Utjecaj vodikovog peroksida na klijanje špinata i blitve

Bruno Domović, 7. razred
Adam Duž, 7. razred

Osnovna škola Đure Deželića Ivanić-Grad, Ivanić-Grad
Mentor: *Kaja Glavaš*

SAŽETAK

Vodikov peroksid (H_2O_2) je reaktivna molekula koja ima dvostruku ulogu: sudjeluje u fiziološkim i razvojnim procesima biljaka te u otpornosti sjemena na stres. Hoće li vodikov peroksid imati pozitivan ili negativan učinak na biološki sustav ovisi o njegovoj koncentraciji, fiziološkim uvjetima i specifičnostima procesa na koje utječe. Dokazano je da tretiranje sjemena otopinom vodikovog peroksida prije sjetve poboljšava kvalitetu sjemena što rezultira boljom klijavošću i većom energijom klijanja, a djelomično uklanja i učinke starenja sjemena. Cilj istraživanja jest utvrditi kako vodikov peroksid utječe na klijanje sjemena i rast klice špinata i blitve. U istraživanju je korišteno sjeme špinata i blitve koje je namakano u otopinama vodikovog peroksida koncentracije 0,15; 0,30; 0,45; 0,60 i 0,75 mol/dm^3 (M) te su rezultati uspoređeni s kontrolnom skupinom sjemena koje je namakano u vodi. Istraživanje je provedeno u kontroliranim uvjetima temperature, vode i svjetlosti. Sjemenke su nakon namakanja isprane destiliranom vodom i stavljene u Petrijeve zdjelice (na navlažene blazinice) te odložene na tamno mjesto. Svakodnevno su praćene promjene i nakon pojave klica počelo se s mjerenjem duljine klica. Zaključeno je da sjeme špinata i blitve koje je prethodno namakano u otopini vodikovog peroksida koncentracije 0,45 M; 0,60 M i 0,75 M klija bolje od sjemena koje je bilo namakano u običnoj vodi, sjeme namakano u 0,15 M otopini vodikovog peroksida pokazalo je slabiju klijavost, dok je klijavost sjemena namakanog u 0,30 M otopini slabija kod blitve ali bolja kod špinata.

Ključne riječi: *sjeme; tama; klijanje; kisik*

UVOD

Zeleno voće i povrće podiže imunitet te ima pozitivan učinak na normalno funkcioniranje žlijezda, poboljšava rad probavnog sustava te smanjuje upalne procese u organizmu (Rastija, 2021). Hipokrat je 430 godina prije nove ere poznatom rečenicom „Sve što hranom unosimo u organizam gradi nas i mijenja, a o tome što smo unijeli ovisi naša snaga, naše zdravlje i naš život“ postavio temelje značaja pravilne prehrane u životu čovjeka (Alibabić i Majić, 2016). Znanost potvrđuje da su nepravilna prehrana, opasnosti koje dolaze iz hrane te način života rizični faktori kroničnih nezaraznih oboljenja koja su uzroci preko 65 % smrtnosti u svijetu. Zelena hrana je oduvijek bila osnova prehrane čovjeka, no danas ljudi sve manje jedu hranu zelene boje te ju zamjenjuju hranom koja je prerađena, rafinirana i puna pesticida. Pojam zelene hrane se odnosi na hranu koja sadrži visoke koncentracije klorofila. Klorofil sudjeluje u izgradnji hemoglobina, ubrzava procese izbacivanja toksina iz krvi, crijeva i jetre te ima mogućnost vezanja teških metala i izbacivanja istih iz organizma. Osim toga, zelena hrana sadrži aminokiseline koje su potrebne za obnavljanje stanica, tkiva i organa (Rastija, 2021). Upravo spoznaja da unosom zelene hrane u svoj organizam možemo osigurati zdraviji život i spriječiti brojne bolesti motivirala nas je na ovo istraživanje. Željeli smo istražiti možemo li ubrzati klijanje špinata i blitve kako bi skratili vrijeme potrebno za uzgoj ovog lisnatog povrća što bi bilo korisno u poljoprivredi jer bi osiguralo bržu dostupnost špinata i blitve tijekom cijele godine. Saznali smo da je uzgoj špinata i blitve jednostavan, da oba povrća imaju visoku nutritivnu vrijednost i nisku energetsku vrijednost te se mogu kontinuirano brati u vrtu. Proučavanjem literature saznali smo da su obje vrste otporne na hladnoću i prilagođene hrvatskoj klimi te da su idealne za početnike u vrtlarstvu (Jurišić, 2024).

Autori zadržavaju autorska prava te časopisu daju pravo prvog objavljivanja rada u skladu s licencijom CC BY 4.0, koja dopušta drugima dijeljenje rada uz navođenje autorstva i izvornog mjesta objavljivanja rada u časopisu.

Kako bi biljke preživjele nepovoljne uvjete razvile su mehanizam koji usporava ili sprječava klijanje sjemena u nepovoljnim uvjetima, a to je mirovanje sjemena ili dormancija. Razlikujemo dvije vrste mirovanja sjemena: egzogeno (fizičko) mirovanje koje nastaje zbog fizičkih ograničenja koje uzrokuje sjemena ljuska i endogeno (fiziološko) mirovanje koje je povezano s fiziološkim uvjetima unutar samog embrija (Črmelik i Perica, 2007). Jedan od najvažnijih čimbenika za klijanje sjemena je voda jer proces klijanja počinje unosom vode u suho sjeme i završava pucanjem sjemene ljuske i pojavom klice. Klijanje započinje osiguravanjem povoljnih uvjeta okoline, te se može podijeliti u četiri faze (Benko, 2024):

- upijanje vode i bubrenje sjemena (sjeme je hidrofilno i voda koja se apsorbira kroz sjemenu ljusku difundira u sva tkiva sjemena);
- stvaranje ili aktiviranje enzima koji povećavaju aktivnost metabolizma (tijekom ovog perioda stanice embrija oblikuju vakuole, dolazi do mobilizacije rezervi hrane u sjemenu);
- izduživanje stanica klicinog korijenka i probijanje korijenka kroz sjemenu ljusku (u pravilu korijen izbija prije pucanja sjemene ljuske omogućujući mu da uspostavi vezu s vlažnim tlom);
- nastavak rasta klice i klijanca (rast je moguć zbog rezervi hrane koja se skladišti u tkivima i postupno se smanjuje kako se rezerve crpe).

Sjeme niske kvalitete često sporije klija, što čini klice osjetljivijima na nepovoljne klimatske uvjete, smanjuje ukupnu klijavost i uzrokuje nepravilan rast klica. Sjemenke koje imaju tvrde, debele sjemene ljuske koje fizički sprečavaju prodiranje vode ili kisika u sjemenku nazivaju se sjemenkama u stanju fizičkog mirovanja. Fizičko mirovanje može se prekinuti prirodno (upijanjem vode) ili umjetno (suhom toplinom, upijanjem vruće vode, kiseline ili drugih kemikalija koje mogu otvoriti sjemenu ljusku i omogućiti sjemenu da apsorbira vodu i kisik potreban za klijanje) (Bakotić, 2019). Jedan od načina prekida fizičkog mirovanja je i namakanje u otopini vodikovog peroksida. Prethodnim istraživanjima dokazalo se da otopina vodikovog peroksida ima utjecaja na klijanje sjemena, no točan mehanizam djelovanja još uvijek je nepoznat (Wojtyla i sur., 2021).

Pozitivni učinci korištenja vodikovog peroksida u vrtlarstvu (Local Gardener, 2024):

- Prekida mirovanje sjemena. Čvrsta sjemena ljuska može odgoditi klijanje. Vodikov peroksid omekšava sjemenu ljusku i omogućava vodi i kisiku da brže dođu do embrija, što aktivira rast.
- Bori se protiv patogena. Vodikov peroksid je prirodno dezinfekcijsko sredstvo koje ubija bakterije, gljivice i mikroorganizme koji mogu ometati klijanje sjemena ili oštetiti sadnice.
- Omogućava bolju opskrbu kisikom. Vodikov peroksid tijekom raspada oslobađa kisik te stvara okruženje bogato kisikom a to potiče brže i zdravije klijanje.
- Djeluje kao signalna molekula. Niske koncentracije vodikovog peroksida komuniciraju s mrežom hormona sjemena (apscizinska kiselina, giberelini, auksin, jasmonati i salicilna kiselina) te potiču prijelaz sjemena iz stanja mirovanja u aktivno klijanje.

Negativni učinci korištenja vodikovog peroksida u vrtlarstvu (Local Gardener, 2024):

- Oksidativna oštećenja stanica. Višak vodikovog peroksida stvara reaktivne vrste kisika (ROS) koje oštećuju staničnu membranu stanica, proteine i DNK.
- Inhibicija enzima. Visoki oksidativni stres inhibira enzime odgovorne za klijanje.
- Smanjena održivost sjemena.

Strategije za poboljšanje rasta i razvoja poljoprivrednih vrsta istražuju se već dugi niz godina. Ranija istraživanja dokazala su da vodikov peroksid može poboljšati klijanje sjemena kada se koriste otopine malih koncentracija (0,10 – 1 M) i kraće vrijeme namakanja (do 24 sata), dok veće koncentracije

otopina (> 1 M) ili duže vrijeme namakanja (više od 25 sati) djeluju fitotoksično na sjeme (Chu i sur., 2022). Katzman i sur. (2001) su utvrdili da sjeme špinata koje je bilo namakano 19 sati u 0,30 M otopini vodikovog peroksida klija brže od sjemena koje je bilo namakano u vodi. Prethodno namakanje sjemenki graška (24 sata) u otopini vodikovog peroksida potaknulo je klijanje sjemenki i snažniji rast sadnica graška što je u skladu sa signalnom ulogom vodikovog peroksida u ranom klijanju (Barba-Espín i sur., 2010). Sjemenke šećerne repe koje su namakane u 1 % otopini vodikovog peroksida sedam dana u tami imale su 70 % veću klijavost u odnosu na kontrolnu skupinu namakanu u vodi (Chu i sur., 2022). Također je uočena poboljšana klijavost i tolerancija na duboku sjetvu kod sjemenki pšenice koje su prethodno tretirane s vodikovim peroksidom (Centinel i sur., 2021).

Zrelo sjeme je prilično suho i treba velike količine vode. Potrebna količina vode ovisi o veličini sjemena i o njegovom kemijskom sastavu – sjeme koje posjeduje veći sadržaj bjelančevina upija više vode od sjemena koje sadrži veću količinu škroba. Apsorpcijom vode dolazi do aktiviranja hidrolitičkih enzima, razgrađuju se rezervne tvari u sjemenu što omogućava početni rast i razvoj embrija. U ovoj fazi povećava se intenzitet disanja, opaža se dioba stanica, sinteza proteina i nukleinskih kiselina. Temperatura također utječe na stanični metabolizam i brzinu rasta, djeluje na brzinu apsorpcije vode, brzinu difuzije respiratornih plinova i metaboličke reakcije u sjemenu. Većina sjemenki će proklijati na temperaturama od 16 do 24 °C, na niskim temperaturama klijavost je slaba. Neke sjemenke zahtijevaju prvotno izlaganje niskim temperaturama da se prekine mirovanje sjemena. Svjetlost kod nekih biljnih vrsta povoljno utječe na klijanje. Vrlo malo sjeme ima samo minimalne količine pohranjene za rani rast zametka te je za njih vrlo važno da što prije same proizvode hranu. Ako proklije duboko u tlu može doći do iscrpljivanja zaliha hrane prije nego biljka nikne iz tla. Svjetlo sprečava da se to dogodi i omogućava klijavost sjemena koje se nalazi blizu površine tla (Ishibashi i sur., 2008).

Špinat (*Spinacia oleracea* L.)

Jednogodišnja je zeljasta biljka podrijetlom iz zapadne Azije, a u Europi se prvi put spominje oko 1100 godine u Njemačkoj. Uzgaja se zbog listova, a više od trećine ukupne suhe tvari špinata čine bjelančevine koje sadrže sve esencijalne aminokiseline. Špinat je bogat mineralima, osobito željezom, fosforom i magnezijem, vitaminima B skupine te vitaminima C, E i K. Pospješuje izlučivanje vode iz organizma i tako olakšava rad srca i bubrega te snižava krvni tlak. Redovitom konzumacijom špinata smanjuje se rizik od raka jetre, mokraćnog mjehura, debelog crijeva, pluća, prostate, jajnika, mliječnih žlijezda, želuca, kože te raka dojke (Dragica, 2021). Dodatne prednosti konzumiranja špinata su i poboljšana funkcija mozga, regulirana razina šećera u krvi, pomoć u procesu mršavljenja i sprečavanje zatvora. Špinat najbrže raste pri temperaturi od 18 do 20 °C, dok je na temperaturama nižim od 10°C rast usporen. Niske temperature utječu na kvalitetu listova te su listovi sitniji, deblji i više naborani (Jurišić, 2024).

Blitva (*Beta vulgaris var cicla* L.)

Dvogodišnja je biljka koja u prvoj godini razvija dubok razgranat korijen, skraćenu stabljiku i rozetu lišća, a u drugoj razgranatu cvjetnu stabljiku, cvjetove i plodove. Uzgaja se zbog listova, bogata je vitaminima A, C i K te mineralima poput željeza i kalija. Pomaže u borbi protiv slabokrvnosti, prevenira šećernu bolest, štiti od osteoporoze, poboljšava probavu i štiti srce (Sedlak, 2023). Zbog velikih količina beta-karotena korisna je i za zdravlje očiju, prevenira Alzheimerovu bolest, povoljno utječe na zdravlje srca, pomaže pri mršavljenju i smanjuje rizik od raka (Rastija, 2021). Blitva je nezahtjevna, brzorastuća

i ekonomična biljka – što se listovi više beru, više novih raste. Otporna je i na blagi mraz. Minimalna temperatura klijanja je 5°C, a optimalna 16 do 24 °C (Jurišić, 2024).

Cilj ovog istraživanja jest utvrditi kako namakanje sjemenki u otopini vodikovog peroksida različitih koncentracija utječe na brzinu klijanja sjemenki i rast klice špinata i blitve.

Pretpostavke:

- sjemenke koje su namakane u otopini vodikovog peroksida koncentracije 0,15 M; 0,30 M i 0,45 M klijati će brže od sjemenki koje su namakane u vodi;
- sjemenke koje su namakane u otopini vodikovog peroksida koncentracije 0,60 M i 0,75 M klijati će sporije od sjemenki koje su namakane u vodi.

U istraživanju su praćene promjene varijabli:

- zavisna varijabla: brzina klijanja sjemena i duljina klice;
- nezavisna varijabla: sjeme špinata i blitve i koncentracija otopina vodikovog peroksida;
- kontrolirani uvjeti: temperatura, voda i svjetlost.

METODE RADA

Istraživanje utjecaja otopina vodikovog peroksida različitih koncentracija na brzinu klijanja sjemena i rasta klice špinata i blitve provedeno je u prosincu 2025. te siječnju i veljači 2026. godine (četiri ponavljanja kako bi rezultati bili točniji). Korišteni su sljedeći materijali: sjeme špinata i blitve (proizvođač: Green Garden, 6 x 15 sjemenki za obje vrste), otopina vodikovog peroksida (H_2O_2) koncentracije: 0,15 M; 0,30 M; 0,45 M; 0,60 M i 0,75 M, blazinice, Petrijeve zdjelice (12 komada), staklene čašice (12 komada), destilirana voda, mobitel (za fotografiranje), vodootporni marker, ravnalo, dnevnik za vođenje bilješki i šprice od 5 i 10 mL (za mjerenje volumena).

Pripremljeno je po 20 mL otopine vodikovog peroksida koncentracije: 0,15 M; 0,30 M; 0,45 M; 0,60 M i 0,75 M, u pripremljene staklene čašice stavljeno je po 15 sjemenki špinata (ili blitve) te je dodano po 10 mL pripremljene otopine prema rasporedu prikazanom u tablici 1.

Tablica 1 Sadržaj i koncentracije pripremljenih otopina u čašicama

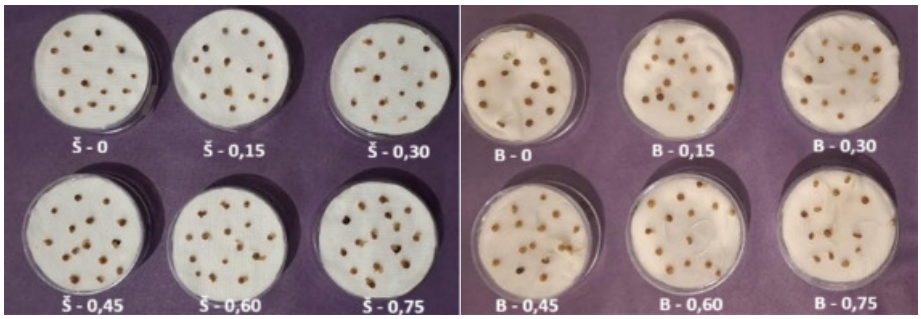
Broj čašice	Otopina	Koncentracija (mol/dm^3)
1 i 7	destilirana voda	0
2 i 8	vodikov peroksid	0,15
3 i 9	vodikov peroksid	0,30
4 i 10	vodikov peroksid	0,45
5 i 11	vodikov peroksid	0,60
6 i 12	vodikov peroksid	0,75

Sjemenke su namakane 18 sati u tamnom prostoru. U svaku od 12 pripremljenih Petrijevih zdjelica stavljene su pamučne blazinice i dodano je 10 mL vode. Petrijeve zdjelice označene su vodootpornim markerom prema slijedećem rasporedu. U kontrolnu Petrijevu zdjelicu sa blazinicom (Š-0) stavljeno je 15 sjemenki špinata i zdjelica je pohranjena na tamno mjesto (ormar). Sjemenke koje su bile namakane u otopini vodikovog peroksida temeljito su isprane destiliranom vodom tri puta sa 30 mL (svaka čašica je zasebno ispirana) kako bi se uklonio višak vodikovog peroksida te su nakon toga stavljene u odgovarajuće prethodno označene Petrijeve zdjelice (slika 1):

- (Š-0,15) – sjemenke tretirane 0,15 M otopinom vodikovog peroksida
- (Š-0,30) – sjemenke tretirane 0,30 M otopinom vodikovog peroksida
- (Š-0,45) – sjemenke tretirane 0,45 M otopinom vodikovog peroksida
- (Š-0,60) – sjemenke tretirane 0,60 M otopinom vodikovog peroksida

- (Š-0,75) – sjemenke tretirane 0,75 M otopinom vodikovog peroksida

Sve Petrijeve zdjelice su pohranjene u ormar. Isti postupak ponovljen je sa sjemenkama blitve. Temperatura u prostoriji tijekom izvođenja pokusa bila je 22 °C.



Slika 1 Petrijeve zdjelice s pripadajućim sjemenkama špinata (lijevo) i blitve (desno)

Petrijeve zdjelice sa sjemenkama promatrane su svakodnevno tijekom 14 dana. Praćen je početak klijanja sjemena i brzina rasta klice. Promjene su bilježene u dnevnik i fotografirane kamerom mobitela. Rast klice mjeren je pomoću ravnala te je zbog nejednolikog rasta izračunata prosječna duljina klice (za svaki dan i za svaku posudicu) prema formuli za aritmetičku sredinu.

$$D(\text{prosječna}) = (D1 + D2 + \ldots + Dn)/n$$

$D_{(\text{prosječna})}$ – prosječna duljina klice

D_1, D_2, D_n – duljine pojedinih klica

n – ukupan broj klica

Uspoređeno je vrijeme potrebno za klijanje sjemena špinata i vrijeme potrebno za klijanje sjemena blitve te je izveden zaključak o vremenu potrebnom za klijanje obje vrste sjemena.

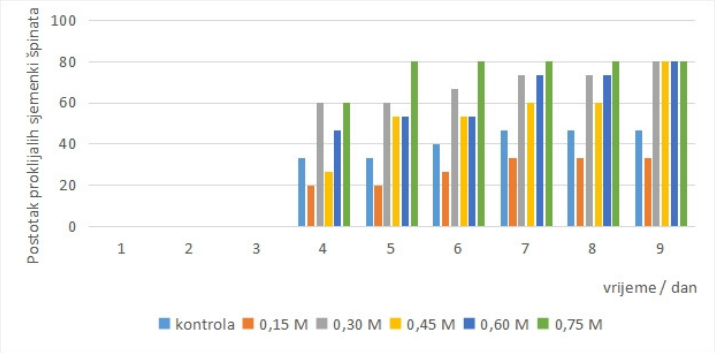
Klijavost sjemena za svaku od 12 Petrijevih zdjelica sa sjemenkama špinata i blitve izračunata je prema formuli:

$$\text{Klijavost sjemena} = (\text{broj proklijalih sjemenki} / \text{ukupan broj sjemenki}) \times 100\ \%$$

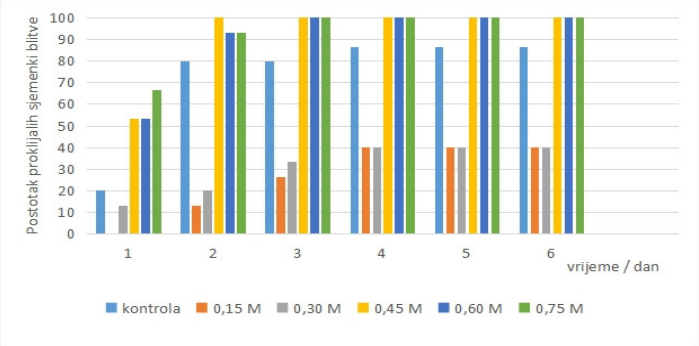
REZULTATI

Uočeno je da sjeme špinata klija puno sporije od sjemena blitve te da namakanje u otopini vodikovog peroksida različitih koncentracija utječe na brzinu klijanja sjemena. Klijavost sjemena špinata i blitve za kontrolnu skupinu i skupine sa sjemenom namakanim u otopinama vodikovog peroksida različitih koncentracija prikazane su tablično u prilogu 1. Iako je istraživanje trajalo četrnaest dana, nakon šestog dana nije uočeno pojavljivanje novih klica kod blitve te nakon desetog dana kod špinata te podaci za preostale dane nisu navedeni u tablici.

Na klijavost špinata povoljno je djelovalo namakanje u 0,30 M; 0,45 M; 0,60 M i 0,75 M otopini gdje je do desetog dana proklijalo 80 % sjemenki za razliku od kontrolnog uzorka u kojem je u istom razdoblju proklijalo samo 46,67 % sjemenki (slika 2). Klijavost sjemena blitve za sjeme namakano u otopinama vodikovog peroksida koncentracija: 0,45 M; 0,60 M i 0, 75 M je 100 % i sve sjemenke su proklijale već treći dan, dok je klijavost kontrolnog uzorka 86,67 % (slika 3).



Slika 2 Usporedba broja proklijalog sjemena špinata ovisno o koncentraciji vodikovog peroksida



Slika 3 Usporedba broja proklijalog sjemena blitve ovisno o koncentraciji vodikovog peroksida

S mjerenjem duljine klica započelo se već prvi dan za blitvu te četvrti dan za špinat. Klice blitve rasle su brzo i već sedmi dan pojavili su se prvi listovi u svim Petrijevim zdjelicama te je mjerenje prekinuto i rezultati nisu prikazani. Nasuprot tome, klice špinata rasle su jako sporo i mjerenje je nastavljeno još nekoliko dana. Nakon desetog dana nisu uočene veće promjene i klice su počele propadati te je mjerenje prekinuto. Rast klice kod obje vrste je bio neujednačen i u istoj posudici moglo se vidjeti klice različitih duljina. Osim toga prilikom klijanja blitve uočeno je izbijanje više klica iz sjemena budući su namakane sjemene kuglice koje u sebi sadrže više sjemenki (slika 4).



Slika 4 Izgled klice blitve (lijevo) i špinata (desno)

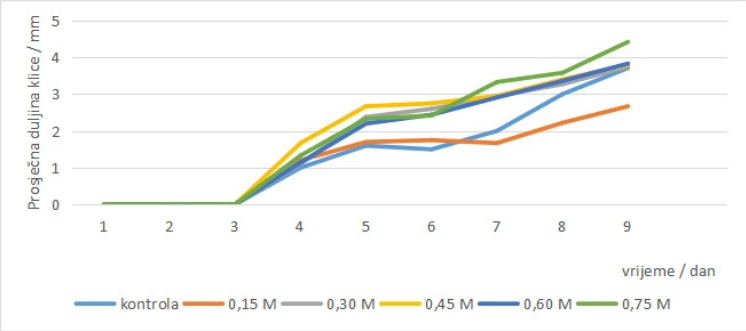
Prilikom mjerenja duljine klice blitve u obzir su uzimane duljine svih klica koje su se pojavile iz iste sjemene kuglice. Podaci o prosječnim duljinama klica špinata i blitve navedeni su u tablici 2.

Tablica 2 Prosječna duljina klice blitve i špinata po danima

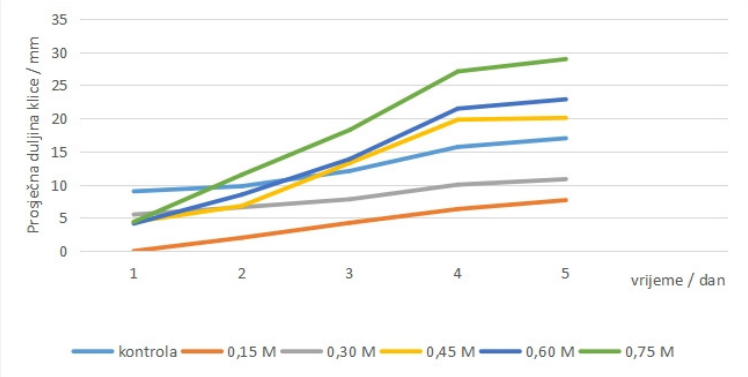
Konc. otopine vodikovog peroksida / mol/dm³	Prosječna duljina klice u mm								
	BLITVA								
	1.dan	2.dan	3.dan	4.dan	5.dan	6.dan	7. dan	8. dan	9. dan
0	9	9,77	12,07	15,69	17	17	17	17	17
0,15	0	2	4,25	6,33	7,67	7,67	7,67	7,67	7,67
0,30	5,50	6,60	7,80	10	10,83	10,83	10,83	10,83	10,83
0,45	4,38	6,8	13,27	19,80	20,07	20,07	20,07	20,07	20,07
0,60	4,14	8,5	13,87	21,47	22,87	22,87	22,87	22,87	22,87

0,75	4,4	11,5	18,26	27,07	28,93	28,93	28,93	28,93	28,93
	ŠPINAT								
	1.dan	2.dan	3.dan	4.dan	5.dan	6.dan	7. dan	8. dan	9. dan
0	0	0	0	1	1,6	1,5	2	2,57	3,71
0,15	0	0	0	1,67	2,67	2,75	2,60	3,40	3,80
0,30	0	0	0	1,10	2,78	2,20	2,55	3,27	3,75
0,45	0	0	0	1,50	2	1,75	1,67	2,22	2,67
0,60	0	0	0	1,14	2,22	2,44	2,91	3,36	3,83
0,75	0	0	0	1,33	2,33	2,42	3,33	3,58	4,42

Nakon izračuna prosječnih duljina klica grafički su prikazane brzine rasta klice špinata i blitve za sjeme koje je bilo namakano 18 sati u otopinama vodikovog peroksida koncentracija: 0,15 M; 0,30 M; 0,45 M; 0,60 M i 0,75 M (slike 5 i 6).



Slika 5 Ovisnost duljine klice špinata po danima, ovisno o koncentraciji otopine vodikovog peroksida



Slika 6 Ovisnost duljine klice blitve po danima, ovisno o koncentraciji otopine vodikovog peroksida

Na osnovu rezultata zaključeno je da namakanje u otopini vodikovog peroksida koncentracije 0,15 M usporava rast klice špinata. Namakanje u otopinama vodikovog peroksida koncentracije 0,30 M; 0,45 M i 0,60 M pokazalo je slične rezultate kao i namakanje u vodi dok je klica špinata brže rasla ako je bila namakana u otopini vodikovog peroksida koncentracije 0,75 M. Rast klice blitve usporen je kod namakanja u otopini vodikovog peroksida koncentracija 0,15 M i 0,30 M, dok je za veće koncentracije vodikovog peroksida (0,45 M, 0,60 M i 0,75 M) zabilježen proporcionalan rast klice s porastom koncentracije vodikovog peroksida.

RASPRAVA

Klijanje je ključna razvojna faza u životnom ciklusu biljke. Brojna istraživanja proučavala su utjecaj vodikovog peroksida na klijanje sjemena, rast korijena i rast sadnica biljaka. Barba-Espín i sur. (2010) su u svojim istraživanjima zaključili da prethodna obrada sjemenki graška s vodikovim peroksidom povećava klijavost i potiče rast sadnica. Pretpostavili su da vodikov peroksid djeluje kao signalna

molekula na početku klijanja sjemena što uključuje specifične promjene razine proteina i ravnotežu hormona kako bi se prekinulo mirovanje. Istraživanja su također potvrdila da vodikov peroksid može prekinuti i fizičko i fiziološko mirovanje sjemenki šećerne repe, te poboljšati klijanje sjemenki pšenice i suncokreta koje slabo klijaju u vodi (Chu i sur., 2022). Koncentraciju i vrijeme izloženosti vodikovom peroksidu treba optimizirati za svaku biljnu vrstu kako bi izbjegli oštećenje sjemena i mladih sadnica.

Brzina klijanja sjemena ovisi o povoljnim uvjetima okoline. Da bi sjemenka proklijala potrebna joj je voda, odgovarajuća temperatura i kisik, a u nekim slučajevima nužno je i prisustvo ili odsustvo svjetla. Kontrolna skupina u istraživanju nam je pokazala koliko vremena je potrebno da bi sjemenka proklijala u normalnim uvjetima. Praćenjem brzine klijanja blitve utvrđeno je da namakanje u otopinama vodikovog peroksida koncentracije 0,45 M; 0,60 M i 0,75 M povoljno utječe na klijanje sjemena. Na brzinu klijanja sjemena špinata pozitivan utjecaj imalo je namakanje u otopini vodikovog peroksida koncentracija 0,30 M; 0,45 M; 0,60 M i 0,75 M. Sjeme blitve namakano u otopini vodikovog peroksida koncentracije 0,15 M i 0,30 M pokazalo je slabiju klijavost od kontrolnog sjemena, dok je kod sjemena špinata koncentracija 0,15 M pokazala slabiju klijavost, a koncentracija 0,30 M bolju klijavost od kontrolnog sjemena.

Koncentracije vodikovog peroksida od 0,45 M, 0,60 M i 0,75 M pokazale su bolju klijavost od kontrolnog sjemena što možemo objasniti činjenicom da je vodikov peroksid vjerojatno malo otvorio sjemenu lupinu i dopustio ulazak vode i kisika što je dovelo do inhibiranja apscizinske kiseline i ubrzalo klijanje. Dokazano je da apscizinska kiselina (ABA) igra važnu ulogu u regulaciji sazrijevanja i klijanja sjemena. Tijekom sazrijevanja sjemena, sadržaj ABA se povećava i regulira mnoge ključne procese, uključujući klijanje i dormanciju (Ishibashi i sur., 2008). Vodikov peroksid djeluje tako da uklanja inhibitorni učinak ABA kako bi potaknuo klijanje i osigurao optimalne uvjete za klijanje. Studije su također potvrdile da etilen i vodikov peroksid potiču klijanje sjemena dok ABA inhibira klijanje sjemena (Chu i sur., 2022). Iz toga se zaključuje da je ABA primarni biljni hormon uključen u proces pokretanja, održavanja i prekida dormancije (Čmelik i Perica, 2007).

Sjeme špinata pokazalo je slabiju klijavost u odnosu na sjeme blitve a razlog tomu je tvrda i debela sjemena ljuska kod sjemena špinata koja fizički sprečava prodiranje vode i kisika u sjeme. Klijanje sjemena blitve puno je brže od klijanja sjemena špinata (Benko, 2024) što je i potvrđeno istraživanjem, jer je blitva počela klijati već prvi dan, dok je špinat počeo klijati tek četvrti dan. Brže klijanje sjemena blitve možemo povezati sa tanjom sjemenom ljuskom i bržim upijanjem vode i kisika. Ovim istraživanjem dokazali smo da prethodno tretiranje sjemena otopinom vodikovog peroksida određenih koncentracija može ubrzati klijanje sjemena i rast klice špinata i blitve.

Slabija klijavost špinata i blitve nakon namakanja u 0,15 M otopini vodikovog peroksida može biti posljedica oštećenja sjemena, jer su Chu i sur. (2022) u svom radu naveli da samo kritični raspon koncentracija vodikovog peroksida ublažava dormantost dok razine iznad ili ispod kritičnog raspona oštećuju sjeme. Drugi mogući razlog za slabiju klijavost špinata može biti i temperatura jer je optimalna temperatura za klijanje između 18 i 20 °C a naš pokus je provođen na 22 °C.

Dobiveni rezultati nisu potvrdili pretpostavku da će sjeme namakano u otopini vodikovog peroksida koncentracije 0,60 M i 0,75 M klijati sporije od sjemena namakanog u vodi jer su rezultati pokazali bolju klijavost, za obje otopine vodikovog peroksida i obje vrste sjemena, u usporedbi s kontrolnom skupinom. Djelomično je potvrđena druga pretpostavka da će sjeme namakano u otopini vodikovog

peroksida koncentracije 0,15 M; 0,30 M i 0,45 M klijati brže od sjemena namakanog u vodi, jer je za obje skupine bolju klijavost pokazala samo otopina vodikovog peroksida koncentracije 0,45 M, koncentracija otopine 0,15 M pokazala je slabiju klijavost sjemena u odnosu na kontrolno sjeme a koncentracija otopine 0,30 M pokazala je slabiju klijavost kod blitve a bolju klijavost kod špinata.

Rast klice brži je kod sjemena koje je bilo namakano u otopinama vodikovog peroksida većih koncentracija. Najbrže su rasle klice koje su namakane u 0,75 M otopini vodikovog peroksida što je vjerojatno povezano sa signalnom ulogom vodikovog peroksida i boljom opskrbom kisikom čime su osigurani optimalni uvjeti za klijanje i rast klice.

Ovo istraživanje pokazalo je da prethodno namakanje sjemenki špinata i blitve u otopinama vodikovog peroksida koncentracije 0,45 M; 0,60 M i 0,75 M na sobnoj temperaturi u mraku povećava postotak klijanja za obje vrste sjemena. Klijanje sjemena špinata povećano je i pri koncentraciji vodikovog peroksida od 0,30 M.

Za utvrđivanje razlika u duljinama klica između kontrolne i tretiranih skupina korišten je *t*-test za nezavisne uzorke. Statistička značajnost testirana je na razini pouzdanosti od 95 %, a obrada podataka izvršena je u softverskom paketu MIcrosoft Excel, a rezultati testa prikazani su u tablici 3.

Tablica 3 Rezultati t-testa za duljinu klice špinata i blitve

konc. otopine vodikovog peroksida / mol/dm³	ŠPINAT		
	Prosjek (*M*)	*t* vrijednost	*p* vrijednost
0	14,61		
0,15	5,68	5,35	**< 0,001***
0,30	9,34	3,22	**0,0007***
0,45	16,07	-1,02	0,33
0,60	18,04	-1,64	0,128
0,75	22,88	-2,81	**0,019***
	BLITVA		
0	1,25		
0,15	1,16	-1,68	0,11
0,30	1,78	-2,52	**0,024***
0,45	1,76	-2,49	**0,026***
0,60	1,92	-2,71	**0,017***
0,75	1,93	-2,57	**0,023***

*statistički značajno uz $p < 0,05$

Kada bi ponavljali istraživački rad, u istraživanje bi uključili i sjeme drugog lisnatog zelenog povrća (kelj, raštika, rukola) te bi radili ispitivanja s različitom vremenom izloženosti vodikovom peroksidu i proučili bi utjecaj svjetlosti na brzinu klijanja kod vrsti koje imaju sitnije sjeme.

Preporučili bi svim ljudima korištenje više zelenog lisnatog povrća u prehrani jer takvo povrće im može osigurati dug i zdrav život.

ZAKLJUČCI

Na temelju rezultata istraživanja donijeli smo slijedeće zaključke:

- Namakanje sjemena u otopini vodikovog peroksida koncentracije 0,15 M usporava klijanje sjemena i rasta klice;
- Namakanje sjemena u otopini vodikovog peroksida koncentracije 0,30 M doprinosi bržem klijanju sjemena špinata dok se klijanje sjemena blitve usporava;

- Namakanje sjemena u otopini vodikovog peroksida koncentracije 0,45 M; 0,60 M i 0,75 M doprinosi bržem klijanju sjemena i bržem rastu klice;
- Klice najbrže rastu ako se sjeme namače u 0,75 M otopini vodikovog peroksida.

LITERATURA

Alibabić V., Majić I. 2016. Pravilna prehrana i zdravlje. Veleučilište u Rijeci, Rijeka.

Bakotić Ž. 2019. Provjera klijavosti sjemena vrste *Hypericum olympicum* L.. Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko - biokemijski fakultet, Zagreb.

Barba-Espín G., Hernandez J. A., Diaz-Vivancos P. 2012. Role of H_2O_2 in pea seed germination. Plant Signaling & Behavior7(2): 193–195.

Benko B. 2024. O čemu sve ovisi klijavost sjemena povrća? Gospodarski list, https://gospodarski.hr/rubrike/povrcarstvo-rubrike/o-cemu-sve-ovisi-klijavost-sjemena-povrca/, pristupljeno 11. 12. 2025.

Centinel A. H. S., Yalcinkaya T., Akyol T. Y., Gokce A., Turkan I. 2021. Pretreatment of seeds with hydrogen peroxide improves deep-sowing tolerance of wheat seedlings. Plant Physiology and Biochemistry 167: 321–325.

Chu C., Poore R. C., Bolton M. D., Fugate K. K. 2022. Mechanism of sugarbeet seed germination enhanced by hydrogen peroxide. Frontiers in Plant Science 13: 2–5.

Čmelik Z., Perica S. 2007. Dormantnost sjemenki voćaka. Sjemenarstvo 24: 51–54.

Dragica I. 2021. Najzdravije namirnice svijeta: Špinat, Alternativa za vas, https://alternativa-zavas.com/index.php/clanak/article/spinat, pristupljeno 11.12. 2025.

Ishibashi Y., Yamamoto K., Tawaratsumida T., Yuasa T., Iwaya_Inoue M. 2008. Hydrogen peroxide scavenging regulates germination ability during wheat (*Triticum aestivum* L.) seed maturation. Plant Signaling & Behavior 3(3): 183–184.

Jurišić M. 2024. Špinat. Agroklub, https://www.agroklub.com/sortna-lista/povrce/spinat-183/, pristupljeno 5.12. 2025.

Jurišić M. 2024. Blitva lisnata. Agroklub, https://www.agroklub.com/sortna-lista/povrce/blitva-lisnata-134/, pristupljeno 5.12. 2025.

Katzman L. S., Taylor A. G., Langhans R.W. 2001. Seed Enhancements to improve spinach germination. HortScience 36: 979–981.

Local Gardener. 2024. Boosting Seed Germination with Hydrogen Peroxide, https://localgardener.org/boostingseed-germination-with-hydrogen-peroxide/, pristupljeno 1.12. 2025.

Rastija M. 2021. Važnost zelenih namirnica u prehrani djece mlađe školske dobi, Diplomski rad. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku. Fakultet za odgojne i obrazovne znanosti, Osijek.

Sedlak J. 2023. Blitva: povrtnica koja će vas oduševiti obiljem i nezahtjevnošću. Novi list, https://www.novilist.hr/life/blitva-povrtnica-koja-ce-vas-odusevljavati-obiljem-i-nezahtjevnoscu/, pristupljeno 5.12. 2025.

Wojtyla L., Lechowska K., Kubala S., Garnczarska M. 2016. Different modes of hydrogen action during seed germination. Frontiers in Plant Science 7: 1–3.

Prilog 1 Klijavost sjemena blitve i špinata po danima

otopina vodikovog peroksida / mol/dm³	POSTOTAK PROKLIJALIH SJEMENKI									
	BLITVA									
	1.dan	2.dan	3.dan	4.dan	5.dan	6.dan	7. dan	8. dan	9. dan	10.dan
0	0	20	80	80	86.67	86.67	86.67	86.67	86.67	86.67
0,15	0	0	13,33	26,27	40	40	40	40	40	40
0,30	0	13,33	20	33,33	40	40	40	40	40	40
0,45	0	53,33	100	100	100	100	100	100	100	100
0,60	0	53,33	93,33	100	100	100	100	100	100	100
0,75	0	66,67	93,33	100	100	100	100	100	100	100
	ŠPINAT									
	1.dan	2.dan	3.dan	4.dan	5.dan	6.dan	7. dan	8. dan	9. dan	10.dan
0	0	0	0	0	33,33	33,33	40	46,67	46,67	46,67
0,15	0	0	0	0	20	20	26,27	33,33	33,33	33,33
0,30	0	0	0	0	60	60	66,67	73,33	73,33	80
0,45	0	0	0	0	26,27	53,34	53,34	60	60	80
0,60	0	0	0	0	46,67	53,33	53,33	73,33	73,33	80
0,75	0	0	0	0	60	80	80	80	80	80