

**UTJECAJ PREDTRETMANA MAGNETNIM POLJEM
NA KLIJAVOST SJEMENA BIJELE DJETELINE
(*Trifolium repens* L.)**

**INFLUENCE OF MAGNETIC FIELD PRETREATMENT ON
GERMINATION OF WHITE CLOVER SEEDS (*Trifolium repens* L.)**

**S. Bačić, Gordana Bukvić, Sonja Grljušić, Larisa Bertić,
Lara Ergović, G. Herman**

SAŽETAK

Istraživanje je provedeno u laboratorijskim uvjetima naklijavanjem kultivara sjemena bijele djeteline (*Trifolium repens* L.) u klima komori uz prethodno tretiranje sjemena magnetskim poljem. Predtretman sjemena stacioniranim magnetskim poljem od 250 mT proveden je na dva kultivara bijele djeteline, Apolo i Merlyn. Sjeme je bilo izloženo neodimijskom magnetu različitom vremenu trajanja: kontrola (bez tretmana), 5 min., 30 min. i 60 min. Ispitivanje svojstava sjemena provedeno je u klima komori po pravilima ISTA. Određena su svojstva energija kljanja i klijavost sjemena, dužina korijena i stabljike te izračunata ukupna dužina kljanaca. Vrijeme izloženosti magnetskom polju (MP) značajno je utjecalo na dužinu korijena ($p<0,01$) i ukupnu dužinu kljanaca ($p<0,05$). Između kultivara dobivene su značajne razlike za energiju kljanja i klijavost sjemena ($p<0,01$), dužinu stabljike i ukupnu dužinu kljanaca ($p<0,05$). Kultivari su različito reagirali na vrijeme izloženosti magnetskom polju te su dobivene značajne interakcije između tretmana MP i kultivara za sva ispitivana svojstva osim za dužinu stabljike kljanaca.

Ključne riječi: magnetsko polje, bijela djetelina, klijavost sjemena

ABSTRACT

The study was carried out under laboratory conditions by germinating cultivars of white clover (*Trifolium repens* L.) in a climate chamber with pretreatment of the seeds with a magnetic field. The pretreatment of the seeds with a stationary magnetic field of 250 mT was carried out on two white clover varieties, Apolo and Merlyn. The seeds were exposed to a neodymium magnet for different times: control (no treatment), 5 minutes, 30 minutes and

60 minutes. Seed properties was tested in a climate chamber according to ISTA rules. The properties of germination energy and seed germination, root and stem length and total seedling length were calculated. The time of exposure to the magnetic field (MF) significantly influenced root length ($p<0.01$) and total seedling length ($p<0.05$). Significant differences between cultivars were found for germination energy and seed germination ($p<0.01$), stem length and total seedling length ($p<0.05$). Cultivars responded differently to the time of magnetic field exposure and significant interactions were found between MF treatment and cultivars for all tested traits except seedling stem length.

Key words: magnetic field, white clover, seed germination

UVOD

Bijela djetelina (*Trifolium repens* L.) je najraširenija krmna mahunarka zastupljena u pašnjačkim smjesama prvenstveno zbog visokog udjela bjelančevina u nadzemnoj masi (Stødkilde, 2018.). Međutim, u prva tri mjeseca vegetacije vrlo sporo raste pa često biva potisnuta od drugih vrsta u pašnjačkim smjesama ili potpuno nestaje (Brock i Hay, 2001.) čime se umanjuje kvaliteta krme.

Zbog plitko razvijenog korijenskog sustava ova krmna kultura osjetljiva je na sušu (Xiao-Qing i sur., 2017.) a upravo je suša sve učestalija posljedica klimatskih promjena (Hopkins i Del Prado, 2007.).

Jedan od primarnih čimbenika za produkciju biomase je klijavost sjemena (Tuan i sur., 2019.). Sjeme bijele djeteline i u uvjetima optimalne temperature $10 - 25^{\circ}\text{C}$ ima nisku klijavost (Chu i sur., 2022.) zbog tvrde ovojnica sjemena. Smanjenje dormantnosti sjemena može se postići primjenom različitih kemijskih i fizikalnih predsjetvenih tretmana (Uzun i Aydin, 2004.) a primjena magnetskog polja (MP) predstavlja jednostavnu, jeftinu i ekološki prihvatljivu opciju.

Istraživanja su pokazala da primjena MP kod biljaka utječe na povećanje klijavosti sjemena, razvoj klijanaca i povećanje prinosa različitih poljoprivrednih kultura kao što su žitarice, industrijsko i krmno bilje, začinsko, ljekovito i ukrasno bilje, voće i povrće (Nyakane i sur., 2019.).

Također, u uvjetima abiotskog stresa (suša, salinitet tla, kontaminacija tla teškim metalima) MP ublažava učinke stresa povećanjem sadržaja antioksidansa i smanjenjem oksidativnog stresa u biljkama (Radhakrishnan, 2019.).

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi utjecaj predtretmana sjemena MP 250 mT tijekom različitog vremena izloženosti, na svojstva sjemena i klijanaca dva kultivara bijele djeteline.

MATERIJAL I METODE

Pokus je proveden u kontroliranim laboratorijskim uvjetima.

Tretiranje sjemena kultivara provedeno je postavljanjem sjemena u središte neodomijskog magneta jakosti 250 mT, te je izloženo ovisno o vremenu predtretmana 5, 30 i 60 min. Po isteku vremena predtretmana, 100 sjemenki u 4 ponavljanja za svaki kultivar, kontrolu i predtretman naklijavano je na prethodno navlaženom filter papiru. Test klijavosti sjemena proveden je u klima komori, pri 20 °C sukladno ISTA pravilima za sjeme bijele djeteline, četvrti dan utvrđena je energija klijanja sjemena, a deseti klijavost sjemena te mjerena dužina korijena i stabljične klijanace a zbrajanjem njihovih dužina dobivena je ukupna dužina klijanaca.

Određena su svojstva sjemena, energija klijanja i klijavost, čije su vrijednosti izražene u %. Dužina korijena i stabljične klijanace utvrđena je mjeranjem, a ukupna dužina klijanaca dobivena je zbrajanjem dužine korijena i stabljične klijanace u cm.

Statistička obrada podataka provedena je pomoću programa SAS Software-a 9.4. (ANOVA), značajnosti istraživanih svojstava testirani su LSD testom ($p<0,05$, $p<0,01$).

REZULTATI

U projektu za kultivare, tretmani MP nisu utjecali na energiju klijanja sjemena bijele djeteline (Tablica 1.). Međutim, u projektu za tretmane MP, kultivar Merlyn imao je veću vrijednost za energiju klijanja od kultivara Apola ($p<0,01$). Dobivena je značajna interakcija tretmana MP i kultivara ($p<0,01$). Apolo je imao najnižu vrijednost kod kontrole. Iako je najveća vrijednost energije klijanja kod ovog kultivara bila pri predtretmanu MP od 60 min., razlike prema vremenu ostalih predtretmana nisu bile značajne.

Klijavost sjemena kultivara bijele djeteline kretala se od 80 do 97 % (Tablica 1.). U projektu za kultivare nisu dobivene razlike između tretmana. Kao i kod energije klijanja, tako i kod klijavosti sjemena prosjek kultivara

Merlyn bio je veći od Apola ($p<0,01$). Također, između tretmana MP i kultivara dobivena je značajna interakcija ($p<0,01$). Kod kultivara Apolo je najniža klijavost utvrđena na kontroli, a značajno veća kod predtretmana MP u trajanju od 60 min. Kod kultivara Merlyn vrijednosti za klijavost između kontrole i predtretmana MP nisu se razlikovale.

Tablica 1. Utjecaj različitog vremena predtretmana MP 250 mT na svojstva sjemena kultivara bijele djeteline

Table 1 Effect of different time of pretreatment with MF 250 mT on seed properties of white clover cultivars

Tretman (A) Treatment (A)	Kultivar (B) / Cultivar (B)		Prosjek (A) Average (A)
	Apolo	Merlyn	
Energija klijanja (%) Germination energy (%)			
Kontrola / Control	78,5	96,5	87,5
5 min.	82	97,5	90
30 min.	82	96	89
60 min.	86	94	90
Prosjek (B) / Average (B)	82	96	89
LSD _{0,05} (A) = n.s.	LSD _{0,05} (B) = 2,50	LSD _{0,05} (AB) = 4,33	
LSD _{0,01} (A) = n.s.	LSD _{0,01} (B) = 3,36	LSD _{0,01} (AB) = 5,87	
Klijavost sjemena (%) Seed germination (%)			
Kontrola / Control	80	97	89
5 min.	83	95	89
30 min.	82	97	89,5
60 min.	87,5	96	92
Prosjek (B) / Average (B)	83	96	90
LSD _{0,05} (A) = n.s.	LSD _{0,05} (B) = 2,28	LSD _{0,05} (AB) = 3,96	
LSD _{0,01} (A) = n.s.	LSD _{0,01} (B) = 3,07	LSD _{0,01} (AB) = 5,36	

Dužina korijena klijanaca kultivara bijele djeteline kretala se od 0,58 do 0,81 cm (Tablica 2.). Prosječna vrijednost kultivara nije se značajno razlikovala. U prosjeku za kultivare dobivene su značajne razlike između tretmana magnetom kao i interakcija kultivara i tretmana magnetom ($p<0,01$). Najveća prosječna vrijednost za dužinu korijena dobivena je kod predtretmana 30 min., najmanja kod 60 min.

S. Bačić i sur.: Utjecaj predtretmana magnetnim poljem na klijavost sjemena bijele djeteline (*Trifolium repens* L.)

S obzirom na dužinu korijena kljianaca, kultivari su različito reagirali na tretmane MP. Kultivar Apolo imao je najveće vrijednosti kod kontrole i predtretmana u trajanju od 30 min., najmanju kod tretmana od 60 min. Kod kultivara Merlyn korijen je bio najduži kod predtretmana 30 min. odnosno 5 min, a najkraci kod kontrole i predtretmana od 60 min.

Tablica 2. Utjecaj različitog vremena predtretmana MP 250 mT na svojstva kljianaca kultivara bijele djeteline

Table 2 The influence of different pretreatment times with MF 250 mT on seedlings properties of white clover cultivars

Tretman (A) Treatment (A)	Kultivar (B) / Cultivar (B)		Prosjeck (A) Average (A)
	Apolo	Merlyn	
Dužina korijena kljianaca (cm) Seedling root length (cm)			
Kontrola / Control	0,72	0,66	0,69
5 min.	0,69	0,76	0,73
30 min.	0,74	0,81	0,77
60 min	0,58	0,61	0,59
Prosjeck (B) / Average (B)	0,68	0,71	0,70
LSD _{0,05} (A) = 0,06	LSD _{0,05} (B) = n.s.	LSD _{0,05} (AB) = 0,07	
LSD _{0,01} (A) = 0,08	LSD _{0,01} (B) = n.s.	LSD _{0,01} (AB) = 0,10	
Dužina stabljične kljianaca (cm) Seedling stem length (cm)			
Kontrola / Control	3,36	3,67	3,51
5 min.	3,54	3,79	3,67
30 min.	3,44	3,58	3,51
60 min	3,24	3,49	3,36
Prosjeck (B) / Average (B)	3,39	3,63	3,51
LSD _{0,05} (A) = n.s.	LSD _{0,05} (B) = 0,20	LSD _{0,05} (AB) = n.s.	
LSD _{0,01} (A) = n.s.	LSD _{0,01} (B) = n.s.	LSD _{0,01} (AB) = n.s.	
Ukupna dužina kljianaca (cm) Total seedlings length (cm)			
Kontrola / Control	4,08	4,33	4,21
5 min.	4,23	4,56	4,40
30 min.	4,18	4,39	4,28
60 min	3,82	4,10	3,96
Prosjeck (B) / Average (B)	4,08	4,35	4,21
LSD _{0,05} (A) = 0,31	LSD _{0,05} (B) = 0,22	LSD _{0,05} (AB) = 0,42	
LSD _{0,01} (A) = n.s.	LSD _{0,01} (B) = n.s.	LSD _{0,01} (AB) = n.s.	

Različiti predtretmani MP u prosjeku za kultivare nisu utjecali na dužinu stabiljike kljianaca sjemena bijele djeteline (Tablica 2.). Dobivena je značajna razlika između kultivara ($p<0,05$). Merlyn je imao veću vrijednost dužine stabiljike kljianaca od Apola.

Ukupna dužina kljianaca razlikovala se između tretmana MP ($p<0,05$). Dobivena je značajna razlika u prosjeku za vrijednosti kultivara kao i interakcija tretmana MP i kultivara ($p<0,05$). Najveća prosječna vrijednost za tretmane MP dobivena je kod predtretmana sjemena 5 min. i 30 min. Merlyn je imao duže kljiance od Apola.

Oba kultivara imala su najduže kljiance kod predtretmana MP 5 min. a razlike između ostalih predtretmana nisu bile značajne.

RASPRAVA

U ispitivanju utjecaja predtretmana sjemena statičkim MP na klijavost sjemena biljaka koriste se MP u velikom rasponu jakosti, od 10 mT do 250 mT i više (Ali i sur., 2014., Sarraf, 2020.), uz različito vrijeme trajanja predtretmana. Za povećanje klijavosti sjemena određene vrste predtretmanom važna je primjena pravilne kombinacije intenziteta MP-a i vremenske izloženosti (Nyakane i sur., 2019., i sur., 2020.)

U ovom istraživanju u prosjeku za kultivare MP nije utjecalo na vrijednosti energije kljianja i klijavost sjemena. Nasuprot dobivenim rezultatima, Florez i sur. (2007.) dobili su veće vrijednosti za klijavost sjemena kukuruza izloženog MP od 125 mT i 250 mT kod svih vremenskih tretmana MP (1, 10 i 20 min., te 60 min, 24h i kontinuirano). Međutim, istraživanja Almaghrabi i Elbeshehy (2012.), Şen i Alikamanoğlu (2016.) predtretmanom sjemena MP pokazala su na primjeru sjemena pšenice različito povećanje klijavosti sjemena ovisno o kultivaru. Bukhari i sur. (2021.) utvrdili su različiti učinak MP na klijavost sjemena i antioksidacijsku aktivnost kod tri hibridna suncokreta.

U ovom istraživanju kultivari su različito reagirali na vremensku izloženost sjemena i ispitivana svojstva. Kultivar Merlyin već je kod kontrolne varijante imao visoku energiju kljianja i klijavost sjemena te se ova svojstva nisu značajno mijenjala ovisno o vremenu trajanja tretmana. Međutim, kod kultivara Apolo najveća vrijednost za navedena svojstva dobivena je kod izloženosti sjemena MP tijekom 60 min.

Korijen i ukupna dužina kljianaca ispitivanih kultivara značajno su mijenjali vrijednost ovisno o vremenu izloženosti sjemena MP. Slično, u istraživanju predtretmana sjemena leće (*Lens culinaris Medik.*) MP 150 mT Aladjadjiyan (2010.) pri kraćem vremenu izloženosti sjemena MP (3, 6 i 9 min.) utvrđeno je statistički značajno povećanje vrijednosti dužine korijena i stabljike u odnosu na kljance uzgojene na kontroli i pri dužem vremenu izloženosti (12 min.). Kod predtretmana sjemena graška MP od 125mT i 250 mT tijekom 1, 10, i 20 min, te 60 min, 24 sata i kontinuirano Carbonell i sur. (2011.) dobili su najveće vrijednosti za dužinu stabljike i ukupnu dužinu kljianaca pri jakosti MP od 250 mT tijekom 24 sata trajanja predtretmana i kontinuirane primjene MP.

Utjecaj MP na kljanje i rast biljaka aktualna je tema istraživanja pri čemu se utjecaj MP pokušava objasniti s više aspekata. Radhakrishnan (2019.) navodi da se primjenom MP ubrzava kljanje sjemena, vegetativni i reproduktivni rast biljaka zbog povećanja energije i njezine raspodjele na biomolekule u stanici. Zbog poboljšanog unosa vode i hranjivih tvari, fotosinteze, metabolizma ugljikohidrata, bjelančevina i enzima dolazi do povećanog rasta i prinosa biljaka.

Samani i sur. (2013.) temeljem dobivenih rezultata istraživanja navode da bi veća aktivnost enzima (α -amilaze, dehidrogenaze, proteaze) u sjemenkama kima tretiranim MP mogla potaknuti brzo kljanje. Kataria i sur. (2017.) predtretmanom sjemena soje i kukuruza također su dobili povećanu aktivnost α -amilaze i proteaze u sjemenu tretiranom MP.

ZAKLJUČAK

Temeljem dobivenih rezultata istraživanja utjecaja predtretmana sjemena dva kultivara bijele djeteline magnetskim poljem jakosti 250 mT pri različitom vremenu izloženosti može se zaključiti:

U prosjeku za kultivare, dužina izloženosti MP značajno je utjecala je na dužinu korijena i ukupnu dužinu kljianaca. Između kultivara dobivene su značajne razlike za energiju kljanja i klijavost sjemena, dužinu stabljike i ukupnu dužinu kljianaca. Značajne interakcije između tretmana MP i kultivara dobivene su za sva ispitivana svojstva osim za dužinu stabljike kljianaca.

Utjecaj predtretmana sjemena MP kod bijele djeteline, kao i ostalih sitnozrnih leguminoza, do sada barem prema dostupnim radovima, nije bio temom istraživanja drugih znanstvenika. S obzirom na nisku klijavost sjemena

bijele djeteline, njezin spori rast kao i osjetljivost na stresne uvjete suše, istraživanje utjecaja MP na ovim kultivarima dalo bi značajan doprinos njezinoj produkciji biomase. Stoga su potrebna dalja ispitivanja vezana za jakost i vrijeme izloženosti sjemena predtretmanu MP.

LITERATURA

1. Aladjadjiyan, A. (2010.): Influence of stationary magnetic field on lentil seeds. *Int. Agrophys.*, 24(3): 321-324.
2. Ali, Y., Samaneh, R., Kavakebian, F. (2014.): Applications of magnetic water technology in farming and agriculture development: A review of recent advances. *Current World Environment*, 9(3): 695-703.
<http://dx.doi.org/10.12944/CWE.9.3.18>
3. Almaghrabi, O. A., Elbeshehy, E. K. (2012.): Effect of weak electro magnetic field on grain germination and seedling growth of different wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Life Science Journal*, 9, 1615-1622.
4. Brock, J. L., Hay, M. J. M. (2001.): White clover performance in sown pastures: A biological/ecological perspective. In proceedings of the new Zealand Grassland association (pp. 73-83). <https://doi.org/10.33584/jnrg.2001.63.2434>
5. Bukhari, S. A., Tanveer, M., Mustafa, G., Zia-Ud-Den, N. (2021.): Magnetic field stimulation effect on germination and antioxidant activities of presown hybrid seeds of sunflower and its seedlings. *Journal of Food Quality*, 1-9.
<https://doi.org/10.1155/2021/5594183>
6. Carbonell, M. V., Florez, M., Martínez, E., Maqueda, R., Amaya, J. M. (2011.): Study of stationary magnetic fields on initial growth of pea (*Pisum sativum* L.) seeds. *Seed Science and Technology*, 39(3): 673-679.
DOI:10.1525/sst.2011.39.3.15
7. Chu, L., Gao, Y., Chen, L., McCullough, P. E., Jespersen, D., Sapkota, S., Bagavathiannan, M., Yu, J. (2022): Impact of Environmental Factors on Seed Germination and Seedling Emergence of White Clover (*Trifolium repens* L.). *Agronomy*, 12(1): 190. <https://doi.org/10.3390/agronomy12010190>
8. Florez, M., Carbonell, M. V., Martínez, E. (2007.): Exposure of maize seeds to stationary magnetic fields: Effects on germination and early growth. *Environmental and experimental botany*, 59(1): 68-75.
<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.10.006>
9. Hopkins, A., Del Prado, A. (2007.): Implications of climate change for grassland in Europe: impacts, adaptations and mitigation options: a review. *Grass and Forage Science*, 62(2): 118-126.

10. Kataria, S., Baghel, L., Guruprasad, K. N. (2017.): Pre-treatment of seeds with static magnetic field improves germination and early growth characteristics under salt stress in maize and soybean. Biocatalysis and agricultural biotechnology, 10: 83-90. <https://doi.org/10.15835/nbha45110709>
11. Nyakane, N. E., Markus, E. D., Sedibe, M. M. (2019.): The effects of magnetic fields on plants growth: a comprehensive review. International Journal of food engineering, 5(1): 79-87. doi: 10.18178/ijfe.5.1.79-87
12. Radhakrishnan, R. (2019.): Magnetic field regulates plant functions, growth and enhances tolerance against environmental stresses. Physiology and Molecular Biology of Plants, 25(5): 1107-1119. doi: 10.1007/s12298-019-00699-9
13. Samani, M. A., Pourakbar, L., Azimi, N. (2013.): Magnetic field effects on seed germination and activities of some enzymes in cumin. Life Science Journal, 10(1): 323-328.
14. Sarraf, M., Kataria, S., Taimourya, H., Santos, L. O., Menegatti, R. D., Jain, M., Ihtisham, M., Liu, S. (2020.): Magnetic field (MF) applications in plants: An overview. Plants, 9(9): 1139. doi: 10.3390/plants9091139
15. Şen, A. (2016.): Interactive effect of static magnetic field and abiotic stressors on growth and biochemical parameters of germinating wheat cultivars. European Journal of Biology, 75(1): 19-38.
16. Stødkilde, L., Damborg, V. K., Jørgensen, H., Lærke, H. N., Jensen, S. K. (2018.): White clover fractions as protein source for monogastrics: dry matter digestibility and protein digestibility-corrected amino acid scores. Journal of the Science of Food and Agriculture, 98(7): 2557-2563. DOI: 10.1002/jsfa.8744
17. Tuan, P. A., Sun, M., Nguyen, T. N., Park, S., Ayele, B. T. (2019.): Molecular mechanisms of seed germination. In Sprouted grains (pp. 1-24). AACCI International Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811525-1.00001-4>
18. Uzun, F., Aydin, I. (2004.): Improving germination rate of *Medicago* and *Trifolium* species. Asian Journal of Plant Sciences, 3(6): 714-717. DOI:10.3923/ajps.2004.714.717
19. Xiao-Qing, T. U. O., Li, H. E., Ying-Ning, Z. O. U. (2017.): Alleviation of drought stress in white clover after inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 45(1): 220-224.

Adresa autora - Author's address:

Saša Bačić, student

Prof. dr. sc. Gordana Bukvić

Larisa Bertić mag. ing. agr.

Lara Ergović mag. ing. agr.

Goran Herman mag. ing. agr.,

e-mail: gherman@fazos.hr

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Vladimira Preloga 1, 31000 Osijek, Hrvatska

Primljeno – received:

03.01.2024.

Prihvaćeno – accepted:

27.03.2024.

Dr. sc. Sonja Grlić

Poljoprivredni institut Osijek

Južno predgrađe 17, 31000 Osijek, Hrvatska