</sup>
10 % PEG	50 <sup>c,C</sup>	83 <sup>ab</sup>	13 <sup>a</sup>	5 <sup>b</sup>	0,27 <sup>d,C</sup>
F test	26,78	2,28	3,29	2,17	109,83
p	<0,0001	0,1319	0,0581	0,1448	<0,0001
<b>500 μM NaHS</b>					
H <sub>2</sub> O	67 <sup>ab</sup>	83	12	6	0,53 <sup>a,A</sup>
2,5 % PEG	77 <sup>ab</sup>	77	16	7	0,41 <sup>b,B</sup>
5 % PEG	83 <sup>a</sup>	85	11	5	0,40 <sup>b,B</sup>
10 % PEG	78 <sup>ab</sup>	83	12	6	0,31 <sup>c,C</sup>
F test	1,84	0,88	0,54	0,21	98,41
p	0,1929	0,4783	0,6636	0,8889	<0,0001
<b>1000 μM NaHS</b>					
H <sub>2</sub> O	86 <sup>a,A</sup>	90 <sup>a</sup>	6 <sup>b,AB</sup>	5	0,58 <sup>a,A</sup>
2,5 % PEG	82 <sup>a,A</sup>	86 <sup>ab</sup>	9 <sup>b,AB</sup>	6	0,54 <sup>b,A</sup>
5 % PEG	85 <sup>a,A</sup>	91 <sup>a</sup>	5 <sup>b,B</sup>	5	0,41 <sup>c,B</sup>
10 % PEG	67 <sup>b,B</sup>	79 <sup>b</sup>	18 <sup>a,A</sup>	4	0,26 <sup>d,C</sup>
F test	7,44	4,88	7,92	0,12	190,55
p	0,0045	0,0192	0,0035	0,9445	<0,0001
<b>1500 μM NaHS</b>					
H <sub>2</sub> O	79	82	12	6	0,56 <sup>a,A</sup>
2,5 % PEG	85	87	8	6	0,46 <sup>b,B</sup>
5 % PEG	83	85	9	6	0,39 <sup>c,C</sup>
10 % PEG	74	88	8	4	0,30 <sup>d,D</sup>
F test	1,97	0,81	0,91	0,20	129,41
p	0,1728	0,5146	0,4629	0,8969	<0,0001

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup> p=0,05; <sup>ABC</sup> p=0,01).

Prema LSD testu pri  $p=0,05$  najveći postotak standardne klijavosti zabilježen je kod varijante s vodom (86 %), dok je najniža standardna klijavost bila pri varijanti naklijavanja s 2,5 % PEG (78 %).

Prema LSD testu pri  $p=0,05$  najveći postotak mrtvog sjemena je zabilježen kod varijante 2,5 % PEG (11 %) dok je najmanje mrtvog sjemena bilo u varijantama s vodom i 10 % PEG (6 %). Prema F testu, kod varijante osmoprimiranja sjemena suncokreta vodom ( $H_2O$ ), primijenjene varijante osmotskog stresa su vrlo značajno utjecale na energiju klijanja ( $p=0,0011$ ) i masu klijanaca ( $p<0,0001$ ), dok na standardnu klijavost, postotak nenormalnih klijanaca i mrtvo sjeme, navedeni faktor nije značajno utjecao.

Prema LSD testu, vrlo značajno najnižu energiju klijanja (66 %) je imalo sjeme pri varijanti 10 % PEG, dok se vrijednosti energije klijanja utvrđene pri ostalim varijantama osmotskog stresa i kod kontrole, nisu međusobno značajno razlikovale ( $H_2O$  84 %; 2,5 % PEG 81 %; 5 % PEG 77 %). Pri spomenutoj varijanti osmoprimiranja sjemena pad mase klijanaca pratio je povećanje razine osmotskog stresa te je vrlo značajno najmanja masa utvrđena pri najvišoj razini stresa (10 % PEG 0,30 g), dok je najveća masa utvrđena kod kontrole ( $H_2O$  0,53 g).

Pri varijanti osmoprimiranja sjemena s  $100 \mu M$  NaHS inducirani osmotski stres u klijanju je vrlo značajno utjecao na energiju klijanja i masu klijanaca ( $p<0,0001$ ) dok na ostale ispitivane parametre vigora sjemena nije značajno utjecao.

U navedenoj varijanti osmoprimiranja, najveći postotak energije klijanja je utvrđen u varijanti gdje je sjeme suncokreta naklijavano na 2,5 % PEG (87 %) te se ova vrijednost nije vrlo značajno razlikovala od utvrđene pri tretmanu s 5 % PEG (79%) koja se nadalje nije značajno razlikovala od energije klijanja utvrđene na vodi (71 %). Vrlo značajno najniža energija klijanja je dobivena pri najvišoj razini osmotskog stresa (50 %). Pad mase klijanaca je, kao i kod svih ostalih varijanti osmoprimiranja sjemena, pratio povećanje razine osmotskog stresa te je značajno najveća masa utvrđena u kontroli ( $H_2O$  0,50 g), a vrlo značajno najmanja pri 10 % PEG (0,27 g).

Pri varijanti osmoprimiranja sjemena s  $500 \mu M$  NaHS, F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj razine osmotskog stresa samo na masu klijanaca ( $p<0,0001$ ) dok na ostale parametre vigora sjemena primijenjeni tretmani nisu značajno utjecali. Pri spomenutoj varijanti osmoprimiranja sjemena pad mase klijanaca pratio je povećanje razine osmotskog stresa te je značajno najmanja masa utvrđena pri najvišoj razini stresa (0,31 g), dok je najveća masa utvrđena kod kontrole (0,53 g). Preostale dvije varijante stresa u klijanju nisu se međusobno statistički značajno razlikovale.

Pri koncentraciji  $1000 \mu M$  NaHS korištenog u osmoprimiranju sjemena suncokreta, F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj razine osmotskog stresa na energiju klijanja, nenormalne klijanice i masu klijanaca (EK  $p=0,0045$ ; NK  $p=0,0035$  i mK  $p<0,0001$ ) te značajan utjecaj na standardnu klijavost (SK  $p=0,0192$ ). Pri spomenutoj koncentraciji NaHS, LSD testom je utvrđena značajno najviša standardna klijavost kod sjemena naklijavanog u varijantama  $H_2O$  (90 %) i 5 % PEG (91 %), a koje se nisu značajno

razlikovale od varijante s 2,5 % PEG (86 %). Značajno najniža standardna klijavost zabilježena je kod sjemena naklijavanog na 10 % PEG (79 %).

Pri varijanti osmoprimiranja sjemena s 1500  $\mu\text{M}$  NaHS inducirani osmotski stres u klijanju je vrlo značajno utjecao na masu klijanaca ( $p < 0,0001$ ) dok na ostale ispitivane parametre vîgora sjemena nije značajno utjecao. Pri spomenutoj varijanti osmoprimiranja sjemena povećanje razine osmotskog stresa pratio je pad mase klijanaca te je značajno najmanja masa utvrđena pri najvišoj razini stresa (0,30 g) dok je najveća masa utvrđena kod kontrole (0,56 g).

U svim varijantama osmoprimiranja sjemena, F testom je utvrđen značajan utjecaj osmotskog stresa na razinu lipidne peroksidacije, sadržaj HP te akumulaciju PRO (Tablica 10.).

Kod sjemena koje nije prethodno osmoprimirano, značajno najviša razina lipidne peroksidacije je utvrđena na najvišoj razini stresa (11,192  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) dok je najniža vrijednost lipidne peroksidacije utvrđena kod kontrole (4,253  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.). Razine lipidne peroksidacije pri 2,5 % PEG (5,681  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) i 5 % PEG (7,326  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) se nisu međusobno statistički značajno razlikovale. Vrlo značajno najviši sadržaj HP zabilježen je kod 5 % PEG (0,190  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) te se nije statistički značajno razlikovao od sjemena naklijavanog pri 10 % PEG (0,176  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.), a koji se nadalje nije značajno razlikovao od 2,5 % PEG (0,147  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.). Značajno najniži sadržaj HP je zabilježen kod kontrole ( $\text{H}_2\text{O}$  0,100  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.). Značajno najveća akumulacija PRO zabilježena je pri najvišoj razini osmotskog stresa (8,328  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.), a vrlo značajno najmanja kod kontrole (0,748  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.) i 2,5 % PEG (1,449  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.) te se ove vrijednosti nisu međusobno značajno razlikovale.

U varijanti osmoprimiranja s vodom značajno najveća razina lipidne peroksidacije je utvrđena pri 10 % PEG (9,774  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) dok je značajno najniža razina lipidne peroksidacije utvrđena kod 2,5 % PEG (5,016  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.). Preostale dvije razine solnog stresa se nisu vrlo značajno razlikovale ( $\text{H}_2\text{O}$  5,378  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.; 5 % PEG 6,692  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.). Sadržaj HP utvrđen kod 2,5 % PEG (0,155  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.), 5 % PEG (0,187  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) i 10 % PEG (0,161  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) se nije statistički vrlo značajno razlikovao dok je kod kontrole utvrđen značajno najniži sadržaj HP ( $\text{H}_2\text{O}$  0,125  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.). Povećanje sadržaja akumuliranog PRO pratilo je povećanje razine osmotskog stresa te su hipokotili klijanaca na najvišoj razini osmotskog stresa akumulirali značajno najviše PRO (7,265  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.) dok se sadržaj PRO kod kontrole (0,949  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.) i pri 2,5 % PEG (1,759  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.) nije vrlo značajno razlikovao.

Kod sjemena osmoprimiranog s 100  $\mu\text{M}$  NaHS, LSD testom je utvrđena značajno najviša razina lipidne peroksidacije pri varijanti osmotskog stresa 10 % PEG (11,415  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.). Značajno niža razina navedenog pokazatelja stresa u biljkama je utvrđena pri 2,5 % PEG (6,233  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) i 5 % PEG (7,278  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) te se one nisu međusobno značajno razlikovale, dok je značajno najniža vrijednosti utvrđena kod kontrole (4,396  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.).

**Tablica 10.** Značajnost utjecaja osmotskog stresa u klijanju (H<sub>2</sub>O; 2,5 % PEG; 5 % PEG; 10 % PEG) na razinu lipidne peroksidacije (MDA) (nM g<sup>-1</sup> sv.t.), sadržaj vodikovog peroksida (HP) (nM g<sup>-1</sup> sv.t.) i prolina (PRO) (μM g<sup>-1</sup> sv.t.), u hipokotilima klijanaca hibrida Apolon, po varijantama osmoprimiranja sjemena (Bez primiranja; H<sub>2</sub>O; 100 μM NaHS; 500 μM NaHS; 1000 μM NaHS; 1500 μM NaHS).

<b>Bez primiranja</b>			
<b>VARIJANTA</b>	<b>MDA</b>	<b>HP</b>	<b>PRO</b>
H <sub>2</sub> O	4,253 <sup>d,C</sup>	0,100 <sup>c,C</sup>	0,748 <sup>c,C</sup>
2,5 % PEG	5,681 <sup>c,BC</sup>	0,147 <sup>b,B</sup>	1,449 <sup>c,C</sup>
5 % PEG	7,326 <sup>b,B</sup>	0,190 <sup>a,A</sup>	4,400 <sup>b,B</sup>
10 % PEG	11,192 <sup>a,A</sup>	0,176 <sup>a,AB</sup>	8,328 <sup>a,A</sup>
F test	49,32	28,09	76,67
p	<0,0001	<0,0001	<0,0001
<b>H<sub>2</sub>O</b>			
H <sub>2</sub> O	5,378 <sup>c,BC</sup>	0,125 <sup>c,B</sup>	0,949 <sup>d,C</sup>
2,5 % PEG	5,016 <sup>c,C</sup>	0,155 <sup>b,AB</sup>	1,759 <sup>c,C</sup>
5 % PEG	6,692 <sup>b,B</sup>	0,187 <sup>a,A</sup>	3,275 <sup>b,B</sup>
10 % PEG	9,774 <sup>a,A</sup>	0,161 <sup>ab,AB</sup>	7,265 <sup>a,A</sup>
F test	32,11	7,47	164,25
p	<0,0001	0,0044	<0,0001
<b>100 μM NaHS</b>			
H <sub>2</sub> O	4,396 <sup>c,C</sup>	0,097 <sup>c,C</sup>	0,863 <sup>c,C</sup>
2,5 % PEG	6,233 <sup>b,BC</sup>	0,159 <sup>b,B</sup>	2,620 <sup>b,B</sup>
5 % PEG	7,278 <sup>b,B</sup>	0,194 <sup>a,A</sup>	3,446 <sup>b,B</sup>
10 % PEG	11,415 <sup>a,A</sup>	0,161 <sup>b,B</sup>	8,052 <sup>a,A</sup>
F test	34,96	57,29	89,88
p	<0,0001	<0,0001	<0,0001
<b>500 μM NaHS</b>			
H <sub>2</sub> O	4,845 <sup>c,C</sup>	0,099 <sup>c,C</sup>	0,877 <sup>d,C</sup>
2,5 % PEG	7,013 <sup>b,B</sup>	0,157 <sup>b,AB</sup>	2,353 <sup>c,BC</sup>
5 % PEG	6,240 <sup>bc,BC</sup>	0,189 <sup>a,A</sup>	3,826 <sup>b,B</sup>
10 % PEG	11,252 <sup>a,A</sup>	0,131 <sup>b,BC</sup>	7,630 <sup>a,A</sup>
F test	32,57	13,68	38,20
p	<0,0001	0,0004	<0,0001
<b>1000 μM NaHS</b>			
H <sub>2</sub> O	4,335 <sup>c,C</sup>	0,111 <sup>c,C</sup>	1,023 <sup>d,D</sup>
2,5 % PEG	6,070 <sup>b,B</sup>	0,138 <sup>bc,BC</sup>	1,725 <sup>c,C</sup>
5 % PEG	6,212 <sup>b,B</sup>	0,189 <sup>a,A</sup>	3,615 <sup>b,B</sup>
10 % PEG	10,472 <sup>a,A</sup>	0,163 <sup>ab,AB</sup>	7,409 <sup>a,A</sup>
F test	121,60	13,32	325,44
p	<0,0001	0,0004	<0,0001
<b>1500 μM NaHS</b>			
H <sub>2</sub> O	4,092 <sup>c,C</sup>	0,125 <sup>b,C</sup>	1,026 <sup>d,D</sup>
2,5 % PEG	6,528 <sup>b,B</sup>	0,142 <sup>b,BC</sup>	1,892 <sup>c,C</sup>
5 % PEG	6,264 <sup>b,B</sup>	0,197 <sup>a,A</sup>	3,565 <sup>b,B</sup>
10 % PEG	9,796 <sup>a,A</sup>	0,171 <sup>a,AB</sup>	7,164 <sup>a,A</sup>
F test	41,35	11,88	352,50
p	<0,0001	0,0007	<0,0001

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup> p=0,05; <sup>ABC</sup> p=0,01).

Značajno najviša akumulacija HP je utvrđena u varijanti osmotskog stresa 5 % PEG (0,194 nM g<sup>-1</sup> sv.t.), a najmanja u kontroli (0,097 nM g<sup>-1</sup> sv.t.). Razine lipidne peroksidacije utvrđene pri 2,5 % PEG (0,159 nM g<sup>-1</sup> sv.t.) te pri 10 % PEG (0,161 nM g<sup>-1</sup> sv.t.) se nisu međusobno statistički značajno razlikovale.

Značajno najviši sadržaj slobodnog PRO pri ovoj varijanti osmoprimiranja je utvrđen kod klijanaca na 10 % PEG (8,052 μM g<sup>-1</sup> sv.t.) dok se vrijednosti utvrđene pri 2,5 % PEG (2,620 μM g<sup>-1</sup> sv.t.) i pri 5 % PEG (3,446 μM g<sup>-1</sup> sv.t.) nisu statistički vrlo značajno razlikovale. Kod kontrole utvrđen je vrlo značajno najniži sadržaj slobodnog PRO (H<sub>2</sub>O 0,863 μM g<sup>-1</sup> sv.t.). Pri varijanti osmoprimiranja sjemena s 500 μM NaHS najveća razina MDA je utvrđena u varijanti osmotskog stresa 10 % PEG (11,252 nM g<sup>-1</sup> sv.t.), a najmanja u varijanti kontrole (4,845 μM g<sup>-1</sup> sv.t.). Razine lipidne peroksidacije utvrđene kod 2,5 % PEG (7,013 nM g<sup>-1</sup> sv.t.) te pri 5 % PEG (6,240 nM g<sup>-1</sup> sv.t.) se nisu međusobno statistički značajno razlikovale. Vrlo značajno najviša akumulacija HP pri navedenoj varijanti osmoprimiranja je utvrđena pri 5 % PEG (0,189 nM g<sup>-1</sup> sv.t.) dok su najmanje HP akumulirali klijaneci suncokreta naklijavani u kontroli (0,099 nM g<sup>-1</sup> sv.t.). Značajno najviši sadržaj slobodnog PRO pri ovoj varijanti osmoprimiranja je utvrđen kod klijanaca na 10 % PEG (7,630 μM g<sup>-1</sup> sv.t.) dok se vrijednosti utvrđene kod kontrole (0,877 μM g<sup>-1</sup> sv.t.) i 2,5 % PEG (2,353 μM g<sup>-1</sup> sv.t.) nisu statistički vrlo značajno razlikovale.

Kod sjemena osmoprimiranog s 1000 i 1500 μM NaHS vrlo značajno najviša razina lipidne peroksidacije je utvrđena pri 10 % PEG (1000 μM NaHS 10,472 nM g<sup>-1</sup> sv.t.; 1500 μM 9,796 nM g<sup>-1</sup> sv.t.) dok je kod obje navedene varijante osmoprimiranja naklijavanje u prisustvu vode, rezultiralo značajno nižom razinom lipidne peroksidacije (1000 μM NaHS: 4,335 nM g<sup>-1</sup> sv.t.; 1500 μM NaHS 4,092 nM g<sup>-1</sup> sv.t.). Razine lipidne peroksidacije utvrđene pri 2,5 % PEG (1000 μM NaHS 6,071 nM g<sup>-1</sup> sv.t.; 1500 μM NaHS 6,070 nM g<sup>-1</sup> sv.t.) i 5 % PEG (1000 μM NaHS 6,212 nM g<sup>-1</sup> sv.t.; 1500 μM NaHS 6,264 nM g<sup>-1</sup> sv.t.) se nisu statistički vrlo značajno razlikovale. U varijantama osmoprimiranja s 1000 i 1500 μM NaHS, hipokotili suncokreta su pri 5 % PEG (1000 μM NaHS 0,189 nM g<sup>-1</sup> sv.t.; 1500 μM NaHS 0,197 nM g<sup>-1</sup> sv.t.) i 10 % PEG (1000 μM NaHS 0,163 nM g<sup>-1</sup> sv.t.; 1500 μM NaHS 0,171 nM g<sup>-1</sup> sv.t.) akumulirali značajno više HP u usporedbi s kontrolom (1000 μM NaHS 0,111 nM g<sup>-1</sup> sv.t.; 1500 μM NaHS 0,125 nM g<sup>-1</sup> sv.t.) i 2,5 % PEG (1000 μM NaHS 0,138 nM g<sup>-1</sup> sv.t.; 1500 μM NaHS 0,142 nM g<sup>-1</sup> sv.t.). Povećanje sadržaja slobodnog PRO je, kao i u ostalim varijantama osmoprimiranja, bilo proporcionalno porastu razine osmotskog stresa te su se u svim varijantama stresa u klijanju, dobivene vrijednosti statistički vrlo značajno razlikovale. Tako su vrijednosti sadržaja PRO kod sjemena osmoprimiranog s 1000 μM NaHS bile za H<sub>2</sub>O (1,023 μM g<sup>-1</sup> sv.t.), 2,5 % PEG (1,725 μM g<sup>-1</sup> sv.t.), 5 % PEG (3,615 μM g<sup>-1</sup> sv.t.) i 10 % PEG (7,409 μM g<sup>-1</sup> sv.t.). Sadržaj PRO u hipokotilima suncokreta Apolon, uzgojenim iz sjemena prethodno primiranog s 1500 μM NaHS iznosio je za H<sub>2</sub>O (1,026 μM g<sup>-1</sup> sv.t.), 2,5 % PEG (1,892 μM g<sup>-1</sup> sv.t.), 5 % PEG (3,565 μM g<sup>-1</sup> sv.t.), 10 % PEG (7,164 μM g<sup>-1</sup> sv.t.).

F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj osmoprimiranja sjemena na energiju klijanja ( $p=0,0033$ ) i masu klijanaca ( $p<0,0001$ ) te značajan utjecaj na standardnu klijavost ( $p=0,0390$ ), naklijavanih u prisustvu vode (Tablica 11.).

**Tablica 11.** Značajnost utjecaja osmoprimiranja sjemena (Bez primiranja; H<sub>2</sub>O; 100  $\mu$ M NaHS; 500  $\mu$ M NaHS; 1000  $\mu$ M NaHS; 1500  $\mu$ M NaHS) na energiju klijanja (EK), standardnu klijavost (SK), nenormalne klijanice (NK), mrtvo sjeme (MS) (%) i masu klijanaca (MK) (g), po varijantama osmotskog stresa u klijanju (H<sub>2</sub>O; 2,5 % PEG; 5 % PEG; 10 % PEG) kod hibrida Apolon.

<b>H<sub>2</sub>O</b>					
<b>VARIJANTA</b>	<b>EK</b>	<b>SK</b>	<b>NK</b>	<b>MS</b>	<b>MK</b>
Bez primiranja	84 <sup>a,AB</sup>	86 <sup>ab</sup>	9	6	0,57 <sup>a,A</sup>
H <sub>2</sub> O	84 <sup>a,AB</sup>	86 <sup>ab</sup>	10	5	0,53 <sup>bc,C</sup>
100 $\mu$ M NaHS	71 <sup>bc,BC</sup>	80 <sup>b</sup>	11	10	0,50 <sup>c,C</sup>
500 $\mu$ M NaHS	67 <sup>c,C</sup>	83 <sup>b</sup>	12	6	0,53 <sup>b,BC</sup>
1000 $\mu$ M NaHS	86 <sup>a,A</sup>	90 <sup>a</sup>	6	5	0,58 <sup>a,A</sup>
1500 $\mu$ M NaHS	79 <sup>ab,ABC</sup>	82 <sup>b</sup>	12	6	0,56 <sup>a,AB</sup>
F test	5,42	2,99	1,10	1,25	14,18
p	0,0033	0,0390	0,3957	0,3261	<0,0001
<b>2,5 % PEG</b>					
Bez primiranja	77	78	12	11	0,54 <sup>a,A</sup>
H <sub>2</sub> O	81	84	8	9	0,51 <sup>b,AB</sup>
100 $\mu$ M NaHS	87	87	7	7	0,47 <sup>c,BC</sup>
500 $\mu$ M NaHS	77	77	16	7	0,43 <sup>d,BC</sup>
1000 $\mu$ M NaHS	82	86	9	6	0,53 <sup>a,A</sup>
1500 $\mu$ M NaHS	85	87	8	6	0,46 <sup>cd,C</sup>
F test	1,51	2,19	1,85	1,64	20,82
p	0,2360	0,1002	0,1528	0,2000	<0,0001
<b>5 % PEG</b>					
Bez primiranja	80	82	10	9	0,35
H <sub>2</sub> O	77	82	16	3	0,42
100 $\mu$ M NaHS	79	85	6	11	0,39
500 $\mu$ M NaHS	83	85	11	5	0,40
1000 $\mu$ M NaHS	85	91	5	5	0,41
1500 $\mu$ M NaHS	83	85	9	6	0,39
F test	1,37	1,41	2,56	1,88	2,42
p	0,2829	0,2682	0,0646	0,1473	0,0760
<b>10 % PEG</b>					
Bez primiranja	63 <sup>b,AB</sup>	81 <sup>ab</sup>	14 <sup>ab</sup>	6	0,27 <sup>ab</sup>
H <sub>2</sub> O	65 <sup>b,A</sup>	80 <sup>ab</sup>	12 <sup>ab</sup>	9	0,30 <sup>ab</sup>
100 $\mu$ M NaHS	50 <sup>c,AB</sup>	83 <sup>ab</sup>	13 <sup>ab</sup>	5	0,27 <sup>ab</sup>
500 $\mu$ M NaHS	78 <sup>a,A</sup>	83 <sup>ab</sup>	12 <sup>ab</sup>	6	0,31 <sup>a</sup>
1000 $\mu$ M NaHS	67 <sup>ab,A</sup>	79 <sup>b</sup>	18 <sup>a</sup>	4	0,26 <sup>b</sup>
1500 $\mu$ M NaHS	74 <sup>ab,A</sup>	88 <sup>a</sup>	8 <sup>b</sup>	4	0,30 <sup>ab</sup>
F test	6,34	1,29	1,25	0,64	1,81
p	0,0015	0,3106	0,3282	0,6708	0,1623

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup>  $p=0,05$ ; <sup>ABC</sup>  $p=0,01$ ).



Nadalje, na razini osmotskog stresa 2,5 % PEG, primijenjeni tretmani sjemena donorom H<sub>2</sub>S su vrlo značajno utjecali na masu klijanaca ( $p < 0,0001$ ) dok na ostale pokazatelje vigora sjemena nisu imali utjecaja. Kod najviše razine osmotskog stresa (10 % PEG), osmoprimiranje sjemena je imalo vrlo značajan utjecaj na energiju klijanja ( $p = 0,0015$ ), dok na ostale parametre također nije bilo utjecaja.

Na srednjoj razini osmotskog stresa (5 % PEG), osmoprimiranje sjemena nije značajno utjecalo ni na jedan analizirani pokazatelj.

Kod sjemena naklijavanog na vodi, LSD testom su utvrđene značajne razlike između pojedinih varijanti osmoprimiranja sjemena te su tretmani s 1000  $\mu\text{M}$  NaHS, H<sub>2</sub>O, sjeme bez primiranja te 1500  $\mu\text{M}$  NaHS rezultirali značajno većom energijom klijanja (1000  $\mu\text{M}$  NaHS 86 %; H<sub>2</sub>O i bez primiranja 84 %; 1500  $\mu\text{M}$  NaHS 79 %). Značajno najniža energija klijanja bila je kod tretmana s 500  $\mu\text{M}$  NaHS (67 %). Najmanju standardnu klijavost je imao tretman sa 100  $\mu\text{M}$  NaHS (80 %), što je bilo značajno niže u odnosu na varijantu primiranja s 1000  $\mu\text{M}$  NaHS (90 %), a prema ostalim varijantama nije bilo značajne razlike. Mase klijanaca utvrđena u varijantama bez primiranja (0,57 g), 1000  $\mu\text{M}$  NaHS (0,58 g), te 1500  $\mu\text{M}$  NaHS (0,56 g), bile su značajno veće od masa utvrđenih kod sjemena primiranog s vodom (0,53 g), 100  $\mu\text{M}$  NaHS (0,50 g), i 500  $\mu\text{M}$  NaHS (0,53 g).

Pri varijanti osmotskog stresa u klijanju uz 2,5 % PEG, varijanta bez osmoprimiranja sjemena, rezultirala je najvećom masom klijanaca (0,54 g), dok je najmanja masa klijanaca zabilježena pri koncentraciji osmoprimiranja 1500  $\mu\text{M}$  NaHS (0,46 g).

Pri varijanti osmotskog stresa u klijanju, 5 % PEG, najmanje nenormalnih klijanaca imalo je sjeme osmoprimirano s 1000  $\mu\text{M}$  NaHS (5 %), dok su ostali tretmani imali: bez primiranja (10 %), H<sub>2</sub>O (16 %), 100  $\mu\text{M}$  NaHS (6 %), 500  $\mu\text{M}$  NaHS (11 %) i 1500  $\mu\text{M}$  NaHS (9 %) nenormalnih klijanaca. Kod spomenutog tretmana sjeme suncokreta bez primiranja imalo je najmanju masu klijanaca (0,35 g), dok su ostale vrijednosti bile: H<sub>2</sub>O (0,42 g), 100  $\mu\text{M}$  NaHS (39 g), 500  $\mu\text{M}$  NaHS (0,40 g), 1000  $\mu\text{M}$  NaHS (0,41 g) i 1500  $\mu\text{M}$  NaHS (0,39 g).

U varijanti naklijavanja sjemena s H<sub>2</sub>O, F testom je utvrđen značajan utjecaj tretmana osmoprimiranja sjemena na razinu lipidne peroksidacije ( $p = 0,0247$ ) i slobodnog PRO ( $p = 0,0156$ ), dok na sadržaj HP nije bilo utjecaja ( $p = 0,2560$ ) (Tablica 12.).

Prema LSD testu, u varijanti naklijavanja sjemena na vodi, najviša razina lipidne peroksidacije (5,378  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) je zabilježena kod varijante H<sub>2</sub>O koja se nije značajno razlikovala od one utvrđene u varijanti osmoprimiranja s 500  $\mu\text{M}$  NaHS (4,845  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.), a u odnosu na ostale varijante utvrđene su značajne razlike u razini lipidne peroksidacije. Klijaneci dobiveni iz sjemena osmoprimiranog s 1500  $\mu\text{M}$  NaHS su imali najnižu razinu lipidne peroksidacije (4,092  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.). Najviše slobodnog PRO akumulirali su hipokotili klijanaca u varijantama osmoprimiranja sjemena s 1500  $\mu\text{M}$  NaHS (1,026  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.) i 1000  $\mu\text{M}$  NaHS (1,023  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.) te se ove dvije vrijednosti nisu značajno razlikovale. Najniži sadržaj PRO je utvrđen u varijanti bez primiranja (0,748  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.), zatim pri varijanti osmoprimiranja H<sub>2</sub>O (0,948  $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.) te

varijantama 100  $\mu\text{M}$  NaHS i 500  $\mu\text{M}$  NaHS (100  $\mu\text{M}$  NaHS 0,863  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.; 500  $\mu\text{M}$  NaHS 0,877  $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.).

**Tablica 12.** Značajnost utjecaja osmoprimiranja sjemena (Bez primiranja;  $\text{H}_2\text{O}$ ; 100  $\mu\text{M}$  NaHS; 500  $\mu\text{M}$  NaHS; 1000  $\mu\text{M}$  NaHS; 1500  $\mu\text{M}$  NaHS) na razinu lipidne peroksidacije (MDA) ( $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.), sadržaj vodikovog peroksida (HP) ( $\text{nM g}^{-1}$  sv.t.) i prolina (PRO) ( $\mu\text{M g}^{-1}$  sv.t.), u hipokotilima klijanaca hibrida Apolon, po varijantama osmotskog stresa u klijanju ( $\text{H}_2\text{O}$ ; 2,5 % PEG; 5 % PEG; 10 % PEG).

<b><math>\text{H}_2\text{O}</math></b>			
<b>VARIJANTA</b>	<b>MDA</b>	<b>HP</b>	<b>PRO</b>
Bez primiranja	4,253 <sup>b</sup>	0,100	0,748 <sup>c</sup>
$\text{H}_2\text{O}$	5,378 <sup>a</sup>	0,125	0,948 <sup>ab</sup>
100 $\mu\text{M}$ NaHS	4,396 <sup>b</sup>	0,047	0,863 <sup>bc</sup>
500 $\mu\text{M}$ NaHS	4,845 <sup>ab</sup>	0,099	0,877 <sup>abc</sup>
1000 $\mu\text{M}$ NaHS	4,335 <sup>b</sup>	0,111	1,022 <sup>ab</sup>
1500 $\mu\text{M}$ NaHS	4,092 <sup>b</sup>	0,125	1,026 <sup>a</sup>
F test	3,39	1,45	3,82
p	0,0247	0,2560	0,0156
<b>2,5 % PEG</b>			
Bez primiranja	5,681 <sup>bc</sup>	0,147	1,449 <sup>c,C</sup>
$\text{H}_2\text{O}$	5,016 <sup>c</sup>	0,155	1,759 <sup>bc,BC</sup>
100 $\mu\text{M}$ NaHS	6,233 <sup>abc</sup>	0,159	2,620 <sup>a,A</sup>
500 $\mu\text{M}$ NaHS	7,013 <sup>a</sup>	0,157	2,353 <sup>a,A</sup>
1000 $\mu\text{M}$ NaHS	6,071 <sup>abc</sup>	0,138	1,725 <sup>bc,BC</sup>
1500 $\mu\text{M}$ NaHS	6,528 <sup>ab</sup>	0,142	1,892 <sup>b,B</sup>
F test	2,83	1,46	17,29
p	0,0469	0,2505	<0,0001
<b>5 % PEG</b>			
Bez primiranja	7,326	0,192	4,399
$\text{H}_2\text{O}$	6,692	0,187	3,275
100 $\mu\text{M}$ NaHS	7,278	0,194	3,446
500 $\mu\text{M}$ NaHS	6,240	0,189	3,826
1000 $\mu\text{M}$ NaHS	6,211	0,189	3,615
1500 $\mu\text{M}$ NaHS	6,264	0,197	3,565 <sup>ab</sup>
F test	1,86	0,41	1,67
p	0,1511	0,8384	0,1920
<b>10 % PEG</b>			
Bez primiranja	11,191	0,176	8,328
$\text{H}_2\text{O}$	9,774	0,161	7,265
100 $\mu\text{M}$ NaHS	11,415	0,161	8,051
500 $\mu\text{M}$ NaHS	11,252	0,131	7,630
1000 $\mu\text{M}$ NaHS	10,471	0,163	7,409
1500 $\mu\text{M}$ NaHS	9,796	0,171	7,164
F test	1,93	2,51	0,77
p	0,1395	0,0681	0,5839

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup>  $p=0,05$ ; <sup>ABC</sup>  $p=0,01$ ).

Na razini osmotskog stresa s 2,5 % PEG, osmoprimiranje sjemena je također značajno utjecalo na razinu lipidne peroksidacije ( $p=0,0469$ ) i vrlo značajno na akumulaciju slobodnog PRO ( $p<0,0001$ ), dok na sadržaj HP nije bilo utjecaja ( $p=0,2505$ ).

Prema LSD testu, pri varijanti naklijavanja sjemena suncokreta pri 2,5 % PEG najviša razina lipidne peroksidacije ( $7,013 \text{ nM g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ) je zabilježena kod varijante  $500 \mu\text{M NaHS}$  koja se nije značajno razlikovala od one utvrđene u varijanti osmoprimiranja s  $100 \mu\text{M NaHS}$  ( $6,233 \text{ nM g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ), a koja se pak nadalje nije značajno razlikovala od razina utvrđenih u varijantama  $1000 \mu\text{M NaHS}$ ,  $1500 \mu\text{M NaHS}$  te varijanti bez primiranja ( $1000 \mu\text{M NaHS}$   $6,071 \text{ nM g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ;  $1500$   $6,528 \text{ nM g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ; bez primiranja  $5,681 \text{ nM g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ). Klijanici dobiveni iz sjemena osmoprimiranog s vodom su imali najnižu razinu lipidne peroksidacije ( $5,016 \text{ nM g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ).

Značajno najveći sadržaj slobodnog PRO je utvrđen kod klijanaca čije je sjeme tretirano s  $100 \mu\text{M NaHS}$  ( $2,620 \mu\text{M g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ) i nije se značajno razlikovao od onog utvrđenog pri  $500 \mu\text{M NaHS}$  ( $2,353 \mu\text{M g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ). Varijanta primiranja sjemena s  $1500 \mu\text{M NaHS}$  i varijanta osmoprimiranja sjemena s  $1000 \mu\text{M NaHS}$  te vodom su rezultirale nižim sadržajem PRO u hipokotilima ( $1500 \mu\text{M NaHS}$   $1,892 \mu\text{M g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ;  $1000 \mu\text{M NaHS}$   $1,725 \mu\text{M g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ; voda  $1,759 \mu\text{M g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ). Najmanji sadržaj slobodnog PRO utvrđen je u varijanti bez primiranja ( $1,449 \mu\text{M g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ).

U varijantama naklijavanja sjemena pri 5 % PEG i 10 % PEG nije utvrđen značajan utjecaj osmoprimiranja sjemena niti na jedan ispitivani parametar (5 % PEG MDA  $p=0,1511$ ; HP  $p=0,8384$ ; PRO  $p=0,1920$ ; 10 % PEG MDA  $p=0,1395$ ; HP  $p=0,0681$ ; PRO  $p=0,5839$ ).

Na najvišoj razini osmotskog stresa, pri 10 % PEG, LSD testom je utvrđena značajno najviša akumulacija HP kod neprimiranog sjemena ( $0,176 \text{ nM g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ). Sadržaj HP u hipokotilima klijanaca pri svim ostalim varijantama osmoprimiranja je bio:  $\text{H}_2\text{O}$   $0,161 \text{ nM g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ,  $100 \mu\text{M NaHS}$   $0,161 \text{ nM g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ,  $500 \mu\text{M NaHS}$   $0,131 \text{ nM g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ,  $1000 \mu\text{M NaHS}$   $0,163 \text{ nM g}^{-1} \text{ sv.t.}$ ,  $1500 \mu\text{M NaHS}$   $0,171 \text{ nM g}^{-1} \text{ sv.t.}$ .

## 4.2. Poljski pokus

### 4.2.1. Utjecaj primiranja sjemena suncokreta hibrida Luka i njegovih roditeljskih linija na pokazatelje rasta klijanaca uzgajanih u uvjetima sušnog stresa

U poljskom dijelu pokusa testiran je utjecaj primiranja sjemena otopinama NaHS na početni porast klijanaca i enzimatske pokazatelje stresa u nadzemnom dijelu klijanaca hibrida suncokreta Luka i njegovih roditeljskih linija, uzgajanih u uvjetima sušnog stresa u posudama pri 30 % PVK.

Prema F testu varijanta sjemena je vrlo značajno utjecala na poljsku klijavost ( $p=0,0038$ ), masu nadzemnog djela i masu listova ( $p<0,0001$ ). Sušni stres je vrlo značajno utjecao ( $p<0,0001$ ) na sve ispitivane parametre (Tablica 13.).

Prema LSD testu, hibrid Luka je imao vrlo značajno veću masu nadzemnog dijela te masu listova dok je istovremeno poljska klijavost bila manja u odnosu na roditeljske linije (Luka: masa nadzemnog dijela 29,108 g; masa listova 5,278 g; poljska klijavost 84 %).

**Tablica 13.** Utjecaj varijante sjemena suncokreta (majčinska i očinska linija te hibrid), osmoprimiranja, sušnog stresa i njihovih interakcija, na poljsku klijavost suncokreta (PK) (%), masu nadzemnog dijela (MND) i listova (ML) (g).

FAKTOR	VARIJANTA	PK	MND	ML
Sjeme	Luka / majka	88 <sup>a,A</sup>	21,663 <sup>b,B</sup>	4,058 <sup>b,B</sup>
	Luka / otac	88 <sup>a,A</sup>	20,986 <sup>b,B</sup>	4,199 <sup>b,B</sup>
	Luka	84 <sup>b,B</sup>	29,108 <sup>a,A</sup>	5,278 <sup>a,A</sup>
	F test	6,02	114,09	69,99
	p	0,0038	<0,0001	<0,0001
Osmoprimiranje	Bez primiranja	82 <sup>b,B</sup>	23,063	4,435
	H <sub>2</sub> O	86 <sup>ab,AB</sup>	23,598	4,390
	500 μM NaHS	88 <sup>a,A</sup>	24,333	4,500
	1000 μM NaHS	90 <sup>a,A</sup>	24,681	4,720
	F test	7,49	2,23	2,53
	p	0,0002	0,0918	0,0638
Sušni stres	PVK	94 <sup>a,A</sup>	34,754 <sup>a,A</sup>	6,597 <sup>a,A</sup>
	30 % PVK	80 <sup>b,B</sup>	13,083 <sup>b,B</sup>	2,426 <sup>b,B</sup>
	F test	130,50	1978,47	2051,25
	p	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Sjeme x Osmoprimiranje	F test	1,05	2,94	2,69
	p	0,4020	0,0127	0,0205
Sjeme x Sušni stres	F test	2,41	93,14	14,82
	p	0,0969	<0,0001	<0,0001
Osmoprimiranje x Sušni stres	F test	2,37	1,39	4,90
	p	0,0776	0,2525	0,0037
Sjeme x Osmoprimiranje x Sušni stres	F test	0,54	1,54	1,03
	p	0,7779	0,1778	0,4127

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup>  $p=0,05$ ; <sup>ABC</sup>  $p=0,01$ ).

LSD test je pokazao da je sjeme bez primiranja imalo vrlo značajno manju poljsku klijavost (82 %) u odnosu na varijante 500 (88 %) i 1000  $\mu\text{M}$  NaHS (90 %). Masa nadzemnog dijela te masa listova je bila najveća kod sjemena tretiranog s 1000  $\mu\text{M}$  NaHS (masa nadzemnog dijela 24,681 g; masa listova 4,720 g), dok je najmanja masa nadzemnog dijela zabilježena kod sjemena bez primiranja (23,063 g) a najmanja masa listova kod sjemena primiranog s  $\text{H}_2\text{O}$  (4,390 g).

Očekivano, LSD test je pokazao da su ispitivani parametri vrlo značajno niži kod 30 % PVK u odnosu na PVK (30 % PVK poljska klijavost 80 %; masa nadzemnog dijela 13,083 g; masa listova 2,426 g).

Interakcija sjeme x sušni stres je vrlo značajno utjecala na masu nadzemnog dijela i masu listova ( $p < 0,0001$ ) dok je interakcija sjeme x osmoprimiranje značajno utjecala na navedena dva pokazatelja rasta klijanaca.

Prema F testu, kod sve četiri varijante osmoprimiranja sjemena suncokreta, obje varijante sušnog stresa su vrlo značajno utjecale na masu nadzemnog dijela te na masu listova ( $p < 0,0001$ ). Objе varijante sušnog stresa su također vrlo značajno utjecale na poljsku klijavost kod sjemena bez osmoprimiranja i sjemena osmoprimiranog s vodom ( $p < 0,0001$ ) te kod sjemena osmoprimiranog s 500  $\mu\text{M}$  NaHS i 1000  $\mu\text{M}$  NaHS ( $p = 0,0003$ ) (Tablica 14.).

Prema LSD testu, kod sjemena bez primiranja masa nadzemnog dijela je bila vrlo značajno viša kod hibrida Luke u odnosu na njegovu majčinsku i očinsku liniju (masa nadzemnog dijela Luka 28,354 g; masa nadzemnog dijela Luka/majka 20,029 g; masa nadzemnog dijela Luka/otac 20,805 g). Masa listova je također bila vrlo značajno viša kod hibrida Luke u odnosu na njegovu majčinsku i očinsku liniju (masa listova Luka 5,335 g; masa listova Luka/majka 3,814 g, masa listova Luka/otac 4,156 g). Varijanta sjemena suncokreta nije značajno utjecala na poljsku klijavost.

Kod osmoprimiranja sjemena vodom, masa nadzemnog dijela i masa listova je bila vrlo značajno niža kod roditeljskih linija u odnosu na hibrid (masa nadzemnog dijela Luka 27,339 g; masa nadzemnog dijela Luka/majka 21,011 g; masa nadzemnog dijela Luka/otac 22,445 g; masa listova Luka 4,917 g; masa listova Luka/majka 3,850 g, masa listova Luka/otac 4,404 g).

Prema LSD testu sjeme hibrida osmoprimirano s 500  $\mu\text{M}$  NaHS imalo je značajno nižu poljsku klijavost u odnosu na roditeljske linije (poljska klijavost Luka 84 %; poljska klijavost Luka/majka 90 %, poljska klijavost Luka/otac 92 %). Masa nadzemnog dijela je bila vrlo značajno viša kod hibrida Luke u odnosu na njegovu majčinsku i očinsku liniju (masa nadzemnog dijela Luka 29,488 g; masa nadzemnog dijela Luka/majka 22,854 g, masa nadzemnog dijela Luka/otac 20,659 g). Masa listova je također bila vrlo značajno viša kod hibrida Luke u odnosu na njegovu majčinsku i očinsku liniju (masa listova Luka 5,165 g; masa listova Luka/majka 4,185 g, masa listova Luka/otac 4,151 g).

**Tablica 14.** Utjecaj varijante sjemena suncokreta, sušnog stresa i njihove interakcije na poljsku klijavost (PK) (%), masu nadzemnog dijela (MND) i listova (ML) (g), po varijantama osmoprimiranja.

<b>Bez primiranja</b>				
<b>FAKTOR</b>	<b>VARIJANTA</b>	<b>PK</b>	<b>MND</b>	<b>ML</b>
<b>Sjeme</b>	Luka / majka	82	20,029 <sup>b,B</sup>	3,814 <sup>b,B</sup>
	Luka /otac	86	20,805 <sup>b,B</sup>	4,156 <sup>b,B</sup>
	Luka	80	28,354 <sup>a,A</sup>	5,335 <sup>a,A</sup>
	F test	2,44	27,27	27,64
	p	0,1158	<0,0001	<0,0001
<b>Sušni stres</b>	PVK	92 <sup>a,A</sup>	34,633 <sup>a,A</sup>	6,753 <sup>a,A</sup>
	30 % PVK	74 <sup>b,B</sup>	11,493 <sup>b,B</sup>	2,118 <sup>b,B</sup>
	F test	40,32	517,85	699,30
	p	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	<b>Sjeme x Sušni stres</b>	F test	1,47	21,75
	p	0,2567	<0,0001	0,0688
<b>H<sub>2</sub>O</b>				
<b>Sjeme</b>	Luka / majka	88	21,011 <sup>b,B</sup>	3,850 <sup>c,B</sup>
	Luka /otac	86	22,445 <sup>b,B</sup>	4,404 <sup>b,AB</sup>
	Luka	86	27,339 <sup>a,A</sup>	4,917 <sup>a,A</sup>
	F test	1,22	19,40	14,56
	p	0,3198	<0,0001	0,0002
<b>Sušni stres</b>	PVK	94 <sup>a,A</sup>	34,602 <sup>a,A</sup>	6,556 <sup>a,A</sup>
	30 % PVK	80 <sup>b,B</sup>	12,595 <sup>b,B</sup>	2,114 <sup>b,B</sup>
	F test	61,72	640,11	720,31
	p	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	<b>Sjeme x Sušni stres</b>	F test	1,90	12,16
	p	0,1782	0,0005	0,5509
<b>500 μM NaHS</b>				
<b>Sjeme</b>	Luka / majka	90 <sup>a</sup>	22,854 <sup>b,B</sup>	4,185 <sup>b,B</sup>
	Luka /otac	92 <sup>a</sup>	20,659 <sup>b,B</sup>	4,151 <sup>b,B</sup>
	Luka	84 <sup>b</sup>	29,488 <sup>a,A</sup>	5,165 <sup>a,A</sup>
	F test	3,96	26,17	13,77
	p	0,0377	<0,0001	0,0002
<b>Sušni stres</b>	PVK	94 <sup>a,A</sup>	34,807 <sup>a,A</sup>	6,517 <sup>a,A</sup>
	30 % PVK	84 <sup>b,B</sup>	13,860 <sup>b,B</sup>	2,484 <sup>b,B</sup>
	F test	20,41	407,55	506,43
	p	0,0003	<0,0001	<0,0001
	<b>Sjeme x Sušni stres</b>	F test	0,00	26,24
	p	0,9952	<0,0001	0,0031
<b>1000 μM NaHS</b>				
<b>Sjeme</b>	Luka / majka	90	22,756 <sup>b,B</sup>	4,384 <sup>b,B</sup>
	Luka /otac	90	20,035 <sup>c,B</sup>	4,084 <sup>b,B</sup>
	Luka	88	31,253 <sup>a,A</sup>	5,694 <sup>a,A</sup>
	F test	0,65	49,04	20,89
	p	0,5319	<0,0001	<0,0001
<b>Sušni stres</b>	PVK	94 <sup>a,A</sup>	34,977 <sup>a,A</sup>	6,562 <sup>a,A</sup>
	30 % PVK	86 <sup>b,B</sup>	14,386 <sup>b,B</sup>	2,879 <sup>b,B</sup>
	F test	20,39	455,51	289,86
	p	0,0003	<0,0001	<0,0001
	<b>Sjeme x Sušni stres</b>	F test	0,86	35,33
	p	0,4414	<0,0001	0,0184

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup> p=0,05; <sup>ABC</sup> p=0,01).

Kod sjemena osmoprimiranog s 1000  $\mu\text{M}$  NaHS također je masa nadzemnog dijela i masa listova bila viša kod hibrida u odnosu na roditeljske linije (masa nadzemnog dijela Luka 31,253 g; masa nadzemnog dijela Luka/majka 22,756 g; masa nadzemnog dijela Luka/otac 20,035 g; masa listova Luka 5,694 g; masa listova Luka/majka 4,384 g, masa listova Luka/otac 4,084 g).

Interakcija sjeme x sušni stres, prema F testu, bila je vrlo značajna za masu nadzemnog dijela kod svih varijanti osmoprimiranja sjemena.

Prema F testu za varijante sjemena, varijanta sušnog stresa PVK je vrlo značajno utjecala na poljsku klijavost, masu nadzemnog dijela te na masu listova ( $p < 0,0001$ ). Varijanta sušnog stresa 30 % PVK je imala vrlo značajan utjecaj ( $p < 0,0001$ ) na masu listova a značajan utjecaj ( $p = 0,0206$ ) na masu nadzemnog dijela (Tablica 15.).

**Tablica 15.** Utjecaj varijante sjemena suncokreta, osmoprimiranja i njihove interakcije na poljsku klijavost (PK) (%), masu nadzemnog dijela (MND) i listova (ML) (g), po varijantama sušnog stresa.

PVK				
FAKTOR	VARIJANTA	PK	MND	ML
<b>Sjeme</b>	Luka / majka	96 <sup>a,A</sup>	31,288 <sup>b,B</sup>	6,063 <sup>b,B</sup>
	Luka / otac	94 <sup>a,A</sup>	28,492 <sup>c,C</sup>	6,025 <sup>b,B</sup>
	Luka	90 <sup>b,B</sup>	44,484 <sup>a,A</sup>	7,702 <sup>a,A</sup>
	F test	13,26	140,53	58,85
	p	<0,0001	<0,0001	<0,0001
<b>Osmoprimiranje</b>	Bez primiranja	92	34,633	6,753
	H <sub>2</sub> O	94	34,602	6,556
	500 $\mu\text{M}$ NaHS	94	34,807	6,517
	1000 $\mu\text{M}$ NaHS	94	34,977	6,562
	F test	2,27	0,04	0,54
p	0,0969	0,9872	0,6586	
<b>Sjeme x Osmoprimiranje</b>	F test	1,04	2,61	2,37
	p	0,4174	0,0333	0,0493
30 % PVK				
<b>Sjeme</b>	Luka / majka	80	12,038 <sup>b,B</sup>	2,053 <sup>c,B</sup>
	Luka / otac	84	13,480 <sup>a,AB</sup>	2,375 <sup>b,B</sup>
	Luka	78	13,733 <sup>a,A</sup>	2,853 <sup>a,A</sup>
	F test	1,70	4,33	16,44
	p	0,1966	0,0206	<0,0001
<b>Osmoprimiranje</b>	Bez primiranja	74 <sup>b,B</sup>	11,493 <sup>c,B</sup>	2,118 <sup>c,B</sup>
	H <sub>2</sub> O	80 <sup>ab,AB</sup>	12,595 <sup>bc,AB</sup>	2,224 <sup>bc,B</sup>
	500 $\mu\text{M}$ NaHS	84 <sup>a,A</sup>	13,860 <sup>ab,A</sup>	2,484 <sup>b,AB</sup>
	1000 $\mu\text{M}$ NaHS	86 <sup>a,A</sup>	14,386 <sup>a,A</sup>	2,879 <sup>a,A</sup>
	F test	5,67	6,56	8,73
p	0,0027	0,0012	0,0002	
<b>Sjeme x Osmoprimiranje</b>	F test	0,72	1,24	1,06
	p	0,6325	0,3080	0,4069

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup>  $p = 0,05$ ; <sup>ABC</sup>  $p = 0,01$ ).

Prema LSD testu kod varijante sušnog stresa PVK najveća poljska klijavost zabilježena je kod roditeljskih linija (Luka/majka 96 %, Luka/otac 94 %), dok je ona kod hibrida bila značajno niža (Luka 90 %). Sjeme suncokreta kod varijante bez primiranja imalo je manji postotak klijavosti (92 %) u odnosu na druge tretmane sjemena (H<sub>2</sub>O 94 %; 500 μM NaHS 94 %; 1000 μM NaHS 94 %). Masa nadzemnog dijela je bila vrlo značajno viša kod hibrida Luka (44,484 g), dok je kod majčinske linije bila značajno niža (31,288 g) te najniža kod očinske linije (28,492 g). Masa listova je bila vrlo značajno veća kod hibrida Luka (7,702 g) u odnosu na roditeljske linije (Luka/majka 6,063 g; Luka/otac 6,025 g).

Prema LSD testu kod varijante sušnog stresa 30 % PVK najveća poljska klijavost je zabilježena kod sjemena osmoprimiranog s 1000 μM NaHS (86 %), a zatim s 500 μM NaHS (84 %), dok je taj postotak nešto niži kod sjemena osmoprimiranog s vodom (80 %), a najniži kod sjemena bez primiranja (74 %). Masa nadzemnog dijela bila je značajno niža kod sjemena bez primiranja (11,493 g), dok je značajno najviša bila kod sjemena osmoprimiranog s 1000 μM NaHS (14,386 g) 500 μM NaHS (13,860 g). Značajno najviša masa listova je utvrđena kod sjemena osmoprimiranog s 1000 μM NaHS (2,879 g), dok je najniža bila kod neprimiranog sjemena (2,118 g). Kod varijante 30 % PVK masa nadzemnog dijela je bila značajno viša kod hibrida Luka (13,733 g) i njegove očinske linije (13,480 g) dok je masa kod majčinske linije bila značajno niža (12,038 g). Masa listova je bila značajno viša kod hibrida (2,853 g) u odnosu na roditeljske linije (Luka/majka 2,053 g, Luka/otac 2,375 g).

Prema F testu, interakcija sjeme x osmoprimiranje značajno je utjecala na masu nadzemnog dijela i masu listova samo u varijanti PVK, dok za poljsku klijavost nije utvrđen značajan utjecaj navedene interakcije pri ovoj varijanti sušnog stresa.

Prema F testu, sušni stres u prosjeku za sve tri varijante sjemena je vrlo značajno utjecao na sva ispitivana svojstva ( $p < 0,0001$ ) (Tablica 16.).

Prema LSD testu kod hibrida kao i kod njegovih roditeljskih linija, poljska klijavost i masa nadzemnog dijela te masa listova je bila vrlo značajno viša pri PVK u odnosu na 30 % PVK.

Najviša poljska klijavost kod hibrida Luka je utvrđena u varijanti osmoprimiranja sjemena s 1000 μM NaHS (88 %), dok je najmanji postotak zabilježen kod sjemena u varijanti bez primiranja (80 %). Na razini značajnosti od 5 %, najveća masa listova je utvrđena u tretmanu sjemena s 1000 μM NaHS (5,694 g), dok je najmanja bila kod sjemena osmoprimiranog s vodom (4,916 g). Najveća masa nadzemnog dijela je utvrđena kod klijanaca dobivenih iz sjemena primiranog s 1000 μM NaHS (31,253 g), dok je najmanja bila kod sjemena osmoprimiranog s vodom (27,354 g).

Prema F testu, interakcija osmoprimiranje x sušni stres nije imala značajan utjecaj niti na jedno ispitivano svojstvo.



**Tablica 16.** Utjecaj osmoprimiranja, sušnog stresa i njihove interakcije na poljsku klijavost (PK) (%), masu nadzemnog dijela (MND) i listova (ML) (g), po varijantama sjemena suncokreta.

<b>Luka</b>				
<b>FAKTOR</b>	<b>VARIJANTA</b>	<b>PK</b>	<b>MND</b>	<b>ML</b>
<b>Osmoprimiranje</b>	Bez primiranja	80	28,354	5,335 <sup>ab</sup>
	H <sub>2</sub> O	86	27,354	4,916 <sup>b</sup>
	500 μM NaHS	84	29,488	5,165 <sup>b</sup>
	1000 μM NaHS	88	31,253	5,694 <sup>a</sup>
	F test	2,75	2,11	3,43
	p	0,0649	0,1254	0,0331
<b>Sušni stres</b>	PVK	88 <sup>a,A</sup>	44,484 <sup>a,A</sup>	7,702 <sup>a,A</sup>
	30 % PVK	78 <sup>b,B</sup>	13,733 <sup>b,B</sup>	2,853 <sup>b,B</sup>
	F test	27,10	709,17	756,67
	p	<0,0001	<0,0001	<0,0001
<b>Osmoprimiranje x Sušni stres</b>	F test	0,24	0,72	0,81
	p	0,8672	0,5488	0,5017
<b>Luka / majka</b>				
<b>Osmoprimiranje</b>	Bez primiranja	82 <sup>b</sup>	20,029 <sup>b</sup>	3,814 <sup>b</sup>
	H <sub>2</sub> O	88 <sup>a</sup>	21,011 <sup>ab</sup>	3,850 <sup>b</sup>
	500 μM NaHS	90 <sup>a</sup>	22,854 <sup>a</sup>	4,185 <sup>ab</sup>
	1000 μM NaHS	90 <sup>a</sup>	22,756 <sup>a</sup>	4,384 <sup>a</sup>
	F test	4,22	4,51	3,64
	p	0,0156	0,0121	0,0270
<b>Sušni stres</b>	PVK	96 <sup>a,A</sup>	31,288 <sup>a,A</sup>	6,063 <sup>a,A</sup>
	30 % PVK	80 <sup>b,B</sup>	12,038 <sup>b,B</sup>	2,053 <sup>b,B</sup>
	F test	65,75	877,49	780,05
	p	<0,0001	<0,0001	<0,0001
<b>Osmoprimiranje x Sušni stres</b>	F test	2,11	1,95	2,23
	p	0,1257	0,1487	0,1111
<b>Luka / otac</b>				
<b>Osmoprimiranje</b>	Bez primiranja	86	20,850	4,156
	H <sub>2</sub> O	86	22,445	4,404
	500 μM NaHS	92	20,659	4,151
	1000 μM NaHS	90	20,035	4,084
	F test	2,43	2,78	0,80
	p	0,0901	0,0630	0,5045
<b>Sušni stres</b>	PVK	94 <sup>a,A</sup>	28,492 <sup>a,A</sup>	6,025 <sup>a,A</sup>
	30 % PVK	84 <sup>b,B</sup>	13,480 <sup>b,B</sup>	2,373 <sup>b,B</sup>
	F test	44,42	592,10	541,76
	p	<0,0001	<0,0001	<0,0001
<b>Osmoprimiranje x Sušni stres</b>	F test	1,23	3,67	4,31
	p	0,3199	0,0262	0,0144

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup> p=0,05; <sup>ABC</sup> p=0,01).

Kod majčinske linije sjeme bez primiranja je imalo značajno nižu poljsku klijavost (82 %) u odnosu na ostale varijante osmoprimiranja sjemena (H<sub>2</sub>O 88 %; 500 μM NaHS 90 %; 1000 μM NaHS 90 %). Masa nadzemnog dijela kod majčinske linije je bila najviša kod tretmana sjemena s 500 (22,854 g), a zatim s 1000 μM NaHS (22,756 g), dok je najniža bila kod neprimiranog sjemena (20,029 g). Masa listova je bila najniža kod sjemena koje nije osmoprimirano (3,814 g), dok je najviša masa listova zabilježena kod sjemena osmoprimiranog s 1000 μM NaHS (4,384 g).

Kod očinske linije, najveću poljsku klijavost je imalo sjeme tretirano s 500 μM NaHS (92 %), dok je najmanja poljska klijavost zabilježena kod sjemena bez primiranja i osmoprimiranog s vodom (86 %). Masa nadzemnog dijela je bila najveća kod sjemena osmoprimiranog s vodom (22,445 g), dok je najniža zabilježena kod tretmana s 1000 μM NaHS (20,035 g).

U varijanti bez primiranja i uzgoja klijanaca pri PVK, F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj varijante sjemena na masu nadzemnog dijela ( $p < 0,0001$ ) i masu listova ( $p = 0,0006$ ) te značajan utjecaj na poljsku klijavost ( $p = 0,0378$ ), dok je pri 30 % PVK utvrđen značajan utjecaj varijante sjemena samo na masu listova ( $p = 0,0060$ ) (Tablica 17.).

**Tablica 17.** Utjecaj varijante sjemena suncokreta na poljsku klijavost (PK) (%), masu nadzemnog dijela (MND) i listova (ML) (g) kod neprimiranog sjemena uzgajanog pri PVK i 30 % PVK.

<b>Bez primiranja + PVK</b>			
	<b>PK</b>	<b>MND</b>	<b>ML</b>
Luka / majka	94 <sup>a</sup>	30,553 <sup>b,B</sup>	6,073 <sup>b,B</sup>
Luka / otac	94 <sup>a</sup>	28,893 <sup>b,B</sup>	6,240 <sup>b,B</sup>
Luka	86 <sup>b</sup>	44,453 <sup>a,A</sup>	7,945 <sup>a,A</sup>
F test	4,82	33,37	19,14
p	0,0378	<0,0001	0,0006
<b>Bez primiranja + 30 % PVK</b>			
Luka / majka	70	9,505	1,555 <sup>b,B</sup>
Luka / otac	80	12,718	2,073 <sup>b,AB</sup>
Luka	72	12,255	2,725 <sup>a,A</sup>
F test	1,43	3,30	9,53
p	0,2881	0,0842	0,0060

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup>  $p = 0,05$ ; <sup>ABC</sup>  $p = 0,01$ ).

Kod sjemena bez primiranja, pri PVK, značajno najmanju poljsku klijavost je imao hibrid Luka (86 %) dok je klijavost majčinske i očinske linije bila jednaka (94 %). Kod hibrida je LSD testom utvrđena vrlo značajno najveća masa nadzemnog dijela (44,453 g) i masa listova (7,945 g), a mase navedenih pokazatelja kod očinske i majčinske linije se nisu međusobno značajno razlikovale. Također, pri 30 % PVK hibrid Luka imao je značajno najveću masu listova (2,725 g).

Kod sjemena primiranog vodom i uzgajanog pri PVK utvrđen je značajan utjecaj varijante sjemena na poljsku klijavost ( $p = 0,0315$ ), i masu listova ( $p = 0,0184$ ) te vrlo značajan

utjecaj na masu nadzemnog dijela ( $p=0,0004$ ), a u istoj varijanti primiranja te naklijavanju pri 30 % PVK, varijanta sjemena vrlo značajno je utjecala samo na masu listova ( $p=0,0027$ ) (Tablica 18.).

**Tablica 18.** Utjecaj varijante sjemena suncokreta na poljsku klijavost (PK) (%), masu nadzemnog dijela (MND) i listova (ML) (g) kod sjemena primiranog vodom i uzgajanog pri PVK i 30 % PVK.

<b>H<sub>2</sub>O + PVK</b>			
	<b>PK</b>	<b>MND</b>	<b>ML</b>
Luka / majka	98 <sup>a</sup>	31,188 <sup>b,B</sup>	5,938 <sup>b</sup>
Luka /otac	94 <sup>ab</sup>	31,335 <sup>b,B</sup>	6,523 <sup>ab</sup>
Luka	90 <sup>b</sup>	41,283 <sup>a,A</sup>	7,208 <sup>a</sup>
F test	5,20	20,47	5,43
p	0,0315	0,0004	0,0184
<b>H<sub>2</sub>O + 30 % PVK</b>			
Luka/ majka	80	10,835	1,763 <sup>b,B</sup>
Luka/otac	80	13,555	2,285 <sup>a,AB</sup>
Luka	80	13,395	2,625 <sup>a,A</sup>
F test	0,04	3,67	12,31
p	0,9570	0,0681	0,0027

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup>  $p=0,05$ ; <sup>ABC</sup>  $p=0,01$ ).

LSD testom je kod hibrida Luka, čije je sjeme primirano vodom i uzgajano pri PVK, utvrđena značajno niža poljska klijavost (90 %), koja se nije značajno razlikovala od klijavosti utvrđene kod očinske linije (94 %). Značajno najveća masa nadzemnog dijela je utvrđena kod hibrida Luka (41,283 g) dok je masa listova kod hibrida (7,208 g) također bila najveća, međutim, nije se značajno razlikovala od mase listova utvrđene kod njegove očinske linije (6,523 g). U navedenoj varijanti primiranja sjemena te uzgajanog pri 30 % PVK, kod majčinske linije utvrđena je značajno najmanja masa listova (1,763 g).

Kod sjemena primiranog s 500  $\mu$ M NaHS i uzgajanog pri PVK, F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj varijante sjemena na masu nadzemnog dijela ( $p<0,0001$ ) i masu listova ( $p=0,0007$ ) (Tablica 19.). U navedenoj varijanti osmoprimiranja, kod klijanaca uzgajanih pri 30 % PVK, varijanta sjemena nije značajno utjecala ni na jedan ispitivani parametar.

Kod sjemena primiranog s 500  $\mu$ M NaHS i uzgajanog pri PVK, LSD testom je kod hibrida Luka utvrđena vrlo značajno najveća masa nadzemnog dijela (45,040 g) i masa listova (7,668 g), dok se mase nadzemnog dijela i listova kod klijanaca roditeljskih linija, nisu međusobno značajno razlikovale.

**Tablica 19.** Utjecaj varijante sjemena suncokreta na poljsku klijavost (PK) (%), masu nadzemnog dijela (MND) i listova (ML) (g) kod sjemena primiranog s 500  $\mu$ M NaHS i uzgajanog pri PVK i 30 % PVK.

<b>500 <math>\mu</math>M NaHS + PVK</b>			
	<b>PK</b>	<b>MND</b>	<b>ML</b>
Luka / majka	96	32,145 <sup>b,B</sup>	6,093 <sup>b,B</sup>
Luka /otac	98	27,235 <sup>b,B</sup>	5,790 <sup>b,B</sup>
Luka	90	45,040 <sup>a,A</sup>	7,668 <sup>a,A</sup>
F test	4,17	33,03	18,47
p	0,0522	<0,0001	0,0007
<b>500 <math>\mu</math>M NaHS + 30 % PVK</b>			
Luka / majka	86	13,563	2,278
Luka /otac	86	14,083	2,513
Luka	78	13,935	2,663
F test	1,32	0,11	0,91
p	0,3132	0,8994	0,4359

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup> p=0,05; <sup>ABC</sup> p=0,01).

Kod sjemena primiranog s 1000  $\mu$ M NaHS i uzgajanog pri PVK, F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj varijante sjemena na masu nadzemnog dijela (p<0,0001) i masu listova (p=0,0004) (Tablica 20.). Vrlo značajno najveća masa listova utvrđena je kod hibrida Luka (7,988 g) dok se mase roditeljskih linija nisu međusobno značajno razlikovale. U navedenoj varijanti osmoprimiranja, kod klijanaca uzgajanih pri 30 % PVK, varijanta sjemena nije značajno utjecala ni na jedan ispitivani parametar.

**Tablica 20.** Utjecaj varijante sjemena suncokreta na poljsku klijavost (PK) (%), masu nadzemnog dijela (MND) i listova (ML) (g) kod sjemena primiranog s 1000  $\mu$ M NaHS i uzgajanog pri PVK i 30 % PVK.

<b>1000 <math>\mu</math>M NaHS + PVK</b>			
	<b>PK</b>	<b>MND</b>	<b>ML</b>
Luka/ majka	98	31,265 <sup>b,B</sup>	6,150 <sup>b,B</sup>
Luka/otac	94	26,505 <sup>c,B</sup>	5,548 <sup>b,B</sup>
Luka	92	47,160 <sup>a,A</sup>	7,988 <sup>a,A</sup>
F test	2,05	60,88	21,48
p	0,1851	<0,0001	0,0004
<b>1000 <math>\mu</math>M NaHS + 30 % PVK</b>			
Luka/ majka	88	14,248	2,618
Luka/otac	84	13,565	2,620
Luka	84	15,345	3,400
F test	0,35	0,93	3,12
p	0,7164	0,4307	0,0932

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup> p=0,05; <sup>ABC</sup> p=0,01).

Vrlo značajno najveća masa nadzemnog dijela i listova utvrđena je kod hibrida Luka (MND 47,460 g; ML 7,988 g) u tretmanu primiranja sjemena s 1000  $\mu$ M NaHS + PVK dok se mase kod klijanaca roditeljskih linija nisu međusobno značajno razlikovale.

Kod sve tri varijante sjemena bez primiranja, F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj osmotskog stresa na mase nadzemnog dijela i listova ( $p < 0,0001$ ) te na poljsku klijavost majčinske linije ( $p = 0,0040$ ) kao i značajan utjecaj na poljsku klijavost hibrida Luka ( $p = 0,0227$ ) i njegovu očinsku liniju ( $p = 0,0153$ ) (Tablica 21.).

Kod hibrida te obje roditeljske linije, LSD testom je utvrđena značajno manja poljska klijavost te niže vrijednosti masa nadzemnog dijela i listova u uvjetima gdje su klijanci uzgajani pri 30 % PVK (Luka 72 %; Luka/majka 70 %; Luka/otac 80 %). Također, kod sve tri varijante sjemena utvrđene su i vrlo značajno manje mase nadzemnog dijela i listova u varijanti 30 % PVK.

**Tablica 21.** Utjecaj sušnog stresa na poljsku klijavost (PK) (%), masu nadzemnog dijela (MND) i listova (ML) (g), kod hibrida suncokreta Luka te njegove majčinske i očinske linije, uzgojenih iz neprimiranog sjemena.

<b>Luka + Bez primiranja</b>			
	<b>PK</b>	<b>MND</b>	<b>ML</b>
PVK	86 <sup>a</sup>	44,453 <sup>a,A</sup>	7,945 <sup>a,A</sup>
30 % PVK	72 <sup>b</sup>	12,255 <sup>b,B</sup>	2,725 <sup>b,B</sup>
F test	9,26	153,73	163,21
p	0,0227	<0,0001	<0,0001
<b>Luka / majka + Bez primiranja</b>			
PVK	94 <sup>a,A</sup>	30,553 <sup>a,A</sup>	6,073 <sup>a,A</sup>
30 % PVK	70 <sup>b,B</sup>	9,505 <sup>b,B</sup>	1,555 <sup>b,B</sup>
F test	20,48	506,52	804,05
p	0,0040	<0,0001	<0,0001
<b>Luka / otac + Bez primiranja</b>			
PVK	94 <sup>a</sup>	28,893 <sup>a,A</sup>	6,240 <sup>a,A</sup>
30 % PVK	80 <sup>b</sup>	12,718 <sup>b,B</sup>	2,072 <sup>b,B</sup>
F test	11,27	155,01	206,38
p	0,0153	<0,0001	<0,0001

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup>  $p = 0,05$ ; <sup>ABC</sup>  $p = 0,01$ ).

Kod sve tri varijante sjemena primiranog vodom, F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj osmotskog stresa na sve ispitivane pokazatelje vigora sjemena osim na poljsku klijavost kod hibrida Luka (Tablica 22.).

LSD testom su utvrđene značajno manje mase nadzemnog dijela i mase listova kod hibrida te svih ispitivanih pokazatelja kod roditeljskih linija, u varijanti gdje su klijanci uzgajani pri 30 % PVK, u usporedbi sa kontrolom (PVK).

**Tablica 22.** Utjecaj sušnog stresa na poljsku klijavost (PK) (%), masu nadzemnog dijela (MND) i listova (ML) (g), kod hibrida suncokreta Luka te njegove majčinske i očinske linije, uzgojenih iz sjemena primiranog s vodom.

<b>Luka + H<sub>2</sub>O</b>			
	<b>PK</b>	<b>MND</b>	<b>ML</b>
PVK	90	41,283 <sup>a,A</sup>	7,208 <sup>a,A</sup>
30 % PVK	80	13,395 <sup>b,B</sup>	2,625 <sup>b,B</sup>
F test	5,63	291,82	337,17
p	0,0553	<0,0001	<0,0001
<b>Luka / majka + H<sub>2</sub>O</b>			
PVK	98 <sup>A</sup>	31,188 <sup>a,A</sup>	5,938 <sup>a,A</sup>
30 % PVK	80 <sup>B</sup>	10,835 <sup>b,B</sup>	1,763 <sup>b,B</sup>
F test	52,45	167,01	231,29
p	0,0004	<0,0001	<0,0001
<b>Luka / otac + H<sub>2</sub>O</b>			
PVK	94 <sup>A</sup>	31,335 <sup>a,A</sup>	6,523 <sup>a,A</sup>
30 % PVK	80 <sup>B</sup>	13,555 <sup>b,B</sup>	2,285 <sup>b,B</sup>
F test	40,05	189,99	185,50
p	0,0007	<0,0001	<0,0001

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup> p=0,05; <sup>ABC</sup> p=0,01).

**Tablica 23.** Utjecaj sušnog stresa na poljsku klijavost (PK) (%), masu nadzemnog dijela (MND) i listova (ML) (g), kod hibrida suncokreta Luka te njegove majčinske i očinske linije, uzgojenih iz sjemena primiranog s 500  $\mu$ M NaHS.

<b>Luka + 500 <math>\mu</math>M NaHS</b>			
	<b>PK</b>	<b>MND</b>	<b>ML</b>
PVK	90 <sup>a</sup>	45,040 <sup>a,A</sup>	7,668 <sup>a,A</sup>
30 % PVK	78 <sup>b</sup>	13,935 <sup>b,B</sup>	2,663 <sup>b,B</sup>
F test	7,05	129,75	159,02
p	0,0378	<0,0001	<0,0001
<b>Luka / majka + 500 <math>\mu</math>M NaHS</b>			
PVK	96	32,145 <sup>a,A</sup>	6,093 <sup>a,A</sup>
30 % PVK	86	13,563 <sup>b,B</sup>	2,278 <sup>b,B</sup>
F test	5,83	307,14	240,71
p	0,0523	<0,0001	<0,0001
<b>Luka / otac + 500 <math>\mu</math>M NaHS</b>			
PVK	98 <sup>a</sup>	27,235 <sup>a,A</sup>	5,790 <sup>a,A</sup>
30 % PVK	86 <sup>b</sup>	14,083 <sup>b,B</sup>	2,513 <sup>b,B</sup>
F test	7,72	156,08	151,32
p	0,0320	<0,0001	<0,0001

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup> p=0,05; <sup>ABC</sup> p=0,01).

Kod sve tri varijante sjemena primiranog s 500  $\mu\text{M}$  NaHS, F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj sušnog stresa na masu nadzemnog dijela i masu listova ( $p < 0,0001$ ) te značajan utjecaj na poljsku klijavost kod hibrida Luka ( $p = 0,0378$ ) te njegove očinske linije ( $p = 0,0320$ ) (Tablica 23.).

LSD testom su utvrđene vrlo značajno niže mase nadzemnog dijela i mase listova kod sve tri varijante sjemena (Luka MND 13,935 g, ML 2,663 g; Luka/majka MND 13,563, ML 2,278; Luka/otac MND 14,083 g, ML 2,513 g) te značajno manja poljska klijavost kod hibrida (78 %) i očinske linije (86 %), u varijanti gdje su klijanci uzgajani pri 30 % PVK, u usporedbi sa varijantom bez stresa.

Kod sve tri varijante sjemena primiranog s 1000  $\mu\text{M}$  NaHS, F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj sušnog stresa na masu nadzemnog dijela i masu listova te značajan utjecaj na poljsku klijavost majčinske linije ( $p = 0,0139$ ) (Tablica 24.). LSD testom utvrđene su značajno manje mase nadzemnog dijela i listova u varijanti gdje su klijanci uzgajani u uvjetima sušnog stresa. Kod majčinske linije hibrida Luka utvrđena je značajno niža poljska klijavost pri 30 % PVK (84 %) u usporedbi sa varijantom gdje su klijanci uzgajani pri PVK (98 %).

**Tablica 24.** Utjecaj sušnog stresa na poljsku klijavost (PK) (%), masu nadzemnog dijela (MND) i listova (ML) (g), kod hibrida suncokreta Luka te njegove majčinske i očinske linije, uzgojenih iz sjemena primiranog s 1000  $\mu\text{M}$  NaHS.

<b>Luka + 1000 <math>\mu\text{M}</math> NaHS</b>			
	<b>PK</b>	<b>MND</b>	<b>ML</b>
PVK	92	47,160 <sup>a,A</sup>	7,988 <sup>a,A</sup>
30 % PVK	84	15,345 <sup>b,B</sup>	3,400 <sup>b,B</sup>
F test	5,34	226,45	190,67
p	0,0602	<0,0001	<0,0001
<b>Luka / majka + 1000 <math>\mu\text{M}</math> NaHS</b>			
PVK	98 <sup>a</sup>	31,265 <sup>a,A</sup>	6,150 <sup>a,A</sup>
30 % PVK	84 <sup>b</sup>	14,248 <sup>b,B</sup>	2,618 <sup>b,B</sup>
F test	11,79	127,15	74,00
p	0,0139	<0,0001	<0,0001
<b>Luka / otac + 1000 <math>\mu\text{M}</math> NaHS</b>			
PVK	94	26,505 <sup>a,A</sup>	5,548 <sup>a,A</sup>
30 % PVK	88	13,565 <sup>b,B</sup>	2,620 <sup>b,B</sup>
F test	4,15	102,75	60,33
p	0,8770	<0,0001	0,0002

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup>  $p = 0,05$ ; <sup>ABC</sup>  $p = 0,01$ ).

Prema F testu, varijanta osmoprimiranja sjemena hibrida Luka nije značajno utjecala na poljsku klijavost, masu nadzemnog dijela klijanaca i masu listova, ni u jednoj varijanti osmotskog stresa (PVK i 30 % PVK) (Tablica 25.).

**Tablica 25.** Utjecaj osmoprimiranja sjemena na poljsku klijavost (PK) (%), masu nadzemnog dijela (MND) i listova (ML) (g), kod hibrida suncokreta Luka, uzgajanog pri PVK i 30 % PVK.

<b>Luka + PVK</b>			
	<b>PK</b>	<b>MND</b>	<b>ML</b>
Bez primiranja	86	44,452	7,945
H <sub>2</sub> O	90	41,283	7,208
500 $\mu$ M NaHS	90	45,040	7,668
1000 $\mu$ M NaHS	92	47,160	7,988
F test	1,12	1,30	1,34
p	0,3798	0,3200	0,3081
<b>Luka + 30 % PVK</b>			
Bez primiranja	72	12,255	2,725
H <sub>2</sub> O	80	13,395	2,625
500 $\mu$ M NaHS	78	13,935	2,663
1000 $\mu$ M NaHS	84	15,345	3,400
F test	1,66	2,10	4,79
p	0,2281	0,1539	0,2030

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup> p=0,05; <sup>ABC</sup> p=0,01).

**Tablica 26.** Utjecaj osmoprimiranja sjemena na poljsku klijavost suncokreta (PK) (%), masu nadzemnog dijela (MND) i listova (ML) (g), kod majčinske linije hibrida suncokreta Luka, uzgajane pri PVK i 30 % PVK.

<b>Luka / majka + PVK</b>			
	<b>PK</b>	<b>MND</b>	<b>ML</b>
Bez primiranja	94	30,553	5,938
H <sub>2</sub> O	98	31,188	6,073
500 $\mu$ M NaHS	96	32,145	6,093
1000 $\mu$ M NaHS	98	31,265	6,150
F test	2,59	0,40	0,14
p	0,1017	0,7531	0,9368
<b>Luka / majka + 30 % PVK</b>			
Bez primiranja	70	9,505 <sup>b,B</sup>	1,555 <sup>b,C</sup>
H <sub>2</sub> O	80	10,835 <sup>b,AB</sup>	1,763 <sup>b,BC</sup>
500 $\mu$ M NaHS	86	13,563 <sup>a,A</sup>	2,278 <sup>a,AB</sup>
1000 $\mu$ M NaHS	84	14,248 <sup>a,A</sup>	2,618 <sup>a,A</sup>
F test	3,23	8,01	10,24
p	0,0607	0,0034	0,0013

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup> p=0,05; <sup>ABC</sup> p=0,01).

Kod majčinske linije, F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj osmoprimiranja na sva tri ispitivana pokazatelja, samo u uvjetima osmotskog stresa, odnosno kod klijanaca uzgajanih pri 30 % PVK (Tablica 26.).



Kod majčinske linije, LSD testom je utvrđeno značajno veća masa nadzemnog dijela i listova kod klijanaca čije je sjeme bilo tretirano s 500  $\mu$ M NaHS (MND 13,563 g, ML 2,278 g) odnosno 1000  $\mu$ M NaHS (MND 14,248 g, ML 2,618 g), dok je poljska klijavost također bila viša kod navedenih varijanti osmoprimiranja (500  $\mu$ M NaHS 56 %, 1000  $\mu$ M NaHS 84 %), međutim nije se značajno razlikovala od varijante primiranja H<sub>2</sub>O (80 %).

Kod očinske linije, F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj osmoprimiranja sjemena na masu nadzemnog dijela i masu listova samo kod klijanaca koji su uzgajani bez stresa, odnosno pri PVK (Tablica 27.).

Pri tome je značajno najveća masa nadzemnog dijela (31,335 g), utvrđena kod klijanaca uzgojenih iz sjemena primiranog vodom (H<sub>2</sub>O). Također, u varijanti primiranja vodom utvrđena je i najveća masa listova klijanaca (6,523 g), međutim nije se značajno razlikovala od mase listova utvrđene u varijanti bez primiranja (6,240 g).

**Tablica 27.** Utjecaj osmoprimiranja sjemena na poljsku klijavost (PK) (%), masu nadzemnog dijela (MND) i listova (ML) (g), kod očinske linije hibrida suncokreta Luka, uzgajane pri PVK i 30 % PVK.

<b>Luka / otac + PVK</b>			
	<b>PK</b>	<b>MND</b>	<b>ML</b>
Bez primiranja	94	28,893 <sup>b,AB</sup>	6,240 <sup>ab,AB</sup>
H <sub>2</sub> O	94	31,335 <sup>a,A</sup>	6,523 <sup>a,A</sup>
500 $\mu$ M NaHS	98	27,235 <sup>b,B</sup>	5,790 <sup>bc,AB</sup>
1000 $\mu$ M NaHS	94	26,505 <sup>b,B</sup>	5,548 <sup>c,B</sup>
F test	1,41	7,43	6,19
p	0,2881	0,0045	0,0087
<b>Luka / otac + 30 % PVK</b>			
Bez primiranja	80	12,718	2,073
H <sub>2</sub> O	80	13,555	2,285
500 $\mu$ M NaHS	86	14,083	2,513
1000 $\mu$ M NaHS	88	13,565	2,620
F test	1,96	0,35	0,88
p	0,1738	0,7880	0,4778

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup> p=0,05; <sup>ABC</sup> p=0,01).

#### 4.2.2. Utjecaj primiranja sjemena suncokreta hibrida Luka i njegovih roditeljskih linija na aktivnost antioksidativnih enzima u klijancima uzgajanim u uvjetima sušnog stresa

U prosjeku za sve ispitivane varijante sjemena, F testom je utvrđen značajan utjecaj osmoprimiranja na ukupnu aktivnost katalaze (CATu) ( $p < 0,0001$ ) dok osmoprimiranje nije značajno utjecalo na ukupnu aktivnost askorbat-peroksidaze (APXu), glutation-reduktaze (GRu) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu) (Tablica 28.).

**Tablica 28.** Ukupna aktivnost enzima katalaze (CATu), askorbat-peroksidaze (APXu), glutation-reduktaze (GRu) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu) ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$  sv.t.) u nadzemnom dijelu klijanaca suncokreta uzgajanih pri PVK, pod utjecajem tretmana osmoprimiranja i varijante sjemena.

PVK					
FAKTOR	VARIJANTA	CATu	APXu	GRu	DHARu
Osmoprimiranje	Bez primiranja	30,62 <sup>b,B</sup>	2,925 <sup>b,BC</sup>	0,007 <sup>b,B</sup>	0,035
	H <sub>2</sub> O	54,71 <sup>a,A</sup>	4,208 <sup>a,A</sup>	0,024 <sup>a,A</sup>	0,038
	500 $\mu\text{M}$ NaHS	28,96 <sup>b,B</sup>	2,651 <sup>b,C</sup>	0,008 <sup>b,B</sup>	0,063
	1000 $\mu\text{M}$ NaHS	35,27 <sup>b,B</sup>	3,879 <sup>a,AB</sup>	0,009 <sup>b,B</sup>	0,038
	F test	10,02	6,95	5,04	1,45
	p	<0,0001	0,0008	0,0051	0,2435
Sjeme	Luka	35,44	2,446 <sup>c,B</sup>	0,018 <sup>a</sup>	0,039
	Luka/majka	32,93	3,540 <sup>b,A</sup>	0,008 <sup>b</sup>	0,034
	Luka/otac	43,80	4,261 <sup>a,A</sup>	0,010 <sup>ab</sup>	0,057
	F test	3,08	13,92	3,48	1,70
	p	0,0583	<0,0001	0,0415	0,1974
Osmoprimiranje x Sjeme	F test	9,62	9,10	6,13	1,74
	p	<0,0001	<0,0001	0,0002	0,1388

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup>  $p=0,05$ ; <sup>ABC</sup>  $p=0,01$ ).

LSD testom je utvrđena vrlo značajna najveća ukupna aktivnost CATu ( $54,71 \mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$  sv.t.) i GRu ( $0,0024 \mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$  sv.t.) kod sjemena koje je prethodno bilo primirano u vodi. Pri primiranju sjemena u otopinama koje su sadržavale 500 odnosno 1000  $\mu\text{M}$  NaHS te bez primiranja, utvrđena je značajno niža ukupna aktivnost CATu i GRu.

Varijanta sjemena je imala vrlo značajan utjecaj prema F testu na ukupnu aktivnost APXu ( $p < 0,0001$ ) i značajan utjecaj na GRu ( $p=0,0051$ ), dok na ostale enzime nije imala značajan utjecaj.

LSD testom je utvrđena značajno najmanja ukupna aktivnost APX ( $2,446 \mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$  sv.t.) kod Luke dok je aktivnost kod majčinske i očinske linije bila značajno veća.

Za sve ispitivane varijante sjemena, F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj interakcije osmoprimiranje x sjeme, na ukupnu aktivnost katalaze (CATu), askorbat-peroksidaze

(APXu) ( $p < 0,0001$ ) i glutation-reduktaze (GRu) ( $p = 0,0002$ ), dok interakcija nije značajno utjecala na ukupnu aktivnost dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu).

Kod klijanaca uzgajanih pri PVK, F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj osmoprimiranja sjemena na specifičnu aktivnost katalaze ( $p = 0,0089$ ) te varijante sjemena na specifičnu aktivnost askorbat-peroksidaze ( $p < 0,0001$ ). Interakcija osmoprimiranje x sjeme je vrlo značajno djelovala na CATs ( $p = 0,0009$ ) te značajno na GRs ( $p = 0,0102$ ) i DHARs ( $p = 0,0158$ ) (Tablica 29.).

**Tablica 29.** Specifična aktivnost enzima katalaze (CATs), askorbat-peroksidaze (APXs), glutation-reduktaze (GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARs) ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) u nadzemnom dijelu klijanaca suncokreta uzgajanih pri PVK, pod utjecajem tretmana osmoprimiranja i varijante sjemena.

PVK					
FAKTOR	VARIJANTA	CATs	APXs	GRs	DHARs
Osmoprimiranje	Bez primiranja	8,13 <sup>b,B</sup>	0,784	0,002	0,046
	H <sub>2</sub> O	10,30 <sup>a,A</sup>	0,930	0,003	0,036
	500 $\mu\text{M NaHS}$	7,99 <sup>b,B</sup>	0,805	0,002	0,060
	1000 $\mu\text{M NaHS}$	7,96 <sup>b,B</sup>	0,776	0,002	0,036
	F test	4,49	0,84	2,19	2,10
	p	0,0089	0,4815	0,1060	0,1177
Sjeme	Luka	8,14	0,524 <sup>b,B</sup>	0,003	0,044
	Luka/majka	8,79	0,987 <sup>a,A</sup>	0,002	0,036
	Luka/otac	8,85	0,959 <sup>a,A</sup>	0,002	0,054
	F test	0,71	14,58	1,91	1,87
	p	0,4976	<0,0001	0,1629	0,1695
Osmoprimiranje x Sjeme	F test	4,91	1,46	3,34	3,07
	p	0,0009	0,2208	0,0102	0,0158

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup>  $p = 0,05$ ; <sup>ABC</sup>  $p = 0,01$ ).

LSD testom je utvrđena vrlo značajno najveća specifična aktivnost CAT u klijancima iz sjemena primiranog vodom ( $10,30 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ). Također je utvrđena vrlo značajno najveća specifična aktivnost APX kod Lukinih roditeljskih linija (Luka/majka  $0,987$ ; Luka/otac  $0,959 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) dok je kod hibrida Luka ta aktivnost bila značajno manja ( $0,524 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ).

Za sve ispitivane varijante sjemena, F testom je utvrđen značajan utjecaj osmoprimiranja na ukupnu aktivnost dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu), ( $p < 0,0001$ ) dok osmoprimiranje nije značajno utjecalo na ukupnu aktivnost katalaze (CATu), askorbat-peroksidaze (APXu) i glutation-reduktaze (GRu) (Tablica 30.).

**Tablica 30.** Ukupna aktivnost enzima katalaze (CATu), askorbat-peroksidaze (APXu), glutation-reduktaze (GRu) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu) ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$  sv.t.) u nadzemnom dijelu klijanaca suncokreta uzgajanih pri 30 % PVK, pod utjecajem tretmana osmoprimiranja i varijante sjemena.

30 % PVK					
FAKTOR	VARIJANTA	CATu	APXu	GRu	DHARu
Osmoprimiranje	Bez primiranja	139,48	2,646	0,011	0,047 <sup>a,A</sup>
	H <sub>2</sub> O	117,79	2,855	0,014	0,046 <sup>a,A</sup>
	500 $\mu\text{M NaHS}$	129,10	4,090	0,014	0,042 <sup>b,B</sup>
	1000 $\mu\text{M NaHS}$	133,98	3,295	0,012	0,038 <sup>c,C</sup>
	F test	1,57	2,88	1,51	26,38
	p	0,2128	0,4950	0,2273	<0,0001
Sjeme	Luka	149,24 <sup>a,A</sup>	3,030 <sup>b,B</sup>	0,013 <sup>a,A</sup>	0,062 <sup>a,A</sup>
	Luka/majka	165,75 <sup>a,A</sup>	2,311 <sup>b,B</sup>	0,016 <sup>a,A</sup>	0,046 <sup>b,B</sup>
	Luka/otac	75,28 <sup>b,B</sup>	4,323 <sup>a,A</sup>	0,008 <sup>b,B</sup>	0,022 <sup>c,C</sup>
	F test	57,14	9,76	14,84	811,77
	p	<0,0001	0,0004	<0,0001	<0,0001
Osmoprimiranje x Sjeme	F test	1,40	3,16	3,90	4,80
	p	0,2432	0,0136	0,0042	0,0011

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup>  $p=0,05$ ; <sup>ABC</sup>  $p=0,01$ ).

LSD testom je utvrđena vrlo značajno najveća ukupna aktivnost DHAR kod sjemena koje nije bilo prethodno primirano ili je bilo primirano vodom, a te dvije vrijednosti se nisu statistički međusobno značajno razlikovale. Pri primiranju sjemena u otopinama koje su sadržavale 500 odnosno 1000  $\mu\text{M NaHS}$ , utvrđena je značajno manja ukupna aktivnost DHAR s time da je najmanja vrijednost utvrđena u varijanti primiranja s 1000  $\mu\text{M NaHS}$  ( $0,038 \mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$  sv.t.).

Pri 30 % PVK, F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj varijante sjemena na ukupnu aktivnost svih ispitivanih enzima. Interakcija osmoprimiranje x sjeme je značajno utjecala na ukupnu aktivnost askorbat-peroksidaze ( $p=0,0136$ ) te vrlo značajno na ukupnu aktivnost GR ( $p=0,0042$ ) i DHAR ( $p=0,0011$ ).

LSD testom je utvrđena vrlo značajno najveća ukupna aktivnost CAT i GR kod sjemena hibrida Luke i Lukine majčinske linije dok je kod očinske linije ukupna aktivnost ta dva enzima bila vrlo značajno manja. Istovremeno je ukupna aktivnost APX kod sjemena hibrida Luke i njegove majčinske linije bila značajno manja nego kod očinske linije. Značajno najveća ukupna aktivnost DHAR je zabilježena kod hibrida ( $0,062 \mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$  sv.t.), dok je aktivnost bila manja kod majčinske linije a najmanja kod očinske linije ( $0,022 \mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$  sv.t.).

Za sve ispitivane varijante sjemena, F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj osmoprimiranja na specifičnu aktivnost katalaze (CATs) ( $p<0,0001$ ) i značajan utjecaj na specifičnu aktivnost askorbat-peroksidaze (APXs) ( $p=0,0352$ ) dok osmoprimiranje nije

značajno utjecalo na specifičnu aktivnost glutation-reduktaze (GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARs) (Tablica 31.).

**Tablica 31.** Specifična aktivnost enzima katalaze (CATs), askorbat-peroksidaze (APXs), glutation-reduktaze (GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARs) ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) u nadzemnom dijelu klijanaca suncokreta uzgajanih pri 30 % PVK, pod utjecajem tretmana osmoprimiranja i varijante sjemena.

30 % PVK					
FAKTOR	VARIJANTA	CATs	APXs	GRs	DHARs
Osmoprimiranje	Bez primiranja	32,05 <sup>a,A</sup>	0,557 <sup>b,B</sup>	0,003	0,018
	H <sub>2</sub> O	23,28 <sup>b,B</sup>	0,685 <sup>ab,AB</sup>	0,003	0,021
	500 $\mu\text{M NaHS}$	24,51 <sup>b,B</sup>	0,880 <sup>a,A</sup>	0,003	0,015
	1000 $\mu\text{M NaHS}$	25,36 <sup>b,B</sup>	0,724 <sup>ab,AB</sup>	0,003	0,018
	F test	11,37	3,19	1,93	2,43
	p	<0,0001	0,0352	0,1420	0,0814
Sjeme	Luka	33,65 <sup>a,A</sup>	0,621 <sup>b,B</sup>	0,003 <sup>a,A</sup>	0,023 <sup>a,A</sup>
	Luka/majka	26,889 <sup>b,B</sup>	0,452 <sup>b,B</sup>	0,003 <sup>a,A</sup>	0,019 <sup>b,A</sup>
	Luka/otac	18,36 <sup>c,C</sup>	1,06 <sup>a,A</sup>	0,002 <sup>b,B</sup>	0,013 <sup>c,B</sup>
	F test	57,65	23,56	5,36	15,62
	p	<0,0001	<0,0001	0,0092	<0,0001
Osmoprimiranje x Sjeme	F test	6,78	2,53	4,19	3,37
	p	<0,0001	0,3820	0,0027	0,0097

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup> p=0,05; <sup>ABC</sup> p=0,01).

LSD testom je utvrđena vrlo značajno najveća specifična aktivnost CAT kod sjemena koje nije bilo prethodno primirano ( $32,05 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ). Pri primiranju sjemena s H<sub>2</sub>O, kao i u otopinama koje su sadržavale 500 odnosno 1000  $\mu\text{M NaHS}$ , utvrđene su značajno niže specifične aktivnosti CAT. Istovremeno je zabilježena najveća aktivnost APX kod sjemena primiranog s 500  $\mu\text{M NaHS}$  ( $0,880 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) dok je zabilježena niža aktivnost kod sjemena primiranog s H<sub>2</sub>O kao i s 1000  $\mu\text{M NaHS}$ . Najniža specifična aktivnost APX bila je kod sjemena bez primiranja ( $0,557 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ).

Za sve ispitivane varijante sjemena, F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj varijante sjemena te interakcije osmoprimiranje x sjeme na specifičnu aktivnost askorbat-peroksidaze (APXs), katalaze (CATs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARs) (p<0,0001), dok varijanta sjemena zajedno s interakcijom osmoprimiranje x sjeme nije značajno utjecala na specifičnu aktivnost glutation-reduktaze (GRs).

LSD testom je utvrđena vrlo značajno najveća specifična aktivnost CAT kod sjemena hibrida Luke ( $33,65 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ), nešto manja kod majčinske linije, dok je najmanja aktivnost zabilježena kod očinske linije ( $19,36 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ). Najveća specifična aktivnost APX je zabilježena kod očinske linije ( $0,621 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) dok je kod Luke i majčinske linije ta aktivnost bila značajno manja. Istovremeno kod GRs

i DHARs, aktivnost je najveća kod hibrida Luke i majčinske linije dok je aktivnost najmanja kod očinske linije ( $0,013 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ).

Za sve ispitivane varijante primiranja, F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj osmoprimiranja sjemena hibrida Luke na ukupnu aktivnost askorbat-peroksidaze (APXu), ukupnu aktivnost dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu) ( $p < 0,0001$ ) i ukupnu aktivnost glutation-reduktaze (GRu) ( $p = 0,0030$ ) te značajan utjecaj na ukupnu aktivnost katalaze (CATu) ( $p = 0,0422$ ) (Tablica 32.).

**Tablica 32.** Ukupna aktivnost enzima katalaze (CATu), askorbat-peroksidaze (APXu), glutation-reduktaze (GRu) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu) ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ) u nadzemnom dijelu klijanaca hibrida Luka, pod utjecajem tretmana osmoprimiranja i sušnog stresa.

Luka					
FAKTOR	VARIJANTA	CATu	APXu	GRu	DHARu
Osmoprimiranje	Bez primiranja	99,83 <sup>a</sup>	2,170 <sup>b,B</sup>	0,012 <sup>b,B</sup>	0,054 <sup>a,A</sup>
	H <sub>2</sub> O	108,24 <sup>a</sup>	4,673 <sup>a,A</sup>	0,035 <sup>a,A</sup>	0,053 <sup>a,A</sup>
	500 $\mu\text{M NaHS}$	86,72 <sup>ab</sup>	2,293 <sup>b,B</sup>	0,010 <sup>b,B</sup>	0,049 <sup>b,B</sup>
	1000 $\mu\text{M NaHS}$	74,58 <sup>b</sup>	1,816 <sup>b,B</sup>	0,006 <sup>b,B</sup>	0,047 <sup>b,B</sup>
	F test	3,18	25,96	6,15	10,43
	p	0,0422	<0,0001	0,0030	0,0001
Sušni stres	PVK	35,44 <sup>b,B</sup>	2,446 <sup>b</sup>	0,018	0,039 <sup>b,B</sup>
	30 % PVK	149,24 <sup>a,A</sup>	3,030 <sup>a</sup>	0,013	0,062 <sup>a,A</sup>
	F test	188,34	5,21	0,83	477,57
	p	<0,0001	0,0316	0,3701	<0,0001
Osmoprimiranje x Sušni stres	F test	7,63	4,84	5,10	3,92
	p	0,0009	0,0094	0,0072	0,0208

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup>  $p = 0,05$ ; <sup>ABC</sup>  $p = 0,01$ ).

LSD testom je utvrđena najveća ukupna aktivnost svih ispitivanih enzima u klijancima iz sjemena primiranog vodom dok je kod sjemena koje nije bilo primirano ili je bilo primirano s 500 odnosno 1000  $\mu\text{M NaHS}$  ukupna aktivnost značajno manja.

F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj sušnog stresa kod hibrida Luke na ukupnu aktivnost CAT i DHAR ( $p < 0,0001$ ) te značajan utjecaj na ukupnu aktivnost APX ( $p = 0,0316$ ).

LSD testom je utvrđena vrlo značajno veća ukupna aktivnost CAT u klijancima iz sjemena naklijavanog u uvjetima 30 % PVK ( $149,24 \mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ), u odnosu na varijantu PVK ( $35,44 \mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ). Istovremeno je vrlo značajno manja ukupna aktivnost DHAR pri PVK ( $0,039 \mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ) u odnosu na 30 % PVK ( $0,039 \mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ).

F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj sušnog stresa kod hibrida Luke na specifičnu aktivnost katalaze (CATs,  $p < 0,0001$ ) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARs,  $p = 0,0022$ ) te

značajan utjecaj na specifičnu aktivnost askorbat-peroksidaze (APXs,  $p=0,0233$ ) (Tablica 33).

**Tablica 33.** Specifična aktivnost enzima katalaze (CATs), askorbat-peroksidaze (APXs), glutation-reduktaze (GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARs) ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  prot.) u nadzemnom dijelu klijanaca hibrida Luka, pod utjecajem tretmana osmoprimiranja i sušnog stresa.

Luka					
FAKTOR	VARIJANTA	CATs	APXs	GRs	DHARs
Osmoprimiranje	Bez primiranja	23,87	0,549 <sup>bc</sup>	0,003	0,040
	H <sub>2</sub> O	18,94	0,668 <sup>a</sup>	0,004	0,024
	500 $\mu\text{M NaHS}$	20,53	0,600 <sup>ab</sup>	0,003	0,032
	1000 $\mu\text{M NaHS}$	20,25	0,474 <sup>c</sup>	0,002	0,037
	F test	2,27	4,20	2,95	1,24
	p	0,1065	0,0160	0,0530	0,3172
Sušni stres	PVK	8,14 <sup>b,B</sup>	0,524 <sup>b</sup>	0,003	0,044 <sup>a,A</sup>
	30 % PVK	33,65 <sup>a,A</sup>	0,621 <sup>a</sup>	0,003	0,023 <sup>b,B</sup>
	F test	334,85	5,87	0,30	11,79
	p	<0,0001	0,0233	0,5918	0,0022
Osmoprimiranje x Sušni stres	F test	9,66	7,31	3,16	2,67
	p	0,0002	0,0012	0,0431	0,0704

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup>  $p=0,05$ ; <sup>ABC</sup>  $p=0,01$ ).

Kao i kod ukupne aktivnosti, LSD testom je utvrđena vrlo značajno veća specifična aktivnost CAT u uvjetima 30 % PVK ( $33,65 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  prot.) u odnosu na kontrolu (PVK) ( $8,14 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  prot.). Istovremeno je vrlo značajno veća specifična aktivnost DHAR kod PVK ( $0,044 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  prot.) u odnosu na sušni stres (30 % PVK) ( $0,023 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  prot.).

F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj osmoprimiranja Lukine majčinske linije na ukupnu aktivnost DHAR ( $p<0,0001$ ) i GR ( $p=0,0072$ ) te značajan utjecaj na APX ( $p=0,0408$ ) (Tablica 34.).

LSD testom je utvrđena vrlo značajno najveća ukupna aktivnost DHAR u klijancima iz sjemena koje nije bilo prethodno primirano i koje je bilo primirano u vodi, a te dvije vrijednosti se nisu statistički međusobno značajno razlikovale. U varijantama primiranja sjemena u otopinama koje su sadržavale 500 odnosno 1000  $\mu\text{M NaHS}$ , utvrđen je značajno manja ukupna aktivnost DHAR s time da je najniža vrijednost utvrđena u varijanti primiranja s 1000  $\mu\text{M NaHS}$  ( $0,035 \mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$  sv.t.).

**Tablica 34.** Ukupna aktivnost enzima katalaze (CATu), askorbat-peroksidaze (APXu), glutation-reduktaze (GRu) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu) ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$  sv.t.) u nadzemnom dijelu klijanaca majčinske linije hibrida Luka, pod utjecajem tretmana osmoprimiranja i sušnog stresa.

Luka / majka					
FAKTOR	VARIJANTA	CATu	APXu	GRu	DHARu
Osmoprimiranje	Bez primiranja	97,78	1,979 <sup>b</sup>	0,008 <sup>b,A</sup>	0,044 <sup>a,A</sup>
	H <sub>2</sub> O	97,67	3,075 <sup>a</sup>	0,014 <sup>a,A</sup>	0,044 <sup>a,A</sup>
	500 $\mu\text{M NaHS}$	88,31	3,090 <sup>a</sup>	0,013 <sup>a,A</sup>	0,038 <sup>b,B</sup>
	1000 $\mu\text{M NaHS}$	113,59	3,559 <sup>a</sup>	0,012 <sup>a,AB</sup>	0,035 <sup>c,C</sup>
	F test	1,89	3,22	5,10	25,66
	p	0,1586	0,0408	0,0072	<0,0001
Sušni stres	PVK	32,93 <sup>b,B</sup>	3,540 <sup>a,A</sup>	0,008 <sup>b,B</sup>	0,034 <sup>b,B</sup>
	30 % PVK	165,75 <sup>a,A</sup>	2,311 <sup>b,B</sup>	0,016 <sup>a,A</sup>	0,046 <sup>a,A</sup>
	F test	302,80	10,82	63,52	223,21
	p	<0,0001	0,0031	<0,0001	<0,0001
Osmoprimiranje x Sušni stres	F test	0,88	6,90	5,60	8,20
	p	0,4668	0,0016	0,0047	0,0006

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup>  $p=0,05$ ; <sup>ABC</sup>  $p=0,01$ ).

Za sve ispitivane varijante sjemena, F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj sušnog stresa na ukupnu aktivnost katalaze (CATu), glutation-reduktaze (GRu), dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu) ( $p<0,0001$ ) i askorbat-peroksidaze (APX) ( $p=0,0031$ ).

LSD testom je utvrđena vrlo značajno veća ukupna aktivnost CAT, GR, i DHAR pri 30 % PVK u odnosu na PVK. Istovremeno, ukupna aktivnost APX u uvjetima PVK ( $3,540 \mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$  sv.t.) je bila vrlo značajno veća u odnosu na 30 % PVK ( $2,311 \mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$  sv.t.).

F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj osmoprimiranja sjemena Lukine majčinske linije na specifičnu aktivnost CAT i DHAR ( $p<0,0001$ ) te značajan utjecaj na specifičnu aktivnost GR ( $p=0,0220$ ) (Tablica 35.).

LSD testom je utvrđena vrlo značajno najveća specifična aktivnost CAT kod klijanaca iz sjemena koje nije bilo prethodno primirano ( $19,21 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  prot.). Pri primiranju sjemena u otopinama koje su sadržavale 500 odnosno 1000  $\mu\text{M NaHS}$ , utvrđena je značajno manja specifična aktivnost CAT, s time da je najniža vrijednost utvrđena u varijanti primiranja s 500  $\mu\text{M NaHS}$  ( $13,96 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  prot.).

Za sve ispitivane varijante sjemena, F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj sušnog stresa na specifičnu aktivnost katalaze (CATs), askorbat-peroksidaze (APXs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARs) ( $p<0,0001$ ), te značajan utjecaj na specifičnu aktivnost glutation-reduktaze (GRs) ( $p=0,0044$ ).



**Tablica 35.** Specifična aktivnost enzima katalaze (CATs), askorbat-peroksidaze (APXs), glutation-reduktaze (GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARs) ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) u nadzemnom dijelu klijanaca majčinske linije hibrida Luka, pod utjecajem tretmana osmoprimiranja i sušnog stresa.

Luka / majka					
FAKTOR	VARIJANTA	CATs	APXs	GRs	DHARs
Osmoprimiranje	Bez primiranja	22,53 <sup>a,A</sup>	0,6230	0,002 <sup>b</sup>	0,035 <sup>a,A</sup>
	H <sub>2</sub> O	19,21 <sup>b,AB</sup>	0,9084	0,004 <sup>a</sup>	0,032 <sup>a,A</sup>
	500 $\mu\text{M NaHS}$	13,96 <sup>c,C</sup>	0,7184	0,003 <sup>ab</sup>	0,022 <sup>b,B</sup>
	1000 $\mu\text{M NaHS}$	15,65 <sup>c,BC</sup>	0,6288	0,002 <sup>b</sup>	0,019 <sup>b,B</sup>
	F test	16,27	1,59	3,86	12,57
	p	<0,0001	0,2170	0,0220	<0,0001
Sušni stres	PVK	8,79 <sup>b,B</sup>	0,987 <sup>a,A</sup>	0,002 <sup>b,B</sup>	0,036 <sup>a,A</sup>
	30 % PVK	26,89 <sup>a,A</sup>	0,452 <sup>b,B</sup>	0,003 <sup>a,A</sup>	0,019 <sup>b,B</sup>
	F test	365,20	25,66	9,90	59,46
	p	<0,0001	<0,0001	0,0044	<0,0001
Osmoprimiranje x sušni stres	F test	19,35	1,36	4,09	2,10
	p	<0,0001	0,2780	0,0177	0,1264

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup>  $p=0,05$ ; <sup>ABC</sup>  $p=0,01$ ).

LSD testom je utvrđena vrlo značajno veća specifična aktivnost CAT ( $26,89 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) i GR ( $0,003 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) u klijancima iz sjemena naklijavanog pri 30 % PVK u odnosu na PVK (CAT  $8,79$  i GR  $0,002 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ). Istovremeno, specifična aktivnost APX i DHAR u uvjetima PVK je bila vrlo značajno veća u odnosu na 30 % PVK.

F testom je utvrđena statistički vrlo značajna interakcija osmoprimiranje x sušni stres na specifičnu aktivnost CAT ( $p<0,0001$ ) te značajna interakcija na specifičnu aktivnost GR ( $p=0,0177$ ).

F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj sušnog stresa kod Lukine očinske linije na ukupnu aktivnost CAT ( $p<0,0001$ ) te značajan utjecaj na ukupnu aktivnost DHAR ( $p=0,0372$ ) (Tablica 36.). Primiranje je vrlo značajno utjecalo na ukupnu aktivnost GR ( $p=0,0022$ ) te značajno na ukupnu aktivnost APX ( $p=0,0202$ ).

LSD testom je utvrđena vrlo značajno veća ukupna aktivnost CAT ( $75,28 \mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ) u klijancima iz sjemena naklijavanog pri 30 % PVK u odnosu na PVK ( $43,80 \mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ). Isto tako, LSD testom je utvrđena vrlo značajno veća ukupna aktivnost GR u klijancima uzgojenim iz sjemena primiranog s  $1000 \mu\text{M NaHS}$  ( $0,014 \mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ) u odnosu na varijantu bez primiranja, odnosno primiranje s vodom ili  $500 \mu\text{M NaHS}$ .

**Tablica 36.** Ukupna aktivnost enzima katalaze (CATu), askorbat-peroksidaze (APXu), glutation-reduktaze (GRu) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu) ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$  sv.t.) u nadzemnom dijelu klijanaca očinske linije hibrida Luka, pod utjecajem tretmana osmoprimiranja i sušnog stresa.

Luka / otac					
FAKTOR	VARIJANTA	CATu	APXu	GRu	DHARu
Osmoprimiranje	Bez primiranja	57,05	4,207 <sup>ab</sup>	0,006 <sup>b,B</sup>	0,025
	H <sub>2</sub> O	52,58	2,847 <sup>b</sup>	0,007 <sup>b,B</sup>	0,030
	500 $\mu\text{M}$ NaHS	62,06	4,728 <sup>a</sup>	0,008 <sup>b,B</sup>	0,070
	1000 $\mu\text{M}$ NaHS	65,71	5,386 <sup>a</sup>	0,014 <sup>a,A</sup>	0,031
	F test	1,18	3,95	6,53	1,67
	p	0,3390	0,0202	0,0022	0,1994
Sušni stres	PVK	43,80 <sup>b,B</sup>	4,261	0,010	0,057 <sup>a</sup>
	30 % PVK	75,28 <sup>a,A</sup>	4,323	0,008	0,0216 <sup>b</sup>
	F test	37,55	0,01	0,95	4,87
	p	<0,0001	0,9094	0,3399	0,0372
Osmoprimiranje x Sušni stres	F test	1,31	1,29	0,51	1,62
	p	0,2932	0,2996	0,6817	0,2119

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup> p=0,05; <sup>ABC</sup> p=0,01).

**Tablica 37.** Specifična aktivnost enzima katalaze (CATs), askorbat-peroksidaze (APXs), glutation-reduktaze (GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARs) ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  prot.) u nadzemnom dijelu klijanaca očinske linije hibrida Luka, pod utjecajem tretmana osmoprimiranja i sušnog stresa.

Luka / otac					
FAKTOR	VARIJANTA	CATs	APXs	GRs	DHARs
Osmoprimiranje	Bez primiranja	13,87	0,839	0,001 <sup>b</sup>	0,020
	H <sub>2</sub> O	12,22	0,845	0,002 <sup>b</sup>	0,029
	500 $\mu\text{M}$ NaHS	14,25	1,210	0,002 <sup>ab</sup>	0,059
	1000 $\mu\text{M}$ NaHS	14,09	1,146	0,003 <sup>a</sup>	0,025
	F test	1,01	2,81	3,96	2,85
	p	0,4042	0,0612	0,0200	0,0587
Sušni stres	PVK	8,58 <sup>b,B</sup>	0,959	0,002	0,054 <sup>a,A</sup>
	30 % PVK	18,36 <sup>a,A</sup>	1,060	0,002	0,013 <sup>b,B</sup>
	F test	104,50	0,75	0,01	16,55
	p	<0,0001	0,3958	0,9052	0,0004
Osmoprimiranje x Sušni stres	F test	1,18	1,02	0,29	2,81
	p	0,3392	0,4021	0,8298	0,0609

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup> p=0,05; <sup>ABC</sup> p=0,01).

Kao i kod ukupne aktivnosti, F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj sušnog stresa kod Lukine očinske linije na specifičnu aktivnost CAT ( $p < 0,0001$ ) i DHAR ( $p = 0,0004$ ) (Tablica 37.).

Varijanta primiranja značajno je utjecala na specifičnu aktivnost GR ( $p = 0,0200$ ). Isto tako, LSD testom je utvrđena vrlo značajno veća specifična aktivnost CAT u klijancima dobivenim iz sjemena naklijavanog u uvjetima 30 % PVK ( $18,36 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) u odnosu na ono koje je naklijavano u uvjetima PVK ( $8,58 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ). Specifična aktivnost DHAR je bila vrlo značajno veća u uvjetima PVK ( $0,054 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) nego pri 30 % PVK ( $0,013 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ).

Za sjeme bez primiranja, F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj sušnog stresa, varijante sjemena te interakcije sušni stres x sjeme na ukupnu aktivnost katalaze (CATu) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu) ( $p < 0,0001$ ) te značajan utjecaj na ukupnu aktivnost glutation-reduktaze (GRu), dok prethodno spomenuti faktori nisu značajno utjecali na ukupnu aktivnost askorbat-peroksidaze (APXu) (Tablica 38.).

LSD testom je utvrđena vrlo značajno najveća ukupna aktivnost CAT ( $139,48 \mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ), GR ( $0,011 \mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ) i DHAR ( $0,047 \mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ) u klijancima iz sjemena koje je bilo naklijavano pri 30 % PVK u odnosu na varijantu PVK (CAT 30,62; GR 0,007; DHAR  $0,035 \mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ). Također je LSD testom utvrđena veća ukupna aktivnost CAT i GR kod hibrida Luke i njegove majčinske linije u odnosu na očinsku liniju. Ukupna aktivnost DHAR je bila vrlo značajno najveća kod hibrida Luke ( $0,054 \mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ), manja kod majčinske ( $0,044 \mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ) a najmanja kod očinske linije ( $0,025 \mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ).

U varijanti bez primiranja sjemena, F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj sušnog stresa na specifičnu aktivnost CAT ( $p < 0,0001$ ) i DHAR ( $p = 0,0026$ ) te varijante sjemena na CATs ( $p < 0,0001$ ) i GRs ( $p = 0,0060$ ). Interakcija sušni stres x sjeme je vrlo značajno utjecala samo na specifičnu aktivnost katalaze (CATs) ( $p < 0,0001$ ).

LSD testom je utvrđena značajno veća specifična aktivnost CAT u klijancima hibrida Luka ( $32,25 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) i njegove majčinske linije ( $22,53 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) u odnosu na očinsku liniju ( $13,87 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ).

**Tablica 38.** Ukupna ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$  sv.t.) i specifična ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  prot.) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca uzgojenih iz neprimiranog sjemena, pod utjecajem sušnog stresa i varijante sjemena.

<b>Bez primiranja</b>					
<b>FAKTOR</b>	<b>VARIJANTA</b>	<b>CATu</b>	<b>APXu</b>	<b>GRu</b>	<b>DHARu</b>
<b>Sušni stres</b>	PVK	30,62 <sup>b,B</sup>	2,925	0,007 <sup>b,B</sup>	0,035 <sup>b,B</sup>
	30 % PVK	139,48 <sup>a,A</sup>	2,646	0,011 <sup>a,A</sup>	0,047 <sup>a,A</sup>
	F test	334,57	0,19	10,25	87,83
	p	<0,0001	0,6717	0,0049	<0,0001
<b>Sjeme</b>	Luka	99,83 <sup>a,A</sup>	2,170 <sup>b</sup>	0,012 <sup>a,A</sup>	0,054 <sup>a,A</sup>
	Luka/majka	97,78 <sup>a,A</sup>	1,979 <sup>b</sup>	0,008 <sup>b,AB</sup>	0,044 <sup>b,B</sup>
	Luka/otac	57,53 <sup>b,B</sup>	4,207 <sup>a</sup>	0,006 <sup>b,B</sup>	0,025 <sup>c,C</sup>
	F test	21,41	4,88	7,45	177,15
	p	<0,0001	0,0203	0,0044	<0,0001
<b>Sušni stres x Sjeme</b>	F test	49,48	0,39	9,89	72,50
	p	<0,0001	0,6846	0,0013	<0,0001
<b>FAKTOR</b>	<b>VARIJANTA</b>	<b>CATs</b>	<b>APXs</b>	<b>GRs</b>	<b>DHARs</b>
<b>Sušni stres</b>	PVK	8,13 <sup>b,B</sup>	0,784	0,002	0,046 <sup>a,A</sup>
	30 % PVK	32,25 <sup>a,A</sup>	0,557	0,002	0,018 <sup>b,B</sup>
	F test	416,97	3,61	0,36	12,18
	p	<0,0001	0,0736	0,5564	0,0026
<b>Sjeme</b>	Luka	23,87 <sup>a,A</sup>	0,549	0,003 <sup>a,A</sup>	0,040
	Luka/majka	22,53 <sup>a,A</sup>	0,623	0,002 <sup>a,AB</sup>	0,035
	Luka/otac	13,87 <sup>b,B</sup>	0,839	0,001 <sup>b,B</sup>	0,020
	F test	28,63	2,12	6,90	2,19
	p	<0,0001	0,1493	0,0060	0,1407
<b>Sušni stres x Sjeme</b>	F test	32,42	1,09	2,11	1,10
	p	<0,0001	0,3578	0,1502	0,3550

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup> p=0,05; <sup>ABC</sup> p=0,01).

Kod sjemena osmoprimiranog s vodom, F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj sušnog stresa, varijante sjemena te interakcije sušni stres x sjeme na ukupnu i specifičnu aktivnost katalaze u klijancima (Tablica 39.).

U tretmanu primiranja s vodom, na ukupnu aktivnost APX, vrlo značajno je utjecao sušni stres (p=0,0045) i varijanta sjemena (p=0,0040), dok je na specifičnu aktivnost ovog enzima značajno utjecala interakcija sušni stres x sjeme (p=0,0357). Na ukupnu aktivnost GR značajno je utjecala varijanta sjemena (p=0,0118). Interakcija sušni stres x sjeme bila je značajna i za ukupnu i za specifičnu aktivnost GR (GRu p=0,0166; GRs 0,0224). Na ukupnu aktivnost DHAR vrlo značajno su utjecala oba ispitivana faktora kao i njihova

interakcija ( $p < 0,0001$ ), dok su na specifičnu aktivnost DHAR vrlo značajno utjecali sušni stres i interakcija sušni stres x sjeme ( $p < 0,0001$ ), a značajno varijanta sjemena ( $p = 0,0296$ ).

**Tablica 39.** Ukupna ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$  sv.t.) i specifična ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  prot.) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca uzgojenih iz sjemena primiranog vodom, pod utjecajem sušnog stresa i varijante sjemena.

<b>H<sub>2</sub>O</b>					
<b>FAKTOR</b>	<b>VARIJANTA</b>	<b>CATu</b>	<b>APXu</b>	<b>GRu</b>	<b>DHARu</b>
<b>Sušni stres</b>	PVK	54,71 <sup>b,B</sup>	4,208 <sup>a,A</sup>	0,024	0,038 <sup>b,B</sup>
	30 % PVK	117,79 <sup>a,A</sup>	2,855 <sup>b,B</sup>	0,014	0,046 <sup>a,A</sup>
	F test	96,86	10,55	1,89	75,65
	p	<0,0001	0,0045	0,1865	<0,0001
<b>Sjeme</b>	Luka	108,24 <sup>a,A</sup>	4,672 <sup>a,A</sup>	0,035 <sup>a</sup>	0,053 <sup>a,A</sup>
	Luka/majka	97,67 <sup>a,A</sup>	3,075 <sup>b,B</sup>	0,014 <sup>b</sup>	0,044 <sup>b,B</sup>
	Luka/otac	52,85 <sup>b,B</sup>	2,847 <sup>b,B</sup>	0,007 <sup>b</sup>	0,030 <sup>c,C</sup>
	F test	28,07	7,61	5,74	193,03
	p	<0,0001	0,0040	0,0118	<0,0001
<b>Sušni stres x Sjeme</b>	F test	20,88	0,67	5,19	132,56
	p	<0,0001	0,5261	0,0166	<0,0001
<b>H<sub>2</sub>O</b>					
<b>FAKTOR</b>	<b>VARIJANTA</b>	<b>CATs</b>	<b>APXs</b>	<b>GRs</b>	<b>DHARs</b>
<b>Sušni stres</b>	PVK	10,30 <sup>b,B</sup>	0,930	0,003	0,036 <sup>a,A</sup>
	30 % PVK	23,28 <sup>a,A</sup>	0,685	0,003	0,021 <sup>b,B</sup>
	F test	160,64	4,01	0,00	50,20
	p	<0,0001	0,0605	0,9905	<0,0001
<b>Sjeme</b>	Luka	18,94 <sup>a,A</sup>	0,668	0,004	0,025 <sup>b,B</sup>
	Luka/majka	19,21 <sup>a,A</sup>	0,908	0,004	0,032 <sup>a,A</sup>
	Luka/otac	12,22 <sup>b,B</sup>	0,845	0,002	0,029 <sup>ab,AB</sup>
	F test	19,93	1,38	2,41	4,31
	p	<0,0001	0,2773	0,1184	0,0296
<b>Sušni stres x Sjeme</b>	F test	8,91	4,03	4,73	19,09
	p	0,0020	0,0357	0,0224	<0,0001

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup>  $p = 0,05$ ; <sup>ABC</sup>  $p = 0,01$ ).

LSD testom je utvrđena značajno veća ukupna aktivnost CAT ( $117,79 \mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$  sv.t.) i DHAR ( $0,046 \mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$  sv.t.) u uvjetima 30 % PVK u odnosu na PVK. Ukupna aktivnost APX je bila vrlo značajno veća u uvjetima PVK ( $4,208 \mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$  sv.t.) u odnosu na 30 % PVK ( $2,855 \mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$  sv.t.). Također je LSD testom utvrđena vrlo značajno veća ukupna aktivnost CAT kod hibrida Luke i njegove majčinske linije u odnosu na očinsku liniju. Istovremeno je utvrđena vrlo značajno veća ukupna aktivnost

APX kod hibrida Luke u odnosu na njegove roditeljske linije. Ukupna aktivnost DHAR je bila vrlo značajno najveća kod hibrida Luka ( $0,053 \mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ), manja kod majčinske a najmanja kod očinske linije ( $0,030 \mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ).

Kod sjemena osmoprimiranog s vodom, F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj sušnog stresa na specifičnu aktivnost katalaze (CATs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARs) ( $p < 0,0001$ ), istovremeno sušni stres nije utjecao na specifičnu aktivnost askorbat-peroksidaze (APXs) i glutathion-reduktaze (GRs) u klijanjima. Također je utvrđen vrlo značajan utjecaj varijante sjemena na specifičnu aktivnost CAT te značajan utjecaj na DHAR.

LSD testom je utvrđena vrlo značajno veća specifična aktivnost CAT hibrida Luke i njegove majčinske linije u odnosu na očinsku liniju. LSD testom je također utvrđena vrlo značajno veća specifična aktivnost CAT u uvjetima 30 % PVK ( $23,28 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) u odnosu na PVK ( $10,30 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ). Specifična aktivnost DHAR je bila vrlo značajno veća u uvjetima PVK ( $0,036 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) u odnosu na 30 % PVK ( $0,021 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ).

F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj sušnog stresa i interakcije sušni stres x sjeme te značajan utjecaj varijante sjemena na ukupnu aktivnost katalaze (CATu) u klijanjima sjemena primiranog s  $500 \mu\text{M NaHS}$  (Tablica 40.).

LSD testom je utvrđena vrlo značajno veća ukupna aktivnost CAT, APX i GR u uvjetima 30 % PVK u odnosu na pri PVK.

Kod sjemena osmoprimiranog s  $500 \mu\text{M NaHS}$ , F testom je utvrđen značajan utjecaj sušnog stresa, varijante sjemena te interakcije sušni stres x sjeme na specifičnu aktivnost katalaze (CATs) ( $p < 0,0001$ ) u klijanjima. Varijanta sjemena je vrlo značajno utjecala na specifičnu aktivnost APX dok je na specifičnu aktivnost glutathion-reduktaze (GRs) vrlo značajno utjecao sušni stres.

LSD testom je utvrđena vrlo značajno veća specifična aktivnost CAT kod hibrida Luke ( $20,53 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) u odnosu na njegove roditeljske linije (Luka/majka  $13,96$ ; Luka/otac  $14,25 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ). Istovremeno je utvrđena značajno manja specifična aktivnost APX hibrida Luke ( $0,600 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) i njegove majčinske linije ( $0,718 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) u odnosu na očinsku liniju ( $1,210 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ). Također je utvrđena vrlo značajno veća specifična aktivnost CAT u uvjetima 30 % PVK ( $24,51 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) u odnosu na PVK ( $7,99 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ). Specifična aktivnost DHAR je bila vrlo značajno veća u uvjetima PVK ( $0,060 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) u odnosu na 30 % PVK ( $0,015 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ).

**Tablica 40.** Ukupna ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$  sv.t.) i specifična ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  prot.) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca uzgojenih iz sjemena primiranog s 500  $\mu\text{M}$  NaHS, pod utjecajem sušnog stresa i varijante sjemena.

500 $\mu\text{M}$ NaHS					
FAKTOR	VARIJANTA	CATu	APXu	GRu	DHARu
Sušni stres	PVK	28,96 <sup>b,B</sup>	2,651 <sup>b,B</sup>	0,008 <sup>b,B</sup>	0,062
	30 % PVK	129,10 <sup>a,A</sup>	4,090 <sup>a,A</sup>	0,014 <sup>a,A</sup>	0,422
	F test	149,99	8,75	15,62	0,92
	p	<0,0001	0,0084	0,0009	0,3509
Sjeme	Luka	86,72 <sup>a</sup>	2,293 <sup>b,B</sup>	0,010 <sup>ab</sup>	0,049
	Luka/majka	88,31 <sup>a</sup>	3,090 <sup>b,AB</sup>	0,013 <sup>a</sup>	0,038
	Luka/otac	62,07 <sup>b</sup>	4,728 <sup>a,A</sup>	0,008 <sup>b</sup>	0,070
	F test	4,32	8,68	3,74	0,76
	p	0,0294	0,0023	0,0438	0,4803
Sušni stres x Sjeme	F test	18,01	0,10	3,82	3,12
	p	<0,0001	0,9026	0,0415	0,0687
500 $\mu\text{M}$ NaHS					
FAKTOR	VARIJANTA	CATs	APXs	GRs	DHARs
Sušni stres	PVK	7,99 <sup>b,B</sup>	0,805	0,003	0,060 <sup>a,A</sup>
	30 % PVK	24,51 <sup>a,A</sup>	0,880	0,002	0,015 <sup>b,B</sup>
	F test	286,99	0,48	0,48	11,24
	p	<0,0001	0,4960	0,4988	0,0035
Sjeme	Luka	20,53 <sup>a,A</sup>	0,600 <sup>b,B</sup>	0,003	0,032
	Luka/majka	13,96 <sup>b,B</sup>	0,718 <sup>b,B</sup>	0,003	0,022
	Luka/otac	14,25 <sup>b,B</sup>	1,210 <sup>a,A</sup>	0,002	0,059
	F test	19,34	11,84	1,19	2,62
	p	<0,0001	0,0005	0,3273	0,1006
Sušni stres x Sjeme	F test	47,65	2,16	0,35	3,18
	p	<0,0001	0,1442	0,7076	0,0659

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup> p=0,05; <sup>ABC</sup> p=0,01).

Kod sjemena osmoprimiranog s 1000  $\mu\text{M}$  NaHS, F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj sušnog stresa na ukupnu aktivnost CAT ( $p < 0,0001$ ) te značajan utjecaj na ukupnu aktivnost APX ( $p = 0,0294$ ) i GR ( $p = 0,0145$ ), dok na ukupnu aktivnost DHAR u klijancima sušni stres nije značajno utjecao (Tablica 41.). Također, u varijanti osmoprimiranja s 1000  $\mu\text{M}$  NaHS, varijanta sjemena je vrlo značajno utjecala na ukupnu aktivnost svih ispitivanih enzima. Interakcija sušni stres x sjeme vrlo značajno je utjecala na ukupnu aktivnost APX i DHAR ( $p < 0,0001$ ) te značajno na ukupnu aktivnost CAT ( $p = 0,0177$ ) i GR ( $p = 0,0186$ ).

LSD testom je utvrđena značajno veća ukupna aktivnost CAT i GR u uvjetima 30 % PVK (CAT = 133,98; GR = 0,012  $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{sv.t.}$ ) dok je ukupna aktivnost APX bila veća kod klijanaca naklijavanih u uvjetima bez stresa, pri PVK (3,879  $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{sv.t.}$ ). Također je utvrđena vrlo značajno veća ukupna aktivnost APX kod Lukine očinske u odnosu na majčinsku liniju, dok je ta aktivnost bila najmanja kod hibrida Luke (1,816  $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{sv.t.}$ ). Ukupna aktivnost GR je bila veća kod roditeljskih linija u odnosu na hibrid, dok je istovremeno ukupna aktivnost DHAR bila veća kod hibrida (0,047  $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{sv.t.}$ ) u odnosu na majčinsku i očinsku liniju.

**Tablica 41.** Ukupna ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ) i specifična ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca uzgojenih iz sjemena primiranog s 1000  $\mu\text{M NaHS}$ , pod utjecajem sušnog stresa i varijante sjemena.

1000 $\mu\text{M NaHS}$					
FAKTOR	VARIJANTA	CATu	APXu	GRu	DHARu
Sušni stres	PVK	35,27 <sup>b,B</sup>	3,879 <sup>a</sup>	0,009 <sup>b</sup>	0,038
	30 % PVK	133,98 <sup>a,A</sup>	3,295 <sup>b</sup>	0,012 <sup>a</sup>	0,038
	F test	75,32	5,60	7,32	0,06
	p	<0,0001	0,0294	0,0145	0,8063
Sjeme	Luka	74,58 <sup>b,AB</sup>	1,816 <sup>c,C</sup>	0,006 <sup>b,B</sup>	0,047 <sup>a,A</sup>
	Luka/majka	113,59 <sup>a,A</sup>	3,559 <sup>b,B</sup>	0,012 <sup>a,A</sup>	0,035 <sup>b,B</sup>
	Luka/otac	65,71 <sup>b,B</sup>	5,386 <sup>a,A</sup>	0,014 <sup>a,A</sup>	0,032 <sup>c,B</sup>
	F test	6,69	69,83	14,91	61,14
	p	0,0067	<0,0001	0,0002	<0,0001
Sušni stres x Sjeme	F test	5,09	34,54	5,01	111,69
	p	0,0177	<0,0001	0,0186	<0,0001
1000 $\mu\text{M NaHS}$					
FAKTOR	VARIJANTA	CATs	APXs	GRs	DHARs
Sušni stres	PVK	7,96 <sup>b,B</sup>	0,776	0,002 <sup>b</sup>	0,036 <sup>a,A</sup>
	30 % PVK	25,36 <sup>a,A</sup>	0,724	0,003 <sup>a</sup>	0,018 <sup>b,B</sup>
	F test	94,16	0,46	7,18	27,39
	p	<0,0001	0,5052	0,0153	<0,0001
Sjeme	Luka	20,25 <sup>a</sup>	0,474 <sup>b,B</sup>	0,002 <sup>b,B</sup>	0,037 <sup>a,A</sup>
	Luka/majka	15,65 <sup>ab</sup>	0,629 <sup>b,B</sup>	0,002 <sup>b,B</sup>	0,019 <sup>b,B</sup>
	Luka/otac	14,09 <sup>b</sup>	1,146 <sup>a,A</sup>	0,003 <sup>a,A</sup>	0,025 <sup>b,AB</sup>
	F test	4,26	27,87	9,59	9,32
	p	0,0306	<0,0001	0,0015	0,0017
Sušni stres x Sjeme	F test	9,11	20,91	6,18	3,39
	p	0,0018	<0,0001	0,0091	0,0563

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup> p=0,05; <sup>ABC</sup> p=0,01).



Sušni stres kod sjemena primiranog s 1000  $\mu\text{M}$  NaHS je vrlo značajno utjecao na specifičnu aktivnost CAT i DHAR ( $p < 0,0001$ ) te značajno na specifičnu aktivnost GR ( $p = 0,0153$ ) u klijancima. Varijanta sjemena primiranog s 1000  $\mu\text{M}$  NaHS je značajno utjecala na specifičnu aktivnost sva četiri ispitivana enzima, dok je interakcija sušni stres x sjeme vrlo značajno utjecala na specifičnu aktivnost CAT ( $p = 0,0018$ ), APX ( $p < 0,0001$ ) i GR ( $p = 0,0091$ ).

Utvrđena je značajno veća specifična aktivnost CAT i GR pri 30 % PVK (CATs 25,36; GRs 0,003  $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  prot.), dok je specifična aktivnost DHAR bila veća kod klijanaca uzgojenih pri PVK (0,036  $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  prot.).

LSD testom je utvrđena vrlo značajno veća ukupna aktivnost APX i GR kod Lukine očinske linije u odnosu na majčinsku liniju i hibrid. Najveću specifičnu aktivnost CAT i DHAR imali su klijanci hibrida Luka (CATs 20,25; DHARs 0,037  $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  prot.).

U uvjetima PVK za klijance hibrida Luka je F testom utvrđen vrlo značajan utjecaj osmoprimiranja na ukupnu aktivnost katalaze (CATu) ( $p < 0,0001$ ) i askorbat-peroksidaze (APXu) ( $p = 0,0003$ ) te značajan utjecaj na ukupnu aktivnost glutathion-reduktaze (GRu) ( $p = 0,0103$ ), dok osmoprimiranje nije značajno utjecalo na ukupnu aktivnost dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu) (Tablica 42). Osmoprimiranje je vrlo značajno utjecalo na specifičnu aktivnost CAT ( $p = 0,0003$ ) te značajno na specifičnu aktivnost APX ( $p = 0,0284$ ) i DHAR ( $p = 0,0183$ ).

**Tablica 42.** Utjecaj varijante primiranja na ukupnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$  sv.t.) i specifičnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  prot.) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutathion-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca hibrida Luka uzgajanog pri PVK.

<b>Luka + PVK</b>				
	<b>CATu</b>	<b>APXu</b>	<b>GRu</b>	<b>DHARu</b>
Bez primiranja	25,61 <sup>b,B</sup>	1,91 <sup>b,B</sup>	0,008 <sup>b,B</sup>	0,040
H <sub>2</sub> O	84,14 <sup>a,A</sup>	5,17 <sup>a,A</sup>	0,055 <sup>a,A</sup>	0,041
500 $\mu\text{M}$ NaHS	15,82 <sup>b,B</sup>	1,61 <sup>b,B</sup>	0,008 <sup>b,B</sup>	0,038
1000 $\mu\text{M}$ NaHS	16,20 <sup>b,B</sup>	1,10 <sup>b,B</sup>	0,002 <sup>b,B</sup>	0,038
F	23,49	14,56	5,90	1,92
p	<0,0001	0,0003	0,0103	0,1801
	<b>CATs</b>	<b>APXs</b>	<b>GRs</b>	<b>DHARs</b>
Bez primiranja	8,17 <sup>b,B</sup>	0,646 <sup>a</sup>	0,003	0,062 <sup>a</sup>
H <sub>2</sub> O	12,61 <sup>a,A</sup>	0,601 <sup>a</sup>	0,006	0,023 <sup>b</sup>
500 $\mu\text{M}$ NaHS	5,66 <sup>b,B</sup>	0,539 <sup>a</sup>	0,003	0,047 <sup>ab</sup>
1000 $\mu\text{M}$ NaHS	6,14 <sup>b,B</sup>	0,311 <sup>b</sup>	0,001	0,044 <sup>ab</sup>
F test	14,24	4,29	3,32	1,90
p	0,0003	0,0284	0,0570	0,0183

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup>  $p = 0,05$ ; <sup>ABC</sup>  $p = 0,01$ ).

LSD testom je utvrđena vrlo značajno najveća ukupna aktivnost CAT, APX i GR u klijancima dobivenim iz sjemena koje je bilo prethodno primirano u vodi. Istovremeno je utvrđena najveća specifična aktivnost CAT ( $12,61 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) kod iste varijante primiranja sjemena.

Kod hibrida Luka pri 30 % PVK, F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj osmoprimiranja na ukupnu aktivnost askorbat-peroksidaze (APXu) ( $p < 0,0001$ ) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu) ( $p = 0,0017$ ), dok osmoprimiranje nije značajno utjecalo na ukupnu aktivnost katalaze (CATu) i glutation-reduktaze (GRu) (Tablica 43.).

LSD testom je utvrđena vrlo značajno najveća ukupna aktivnost APX ( $4,18 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{sv.t.}$ ) u klijancima sjemena koje je bilo prethodno primirano u vodi. Istovremeno je utvrđena najveća ukupna aktivnost DHAR u varijanti bez primiranja ( $0,067 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{sv.t.}$ ) dok je najmanja aktivnost bila kod primiranja s  $1000 \mu\text{M NaHS}$  ( $0,056 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{sv.t.}$ ).

**Tablica 43.** Utjecaj varijante primiranja na ukupnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ) i specifičnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca hibrida Luka uzgajanog pri 30 % PVK.

<b>Luka + 30 % PVK</b>				
	<b>CATu</b>	<b>APXu</b>	<b>GRu</b>	<b>DHARu</b>
Bez primiranja	174,06	2,43 <sup>b,B</sup>	0,015	0,067 <sup>a,A</sup>
H <sub>2</sub> O	132,35	4,18 <sup>a,A</sup>	0,015	0,065 <sup>a,AB</sup>
500 $\mu\text{M NaHS}$	157,61	2,98 <sup>b,B</sup>	0,013	0,059 <sup>b,BC</sup>
1000 $\mu\text{M NaHS}$	132,35	2,53 <sup>b,B</sup>	0,011	0,056 <sup>b,C</sup>
F test	1,80	22,12	0,73	9,5
p	0,2013	<0,0001	0,5562	0,0017
	<b>CATs</b>	<b>APXs</b>	<b>GRs</b>	<b>DHARs</b>
Bez primiranja	39,57 <sup>a</sup>	0,451 <sup>b,B</sup>	0,003	0,018
H <sub>2</sub> O	25,27 <sup>b</sup>	0,736 <sup>a,A</sup>	0,003	0,026
500 $\mu\text{M NaHS}$	35,40 <sup>a</sup>	0,660 <sup>a,A</sup>	0,003	0,018
1000 $\mu\text{M NaHS}$	34,36 <sup>a</sup>	0,638 <sup>a,A</sup>	0,003	0,030
F	5,14	11,94	0,18	2,43
p	0,0163	0,0006	0,9074	0,1162

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup>  $p = 0,05$ ; <sup>ABC</sup>  $p = 0,01$ ).

Također je LSD testom utvrđena značajno najmanja specifična aktivnost CAT u varijanti primiranja vodom ( $25,27 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ). Pri primiranju sjemena u otopinama koje su sadržavale 500 odnosno 1000  $\mu\text{M NaHS}$ , utvrđene su veće aktivnosti CAT u klijancima, međutim te se dvije vrijednosti nisu statistički značajno razlikovale kao što se nisu značajno razlikovale ni od varijante bez primiranja u kojoj je zabilježena i najveća

specifična aktivnost ovog enzima ( $39,57 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ). Vrlo značajno najmanja specifična aktivnost APX zabilježena je u varijanti bez primiranja ( $0,451 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) dok se varijante primiranja vodom i otopinama NaHS nisu statistički razlikovale.

F testom je kod Lukine majčinske linije uzgajane pri PVK utvrđen vrlo značajan utjecaj osmoprimiranja na ukupnu aktivnost CAT ( $p=0,0086$ ), APX ( $p=0,0019$ ) i DHAR ( $p=0,0008$ ) te značajan utjecaj na ukupnu aktivnost GR ( $p=0,0135$ ) u klijancima (Tablica 44).

**Tablica 44.** Utjecaj varijante primiranja na ukupnu ( $\mu\text{M min}^{-1}\text{g}^{-1}$  sv.t.) i specifičnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca majčinske linije hibrida Luka, uzgajane pri PVK.

Luka / majka + PVK				
	CATu	APXu	GRu	DHARu
Bez primiranja	21,29 <sup>c,B</sup>	2,328 <sup>b,B</sup>	0,005 <sup>b</sup>	0,035 <sup>a,A</sup>
H <sub>2</sub> O	37,88 <sup>ab,AB</sup>	4,091 <sup>a,AB</sup>	0,007 <sup>b</sup>	0,036 <sup>a,A</sup>
500 $\mu\text{M}$ NaHS	24,61 <sup>bc,B</sup>	2,485 <sup>b,B</sup>	0,008 <sup>ab</sup>	0,032 <sup>b,B</sup>
1000 $\mu\text{M}$ NaHS	47,90 <sup>a,A</sup>	5,256 <sup>a,A</sup>	0,011 <sup>a</sup>	0,032 <sup>b,B</sup>
F test	6,23	9,31	5,44	11,24
p	0,0086	0,0019	0,0135	0,0008
Luka / majka + PVK				
	CATs	APXs	GRs	DHARs
Bez primiranja	7,65	0,8514	0,002	0,048 <sup>a,A</sup>
H <sub>2</sub> O	10,00	1,261	0,002	0,041 <sup>ab,AB</sup>
500 $\mu\text{M}$ NaHS	7,96	0,829	0,003	0,029 <sup>bc,BC</sup>
1000 $\mu\text{M}$ NaHS	9,56	1,007	0,002	0,024 <sup>c,C</sup>
F test	2,25	1,22	2,06	8,09
p	0,1348	0,3460	0,1593	0,0032

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup>  $p=0,05$ ; <sup>ABC</sup>  $p=0,01$ ).

LSD testom je utvrđena značajno najveća ukupna aktivnost CAT ( $47,90 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  sv.t.), APX ( $5,256 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  sv.t.) i GR ( $0,011 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  sv.t.) kod primiranja sjemena s 1000  $\mu\text{M}$  NaHS. Istovremeno je najveća ukupna aktivnost DHAR bila u klijancima iz sjemena primiranog u vodi ( $0,036 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  sv.t.) a zatim kod neprimiranog sjemena ( $0,035 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  sv.t.). Te dvije vrijednosti se nisu značajno razlikovale. Najveća specifična aktivnost DHAR zabilježena je u tretmanu bez primiranja ( $0,048 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ), zatim su utvrđene niže aktivnosti u klijancima sjemena primiranog s vodom i 500  $\mu\text{M}$  NaHS dok je najniža vrijednost specifične aktivnosti zabilježena kod osmoprimiranja s 1000  $\mu\text{M}$  NaHS ( $0,024 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ).

Kod 30 % PVK i Lukine majčinske linije, F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj osmoprimiranja na ukupnu aktivnost dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu) ( $p<0,0001$ ) te značajan utjecaj na ukupnu aktivnost glutation-reduktaze (GRu) ( $p=0,0146$ ), dok

osmoprimiranje nije značajno utjecalo na ukupnu aktivnost katalaze (CATu) i askorbat-peroksidaze (APXu) (Tablica 45.).

**Tablica 45.** Utjecaj varijante primiranja na ukupnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$  sv.t.) i specifičnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  prot.) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca majčinske linije hibrida Luka, uzgajane pri 30 % PVK.

<b>Luka / majka + 30 % PVK</b>				
	<b>CATu</b>	<b>APXu</b>	<b>GRu</b>	<b>DHARu</b>
Bez primiranja	174,27	1,630	0,012 <sup>b</sup>	0,052 <sup>a,A</sup>
H <sub>2</sub> O	157,45	2,059	0,021 <sup>a</sup>	0,050 <sup>a,AB</sup>
500 $\mu\text{M NaHS}$	152,02	3,695	0,019 <sup>a</sup>	0,045 <sup>b,B</sup>
1000 $\mu\text{M NaHS}$	179,24	1,861	0,013 <sup>b</sup>	0,038 <sup>c,C</sup>
F test	0,82	2,52	5,32	18,03
p	0,0507	0,1073	0,0146	<0,0001
	<b>CATs</b>	<b>APXs</b>	<b>GRs</b>	<b>DHARs</b>
Bez primiranja	37,41 <sup>a,A</sup>	0,395	0,003 <sup>b</sup>	0,023 <sup>a</sup>
H <sub>2</sub> O	28,43 <sup>b,B</sup>	0,556	0,006 <sup>a</sup>	0,022 <sup>a</sup>
500 $\mu\text{M NaHS}$	19,97 <sup>c,C</sup>	0,608	0,003 <sup>b</sup>	0,015 <sup>b</sup>
1000 $\mu\text{M NaHS}$	21,74 <sup>c,BC</sup>	0,251	0,002 <sup>b</sup>	0,014 <sup>b</sup>
F test	20,93	2,19	4,11	4,90
p	<0,0001	0,1426	0,0320	0,0190

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup> p=0,05; <sup>ABC</sup> p=0,01).

LSD testom je utvrđena značajno najveća ukupna aktivnost GR u klijanima sjemena koje je bilo prethodno primirano u vodi ( $0,021 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  sv.t.) dok je najmanja aktivnost bila u varijanti bez primiranja ( $0,021 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  sv.t.). Istovremeno je utvrđena najveća ukupna aktivnost DHAR kod sjemena bez primiranja ( $0,052 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  sv.t.), a zatim slijede niže aktivnosti kod sjemena primiranog s vodom i  $500 \mu\text{M NaHS}$  dok je najniža vrijednost ukupne aktivnosti zabilježena kod osmoprimiranja s  $1000 \mu\text{M NaHS}$  ( $0,038 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  sv.t.).

Također je LSD testom utvrđena značajno najveća specifična aktivnost CAT u klijanima iz sjemena koje nije bilo prethodno primirano ( $37,41 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  prot.) dok je najmanja aktivnost zabilježena u varijanti primiranja s  $500 \mu\text{M NaHS}$  ( $19,97 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  prot.). Najveća specifična aktivnost GR je bila u klijanima sjemena primiranog s vodom ( $0,006 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  prot.). Pri primiranju sjemena u varijantama s  $500 \mu\text{M NaHS}$  odnosno bez primiranja utvrđene su značajno niže specifične aktivnosti GR, a te dvije vrijednosti se nisu statistički međusobno značajno razlikovale. Najmanja aktivnost zabilježena je u tretmanu sjemena s  $1000 \mu\text{M NaHS}$  ( $0,002 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  prot.).

Prema F testu, u uvjetima PVK kod Lukine očinske linije nije utvrđen značajan utjecaj osmoprimiranja na ukupnu kao i na specifičnu aktivnost niti jednog ispitivanog enzima u klijanjima (Tablica 46.).

**Tablica 46.** Utjecaj varijante primiranja na ukupnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ) i specifičnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca očinske linije hibrida Luka, uzgajane pri PVK.

<b>Luka / otac + PVK</b>				
	<b>CATu</b>	<b>APXu</b>	<b>GRu</b>	<b>DHARu</b>
Bez primiranja	44,95	4,538	0,008	0,029
H <sub>2</sub> O	42,13	3,366	0,008	0,037
500 $\mu\text{M NaHS}$	46,45	3,859	0,005	0,118
1000 $\mu\text{M NaHS}$	41,67	5,279	0,015	0,044
F test	0,09	2,49	2,58	1,64
p	0,9625	0,1099	0,1018	0,2317
<b>Luka / otac + PVK</b>				
	<b>CATs</b>	<b>APXs</b>	<b>GRs</b>	<b>DHARs</b>
Bez primiranja	8,56	0,853	0,002	0,028
H <sub>2</sub> O	8,30	0,927	0,002	0,043
500 $\mu\text{M NaHS}$	10,36	1,047	0,002	0,105
1000 $\mu\text{M NaHS}$	8,19	1,010	0,003	0,041
F test	0,8	0,43	0,95	2,83
p	0,5172	0,7380	0,4452	0,0835

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup> p=0,05; <sup>ABC</sup> p=0,01).

Kod klijanaca Lukine očinske linije uzgajanih pri 30 % PVK, utvrđen je značajan utjecaj osmoprimiranja na ukupnu i specifičnu aktivnost glutation-reduktaze (GRu p=0,0239; GRs p=0,0427) te specifičnu aktivnost DHAR (p=0,0242) (Tablica 47.).

LSD testom je utvrđena značajno veća ukupna aktivnost GR pri obje varijante osmoprimiranja sjemena donorima sumporovodika te je najveća aktivnost zabilježena u varijanti 1000  $\mu\text{M NaHS}$  (0,014  $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ), a zatim u varijanti 500  $\mu\text{M NaHS}$  (0,008  $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ). Značajno najveća specifična aktivnost GR također je utvrđena u varijanti 1000  $\mu\text{M NaHS}$  (0,003  $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ), međutim nije se značajno razlikovala od varijanti 500  $\mu\text{M NaHS}$  i H<sub>2</sub>O. Specifična aktivnost DHAR bila je najveća u varijanti primiranja vodom te se nije značajno razlikovala od varijante bez primiranja i 500  $\mu\text{M NaHS}$ . Najmanja specifična aktivnost DHAR zabilježena je u klijanjima iz sjemena primiranog s 1000  $\mu\text{M NaHS}$  (0,101  $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ), ali se također nije značajno razlikovala od specifične aktivnosti utvrđene u varijanti 500  $\mu\text{M NaHS}$  (0,128  $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ).

**Tablica 47.** Utjecaj varijante primiranja na ukupnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ) i specifičnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca očinske linije hibrida Luka, uzgajane pri 30 % PVK.

<b>Luka / otac + 30 % PVK</b>				
	<b>CATu</b>	<b>APXu</b>	<b>GRu</b>	<b>DHARu</b>
Bez primiranja	70,12	3,876	0,005 <sup>b</sup>	0,020
H <sub>2</sub> O	63,57	2,328	0,006 <sup>b</sup>	0,024
500 $\mu\text{M NaHS}$	77,68	5,596	0,008 <sup>ab</sup>	0,022
1000 $\mu\text{M NaHS}$	89,75	5,492	0,014 <sup>a</sup>	0,020
F test	2,55	2,66	4,54	3,35
p	0,1044	0,0957	0,0239	0,0558
<b>Luka / otac + 30 % PVK</b>				
	<b>CATs</b>	<b>APXs</b>	<b>GRs</b>	<b>DHARs</b>
Bez primiranja	19,17	0,824	0,001 <sup>b</sup>	0,135 <sup>a</sup>
H <sub>2</sub> O	16,15	0,763	0,002 <sup>ab</sup>	0,152 <sup>a</sup>
500 $\mu\text{M NaHS}$	18,14	1,372	0,002 <sup>ab</sup>	0,128 <sup>ab</sup>
1000 $\mu\text{M NaHS}$	19,99	1,282	0,003 <sup>a</sup>	0,101 <sup>b</sup>
F test	1,27	2,63	3,66	4,53
p	0,3281	0,0984	0,0427	0,0242

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup> p=0,05; <sup>ABC</sup> p=0,01).

Kod hibrida Luka u varijanti bez primiranja sjemena, F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj sušnog stresa na ukupnu aktivnost CAT i DHAR (p<0,0001) te ukupnu aktivnost APX (p=0,0340) (Tablica 48.).

LSD testom je utvrđena značajno veća ukupna aktivnost za sva tri navedena enzima u klijancima koji su uzgajani u uvjetima sušnog stresa, pri 30 % PVK (CATu 174,06; APXu 2,43; DHARu 0,067  $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{sv.t.}$ ).

Sušni stres je također vrlo značajno utjecao na specifičnu aktivnost CAT i APX te je LSD testom utvrđena statistički vrlo značajno veća specifična aktivnost CAT u varijanti 30 % PVK (39,57  $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ), dok je viša specifična aktivnost APX utvrđena u varijanti bez sušnog stresa (0,65  $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ), gdje su klijanci uzgajani pri PVK.

**Tablica 48.** Utjecaj varijante naklijavanja na ukupnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ) i specifičnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca hibrida Luka, uzgojenih iz neprimiranog sjemena.

<b>Luka + Bez primiranja</b>				
	<b>CATu</b>	<b>APXu</b>	<b>GRu</b>	<b>DHARu</b>
PVK	25,61 <sup>b,B</sup>	1,91 <sup>b</sup>	0,008	0,039 <sup>b,B</sup>
30 % PVK	174,06 <sup>a,A</sup>	2,43 <sup>a</sup>	0,015	0,067 <sup>a,A</sup>
F test	449,62	7,47	5,71	86,1
p	<0,0001	0,0340	0,0541	<0,0001
<b>Luka / majka + Bez primiranja</b>				
	<b>CATs</b>	<b>APXs</b>	<b>GRs</b>	<b>DHARs</b>
PVK	8,17 <sup>b,B</sup>	0,65 <sup>a,A</sup>	0,003	0,062
30 % PVK	39,57 <sup>a,A</sup>	0,45 <sup>b,B</sup>	0,003	0,018
F test	247,68	18,91	0,04	3,68
p	<0,0001	0,0048	0,8542	0,1034

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup> p=0,05; <sup>ABC</sup> p=0,01).

Kod majčinske linije hibrida Luka, F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj sušnog stresa na ukupnu aktivnost CAT i DHAR (p<0,0001) te je po LSD testu, vrlo značajno veća ukupna aktivnost oba navedena enzima utvrđena u varijanti 30 % PVK (Tablica 49.), u odnosu na klijance razvijene pri PVK.

**Tablica 49.** Utjecaj varijante naklijavanja na ukupnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ) i specifičnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca majčinske linije hibrida Luka, uzgojenih iz neprimiranog sjemena.

<b>Luka / majka + Bez primiranja</b>				
	<b>CATu</b>	<b>APXu</b>	<b>GRu</b>	<b>DHARu</b>
PVK	21,29 <sup>b,B</sup>	2,328	0,005	0,035 <sup>b,B</sup>
30 % PVK	174,27 <sup>a,A</sup>	1,630	0,012	0,052 <sup>a,A</sup>
F	1263,67	2,02	2,03	122,12
p	<0,0001	0,2050	0,1872	<0,0001
<b>Luka / majka + Bez primiranja</b>				
	<b>CATs</b>	<b>APXs</b>	<b>GRs</b>	<b>DHARs</b>
PVK	7,65 <sup>b,B</sup>	0,851 <sup>a</sup>	0,002	0,048
30 % PVK	37,41 <sup>a,A</sup>	0,400 <sup>b</sup>	0,003	0,023
F test	195,54	8,12	2,16	1,69
p	<0,0001	0,0292	0,1710	0,2383

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup> p=0,05; <sup>ABC</sup> p=0,01).

Također, sušni stres je vrlo značajno utjecao na specifičnu aktivnost CAT ( $p < 0,0001$ ) te značajno na specifičnu aktivnost APX ( $p = 0,0292$ ). U varijanti 30 % PVK utvrđena je vrlo značajno veća specifična aktivnost CAT ( $37,41 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) te značajno niža specifična aktivnost APX ( $0,400 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ).

Kod očinske linije hibrida Luka u varijanti bez primiranja, sušni stres je vrlo značajno utjecao na ukupnu i specifičnu aktivnost DHAR (DHARu  $p = 0,0029$ ; DHARs  $p = 0,0003$ ) te specifičnu aktivnost CAT ( $p = 0,0016$ ) te značajno na ukupnu aktivnost CAT ( $p = 0,0342$ ) (Tablica 50.) u klijancima.

Pri 30 % PVK zabilježena je značajno viša ukupna i vrlo značajno viša specifična aktivnost CAT (CATu  $70,12 \mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ; CATs  $19,17 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) te vrlo značajno niža ukupna i specifična aktivnost DHAR (DHARu  $0,020 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{sv.t.}$ ; DHARs  $0,001 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ), u odnosu na uvjete PVK.

**Tablica 50.** Utjecaj varijante naklijavanja na ukupnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ) i specifičnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca očinske linije hibrida Luka, uzgojenih iz neprimiranog sjemena.

<b>Luka / otac + Bez primiranja</b>				
	<b>CATu</b>	<b>APXu</b>	<b>GRu</b>	<b>DHARu</b>
PVK	44,95 <sup>b</sup>	4,538	0,008	0,029 <sup>a,A</sup>
30 % PVK	70,12 <sup>a</sup>	3,876	0,005	0,020 <sup>b,B</sup>
F test	7,45	0,13	5,12	23,51
p	0,0342	0,7347	0,0642	0,0029
<b>CATs / APXs / GRs / DHARs</b>				
	<b>CATs</b>	<b>APXs</b>	<b>GRs</b>	<b>DHARs</b>
PVK	8,56 <sup>b,B</sup>	0,853	0,002	0,028 <sup>a,A</sup>
30 % PVK	19,17 <sup>a,A</sup>	0,824	0,001	0,001 <sup>b,B</sup>
F test	29,31	0,01	2,21	59,29
p	0,0016	0,9312	0,1874	0,0003

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup>  $p = 0,05$ ; <sup>ABC</sup>  $p = 0,01$ ).

F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj sušnog stresa u klijancima iz sjemena hibrida Luka primiranog s vodom, na ukupnu aktivnost CAT ( $p = 0,0095$ ) i DHAR ( $p < 0,0001$ ) te specifičnu aktivnost CAT ( $p = 0,0005$ ) (Tablica 51.).

LSD testom je utvrđena značajno veća ukupna aktivnost CAT ( $132,35 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{sv.t.}$ ) i DHAR ( $0,065 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{sv.t.}$ ) te specifična aktivnost CAT ( $25,27 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ), kod klijanaca uzgajanih u uvjetima 30 % PVK.



**Tablica 51.** Utjecaj varijante naklijavanja na ukupnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$  sv.t.) i specifičnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  prot.) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca hibrida Luka, uzgojenih iz sjemena primiranog u vodi.

<b>Luka + H<sub>2</sub>O</b>				
	<b>CATu</b>	<b>APXu</b>	<b>GRu</b>	<b>DHARu</b>
PVK	84,14 <sup>b,B</sup>	5,167	0,055	0,041 <sup>b,B</sup>
30 % PVK	132,35 <sup>a,A</sup>	4,178	0,015	0,065 <sup>a,A</sup>
F test	14,05	1,05	3,79	177,56
p	0,0095	0,3441	0,0996	<0,0001
	<b>CATs</b>	<b>APXs</b>	<b>GRs</b>	<b>DHARs</b>
PVK	12,61 <sup>b,B</sup>	0,601	0,006	0,023
30 % PVK	25,27 <sup>a,A</sup>	0,736	0,003	0,026
F test	47,68	1,14	2,19	0,49
p	0,0005	0,3269	0,1891	0,5109

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup> p=0,05; <sup>ABC</sup> p=0,01).

Kod majčinske linije hibrida Luka u varijanti primiranja sjemena s vodom, F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj sušnog stresa na ukupnu aktivnost sva četiri ispitivana enzima (CATu i DHARu p<0,0001; APXu p=0,0083; GRu p=0,0053) te na specifičnu aktivnost CAT (p<0,0001) i DHAR (p=0,0027) (Tablica 52.).

**Tablica 52.** Utjecaj varijante naklijavanja na ukupnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$  sv.t.) i specifičnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  prot.) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca majčinske linije hibrida Luka uzgojenih iz sjemena primiranog u vodi.

<b>Luka / majka + H<sub>2</sub>O</b>				
	<b>CATu</b>	<b>APXu</b>	<b>GRu</b>	<b>DHARu</b>
PVK	37,88 <sup>b,B</sup>	4,091 <sup>a,A</sup>	0,007 <sup>b,B</sup>	0,036 <sup>b,B</sup>
30 % PVK	157,46 <sup>a,A</sup>	2,059 <sup>b,B</sup>	0,021 <sup>a,A</sup>	0,051 <sup>a,A</sup>
F test	400,87	14,91	18,17	83,15
p	<0,0001	0,0083	0,0053	<0,0001
	<b>CATs</b>	<b>APXs</b>	<b>GRs</b>	<b>DHARs</b>
PVK	10,00 <sup>b,B</sup>	1,261	0,002	0,041 <sup>a,A</sup>
30 % PVK	28,43 <sup>a,A</sup>	0,556	0,006	0,022 <sup>b,B</sup>
F test	550,25	4,79	5,88	23,90
p	<0,0001	0,0711	0,0515	0,0027

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup> p=0,05; <sup>ABC</sup> p=0,01).

LSD testom je utvrđena vrlo značajno veća ukupna aktivnost CAT, GR i DHAR u klijancima uzgajanim u uvjetima 30 % PVK, dok je ukupna aktivnost APX bila vrlo značajno veća u uvjetima PVK ( $4,091 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{sv.t.}$ ). U varijanti 30 % PVK specifična aktivnost CAT je bila vrlo značajno veća ( $28,43 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ), dok je specifična aktivnost DHAR bila vrlo značajno manja u usporedbi s PVK ( $0,041 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ).

Kod očinske linije hibrida Luka u varijanti osmoprimiranja sjemena  $\text{H}_2\text{O}$ , F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj sušnog stresa na ukupnu i specifičnu aktivnost DHAR (DHARu  $p=0,0002$ ; DHARs  $p=0,0001$ ) te su veće aktivnosti ovog enzima zabilježene kod klijanaca u varijanti PVK (DHARu  $0,037 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{sv.t.}$ ; DHARs  $0,043 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) (Tablica 53.).

Sušni stres je značajno utjecao na specifičnu aktivnost CAT ( $p=0,0152$ ) te je značajno veća aktivnost zabilježena u varijanti 30 % PVK ( $16,15 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ).

**Tablica 53.** Utjecaj varijante naklijavanja na ukupnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ) i specifičnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca očinske linije hibrida Luka uzgojenih iz sjemena primiranog u vodi.

Luka / otac + H <sub>2</sub> O				
	CATu	APXu	GRu	DHARu
PVK	42,13	3,366	0,008	0,037 <sup>a,A</sup>
30 % PVK	63,57	2,328	0,006	0,024 <sup>b,B</sup>
F test	2,73	3,02	1,08	65,55
p	0,1497	0,1332	0,3386	0,0002
	CATs	APXs	GRs	DHARs
PVK	8,30 <sup>b</sup>	0,927	0,002	0,043 <sup>a,A</sup>
30 % PVK	16,15 <sup>a</sup>	0,763	0,002	0,015 <sup>b,B</sup>
F test	11,29	1,79	0,005	76,08
p	0,0152	0,2294	0,8315	0,0001

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup>  $p=0,05$ ; <sup>ABC</sup>  $p=0,01$ ).

U klijancima hibrida Luka, čije je sjeme prethodno primirano s  $500 \mu\text{M NaHS}$ , utvrđen je vrlo značajan utjecaj sušnog stresa na ukupnu aktivnost sva četiri ispitivana enzima (CATu i DHARu  $p<0,0001$ ; APXu  $p=0,0027$ ; GRu  $p=0,0059$ ) te na specifičnu aktivnost CAT i DHAR (CATs  $p<0,0001$ ; DHARs  $p=0,0027$ ) (Tablica 54.).

LSD testom je utvrđena vrlo značajno najveća ukupna aktivnost svih ispitivanih enzima u varijanti 30 % PVK (CATu  $157,61$ ; APXu  $2,979$ ; GRu  $0,013$ ; DHARu  $0,059 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{sv.t.}$ ). Specifična aktivnost CAT je bila vrlo značajno najveća u varijanti 30 % PVK ( $35,40 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ), za razliku od specifične aktivnosti DHAR, koja je bila vrlo značajno najveća u varijanti PVK ( $0,047 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ).

**Tablica 54.** Utjecaj varijante naklijavanja na ukupnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ) i specifičnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca hibrida Luka, uzgojenih iz sjemena primiranog s 500  $\mu\text{M}$  NaHS.

<b>Luka + 500 <math>\mu\text{M}</math> NaHS</b>				
	<b>CATu</b>	<b>APXu</b>	<b>GRu</b>	<b>DHARu</b>
PVK	15,82 <sup>b,B</sup>	1,608 <sup>b,B</sup>	0,008 <sup>b,B</sup>	0,038 <sup>b,B</sup>
30 % PVK	157,61 <sup>a,A</sup>	2,979 <sup>a,A</sup>	0,013 <sup>a,A</sup>	0,059 <sup>a,A</sup>
F	139,74	23,89	17,31	178,25
p	<0,0001	0,0027	0,0059	<0,0001
<b>Luka + 500 <math>\mu\text{M}</math> NaHS</b>				
	<b>CATs</b>	<b>APXs</b>	<b>GRs</b>	<b>DHARs</b>
PVK	5,66 <sup>b,B</sup>	0,539	0,003	0,047 <sup>a,A</sup>
30 % PVK	35,40 <sup>a,A</sup>	0,660	0,003	0,018 <sup>b,B</sup>
F test	270,16	2,17	0,23	24,14
p	<0,0001	0,1907	0,6462	0,0027

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup> p=0,05; <sup>ABC</sup> p=0,01).

**Tablica 55.** Utjecaj varijante naklijavanja na ukupnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ) i specifičnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca majčinske linije hibrida Luka, uzgojenih iz sjemena primiranog s 500  $\mu\text{M}$  NaHS.

<b>Luka / majka + 500 <math>\mu\text{M}</math> NaHS</b>				
	<b>CATu</b>	<b>APXu</b>	<b>GRu</b>	<b>DHARu</b>
PVK	24,61 <sup>b,B</sup>	2,485	0,008 <sup>b,B</sup>	0,032 <sup>b,B</sup>
30 % PVK	152,02 <sup>a,A</sup>	3,695	0,019 <sup>a,A</sup>	0,045 <sup>a,A</sup>
F test	48,99	1,01	51,49	41,68
p	0,0004	0,3529	0,0004	0,0007
<b>Luka / majka + 500 <math>\mu\text{M}</math> NaHS</b>				
	<b>CATs</b>	<b>APXs</b>	<b>GRs</b>	<b>DHARs</b>
PVK	7,96 <sup>b,B</sup>	0,829	0,003	0,029 <sup>a,A</sup>
30 % PVK	19,97 <sup>a,A</sup>	0,608	0,003	0,015 <sup>b,B</sup>
F test	72,76	1,43	5,94	29,34
p	0,0001	0,2775	0,0507	0,0016

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup> p=0,05; <sup>ABC</sup> p=0,01).

Pri primiranju sjemena majčinske linije hibrida Luka s 500  $\mu\text{M}$  NaHS, F testom je utvrđen vrlo značajan utjecaj sušnog stresa na ukupnu aktivnost CAT, GR i DHAR (CATu i GRu  $p=0,0004$ ; DHARu  $p=0,0007$ ) te na specifičnu aktivnost CAT i DHAR (CATs  $p=0,0001$ ; DHARs  $p=0,0016$ ) u klijanacima (Tablica 55.).

LSD testom je utvrđena vrlo značajno veća ukupna aktivnost svih ispitivanih enzima u uvjetima uzgoja klijanaca pri 30 % PVK. Specifična aktivnost CAT je također bila vrlo značajno veća u varijanti 30 % PVK ( $19,97 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) za razliku od specifične aktivnosti DHAR, koja je bila vrlo značajno veća u varijanti PVK ( $0,029 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ).

Pri primiranju sjemena očinske linije hibrida Luka s 500  $\mu\text{M}$  NaHS, F testom je utvrđen značajan utjecaj sušnog stresa na ukupnu aktivnost CAT ( $p=0,0321$ ) u klijanacima te vrlo značajan na specifičnu aktivnost CAT ( $p=0,0052$ ) i DHAR ( $p=0,0059$ ) (Tablica 56.).

LSD testom je utvrđena značajno veća ukupna i specifična aktivnost CAT u varijanti 30 % PVK (CATu  $77,68 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{sv.t.}$ ; CATs  $18,14 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ), dok je specifična aktivnost DHAR bila veća u varijanti PVK ( $0,105 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ).

**Tablica 56.** Utjecaj varijante naklijavanja na ukupnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ) i specifičnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca očinske linije hibrida Luka, uzgojenih iz sjemena primiranog s 500  $\mu\text{M}$  NaHS.

<b>Luka / otac + 500 <math>\mu\text{M}</math> NaHS</b>				
	<b>CATu</b>	<b>APXu</b>	<b>GRu</b>	<b>DHARu</b>
PVK	46,45 <sup>b</sup>	3,859	0,008	0,118
30 % PVK	77,68 <sup>a</sup>	5,596	0,009	0,022
F	7,71	4,96	0,07	2,24
p	0,0321	0,0675	0,7996	0,1854
	<b>CATs</b>	<b>APXs</b>	<b>GRs</b>	<b>DHARs</b>
PVK	10,36 <sup>b,B</sup>	1,047	0,002	0,105 <sup>a,A</sup>
30 % PVK	18,14 <sup>a,A</sup>	1,372	0,002	0,013 <sup>b,B</sup>
F test	18,37	1,63	0,02	5,36
p	0,0052	0,2484	0,8923	0,0059

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup>  $p=0,05$ ; <sup>ABC</sup>  $p=0,01$ ).

U klijanacima hibrida Luka čije je sjeme bilo osmoprimirano s 1000  $\mu\text{M}$  NaHS, sušni stres je vrlo značajno utjecao na ukupnu aktivnost svih ispitivanih enzima (APXu i DHARu  $p<0,0001$ ; CATu  $p=0,0052$ ; GRu  $p=0,0012$ ) (Tablica 57.). Također, prema F testu, sušni stres je vrlo značajno utjecao i na specifičnu aktivnost CAT ( $p=0,0008$ ), APX ( $p<0,0001$ ), i GR ( $p=0,0004$ ) te značajno na specifičnu aktivnost DHAR ( $p=0,0331$ ).

LSD testom je utvrđena vrlo značajno najveća ukupna aktivnost svih ispitivanih enzima te specifična aktivnost CAT ( $34,36 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ), APX ( $0,638 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) i GR ( $0,003 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) u varijanti 30 % PVK dok je značajno veća specifična aktivnost DHAR utvrđena u varijanti bez stresa ( $0,044 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ).

**Tablica 57.** Utjecaj varijante naklijavanja na ukupnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ) i specifičnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu kljancima hibrida Luka, uzgojenih iz sjemena primiranog s  $1000 \mu\text{M NaHS}$ .

<b>Luka + 1000 <math>\mu\text{M NaHS}</math></b>				
	<b>CATu</b>	<b>APXu</b>	<b>GRu</b>	<b>DHARu</b>
PVK	16,19 <sup>b,B</sup>	1,100 <sup>b,B</sup>	0,002 <sup>b,B</sup>	0,038 <sup>b,B</sup>
30 % PVK	132,96 <sup>a,A</sup>	2,532 <sup>a,A</sup>	0,011 <sup>a,A</sup>	0,056 <sup>a,A</sup>
F test	18,38	247,74	33,07	119,19
p	0,0052	<0,0001	0,0012	<0,0001
	<b>CATs</b>	<b>APXs</b>	<b>GRs</b>	<b>DHARs</b>
PVK	6,14 <sup>b,B</sup>	0,310 <sup>b,B</sup>	0,001 <sup>b,B</sup>	0,044 <sup>a</sup>
30 % PVK	34,36 <sup>a,A</sup>	0,638 <sup>a,A</sup>	0,003 <sup>a,A</sup>	0,030 <sup>b</sup>
F test	38,91	118,80	51,46	7,59
p	0,0008	<0,0001	0,0004	0,0331

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup>  $p=0,05$ ; <sup>ABC</sup>  $p=0,01$ ).

Kod majčinske linije hibrida Luka u varijanti primiranja s  $1000 \mu\text{M NaHS}$ , sušni stres je vrlo značajno utjecao na ukupnu (CAT  $p=0,0009$ ; APX  $p=0,0006$ ; DHARu  $p=0,0092$ ) i specifičnu aktivnost (CAT  $p=0,0040$ ; APX  $p=0,0008$ ; DHARu  $p=0,0021$ ) svih ispitivanih enzima u kljancima, osim GR (Tablica 58.).

LSD testom je utvrđena vrlo značajno veća ukupna aktivnost CAT ( $179,24 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{sv.t.}$ ) i DHAR ( $0,038 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{sv.t.}$ ) te specifična aktivnost CAT ( $21,74 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) u varijanti 30 % PVK. Varijanta PVK rezultirala je vrlo značajno većom ukupnom aktivnošću enzima APX ( $5,257 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{sv.t.}$ ) te većom specifičnom aktivnošću enzima APX ( $1,007 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) i DHAR ( $0,024 \mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) u usporedbi s 30 % PVK.

**Tablica 58.** Utjecaj varijante naklijavanja na ukupnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ) i specifičnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca majčinske linije hibrida Luka, uzgojenih iz sjemena primiranog s 1000  $\mu\text{M NaHS}$ .

<b>Luka / majka + 1000 <math>\mu\text{M NaHS}</math></b>				
	<b>CATu</b>	<b>APXu</b>	<b>GRu</b>	<b>DHARu</b>
PVK	47,94 <sup>b,B</sup>	5,257 <sup>a,A</sup>	0,011	0,032 <sup>b,B</sup>
30 % PVK	179,24 <sup>a,A</sup>	1,861 <sup>b,B</sup>	0,013	0,038 <sup>a,A</sup>
F test	45,33	42,05	0,84	14,3
p	0,0009	0,0006	0,3942	0,0092
<b>CATs</b>				
	<b>CATs</b>	<b>APXs</b>	<b>GRs</b>	<b>DHARs</b>
PVK	9,56 <sup>b,B</sup>	1,007 <sup>a,A</sup>	0,002	0,024 <sup>a,A</sup>
30 % PVK	21,74 <sup>a,A</sup>	0,251 <sup>b,B</sup>	0,002	0,014 <sup>b,B</sup>
F test	20,55	39,09	0,93	26,66
p	0,0040	0,0008	0,3714	0,0021

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup> p=0,05; <sup>ABC</sup> p=0,01).

Kod očinske linije hibrida Luka čije je sjeme primirano s 1000  $\mu\text{M NaHS}$ , sušni stres je vrlo značajno utjecao na ukupnu aktivnost enzima CAT (p=0,0004) i DHAR (p=0,0001) te specifičnu aktivnost enzima CAT (p<0,0001) (Tablica 59.). F testom je utvrđen i značajan utjecaj sušnog stresa na specifičnu aktivnost DHAR u klijancima (p=0,0137).

**Tablica 59.** Utjecaj varijante naklijavanja na ukupnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ) i specifičnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca očinske linije hibrida Luka, uzgojenih iz sjemena primiranog s 1000  $\mu\text{M NaHS}$ .

<b>Luka / otac + 1000 <math>\mu\text{M NaHS}</math></b>				
	<b>CATu</b>	<b>APXu</b>	<b>GRu</b>	<b>DHARu</b>
PVK	41,67 <sup>b,B</sup>	5,279	0,015	0,043 <sup>a,A</sup>
30 % PVK	89,75 <sup>a,A</sup>	5,492	0,014	0,020 <sup>b,B</sup>
F test	54,83	0,17	0,06	77,22
p	0,0004	0,6937	0,8149	0,0001
<b>CATs</b>				
	<b>CATs</b>	<b>APXs</b>	<b>GRs</b>	<b>DHARs</b>
PVK	8,19 <sup>b,B</sup>	1,010	0,003	0,041 <sup>a</sup>
30 % PVK	19,97 <sup>a,A</sup>	1,282	0,003	0,010 <sup>b</sup>
F test	111,11	1,95	0,47	11,88
p	<0,0001	0,2119	0,5181	0,0137

\*Vrijednosti označene različitim slovima se razlikuju prema LSD testu (<sup>abc</sup> p=0,05; <sup>ABC</sup> p=0,01).

LSD testom je utvrđena vrlo značajno veća ukupna i specifična aktivnost katalaze u klijancima uzgajanim pri 30 % PVK (CATu 89,75  $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{sv.t.}$ ); CATs 19,97  $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ), dok je u navedenoj varijanti sušnog stresa ukupna aktivnost DHAR bila niža (0,020  $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{sv.t.}$ ), u usporedbi s aktivnosti utvrđenoj u varijanti PVK (0,043  $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{sv.t.}$ ). Specifična aktivnost DHAR kod klijanaca uzgajanih u varijanti PVK je bila značajno viša (0,041  $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) u usporedbi s aktivnosti utvrđenom u varijanti 30 % PVK (0,010  $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ).

## 5. RASPRAVA

Sumporovodik se dugo smatrao fitotoksinom, ali danas je poznato da u niskim koncentracijama ima ulogu stanične signalne molekule koja je uključena u rast, razvoj i stjecanje otpornosti na stres kod viših biljaka. Corpas i Palma (2020.) navode da primjena egzogenog sumporovodika izaziva promjene, na biokemijskoj i molekularnoj razini, koje ublažavaju štetne učinke različitih abiotičkih stresova. Zbog toga se donori sumporovodika mogu koristiti kao sredstva za tretman agrikulturnih biljaka koje se uslijed klimatskih promjena često već u početnim fazama rasta i razvoja nalaze u nepovoljnim ekološkim uvjetima što u konačnici rezultira smanjenjem kvalitete i kvantitete prinosa.

Testiranje fiziološke kvalitete sjemena vrši se određivanjem energije klijanja i standardne klijavosti, što su dva osnovna pokazatelja vigora sjemena. Zbog različitih nepovoljnih uvjeta tijekom rasta i razvoja biljke često daju sjeme slabe vijabilnosti. Staro sjeme ili skladištenje sjemena u nepovoljnim uvjetima također može biti jedan od razloga pada vigora (Andrić i sur., 2004.). Zbog toga u praksi postoje tehnike koje imaju za cilj povećati vijabilnost sjemena kroz povoljni utjecaj pojedinih kemijskih spojeva na intenziviranje fizioloških i metaboličkih procesa u sjemenu. Jedna od takvih tehnika je i osmoprimiranje, kojom se sjeme djelomično ili u potpunosti hidrira s vodom ili niskim koncentracijama različitih osmotski aktivnih soli te se suši prije sjetve (McDonald, 2000.). Također, sjeme se na isti način može primirati i s drugim fiziološki aktivnim spojevima poput hormona, jednostavnih šećera, aminokiselina ali i molekulama ili donorima molekula koje su izravno uključene u prijenos staničnog signala poput sumporovodika i vodikovog peroksida. Takve, membranski permeabilne i fiziološki aktivne molekule mogu pozitivno utjecati na primarne metaboličke puteve oslobađanja energije, promet i iskorištenje elemenata mineralne ishrane, hormonalnu regulaciju aktiviranje antioksidativnih mehanizama itd. (Sharma i sur., 2022.).

Vassilevska-Ivanova i sur. (2014.), navode da odgovor suncokreta na sušu uvelike ovisi o genotipu a razlike u toleranciji nastaju zbog različite sposobnosti genotipova da se prilagode i induciraju različite obrambene mehanizme u uvjetima nedostatka vode. Akumulacija suhe mase, visina biljke i duljina korijena klijanaca, vrlo su pouzdani parametri koji omogućuju selekciju hibrida suncokreta s obzirom na svojstvo otpornosti na nedostatak vode (Ahmad i sur., 2009.).

U našim istraživanjima ispitivan je utjecaj osmotskog stresa na vigor sjemena suncokreta hibrida Luka i Apolon, koje je prethodno tretirano donatorom sumporovodika. Luka je srednje rani hibrid s čvrstom stabljikom tolerantan na dominantne patogene. U povoljnim agroekološkim uvjetima genetski potencijal prinosa ovog hibrida je do 5,5 t ha<sup>-1</sup> sa sadržajem ulja preko 52 %. Apolon je rani hibrid s niskom i čvrstom stabljikom, tolerantan na dominantne patogene s genetskim potencijalom prinosa do 5 t ha<sup>-1</sup> i sadržajem ulja preko 50 % (Krizmanić i sur., 2014.).

Kod hibrida Luka, za sve varijante osmotskog stresa, sumporovodik je rezultirao povećanjem energije klijanja, proporcionalno s povećanjem koncentracije NaHS (Tablica



1.). Najniža energija klijanja utvrđena je u varijanti gdje je sjeme primirano vodom. Naime, tijekom primiranja može doći do oštećenja sjemenjače zbog razlike osmotskog potencijala otopine i sjemena što rezultira pojačanim ispiranjem elemenata uključenih u osmoregulaciju ali i aminokiselina i šećera koji također imaju značajnu ulogu u inicijalnoj fazi klijanja (Woodstock, 1988.; Ashraf i sur., 1998.). Osim osmoregulacije, elementi poput kalija, magnezija i kalcija su vrlo važni aktivatori enzimskih procesa koji prethode klijanju te njihovo ispiranje iz endosperma tijekom faze imbibicije u konačnici može rezultirati smanjenjem vigora sjemena. Kod hibrida Apolon izostao je ovakav efekat sumporovodika te je za sve varijante osmotskog stresa, najniža energija klijanja utvrđena u varijanti 100  $\mu\text{M}$  NaHS, međutim nije se značajno razlikovala od varijanti bez primiranja, primiranja vodom te 500  $\mu\text{M}$  NaHS (Tablica 7.). Kod oba ispitivana hibrida, za sve varijante osmoprimiranja, značajno najniža energija klijanja utvrđena je pri varijanti 10 % PEG (Tablica 1. i 7.). Igbal i Ashraf (2006.), su u svojim istraživanjima utvrdili da tretman sjemena suncokreta s PEG, značajno smanjuje postotak klijavosti, svježiu i suhu masu te povećava prosječno vrijeme klijanja za čak 50 %, kod obje testirane sorte. Primijenjene varijante osmotskog stresa od  $-1,2$  i  $-0,6$  MPa u njihovim istraživanjima, rezultirale su 67 i 21 % smanjenjem svježie mase klijanaca u usporedbi s kontrolom.

U našim istraživanjima, standardna klijavost hibrida Luka je imala sličan trend kao i energija klijanja a tretmani sumporovodikom, također su rezultirali smanjenjem broja mrtvih sjemenki, naročito pri koncentracijama od 500 i 1000  $\mu\text{M}$  NaHS. Nasuprot navedenom, kod hibrida Apolon nije utvrđen značajan utjecaj ispitivanih tretmana na standardnu klijavost, broj nenormalnih klijanaca i broj mrtvih sjemenki.

Ukoliko uspoređujemo utjecaj osmotskog stresa na energiju klijanja po varijantama primiranja (Tablica 3.), vidljivo je da se pri prve dvije razine osmotskog stresa, energija klijanja sjemena osmoprimiranog u otopinama od 500, 1000 i 1500  $\mu\text{M}$  NaHS nije značajno razlikovala od energije klijanja sjemena primiranog u vodi. Ovakav rezultat upućuje na pozitivno djelovanje sumporovodika pri nižim razinama osmotskog stresa, pošto je pri najvišoj razini osmotskog stresa, u varijanti 10 % PEG, došlo do značajnog pada energije klijanja u svim varijantama primiranja. Kod oba hibrida, primijenjene koncentracije PEG nisu značajno utjecale na standardnu klijavost suncokreta (Tablice 3. i 9.). Pošto se kod suncokreta energija klijanja utvrđuje već 4. dan a standardna klijavost 10. dan, veliki je vremenski odmak između ta dva pokazatelja te se nakon 10 dana klijanca ujednače i dostižu punu klijavost, bez obzira na stres u početnom porastu (ISTA rules, 2015.). Prema tome, dobiveni rezultati energije klijanja i standardne klijavosti, potvrđuju da su klijanca na osmotski stres najosjetljiviji u početnoj fazi klijanja, a u tom je periodu i najistaknutiji efekt sumporovodika.

Pozitivni efekt sumporovodika kod hibrida Luka, pri tretmanu s 5 % PEG, očituje se kroz povećanje energije klijanja te smanjenje broja mrtvog sjemena što se reflektiralo i na veću standardnu klijavost (Tablica 5.). Najmanje neprokljalog sjemena pri navedenoj razini osmotskog stresa bilo je u varijantama tretmana gdje su sjemenke osmoprimirane u 100 odnosno 500  $\mu\text{M}$  otopinama NaHS. Primjena 10 % PEG kod hibrida Luka, očito izaziva toliko visoku razinu osmotskog stresa da pozitivni efekt sumporovodika na bilo koji

pokazatelj klijavosti, u potpunosti izostaje. Međutim, kod hibrida Apolon, pri 10 % PEG, veće koncentracije sumporovodika su pozitivno djelovale na energiju klijanja te je najveća vrijednost (78 %), utvrđena u varijanti 500  $\mu\text{M}$  NaHS (Tablica 11.).

Značajni negativni utjecaj sušnog stresa na porast klijanaca suncokreta potvrdili su i Fulda i sur. (2011). Autori izvješćuju da je kod klijanaca suncokreta uzgajanih do pojave prvih pravih listova na MS mediju u prisustvu PEG (-0,6 MPa), utvrđeno značajno smanjenje dužine hipokotila te niža svježja masa izdanaka i korijena.

U prosjeku za sve varijante primiranja, kod oba hibrida vidljiv je pad mase klijanaca porastom razine osmotskog stresa. Razlike u svježoj masi klijanaca kod oba hibrida, između varijanti primiranja sjemena bile su značajne ( $p \leq 0,05$ ) na svim razinama stresa, osim za najveću razinu stresa (klijanje pri 10 % PEG) kod hibrida Luka (Tablica 5. i 11.). Također, kod hibrida Luka, u varijantama niže razine osmotskog stresa (2,5 % i 5 % PEG), najveća masa klijanaca dobivena je kod sjemena tretiranog s 500  $\mu\text{M}$  NaHS.

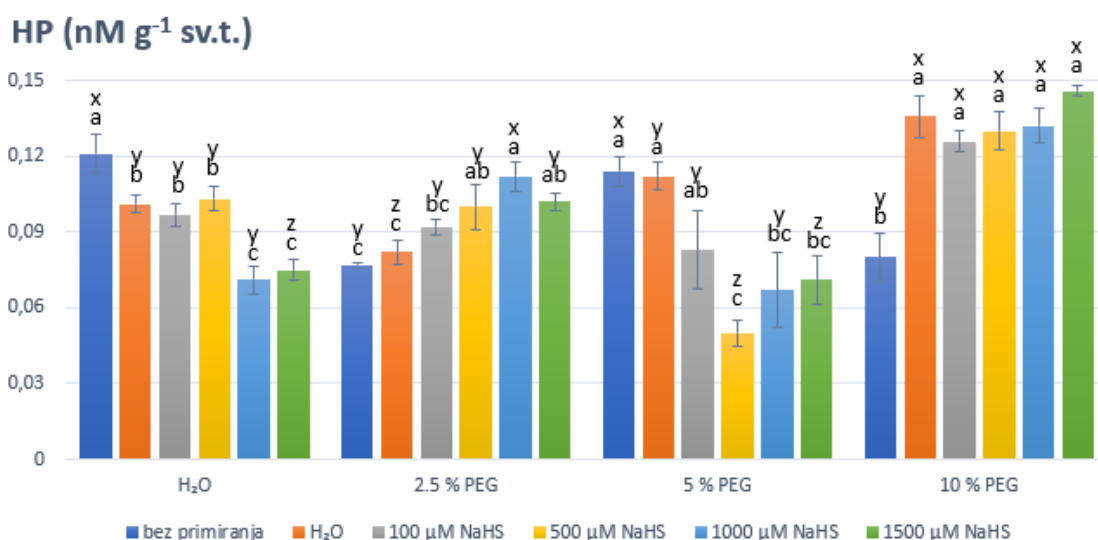
Dooley i sur. (2013.) tvrde da se efikasnost primjene donora sumporovodika kreće u vrlo uskim koncentracijama, koje su specifične po pojedinim taksonomskim grupama te se pozitivno djelovanje kod biljaka svodi na dva odvojena pokazatelja rasta: prvi je vrijeme potrebno za klijanje sjemena i drugi je masa tkiva korijena, stabljike i lišća. U njihovom istraživanju, pozitivni učinci  $\text{H}_2\text{S}$  na brzinu klijanja i veličinu klijanaca uočeni su u sjemenkama graha, kukuruza, pšenice i graška.

Li i sur. (2013.) su utvrdili da predtretman sjemena kukuruza s NaHS, značajno poboljšava postotak klijavosti sjemena i postotak preživljavanja klijanaca kukuruza u uvjetima toplinskog stresa. Osim toga, smanjuje ispiranje elektrolita iz korijena, povećava vitalnost klijanaca i smanjuje nakupljanje malondialdehida u koleoptilima klijanaca kukuruza. Osim toga, predstavljeni tretman donorima sumporovodika, poput NaHS pozitivno je djelovao na aktivnost  $\Delta 1$ -pirolin-5-karboksilat sintetaze i smanjio aktivnost prolin-dehidrogenaze, što je zauzvrat induciralo nakupljanje endogenog prolina u klijancima kukuruza.

Zhang i sur. (2009.) su u svojim istraživanjima ispitivali učinak NaHS na klijanje i antioksidativni status u pšenici (*Triticum aestivum* L.) čije je sjeme bilo izloženo osmotskom stresu. Autori dokazuju da povećanjem osmotskog stresa, klijavost sjemena postupno opada. Da bi dokazali da je pozitivan efekt na rast i klijanje rezultat djelovanje sumporovodika a ne nekog drugog kemijskog spoja, odnosno aniona ili kationa, autori su ispitivali i pojedinačni učinak  $\text{Na}^+$  i  $\text{S}^{2-}$ . Rezultati dokazuju da pozitivan efekt sumporovodika ovisi o koncentracijama. Osim toga, autori su dokazali da je upravo sumporovodik generiran iz NaHS, spoj koji ima zaštitnu ulogu u uvjetima sušnog stresa jer je takav efekt izostao kod tretmana gdje je korišten  $\text{Na}^+$  ili  $\text{S}^{2-}$ . NaHS je u kombinaciji s PEG pojačao aktivnost amilaze, esteraze, katalaze i askorbat-peroksidaze te smanjio akumulaciju vodikovog peroksida i malondialdehida u sjemenu, kao produkta lipidne peroksidacije. Nasuprot tome, aktivnost lipoksigenaze je značajno smanjena što upućuje na višestruku, složenu zaštitnu ulogu ovog spoja u uvjetima osmotskog stresa.

U našim istraživanjima kod oba ispitivana hibrida, za sve varijante stresa, tretmani primiranja donorom sumporovodika nisu značajno utjecali na biokemijske pokazatelje osmotskog stresa, lipidnu peroksidaciju, akumulaciju vodikovog peroksida te akumulaciju slobodnog prolina (Tablice 2. i 8.). Međutim, za sve varijante primiranja i kod hibrida Luka i kod hibrida Apolon došlo je do značajnog povećanja lipidne peroksidacije te sadržaja vodikovog peroksida i prolina, proporcionalno s povećanjem razine osmotskog stresa izazvanog primjenom PEG.

Kod hibrida Apolon, primiranje NaHS-om nije značajno utjecalo na akumulaciju vodikovog peroksida ni na jednoj razini stresa (Tablica 12.) a najmanji sadržaj vodikovog peroksida pri svim varijantama primiranja, utvrđen je kod klijanaca naklijavanih u prisustvu vode (Tablica 10.). U klijancima hibrida Luka, uzgojenih iz sjemena primiranog s 100  $\mu\text{M}$  NaHS, sadržaj vodikovog peroksida se značajno povećao samo pri najvećoj razini osmotskog stresa (Tablica 4.). Također, u varijanti bez stresa, gdje su klijanci naklijavani u prisustvu vode, sumporovodik je značajno smanjio nakupljanje vodikovog peroksida te su najučinkovitije koncentracije NaHS bile 1000 i 1500  $\mu\text{M}$  (Tablica 6.). Nadalje, najučinkovitiji efekt primiranja, odnosno najniža akumulacija vodikovog peroksida kod hibrida Luka, utvrđeni su kod klijanaca naklijavanih pri 5 % PEG te prethodno primiranih s 500  $\mu\text{M}$  NaHS (Grafikon 2.). Osim toga, pri navedenoj razini osmotskog stresa, varijante primiranja s dvije najviše koncentracije NaHS (1000 i 1500  $\mu\text{M}$  NaHS) također su rezultirale smanjenjem akumulacije vodikovog peroksida u usporedbi s netretiranim i hidroprimiranim sjemenom.



**Grafikon 2.** Učinak primiranja sjemena i razine sušnog stresa na sadržaj vodikovog peroksida (HP) u klijancima suncokreta hibrida Luka; stupci predstavljaju 6 varijanti primiranja sjemena za 4 razine sušnog stresa; x,y,z – razlike između razina stresa za istu varijantu primiranja; a,b,c – razlike između varijanti primiranja za istu razinu stresa, prema LSD testu  $p \leq 0,05$ .

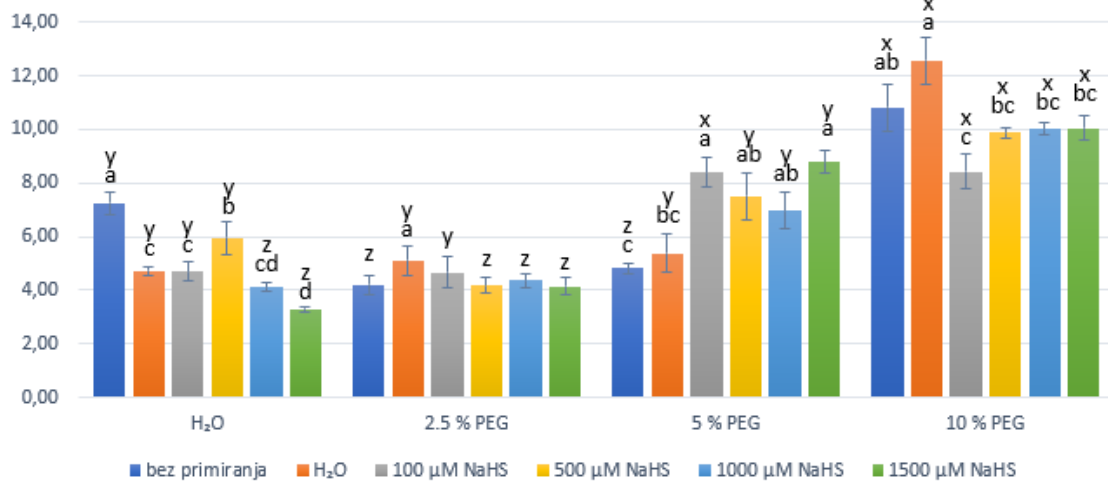
Li i sur. (2012.) navode da vodikov peroksid ima vitalnu ulogu u klijanju sjemena te rastu i razvoju biljaka kao i stjecanju otpornosti na stres, dok se sumporovodik smatra staničnom signalnom molekulom kod viših biljaka. U njihovom istraživanju ispitivan je utjecaj primiranja sjemena vodikovim peroksidom na vigor klijanaca biljke *Jatropha curcas* L. Autori navode da vodikov peroksid povećava postotak klijavosti sjemena, te stimulira povećanje aktivnosti L-cistein desulfhidraze, što je zauzvrat induciralo nakupljanje sumporovodika. Suprotno, predtretman sjemena inhibitora biosinteze H<sub>2</sub>S, aminooksioctenom kiselinom, eliminirao je pozitivno djelovanje vodikovog peroksida na povećanje aktivnosti L-cistein desulfhidraze i nakupljanje H<sub>2</sub>S što je rezultiralo smanjenjem postotka klijavosti. Osim toga, egzogeno primijenjeni sumporovodik također može poboljšati postotak klijavosti sjemena *Jatropha curcas* L. Autori zaključuju da ove dvije signalne molekule djeluju sinergistički te primiranje sjemena vodikovim peroksidom može poboljšati vigor i početni porast klijanaca a pozitivan učinak vodikovog peroksida posredovan je sumporovodikom.

Vassilevska-Ivanova i sur. (2014.) su zaključili da osmotski stres izazvan izravnim utjecajem PEG, utječe na veliki broj fizioloških i biokemijskih svojstava klijanaca suncokreta, kao što su klijavost sjemena, duljina izdanaka i korijena, udio svježe i suhe tvari, udio vode te nakupljanje prolina, malondialdehida i vodikovog peroksida. U njihovim istraživanjima, porast sadržaja malondialdehida bio je evidentan u uvjetima jakog deficita vode (-1,0 MPa), a razina slobodnog prolina je rasla paralelno s razinom vodenog stresa u oba testirana genotipa suncokreta.

Zhang i sur. (1996.) su u klijanima suncokreta i sirka ispitivali utjecaj sakupljača slobodnih radikala na antioksidativni odgovor u uvjetima osmotskog stresa induciranog PEG. Kod sirka tretman s PEG nije rezultirao povećanjem lipidne peroksidacije, međutim autori zaključuju da su klijanci suncokreta osjetljiviji na osmotski stres, što rezultira povećanjem razine lipidne peroksidacije. Primjena askorbinske kiseline rezultirala je smanjenjem razine lipidne peroksidacije te autori zaključuju da vanjska primjena sakupljača slobodnih radikala može smanjiti oštećenja staničnih membrana u uvjetima osmotskog stresa.

Kod oba ispitivana hibrida u ovom istraživanju, u svim varijantama primiranja, porastom osmotskog stresa došlo je do povećanja lipidne peroksidacije (Tablice 4. i 10.). Međutim, kod hibrida Apolon, kod klijanaca uzgojenih iz sjemena primiranih s NaHS, nisu utvrđene značajne razlike u lipidnoj peroksidaciji između varijanti 2,5 i 5 % PEG (Tablica 10.), što upućuje na zaštitnu ulogu sumporovodika pri nižim razinama osmotskog stresa. Suprotno tome, kod neprimiranog sjemena te sjemena primiranog vodom, porastom koncentracije PEG, rasla je i lipidna peroksidacija. Pri najvećoj razini stresa kod hibrida Luka primiranje sjemena s NaHS rezultiralo je smanjenjem razine lipidne peroksidacije pri najvećoj razini osmotskog stresa (Grafikon 3.).

### MDA (nM g<sup>-1</sup> sv.t.)

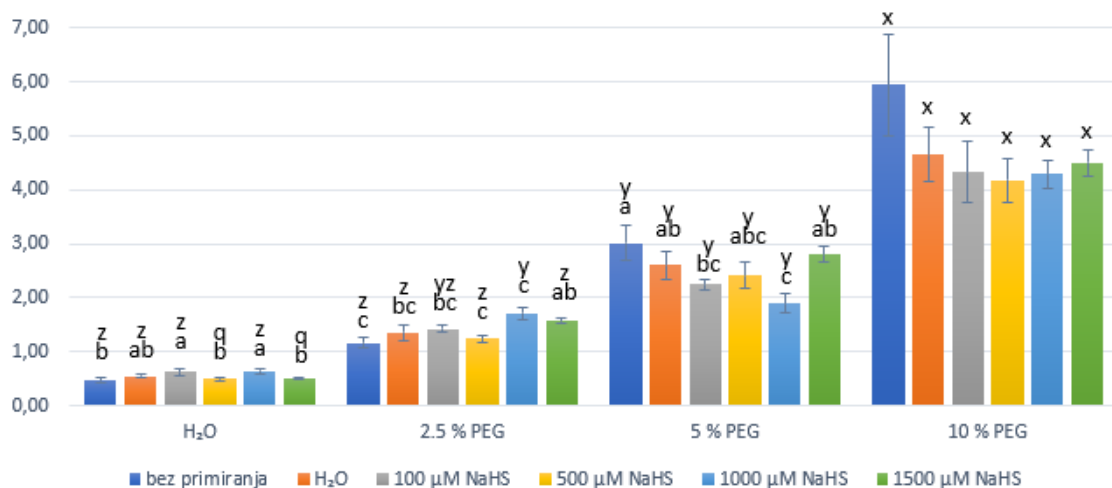


**Grafikon 3.** Učinak primiranja sjemena i razine sušnog stresa na razinu lipidne peroksidacije (MDA) u klijancima suncokreta hibrida Luka; stupci predstavljaju 6 varijanti primiranja sjemena za 4 razine sušnog stresa; x,y,z – razlike između razina stresa za istu varijantu primiranja; a,b,c – razlike između varijanti primiranja za istu razinu stresa, prema LSD testu  $p \leq 0,05$ .

Uloga prolina u otpornosti na stres ostaje kontroverzna budući da su neki autori izvijestili o visokim razinama prolina u osjetljivim kultivarima izloženim uvjetima stresa (Premachandra i sur., 1995.; Sundaesan i sur., 1995.), dok su drugi primijetili suprotan trend (Jacobs i sur., 2003.). Naime, Lazcano-Ferrat i Lovatt (1999.) navode da prolin služi kao pokazatelj stanja vode u biljkama, ali ne i kao mjera razine tolerancije dok Delauney i Verma (1993.) objašnjavaju da izostanak pozitivne korelacije između akumulacije PRO i tolerancije na osmotski stres u nekim biljnim vrstama ne isključuje ulogu prolina u adaptaciji biljaka, već je vjerojatnije da su u osmotsku regulaciju uključeni neki drugi morfološki ili fiziološki mehanizmi.

U našem istraživanju, akumulacija prolina u klijancima suncokreta povećavala se proporcionalno s razinom osmotskog stresa u svim varijantama primiranja (Tablica 2.), dok za sve varijante stresa, osmoprimiranje nije značajno utjecalo na akumulaciju ovog osmolita. Kod oba ispitivana hibrida, pri najvišoj razini osmotskog stresa te pri 5 % PEG kod hibrida Apolon, primiranje nije značajno utjecalo na akumulaciju prolina (Tablica 6. i 12.). Također, kod oba hibrida, najniže koncentracije prolina utvrđene su u varijantama bez primiranja gdje je sjeme naklijavano u prisustvu vode te pri 5 % PEG. Kod hibrida Luka, najveća akumulacija prolina pri 10 % PEG, utvrđena je kod klijanaca uzgojenih iz neprimiranog sjemena (Grafikon 4.).

### PRO ( $\mu\text{M g}^{-1}$ sv.t.)



**Grafikon 4.** Učinak primiranja sjemena i razine sušnog stresa na akumulaciju slobodnog prolina (PRO) u klijancima suncokreta hibrida Luka; stupci predstavljaju 6 varijanti primiranja sjemena za 4 razine sušnog stresa; x,y,z – razlike između razina stresa za istu varijantu primiranja; a,b,c – razlike između varijanti primiranja za istu razinu stresa, prema LSD testu  $p \leq 0,05$ .

Dakle, povećana razina peroksidacije lipida odnosno sadržaj malondialdehida, utvrđen pri višim razinama stresa (5 % i 10 % PEG), potvrđuje oksidativni stres u klijancima suncokreta. Nadalje, u uvjetima stresa bila je povećana i akumulacija vodikovog peroksida u klijancima što je rezultiralo nižom klijavošću i smanjenjem vigora. Također, povećanje razine sušnog stresa stimuliralo je akumulaciju slobodnog prolina kao važnog mehanizma osmokoncioniranja u klijancima suncokreta u uvjetima osmotskog stresa izazvanog PEG. Sličnu reakciju suncokreta na sušu u fazi klijanaca utvrdili su Khalil i sur. (2016.), koji su izvijestili da su hibridi suncokreta s većom sposobnošću osmotske prilagodbe kroz akumulaciju prolina, imali manja oštećenja izazvana stresom što je rezultiralo većom duljinom korijena i izdanaka te većom masom izdanka. Autori zaključuju da negativna korelacija s morfološkim svojstvima ukazuje na to da sadržaj prolina možda nije povezan s povećanjem rasta suncokreta, međutim može povećati sposobnost preživljavanja u uvjetima stresa kroz osmotsku prilagodbu te imati značajnu ulogu u lakšem i bržem oporavku biljke nakon prestanka djelovanja stresa.

Veliki broj dosadašnjih istraživanja potvrđuje da je prethodno iniciranje slabog stresa u biljkama, efikasna priprema koja rezultira povećanjem otpornosti na abiotički stres kroz modifikaciju različitih metaboličkih puteva uključenih u odgovor na stresne uvjete. Na taj način se ciljano koriste i različite metode primiranja sjemena ili izravnog tretiranja biljaka blagim kemijskim agensima u svrhu povećanja tolerancije na stresne uvjete (Savvides i sur., 2015.). Takav učinak objašnjava veću akumulaciju vodikovog peroksida i stopu lipidne peroksidacije u klijancima uzgojenim iz hidroprimiranog sjemena, u usporedbi s neprimiranim sjemenom kod hibrida Luka (Grafikon 2. i 3.). Stoga pretpostavljamo da hidroprimiranje može izazvati blagu razinu osmotskog stresa što se dodatno pojačava kod najviše razine osmotskog stresa u klijanju pri 10 % PEG. Međutim,

primiranje sjemena navedenog hibrida rezultiralo je značajno nižim sadržajem MDA u klijancima koji su bili izloženi najvišoj razini stresa (Grafikon 3.).

U poljskim uvjetima, sušni stres ne utječe samo na klijanje sjemena već i na rast i razvoj mladih biljaka. Almeida i sur. (2020.) su između ostalog, ispitivali i utjecaj NaHS na suncokret koji je uzgajan u plasteniku u uvjetima suše. Na početku reproduktivne faze (R1), biljke suncokreta su prskane otopinom NaHS. Njihovi rezultati upućuju na potencijal ispitivanih tvari za ublažavanje posljedica sušnog stresa kod suncokreta te na mogućnost primjene takvih sredstava u poljskim uvjetima. U našem poljskom dijelu istraživanja klijanci suncokreta hibrida Luka te njegove majčinske i očinske linije su bili izloženi jakom deficitu vode (30 % PVK) do faze razvoja prvog para listova. Pri optimalnoj opskrbi vodom, za sve varijante primiranja, klijavost hibrida je iznosila 90 %, dok je kod obje roditeljske linije utvrđena značajno veća klijavost (majka 96 %, otac 94 %) (Tablica 15.). Sušni stres je značajno utjecao na broj iskljalih biljaka, masu nadzemnog dijela te masu listova kod hibrida Luka te njegove majčinske i očinske linije, (Tablica 16.). Ukoliko uspoređujemo postotak klijavosti prikazan po genotipovima, u uvjetima sušnog stresa pri 30 % PVK, utvrđen je sličan pad klijavosti za prosječno 11 % kod sva tri ispitivana genotipa.

U našem pokusu tri genotipa suncokreta uzgajana su u posudama napunjenim tлом i držani u poluotvorenom plasteniku. El Midaoui i sur. (2003.) su kod mladih biljaka suncokreta uzgajanih u pijesku u stakleniku, utvrdili značajno smanjenje rasta izdanaka i korijena u uvjetima osmotskog stresa (-0,6 i -1,0 MPa) induciranog primjenom otopine PEG 6000. U našim istraživanjima svježja masa hipokotila i listova suncokreta bila je približno tri puta manja u varijantama stresa, u usporedbi s kontrolom (Tablica 16.). Pad mase nadzemnih dijelova suncokreta bio je puno izraženiji kod hibrida u usporedbi s njegovom majčinskom i očinskom linijom, što upućuje da je hibrid Luka, u ranoj fazi porasta, puno osjetljiviji na nedostatak vode u usporedbi s linijama. U selekcijskom i oplemenjivačkom procesu koji je prvenstveno usmjeren prema povećanju prinosa i kvalitete zrna, ponekad se kod novijih hibrida događa pad ekološke valentnosti a time i pad sposobnosti adaptacije suncokreta na pojedini tip ili širi spektar abiotičkih čimbenika stresa (Yeremenko i sur., 2018.). Međutim, kod majčinske linije utvrđen je pozitivan utjecaj osmoprimiranja otopinama NaHS koji je rezultirao značajnim povećanjem mase listova za obje varijante sušnog stresa (Tablica 16.). Bez obzira što je sušni stres rezultirao smanjenjem mase nadzemnih dijelova i listova kod sva tri genotipa u svima varijantama osmoprimiranja (Tablice 21., 22., 23. i 24.), kod hibrida Luka te njegove očinske linije, sušni stres nije rezultirao smanjenjem postotka klijavosti kod sjemena primiranog s 1000  $\mu$ M NaHS, što upućuje na pozitivan efekt primiranja NaHS-om (Tablica 24.). Isti efekt vidljiv je i kod majčinske linije u varijanti primiranja sjemena s nižom koncentracijom 500  $\mu$ M NaHS (Tablica 23.). Najistaknutiji efekt primiranja sjemena otopinama NaHS na povećanje mase nadzemnog dijela i listova u uvjetima sušnog stresa, utvrđen je kod majčinske linije te je masa nadzemnog dijela i listova bila za prosječno 25 % veća u usporedbi s neprimiranim sjemenom i sjemenom primiranim u vodi (Tablica 26.). Nasuprot tome, kod hibrida Luka te njegove očinske linije primiranje NaHS-om nije značajno utjecalo na postotak klijavosti, (Tablice 25. i 27.). Navedeno upućuje da je

zaštitna uloga NaHS-a kroz zadržavanje visokog postotka klijavosti u uvjetima sušnog stresa ovisna o genotipu, odnosno nasljeđu, kada govorimo o selekciji i križanjima kod proizvodnje hibridnog sjemena.

Sgherri i Navari-Izzo (1995.), su u svojem istraživanju utvrdili da se u klijancima suncokreta javlja blaga, umjerena i jaka razina stresa uzrokovanog nedostatkom nakon 5, 8 i 11 dana od nedostatka vode u tlu. Kao odgovor na niski osmotski potencijal i umjereni pad potencijala vode, razina glutaciona je porasla što je rezultiralo povećanjem aktivnosti enzima povezanih s askorbat/glutation ciklusom. Međutim, u uvjetima intenzivnog stresa uzrokovanog nedostatkom vode, pada učinkovitost ovog obrambenog mehanizma što rezultira intenziviranjem oksidativnih procesa. Baloglu i sur. (2012) navode da bi strategije koje doprinose poboljšanju aktivnosti enzima APX i CAT u tkivu suncokreta, mogle pružiti učinkovit sustav zaštite od štetnih posljedica stresa uzrokovanog sušom kod ove važne uljarice. U svojim istraživanjima na klijancima suncokreta dokazali su povećanje aktivnosti APX i CAT u uvjetima suše. Naši rezultati pokazuju da je, neovisno o varijanti primiranja sjemena, sušni stres također snažno povećao aktivnosti CAT, APX i DHAR u nadzemnom dijelu klijanaca hibrida Luka (Tablica 32.). Kod majčinske linije, također je porasla aktivnost prethodno navedenih enzima te GR u uvjetima sušnog stresa (Tablica 34.). Nasuprotno navedenom, kod očinske linije sušni stres je rezultirao povećanjem samo ukupne aktivnosti CAT (Tablica 36.). Isti je učinak sušnog stresa utvrđen i za specifičnu aktivnost navedenih enzima, izraženu po masi proteina (Tablice 33., 35. i 37.). Rezultati Ghobadi i sur. (2013.) koji su istraživali reakciju suncokreta na sušu u fazi početka izduživanja stabljike u poljskim uvjetima, dokazali su sušom inducirano povećanje aktivnosti enzima CAT u listovima. Međutim, Quartacci i Navari-Izzo (1992.) uočili su smanjenje aktivnosti CAT-a u listovima suncokreta, kod biljaka uzgajanih u tlu u klima komori pri nedostatnoj količini vode.

Palma i sur. (2020.) navode da sve više dokaza upućuje da je aktivnost enzima katalaze regulirana signalnim putevima u koje su uključeni dušik oksid (NO) i ostale vrste reaktivnih dušikovih radikala (RNS), kao i sumporovodik. Kao što je ranije potvrđeno u Arabidopsisu (Jin i sur., 2011.), pšenici (Ma i sur., 2016.; Khan i sur., 2017.; Kolupaev i sur., 2019.; Li i sur., 2015., 2017.; Shan i sur., 2011., 2017.), jagodama (Christou i sur., 2013.), batatu (Zhang i sur., 2009.), soji (Zhang i sur., 2010.), itd., vanjska primjena H<sub>2</sub>S može pokrenuti mehanizme antioksidativnog odgovora u uvjetima sušnog i osmotskog stresa kod biljaka. Primjena NaHS može smanjiti produkciju reaktivnih kisikovih radikala kroz utjecaj na metabolizam nekoliko antioksidativnih enzima kao što su katalaza, peroksidaza i glutation-reduktaza, kao i kroz stimulaciju neenzimskog glutationskog ciklusa i regulaciju redoks potencijala stanice, što rezultira smanjenjem oštećenja stanica u uvjetima abiotskog stresa (Shi i sur., 2013.; Chen i sur., 2020.). U našem istraživanju, za obje varijante stresa, tretman sjemena s 1000 μM NaHS značajno je smanjio aktivnost CAT u biljkama suncokreta hibrida Luka (Tablica 32.). Međutim, kada uzmemo u obzir samo biljke koje su uzgajane pri PVK, učinak primiranja s NaHS na ukupnu aktivnost CAT u nadzemnom dijelu klijanaca nije bio značajan u usporedbi s varijantom bez primiranja sjemena, ali je hidropriiranje rezultiralo najvećom aktivnošću CAT (Tablica 42.). Također, nije utvrđen značajan utjecaj primiranja na aktivnost navedenog enzima



kod biljaka uzgajanim u uvjetima sušnog stresa (Tablica 43). Za razliku od hibrida Luka, za obje varijante sušnog stresa, u nadzemnom dijelu klijanaca majčinske i očinske linije nije utvrđen značajan utjecaj primiranja na ukupnu aktivnost CAT (Tablice 34. i 36.).

Kod hibrida Luke, sličan učinak sušnog stresa i primiranja uočen je i kod ukupne aktivnosti APX, koja je bila pojačana u uvjetima suše (Tablica 32.). Također, utvrđen je značajan porast aktivnosti APX u nadzemnom dijelu suncokreta uzgojenih iz hidroprimiranog sjemena u usporedbi s aktivnošću dobivenom u biljkama uzgojenim iz neprimiranog sjemena i sjemena primiranog s NaHS i to pri obje varijante sušnog stresa (Tablice 42. i 43.). Učinak tretmana sjemena NaHS-om na aktivnost ovog enzima u nadzemnom dijelu suncokreta nije bio značajan, ni u uvjetima PVK niti u sušnom stresu uz 30% PVK (Tablica 32). U prosjeku za obje varijante sušnog stresa, kod majčinske linije prethodno primiranje sjemena otopinama NaHS odnosno vodom, rezultiralo je značajnim povećanjem aktivnosti APX u nadzemnom dijelu klijanaca (Tablica 34.), dok je kod očinske linije hidroprimiranje smanjilo aktivnost navedenog enzima u nadzemnom dijelu suncokreta (Tablica 36.). Ukoliko uzmemo u obzir učinak primiranja po razinama sušnog stresa, kod očinske linije primiranje nije značajno utjecalo na aktivnost APX u nadzemnom dijelu klijanaca uzgajanih pri PVK odnosno pri 30 % PVK (Tablice 46. i 47.).

U prosjeku za sve varijante primiranja, sušni stres nije značajno utjecao na ukupnu aktivnost enzima GR u klijanacima hibrida Luka (Tablica 32.). Nadalje, stimulacija aktivnosti ovog enzima bila je povezana samo s varijantom hidroprimiranja (Tablica 32.), a taj je učinak bio izraženiji u biljkama koje nisu bile izložene stresu (Tablica 42.), dok u uvjetima sušnog stresa tretmani primiranja sjemena nisu značajno utjecali na aktivnost GR (Tablica 43.). Dakle, sušni stres nije značajno utjecao na GR, što se podudara s rezultatima Baloghua i sur. (2012) koji su na temelju rezultata istraživanja provedenih na dvije sorte suncokreta, zaključili da aktivnost GR nije bitan dio mehanizma zaštite od sušnog stresa. Kod majčinske linije, za obje varijante stresa, primiranje je značajno povisilo aktivnost GR u usporedbi s neprimiranim sjemenom (Tablica 34.). Za razliku od hibrida Luka, kod majčinske linije u uvjetima sušnog stresa, primiranje je povećalo aktivnost GR koja je bila najviša u varijantama H<sub>2</sub>O i 500 μM NaHS (Tablica 45.), a stimulatívni utjecaj NaHS na povećanje aktivnosti ovog enzima, vidljiv je i u uvjetima bez sušnog stresa (Tablica 44.). Kod očinske linije, za obje varijante stresa, primiranje sjemena s najvišom koncentracijom NaHS, povećalo je ukupnu aktivnost GR u nadzemnom dijelu klijanaca (Tablica 36.) te je najveća vrijednost aktivnosti navedenog enzima utvrđena u nadzemnom dijelu klijanaca suncokreta uzgojenih iz sjemena prethodno primiranog s 1000 μM NaHS, pri 30 % PVK (Tablica 47.).

Shan i sur. (2011.) su u svojim istraživanjima utjecaja NaHS na klijanice pšenice u uvjetima sušnog stresa, zabilježili značajno niži sadržaj oksidiranog oblika glutationa (GSSG) u listovima pšenične trave. Takav rezultat pripisuju stimulatívnom djelovanju NaHS na aktivnost enzima GR u uvjetima sušnog stresa, pošto je GR uključena u regeneraciju GSH iz GSSG (Gill i Tuteja, 2010.). Također, Shi i sur. (2013.) su utvrdili pozitivni učinak NaHS na modulaciju metaboličke funkcije nekoliko antioksidativnih

enzima CAT, peroksidaze (POD), superoksid-dismutaze (SOD) i GR kod troskota (*Cynodon dactylon* L.) u uvjetima osmotskog stresa. Tretman NaHS-om je rezultirao povećanjem aktivnosti sva četiri navedena enzima u listovima biljaka uzgajanih u uvjetima sušnog stresa inducirano navodnjavanjem otopinom PEG 6000.

U prosjeku za obje varijante sušnog stresa, predstavljeni tretmani sjemena NaHS-om rezultirali su značajnim smanjenjem ukupne aktivnosti DHAR u nadzemnom dijelu klijanaca hibrida Luka (Tablica 32.) te njegove majčinske linije (Tablica 34.), u usporedbi s hidroprimiranim i neprimiranim sjemenom. Međutim, za razliku od drugih ispitivanih enzima, učinak primiranja sjemena hibrida Luka, nije bio značajan kod klijanaca suncokreta koji nisu bili izloženi sušnom stresu. Učinak tretmana NaHS-om na smanjenje aktivnosti DHAR vidljiv je kod oba genotipa u uvjetima sušnog stresa (Tablice 43. i 45.), a kod majčinske linije i u kontrolnoj varijanti gdje su klijanci uzgajani bez stresa. Kod očinske linije nije bilo značajnog utjecaja primiranja na aktivnost ovog enzima kod obje varijante sušnog stresa (Tablice 46. i 47.). Ukupna enzimatska aktivnost CAT, APX i GR u nadzemnom dijelu klijanaca suncokreta uzgajanih pri PVK je bila pod izravnim utjecajem ispitivanih genotipova i primiranja te su značajne njihove interakcije (Tablica 28.) dok su u uvjetima sušnog stresa interakcije osmoprimiranja i genotipa bile značajne za ukupnu aktivnost APX, GR i DHAR (Tablica 30.). Također, za ukupnu aktivnost svih enzima kod hibrida Luka značajna je bila i interakcija primiranja sjemena i sušnog stresa (Tablica 32.), dok je kod majčinske linije interakcija navedena dva faktora bila značajna za APX, GR i DHAR (Tablica 34.). Suprotno tome, kod očinske linije nije utvrđen značajan utjecaj interakcije osmoprimiranja i sušnog stresa ni na jedan analizirani enzim (Tablica 34.).

Dobiveni rezultati enzimatske aktivnosti upućuju na to da primiranje sjemena NaHS-om možda nije najbolje rješenje za stimulaciju antioksidativnog obrambenog mehanizma temeljenog na katalaznom i askorbat/glutation ciklusu kod mladih biljaka suncokreta koje rastu u sušnim uvjetima. Kao što navode Zulfiqar i Hancock (2020.), u mnogim dosadašnjim istraživanjima kao donori H<sub>2</sub>S korišteni su NaHS ili natrijev sulfid (Na<sub>2</sub>S), međutim otopine ovih spojeva vrlo brzo otpuštaju H<sub>2</sub>S i stoga predstavljaju kratkoročni i nekontinuirani izvor sumporovodika što nije slično fiziološkim mehanizmima proizvodnje ovog spoja. Primjenom H<sub>2</sub>S u obliku takvih otopina, veliki dio bi se brzo izgubio u atmosferi i takvi bi spojevi imali ograničenu upotrebu u okolišu. U tu svrhu, upotreba drugih spojeva, kao što je GYY4137 koji sporije otpuštaju H<sub>2</sub>S te mogu ovim spojem snabdijevati biljke u okolišu kroz duži vremenski period, može biti bolja opcija za poljoprivrednu upotrebu (Lisjak i sur., 2010.). Nedavno su Wang i sur. (2019.) izvijestili o razvoju nanočestica obloženih željeznom oksidom s izvrsnom ujednačenošću i mezoporoznošću, koje se mogu koristiti kao donor H<sub>2</sub>S s kontroliranim i kontinuiranim otpuštanjem H<sub>2</sub>S unutar bioloških sustava. Stoga je potrebno proširiti istraživanja fiziološkog odgovora suncokreta ali i drugih agrikulturnih biljaka u uvjetima sušnog stresa na potencijalnu primjenu novo sintetiziranih donora sumporovodika pošto je potvrđen njegov zaštitni učinak kod različitih tipova abiotskog stresa.

## 6. ZAKLJUČAK

Povećanje razine osmotskog stresa primjenom rastućih koncentracija PEG 6000 smanjuje vigor sjemena kod oba testirana hibrida (Luka i Apolon). Razlike u energiji klijanja i standardnoj klijavosti, potvrđuju da su klijanci suncokreta na osmotski stres najosjetljiviji u početnoj fazi klijanja, tijekom prva četiri dana, a u tom periodu je najistaknutiji pozitivni učinak predstjetvenog primiranja sjemena donorom sumporovodika.

U prosjeku za sve varijante osmotskog stresa, predstjetveno primiranje sjemena hibrida Luka otopinom NaHS povećava energiju klijanja, standardnu klijavost uz smanjenje broja mrtvih sjemenki, proporcionalno povećanju koncentracije otopine NaHS, dok primiranje vodom smanjuje energiju klijanja. Kod hibrida Apolon ovakav utjecaj sumporovodika na povećanje pokazatelja klijavosti izostaje.

Pozitivni utjecaj sumporovodika na vigor sjemena i pokazatelje rasta klijanaca hibrida Luka vidljiv je pri niskoj (2,5 % PEG) i srednjoj (5 % PEG) razini osmotskog stresa, pošto pri najvišoj razini osmotskog stresa (10 % PEG), dolazi do značajnog pada energije klijanja u svim varijantama primiranja. Kod hibrida Apolon, pri 10 % PEG, veće koncentracije otopine NaHS povećavaju energiju klijanja, s najvišom vrijednošću utvrđenom u varijanti primiranja sjemena s 500  $\mu$ M NaHS. Dakle, osim što ispitivani hibridi različito reagiraju na osmotski stres u fazi klijanja i ranog porasta, različito reagiraju i na predstjetveno osmoprimiranje sjemena navedenim donorom sumporovodika.

Osmotski stres povećava razinu lipidne peroksidacije te sadržaj vodikovog peroksida i prolina, čije vrijednosti rastu proporcionalno povećanju razine osmotskog stresa izazvanog primjenom PEG, kod oba testirana hibrida.

Uz primjenu 100  $\mu$ M otopine NaHS u predstjetvenom tretiranju sjemena hibrida Luka, značajno povećanje sadržaja vodikovog peroksida javlja se samo pri najvećoj razini osmotskog stresa. Pri srednje jakom osmotskom stresu (5 % PEG), primiranje sjemena s 500  $\mu$ M NaHS rezultiralo je najnižom akumulacijom vodikovog peroksida u hipokotilima klijanaca.

Kod hibrida Apolon primiranje sjemena s NaHS sprječava porast razine lipidne peroksidacije porastom osmotskog stresa do srednje razine (5 % PEG), što upućuje na zaštitnu ulogu sumporovodika pri nižim razinama osmotskog stresa, dok je kod hibrida Luka takav učinak vidljiv i pri najvišoj razini osmotskog stresa (10 % PEG).

Akumulacija prolina kao važnog mehanizma osmokondicioniranja u klijancima suncokreta u uvjetima osmotskog stresa izazvanog PEG, povećava se proporcionalno s povećanjem razine osmotskog stresa u svim varijantama primiranja, dok za sve varijante stresa, osmoprimiranje nema značajan utjecaj na akumulaciju ovog osmolita.

Općenito, kod mladih biljaka suncokreta hibrida Luka i roditeljskih linija uzgojenih u tlu uz ograničeno dodavanje vode (30 % PVK), sušni stres je inhibirao nicanje biljaka, razvoj klijanaca i lisne mase, a ističe se i jak antioksidativni enzimatски odgovor na sušni stres.

Smanjenje mase nadzemnog dijela klijanaca uvjetovan deficitom vode je izraženije kod testiranog hibrida suncokreta u usporedbi s njegovom majčinskom i očinskom linijom, što upućuje da je u poljskim uvjetima hibrid u ranoj fazi porasta puno osjetljiviji na nedostatak vode.

Kod hibrida Luka te njegove očinske linije primiranje sjemena s 1000  $\mu\text{M}$  otopinom NaHS rezultiralo je zadržavanjem visokog postotka klijavosti u uvjetima sušnog stresa. Isti učinak sumporovodika vidljiv je i kod majčinske linije čije je sjeme osmoprimirano s 500  $\mu\text{M}$  otopinom NaHS.

Najistaknutiji pozitivni učinak NaHS na povećanje mase nadzemnog dijela i listova u uvjetima sušnog stresa, utvrđen je kod majčinske linije. Kod hibrida Luka te njegove očinske linije takav pozitivni učinak primiranja s NaHS izostaje. Prema tome, zaštitna uloga NaHS kroz povećanje mase nadzemnih dijelova klijanaca uzgajanih u uvjetima sušnog stresa, ovisi o genotipu.

Odgovor antioksidativnog enzimatskog sustava na sušni stres također ovisi o genotipu pa je deficit vode snažno povećao aktivnost CAT, APX i DHAR u nadzemnom dijelu klijanaca hibrida Luka te uz prethodno navedene enzime i aktivnost GR u nadzemnom dijelu klijanaca majčinske linije, dok je kod očinske linije utvrđen samo porast aktivnosti CAT.

Hidroprimiranje sjemena je značajno povećalo ukupnu aktivnost CAT u nadzemnom dijelu klijanaca hibrida Luka, uzgajanih u uvjetima bez stresa, dok je učinak NaHS izostao.

U prosjeku za obje varijante sušnog stresa, prethodno primiranje sjemena majčinske linije vodom i otopinama NaHS povećava aktivnost APX u nadzemnom dijelu klijanaca, dok je kod očinske linije hidroprimiranje smanjilo aktivnost navedenog enzima. Hidroprimiranje povećava ukupnu aktivnost APX u nadzemnom dijelu klijanaca hibrida Luka, pri obje varijante sušnog stresa.

Stimulacija aktivnosti GR u nadzemnom dijelu klijanaca hibrida Luka povezana je s varijantom hidroprimiranja, a taj je učinak bio izraženiji u biljkama koje nisu bile izložene stresu. Kod majčinske linije uzgajane u varijantama sa i bez sušnog stresa, primiranje sjemena NaHS-om rezultiralo je povećanjem aktivnosti GR u nadzemnom dijelu klijanaca. Također, primiranje sjemena 1000  $\mu\text{M}$  otopinom NaHS povećalo je aktivnost GR u nadzemnom dijelu klijanaca suncokreta očinske linije u uvjetima sušnog stresa.

Tretman sjemena s NaHS je značajno smanjio ukupnu aktivnost DHAR u nadzemnom dijelu klijanaca hibrida Luke i njegove majčinske linije te je smanjenje aktivnosti kod oba navedena genotipa bilo izraženije u uvjetima sušnog stresa.

Na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti da se strategija primiranja sjemena NaHS-om ali i drugim sporootpuštajućim donorima sumporovodika može koristiti u svrhu povećanja klijavosti sjemena i preživljavanja klijanaca u uvjetima sušnog stresa. Pri tome je bitno ispitati učinke različitih vrsta spojeva, donora sumporovodika te najdjelotvornije koncentracije otopina koje se mogu koristiti za osmoprimiranje kao i

načine njihove primjene. Nadalje, za uspješno podizanje antioksidativnog statusa klijanaca suncokreta predstjetvenim primiranjem sjemena donorima sumporovodika, važno je ispitati pojedinačni odgovor na takve tretmane, na razini genotipa. Odgovor na osmoprimiranje, uvelike ovisi o genotipu pri čemu je bitno napomenuti da npr. križanjem dvije linije suncokreta kod kojih je sumporovodik pozitivno utjecao na povećanje otpornosti na sušu, neće nužno dati hibrid s istim odgovorom i obrnuto. Rezultati istraživanja utjecaja sumporovodika na pokazatelje vigora sjemena, rasta i razvoja te fiziološke indikatore stresa u hipokotilima i listovima klijanaca suncokreta, mogu dati buduće smjernice selekcijskom i oplemenjivačkom procesu, naročito kada je riječ o oplemenjivanju hibrida s ciljem povećanja otpornosti na sušu, što je u vrijeme brzih i izraženih klimatskih promjena od velikog značaja za proizvodnju ove strateški važne uljarice.

## 7. POPIS LITERATURE

- Adeleke, B. S., & Babalola, O. O. (2020). Oilseed crop sunflower (*Helianthus annuus* L.) as a source of food: Nutritional and health benefits. *Food Science & Nutrition*, 00, 1–19. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1783>
- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. In L. Packer (Ed.), *Methods in Enzymology* (Vol. 105, pp. 121–126). Academic Press Inc. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)
- Ahmad, S., Ahmad, R., Ashraf, M. Y., Ashraf, M., & Waraich, E. A. (2009). Sunflower (*Helianthus annuus* L.) response to drought stress at germination and seedling growth stages. *Pakistan Journal of Botany*, 41(2), 647–654.
- Ahuja, I., de Vos, R. C., Bones, A. M., & Hall, R. D. (2010). Plant molecular stress responses face climate change. *Trends in plant science*, 15(12), 664-674. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.08.002>
- Almeida, G. M., Silva, A. A., Batista, P. F., Moura, L. M. F., Vital, R. G., & Costa, A. C. (2020). Hydrogen sulfide, potassium phosphite and zinc sulfate as alleviators of drought stress in sunflower plants. *Ciência e Agrotecnologia*, 44, e006320. Epub August 28, 2020. <https://dx.doi.org/10.1590/1413-7054202044006320>
- Amin, W., Malook, S., Ashraf, S., & Bibi, A. (2014). A review of screening and conventional breeding under different seed priming conditions in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Nature and Science*, 12(10), 7–22.
- Andrić, L., Šimić, B., Popović, R., Ivanišić, I., & Plavšić, H. (2004). Utjecaj tretiranja i skladištenja na kakvoću sjemena suncokreta. *Sjemenarstvo*, 21(3-4), 143-148.
- Antoniou, C., Xenofontos, R., Chatzimichail, G., Christou, A., Kashfi, K., & Fotopoulos, V. (2020). Exploring the potential of nitric oxide and hydrogen sulfide (NOSH)-releasing synthetic compounds as novel priming agents against drought stress in *Medicago sativa* plants. *Biomolecules*, 10(120), 1–17. <https://doi.org/10.3390/biom10010120>
- Ashraf, M., & Hussain, M. M. (1998). Changes in Amino Acid and Carbohydrate Contents in Leachates of Preimbibed Wheat Seeds. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 1(31), 149.
- Atkinson, N. J., & Urwin, P. E. (2012). The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. *Journal of Experimental Botany*, 63(10), 3523-3543. <https://doi.org/10.1093/jxb/ers100>
- Aziz, A., Ashraf, M., Sikandar, S., Asif, M., Akhtar, N., Shahzad, S. M., & Babar, B. H. (2019). Optimizing sulfur for improving salt tolerance of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Soil & Environment*, 38, 222-233. <https://doi.org/10.25252/SE/19/71647>
- Balestrini, R., Chitarra, W., Antoniou, C., Ruocco, M., & Fotopoulos, V. (2018). Improvement of plant performance under water deficit with the employment of biological and chemical priming agents. *The Journal of Agricultural Science*, 156(5), 680–688. <https://doi.org/10.1017/S0021859618000126>

- Baloğlu, M. C., Kavas, M., Aydin, G., Öktem, H. A., & Yücel, A. M. (2012). Antioxidative and physiological responses of two sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivars under PEG-mediated drought stress. *Turkish Journal of Botany*, 36(6), 707–714. <https://doi.org/10.3906/bot-1111-20>
- Bates, L. S., Waldren, R. P., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39(1), 205–207. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>
- Baudouin, E., Poilevey, A., Hewage, N. I., Cochet, F., Puyaubert, J., & Bailly, C. (2016). The significance of hydrogen sulfide for Arabidopsis seed germination. *Frontiers in Plant Science*, 7(930), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00930>
- Bonciu, E., Pandia, O., Olaru, A. L., Saracin, I., & Rosculete, E. (2020). Some aspects regarding the genetic and biotechnological progress of the *Helianthus annuus* L. Management, Economic Engineering in Agriculture & Rural Development, 20(1), 105–110.
- Boyer, J. S. (1982). Plant productivity and environment. *Science*, 218(4571), 443-448.
- Bradford, M. M. (1976.): A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72(1-2): 248-254.
- Bukhari, S. A. H., Peerzada, A. M., Javed, M. H., Dawood, M., Hussain, N., & Ahmad, S. (2019). Growth and development dynamics in agronomic crops under environmental stress. In M. Hasanuzzaman (Ed.), *Agronomic Crops* (pp. 83–114). Springer Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-32-9151-5\\_6](https://doi.org/10.1007/978-981-32-9151-5_6)
- Calderwood, A., & Kopriva, S. (2014). Hydrogen sulfide in plants: From dissipation of excess sulfur to signaling molecule. *Nitric Oxide*, 41, 72–78. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2014.02.005>
- Capaldi, F. R., Gratão, P. L., Reis, A. R., Lima, L. W., & Azevedo, R. A. (2015). Sulfur metabolism and stress defense responses in plants. *Tropical Plant Biology*, 8(3–4), 60–73. <https://doi.org/10.1007/s12042-015-9152-1>
- Cassel, D. K., & Nielsen, D. R. (2018). Field capacity and available water capacity. *Methods of Soil Analysis: Part 1 Physical and Mineralogical Methods*, 9, 901–926. <https://doi.org/10.2136/sssabookser5.1.2ed.c36>
- Cheeseman, J. M. (2013). The integration of activity in saline environments: problems and perspectives. *Functional Plant Biology*, 40(9), 759-774. <https://doi.org/10.1071/FP12285>
- Chen, J., Shang, Y.-T., Wang, W.-H., Chen, X.-Y., He, E.-M., Zheng, H.-L., & Shangguan, Z. (2016). Hydrogen sulfide-mediated polyamines and sugar changes are involved in hydrogen sulfide-induced drought tolerance in *Spinacia oleracea* seedlings. *Frontiers in Plant Science*, 7(1173), 1–18. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01173>

- Chen, K., & Arora, R. (2013). Priming memory invokes seed stress-tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 94, 33–45. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.03.005>
- Chen, T., Tian, M., & Han, Y. (2020). Hydrogen sulfide: a multi-tasking signal molecule in the regulation of oxidative stress responses. *Journal of Experimental Botany*, 71(10), 2862–2869. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa093>
- Christou, A., Manganaris, G. A., Papadopoulou, I., & Fotopoulos, V. (2013). Hydrogen sulfide induces systemic tolerance to salinity and non-ionic osmotic stress in strawberry plants through modification of reactive species biosynthesis and transcriptional regulation of multiple defence pathways. *Journal of Experimental Botany*, 64(7), 1953–1966. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert055>
- Connor, D. J., & Hall, A. J. (1997). Sunflower physiology. *Sunflower technology and production*, 35, 113–182.
- Corpas, F. J. (2019). Hydrogen sulfide: a new warrior against abiotic stress. *Trends in Plant Science*, 24(11), 983–988. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2019.08.003>
- Corpas, F. J., & Palma, J. M. (2020). H<sub>2</sub>S signaling in plants and applications in agriculture. *Journal of Advanced Research*, 24, 131–137. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2020.03.011>
- De Leonardis, A. M., Petrarulo, M., De Vita, P., & Mastrangelo, A. M. (2012). Genetic and molecular aspects of plant response to drought in annual crop species. In M. Giuseppe & B. Dichio (Eds.), *Advances in Selected Plant Physiology Aspects* (pp. 45–74). InTech. <https://doi.org/10.5772/31352>
- Delauney, A. J., & Verma, D. P. S. (1993). Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *The Plant Journal*, 4(2), 215–223.
- Dhanda, S. S., Sethi, G. S., & Behl, R. K. (2004). Indices of drought tolerance in wheat genotypes at early stages of plant growth. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 190(1), 6–12. <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2004.00592.x>
- Ding, H., Han, Q., Ma, D., Hou, J., Huang, X., Wang, C., & Guo, T. (2018). Characterizing physiological and proteomic analysis of the action of H<sub>2</sub>S to mitigate drought stress in young seedling of wheat. *Plant Molecular Biology Reporter*, 36, 45–57. <https://doi.org/10.1007/s11105-017-1055-x>
- Dolphin, D., Poulson, R., & Avramović, O. (1989). Glutathione: chemical, biochemical and medical aspects. In D. Dolphin, R. Poulson, & O. Avramovic (Eds.), *Cell Biochemistry and Function* (p. Part A and B). Wiley-Interscience.
- Dooley, F. D., Nair, S. P., & Ward, P. D. (2013). Increased growth and germination success in plants following hydrogen sulfide administration. *Public Library of Science One*, 8(4), e62048. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062048>



- Draganić, I., & Lekić, S. (2012). Seed priming with antioxidants improves sunflower seed germination and seedling growth under unfavorable germination conditions. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 36(4), 421–428. <https://doi.org/10.3906/tar-1110-16>
- Dubravec, K. D., & Regula, I. (1995). *Fiziologija bilja*. Školska knjiga. pp. 1-244.
- Duh, P.-D., Du, P.-C., & Yen, G.-C. (1999). Action of methanolic extract of mung bean hulls as inhibitors of lipid peroxidation and non-lipid oxidative damage. *Food and Chemical Toxicology*, 37(11), 1055–1061. [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(99\)00096-4](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(99)00096-4)
- El Midaoui, M., Serieys, H., Griveau, Y., Benbella, M., Talouizte, A., Bervillé, A., & Kaan, F. (2003). Effects of osmotic and water stresses on root and shoot morphology and seed yield in sunflower (*Helianthus annuus* L.) genotypes bred for Morocco or issued from introgression with *H. argophyllus* T. & G. and *H. debilis* Nutt. *Helia*, 26(38), 1–15. <https://doi.org/10.2298/HEL0338001M>
- Fahad, S., Bajwa, A. A., Nazir, U., Anjum, S. A., Farooq, A., Zohaib, A., Sadia, S., Nasim, W., Adkins, S., Saud, S., Ihsan, M. Z., Alharby, H., Wu, C., Wang, D., & Huang, J. (2017). Crop production under drought and heat stress: plant responses and management options. *Frontiers in Plant Science*, 8(1147), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01147>
- Farooq, M., Hussain, M., Wahid, A., & Siddique, K. H. M. (2012). Drought stress in plants: an overview. In Ricardo Aroca (Ed.), *Plant responses to drought stress*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 1–33.
- Farooq, M., Usman, M., Nadeem, F., Rehman, H. U., Wahid, A., Basra, S. M. A., & Siddique, K. H. M. (2019). Seed priming in field crops: potential benefits, adoption and challenges. *Crop and Pasture Science*, 70(9), 731–771. <https://doi.org/10.1071/CP18604>
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., & Basra, S. M. A. (2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*, 29(1), 185–212. <https://doi.org/10.1051/agro:2008021>
- Fotopoulos, V., Christou, A., & Manganaris, G. (2013). Hydrogen sulfide as a potent regulator of plant responses to abiotic stress factors. *Molecular Approaches in Plant Abiotic Stress*, 353–373. <https://doi.org/10.1201/b15538-22>
- Fulda, S., Mikkat, S., Stegmann, H., & Horn, R. (2011). Physiology and proteomics of drought stress acclimation in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Plant Biology*, 13(4), 632–642. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2010.00426.x>
- Ghobadi, M., Taherabadi, S., Ghobadi, M.-E., Mohammadi, G.-R., & Jalali-Honarmand, S. (2013). Antioxidant capacity, photosynthetic characteristics and water relations of sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivars in response to drought stress. *Industrial Crops and Products*, 50, 29–38. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.07.009>
- Gill, P. K., Sharma, A. D., Singh, P., & Bhullar, S. S. (2002). Osmotic stress-induced

changes in germination, growth and soluble sugar content of *Sorghum bicolor* (L.) Moench seeds. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 28(3-4), 12-25.

Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(12), 909-930. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>

Hancock, J. T. (2019). Hydrogen sulfide and environmental stresses. *Environmental and Experimental Botany*, 161, 50–56. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.08.034>

Hancock, J. T., Lisjak, M., Teklic, T., Wilson, I. D., & Whiteman, M. (2011). Hydrogen sulphide and signalling in plants. In *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, 6, pp. 1–7. <https://doi.org/10.1079/PAVSNNR20110012>

Heath, R. L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125(1), 189–198. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0003986168906541>

Hossain, M. A., & Asada, K. (1984). Purification of dehydroascorbate reductase from spinach and its characterization as a thiol enzyme. *Plant and Cell Physiology*, 25(1), 85–92. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076700>

Huang, D., Huo, J., & Liao, W. (2021). Hydrogen sulfide: Roles in plant abiotic stress response and crosstalk with other signals. *Plant Science*, 302, 110733. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110733>

Hussain, M., Farooq, S., Hasan, W., Ul-Allah, S., Tanveer, M., Farooq, M., & Nawaz, A. (2018). Drought stress in sunflower: Physiological effects and its management through breeding and agronomic alternatives. *Agricultural Water Management*, 201, 152–166. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2018.01.028>

Hussain, S., Saleem, M. F., Iqbal, J., Ibrahim, M., Ahmad, M., Nadeem, S. M., Ali, A., & Atta, S. (2015). Abscisic acid mediated biochemical changes in sunflower (*Helianthus annuus* L.) grown under drought and well-watered field conditions. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 25(2), 406–416.

Hussain, S., Saleem, M. F., Iqbal, J., Ibrahim, M., Atta, S., Ahmed, T., & Rehmani, M. I. A. (2014). Exogenous application of abscisic acid may improve the growth and yield of sunflower hybrids under drought. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 51(1), 49–58.

Ilyas, M., Nisar, M., Khan, N., Hazrat, A., Khan, A. H., Hayat, K., Fahad, S., Khan, A., & Ullah, A. (2020). Drought tolerance strategies in plants: a mechanistic approach. *Journal of Plant Growth Regulation*, 1–19. <https://doi.org/10.1007/s00344-020-10174-5>

Iqbal, N., & Ashraf, M. Y. (2006). Does seed treatment with glycinebetaine improve germination rate and seedling growth of sunflower (*Helianthus annuus* L.) under osmotic stress. *Pakistan Journal of Botany*, 38(5), 1641-1648.

ISTA - International Seed Testing Association (2015). ISTA rules full issue. International Rules for Seed Testing, 1–276. <https://doi.org/10.15258/istarules.2015.f>

IUSS Working Group WRB. 2022. World Reference Base for Soil Resources. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. 4th edition. International Union of Soil Sciences (IUSS), Vienna, Austria, pp. 1-128.

Jacobs, M., Angenon, G., Hermans, C., Thu, T. T., & Roosens, N. H. (2003). Proline accumulation and  $\Delta$ 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase gene properties in three rice cultivars differing in salinity and drought tolerance. *Plant Science*, 165(5), 1059-1068. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(03\)00301-7](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(03)00301-7)

Jin, Z., & Pei, Y. (2016). Hydrogen sulfide: the shutter button of stomata in plants. *Science China Life Sciences*, 59(11), 1187–1188. <https://doi.org/10.1007/s11427-016-0265-3>

Jin, Z., Shen, J., Qiao, Z., Yang, G., Wang, R., & Pei, Y. (2011). Hydrogen sulfide improves drought resistance in *Arabidopsis thaliana*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 414(3), 481–486. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.09.090>

Jin, Z., Xue, S., Luo, Y., Tian, B., Fang, H., Li, H., & Pei, Y. (2013). Hydrogen sulfide interacting with abscisic acid in stomatal regulation responses to drought stress in *Arabidopsis*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 62, 41–46. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.10.017>

Jisha, K. C., Vijayakumari, K., & Puthur, J. T. (2013). Seed priming for abiotic stress tolerance: an overview. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(5), 1381–1396. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-1186-5>

Kaya, M. D., Okçu, G., Atak, M., Çıkılı, Y., & Kolsarıcı, Ö. (2006). Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *European Journal of Agronomy*, 24(4), 291–295. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2005.08.001>

Kaya, Y., Jovic, S., & Miladinovic, D. (2012). Sunflower. *Technological Innovations in Major World Oil Crops, Volume 1: Breeding*, 85-129. [https://doi.org/10.1007/978-1-4614-0356-2\\_4](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-0356-2_4)

Khalil, F., Rauf, S., Monneveux, P., Anwar, S., & Iqbal, Z. (2016). Genetic analysis of proline concentration under osmotic stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Breeding Science*, 66(4), 463–470. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.15068>

Khan, M. N., Mobin, M., Abbas, Z. K., & Siddiqui, M. H. (2017). Nitric oxide-induced synthesis of hydrogen sulfide alleviates osmotic stress in wheat seedlings through sustaining antioxidant enzymes, osmolyte accumulation and cysteine homeostasis. *Nitric Oxide*, 68, 91–102. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2017.01.001>

- Kolupaev, Y. E., Firsova, E. N., Yastreb, T. O., Ryabchun, N. I., & Kirichenko, V. V. (2019). Effect of hydrogen sulfide donor on antioxidant state of wheat plants and their resistance to soil drought. *Russian Journal of Plant Physiology*, 66(1), 59–66. <https://doi.org/10.1134/S1021443719010084>
- Krizmanić, G., Šimić, B., Tucak, M., Popović, S., Čupić, T., Španić, V., Mijić, A., & Liović, I. (2014). Importance of storage conditions and seed treatment for sunflower hybrids seeds germination. *Poljoprivreda (Agriculture)*, 20(2), 3-7. Available at: [https://hrcak.srce.hr/index.php?show=clanak&id\\_clanak\\_jezik=194248&lang=en](https://hrcak.srce.hr/index.php?show=clanak&id_clanak_jezik=194248&lang=en)
- Lazcano-Ferrat, I., & Lovatt, C. J. (1999). Relationship between relative water content, nitrogen pools, and growth of *Phaseolus vulgaris* L. and *P. acutifolius* A. Gray during water deficit. *Crop Science*, 39(2), 467-475. <https://doi.org/10.2135/cropsci1999.0011183X0039000200028x>
- Lenzi, A., Fambrini, M., Barotti, S., Pugliesi, C., & Vernieri, P. (1995). Seed germination and seedling growth in a wilted mutant of sunflower (*Helianthus annuus* L.): effect of abscisic acid and osmotic potential. *Environmental and Experimental Botany*, 35(4), 427-434. [https://doi.org/10.1016/0098-8472\(95\)00033-X](https://doi.org/10.1016/0098-8472(95)00033-X)
- Li, H., Gao, M. Q., Xue, R. L., Wang, D., & Zhao, H. J. (2015). Effect of hydrogen sulfide on D1 protein in wheat under drought stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37(225), 1–9. <https://doi.org/10.1007/s11738-015-1975-8>
- Li, H., Li, M., Wei, X., Zhang, X., Xue, R., Zhao, Y., & Zhao, H. (2017). Transcriptome analysis of drought-responsive genes regulated by hydrogen sulfide in wheat (*Triticum aestivum* L.) leaves. *Molecular Genetics and Genomics*, 292(5), 1091–1110. <https://doi.org/10.1007/s00438-017-1330-4>
- Li, Z. G., Ding, X. J., & Du, P. F. (2013). Hydrogen sulfide donor sodium hydrosulfide-improved heat tolerance in maize and involvement of proline. *Journal of Plant Physiology*, 170(8), 741-747. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2012.12.018>
- Li, Z. G., Gong, M., & Liu, P. (2012). Hydrogen sulfide is a mediator in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced seed germination in *Jatropha Curcas*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 34, 2207-2213. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-1021-z>
- Li, Z.-G., Min, X., & Zhou, Z.-H. (2016). Hydrogen sulfide: a signal molecule in plant cross-adaptation. *Frontiers in Plant Science*, 7(1621), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01621>
- Lichtenthaler, H. K. (1996). Vegetation stress: an introduction to the stress concept in plants. *Journal of plant physiology*, 148(1-2), 4-14. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(96\)80287-2](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(96)80287-2)
- Lisjak, M., Srivastava, N., Teklic, T., Civale, L., Lewandowski, K., Wilson, I., Wood, M. E. & Hancock, J. T. (2010). A novel hydrogen sulfide donor causes stomatal opening and reduces nitric oxide accumulation. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(12), 931-935. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.09.016>

- Lisjak, M., Teklic, T., Wilson, I. D., Whiteman, M., & Hancock, J. T. (2013). Hydrogen sulfide: environmental factor or signalling molecule? *Plant, Cell & Environment*, 36(9), 1607–1616. <https://doi.org/10.1111/pce.12073>
- Lisjak, M., Teklic, T., Wilson, I. D., Wood, M. E., Whiteman, M., & Hancock, J. T. (2011). Hydrogen sulfide effects on stomatal apertures. *Plant Signaling and Behavior*, 6(10), 1444–1446. <https://doi.org/10.4161/psb.6.10.17104>
- Liu, X., Quan, W., & Bartels, D. (2022). Stress memory responses and seed priming correlate with drought tolerance in plants: An overview. *Planta*, 255(45), 1-14. <https://doi.org/10.1007/s00425-022-03828-z>
- Ma, D., Ding, H., Wang, C., Qin, H., Han, Q., Hou, J., Lu, H., Xie, Y., & Guo, T. (2016). Alleviation of drought stress by hydrogen sulfide is partially related to the abscisic acid signaling pathway in wheat. *Public Library of Science One*, 11(9), 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0163082>
- Mahpara, S., Bashir, Muhammad Amjad Kamaran, S., Irfanullah, M., Salman, S., Khan, F. U., Shah, Z., Amanullah, & Shahnawaz, M. (2019). Genetic response of diverse sunflower genotypes in contrasting moisture regimes for various physiological and growth parameters at early developmental stage. *Pure and Applied Biology*, 8(1), 820–837. <https://doi.org/10.19045/bspab.2019.80024>
- Markulj Kulundžić, A., Kovačević, J., Viljevac Vuletić, M., Josipović, A., Liović, I., Mijić, A., Lepeduš, H., & Matoša Kočar, M. (2016). Impact of abiotic stress on photosynthetic efficiency and leaf temperature in sunflower. *Poljoprivreda (Agriculture)*, 22(2), 17–22. <https://doi.org/10.18047/poljo.22.2.3>
- McDonald, M.B. (2000): Seed priming. In: *Seed Technology and Biological Basic*. Sheffield Academic Press, England 9, 287-325.
- Mittler, R., Zandalinas, S. I., Fichman, Y., & Van Breusegem, F. (2022). Reactive oxygen species signalling in plant stress responses. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 23(10), 663-679. <https://doi.org/10.1038/s41580-022-00499-2>
- Mohammed, E. M., Mohamed, B., & Talouizete, A. (2002). Effect of sodium chloride on sunflower (*Helianthus annuus* L.) seed germination. *Helia*, 25(37), 51-58. <https://doi.org/10.2298/hel0237051m>
- Mukherjee, S. P., & Choudhuri, M. A. (1983). Implications of water stress-induced changes in the levels of endogenous ascorbic acid and hydrogen peroxide in Vigna seedlings. *Physiologia Plantarum*, 58(2), 166–170. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1983.tb04162.x>
- Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22(5), 867–880. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232>

- Palma, J. M., Mateos, R. M., López-Jaramillo, J., Rodríguez-Ruiz, M., González-Gordo, S., Lechuga-Sancho, A. M., & Corpas, F. J. (2020). Plant catalases as NO and H<sub>2</sub>S targets. *Redox Biology*, 34(101525), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101525>
- Pandey, A. K., & Gautam, A. (2020). Stress responsive gene regulation in relation to hydrogen sulfide in plants under abiotic stress. *Physiologia Plantarum*, 168(2), 511–525. <https://doi.org/10.1111/ppl.13064>
- Paul, S., & Roychoudhury, A. (2019). Regulation of physiological aspects in plants by hydrogen sulfide and nitric oxide under challenging environment. *Physiologia Plantarum*, 168(2), ppl.13021. <https://doi.org/10.1111/ppl.13021>
- Premachandra, G. S., Hahn, D. T., Rhodes, D., & Joly, R. J. (1995). Leaf water relations and solute accumulation in two grain sorghum lines exhibiting contrasting drought tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 46(12), 1833-1841. <https://doi.org/10.1093/jxb/46.12.1833>
- Priya, P., Patil, M., Pandey, P., Singh, A., Babu, V. S., & Senthil-Kumar, M. (2023). Stress combinations and their interactions in plants database: a one-stop resource on combined stress responses in plants. *The Plant Journal*, 116(4), 1097-1117. <https://doi.org/10.1111/tpj.16497>
- Putt, E. D. (1978). History and present world status. *Sunflower science and technology*, 19, 1-29.
- Quartacci, M. F., & Navari-Izzo, F. (1992). Water stress and free radical mediated changes in sunflower seedlings. *Journal of Plant Physiology*, 139(5), 621–625. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)80381-0](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)80381-0)
- Rasheed, R. (2009). Salinity and extreme temperature effects on sprouting buds of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.): Some histological and biochemical studies. Doctoral dissertation, University of agriculture, Faisalabad Pakistan, pp. 1-164.
- Raza, A., Tabassum, J., Mubarik, M. S., Anwar, S., Zahra, N., Sharif, Y., & Chen, H. (2022). Hydrogen sulfide: an emerging component against abiotic stress in plants. *Plant Biology*, 24(4), 540-558.
- Rhaman, M. S., Imran, S., Rauf, F., Khatun, M., Baskin, C. C., Murata, Y., & Hasanuzzaman, M. (2020). Seed priming with phytohormones: An effective approach for the mitigation of abiotic stress. *Plants*, 10(1), 1-17. <https://doi.org/10.3390/plants10010037>
- Sadeghian, S. Y., & Yavari, N. (2004). Effect of water-deficit stress on germination and early seedling growth in sugar beet. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 190(2), 138-144. <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2004.00087.x>
- Sajjan, A. S., Badanur, V. P., & Sajjanar, G. M. (1999). Effect of external water potential on seed germination, seedling growth and vigor index in some genotypes of sunflower. In: S.A. Faroda, N.L. Joshi, S. Kathju and A. Kar. (Editors), *Proceedings of Symposium*

Recent Advances in Management of Arid Ecosystem, pp. 215-218.

Sarvari, M., Darvishzadeh, R., & Najafzadeh, R. (2017). Morphological and molecular responses of sunflower (*Helianthus annuus* L.) lines to drought stress. *Iranian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 5(1), 40–56.

SAS Institute Inc. (2003). SAS for windows 9.1.3. SAS Institute Inc. Cary, NC, USA.

Savvides, A., Ali, S., Tester, M., & Fotopoulos, V. (2016). Chemical priming of plants against multiple abiotic stresses: mission possible? *Trends in Plant Science*, 21(4), 329–340. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2015.11.003>

Sehar, Z., Gautam, H., Iqbal, N., Alvi, A. F., Jahan, B., Fatma, M., & Khan, N. A. (2022). The functional interplay between ethylene, hydrogen sulfide, and sulfur in plant heat stress tolerance. *Biomolecules*, 12(5), 678. <https://doi.org/10.3390/biom12050678>

Seiler, G., & Gulya Jr, T. (2016). Sunflower. Book Chapter, pp. 247-253. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-394437-5.00027-9>

Sen, A., & Puthur, J. T. (2020). Seed priming-induced physiochemical and molecular events in plants coupled to abiotic stress tolerance: an overview. Priming-mediated stress and cross-stress tolerance in crop plants, 303-316. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817892-8.00018-0>

Sgherri, C. L. M., & Navari-Izzo, F. (1995). Sunflower seedlings subjected to increasing water deficit stress: oxidative stress and defence mechanisms. *Physiologia Plantarum*, 93(1), 25–30. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1995.930105.x>

Shan, C., Zhang, S., & Zhou, Y. (2017). Hydrogen sulfide is involved in the regulation of ascorbate-glutathione cycle by exogenous ABA in wheat seedling leaves under osmotic stress. *Cereal Research Communications*, 45(3), 411–420. <https://doi.org/10.1556/0806.45.2017.021>

Shan, Chang-juan, Zhang, S., Li, D., Zhao, Y., Tian, X., Zhao, X., Wu, Y., Wei, X., & Liu, R. (2011). Effects of exogenous hydrogen sulfide on the ascorbate and glutathione metabolism in wheat seedlings leaves under water stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33(6), 2533–2540. <https://doi.org/10.1007/s11738-011-0746-4>

Sharma, P., Meyyazhagan, A., Easwaran, M., Sharma, M. M. M., Mehta, S., Pandey, V., & Chelliapan, S. (2022). Hydrogen Sulfide: A new warrior in assisting seed germination during adverse environmental conditions. *Plant Growth Regulation*, 98(3), 401-420. <https://doi.org/10.1007/s10725-022-00887-w>

Shi, H., Ye, T., & Chan, Z. (2013). Exogenous application of hydrogen sulfide donor sodium hydrosulfide enhanced multiple abiotic stress tolerance in bermudagrass (*Cynodon dactylon* (L). Pers.). *Plant Physiology and Biochemistry*, 71, 226–234. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.07.021>

Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K., & Seki, M. (2003). Regulatory network of gene expression in the drought and cold stress responses. *Current Opinion in Plant Biology*,

6(5), 410-417. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(03\)00092-X](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(03)00092-X)

Singh, S., Kumar, V., Kapoor, D., Kumar, S., Singh, S., Dhanjal, D. S., Datta, S., Samuel, J., Dey, P., Wang, S., Prasad, R., & Singh, J. (2020). Revealing on hydrogen sulfide and nitric oxide signals co-ordination for plant growth under stress conditions. *Physiologia Plantarum*, 168(2), 301–317. <https://doi.org/10.1111/ppl.13002>

Smok, M. A., Chojnowski, M., Corbineau, F., & Côme, D. (1993). Effects of osmotic treatment on sunflower seed germination in relation with temperature and oxygen. *Basic and Applied Aspects of Seed Biology*, 3, 1033-1038.

Sundaresan, S., & Sudhakaran, P. R. (1995). Water stress-induced alterations in the proline metabolism of drought-susceptible and-tolerant cassava (*Manihot esculenta*) cultivars. *Physiologia Plantarum*, 94(4), 635-642. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1995.tb00978.x>

Škorić D., Vrebalov T., Čupina T., Turkulov J., Marinković R., Maširević S., Atlagić J., Tadić L., Sekulić R., Stanojević D., Kovačević M., Jančić V. & Sakač Z. (1989). *Suncokret (Monografija)*, Nolit, 613 str.

Škorić, D. (1992). Achievements and future directions of sunflower breeding. *Field Crops Research*, 30(3-4), 231-270. [https://doi.org/10.1016/0378-4290\(92\)90003-R](https://doi.org/10.1016/0378-4290(92)90003-R)

Tančić-Živanov, S., Dedić, B., Cvejić, S., Jocić, S., & Miklič, V. (2021). Sunflower genotypes tolerance to charcoal rot (*Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid.) under the field conditions. *Genetika-Belgrade*, 53(3), 1117-1131. [10.2298/GENSR2103117T](https://doi.org/10.2298/GENSR2103117T)

Tanou, G., Fotopoulos, V., & Molassiotis, A. (2012). Priming against environmental challenges and proteomics in plants: Update and agricultural perspectives. *Frontiers in Plant Science*, 3(216), 1–5. <https://doi.org/10.3389/fpls.2012.00216>

Thakur, M., & Anand, A. (2021). Hydrogen sulfide: An emerging signaling molecule regulating drought stress response in plants. *Physiologia Plantarum*, 172(2), 1227-1243. <https://doi.org/10.1111/ppl.13432>

Usha Rani, K., Sharma, K. L., Nagasri, K., Srinivas, K., Vishnu Murthy, T., Maruthi Shankar, G. R., & Kusuma Grace, J. (2009). Response of sunflower to sources and levels of sulfur under rainfed semi-arid tropical conditions. *Communications in soil science and plant analysis*, 40(17-18), 2926-2944. <https://doi.org/10.1080/00103620903175389>

Vassilevska-Ivanova, R., Shtereva, L., Kraptchev, B., & Karceva, T. (2014). Response of sunflower (*Helianthus annuus* L.) genotypes to PEG-mediated water stress. *Central European Journal of Biology*, 9(12), 1206–1214. <https://doi.org/10.2478/s11535-014-0355-5>

Yeremenko, O. A., Kalytka, V. V., Kalenska, S. M., & Malkina, V. M. (2018). Assessment of ecological plasticity and stability of sunflower hybrids (*Helianthus annuus* L.) in Ukrainian Steppe. *Ukrainian Journal of Ecology*, 8(1), 289-296.



- Younis, A. A., & Mansour, M. M. F. (2023). Hydrogen sulfide priming enhanced salinity tolerance in sunflower by modulating ion hemostasis, cellular redox balance, and gene expression. *BMC Plant Biology*, 23(1), 525. <https://doi.org/10.1186/s12870-023-04552-w>
- Wang, W., Liu, H., Lu, Y., Wang, X., Zhang, B., Cong, S., Zhao, Y., Ji, M., Tao, H., & Wei, L. (2019). Controlled-releasing hydrogen sulfide donor based on dual-modal iron oxide nanoparticles protects myocardial tissue from ischemia– reperfusion injury. *International Journal of Nanomedicine*, 14, 875–888. <https://doi.org/10.2147/IJN.S186225>
- Wang, W., Vinocur, B., & Altman, A. (2003). Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta*, 218, 1-14. <https://doi.org/10.1007/s00425-003-1105-5>
- Woodstock, L. W. (1988). Seed imbibition: a critical period for successful germination. *Journal of Seed Technology*, 1-15. <http://www.jstor.org/stable/23432691>.
- Xiong, L., Schumaker, K. S., & Zhu, J. K. (2002). Cell signaling during cold, drought, and salt stress. *The Plant Cell*, 14(1), 165-183. <https://doi.org/10.1105/tpc.000596>
- Xuan, L., Li, J., Wang, X., & Wang, C. (2020). Crosstalk between hydrogen sulfide and other signal molecules regulates plant growth and development. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(13), 4593. <https://doi.org/10.3390/ijms21134593>
- Zhang, H., Hu, L. Y., Hu, K. D., He, Y. D., Wang, S. H., & Luo, J. P. (2008). Hydrogen sulfide promotes wheat seed germination and alleviates oxidative damage against copper stress. *Journal of Integrative Plant Biology*, 50(12), 1518-1529. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2008.00769.x>
- Zhang, H., Jiao, H., Jiang, C.-X., Wang, S.-H., Wei, Z.-J., Luo, J.-P., & Jones, R. L. (2010). Hydrogen sulfide protects soybean seedlings against drought-induced oxidative stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 32(5), 849–857. <https://doi.org/10.1007/s11738-010-0469-y>
- Zhang, J., & Kirkham, M. B. (1996). Lipid peroxidation in sorghum and sunflower seedlings as affected by ascorbic acid, benzoic acid, and propyl gallate. *Journal of Plant Physiology*, 149(5), 489-493. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(96\)80323-3](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(96)80323-3)
- Zhang, H., Wang, M. J., Hu, L. Y., Wang, S. H., Hu, K. D., Bao, L. J., & Luo, J. P. (2010). Hydrogen sulfide promotes wheat seed germination under osmotic stress. *Russian Journal of Plant Physiology*, 57, 532-539. <https://doi.org/10.1134/S1021443710040114>
- Zhang, H., Ye, Y. K., Wang, S. H., Luo, J. P., Tang, J., & Ma, D. F. (2009). Hydrogen sulfide counteracts chlorophyll loss in sweetpotato seedling leaves and alleviates oxidative damage against osmotic stress. *Plant Growth Regulation*, 58, 243–250. <https://doi.org/10.1007/s10725-009-9372-1>

Zhang, H., Zhao, Y., & Zhu, J. K. (2020). Thriving under stress: how plants balance growth and the stress response. *Developmental Cell*, 55(5), 529-543. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2020.10.012>

Zhu, J. K. (2002). Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 53(1), 247-273. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.53.091401.14332>

Zulfiqar, F., & Hancock, J. T. (2020). Hydrogen sulfide in horticulture: Emerging roles in the era of climate change. *Plant Physiology and Biochemistry*, 155, 667–675. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.08.010>

## 8. POPIS TABLICA

str.

- Tablica 1.** Značajnost utjecaja osmoprimiranja sjemena (Bez primiranja; H<sub>2</sub>O; 100 μM NaHS; 500 μM NaHS; 1000 μM NaHS; 1500 μM NaHS) i osmotskog stresa u klijanju (H<sub>2</sub>O; 2,5 % PEG; 5 % PEG; 10 % PEG) te njihovih interakcija na energiju klijanja (EK), standardnu klijavost (SK), nenormalne klijance (NK), mrtvo sjeme (MS) (%) i masu klijanaca (MK) (g) kod hibrida Luka..... 19
- Tablica 2.** Značajnost utjecaja osmoprimiranja (Bez primiranja; H<sub>2</sub>O; 100 μM NaHS; 500 μM NaHS; 1000 μM NaHS; 1500 μM NaHS) i osmotskog stresa u klijanju (H<sub>2</sub>O; 2,5 % PEG; 5 % PEG; 10 % PEG) te njihovih interakcija na razinu lipidne peroksidacije (MDA) (nM g<sup>-1</sup> sv.t.<sup>-1</sup>), sadržaj vodikovog peroksida (HP) (nM g<sup>-1</sup> sv.t.) i prolina (PRO) (μM g<sup>-1</sup> sv.t.), u hipokotilima klijanaca hibrida Luka..... 21
- Tablica 3.** Značajnost utjecaja osmotskog stresa u klijanju (H<sub>2</sub>O; 2,5 % PEG; 5 % PEG; 10 % PEG) na energiju klijanja (EK), standardnu klijavost (SK), nenormalne klijance (NK), mrtvo sjeme (MS) (%) i masu klijanaca (MK) (g) po varijantama osmoprimiranja sjemena (Bez primiranja; H<sub>2</sub>O; 100 μM NaHS; 500 μM NaHS; 1000 μM NaHS; 1500 μM NaHS) kod hibrida Luka..... 22
- Tablica 4.** Značajnost utjecaja osmotskog stresa u klijanju (H<sub>2</sub>O; 2,5 % PEG; 5 % PEG; 10 % PEG) na razinu lipidne peroksidacije (MDA) (nM g<sup>-1</sup> sv.t.), sadržaj vodikovog peroksida (HP) (nM g<sup>-1</sup> sv.t.) i prolina (PRO) (μM g<sup>-1</sup> sv.t.), u hipokotilima klijanaca hibrida Luka, po varijantama osmoprimiranja sjemena (Bez primiranja; H<sub>2</sub>O; 100 μM NaHS; 500 μM NaHS; 1000 μM NaHS; 1500 μM NaHS)..... 25
- Tablica 5.** Značajnost utjecaja osmoprimiranja sjemena (Bez primiranja; H<sub>2</sub>O; 100 μM NaHS; 500 μM NaHS; 1000 μM NaHS; 1500 μM NaHS) na energiju klijanja (EK), standardnu klijavost (SK), nenormalne klijance (NK), mrtvo sjeme (MS) (%) i masu klijanaca (MK) (g), po varijantama osmotskog stresa u klijanju (H<sub>2</sub>O; 2,5 % PEG; 5 % PEG; 10 % PEG) kod hibrida Luka..... 27
- Tablica 6.** Značajnost utjecaja osmoprimiranja sjemena (Bez primiranja; H<sub>2</sub>O; 100 μM NaHS; 500 μM NaHS; 1000 μM NaHS; 1500 μM NaHS) na razinu lipidne peroksidacije (MDA) (nM g<sup>-1</sup> sv.t.), sadržaj vodikovog peroksida (HP) (nM g<sup>-1</sup> sv.t.) i prolina (PRO) (μM g<sup>-1</sup> sv.t.), u hipokotilima klijanaca hibrida Luka, po varijantama osmotskog stresa u klijanju (H<sub>2</sub>O; 2,5 % PEG; 5 % PEG; 10 % PEG)..... 30

<b>Tablica 7.</b> Značajnost utjecaja osmoprimiranja sjemena (Bez primiranja; H <sub>2</sub> O; 100 μM NaHS; 500 μM NaHS; 1000 μM NaHS; 1500 μM NaHS) i osmotskog stresa u klijanju (H <sub>2</sub> O; 2,5 % PEG; 5 % PEG; 10 % PEG) te njihovih interakcija na energiju klijanja (EK), standardnu klijavost (SK), nenormalne klijance (NK), mrtvo sjeme (MS) (%) i masu klijanaca (MK) (g) kod hibrida Apolon.....	32
<b>Tablica 8.</b> Značajnost utjecaja osmoprimiranja sjemena (Bez primiranja; H <sub>2</sub> O; 100 μM NaHS; 500 μM NaHS; 1000 μM NaHS; 1500 μM NaHS) i osmotskog stresa u klijanju (H <sub>2</sub> O; 2,5 % PEG; 5 % PEG; 10 % PEG) te njihovih interakcija na razinu lipidne peroksidacije (MDA) (nM g <sup>-1</sup> sv.t.), sadržaj vodikovog peroksida (HP) (nM g <sup>-1</sup> sv.t.) i prolina (PRO) (μM g <sup>-1</sup> sv.t.), u hipokotilima klijanaca hibrida Apolon.....	34
<b>Tablica 9.</b> Značajnost utjecaja osmotskog stresa u klijanju (H <sub>2</sub> O; 2,5 % PEG; 5 % PEG; 10 % PEG) na energiju klijanja (EK), standardnu klijavost (SK), nenormalne klijance (NK), mrtvo sjeme (MS) (%) i masu klijanaca (MK) (g) po varijantama osmoprimiranja sjemena (Bez primiranja; H <sub>2</sub> O; 100 μM NaHS; 500 μM NaHS; 1000 μM NaHS; 1500 μM NaHS) kod hibrida Apolon.....	35
<b>Tablica 10.</b> Značajnost utjecaja osmotskog stresa u klijanju (H <sub>2</sub> O; 2,5 % PEG; 5 % PEG; 10 % PEG) na razinu lipidne peroksidacije (MDA) (nM g <sup>-1</sup> sv.t.), sadržaj vodikovog peroksida (HP) (nM g <sup>-1</sup> sv.t.) i prolina (PRO) (μM g <sup>-1</sup> sv.t.), u hipokotilima klijanaca hibrida Apolon, po varijantama osmoprimiranja sjemena (Bez primiranja; H <sub>2</sub> O; 100 μM NaHS; 500 μM NaHS; 1000 μM NaHS; 1500 μM NaHS).....	38
<b>Tablica 11.</b> Značajnost utjecaja osmoprimiranja sjemena (Bez primiranja; H <sub>2</sub> O; 100 μM NaHS; 500 μM NaHS; 1000 μM NaHS; 1500 μM NaHS) na energiju klijanja (EK), standardnu klijavost (SK), nenormalne klijance (NK), mrtvo sjeme (MS) (%) i masu klijanaca (MK) (g), po varijantama osmotskog stresa u klijanju (H <sub>2</sub> O; 2,5 % PEG; 5 % PEG; 10 % PEG) kod hibrida Apolon.....	40
<b>Tablica 12.</b> Značajnost utjecaja osmoprimiranja sjemena (Bez primiranja; H <sub>2</sub> O; 100 μM NaHS; 500 μM NaHS; 1000 μM NaHS; 1500 μM NaHS) na razinu lipidne peroksidacije (MDA) (nM g <sup>-1</sup> sv.t.), sadržaj vodikovog peroksida (HP) (nM g <sup>-1</sup> sv.t.) i prolina (PRO) (μM g <sup>-1</sup> sv.t.), u hipokotilima klijanaca hibrida Apolon, po varijantama osmotskog stresa u klijanju (H <sub>2</sub> O; 2,5 % PEG; 5 % PEG; 10 % PEG).....	42

<b>Tablica 13.</b> Utjecaj varijante sjemena suncokreta, osmoprimiranja, sušnog stresa i njihovih interakcija, na poljsku klijavost suncokreta (PK) (%), masu nadzemnog dijela (MND) i listova (ML) (g).....	44
<b>Tablica 14.</b> Utjecaj varijante sjemena suncokreta, sušnog stresa i njihove interakcije na poljsku klijavost (PK) (%), masu nadzemnog dijela (MND) i listova (ML) (g), po varijantama osmoprimiranja.....	46
<b>Tablica 15.</b> Utjecaj varijante sjemena suncokreta, osmoprimiranja i njihove interakcije na poljsku klijavost (PK) (%), masu nadzemnog dijela (MND) i listova (ML) (g), po varijantama sušnog stresa.....	47
<b>Tablica 16.</b> Utjecaj osmoprimiranja, sušnog stresa i njihove interakcije na poljsku klijavost (PK) (%), masu nadzemnog dijela (MND) i listova (ML) (g), po varijantama sjemena suncokreta.....	49
<b>Tablica 17.</b> Utjecaj varijante sjemena suncokreta na poljsku klijavost (PK) (%), masu nadzemnog dijela (MND) i listova (ML) (g) kod neprimiranog sjemena uzgajanog pri PVK i 30 % PVK.....	50
<b>Tablica 18.</b> Utjecaj varijante sjemena suncokreta na poljsku klijavost (PK) (%), masu nadzemnog dijela (MND) i listova (ML) (g) kod sjemena primiranog vodom i uzgajanog pri PVK i 30 % PVK.....	51
<b>Tablica 19.</b> Utjecaj varijante sjemena suncokreta na poljsku klijavost (PK) (%), masu nadzemnog dijela (MND) i listova (ML) (g) kod sjemena primiranog s 500 $\mu$ M NaHS i uzgajanog pri PVK i 30 % PVK.....	52
<b>Tablica 20.</b> Utjecaj varijante sjemena suncokreta na poljsku klijavost (PK) (%), masu nadzemnog dijela (MND) i listova (ML) (g) kod sjemena primiranog s 1000 $\mu$ M NaHS i uzgajanog pri PVK i 30 % PVK.....	52
<b>Tablica 21.</b> Utjecaj sušnog stresa na poljsku klijavost (PK) (%), masu nadzemnog dijela (MND) i listova (ML) (g), kod hibrida suncokreta Luka te njegove majčinske i očinske linije, uzgojenih iz neprimiranog sjemena.....	53
<b>Tablica 22.</b> Utjecaj sušnog stresa na poljsku klijavost (PK) (%), masu nadzemnog dijela (MND) i listova (ML) (g), kod hibrida suncokreta Luka te njegove majčinske i očinske linije, uzgojenih iz sjemena primiranog s vodom.....	54
<b>Tablica 23.</b> Utjecaj sušnog stresa na poljsku klijavost (PK) (%), masu nadzemnog dijela (MND) i listova (ML) (g), kod hibrida suncokreta Luka te njegove majčinske i očinske linije, uzgojenih iz sjemena primiranog s 500 $\mu$ M NaHS.....	54

<b>Tablica 24.</b> Utjecaj sušnog stresa na poljsku klijavost (PK) (%), masu nadzemnog dijela (MND) i listova (ML) (g), kod hibrida suncokreta Luka te njegove majčinske i očinske linije, uzgojenih iz sjemena primiranog s 1000 $\mu\text{M}$ NaHS.....	55
<b>Tablica 25.</b> Utjecaj osmoprimiranja sjemena na poljsku klijavost (PK) (%), masu nadzemnog dijela (MND) i listova (ML) (g), kod hibrida suncokreta Luka, uzgajanog pri PVK i 30 % PVK.....	56
<b>Tablica 26.</b> Utjecaj osmoprimiranja sjemena na poljsku klijavost suncokreta (PK) (%), masu nadzemnog dijela (MND) i listova (ML) (g), kod majčinske linije hibrida suncokreta Luka, uzgajane pri PVK i 30 % PVK.....	56
<b>Tablica 27.</b> Utjecaj osmoprimiranja sjemena na poljsku klijavost (PK) (%), masu nadzemnog dijela (MND) i listova (ML) (g), kod očinske linije hibrida suncokreta Luka, uzgajane pri PVK i 30 % PVK.....	57
<b>Tablica 28.</b> Ukupna aktivnost enzima katalaze (CATu), askorbat-peroksidaze (APXu), glutathion-reduktaze (GRu) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu) ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$ sv.t.) u nadzemnom dijelu klijanaca suncokreta uzgajanih pri PVK, pod utjecajem tretmana osmoprimiranja i varijante sjemena.....	58
<b>Tablica 29.</b> Specifična aktivnost enzima katalaze (CATs), askorbat-peroksidaze (APXs), glutathion-reduktaze (GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARs) ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ prot.) u nadzemnom dijelu klijanaca suncokreta uzgajanih pri PVK, pod utjecajem tretmana osmoprimiranja i varijante sjemena.....	59
<b>Tablica 30.</b> Ukupna aktivnost enzima katalaze (CATu), askorbat-peroksidaze (APXu), glutathion-reduktaze (GRu) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu) ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$ sv.t.) u nadzemnom dijelu klijanaca suncokreta uzgajanih pri 30 % PVK, pod utjecajem tretmana osmoprimiranja i varijante sjemena.....	60
<b>Tablica 31.</b> Specifična aktivnost enzima katalaze (CATs), askorbat-peroksidaze (APXs), glutathion-reduktaze (GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARs) ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ prot.) u nadzemnom dijelu klijanaca suncokreta uzgajanih pri 30 % PVK, pod utjecajem tretmana osmoprimiranja i varijante sjemena.....	61
<b>Tablica 32.</b> Ukupna aktivnost enzima katalaze (CATu), askorbat-peroksidaze (APXu), glutathion-reduktaze (GRu) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu) ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$ sv.t.) u nadzemnom dijelu klijanaca hibrida Luka, pod utjecajem tretmana osmoprimiranja i sušnog stresa.....	62
<b>Tablica 33.</b> Specifična aktivnost enzima katalaze (CATs), askorbat-peroksidaze (APXs), glutathion-reduktaze (GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARs) ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ prot.) u nadzemnom dijelu klijanaca hibrida Luka, pod utjecajem tretmana osmoprimiranja i sušnog stresa.....	63

- Tablica 34.** Ukupna aktivnost enzima katalaze (CATu), askorbat-peroksidaze (APXu), glutation-reduktaze (GRu) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu) ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$  sv.t.) u nadzemnom dijelu klijanaca majčinske linije hibrida Luka, pod utjecajem tretmana osmoprimiranja i sušnog stresa..... 64
- Tablica 35.** Specifična aktivnost enzima katalaze (CATs), askorbat-peroksidaze (APXs), glutation-reduktaze (GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARs) ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  prot.) u nadzemnom dijelu klijanaca majčinske linije hibrida Luka, pod utjecajem tretmana osmoprimiranja i sušnog stresa..... 65
- Tablica 36.** Ukupna aktivnost enzima katalaze (CATu), askorbat-peroksidaze (APXu), glutation-reduktaze (GRu) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu) ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$  sv.t.) u nadzemnom dijelu klijanaca očinske linije hibrida Luka, pod utjecajem tretmana osmoprimiranja i sušnog stresa..... 66
- Tablica 37.** Specifična aktivnost enzima katalaze (CATs), askorbat-peroksidaze (APXs), glutation-reduktaze (GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARs) ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  prot.) u nadzemnom dijelu klijanaca očinske linije hibrida Luka, pod utjecajem tretmana osmoprimiranja i sušnog stresa..... 66
- Tablica 38.** Ukupna ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$  sv.t.) i specifična ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  prot.) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca uzgojenih iz neprimiranog sjemena, pod utjecajem sušnog stresa i varijante sjemena..... 68
- Tablica 39.** Ukupna ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$  sv.t.) i specifična ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  prot.) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca uzgojenih iz sjemena primiranog vodom, pod utjecajem sušnog stresa i varijante sjemena..... 69
- Tablica 40.** Ukupna ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$  sv.t.) i specifična ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  prot.) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca uzgojenih iz sjemena primiranog s  $500 \mu\text{M NaHS}$ , pod utjecajem sušnog stresa i varijante sjemena..... 71
- Tablica 41.** Ukupna ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$  sv.t.) i specifična ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  prot.) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca uzgojenih iz sjemena primiranog s  $1000 \mu\text{M NaHS}$ , pod utjecajem sušnog stresa i varijante sjemena..... 72

- Tablica 42.** Utjecaj varijante primiranja na ukupnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$  sv.t.) i specifičnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  prot.) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca hibrida Luka uzgajanog pri PVK..... 73
- Tablica 43.** Utjecaj varijante primiranja na ukupnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$  sv.t.) i specifičnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  prot.) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca hibrida Luka uzgajanog pri 30 % PVK..... 74
- Tablica 44.** Utjecaj varijante primiranja na ukupnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$  sv.t.) i specifičnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  prot.) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca majčinske linije hibrida Luka, uzgajane pri PVK..... 75
- Tablica 45.** Utjecaj varijante primiranja na ukupnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$  sv.t.) i specifičnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  prot.) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca majčinske linije hibrida Luka, uzgajane pri 30 % PVK..... 76
- Tablica 46.** Utjecaj varijante primiranja na ukupnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$  sv.t.) i specifičnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  prot.) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca očinske linije hibrida Luka, uzgajane pri PVK..... 77
- Tablica 47.** Utjecaj varijante primiranja na ukupnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$  sv.t.) i specifičnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  prot.) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca očinske linije hibrida Luka, uzgajane pri 30 % PVK..... 78
- Tablica 48.** Utjecaj varijante naklijavanja na ukupnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$  sv.t.) i specifičnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  prot.) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca hibrida Luka, uzgojenih iz neprimiranog sjemena..... 79



- Tablica 49.** Utjecaj varijante naklijavanja na ukupnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ) i specifičnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca majčinske linije hibrida Luka, uzgojenih iz neprimiranog sjemena..... 79
- Tablica 50.** Utjecaj varijante naklijavanja na ukupnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ) i specifičnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca očinske linije hibrida Luka, uzgojenih iz neprimiranog sjemena..... 80
- Tablica 51.** Utjecaj varijante naklijavanja na ukupnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ) i specifičnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca hibrida Luka, uzgojenih iz sjemena primiranog u vodi..... 81
- Tablica 52.** Utjecaj varijante naklijavanja na ukupnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ) i specifičnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca majčinske linije hibrida Luka uzgojenih iz sjemena primiranog u vodi..... 81
- Tablica 53.** Utjecaj varijante naklijavanja na ukupnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ) i specifičnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca očinske linije hibrida Luka uzgojenih iz sjemena primiranog u vodi..... 82
- Tablica 54.** Utjecaj varijante naklijavanja na ukupnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ) i specifičnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca hibrida Luka, uzgojenih iz sjemena primiranog s  $500 \mu\text{M NaHS}$ ..... 83
- Tablica 55.** Utjecaj varijante naklijavanja na ukupnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ) i specifičnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca majčinske linije hibrida Luka, uzgojenih iz sjemena primiranog s  $500 \mu\text{M NaHS}$ ... 83

**Tablica 56.** Utjecaj varijante naklijavanja na ukupnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ) i specifičnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca očinske linije hibrida Luka, uzgojenih iz sjemena primiranog s  $500 \mu\text{M NaHS}$ ..... 84

**Tablica 57.** Utjecaj varijante naklijavanja na ukupnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ) i specifičnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca hibrida Luka, uzgojenih iz sjemena primiranog s  $1000 \mu\text{M NaHS}$ ..... 85

**Tablica 58.** Utjecaj varijante naklijavanja na ukupnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ) i specifičnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca majčinske linije hibrida Luka, uzgojenih iz sjemena primiranog s  $1000 \mu\text{M NaHS}$ ..... 86

**Tablica 59.** Utjecaj varijante naklijavanja na ukupnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sv.t.}$ ) i specifičnu ( $\mu\text{M min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot.}$ ) aktivnost enzima katalaze (CATu; CATs), askorbat-peroksidaze (APXu; APXs), glutation-reduktaze (GRu; GRs) i dehidroaskorbat-reduktaze (DHARu; DHARs) u nadzemnom dijelu klijanaca očinske linije hibrida Luka, uzgojenih iz sjemena primiranog s  $1000 \mu\text{M NaHS}$ .... 86

## 9. POPIS GRAFIKONA

str.

- Grafikon 1.** Minimalne i maksimalne temperature (°C) te relativna vlaga zraka (%) u plasteniku tijekom poljskog pokusa, od 26.5.2015. do 10.6.2015..... 15
- Grafikon 2.** Učinak primiranja sjemena i razine sušnog stresa na sadržaj vodikovog peroksida (HP) u klijancima suncokreta hibrida Luka; stupci predstavljaju 6 varijanti primiranja sjemena za 4 razine sušnog stresa; x,y,z – razlike između razina stresa za istu varijantu primiranja; a,b,c – razlike između varijanti primiranja za istu razinu stresa, prema LSD testu  $p \leq 0,05$ ..... 91
- Grafikon 3.** Učinak primiranja sjemena i razine sušnog stresa na razinu lipidne peroksidacije (MDA) u klijancima suncokreta hibrida Luka; stupci predstavljaju 6 varijanti primiranja sjemena za 4 razine sušnog stresa; x,y,z – razlike između razina stresa za istu varijantu primiranja; a,b,c – razlike između varijanti primiranja za istu razinu stresa, prema LSD testu  $p \leq 0,05$ ..... 93
- Grafikon 4.** Učinak primiranja sjemena i razine sušnog stresa na akumulaciju slobodnog prolina (PRO) u klijancima suncokreta hibrida Luka; stupci predstavljaju 6 varijanti primiranja sjemena za 4 razine sušnog stresa; x,y,z – razlike između razina stresa za istu varijantu primiranja; a,b,c – razlike između varijanti primiranja za istu razinu stresa, prema LSD testu  $p \leq 0,05$ ..... 94

## 10. ŽIVOTOPIS

Dijana Ocvirk je rođena 3. rujna 1977. godine u Osijeku. Osnovnu školu kao i Opću (I.) gimnaziju je završila u Osijeku.

Nakon završenog srednjoškolskog obrazovanja 1996. godine je upisala Poljoprivredni fakultet Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku. Tijekom studija dodijeljena joj je državna stipendija za nadarene studente Ministarstva znanosti i tehnologije. Kao apsolventica Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku primila je Rektorovu nagradu kao znak javnog priznanja za izniman uspjeh na studiju u akademskoj 2000./2001. godini. Diplomirala je 2003. godine na temu „Analiza proizvodnje šećerne repe na Darda d.o.o., RJ Brestovac u 2000. i 2001. godini, pod mentorstvom prof. dr. sc. Mande Antunović.

Na Poljoprivrednom fakultetu Sveučilišta u Osijeku je završila poslijediplomski znanstveni studij „Sjemenarstvo ratarskih kultura“ te 8. srpnja 2011. godine obranila magistarski rad pod naslovom „Utjecaj genotipa, frakcije i starosti sjemena kukuruza na korelacije između konduktiviteta i drugih pokazatelja vigora sjemena“, pod mentorstvom prof. dr. sc. Tihane Teklić, te je stekla akademski stupanj magistar znanosti.

Od 2001. godine do danas zaposlena je u Odjelu Laboratorij za ispitivanje sjemena, Centra za sjemenarstvo i rasadničarstvo, Hrvatske agencije za poljoprivredu i hranu.

Prošla je obuku za ispitivanje sjemena u Landwirtschaftliches Technologiezentrum, Karlsruhe, Njemačka te je sudjelovala na ISTA radionici "Water activity measurement applied to seed testing" u Montargis & Nogent sur Vernisson, Francuska. U Hrvatskoj agenciji za poljoprivredu i hranu, Centru za sjemenarstvo i rasadničarstvo, je završila obuku za analitičara kao i obuku za uzorkivača sjemena poljoprivrednog bilja te je upisana u Upisnik uzorkivača sjemena.

Udana je i majka dvoje djece.