

KLIJANJE SJEMENA CRVENE DJETELINE (cv. VIOLA) U ZAVISNOSTI O pH VRIJEDNOSTI VODENE OTOPINE I STAROSTI SJEMENA

Gordana Bukvić⁽¹⁾, *Sonja Grljušić*⁽²⁾, *Ana Josipović*⁽³⁾, *Željka Greger*⁽¹⁾, *Marija Marijanović*⁽³⁾, *Ljubica Bilušić*⁽³⁾

Izvorni znanstveni članak
Original scientific paper

SAŽETAK

Utjecaj različitih pH vrijednosti vodene otopine (4, 5, 6 i 7) na energiju klijanja, klijanje, dužinu korijena, hipokotila i ukupnu dužinu klijanaca crvene djeteline istraživani su kod kultivara Viola skladištenoga 3 i 5 godina. Prosječna dužina klijanaca i hipokotila bila je najveća na pH 4, a korijena na pH 5. Prosječna energija klijanja bila je najniža na pH 6, a klijavost na pH 6 i 7. Energija klijanja i klijavost sjemena te dužina korijena klijanaca bili su veći kod sjemena staroga 3 godine, a dužina hipokotila, kao i ukupna dužina klijanaca kod sjemena starog 5 godina.

Ključne riječi: crvena djetelina, pH, starost sjemena

UVOD

Smatra se da je crvena djetelina leguminoza dobre adaptabilnosti na tip tla, pH vrijednost tla i uvjete uzgoja (Smith i sur., 1985.). Kao optimalne vrijednosti pH tla za uzgoj crvene djeteline najčešće se navode 6,6 do 7,6, ali često i vrijednosti puno većega raspona (npr. od 4,5 do 8,2; Duke, 1983.). Prema istraživanjima Hojito (1998.), donja kritična granica pH vrijednosti tla za uzgoj crvene djeteline je 5,2.

No, genotipovi crvene djeteline razlikuju se i u sposobnosti usvajanja hraniva iz tla i u prinosu uzgojem na kiselim tlima (Bukvić i sur., 2008.a). Općenito su prinos i kakvoća ratarskih kultura pri uzgoju na kiselim tlima limitirani zbog toksičnosti aluminija (Zhang i sur., 2007., Baligar i sur., 1987.) i mangana, deficita molibdena (McBride i Cherney, 2004.), kalcija (Graham, 1992.) i magnezija, kao i slabije pristupačnosti fosfora (Bouton i Sumner, 1983.). Ipak, Tanaka i sur. (1984.), Yokota i Ojima (1995.) navode da pH okoline može utjecati na rast i razvoj leguminoza neovisno o drugim okolišnim čimbenicima.

Pored okolišnih uvjeta uzgoja i genotipa, na produkciju biomase utječe i kakvoća sjemena koje se koristi u sjetvi (Van Assche i Leuven, 1988.). Kakvoća je sjemena kompleksno svojstvo koje je, prije svega, određeno njegovom klijavašću. Utvrđivanje klijavosti sjemena standardnom metodom naklijavanja (ISTA, 2003.) provodi se u idealnim uvjetima pa rezultati toga testa vrijede samo za optimalne uvjete u polju (TeKrony, 1995., Siddique i Wright, 2004.), a standardna klijavost često premašuje poljsko nicanje (Hamman i sur., 2002.). Procjena tolerantnosti genotipova na niske pH vrijednosti tla uglavnom se provodi u poljskim uvjetima tijekom više godina. Međutim, u istraživanjima Kendall i sur. (1994.), Voigt i sur. (1997.), Voigt i Mosjidis (2002.), Grljušić i sur. (2008.), Bukvić i sur. (2008.b) kod različitih leguminoza utvrđena je povezanost laboratorijskih i poljskih mjerenja klijavosti kod različitih temperatura, dostupnosti vode ili kiselosti tla.

(1) Prof.dr.sc. Gordana Bukvić, Željka Greger, dipl. ing. – Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Trg sv. Trojstva 3, 31000 Osijek, (2) Dr.sc. Sonja Grljušić – Poljoprivredni institut Osijek, Južno predgrađe 17, 31 000 Osijek, (3) Ana Josipović, Marija Marijanović i Ljubica Bilušić – sveučilišni prvostupnici Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku

S obzirom na veliku prostornu zastupljenost kiselih tala u Republici Hrvatskoj (Kisić i sur., 2002.) i značaj starosti sjemena kao komponente kakvoće, cilj ovog istraživanja bio je ispitati utjecaj različitih pH vrijednosti vodene otopine i starosti sjemena na energiju klijanja, klijavost, dužinu korijena, hipokotila i ukupnu dužinu klijanaca kultivara crvene djeteline zastupljenoga na našim oranicama.

MATERIJAL I METODE

Istraživanje je provedeno 2006. i 2008. godine sa sjemenom crvene djeteline kultivara Viola, proizvedenim 2003. godine. Apsolutna masa sjemena bila je 1,7 g, a deklarirana klijavost 81%. Sjeme je skladišteno 3 i 5 godina u zatvorenim PVC vrećicama u hladnom zrako-suhom skladištu (temperatura 5°C, vlaga zraka 40%). Svojstva energije klijanja i klijavosti određena su metodom rolanoga filter papira, uz prethodno hlađenje u klima komori tijekom 10 dana na temperaturi 7°C, sukladno pravilima ISTA (2003.). Vlaženje filter papira obavljeno je vodom iz gradskoga vodovoda, čija je izmjerena pH vrijednost iznosila 7. Vodene otopine pH vrijednosti 4, 5 i 6 pripremljene su tako da je vodi iz gradskoga vodovoda dodavana 1 M HCl do željenoga pH. Navlaženi filter papir uvijen je u role i stavljen u PVC vrećice te pohranjen u klima komoru tijekom 10 dana, na temperaturi 20°C. Pokus je postavljen u četiri ponavljanja, po 100 sjemenki za svaku pH vrijednost i starost sjemena. Po završetku naklijavanja, s klijanaca su uklonjeni kotiledoni te razdvojeni korijen i hipokotil. Prosječna dužina korijena, hipokotila te ukupna srednja dužina klijanaca utvrđeni su na 25 slučajno izabranih klijanaca.

Za ispitivanje značajnosti utjecaja primjenjenih tretmana pomoću analize varijance (ANOVA) korišten je SAS Software (SAS Institute Inc., 2002.-2003.).

REZULTATI I RASPRAVA

Energija klijanja i klijavost sjemena

Energija klijanja sjemena crvene djeteline kretala se od 62,5 do 88,5%, ovisno o pH vrijednosti vodene otopine, starosti sjemena te njihove interakcije (Tablica 1.). Niže prosječne vrijednosti za energiju klijanja ($p=0,01$) dobivene su na pH 6, dok razlika između ostalih pH vrijednosti nije bila značajna. Sjeme staro 3 godine imalo je veću ($p=0,01$) energiju klijanja od sjemena staroga 5 godina. Najveća razlika u energiji klijanja između sjemena različite starosti dobivena je na pH 7 (22,5%), a najmanja na pH 4 (14,8%). Za mlađe sjeme veće vrijednosti dobivene su na pH 5 i 7, a za starije na pH 4. Kod sjemena različite starosti u oba slučaja najniže vrijednosti energije klijanja dobivene su na pH 6. U istraživanjima Bukvić i sur. (2008.c) najniža energija klijanja sjemena 3 kultivara bijele djeteline također je dobivena kod vodene otopine s pH 6.

Klijavost sjemena crvene djeteline kretala se u rasponu od 52,5 do 85,5% te je bila pod značajnim utjecajem pH vrijednosti, starosti sjemena ($p=0,01$), kao i njihove interakcije ($p=0,05$). Dobivena minimalna i maksimalna vrijednost bila je nešto niža od vrijednosti koje su u svojim istraživanjima dobili Hampton i Hill (2002.) kod sjemena crvene djeteline nakon 12 mjeseci skladištenja, gdje se, ovisno o vigoru, klijavost kretala u rasponu 66-90%. Povećanjem razdoblja skladištenja značajno se smanjuje klijavost sjemena većine ratarskih kultura (Saxena i sur., 1987., Andrić, 2004.). Međutim, kod sitnozrnih mahunarki klijavost se značajnije smanjuje tek nakon 3 godine skladištenja (Slepetys, 1996.). Ellis i Hong (2006.) su utvrdili da je sjeme crvene djeteline nakon 14,5 godina zadržalo životnu sposobnost skladištenjem pri optimalnome sadržaju vlage zrna (2-15 %) i niskoj temperaturi (-20°C).

Tablica 1. Energija klijanja i klijavost (%) sjemena crvene djeteline kultivara Viola, u zavisnosti o pH vodene otopine i starosti sjemena

Table 1. Germination energy and germination (%) of red clover seed cv. Viola depending on water solution pH and seed age

Starost sjemena (S) (godina) <i>Seed age (S) (year)</i>	pH vodene otopine <i>pH of water solution</i>				Prosjek <i>Average</i>
	4	5	6	7	
	Energija klijanja (%) <i>Germination energy (%)</i>				
3	83,8	88,5	80,5	87,5	85,1
5	69,0	67,5	62,5	65,5	66,0
Prosjek <i>Average</i>	76,4	78,0	71,5	76,3	75,5
LSD		pH	S	pHxS	
	0,05	2,349	1,382	3,036	
	0,01	3,376	1,938	4,300	
	Klijavost (%) <i>Germination (%)</i>				
3	85,5	80,3	80,5	76,8	80,8
5	68,3	69,0	56,3	52,5	61,5
Prosjek <i>Average</i>	76,9	74,6	68,4	64,6	71,3
LSD		pH	S	pHxS	
	0,05	5,414	2,861	6,715	
	0,01	7,779	4,011	ns	

S obzirom na pH vrijednost, prosječna klijavost bila je značajno veća ($p=0,01$) na pH 4 u odnosu na pH 6 i 7, ali se nije razlikovala prema vrijednostima na pH 5. Starije sjeme imalo je, očekivano, značajno manju ($p=0,01$) prosječnu klijavost. Kod sjemena obje starosti klijavost je bila najmanja na pH 7. Najveća klijavost kod sjemena staroga 3 godine dobivena na pH 4, a kod sjemena staroga 5 godina na pH 4 i 5. Najveće razlike u klijavosti između sjemena različite starosti dobivene su na pH 6 i 7 (24,3%), a najmanje na pH 5 (11,3%).

Energija klijanja i klijavost sjemena crvene djeteline različite starosti imale su različit trend u zavisnosti o pH vrijednosti vodene otopine. Nasuprot tome, u istraživanjima Bukvić i sur. (2007.) sa sjemenom krmnoga graška različite starosti dobiven je isti trend za svojstva energije klijanja, klijavosti i dužine korijena klijanaca u zavisnosti o pH vrijednosti vodene otopine.

Klijavost sjemena bila je u značajnoj pozitivnoj korelacijskoj vezi s energijom klijanja ($r=0,947^{**}$). Međutim, kod obje starosti sjemena, u prosjeku, vrijednosti energije klijanja bile su veće od klijavosti, što nije uobičajno. Kod mlađega sjemena propadanje sjemena/klijanaca naročito je bilo izraženo na pH 7 (10,8%), ali i na pH 5 (8,3%). Kod starijega sjemena taj proces također je bio najintenzivniji na pH 7, gdje je iznosio 12,5%, nešto slabiji na pH 6 s 6,25%. Klijavost sjemena crvene djeteline prema pravilima ISTA (2003.) određuje se u trajanju od 20 dana. U takvim slučajevima, kako navode Burrows (1996.), Singh (1997.), McGill i sur. (2000.), može doći do propadanja klijanaca i/ili njihova abnormalna razvoja, kao rezultat aktivnosti mikroorganizama.

Dužina korijena, hipokotila i ukupna dužina klijanaca

Dužina korijena klijanaca značajno je zavisila ($p=0,01$) o pH vrijednosti, starosti sjemena, kao i njihovoj interakciji. Prosječna dužina korijena bila je najveća na pH 5, a najmanja na pH 7 (Tablica 2.). Klijanci starijega sjemena imali su kraći korijen od klijanaca mlađega sjemena na razini $p=0,01$, što je dobiveno i u istraživanju sa sjemenom krmnoga graška različite starosti (Bukvić i sur, 2007.). Kod sjemena obje starosti dužina je korijena bila veća na pH 4 i 5, s time što kod mlađega sjemena nije bilo razlika s obzirom na navedene pH vrijednosti, a kod starijega je korijen bio značajno duži na pH 5 nego na pH 4. Korijen je kod starijega sjemena bio najkraći na pH 7, a kod mlađega na pH 6 i 7. Dužina korijena u zavisnosti o pH vrijednosti imala je vrlo sličan trend kod sjemena različite starosti. Vrijednosti su, također, bile slične, osim na pH 7, gdje je dobivena najveća razlika (0,6 cm) između sjemena različite starosti.

Dužina hipokotila kretala se od 4,42 do 8,04 cm i značajno se razlikovala ovisno o pH vrijednosti, starosti sjemena i njihovoj interakciji ($p=0,01$). U prosjeku za starost sjemena, hipokotil je imao najveću dužinu na pH 4, a najmanju na pH 6 i 7. Neočekivano, starije sjeme imalo je veću prosječnu vrijednost dužine hipokotila od mlađeg. Ta bi se pojava mogla povezati s mirovanjem sjemena, koje je kod sitnozrnih leguminoza uzrokovano neporoznom sjemenom ovojnicom, pri čemu se udio tvrdih sjemenki sa starošću sjemena smanjuje (Kastori, 1984.). Korijen klijanaca starijega sjemena u prosjeku je bio za 0,11 cm kraći od korijena klijanaca mlađega sjemena. Suprotno, starije sjeme imalo je za 2,04 cm duži hipokotil od mlađega. Može se pretpostaviti da je duže skladištenje (5 godina) uzrokovalo veći gubitak životne sposobnosti sjemena, što je rezultiralo manjim vrijednostima energije klijanja i klijavosti starijega sjemena u odnosu na mlade. Istodobno dužim skladištenjem kod starijega sjemena koje je zadržalo životnu sposobnost moglo je doći do omekšivanja sjemene ovojnice, što je omogućilo brži i bolji rast hipokotila. Kod starijega sjemena hipokotil je bio najduži na pH 4, kraći na pH 5, a najkraći na pH 6 ($p=0,01$). Najveća razlika u dužini hipokotila između sjemena različite starosti u zavisnosti o pH vrijednosti dobivena je na pH 4 (3,10 cm), a najmanja, odnosno podjednaka, na pH 6.

Ukupna dužina klijanca zavisila je o pH vrijednosti, starosti sjemena i njihove interakcije ($p=0,01$). Prosječna dužina klijanca bila je najveća ($p=0,01$) na pH 4, a razlike između preostalih pH vrijednosti nisu bile značajne. U sličnim istraživanjima sa sjemenom kultivara soje i graška na pH vrijednostima vodene otopine 5, 6, 7 i 8 Bukvić i sur. (2007.) dobili su duže klijance soje na pH 5 i 6, a graška na pH 6 i 7. Starije sjeme kultivara Viola, zbog znatno dužega hipokotila, imalo je u prosjeku za pH vrijednosti duže klijance (8,22 cm), od mlađeg (6,95 cm). Iako se smatra da starenjem sjemena opada klijavost, odnosno životna sposobnost sjemena, u istraživanjima Rapčan i sur. (2006.) dobiveni su veći prinosi zelene mase, suhe tvari i mase 1000 zrna sjetvom sjemena graška staroga 21 mjesec, nego sjetvom sjemena staroga 9 mjeseci.

Tablica 2. Dužina korijena, hipokotila i ukupna dužina klijanca (cm) crvene djeteline kultivara Viola u zavisnosti o pH vodene otopine i starosti sjemena

Table 2. Radicle, hypocotyl and total seedling length (cm) of red clover cv. Viola depending on water solution pH and seed age

Starost sjemena (S) (godina) <i>Seed age (S) (year)</i>	pH vodene otopine <i>pH of water solution</i>				Prosjek <i>Average</i>
	4	5	6	7	
	Dužina korijena (cm) <i>Radicle length (cm)</i>				
3	2,75	2,82	1,74	1,74	2,26
5	2,69	2,86	1,90	1,14	2,15
Prosjek <i>Average</i>	2,72	2,81	1,82	1,44	2,21
LSD					
		pH	S	pHxS	
	0,05	0,0853	0,0661	0,1258	
	0,01	0,1226	0,0926	0,1776	
	Dužina hipokotila (cm) <i>Hypocotyl length (cm)</i>				
3	4,94	4,42	5,06	4,32	4,68
5	8,04	6,15	4,91	5,19	6,72
Prosjek <i>Average</i>	6,49	5,59	4,98	4,76	5,38
LSD					
		pH	S	pHxS	
	0,05	0,6838	0,4771	0,9546	
	0,01	0,9825	0,6689	1,3493	
	Dužina klijanaca (cm) <i>Total seedling length (cm)</i>				

	3	7,69	7,24	6,80	6,06	6,95
	5	10,73	9,02	6,81	6,33	8,22
Prosjek Average		9,21	8,13	6,80	6,20	7,58
LSD		pH	S	pHxS		
		0,05	0,5801	0,3726	0,7786	
		0,01	0,8335	0,5224	1,1016	

Sjeme različite starosti imalo je najveće vrijednosti za ukupnu dužinu klijanca na pH 4, a porastom pH vrijednosti dužina klijanca bila je manja, s tim što su kod starijega sjemena razlike u dužini klijanca između pojedinih tretmana bile veće. Najveća razlika u dužini klijanca između sjemena različite starosti dobivena je na pH 4. Dužina klijanca očekivano je bila u značajnoj korelacijskoj vezi s dužinom korijena ($r=0,73^*$), kao i s dužinom hipokotila ($r=0,921^{**}$).

ZAKLJUČAK

Na osnovi provedenih istraživanja utjecaja starosti sjemena i pH vrijednosti vodene otopine na svojstva sjemena i klijanaca crvene djeteline kultivara Viola, može se zaključiti da su sva ispitivana svojstva bila pod značajnim utjecajem primjenjenih pH vrijednosti vodene otopine, starosti sjemena, kao i njihove interakcije. S obzirom na pH vrijednost, prosječne vrijednosti dužine klijanca i hipokotila bile su najveće na pH 4, dužina korijena na pH 5, klijavost na pH 4 i 5, a energija klijanja na pH 4, 5 i 7. Energija klijanja i klijavost sjemena te dužina korijena klijanca bile su veće kod sjemena staroga 3 godine, a dužina hipokotila klijanca, kao i ukupna dužina klijanca kod sjemena staroga 5 godina.

Zbog potrebe povezivanja laboratorijskih i poljskih istraživanja kvalitete i vigora sjemena, predstavljeno istraživanje naglašava starost sjemena kao bitan činitelj postizanja željenoga sklopa i utjecaja pH tla na isti te bi pri sjetvi crvene djeteline na tlima različite pH vrijednosti, pored izbora kultivara, trebalo uvažiti i starost sjemena.

LITERATURA

1. Andrić, L. (2004.): Ispitivanje vigora sjemena nekih domaćih kultivara soje. Magistarski rad, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku.
2. Baligar, V.C., Wright, R.J., Kinraide, T.B., Foy, C.D., Elgin, J.H.Jr. (1987): Aluminium effects on growth, mineral uptake, and efficiency ratios in red clover cultivars. *Agronomy Journal* 79: 1038-1044.
3. Bouton, J.H., Sumner, M.E. (1983): Alfalfa, *Medicago sativa* L., in highly weathered, acid soils. V. Field performance of alfalfa selected for acid tolerance. *Plant and Soil* 74: 431-436.
4. Bukvić, G., Grljušić, S., Liška, A., Antunović, M., Kiš, D., Bukvić, A. (2007.): Klijavost sjemena soje i krmnog graška u zavisnosti od pH vrijednosti vodene otopine. *Sjemenarstvo* 24(2): 73.-84.
5. Bukvić, G., Grljušić, S., Antunović, M., Horvatić, J. (2008.a): Prinos zelene mase i suhe tvari genotipova crvene djeteline na kiselom tlu. Zbornik sažetaka. 43. hrvatski i 3. međunarodni simpozij agronoma, Opatija 18.-21. veljače 2008.: 112.
6. Bukvić, G., Grljušić, S., Antunović, M., Horvatić, J., Špoljarević, M. (2008b): Differences among red clover (*Trifolium pratense* L.) genotypes in yield, germination and proline concentration. *Cereal Research Communications* 36 (Part 3 Suppl S): 1507-1510.
7. Bukvić, G., Ravlić, M., Grljušić, S., Rozman, V., Popović, B., Tkalec, M. (2008c): Utjecaj temperature i pH vrijednosti na klijavost sjemena i dužinu klijanaca bijele djeteline. *Sjemenarstvo* 25: 3-4.
8. Burrows, C.J. (1996): Germination behaviour of the seeds of seven New Zealand wood plants. *New Zealand Journal of Botany* 34: 355-367.
9. Duke, J.A. (1983): *Handbook of Energy Crops*.

http://www.hort.purdue.edu/newcrop/duke_energy/Trifolium_pratense.html

10. Ellis, R.H., Hong, T.D. (2006): Temperature sensitivity of the low-moisture-content limit to negative seed longevity–moisture content relationships in hermetic storage. *Annals of Botany* 97(5): 785-791.
11. Graham, P.H. (1992.): Stress tolerance in *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*, and nodulation under adverse soil conditions. *Canadian Journal of Microbiology* 38(6): 475-484.
12. Grljušić, S., Bukvić, G., Rapčan, I., Agić, D., Horvatić, J. (2008): The effects of soil and temperature on early white clover growth. *Cereal Research Communications* 36(Part 1 S): 643-646.
13. Hamman, B., Egli, D.B., Koning, G. (2002.): Seed vigour, soliborne pathogens, pre-emergent growth and soybean seedling emergence. *Crop Science* 42: 451-457.
14. Hampton, J.G., Hill, M.J. (2002): Seed quality and New Zealand's native plants: an unexplored relationship?. *New Zealand Journal of Botany* 40: 357-364.
15. Hojito, M. (1998): Productivity of acidified grassland caused by acidic nitrogen-fertilizer and aluminium tolerance of grasses and legumes. *JARQ-Japan Agricultural Research Quarterly* 32(2): 87-96.
16. ISTA (2003): Handbook on seedling evaluation, 3rd edition.
17. Kastori, R.R. (1984.): Fiziologija semena. Mihaljev, I. (ed), Matica Srpska, Novi Sad.
18. Kendall, W.A., Shaffer, J.A., Hill, R.R. (1994): Effect of temperature and water variables on the juvenile growth of lucerne and red clover. *Grass and Forage Science* 49(3): 264-269.
19. Kisić, I., Bašić, F., Mesić, M., Butorac, A. (2002.): Učinkovitost kalcifikacije i gnojidbe na kemijske značajke tla i prinos zrna kukuruza i ozime pšenice. *Agriculturae Conspectus Scientificus* 67(1):25.-33.
20. McBride, M.B., Cherney, J. (2004): Molybdenum, sulfur, and other trace elements in farm soils and forages after sewage sludge application. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 35(3-4):517-535.
21. McGill, C.M., Outred, H.A., Hill, M.J., Hill, K.A., Fountain, D.W. (2000): An evaluation of the desiccation tolerance and seed germination requirements of Chatham Island Forget-me-not (*Myosotidium hortensia*). *Agronomy Society of New Zealand Special Publication* 12: 91-97.
22. Rapčan, I., Bukvić, G., Grljušić, S., Teklić, T., Jurišić, M. (2006.): Utjecaj agroekoloških uvjeta i starosti sjemena na prinos i kakvoću zrna stočnog graška (*Pisum sativum* L.). *Mljekarstvo* 56(4):331.-342.
23. SAS Software, 9.1.3 Service Pack 3, SAS Institute Inc, Cary, NC, USA (2002-2003).
24. Saxena, O.P., Singh, G., Pakeeraiah, T., Pandey, N. (1987): Seed deterioration studies in some vegetable seeds. *Acta Horticulturae* 215:39-44.
25. Siddique, A.B., Wright, D. (2004): Effects of date of sowing on seed yield, seed germination and vigour of peas and flax. *Seed Science and Technology* 32(2): 455-472.
26. Singh, P. (1997): The seed pathogens and seed diseases: their detection and management in sustainable forestry. *Proceedings ISTA Tree Seed Pathology Meeting, Zurich*: 9-22.
27. Slepetyš, J. (1996): White clover seed maturity and longevity. *REU Technical Series (FAO)*, no. 42, Frame, J. (ed), FAO Rome Italy, Regional Office for Europe: 65-68.
28. Smith, R.R., Taylor, N.L., Boweley, S.R. (1985): Red clover. *Clover Science and Technology*. N.L.Taylor (ed), American Society Agronomy Publication 25: 457-470.
29. Tanaka, A., Hitsuda, K., Tsuchihashi, Y. (1984): Tolerance to low pH and low available phosphorus of various field and forage crops. *Soil Science of Plant Nutrition* 30: 39-49.
30. TeKrony, D.M. (1995): Accelerated aging. Seed vigor testing seminar. H.A. Van de Venter, (ed) ISTA, Copenhagen: 53-72.

31. Van Assche, C., Leuven, K.U. (1988): The importance of seed control and seed treatment for a guaranteed plant production. *Acta Horticulturae* 220: 391-396.
32. Voigt, P.W., Morris, D.R., Godwin, H.W. (1997): A soil-on-agar method to evaluate acid-soil resistance in white clover. *Crop Science* 37(5): 1493-1496.
33. Voigt, P.W., Mosjidis, J.A. (2002): Acid-soil resistance of forage legumes as assessed by a soil-on-agar method. *Crop Science* 42: 1631-1639.
34. Zhang, X.G., Humphries, A., Auricht, G. (2007): Genetic variability and inheritance of aluminium tolerance as indicated by long root regrowth in lucerne (*Medicago sativa* L.). *Euphytica*, 157(1-2): 177-184.
35. Yokota, S., K. Ojima, K. (1995): Physiological response of root tip of alfalfa to low pH and aluminium stress in water culture. *Plant and Soil* 171(1): 163-165.

GERMINATION OF RED CLOVER SEED (cv. VIOLA) DEPENDING ON WATER SOLUTION pH AND SEED AGE

SUMMARY

The influence of various water solution pH (4, 5, 6 and 7) on germination energy and germination of red clover cultivar Viola seed stored for 3 and 5 years, and radicle, hypocotyls and total seedling length was investigated. The highest average seedling and hypocotyls length was found at pH 4, and the highest radicle length at pH 5. The lowest average germination energy was estimated at pH 6, and the lowest germination at pH 6 and 7. Germination energy, seed germination and radicle length were higher in the 3 years old seed. Length of hypocotyls and total seedling length were higher in the 5 years old seed.

Key-words: *pH, red clover, seed age, seed germination, seed testing*

(Priljeno 04. svibnja 2009.; prihvaćeno 27. svibnja 2009. - Received on 4 May 2009; accepted on 27 May 2009)