

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

**DEAKTIVACIJA POTENCIJALA KLIJAVOSTI SJEMENA
AMBROZIJE**

DIPLOMSKI RAD

Matej Maretić

Zagreb, rujan, 2021.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

Diplomski studij:

Poljoprivredna tehnika - Mehanizacija

**DEAKTIVACIJA POTENCIJALA KLIJAVOSTI SJEMENA
AMBROZIJE**

DIPLOMSKI RAD

Matej Maretić

Mentor: Doc.dr.sc. Ante Galić

Zagreb, rujan, 2021.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

**IZJAVA STUDENTA
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI**

Ja, **Matej Maretić**, JMBAG 0068226362, rođen 16.12.1996. u Zagrebu, izjavljujem da sam samostalno izradio diplomski rad pod naslovom:

DEAKTIVACIJA POTENCIJALA KLIJAVOSTI SJEMENA AMBROZIJE

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____

Potpis studenta

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studenta **Mateja Maretića**, JMBAG 0068226362, naslova

DEAKTIVACIJA POTENCIJALA KLIJAVOSTI SJEMENA AMBROZIJE

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____, dana _____.

Povjerenstvo:

potpisi:

- | | | | |
|----|--|--------|-------|
| 1. | Doc. dr.sc. Ante Galić | mentor | _____ |
| 2. | Prof. dr. sc. Stjepan Plietić | član | _____ |
| 3. | Izv. prof. dr. sc. Klaudija Carović - Stanko | član | _____ |

Zahvala

Ponajprije se zahvaljujem svome mentoru Doc. dr. sc. Ante Galiću na prihvaćenom mentorstvu, te što je bio spreman kroz cijeli rad na bilo kakvu pomoć. Također zahvaljujem se obitelji koja mi je bila potpora tijekom ovih 5 godina, te svim kolegama i profesorima koji su bili sastavni dio mog studiranja.

Sadržaj

1. Uvod.....	1
1.1. Cilj rada.....	1
2. Ambrozija	2
2.1. Sistematika ambrozije	2
2.2. Morfološke karakteristike ambrozije	3
2.3. Štetnosti ambrozije	6
2.4. Mjere za uklanjanje ambrozije	7
3. Elektromagnetsko zračenje	8
3.1. Laseri.....	9
3.1.1. Povijesni razvoj lasera.....	10
3.1.2. Dijelovi lasera.....	11
3.1.3. Princip rada lasera.....	11
3.1.4. Podjela lasera.....	13
3.1.5. Poluvodički laseri.....	14
4. Utjecaj elektromagnetskog zračenja na klijavost	15
5. Materijali i metode	17
5.1. Biljni Materijal.....	17
5.2. Uređaji i oprema.....	18
5.3. Određivanje standardne klijavosti i energije klijanja.....	19
5.4. Statistička obrada.....	20
6. Rezultati i rasprava	21
7. Zaključak	25
8. Popis literature.....	26
9. Popis Slika.....	29
Životopis.....	30

Sažetak

Diplomskog rada studenta **Matej Maretić**, naslova

DEAKTIVACIJA POTENCIJALA KLIJAVOSTI SJEMENA AMBROZIJE

Ambrozija je jedan od najznačajnijih korova u poljoprivrednoj proizvodnji. Biljka godišnje proizvede veliku količinu sjemena koje dugo zadržavaju svoju klijavost. Važno je učinkovito suzbijanje ambrozije kako bi se njena populacija svela na tolerantnu razinu. Dobre rezultate pokazala je kombinacija mehaničkog i kemijskog suzbijanja ove biljke.

Cilj ovog istraživanja je istražiti mogućnost primjene lasera male izlazne snage u svrhu deaktivacije potencijala klijavosti ambrozije. Korišteno sjeme je tretirano trima laserima različite maksimalne snage (100 mW, 200 mW i 500 mW) u tri različite duljine trajanja tretmana (10 s, 30 s i 60 s).

Na temelju rezultata ovog istraživanja zaključujemo kako laserski tretman može izazvati smanjenje energije klijanja i ukupne klijavosti sjemena ambrozije.

Ključne riječi: ambrozija, laser, energija klijanja, klijavost

Summary

Of the master's thesis – student **Matej Maretić**, entitled

DEACTIVATION OF AMBROSIA SEED GERMINATION POTENTIAL

Ambrosia is known as one of the most problematic weeds in agricultural production. The plant annually produces a large number of seeds that retain their germination for a long time. It is important to effectively control ragweed to reduce its population to a tolerable level. A combination of mechanical and chemical control of this plant has shown good results.

The goal of this research was to use a laser to deactivate the Ambrosia germination potential. The seed used was treated with three lasers of different output power (100 mW, 200 mW and 500 mW) during three different treatment periods (10 s, 30 s and 60 s).

Based on the results of this research, we can conclude that laser treatment can have a negative impact on ragweed seeds in the form of reduced germination energy and total germination.

Keywords: ambrosia, laser, germination energy, germination

1. Uvod

Ambrozija (*Ambrosia artemisiifolia*, L.), u Hrvatskoj je poznata pod nazivima pelinosni limundžik, partizanka i fazanuša. Vrlo je raširen korov i najrasprostranjenija je vrsta iz roda *Ambrosia*. Iz Amerike je prenesena u Europu brodovima 1863. godine kada je sa sjemenom djeteline dospjela u Njemačku. Danas je rasprostranjena u gotovo svim područjima RH, osobito između rijeka Save i Drave te dominira u kontinentalnom dijelu državne teritorija gdje predstavlja značajan agronomski i javnozdravstveni problem.

Ambrozija je jednogodišnja zeljasta biljka koja može narasti i do 1 metar visine. Vegetacijski period ambrozije traje od 150 do 170 dana, ovisno o ekološkim uvjetima. U našim krajevima niče sredinom travnja, a s cvatnjom započinje od sredine srpnja i cvatnja traje sve do pojave prvih mrazeva.

Danas ambrozija predstavlja jedan od najznačajnijih korova u poljoprivrednoj proizvodnji. Štete koje ova biljka nanosi poljoprivrednoj proizvodnji vrlo su velike i raznovrsne. Ona mehanički guši usjev oduzimajući uzgajanoj biljci nadzemni i podzemni prostor, smanjuje prinos i kvalitetu uzgajanih biljaka, smanjuje količinu vode u tlu, oduzima velike količine hraniva iz tla, snižava temperaturu tla, otežava obradu tla, prijelazni je domaćin štetočinama i uzročnicima biljnih bolesti te u konačnici uzrokuje poskupljenje poljoprivredne proizvodnje. Ambrozija je također poznata kao izuzetno opasan alergen i sve je veći problem u humanoj medicini.

Postoje 3 različite mjere suzbijanja ambrozije, a to su mehaničke mjere koje uključuju pravovremeno uništavanje ove biljke čupanjem ili košenjem, prije nego počne period cvjetanja. Agrotehničke mjere koje predstavljaju osnovne agrotehničke mjere suzbijanja korova, međuredno kultiviranje oko okopavina i slično, te kemijske mjere koje se koriste na nepoljoprivrednim zemljištima, a uključuju upotrebu neselektivnih herbicida na bazi glikofosfata, glikofosfinatamonijuma, dihlorbenila ili imazapira, a mogu se izvoditi isključivo u ranim fazama rasta biljke. U mnogim europskim zemljama doneseni su brojni zakonski propisi u vezi iskorjenjivanja ambrozije kojima se nalaže svim pravnim i fizičkim osobama poduzimanje obaveznih mjera uništavanja ambrozije.

Sjeme ambrozije često se može naći u smjesi s drugim sjemenskim materijalom te ga je zbog njegovih fizikalnih karakteristika ponekad teško ili gotovo nemoguće ukloniti što doprinosi širenju ove biljke. Deaktivacija potencijala klijavosti takvog sjemena ambrozije može imati značajan utjecaj na kontrolu njenog širenja. Poznato je da laseri mogu izazvati određene promjene na sjemenskom materijalu, pa tako mogu i uzrokovati ozbiljna oštećenja, pogotovo reproduktivnog dijela sjemena čime se smanjuje ili čak onemogućuje sposobnost klijanja.

1.1. Cilj rada

Cilj rada je utvrditi mogućnost primjene lasera u svrhu deaktivacije potencijala klijavosti sjemena ambrozije.

2. Ambrozija

2.1. Sistematika ambrozije

Ambrozija (*Ambrosia artemisiifolia* L.) spada u rod *Ambrosia*. Rod *Ambrosia* botanički pripada porodici *Asteraceae* – glavočike (Tablica 2.1.). Biljke ovog roda poznate su kao biljke „pioniri“, što označava njihovu dobru sposobnost koloniziranja praznog zemljišta s kojega je uklonjena uobičajeno prisutna vegetacija.

Rod sadrži preko 40 vrsta, od kojih je obična ambrozija (*A. artemisiifolia*) najpoznatija i najraširenija. Uz običnu ambroziju u Europi su prisutne: *Ambrosia maritima* L, *Ambrosia psilostachya*, *Ambrosia trifida*, *Ambrosia tenuifolia*. Sve su vrste, osim *Ambrosia maritima*, porijeklom iz Sjeverne ili Južne Amerike. *Ambrosia maritima* je jedina koja potječe iz Europe, a obitava na području Mediterana, dok su ostale četiri vrste donesene u Europu i predstavljaju vrlo invazivne korove (Grgić, 2014.).

Tablica 2.1. Botanička klasifikacija roda *Ambrosia* u više taksonomske jedinice

Nadcarstvo:	<i>Eukaryota- Eukarioti</i>
Carstvo:	<i>Plantae- Biljke</i>
Podcarstvo:	<i>Viridaeplantae</i>
Razred:	<i>Tracheophyta-Vaskularne biljke</i>
Podrazred:	<i>Euphyllophytina</i>
Klasa:	<i>Magnoliopsida-Dikotiledone biljke</i>
Podklasa:	<i>Asteridae</i>
Nadred:	<i>Asteranae</i>
Red:	<i>Asterales</i>
Porodica:	<i>Asteraceae</i>
Podporodica	<i>Asteroideae</i>
Pleme:	<i>Heliantheae</i>
Rod:	<i>Ambrosia sp.</i>

Izvor: <https://repositorij.fazos.hr>



Slika 2.1. Ambrozija
Autor: Matej Maretić

2.2. Morfološke karakteristike ambrozije

Korijen ambrozije je vretenast, jak, obrastao s dosta bočnog korijenja (Slika 2.2.), osigurava lako prodiranje u tlo što biljci daje potrebnu čvrstoću i omogućava joj siguran dolazak do hraniva. Korijen je kratak, zbijen, razgranat. Ovisno o tipu tla na kojem raste, obično ne prodire u dublje slojeve (Grgić, 2014.).



Slika 2.2. Korijenov sustav ambrozije

Autor: Matej Maretić

Stabljika (slika 2.3) je zeljasta, bočni izdanci su razgranati i u gornjem dijelu tvore grm. Boja joj varira od zelenosive do crvenkaste. Poprečni presjek je okrugao ili četverobridan. Cijela stabljika je obrasla bijelim dlačicama koje su, u odnosu na listove, manje brojne. Visina ambrozije varira ovisno o klimatskim uvjetima, pa je tako visina uglavnom 20 - 80 (150) cm. Iznimno, u optimalnim uvjetima, visina biljke može biti i preko 2 metra (Grgić, 2014.).

List (slika 2.4.) podsjeća na pelin, po čemu je vrsta dobila ime. Listovi su naizmjenični i perasto dijeljeni u uske, lančasto-izdužene režnjeve. Vidljiva je razlika lica i naličja lista (bifacijalni list), koji su tamnozeleni, tj. sivozelene boje (Grgić, 2014.).

Ambrozija je jednodomna biljka, što znači da se na istoj biljci nalaze i muški i ženski cvjetovi. Cvjetovi ambrozije su jednospolni, cjevasti, mali, žuti i neupadljivi. Muški cvjetovi (10-15 cvjetova) skupljeni su u poluloptaste i viseće glavice, a nalaze se u uspravnim klasolikim cvatovima na vrhu stabljike i njezinim ograncima. Cvijet je sastavljen od 5 latica, a prašnici su žuti i imaju oblik diska. Muški cvjetovi proizvode mnogo peluda koje je žute boje poput limuna, te zbog toga ambroziju nazivaju i limundžik (Vlaović, 2016.).

Ženski cvjetovi nalaze se u pazušcima najgornjih listova (Knežević, 2006.). Tu se nalazi po jedan ženski cvijet koji je obavijen ovojem s jednim kljunom i 4 do 8 ravnih zubaca ili bodljica. Kod ženskih cvjetova se jasno uočava jedan ispupčen tučak koji je obavijen braktejama. Iz plodnice izlaze dvije izdužene njuške tučka. Njuške su hrapave i ljepljive što omogućava lako prihvaćanje peluda koji je najčešće nošen vjetrom.



Slika 2.3. Stabljika ambrozije
Autor: Matej Maretić



Slika 2.4. Lice i naličje lista
Autor: Matej Maretić

Plod ambrozije je okruglasto jajolika roška ili ahenija. Roška ima 5 do 7 zuba poput trnja, a središnji zub je najveći (Slika 2.5.)



Slika 2.5. Plod ambrozije (roška)

Izvor: <https://extension.umass.edu>

Promjer ploda je oko 5 mm, duljina mu je 1,5 do 5 mm, a debljina je od 1 do 1,7 mm. Ambrozija godišnje daje od 500 do 3 000 sjemenki, a u ekstremnim slučajevima čak 62 000 sjemenki (Grgić, 2014.). Sjemenke ambrozije vrlo često služe kao hrana pticama, a naročito ih vole fazani, te tako ambrozija dobiva još jedno ime, a to je „fazanuša“. Sjeme zadržava svojstvo klijavosti između 20 i 40 godina, male je mase (manje od 1 g), te se lako raznosi vodom, životinjama, ljudskom aktivnošću, te vjetrom (Nikolić, 2013.).

2.3. Štetnost ambrozije

Ambrozija je porijeklom iz Sjeverne Amerike a u Europi je prvi put zabilježena 1863. godine. Pretpostavlja se da je njeno širenje započelo iz europskih luka, te da je prenesena sa sjemenjem američke djeteline, kukuruza i žitarica (Kovačević i Groman, 1964.). U južnim dijelovima Podunavlja ambrozija je pronađena 1920. godine, a samo 30 godina kasnije njeno prisustvo je zabilježeno u cijeloj regiji (Galzina i sur. 2010.). Na području Republike Hrvatske prvi put je zabilježena 1941. godine u Podravini, u okolici Pitomače (Kovačević, 1956.).

Odlikuje se velikom brzinom zbog visoke proizvodnje sjemena koje se u tlu može zadržati i do 40 godina s očuvanom sposobnosti klijanja. Galzina i sur. (2009.) navode da se ambrozija na nova područja godišnje može proširiti od 6 do 20 km.

Ambrozija je veoma agresivna biljka poljoprivrednih i nepoljoprivrednih staništa. Osim izravnoga utjecaja na prinos ova vrsta predstavlja i ozbiljan medicinski problem sve većem broju stanovništva. Utjecaj ambrozije na poljoprivredu i na kvalitetu svakodnevnog života razlog je pomnom istraživanju njene biologije i mogućnosti suzbijanja (Šarić i sur. 2011.).

Ambrozija nastanjuje sva svjetla, napuštena i antropogena staništa. Tako da je danas nalazimo je poljima, posebice u usjevima kao što su suncokret, soja, kukuruz i šećerna repa. Također je prisutna u značajnim količinama i na strništima, nakon žetve žitarica. Pored toga, njena prisutnost je značajna na ruderalnim staništima, zapuštenim gradilištima, uz ceste, kanale, željezničke pruge i sl. (Štefanić i sur., 2005.).

Vrlo je široke ekološke amplitude, posebno je tolerantna na vlagu i temperaturu. Otporna je i na mehaničko uklanjanje, jer i nakon košnje ponovo potjera. Najveći utjecaj ima na ljudsko zdravlje jer izaziva jake alergije u ljudi, ali svojom agresivnošću potiskuje i autohtonu vegetaciju (Nikolić i sur. 2014.). Svaki deseti stanovnik Hrvatske, po procjeni, boluje od peludne alergije, a u nekim europskim regijama, gotovo 40% stanovništva bilježi oboljenja od astme koje je izazvano alergijskim simptomima. Osim velikih dijelova Hrvatske (prije svega Istra, Slavonija, okolica Zadra i Makarske), ambrozija predstavlja značajan problem i u Srbiji, Mađarskoj, Francuskoj, Njemačkoj, Češkoj, Slovačkoj, Švicarskoj, Bugarskoj, Rumunjskoj, Litvi i Poljskoj (www.dw.com).

Kiss i Beres (2006.) navode da je ambrozija u znatnoj mjeri zapažena uz nove ceste, autoceste, trgovačke centre i sl. U manje od deset godina, postaje najrašireniji korov u ruralnim i urbanim područjima zemalja srednje Europe, kao i u mnogim susjednim zemljama, s iznimkom Austrije, gdje su standardi održavanja krajobraza na visokoj razini.

U poljoprivredi, ambrozija nanosi velike štete i smanjuje prinos zahvaljujući svom velikom korijenskom sustavu i velikoj vegetativnoj masi tako što uzima vodu i hraniva, te značajno osiromašuje tlo.

2.4. Mjere za uklanjanje ambrozije

U Republici Hrvatskoj na snazi je Naredba o poduzimanju mjera obveznog uklanjanja ambrozije (NN 72/2007). Prema članku 2. navedene Naredbe obveznici su dužni tijekom vegetacijske sezone tekuće godine, u više navrata, sa svojih površina (uključujući i rubove parcela, šuma i poljskih putova) redovito uklanjati i suzbijati ambroziju sljedećim mjerama:

- Agrotehničkim: pridržavanjem plodoreda, obradom tla, pravovremenom sjetvom i gnojidbom kulture, višekratnim prašenjem strništa i neobrađene (nezasijane) poljoprivredne površine;

- Mehaničkim: međurednom kultivacijom, okopavanjem, pljevljenjem i pročupavanjem izbjeglih biljaka, redovitom (višekratnom) košnjom, priječenjem prašenja i plodonošenja biljaka;
- Kemijskim: uporabom učinkovitih herbicida koji imaju dozvolu za promet i primjenu u Republici Hrvatskoj za suzbijanje ambrozije, a u skladu s uputom za primjenu koja je priložena uz sredstvo.

Europske zemlje različito zakonski reguliraju primjenu herbicida u postupku suzbijanja ambrozije. Galzina i sur. (2009.) navode kako mali broj herbicidnih pripravaka ima dozvolu za primjenu u parkovima, na željezničkim prugama, uz ceste i dr. površinama.

Mutch i sur. (2003.) istraživali su mogućnost suzbijanja ambrozije na strništima nakon žetve pšenice. Umjesto kemijskog suzbijanja korova strništa su zasijali djetelinskim smjesama i znatno smanjili populaciju ambrozije.

Bassett i Crompton (1975.) su utvrdili kako sjemenke ambrozije koje se nalaze dublje ispod površine tla kasnije niču i to u znatno manjem broju, u odnosu na sjeme ambrozije koje se nalazi na samoj površini tla.

Chandi i sur. (2012.) su utvrdili da je ambrozija otporna na herbicide iz skupine acetolaktat sintaze (ALS).

Leskovšek i sur. (2012.) su istraživali su utjecaj dušika i vodnog režima na ambroziju. Autori su utvrdili da su biljke ambrozije povećale proizvodnju suhe tvari s povećanjem količine dostupne vode i dušika što sugerira da povećanje tih parametara igra važnu ulogu u njenom uspješnom širenju.

U urbanim sredinama primjena kemijskih mjera za suzbijanje vrlo je ograničena te se stoga posljednjih godina značajno istražuju i mogućnosti biološkog suzbijanja primjenom patogenih gljivica i štetnika.

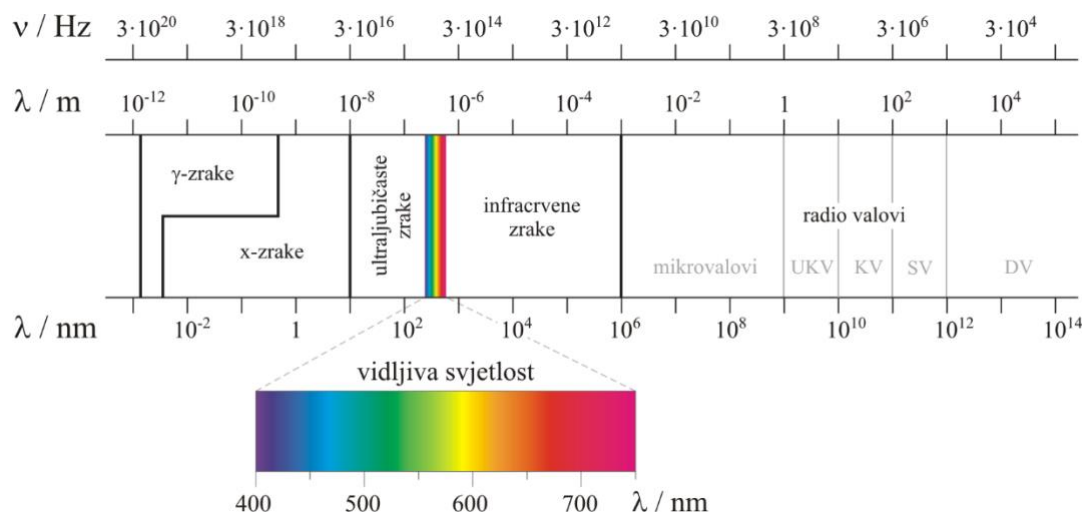
Hartmann i Watson (1980.) proučavali su mogućnost korištenja biljne patogene gljivice *Albugo tragopogi* (Pers.) – „bijela hrđa“ koju su nasadili na sjeme ambrozije. Autori su zaključili da navedeni mikroorganizam smanjuje proizvodnju peludi i sjemena u odnosu na nezaražene biljke ambrozije.

3. Elektromagnetsko zračenje

Zračenje predstavlja prijenos energije putem čestice ili vala. Elektromagnetsko zračenje je fizikalna pojava širenja električnih i magnetskih valova koja se može interpretirati kao val ili kao čestica, pri čemu su fotoni elementarne čestice koje kvantificiraju elektromagnetsko zračenje. Oni se gibaju brzinom svjetlosti (3×10^8 m/s) i sadrže određenu količinu energije. Elektromagnetsko zračenje opisuje se sa stajališta prijenosa energije mnoštvom energetskih paketa (fotona) kroz prostor. Na ovaj način elektromagnetskom valu se daju i čestična obilježja, jer se tako ponaša mnoštvo mikročestica kada se gibaju velikom brzinom. Smjer širenja vala okomit je i na smjer električnog i na smjer magnetskog polja, a to

znači da su elektromagnetski valovi transverzalni valovi. Prijenos energije EM valom omogućen je titranjem električnog i magnetskog polja.

Osobine elektromagnetskog zračenja ovise o njegovoj frekvenciji i valnoj duljini, te su, s obzirom na njih, prikazani elektromagnetskim spektrom. Spektar je podijeljen na ionizirajuće i neionizirajuće zračenje. Ionizirajuće zračenje ima mogućnost izbaciti elektron iz ljuske atoma, te ga tako ionizirati. Drugi dio spektra, valovi manje energije ne mogu uzrokovati ionizaciju, pa ih se naziva neionizirajućima (Brković, 2008.). Prema valnoj duljini i frekvenciji sveukupni spektar elektromagnetskih valova može se podijeliti na nekoliko područja, a to su: radiovalovi, mikrovalovi, infracrveno zračenje, vidljiva svjetlost, ultraljubičasto zračenje, rendgensko zračenje, gama zrake i kozmičko zračenje. Unutar tog spektra valne duljine vidljive svijetlosti zauzimaju jako usko područje od 0,4 μm – 0,8 μm .



Slika 3.1. Spektar elektromagnetskog zračenja

Izvor: <https://glossary.periodni.com>

Umjetno stvoreni elektromagnetski val nastaje jer se oko vodiča kojim teče električna struja stvara magnetsko polje, koje na krajevima vodiča opet inducira električni napon. Uslijed tih pojava dolazi do prožimanja električnog i magnetskog polja pa čine novo – elektromagnetsko polje. Elektromagnetski valovi poseban su oblik elektromagnetskog polja kod cikličke izmjene električne pobude u vodiču.

3.1. Laseri

LASER je skraćena od skupa riječi: Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation, tj. pojačavanje svjetlosti stimuliranom emisijom zračenja. Laser je moguće opisati kao sinkroni svjetlosni oscilator odnosno generator monokromatske, koherentne i usmjerene svjetlosti. Velika prednost lasera je u tome što ima mogućnost fokusiranja na snop malog

promjera (< 1 mm), što je nemoguće kod nekoherentne svjetlosti. Laserska svjetlost generira se mehanizmom stimulirane emisije (Ban, 2008.).

3.1.1. Povijesni razvoj lasera

Još je davne 1917. godine u svom radu „On the Quantum Theory of Radiation“ Albert Einstein dao teorijski koncept i previdio izum lasera i njegove preteče masera. MASER je uređaj koji radi na jednak način kao i laser, ali u drugom frekvencijskom području. MASER je izvor mikrovalova, dok je laser izvor elektromagnetskih valova u infracrvenom i vidljivom dijelu spektra. Naziv laser je predložio Gould još 1959. godine u svom radu The LASER (Grgić, 2017.).

Prvi laser napravio je Theodore H. Maiman 1960. godine na Huges Research Laboratorije Malibu, California. Njegov je laser emitirao svjetlost valne duljine 694 nm u pulsnom režimu, a lasersku emisiju postigao je stimuliranom emisijom iz rubinskog kristala pobuđenog svjetlosnim snopom iz svjetiljke. Maiman je pomoću bljeskalice obasjavao crveni kristal rubina, čije su plohe bile posrebrene i čime je izazvao lasersku emisiju u crvenom dijelu spektra na 694 nm. Na taj način, objedinio je u svom uređaju osnovna tri elementa koji su potrebna da bi došlo do stvaranja laserske emisije: aktivni medij (rubinski kristal), rezonatorsku šupljinu s dva rubna zrcala (posrebrene plohe kristala) u kojoj se odvija laserska emisija i optičku crpku (bljeskalica) koja daje energiju koja pokreće sam laserski efekt (Ištoković, 2011.).



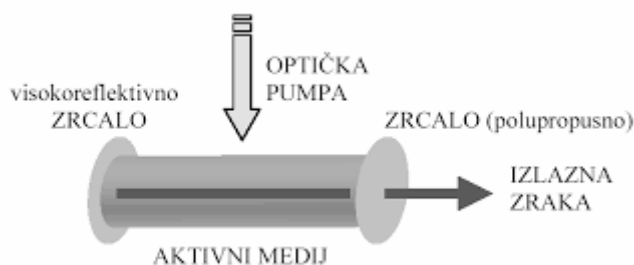
Slika 3.2. Maimanov laser

Izvor: <http://eskola.hfd.hr>

3.1.2. Dijelovi lasera

Laser se sastoji od četiri osnovna dijela:

- optičkih rezonatora (visokoreflektivno i polupropusno zrcalo),
- aktivnog medija,
- laserske/optičke crpke,
- izlazne laserske zrake.



Slika 3.3. Dijelovi lasera

Izvor: <http://eskola.hfd.hr>

Optički rezonator sastavljen je od dva paralelno postavljena ogledala od kojih je jedno 100% reflektirajuće te ima zadatak da emitirane fotone ponovno vrati u aktivnu sredinu s ciljem propagacije reakcije pobuđivanja. Kada emitirani fotoni dođu do drugog ogledala koje je polupropusno, oni se djelomično reflektiraju i vraćaju u aktivnu sredinu pa se tako proces pobuđivanja nastavlja, a jedan dio fotona prolazi kroz staklo i tvori lasersku zraku sa svim njezinim karakteristikama. Sustav reflektirajućeg i polurefektirajućeg ogledala strogo usmjerava formiranje laserskog snopa (Grgić, 2017.).

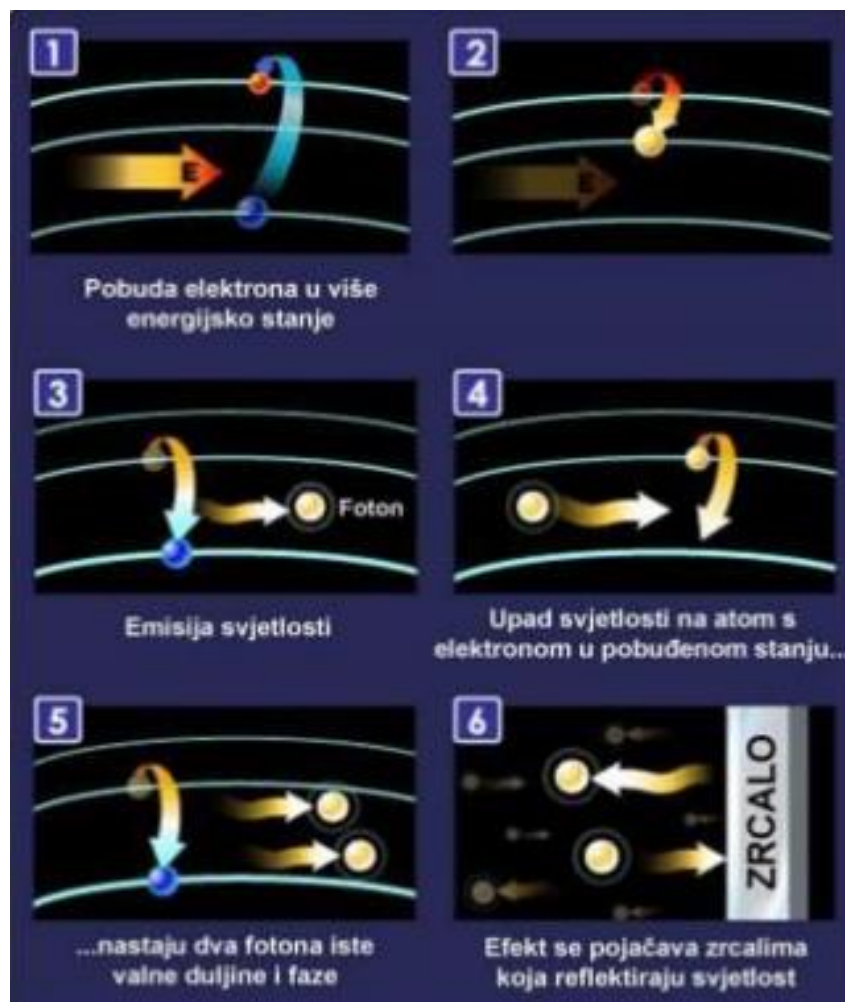
Aktivni odnosno laserski medij određuje na kojoj će valnoj duljini raditi laser i u njemu sa svakim prolazom fotona dolazi do pojačavanja laserske svjetlosti. Pobudom iz vanjskog izvora stvara se inverzija naseljenosti energetskih razina, a time i stimulirana emisija fotona i stvaranje laserske svjetlosti (Maršal, 2019.).

Optička crpka osigurava energiju potrebnu za rad lasera. Ta energija može biti električno pražnjenje naboja, eksplozija, kemijska reakcija, bljeskalica ili elektrolučna svjetiljka (Maršal, 2019.).

3.1.3. Princip rada lasera

Atom koji je u stabilnom stanju posjeduje jedan elektron koji kruži oko jezgre. Na takav atom upada foton kojeg emitira optička crpka i budući da je taj foton upravo odgovarajuće energije dolazi do apsorpcije fotona i elektron se prebacuje u nestabilno energijsko stanje. To nestabilno energijsko stanje traje jako kratko, što znači da se elektron u vrlo kratkom vremenu

prebacuje u energijski niže stanje koje je ujedno i stabilnije stanje. To je proces relaksacije jer se kod njega ne mora nužno emitirati foton, već se energija može izgubiti i neradijativnim procesima. Nakon određenog vremena elektron prelazi u osnovno stanje emisijom fotona. Emitirani foton putuje po rezonatoru (kojeg čine dva zrcala) i na jednom se zrcalu reflektira natrag. Kada ponovo dođe do spomenutog atoma zatekne ga u pobuđenom stanju jer je on u međuvremenu primio novi foton od optičke crpke. Pri tom nastaje inverzija naseljenosti, tj. neravnotežno stanje u atomu u kojem je naseljenost nekog pobuđenog stanja veća od naseljenosti osnovnog stanja. Inverzija naseljenosti je nužan uvjet za generiranje laserske emisije. U uvjetima inverzije naseljenosti stimulirana emisija nadjača spontanu emisiju i pri tome dolazi do pojačanja intenziteta svjetlosti, odnosno laserske emisije. Fotoni nastali procesom stimulirane emisije potpuno su identični i upravo je to uzrok koherentnosti laserskog zračenja (Ban, 2008.).



Slika 3.4. Prikaz procesa nastajanja laserskog zračenja

Izvor: <http://eskola.hfd.hr>

3.1.4. Podjela lasera

Lasere možemo podijeliti u tri skupine ovisno o svojstvima koja se promatraju:

- 1) Prema načinu rada:
 - pulsni – povremeni (impulsni),
 - kontinuirani – trajni,
- 2) Prema agregacijskom stanju optičkog pojačala:
 - plinski,
 - laseri čvrstog stanja,
 - tekući,
 - poluvodički.
- 3) Prema načinu pobude:
 - pobuda optičkim sredstvom,
 - pobuda kemijskom reakcijom,
 - pobuda sudarima elektrona i atoma u plinskom izboju (Maršal, 2019).

Pulsni ili povremeni laseri koriste potpuno nepropusna zrcala i jedno od tih zrcala se periodički pomiče izvan optičkog puta lasera. Kada se zrcalo ne pomiče sa svoga mjesta ono zadržava zraku unutar rezonatora i ta se zraka zbog stimulirane emisije zračenja pojačava. Uklanjanjem zrcala laser ispušta kratki puls intenzivnog laserskog zračenja. Puls se može proizvesti i ako u rezonator stavimo određeno bojilo koje apsorbira zračenje. Apsorpcijom zračenja molekule prelaze u pobuđeno stanje i kada sve dođu u pobuđeno stanje više ne mogu apsorbirati nego propuštaju zračenje. Fotoni ne mogu proći kroz lasersku zraku dok se ne uspostavi inverzija naseljenosti u laserskom mediju. Sve dok bojilo ne postane prozirno laserski medij se puni energijom i kada se postigne prozirnost energija iz medija se pretvara u lasersku zraku (Maršal, 2019.).

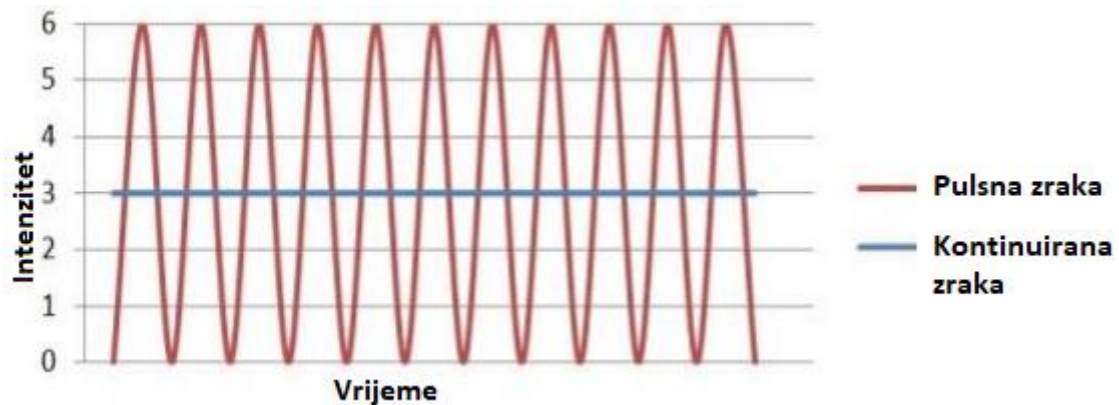


Slika 3.5. Pulsna laserska zraka

Izvor: <http://eskola.hfd.hr>

Kontinuiranom (trajnom) laseru optičko pojačalo nalazi se između dva paralelna zrcala (rezonator). Jedno zrcalo je 100% nepropusno, odnosno reflektirajuće, dok drugo zrcalo propušta malu količinu svjetla (manje od 1%). Unutar rezonatora dolazi do reflektiranja snopa,

energiji zračenja raste gustoća i kada se postignu uvjeti za lasersko emitiranje, snop izlazi iz laserske šupljine i prolazi kroz polupropusno zrcalo. Dakle kod kontinuiranih lasera svjetlost je konstantna u vremenu, dok se kod pulsni mijenja periodički (Maršal, 2019.).



Slika 3.6. Kontinuirana i pulsna zraka

Izvor: <https://repositorij.vuka.hr>

3.1.5. Poluvodički laseri

Poluvodički laseri su ujedno i najčešće korišteni tip lasera u svakodnevnoj upotrebi. To su laseri koji emitiraju kontinuirano zračenje, obično manjih izlaznih snaga, najčešće u crvenom i infracrvenom dijelu spektra. Kao aktivni medij, a ujedno i rezonator koriste poluvodičku pločicu (Ban, 2008.).

Najčešće upotrebljavani laser u ovoj skupini je galij-arsenidski laser (GaAs). Do pojave poluvodičkih lasera došlo je 1962. upotrebom p-n spoja kristala galij-arsenida GaAs. Aktivni materijal je tanki sloj (0,1mm - 5 mm) GaAs koji tvori dva heterospoja s „p“ i „n“ tipom kristala. Lasersko djelovanje je ograničeno na sloj GaAs, potrebna gustoća struje je vrlo mala što omogućuje da laser emitira neprekinuti snop svjetlosti pri sobnoj temperaturi. Osim toga sloj GaAs je veoma uzak, veličine mikrometra, pa je izvor zračenja vrlo malih dimenzija. Kao aktivni medij, a ujedno i rezonator pored GaAs u novije vrijeme se koriste i poluvodičke pločice tipa InP (indij fosfid), GaSb (galij-antimon) ili GaN (galij nitrid). Njihova široka upotreba rezultat je masovne proizvodnje, zbog jednostavne tehnologije izrade i niske cijene.

Višak elektrona s n-strane poluvodiča predstavlja nosioce struje, dok na p-strani poluvodiča prevladavaju pozitivne šupljine koje predstavljaju nedostatak elektrona. Kada se na p-stranu dovede pozitivan napon, a na n-stranu negativan, elektroni se sudaraju te se nalaze u prostoru tzv. kvantna jama gdje se rekombiniraju i dolazi do emisije fotona. Ako su krajevi diode zrcala, dolazi do laserskog učinka, odnosno emitiranja istovrsnih koherentnih fotona. Energija fotona (boja svjetlosti) određena je svojstvima poluvodičkog spoja (Grgić, 2017.).

Poluvodički laseri imaju nekoliko prednosti naspram ostalih lasera, lagani su i kompaktni, često veličine do 1 mm³. Karakteristični su radi male potrošnje električne energije i imaju visoku efikasnost pretvorbe električne energije u svjetlost. Jedna od najvažnijih značajki je mogućnost direktne modulacije intenziteta, što se postiže promjenom napona. Od ostalih lasera, poluvodički laser se razlikuje zato što je njima potreban dodatni element kako bi to postigli, a samim time im raste cijena i kompaktnost. Pouzdani su, a procjena trajanja jednog poluvodičkog lasera je 10000 radnih sati bez značajnog pada kvalitete. Poluvodički laseri uz brojne pogodnosti imaju i nekoliko nedostataka. Ovisi o temperaturi okoline u kojoj se nalaze, tj. nestabilni su pri različitim temperaturama. Zbog svoje kompaktnosti velik se broj elemenata, koji sudjeluju u stvaranju laserske zrake, nalazi na maloj površini. Na kraju, zbog malog vodiča laserske zrake dolazi do značajne divergencije izlaznog snopa svjetlosti; zato je nužno korištenje vanjske leće kako bi se usmjerila laserska svjetlost (Basu, 2015.).

4. Utjecaj elektromagnetskog zračenja na klijavost

Klijavost sjemena predstavlja broj normalnih klijanaca nastao u određenom vremenu (ovisno o vrsti) spram ukupnog broja sjemenki stavljenih na naklijavanje iz iste partije sjemena, utvrđen u laboratorijskim uvjetima. Klijavost se izražava dvama parametrima: energijom klijanja i ukupnom klijavosti. Energija klijanja daje uvid u početni rast biljke, a ukupna klijavost koliko se može očekivati proklijalih biljaka. Oba se izražavaju u postotnim iznosima, određuju istovremeno (kao u prethodno objašnjenom postupku), s razlikom u duljini provođenja ispitivanja, koja ovisi o vrsti.

Brojna istraživanja provedena su na temu utjecaja laserskog zračenja na klijavost i vigor sjemena. Cilj tih istraživanja uglavnom je bio analiza utjecaja izlazne snage lasera i duljine tretmana, a najčešće se koristilo sjeme žitarica zbog svoje raširenosti i značaja u svjetskoj proizvodnji.

Jović i sur. (2006) i Nenadić i sur. (2008) tijekom laserskog tretmana biljnog materijala koristili su fokusiranu koherentnu svjetlost usmjerenu u određenu točku na površini zrna. Ta metoda se nije pokazala učinkovitom jer je postupak zahtijevao fokusiranje svjetlosti na svako zrno posebno, a to je zahtijevalo više vremena za pozicioniranje svakog pojedinog zrna ispod lasera. Učinkovitijom se pokazala metoda s raspršenim (raširenim) koherentnim svjetlom pri čemu je osvjetljeno određeno područje na kojemu je više sjemenki moglo biti izloženo istom izvoru. Jović i sur. (2004) istraživali su mehanizme samooporavljanja koji se javljaju kao reakcija zrna na lasersku stimulaciju. Autori navode da to ponašanje uključuje promjenu klijavosti, a mehanizmi kojima se to postiže vjerojatno su holografska reakcija DNK zrna na lasersku stimulaciju. Osim u procesu biostimulacije, istraživanja su pokazala da se laseri mogu uspješno primijeniti pri uklanjanju viška vode iz zrna i mikroorganizama s površine zrna (Jović, i sur, 2004; Jović, i sur, 2006,) Do sada provedena istraživanja ukazuju na pozitivne rezultate primjene laserskog tretmana u procesu uklanjanja vlage i u stimulaciji klijanja (Nenadić i sur., 2007.; Nenadić i sur., 2008.; Jović i sur., 2006). Isti autori također navode i smanjenje populacije mikroorganizama nakon tretmana zrna laserom male izlazne snage. Mehanizam djelovanja laserske svjetlosti na uklanjanje vlage i mikrobne populacije još uvijek je djelomično

nerazjašnjen pa je ove procese potrebno je još dodatno pažljivo istražiti. Također, rezultati istraživanja navedenih autora pokazali su i da klice zrna tretiranih laserom imale zeleniju boju nego kod zrna tretiranih fungicidima ili zrna bez ikakve obrade.

Jović i sur. (2006) u svojim istraživanjima koriste laser male izlazne snage, navodeći da izlaganje zrnatog materijala laserskoj svjetlosti veće snage može trajno oštetiti zrno, a pogotovo klicu iako je period izloženosti vrlo kratak. Autori također navode da iako laserska svjetlost osvjetljava samo jedan dio zrna, površinski sloj zrna raspršuje laserske zrake po cijeloj površini zrna. Zbog te pojave samo vrijeme tretmana može biti skraćeno. Nenadić i sur. (2008) navode da pojedini zrnati materijali ne raspršuju laserski snop svjetla na isti način kao jer nemaju istu građu.

Prema Joviću i sur. (2006), vrijeme trajanja izloženosti zrna laserskom snopu je kraće ukoliko materijal ima tanji zaštitni površinski sloj. Ranije provedenim eksperimentima utvrđeno je da zrna s debljim površinskim zaštitnim slojem bolje raspršuju laserski snop nego zrna s tanjim slojem.

U svom radu Chen i sur. (2005.) koristili su He-Ne laser i mikrovalove da bi dokazali pozitivan utjecaj elektromagnetskog zračenja na klijavost sjemenskog materijala. Autori su utvrdili da nema razlike između tretmana laserom i mikrovalovima te zaključili da do povećane enzimatske aktivnosti u sjemenu dolazi zbog utjecaja elektromagnetskog zračenja na stanične molekule pri čemu se povećava biološka aktivnost, entropija kao i inicijalna energija koju sjeme sadrži. Njihovu hipotezu potvrđuju Podlešna i sur. (2015.). Navedeni autori su analizirali utjecaja He-Ne lasera na klijanje, rasti i razvoj graška. Tretmani su se razlikovali u broju doza zračenja (jedna doza je iznosila $4 \times 10^{-3} \text{ J cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$), a koristili su tri različita tretmana od 0, 3 i 5 doza. Dobiveni rezultati bili su jednaki u tretmanima sa 3 i 5 doza. Tretirano sjeme značajno je brže i ujednačenije nicalo te je, dalo značajno veći prinos. Dobiveni rezultati potvrđuju hipotezu Chen i sur. (2005.) koji navode i da se laserskom tretmanom u ranim fazama razvoja značajno povećana koncentracija enzima IAA te amilolitičkih enzima.

Vasilevski (2003.) navodi mogućnost korištenja lasera kao biostimulatora. Značajno povećanje rasta i razvoja biljaka objašnjava kao posljedicu apsorbirane energije zračenja čime dolazi do povećane energetske bilance sjemena. Time se povećava intenzitet izmjene tvari i staničnih procesa što dovodi do ubrzanog rasta i razvoja. Kao rezultat tih procesa autor navodi mogućnost povećanja prinosa od 10 do čak 50%. Dinoev i sur. (2004.) iznose da nefotosintetske stanice i materijali (npr. sjeme) imaju mogućnost apsorpcije svjetlosne energije i njeno pretvaranje u kemijsku energiju te korištenje u daljnjem rastu i razvoju. Time se ubrzava nicanje i rast biljke te, shodno tome, povećana produktivnost.

Wilczek i sur. (2005.) tretirali su sjeme lucerne (*Medicago sativa* L.) He-Ne laserom intenziteta zračenja 3 i 6 mWcm^{-2} pri čemu su analizirali klijavost i zarazu sjemena biljnim patogenima (mikroorganizmima). Rezultati su pokazali značajno veću klijavost tretiranog sjemena i smanjenje zaraze biljnim patogenima, osim gljivama iz roda *Penicillium* kod kojih je došlo do povećanja zaraze.

Sahar i sur. (2014.) koristili su razne fizikalne tretmane sjemena suncokreta (*Helianthus annuus* L.) te proučavali njihov utjecaj na klijavost i faktore rasta. Najbolje su rezultate postigli tretmanom magnetskim poljem u trajanju od 15 minuta gdje su ostvarili 11 % veću klijavost u

odnosu na kontrolni uzorak. Tretman laserom (He-Ne) u trajanju od 15 minuta povećao je klijavost za 10% u odnosu na kontrolu.

Perveen i sur. (2010.) navode da je većina fizioloških procesa koji sudjeluju u rastu i razvoju sjemena regulirana raznim okolišnim čimbenicima, te da sjemenski materijal može apsorbirati ili otpustiti energiju u svoju okolinu, ovisno o zahtjevima metabolizma. Isti autori navode da osim energije pohranjene u obliku šećera, proteina, ATP-a i drugih metabolita, svaka biljka posjeduje znatnu količinu energije pohranjene unutar cjelokupne biljne strukture u obliku bioplazme. Autori također navode da porast energetskeg potencijala bioplazme, apsorbiranjem fotona odgovarajuće valne duljine može stimulirati sjeme.

Abi-Elsaoud (2013.) proveo je istraživanje na pšenici (*Triticum aestivum* L.) gdje proučava utjecaj tretmana dva tretiranja He-Ne laserom (valne duljine od 632,8 nm) na klijavost, rast, oksidativni stres i antioksidativna svojstva. Tretmani laserom (intenziteta zračenja $5,23 \text{ mWcm}^{-2}$) provedeni su predsetveno te 7 dana nakon klijanja. Tretmani su trajali 1, 3, 10, 30, 60, 180, 600, 1200 i 1800 sekundi, tj. ukupno (nakon 2 tretiranja) 2, 6, 20, 60, 120, 360, 1200, 2400 i 3600 s. Dobiveni rezultati pokazali su značajne povećanje klijavosti i promjene određenih biokemijskih i fizioloških parametara. Kao objašnjenje mehanizma djelovanja autor navodi valnu duljinu lasera, koja odgovara valnoj duljini pobuđivanja fitokroma čime dolazi do njegove aktivacije – to uzrokuje povećanje enzimatske aktivnosti kojom posreduje fitokrom te povećanom biokemijskom i fiziološkom aktivnošću.

Hernandez i sur. (2010.), u svojem radu zaključuju da je djelovanje lasera povezano je s fiziološkom i biokemijskom ovisnošću biljaka o svjetlosti. Naime, koherentna svjetlost emitirana laserom značajno povećava pobuđivanje molekula i enzima koji sudjeluju u staničnim procesima te se time povećava brzina svih procesa. Isti autori navode da utjecaj lasera može biti pozitivan, negativan ili nikakav.

Ipak, unatoč nizu pozitivnih efekata laserskog zračenja na klijavost treba imati na umu da izlaganje sjemena koherentnom svjetlu (laseru) veće izlazne snage može uzrokovati ozbiljna oštećenja biljnog materijala, pogotovo reproduktivnog dijela sjemena te može uzrokovati negativne promjene u biokemijskim i fiziološkim karakteristikama i razvoju sadnice.

To znači da ukoliko unutarnji dio sjemena upije energiju zračenja, stanice embrija se mogu oštetiti, izazivajući smrtnost ili mutagenost i smanjenje klijavosti. Zbog navedenih razloga energija zračenja treba prodirati samo u površinski sloj sjemena, tj. energiju zračenja je potrebno dozirati ovisno o morfologiji sjemena.

5. Materijali i metode

5.1. Biljni Materijal

Analize određivanja energije klijanja i standardne klijavosti su provedene u 3 ponavljanja po 100 sjemenki koje su izjednačeno raspoređene na podlogu za klijanje. Kao kontrola korišteno je netretirano sjeme ambrozije. Radni uzorak sačinjavalo je 4×100

sjemenki, odabranih nasumce iz osnovne skupine i izjednačeno raspoređenih na podlogu za klijanje. Oštećeno sjeme je unaprijed izuzeto.



Slika 5.1. Sjeme ambrozije korišteno u eksperimentu

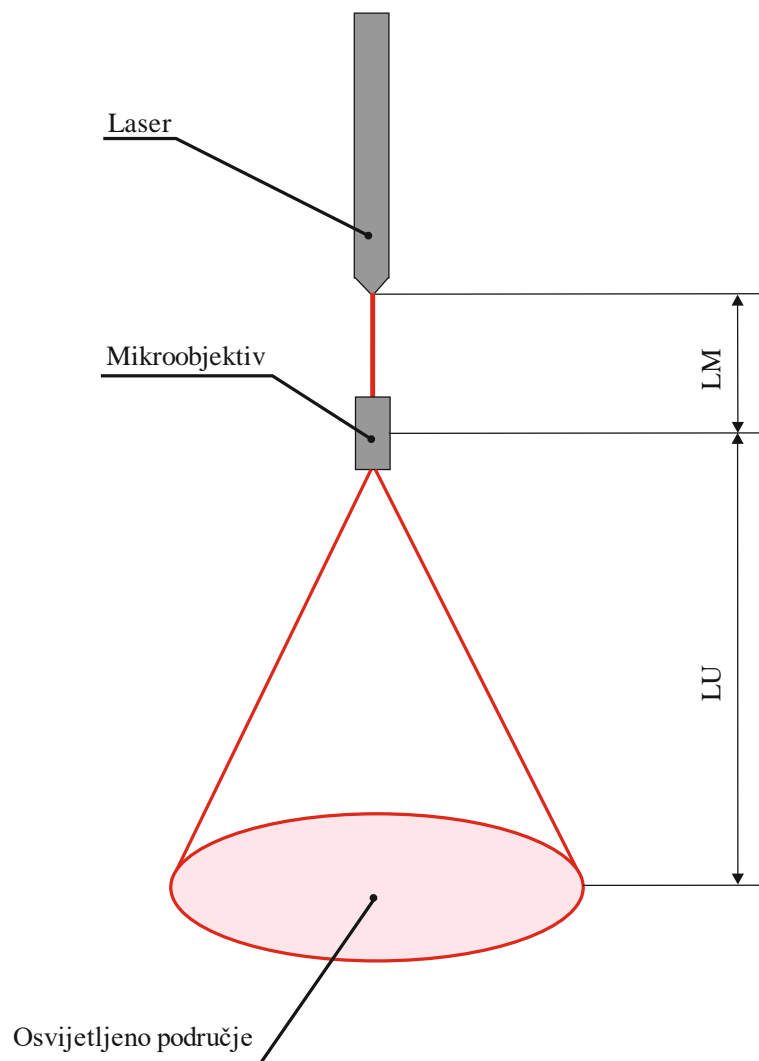
Autor: Matej Maretić

5.2. Uređaji i oprema

Tretiranje sjemena provedeno je tijekom svibnja 2021. godine u laboratoriju Zavoda za poljoprivrednu tehnologiju, skladištenje i transport. Dva su glavna elementa opreme za provođenje laserskog tretmana sjemenskog materijala: izvor koherentne svjetlosti i mikroobjektiv sastavljen od dvije optičke leće kojim se postiže širenje laserske zrake. Interakcija između koherentne svjetlosti i strukture sjemena ovisi o primijenjenoj frekvenciji (valnoj duljini) EM zračenja, vrsti sjemena i njegovom sadržaju vode.

Odabrani biljni materijal ovog istraživanja (sjeme ambrozije) tretiran je trima izvorima koherentne svjetlosti (laserima) različite izlazne snage (modeli: HLM1845 maksimalne snage 100 mW, HLP18130 maksimalne snage 200 mW i HJ-308 maksimalne snage 500 mW). Sva tri korištena izvora koherentne svjetlosti izvora imaju istu valnu duljinu od 650 nm, u crvenom dijelu vidljivog spektra svjetlosti. Različite izlazne snage su korištene kako bi se utvrdio njihov utjecaj na energiju klijanja i standardnu klijavost.

Pri provođenju laserskog tretmana sjeme je postavljeno u elementarnom sloju unutar osvijetljenog područja promjera 4 cm, što je postignuto postavljanjem udaljenosti izvora koherentne svjetlosti (lasera) i mikroobjektiva (LM) na 7 cm, a udaljenosti mikroobjektiva i tretiranog sjemena (LU) na 14 cm za 100 i 200 mW laser, te na 19 cm za 500 mW laser zato da se postigne širenje laserske zrake u promjeru od 4 cm. Tretiranje je provedeno u trajanju od 10, 30 i 60 s.



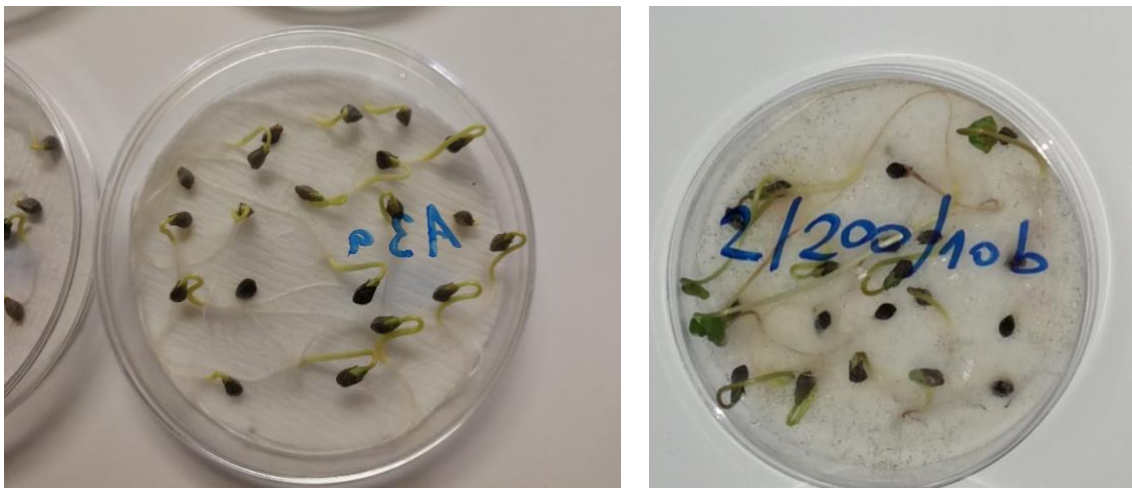
Slika 5.2. Smještaj izvora koherentne svjetlosti i položaj mikroobjektiva
Izvor: Plietić (2007.)

5.3. Određivanje standardne klijavosti i energije klijanja

Ekspiriment određivanja klijavosti i energije klijanja proveden je prema pravilima ISTA-e (2011.) – temperatura zraka 20 °C, relativna vlažnost zraka 80% i svjetlosni režim 12 sati svjetla, 12 sati tame. Kao podloga za klijanje korišten je filterpapir koji dobro upija vodu. Prema Pravilniku o temeljnim zahtjevima kakvoće, načinu ispitivanja, pakiranju i deklariranju sjemena poljoprivrednog bilja (NN 4/2005), ova vrsta podloge je načinjena od 100% čistog drveta, pamuka ili čišćenoga celuloznog vlakna, bez prisutnosti gljivica, bakterija ili toksičnih dodataka koji bi mogli utjecati na klijavost. Papirna podloga mora biti porozna, ali toliko zbijena da korijen raste na površini i ne prodire u podlogu, pri čemu se papir ne smije poderati. Podloga mora upijati dovoljno vode da ostane vlažna sve vrijeme ispitivanja klijavosti, s pH vrijednošću

između 6,0 i 7,5. Za vlaženje je korištena destilirana voda bez prisutnosti organskih i anorganskih primjesa.

Nakon tretiranja laserom, sjeme je pravilno raspoređeno u Petrijeve zdjelice, gdje je prethodno postavljena papirnata podloga navlažena sa 2 ml destilirane vode. Napunjene Petrijeve zdjelice stavljene su na naklijavanje u laboratorij s kontroliranim uvjetima. isti dan nakon završetka tretiranja. Broj proklijanih sjemenki kontroliran je svakih 48 sati, pri čemu se proklijalom sjemenkom smatrala ona čiji je korijenčić ≥ 2 mm. Energija klijanja određena je 6., a ukupna klijavost 12. dan provođenja eksperimenta. Energija klijanja i klijavost utvrđene su brojanjem normalnih klica nakon perioda predviđenog za naklijavanje. Za razliku od normalnih klica, klice za koje se ocijeni da nemaju sposobnost razvitka u normalnu biljku (oštećeni, deformirani ili istrunuli) nisu uračunate u postotak klijavosti. U postotak klijavosti također nije uračunato niti „mrtvo“ sjeme koje ne pokazuje znakove razvoja klice. Standardna klijavost predstavlja broj normalnih klica prema ukupnom broju sjemenki stavljenih na naklijavanje.



Slika 5.3. Prikaz pojedinih uzoraka na sredini i na kraju provedbe eksperimenta

Autor: Matej Maretić

5.4. Statistička obrada podataka

Za analizu je korišten generalizirani linearni model, s uključenim ponavljanjem, kao i svim interakcijama uzorka, izlazne snage lasera i trajanja tretmana. Za analizu je korišten postupak PROC GLM iz SAS programskog paketa, verzija 9.3. (2010). Dobiveni podaci obrađeni su analizom varijance, dok su razlike između srednjih vrijednosti testirane LSD testom, pri čemu je $P = 1\%$ smatrana statističkim pragom značajnosti.

6. Rezultati i rasprava

Neizostavni parametri za određivanje norme sjetve u cilju postizanja željenog sklopa biljaka u polju su energija klijanja i standardna klijavost koji predstavljaju glave pokazatelje fiziološke kvalitete sjemena. Energija klijanja i standardna klijavost usko su vezani i s potencijalnim prinosom, uglavnom preko ostvarenog sklopa biljaka u polju, ali i značajnim utjecajem na rani porast biljaka.

Poznato je da svjetlosni podražaji imaju značajan utjecaj na žive organizme. Time se može objasniti djelovanje svjetlosnog zračenja niskoenergetskih lasera koje su korišteni u eksperimentu. Površina osvijetljenog područja promjera 4 cm unutar kojeg je postavljeno sjeme tijekom tretmana iznosi:

$$A = r^2\pi = 0,001256 \text{ m}^2$$

Izračun intenziteta zračenja unutar osvijetljenog područja za laser od 100 mW vrši se prema izrazu:

$$\frac{E_{\text{laser}}}{A} = \frac{0,1 \text{ W}}{0,001256 \text{ m}^2} \times T = 79,61 \frac{\text{W}}{\text{m}^2} \times T$$

gdje su:

- T – vrijeme trajanja tretmana (s).

Isti izračun primjenjuje se i za lasere snage 200 mW i 500 mW pri čemu intenzitet iznosi 159,23 Wsm⁻², odnosno 398,09 Wsm⁻².

Površina pojedinačnih sjemenki iznosila je približno 11 mm². S obzirom da se tijekom tretmana unutar osvijetljenog područja nalazilo 100 sjemenki njihova ukupna površina iznosila je približno 1100 mm². Poznajući aktivnu površinu osvijetljenog područja koja je iznosila 0,001256 m² (1256,0 mm²) vidljivo je da je aktivna površina koju su zauzimale sjemenke unutar osvijetljenog područja iznosila 87,58%. Stoga je energija predana sjemenu unutar osvijetljenog područja iznosila 69,72 Wsm⁻² za 100 mW laser, 139,45 Wsm⁻² za 200 mW laser i 347,56 Wsm⁻² za 500 mW laser.

Energija pojedinačnog fotona kod poluvodičkog lasera iznosi:

$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda} = 3,05815 \times 10^{-18} \text{ J/foton}$$

gdje je:

- h – Plankova konstanta (6,626 x 10⁻³⁴ Js),

- ν – frekvencija fotona = $4,61538 \times 10^{15} \text{ s}^{-1}$ za poluvodički laser,
- c – brzina svjetlosti = $2,99 \times 10^8 \text{ ms}^{-1}$,
- λ – valna duljina (650 nm).

Iz navedenog slijedi da broj fotona iznosi:

$$n_{100\text{mW}} = \frac{E_{\text{lasera}}}{E_{\text{fotona}}} = \frac{0,1}{3,05815 \times 10^{-18}} = 3,27 \times 10^{16} \text{ fotona/s za 100 mW laser}$$

$$n_{200\text{mW}} = \frac{E_{\text{lasera}}}{E_{\text{fotona}}} = \frac{0,2}{3,05815 \times 10^{-18}} = 6,54 \times 10^{16} \text{ fotona/s za 200 mW laser}$$

$$n_{500\text{mW}} = \frac{E_{\text{lasera}}}{E_{\text{fotona}}} = \frac{0,5}{3,05815 \times 10^{-18}} = 16,35 \times 10^{16} \text{ fotona/s za 500 mW laser}$$

Poznajući izlazne snage lasera i broj pojedinačnih fotona, ukupna energija koju emitira izvor laserske svjetlosti tijekom tretmana od 10, 30 i 60 sekundi izračunat je pomoću sljedeće jednadžbe:

$$E_{\text{laser}} = E_{\text{pojedinačnog fotona}} \times n_{\text{fotona}} \times \text{trajanje tretmana}$$

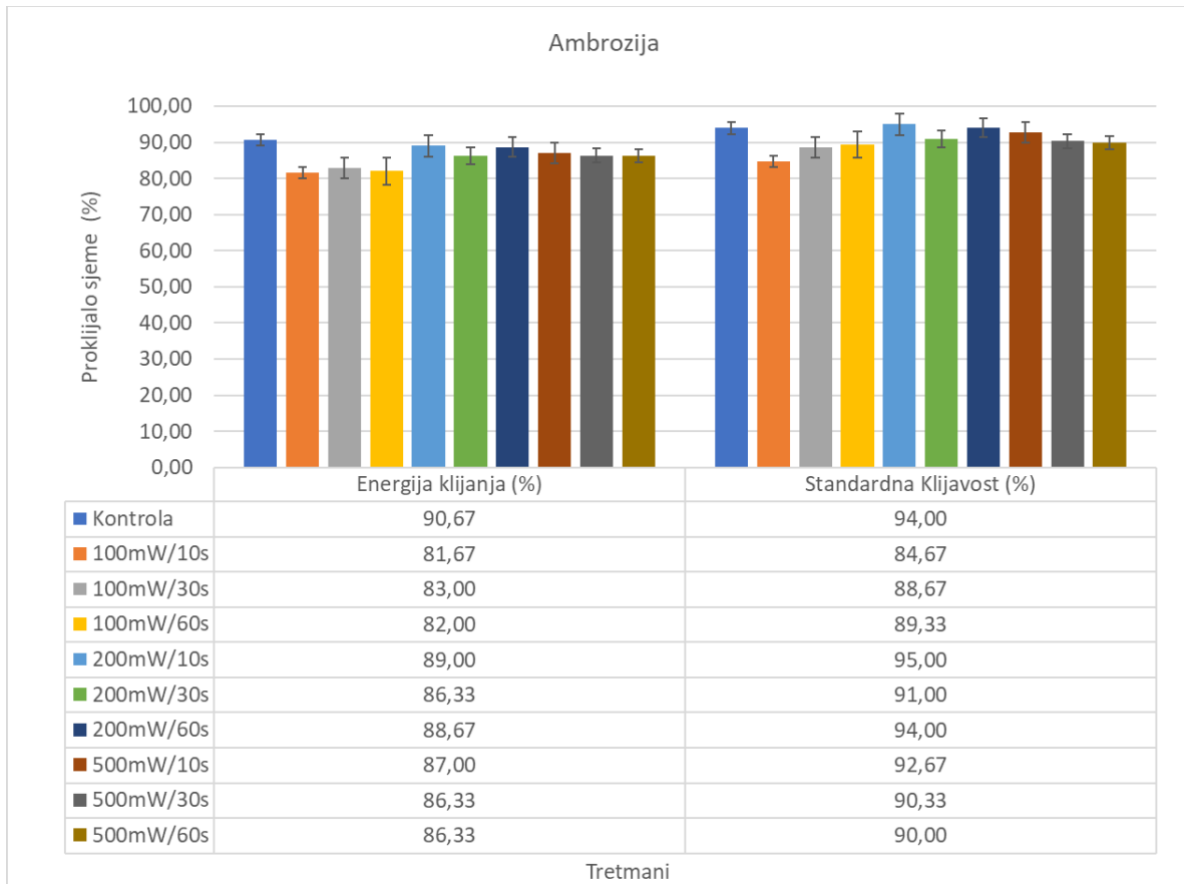
Primjenom navedene jednadžbe izračunata je ukupna energija koju su laseri emitirali tijekom tretmana. Rezultati su prikazani u tablici 6.1.

Tablica 6.1. Količina predane energije tijekom tretmana

Tretman (izlazna snaga lasera/trajanje tretmana)	Količina predane energije (J)
100 mW/10 s	1,00
100 mW/30 s	3,00
100 mW/60 s	6,00
200 mW/10 s	2,00
200 mW/30 s	6,00
200 mW/60 s	12,00
500 mW/10 s	5,00
500 mW/30 s	15,00
500 mW/60 s	30,00

Iz rezultata je vidljivo da je količina energije koju odaju odabrani laseri relativno mala, od 1 J kod 100 mW/10 s tretmana pa maksimalno do 30 J kod 500 mW/90 tretmana. Na osnovu toga može se zaključiti da se djelovanje laserskog zračenja na biljni materijal temelji

isključivo na biostimulaciji. Rezultati analize energije klijanja i standardne klijavosti prikazani su na slici 6.1.



Slika 6.1. Grafički prikaz prosječne energije klijanja i standardne klijavosti

Rezultati ovog istraživanja na sjemenu ambrozije razlikuju se od istraživanja koja su proveli Dionev i sur., (2004) na sjemenu pšenice i kukuruza. Njihova istraživanja pokazala su pozitivan utjecaj zračenja na energiju klijanja za razliku od ovog istraživanja gdje se pokazalo kako je došlo do smanjenja energije klijanja kod svih tretiranih uzoraka.

Nenadić i sur., (2008) u svom istraživanju navode da zrna pšenice tretirana laserskim snopom pokazuju visok postotak klijavosti, dok se u našem slučaju pokazalo suprotno.

Kod sjemena ambrozije prosječna vrijednost energije klijanja kontrolnog uzorka sjemena iznosila je 90,67%. Nakon provedenih tretmana došlo je do smanjenja energije klijanja kod svih tretiranih uzoraka. Najznačajnije smanjenje energije klijanja u iznosu od 9% zabilježeno je kod uzoraka tretiranih 100 mW laserom u trajanju od 10 s.

Prosječna vrijednost standardne klijavosti kod kontrolnog uzorka iznosila je 94,00%. Nakon provedenih tretmana također je došlo do smanjenja standardne klijavosti kod gotovo svih tretiranih uzoraka, pri čemu je najveće smanjenje u iznosu od 9.33% zabilježeno kod uzoraka tretiranih 100 mW laserom u trajanju od 10 s. Jedino je kod uzoraka tretiranih 200 mW laserom zabilježeno povećanje standardne klijavosti u iznosu od 1% (Slika 6.1.).

Uzevši u obzir izlazne snage lasera vidljivo je da je 100 mW laser uzrokovao najveće smanjenje energije klijanja i standardne klijavosti.

Tablica 6.2. Analiza utjecaja tretmana na energiju klijanja sjemena ambrozije

	Energija klijanja	Standardna klijavost
Kontrola	90,67 ^a ± 0,58	94,00 ^{ab} ± 1,73
100 mW/10 s	81,67 ^b ± 1,15	84,67 ^d ± 1,53
100 mW/30 s	83,00 ^b ± 2,00	88,67 ^{cd} ± 2,08
100 mW/60 s	82,00 ^b ± 2,65	89,33 ^{bcd} ± 2,52
200 mW/10 s	89,00 ^a ± 6,08	95,00 ^a ± 4,36
200 mW/30 s	86,33 ^{ab} ± 1,53	91,00 ^{abc} ± 1,00
200 mW/60 s	88,67 ^a ± 2,08	94,00 ^{ab} ± 1,73
500 mW/10 s	87,00 ^{ab} ± 3,00	92,67 ^{abc} ± 2,08
500 mW/30 s	86,33 ^{ab} ± 0,58	90,33 ^{abc} ± 1,15
500 mW/60 s	86,33 ^{ab} ± 0,58	90,00 ^{bc} ± 1,00
ANOVA	p ≤ 0,0028	p ≤ 0,0007

Statističkom obradom rezultata istraživanih parametara, vrlo značajne statističke razlike zabilježene su kod energije klijanja $p \leq 0,0028$ i kod standardne klijavosti $p \leq 0,0007$ s obzirom na sve varirane faktore (tretman i vrijeme trajanja tretmana).

Tablica 6.3. Analiza signifikantnosti interakcija tretmana i vremena trajanja tretmana.

INTERAKCIJE FAKTORA	SIGNIFIKANTNOSTI INTERAKCIJA FAKTORA	
	Energija klijanja	Standardna klijavost
	Pr > F	Pr > F
T	0,0317	0,0872
V	0,0004	<0,0001
T x V	0,7034	0,0216

* T – tretman; V – vrijeme trajanja tretmana, T x V – interakcija faktora tretman i vrijeme

Statističkom obradom rezultata energije klijanja kod vremena trajanja tretmana (V) zabilježena je vrlo značajna signifikantnost, dok je kod tretmana (T) zabilježena značajna signifikantnost. Kod kombinacije faktora (T x V) nije utvrđena značajna signifikantnost.

Kod rezultata standardne klijavosti vrlo značajna signifikantnost je zabilježena samo kod vremena trajanja tretmana (V) dok je kod kombinacije faktora tretmana i vremena trajanja tretmana (T x V) zabilježena značajna signifikantnost. Kod faktora tretmana (T) nije utvrđena značajna signifikantnost

7. Zaključak

Nakon provedenih laserskih tretmana zabilježeno je smanjenje energije klijanja i ukupne klijavosti kod gotovo svih tretiranih uzoraka.

Tretman 100 mW laserom u trajanju od 10 s uzrokovao je najznačajnije smanjenje energije klijanja u iznosu od 9% i ukupne klijavosti u iznosu od 9.33%.

Jedino je kod uzoraka tretiranih 200 mW laserom zabilježeno povećanje klijavosti u iznosu od 1%.

Na temelju rezultata ovog istraživanja može se zaključiti kako laserski tretman može imati negativan utjecaj na sjeme ambrozije u vidu smanjenja energije klijanja i ukupne klijavosti.

Poznato je da interakcija između laserskog snopa sjemena ovisi o primijenjenoj frekvenciji samog lasera i svojstvima sjemenskog materijala. Stoga je, da bi ova metoda bila široko primjenjiva nužno istražiti i pronaći ravnotežni ishod između izlazne snage lasera, fokusiranja laserskog snopa, vremena tretiranja materijala i biološkog efekta procesa.

Rezultati istraživanja upućuju na mogućnost primjene lasera za deaktivaciju potencijala klijavosti sjemena ambrozije.

8. Popis literature

1. Abu-Elsaoud, A. (2013). Double-Pulse Laser Light Treatment Stimulate Germination and Changes the Oxidative Stress and Antioxidant Activities of Wheat (*Triticum aestivum*). *Journal of Ecology of Health & Environment*. 1. 1-11.
2. Ban, T. (2008). *Laseri u znanosti i tehnologiji*. Državni seminar za učitelje i nastavnike fizike u osnovnim i srednjim školama, Zadar
3. Bassett I.J. Crompton C. W. (1975). The biology of Canadian weeds. *Ambrosia artemisiifolia* and *A. psilostachya* DC, *Can J. Plant Sci.* 55: 463 – 476.
4. Basu P. (2015). *Semiconductor Laser Theory*. CRC Press, Florida, SAD.
5. Brković N. (1998). *Fizika 3: udžbenik za 3. razred gimnazija*. Svjetlost. 2.izd. Zagreb: Luk d.o.o. 99-106.
6. Chandi A., Jordan D.L., York A. C., (2012). Lassiter B. R. Confirmation and Management of Common Ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*) Resistant to Diclosulam Weed Technology, 26 (1), 29-36.
7. Chen Y.P., Liu Y.J., Wang X.L., Ren Z.Y., Yue M. (2005). Effect of microwave and He-Ne laser on enzyme activity and biophoton emission of *Isatis indigotica* Fort. *Journal of Integrative Plant Biology* 47 (7), 849–855.
8. Dineev S., Antonov M., Stoyanov T., Georgieva C. (2004). Spectral impact of lowpower laser radiation on wheat and maize parameters, *Prob. Engineer. Cybernet. Robotics* 54: 74-85.
9. Dineev, S.; Antonov, M.; Stoyanov T.; Georgieva C. (2004): Spectral impact of low-power laser radiation on wheat and maize parameters, *Prob. Engineer. Cybernet. Robotics* 54: 74-85.
10. Galzina N., Barić K., Šćepanović M., Goršić M., Ostojić Z. (2010). Distribution of the invasive weed *Ambrosia artemisiifolia* L. in Croatia. *Agriculture Conspectus Scientificus*, Vol. 75, 75-81.
11. Galzina N., Ostojić Z., Barić K., Šćepanović M., Goršić M., Rok S. (2009). Zastupljenost alergene korovne vrste *Ambrosia artemisiifolia* L. na području grada Zagreba, Zadar – DDP I ZPP, 189-198.
12. Grgić L. (2017). *Laseri*. Završni rad. Osijek. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju.
13. Grgić S. (2014). *Morfološka obilježja i značaj roda ambrosia u Republici Hrvatskoj*. Završni rad. Osijek: Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet.
14. Hartmann H., Watson A. K. (1980). Damage to Common Ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*) Caused by the White Rust Fungus (*Albugo tragopogi*), 28 (6), 632-635.
15. Hernandez A.C., Dominguez P.A., Cruz O.A., Ivanov R., Carballo C.A., Zepeda B.R. (2010). Laser in agriculture. *International Agrophysics* 24: 407–422.
16. Ištoković E. (2011). *Laseri*. Diplomski rad. Osijek. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za fiziku.

17. Jović, F.; Nenadić, K.; Drezner, G.; Kovačević, J.; Dvojković, K. (2006): Visible Wavelength Laser Beam Treatment of Wheat Grain. Proceedings of the 19th Meeting on Mathematical Modelling of Materials Processing with Lasers (M4PL19).
18. Jović, F.; Pliestic, S.; Kolak, I.; Jagnjić, Ž.; Blažević, D. (2004): Estimation of the laser beam scattering in food grain preprocessing. In: Proceedings of M4PL17, Igls/Innsbruck.
19. Kiss L., Beres I. (2006). Anthropogenic factors behind the recent population expansion of common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.) in Eastern Europe: is there a correlation with political transitions? *Journal of Biogeography* 33, 2156-2157.
20. Knežević M. (2006). Atlas korovne, ruderalne i travnjačke flore. Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku. Poljoprivredni fakultet u Osijeku.
21. Kovačević J., (1953). Sadašnje stanje rasprostranjenosti Sjeverno-američkog korova *Ambrosia artemisiifolia* L. u Jugoslaviji, *Poljoprivredna znanstvena smotra* 15 (1) 187 – 190.
22. Kovačević J., Groman E. (1964). Korov limundžik (*Ambrosia artemisiifolia* L.) u Jugoslaviji, *Zaštita bilja* 77, 81 – 85.
23. Leskovšek R., Eler K., Batič F., Simončič A. (2012). Water and nitrogen use efficiency of common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.) at different nitrogen and water levels, *Acta agriculturae Slovenica*, 99 (1), 41 – 47.
24. Maršal D. (2019). Laseri i njihova primjena. Završni rad. Karlovac. Veleučilište u Karlovcu.
25. Mutch D. R., Martin T. E., Kosola K. R. (2003). Red Clover (*Trifolium pratense*) Suppression of Common Ragweed (*Ambrosia Artemisiifolia*) in Winter Wheat (*Triticum Aestivum*), *Weed Tehnology*, Volume 17., 181 – 185.
26. Nenadić, K.; Jović, F.; Pliestic, S. (2008): An Investigation of Automatic Treatment of Seeds With Low Power Laser Beam, *Automatics* 49 (3-4): 127-134.
27. Nenadić, K.; Popović, R.; Jović, F. (2007): Preconditions for Automatic Laser Treatment of Wheat Grain. *Agricontrol 2007 Proceedings*.
28. Nikolić T., Mitić B., Boršić I. (2014). *Invazivne biljke*, Alfa d.d. 296 str. Zagreb
29. Perveen R., Ali Q., Ashraf M., Al-Qurainy F., Jamil Y., Raza A. M. (2010). Effects of different doses of low power continuous wave HeeNe Laser radiation on some seed thermodynamic and germination parameters, and potential enzymes involved in seed germination of sunflower (*Helianthus annuus* L.), *Photochem. Photobiol.* 86: 1050-1055.
30. Pliestic S. (2007). Identifikacija samooporavljivih procesa u biološkim materijalima, Projekt MZOŠ.
31. Podleśna A., Gładyszewska B., Podleśny J., Zgrajka W. (2015). Changes in the germination process and growth of pea in effect of laser seed irradiation. *International Agrophysics* 29: 485–492.
32. Pravilnik o temeljnim zahtjevima kakvoće, načinu ispitivanja, pakiranju i deklariranju sjemena poljoprivrednog bilja (NN 4/2005)

33. Sahar B. K., Farahvash F., Mirshekari B., Kazem A. H., Rahimzadeh F. K. (2014). Effect of physical treatments on germination and establishment of sunflower (*Helianthus annuus* (L.) Hyson) under laboratory condition. *International J Biosci* 2014; 5:1–6.
34. SAS Institute (2010): SAS/STAT Software: Changes and enhancements through Rel. 9.3. Sas Inst., Cary, NC, USA
35. Šarić T., Ostojić Z., Stefanovi, L., Deneva Milanova, S., Kazinczi, G., Tyšer, L. (2011). The changes of the composition of weed flora in south eastern and central Europe as affected by cropping practices. *Herbologia* 12: 8-12
36. Štefanić E., Rašić S., Štefanić I. (2008): Ragweed in Croatia – agricultural and public health problem. First International Ragweed Conference, Hungary, p. 30.
37. Vasilevski, G. (2003). Perspectives of the Application of Biophysical Methods in Sustainable Agriculture, *Bulg. J. Plant Physiol., Special Issue* 2003, 179–186.
38. Vlaović S. (2016). Ambrozija (*Ambrosia artemisiifolia* L.) – invazivna i alergogena biljka. Završni rad. Osijek: Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet.
39. Wilczek M., Koper R., Ćwinta I M., Kornitłowicz-Kowalska T. (2005). Germination capacity and health status of alfalfa seeds after laser treatment. *International Agrophysics* 19: 85–89.

Mrežni izvori:

40. Borba protiv ambrozije - europska zadaća, <<https://www.dw.com/hr/borba-protiv-ambrozije-europska-zada%C4%87a/a-3693781>>, Pristupljeno 13.09.2021.
41. Plod ambrozije (roška) <<https://extension.umass.edu/landscape/weeds/ambrosia-trifida>>, Pristupljeno 13.09.2021.
42. Spektar elektromagnetskog zračenja <<https://glossary.periodni.com/rjecnik.php?hr=elektromagnetski+spektar>>, Pristupljeno 03.09.2021.
43. Maimanov laser <http://eskola.hfd.hr/clanci/50_godina_lasera_Natasa_Vujicic.pdf>, Pristupljeno 13.09.2021.
44. Dijelovi lasera <http://eskola.hfd.hr/susreti/Laseri_Ticijana_Ban.pdf>, Pristupljeno 13.09.2021.
45. Proces nastajanja laserskog zračenja <http://eskola.hfd.hr/clanci/50_godina_lasera_Natasa_Vujicic.pdf>, Pristupljeno 09.09.2021.
46. Kontinuirana i pulsna zraka <<https://repozitorij.vuka.hr/islandora/object/vuka%3A1276/datastream/PDF/view>>, Pristupljeno 04.09.2021

9. Popis slika

1. Slika 2.1. Ambrozija
2. Slika 2.2. Korijenov sustav ambrozije
3. Slika 2.3. Stabljika ambrozije
4. Slika 2.4. Lice i naličje lista
5. Slika 2.5. Plod ambrozije (roška)
6. Slika 3.1. Spektar elektromagnetskog zračenja
7. Slika 3.2. Maimanov laser
8. Slika 3.3. Dijelovi laser
9. Slika 3.4. Prikaz procesa nastajanja laserskog zračenja
10. Slika 3.5. Pulsna laserska zraka
11. Slika 3.6. Kontinuirana i pulsna zraka
12. Slika 5.1. Sjeme ambrozije korišteno u eksperimentu
13. Slika 5.2. Smještaj izvora koherentne svjetlosti i položaj mikroobjektiva
14. Slika 5.3. Prikaz pojedinih uzoraka na sredini i na kraju provedbe eksperimenta
15. Slika 6.1. Grafički prikaz prosječne energije klijanja i standardne klijavosti

Životopis

Matej Maretić rođen je 16. prosinca 1996. u Zagrebu. Poljoprivrednu školu u Zagrebu završio je 2015. godine. Upisao je preddiplomski sveučilišni studij Poljoprivredna tehnika Sveučilišta u Zagrebu Agronomskog fakulteta akademske godine 2016./2017. Posjeduje znanje engleskog jezika i vještine rada na računalu.