

Primjenjivost multispektralne analize u predviđanju klijavosti sjemena dalmatinskog buhača

Krželj, Maja

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:204:863654>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-24**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture



Primjenjivost multispektralne analize u predviđanju klijavosti sjemena dalmatinskog buhača

DIPLOMSKI RAD

Maja Krželj

Zagreb, rujan, 2020.



Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture



Diplomski studij:

Ekološka poljoprivreda i agroturizam

Primjenjivost multispektralne analize u predviđanju klijavosti sjemena dalmatinskog buhača

DIPLOMSKI RAD

Maja Krželj

Mentor:

doc. dr. sc. Martina Grdiša

Neposredni voditelj:

Filip Varga, mag. exp. biol.

Zagreb, rujan, 2020.



Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture



IZJAVA STUDENTA O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Maja Krželj**, JMBAG 0178106899, rođena 25.09.1996. u Splitu, izjavljujem da sam samostalno izradila diplomski rad pod naslovom:

Primjenjivost multispektralne analize u predviđanju klijavosti sjemena dalmatinskog buhača

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica 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 upoznata s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____

Potpis studentice



Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture



IZVJEŠĆE O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studentice **Maja Krželj**, JMBAG 0178106899, naslova

Primjenjivost multispektralne analize u predviđanju klijavosti sjemena dalmatinskog buhača

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____, dana _____.

Povjerenstvo:

potpisi:

1. doc. dr. sc. Martina Grdiša mentor

2. doc. dr. sc. Boris Lazarević član

3. izv. prof. dr. sc. Klaudija Carović-Stanko član

Zahvala

Zahvaljujem se svojoj mentorici doc. dr. sc. Martini Grdiša na svim savjetima, konstruktivnim kritikama, nesebičnoj pomoći i dragocjenom vremenu koje je utrošila na mene i ovaj diplomski rad. Također se zahvaljujem njenim kolegama sa Zavoda za sjemenarstvo koji su mi pomogli kod izvedbe istraživanja i obrade rezultata.

Zahvaljujem se svojim roditeljima i braći koji su vjerovali u mene i bili mi podrška tijekom cijelog mog školovanja.

SADRŽAJ

1. Uvod	1
1.1. Hipoteza i cilj istraživanja	2
2. Pregled literature	3
2.1. Taksonomija i rasprostranjenost	3
2.2. Morfološka i biološka svojstva	5
2.3. Kemijska svojstva	8
2.4. Klorofilna fluorescencija	10
3. Materijali i metode	12
3.1. Biljni materijal	12
3.2. Multispektralna analiza	13
3.3. Test klijavosti sjemena	14
3.4. Statistička obrada podataka	14
4. Rezultati i rasprava	15
5. Zaključak.....	21
6. Popis literature	22
Životopis.....	25

Sažetak

Diplomskog rada studentice **Maja Krželj**, naslova

Primjenjivost multispektralne analize u predviđanju klijavosti sjemena dalmatinskog buhača

Dalmatinski buhač je biljna vrsta poznata po sadržaju prirodnog insekticida piretrina. Sjeme prirodnih populacija dalmatinskog buhača karakterizira niska klijavost, a upravo je klijavost jedan od najznačajnijih parametara o kojem ovisi uspješnost poljoprivredne proizvodnje. Cilj rada bio je utvrditi primjenjivost multispektralne analize kao alata za predviđanje klijavosti sjemena. Istraživanje je provedeno na 100 sjemenki triju prirodnih populacija dalmatinskog buhača (Krk, Ugljan i Mljet). Multispektralno snimanje svake sjemenke provedeno je pomoću uređaja CropReporter® (PhenoVation, Wageningen, theNetherlands), potom stavljeno na naklijavanje u klima komoru na stalnu temperaturu od 22°C i svjetlosni režim dan/noć 16/8h. U razdoblju od 21 dan bilježen je broj proklijalih sjemenki.

Kod populacije s Mljeta (P03) utvrđen je najviši postotak klijavosti (26 %), unutar populacije s Krka (P01) utvrđena je klijavost od 10 % sjemenki, dok je kod populacije s Ugljana (P02) utvrđena klijavost od 5 %. Utvrđena je statistički značajna razlika u prosječnim vrijednostima klorofilne fluorescencije između proklijalog i neproklijalog sjemena, pri čemu su više vrijednosti utvrđene kod proklijalog sjemena.

Ključne riječi: dalmatinski buhač, klorofil, fluorescencija

Summary

Of the master's thesis – student **Maja Krželj**, entitled

Applicability of multispectral analysis in predicting the germination of Dalmatian pyrethrum seeds

Dalmatian pyrethrum is a plant species known for its content of the natural insecticide pyrethrin. Dalmatian pyrethrum seeds of natural populations are characterized by poor germination, and germination is one of the most important parameters on which the success of agricultural production depends. The aim of this study was to determine the applicability of multispectral analysis as a tool for predicting seed germination. The research was carried out on 100 seeds of three natural populations of Dalmatian pyrethrum (Krk, Ugljan and Mljet). Multispectral imaging of each seed was performed using the CropReporter® device (PhenoVation, Wageningen, the Netherlands), and then germinated in an air-conditioning chamber at a constant temperature of 22°C, and day/night light mode 16/8h. In the period of 21 days, the number of germinated seeds was recorded.

The highest percentage of germinated seeds (26 %) was found in the population from Mljet (P03), 26 %, 10 % of seeds germinated within the population from Krk (P01), and the lowest germination (5 %) was recorded in the population from Ugljan (P02). A statistically significant difference was found in the average values of chlorophyll fluorescence between germinated and non - germinated seeds where germinated seeds had a higher levels.

Keywords: Dalmatian pyrethrum, chlorophyll, fluorescence

1. Uvod

Popularizacijom ekološke poljoprivrede koja svojim načelima nastoji zaštititi okoliš i ljudsku populaciju, prirodni insekticidi postaju sve popularniji, uključujući insekticidni spoj piretrin, sadržan u biljci dalmatinskog buhača (*Tanacetum cinerariifolium* /Trevir./ Sch. Bip.). Dalmatinski buhač samoniklo raste na području Dalmacije na krševitim i jako osunčanim područjima, najčešće kamenitim pašnjacima, a zahvaljujući svojim prirodnim insekticidnim svojstvima, ova je vrsta jako cijenjena od davnina i izvan prostora Dalmacije, sve do Perzije (Vasisht i Kumar 2001.). Temelj insekticidnog djelovanja buhača su piretrini, koji djeluju na živčani sustav kukca (Macan i sur. 2006.), dok za sisavce pokazuju nisku toksičnost (Wong 2008.). Prema Pravilniku o ekološkoj proizvodnji bilja i životinja (NN 1/2013) dozvoljeno je korištenje piretrina kao sredstva za zaštitu bilja.

Početak 20. stoljeća su se na području Hrvatske proizvodile velike količine buhača, što navode Kolak i sur. (1999.). U razdoblju od 1920 do 1930. godine uzgajao se na 1000 do 6000 ha na području Dalmacije s najvećim zabilježenim urodom od 1 350 000 kg suhog cvijeta 1926. godine. Najrašireniji proizvod je bio insekticidni prah za kućanstvo poznat pod nazivom *Flores Chrysanthemi* (Ozimec i sur. 2015.). Nažalost, danas u Hrvatskoj uzgoja nema.

Prema Ban i sur. (2019.) proizvodnja dalmatinskog buhača ima potencijala u Republici Hrvatskoj, međutim, nema visoku ekonomsku isplativost. Autori su istraživali potencijal proizvodnje koristeći biljni materijal prirodnih populacija dalmatinskog buhača i zaključili da je prednost korištenja prirodnih populacija pogodnost visine biljaka za mehaničko branje koje je i najefikasnije. Najveći nedostaci su skupa radna snaga (ako se bere ručno), skup sadni materijal, te činjenica da su potrebne dvije godine da sama biljka postane produktivna.

Klijavost sjemena je jedan od najznačajnijih parametara o kojem ovisi uspješnost poljoprivredne proizvodnje. Iako potencijal klijavosti najvećim udjelom ovisi o genetskoj konstituciji sjemena, na klijavost utječu i biotski i abiotski čimbenici (Long i Woodward 1998.). Zbog niske klijavosti sjemena dalmatinskog buhača, direktna sjetva je otežana (Vasisht i Kumar 2001). Nisku klijavost sjemena prirodnih populacija dalmatinskog buhača utvrdio je Delač (2017.). U navedenom istraživanju klijavost sjemena kretala se od 6,67 % do 27 %. Ulažu se veliki napor za pronalazak što efikasnije metode za brzu procjenu kakvoće sjemena.

Uz klasične laboratorijske metode ispitivanja klijavosti sjemena, u posljednjih nekoliko godina sve je češća primjena multispektralnog snimanja kao tehnologije za procjenu kvalitete i klijavosti sjemena. To je nedestruktivna metoda koja se temelji na snimanju određenih valnih duljina elektromagnetskog spektra, koje daju informaciju o boji i signalu klorofilne fluorescencije. Navedeni parametri omogućuju predviđanje klijavosti sjemena. Primjenjivost multispektralne analize kao alata za predviđanje klijavosti sjemena dalmatinskog buhača do sada nije istražena.

1.1. Hipoteza i cilj istraživanja

Sjeme dalmatinskog buhača ima nisku klijavosti što se odražava na uzgoj i proizvodnju buhača zbog nedostupnosti kvalitetnog sjemenskog i sadnog materijala. Cilj rada je ispitati primjenjivost metode mjerenja klorofilne fluorescencije kao alata za predviđanje klijavosti sjemena buhača.

2. Pregled literature

2.1. Taksonomija i rasprostranjenost

Dalmatinski buhač (*Tanacetum cinerariifolium* /Trevir./ Sch. Bip.), koji je poznat i kao *Pyrethrum cinerariifolium* (Trevir.) i *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trevir.), višegodišnja je zeljasta biljna vrsta iz porodice glavočika (*Asteraceae*) (Nikolić i sur. 2015.). Ova porodica je najzastupljenija biljna porodica u Hrvatskoj i njene pripadnice su većinom zeljaste biljne vrste (Hulina 2011., Kumar i Tyagi 2013.), koje imaju cvat glavicu ili glavočiku od čega potječe i naziv porodice (Britvec 2015.). Unutar porodice se nalazi rod *Tanacetum*, u kojem se od 17 poznatih vrsta u Europi, posebno ističe dalmatinski buhač zbog sadržaja piretrina, spoja velike biološke i kemijske vrijednosti (Kolak i sur. 1999.). Narodna imena za dalmatinski buhač još su i dalmatinska krizantema, buvač, divji pelin, matrikolda itd. (Nikolić i sur. 2015.). Sistematska klasifikacija dalmatinskog buhača navedena je u tablici 1.

Tablica 1. Klasifikacija dalmatinskog buhača (*Tanacetum cinerariifolium* /Trevir./ Sch. Bip.) i narodna imena

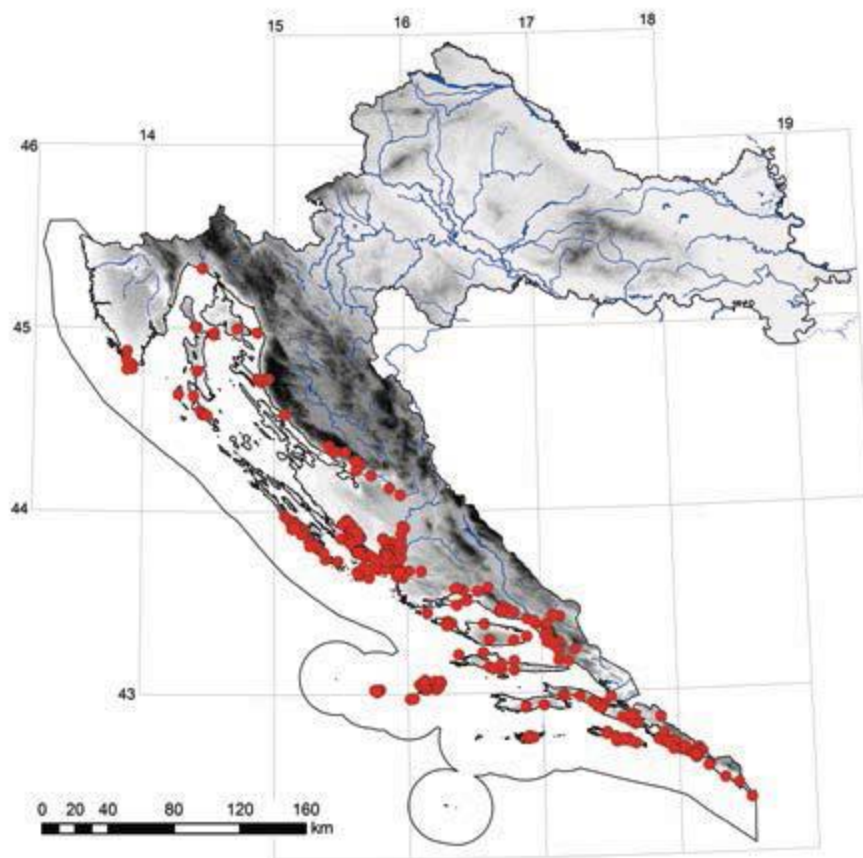
Carstvo	<i>Plantae</i>
Red	<i>Asterales</i>
Porodica	<i>Asteraceae</i>
Rod	<i>Tanacetum</i>
Vrsta	<i>Tanacetum cinerariifolium</i> /Trevir./ Sch. Bip.
narodna imena	dalmatinska krizantema, buvač, divji pelin, matrikolda

Izvor: plantea.com.hr/buhac/

U Hrvatskoj je rasprostranjen od Istre do poluotoka Prevlake (slika 2.1.), a najbrojnije populacije se nalaze u Dalmaciji na izrazito degradiranim staništima s plitkim kamenitim tlima i suhim travnjacima (Nikolić i sur. 2015.). Buhač je strogo zaštićena biljna vrsta u Republici Hrvatskoj kako navodi Pravilnik o strogo zaštićenim vrstama (NN 144/2013.), a njegovo sakupljanje u prirodi je zakonom zabranjeno.

Početak uzgoja je krenuo iz okolice Dubrovnika polovicom 19. stoljeća (Ozimec i sur. 2015.). Buhač je 20-ih godina 20. stoljeća imao visoki značaj zbog svoje ekonomske vrijednosti. Mnoge obitelji iz primorskih gradova su živjele uzgajajući i prodajući buhač s autohtonog područja (Šprljan 2013.). No japanska konkurencija svojom velikom proizvodnjom je dovela do sniženja cijene buhača, čime je postao neprofitabilna kultura za proizvodnju u Dalmaciji. Uzevši u obzir siromaštvo ondašnjih seljaka, nisu se mogli modernizirati kako bi količina i ponuda buhača bila što bolja i konkurentnija buhaču iz Japana, Irana i SAD-a. (Benić Penava 2005.). S vremenom, do kraja 2. Svjetskog rata, Dalmacija gubi interes za proizvodnju zbog jake proizvodne konkurencije Japana i gubitkom najvećeg tržišta tih vremena SAD-a. Početak uzgoja u Japanu je bio zahtjevan, no kultivari

koji su selekcionirani zbog sinteze što većeg udjela piretrina su se održali do danas (Benić Penava 2012.).



Slika 2.1. Rasprostranjenost dalmatinskog buhača u Republici Hrvatskoj
Izvor: Nikolić i sur., 2015.

2.2. Morfološka i biološka svojstva

Dalmatinski buhač (slika 2.2.), kao zeljasta biljka, u svom rastu doseže visinu 30 - 70 cm od površine tla do visine najviše pozicioniranog cvijeta na biljci (Nikolić i sur. 2015.). Što je biljka starija, sve više poprima grmoliki oblik, a njegova veličina ovisi o genetskim i agroekološkim uvjetima. Također, veličina polugrma utječe i na brojnost cvjetova, pa će veći grm dati više cvjetova (Bhat 1995.).



Slika 2.2. Dalmatinski buhač na prirodnom staništu

Izvor: Ozimec i sur., 2015.

Korijen mu je dubok i razgranat unatoč rastu na oskudnim staništima. Miris mu je ugodan kao i nadzemnim dijelovima biljke (Nikolić i sur. 2015.).

Nadzemni dio biljke je sivkaste boje obrastao gustim dlačicama. Prizemni listovi su dugi 10 – 20 cm, imaju dugačku peteljku i dvostruko perastog su oblika. Ovojni listovi cvata su raspoređeni u tri reda. Unutarnja strana im je glatka i bijela, a vanjska je dlakava. Plodnica je podrasla, jednogradna i sadrži jedan zametak (Nikolić i sur. 2015.).

Cvat se sastoji od dvije vrste cvjetova: žutih cjevastih cvjetova koji čine unutarnji dio cvatne glavice i plodni su, te bijelih, koji su neplodni, smješteni u 1-2 reda te čine vanjski rub cvatne glavice (Bhat 1995., Kolak i sur. 1999.). Buhač se može oprašivati alogamno, a najčešće ga oprašuju kukci (Catalano i sur. 2014.). Cvatnja se odvija kroz svibanj i lipanj (Nikolić i sur. 2015.).

Berba ovisi o zrelosti cvata, što je većinom u fazi kada je otvoreno od polovine do tri četvrtine cjevastih cvjetova. Isto tako, berba može različito trajati ovisno je li posijan rani, srednji ili kasni buhač (Bhat 1995.). Većim i težim cvatovima je potrebno više vremena za

sušenje što povećava troškove proizvodnje (Bhat 1995.). Kod proizvodnje 1 kg suhog, potrebno je iskoristiti 4 kg svježeg cvata (Ozimec i sur. 2015.).

Plod je jednosjemena, uska roška (ahenij) s papusom (Nikolić i sur. 2015). Sjeme dalmatinskog buhača (slika 2.3.) veoma je sitno i male mase, te se masa 1000 sjemenki kreće od 0,8 do 1,1 g. Unatoč njegovoj veličini i masi, prinos sjemena nakon berbe najčešće iznosi 50 - 150 kg/ha. Sjeme ima sklonost samozasijavanju ako plod sazre do kraja te dođe do osipanja ahenija po tlu (Kolak i sur. 1999.).



Slika 2.3. Sjeme dalmatinskog buhača

Autor: Krželj M., 2020.

Slaba klijavost sjemena u kombinaciji s nedostatkom sadnog materijala visoke kvalitete predstavlja najveća ograničenja za poticanje proizvodnje dalmatinskog buhača. Još jedan od nedostataka koji ima za posljedicu oskudnu klijavost je i visoka prisutnost praznog sjemena (Barton 1966.). Istraživanje utjecaja abiotičkih čimbenika na klijanje sjemena proveli su Li i sur. (2011.). Sjeme su tretirali destiliranom vodom i izlagali različitom svjetlosnom režimu, te su pratili udio klijavosti, srednje vrijeme klijanja (u danima), visinu mladice i duljinu korijena. Kod sjemena tretiranog destiliranom vodom 24 sata utvrđena je viša klijavost u usporedbi sa netretiranim sjemenom, iako je tijekom prvih pet dana klijavost bila podjednaka u obje skupine. U uvjetima 24 h mraka udio klijavosti bio je značajno viši od ostalih režima (16 h svjetlo/8 h noć i 24 h svjetlo) i iznosio je 51,7 %. Režim konstantnog svjetla je značajno produljio prosječno vrijeme klijanja, a režim dan / noć 16h/8h je rezultirao većom dužinom korijena.



Slika 2.4. Morfologija buhača

Izvor: https://hr.wikipedia.org/wiki/Dalmatinski_buha%C4%8D

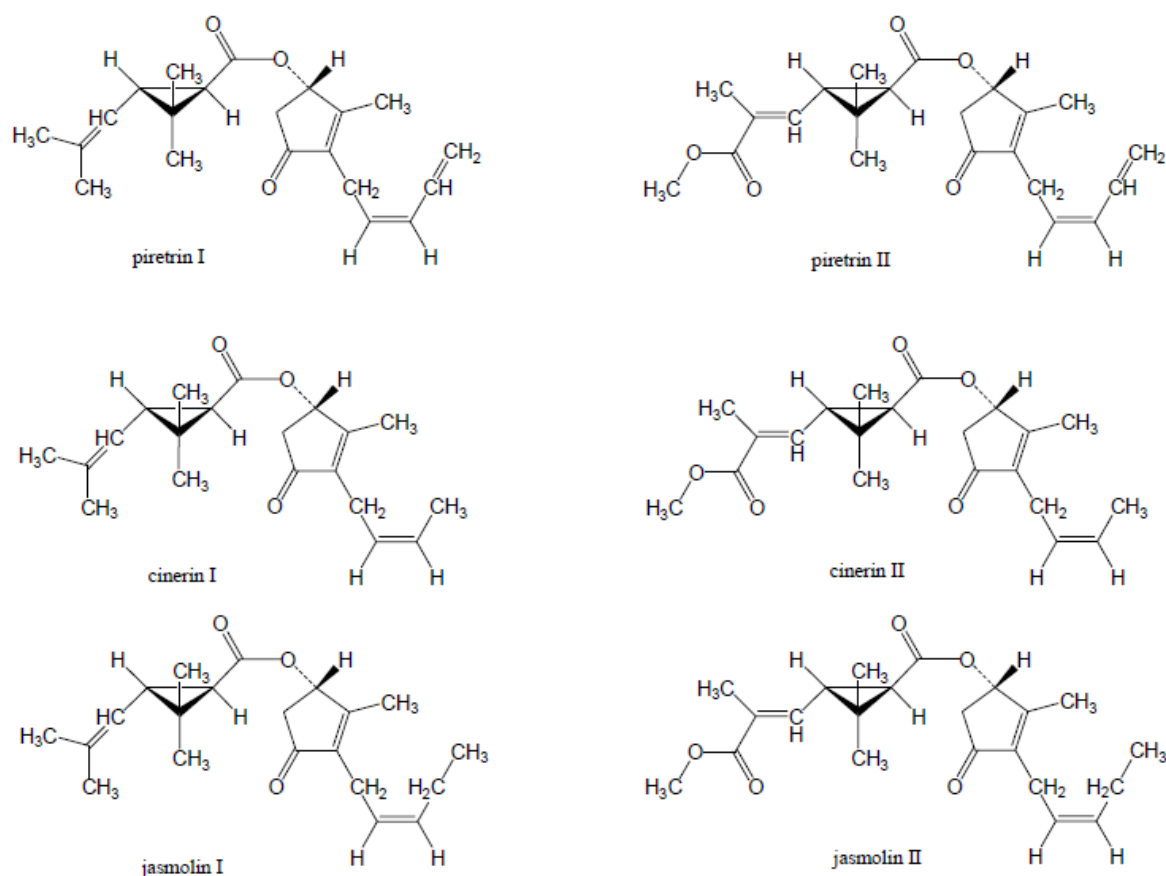
Uzgoj buhača u konsocijaciji s biljkama koje mu mogu napraviti sjenu ne pogoduje prinosu. U konsocijaciji s maslinom, krošnja masline svojom bujnošću stvara sjenu široko oko debla. Zaštita od sunca koju pruža krošnja, dovodi i do smanjenja temperature ispod same krošnje zbog blokiranja direktnog osvetljenja. Opaženo je kako je buhač koji je zasađen oko stabla formirao manje cvjetnih pupoljaka, a biljni grmovi koji su bili u sjeni krošnje nisu imali niti jedan cvjetni pupoljak (Dudaš i sur. 2014.). Ovi rezultati istraživanja potvrđuju dosadašnje navode (Hitmi i sur. 2000., Stepanović i sur. 2009.) kako buhač ne ispunjava svoj potencijal na sjenovitim mjestima te mu pogoduju jako visoke temperature. Za uzgoj, dobra opcija su divlje populacije jer posjeduju veću genetsku varijabilnost, te su otporniji na biotičke i abiotičke stresove, stoga mogu poslužiti u poboljšavanju postojećih kultivara. Pokazalo se i da prirodne populacije s područja Hrvatske imaju visoku kvalitetu za korištenje kao kvalitetan sadni materijal za proizvodnju zbog genetskog potencijala sjemena (Ban i sur. 2019.).

Zbog ljepote i autentičnosti, buhač se može uspješno koristiti za uređenje površina zelenila. Primjer je planiranje krajobraznog uređenja okoliša starokršćanske crkve Srma-Prižba kod Šibenika, gdje su Dorbić i sur. (2012.) predložili da se buhač posadi ispod maslina i čempresa za upotpunjenje krajobraza i zaštitu od kukaca.

2.3. Kemijska svojstva

Svi nadzemni dijelovi biljke sadrže piretrine, no u različitim koncentracijama. Najmanje ih se nalazi u listovima, dok su najviše koncentracije u suhom cvijetu buhača tj. u plodnici sa sjemenom (2,2 – 4,5 % piretrina) (Kolak i sur. 1999.). Utvrđeno je da se sinteza piretrina također odvija u listovima, jer mlada sadnica bez cvijeta sadrži piretrin odnosno njegova se količina povećava do oko 5-6 mjeseci starosti (Matsuda i sur. 2005.).

Piretrin je prirodni insekticid koji je sastavljen od šest različitih estera s izraženom insekticidnom učinkovitošću. Najzastupljeniji su piretrin I i II. Produkt su esterifikacije dviju kiselina, krizantemske i piretrinske, s ketonskim alkoholima piretrolonom, cinerolonom i jasmolonom (Moslemi 2017.).



Slika 2.5. Strukturne formule piretrina I, piretrina II, cinerina I, cinerina II, jasmolina I i jasmolina II

Izvor: <http://pyrdiv.agr.hr/Predavanje.pdf>

Sastavnice piretrina su grupirane u dvije grupe spojeva. Jedna se naziva piretrini I i uključuje piretrin I, cinerin I i jasmolin I, dok je druga grupa piretrini II i u nju spadaju piretrin II, cinerin II i jasmolin II (Moslemi 2017.).

Način djelovanja piretrina je jako sličan djelovanju DDT-a. Utječe na periferni i centralni živčani sustav kukca. No, dobra strana piretrina u usporedbi s DDT-om je brza razgradnja pod utjecajem zraka i svjetlosti (Wong 2008.). Najkarakterističniji učinak na kukce

koji je uzrokovan piretrinom je *knock-down* efekt. Očituje se tako da čim leteći kukac koji uleti u oblak sredstva koji sadrži piretrin, brzo se ruši i paralizira (Nagar i sur. 2015).

Kod proučavanja kvalitete buhača, osim ukupne koncentracije piretrina, važan je i omjer piretrina I i piretrina II zbog njihovog različitog načina djelovanja na kukce (Grdiša i sur. 2013.). Benić Penava (2012.) u raspravi o kvaliteti buhača, izdvaja rezultate istraživanja iz 30-ih godina. Proučavajući brzinu djelovanja na muhu i koncentraciju piretrina u različitim populacijama, vidno kvalitetniji je bio buhač uzgojen u okolini Trogira, za razliku od crnogorskog. Ban i sur. (2010.) su ekstrahirajući piretrin iz tri prirodne populacije buhača te uspoređujući rezultate ukupne količine piretrina, također došli do zaključka da hrvatska obala ima puno potencijala za uzgoj i proizvodnju većih količina buhača.

Stabilnost sadržaja piretrina u buhaču ovisno o zdravstvenom stanju biljke su istražili Ambrožič-Dolinšek i sur. (2008.) koji su dokazali da infekcija fitoplazmom značajno smanjuje količinu piretrina u biljci. Uzrok je vjerojatno poremećaj metabolizma biljnih hormona što se očituje u morfologiji biljke. Također, koncentracija sadržaja piretrina je stabilnija u biljci, nego u ekstrahiranom obliku (Morris i sur. 2006.).

Piretrini su prihvatljivi u ekološkoj proizvodnji zbog svoje niske toksičnosti za sisavce, ne ostavljaju rezidue u okolišu, te su interesantni zbog širokog spektra djelovanja na kukce, kao npr. žohare, komarce, buhe, muhe i ostale (Glynne-Jones 2001.). Pokusom Chermenskaya i sur. (2010.) utvrđeno je, prema rezultatima iskazanim u obliku biološke učinkovitosti, da je buhač izazvao najveću smrtnost, od 80 – 100 %, kod lisne uši *Shizaphis graminum* Rond. Nešto manje je ugrozio grinju *Tetranychus urticae* Koch s 20 – 50 % - tnom smrtnošću. Još jedan od kukaca na kojem je dokazana učinkovitost je i kalifornijski trips (*Frankliniella occidentalis* (Pergande)). Invazivni je kukac koji uzrokuje indirektnu i direktnu štetu na cijeloj biljci. Yang i sur. (2012.) su istražili djelovanje buhača na tripse tako što su ih hranili komadićima listova buhača te odrasle jedinke puštali da se razmnože na biljci. Odrasle ženke tripsa pokazale su da mogu kratko preživjeti, no umiru u roku od nekoliko dana. Utvrđena je visoka smrtnost tripsa i smanjeno polaganje jaja kao posljedica prirodne koncentracije piretrina unutar lista. Zadržavajući istu učinkovitost, moguće je dobiti ekstrakte za korištenje u proizvodnji insekticida s istim svojstvima i pozitivnim odlikama (Gallo i sur. 2017.).

Zbog brzog raspada piretrina na suncu i zraku, vrijeme poluraspada mu je oko 2 sata. Stoga, nakon prskanja po biljkama npr. paprike i rajčice, plodovi su sigurni za jelo sat vremena nakon primjene piretrina (Wong 2008.).

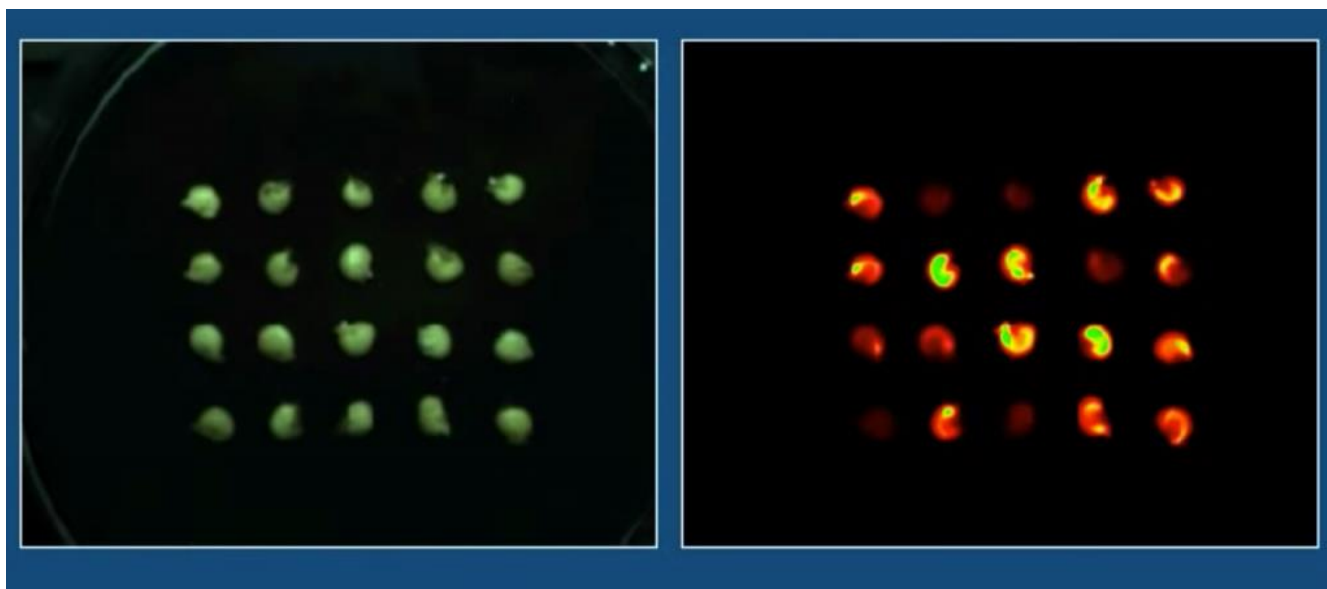
Na temelju pretpostavke o niskoj toksičnosti piretrina za ljude, Minello i sur. (2005.) te Leng i sur. (2006.) su proveli istraživanja na ljudima. Minello i sur. (2005.) su promatrali dermalni utjecaj kreme za sunčanje, koja je sadržavala piretrin, na ispitanicima, dok su Leng i sur. (2006.) promatrali utjecaj piretrina na ispitanike kojeg su unijeli oralno. U oba istraživanja dokazali su brzo raspadanje piretrina i izlučivanje iz organizma. Oporavak nakon oralnog unosa piretrina u tijelo varira jer postoji poveznica između težine osobe i koncentracije piretrina u urinu. Što je masa čovjeka veća, manja je koncentracija (Wong 2008.).

Unatoč svim blagotvornim učincima, piretrini imaju veoma toksičan učinak na ribe i ostale vodene organizme (Wong 2008.).

2.4. Klorofilna fluorescencija

Mjerenje klorofilne fluorescencije je brza nedestruktivna metoda koja daje informacije o učinkovitosti fotosinteze u različitim okolišnim uvjetima (Furbank i sur. 2009). Osim u procjeni fotosintetske učinkovitosti u uvjetima stresa, koristi se i kao tehnika sortiranja sjemena (Gorbe i Calatayud 2012.). Navedena tehnika temelji se na mjerenju amplitude signala klorofilne fluorescencije (CF – *chlorophyll fluorescence signal*), pri čemu se određuje zrelost i kvaliteta sjemena (Jalink i sur. 1998., Gorbe i Calatayud 2012.). Na količinu CF signala, utječe valna duljina i intenzitet pobuđujućeg svjetla, površina sjemena izložena svjetlosti, struktura sjemene ovojnice i kut pod kojim se emitirana svjetlost vraća (Jalink i sur. 1998.).

Prema Kenanoglu i sur. (2016.) metoda koja se temelji na klorofilnoj fluorescenciji ima visok potencijal kao pouzdan alat kod odvajanja sjemena niže kvalitete (često je to starije sjeme) od onog više kvalitete iz uzorka. Različita zrelost može npr. biti rezultat nepovoljnih okolišnih uvjeta tijekom rasta i razvoja biljke, dozrijevanja sjemena ili nepravovremene berbe. Klorofil u sjemenoj ljusci se kod sjemena većine biljnih vrsta smanjuje zriobom, a paralelno se povećava mogućnost klijanja sjemena (Dell' Aquila 2009.), stoga sjeme s višom razinom klorofila je manje zrelo sjeme, dok nižu razinu sadrži zrelo (Demiri sur. 2013). Slika 2.6. prikazuje multispektralnu snimku sjemena paprike tijekom klijanja. Na desnoj strani prikazana je učinkovitost fotosinteze (svjetlija boja - veći signal fluorescencije). Prije izbijanja korjenčića, učinkovitost fotosinteze se povećava, što ukazuje na metaboličku aktivnost u sjemenu. Sjeme koje pokazuje najveći porast učinkovitosti proklija najbrže.



Slika 2.6. Prikaz klorofilne fluorescencije (desno) na sjemenu paprike

Izvor: <https://www.phenovation.com/seed-videos/>

Široka primjenjivost metode mjerenja klorofilne fluorescencije bez obzira na biljnu vrstu dokazana je u velikom broju istraživanja. Takvo istraživanje proveli su Ooms i Destain (2011.) na sjemenu cikoriije, Kenanoglu i sur. (2016.) na sjemenu paprike, Jalink i sur. (1998.)

na sjemenu kelja, pri čemu je utvrđena povezanost više stope klijanja s nižom razinom klorofilne fluorescencije.

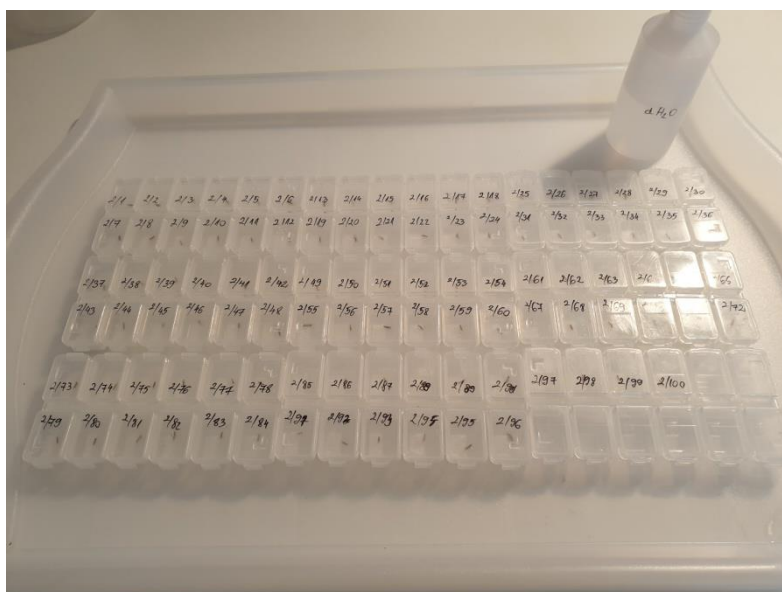
Utvrđeno je da korištenje klorofilne fluorescencije može koristiti bankama sjemena omogućujući brz i pouzdan test za određivanje klijavosti sjemena koje pohranjuje (Kenanoglu i sur. 2016.).

3. Materijali i metode

Istraživanje primjenjivosti analize klorofilne fluorescencije u predviđanju klijavosti sjemena dalmatinskog buhača (*Tanacetum cinerariifolium* /Trevir./ Sch. Bip.) provedeno je u veljači i ožujku 2020. godine na Sveučilištu u Zagrebu, Agronomskom fakultetu, Zavodu za sjemenarstvo.

3.1. Biljni materijal

Istraživanje je provedeno na sjemenu triju prirodnih populacija (primki) dalmatinskog buhača prikupljenih s različitih lokacija duž područja prirodnog rasprostranjenja vrste u Republici Hrvatskoj. Navedene su primke dio Kolekcije ljekovitog i aromatičnog bilja Zavoda za sjemenarstvo Agronomskog fakulteta (tablica 3.1.). Svaka od tri populacije bila je predstavljena sa 100 sjemenki (slika 3.1.).



Slika 3.1. Postavljane sjemena na naklijavanje
Autor: Krželj M., 2020.

Tablica 3.1. Lokacije uzorkovanja prirodnih populacija dalmatinskog buhača

Populacija	Broj primke*	Lokacija	Zemljopisna dužina	Zemljopisna širina	Nadmorska visina
P01	MAP02970	Vrbnik, otok Krk	45°04'15``N	14°39'49``E	100 m
P02	MAP02971	Ugljan	44°04'31``N	15°11'22``E	38 m
P03	MAP02964	Mljet	42°46'45``N	17°19'54``E	14 m

* Broj primke u Kolekciji ljekovitog i aromatičnog bilja, Agronomski fakultet; pristup podacima dostupan preko Hrvatske baze podataka o biljnim genetskim izvorima (<http://cpgrd.hcphs.hr/>)



*Populacije P1 – P3 navedene su u tablici 3.1.

Slika 3.2. Prikaz lokacija prikupljanja sjemena dalmatinskog buhača

3.2. Multispektralna analiza

Multispektralno snimanje svake sjemenke provedeno je pomoću uređaja CropReporter® (PhenoVation, Wageningen, Netherlands), pri čemu su izmjerene vrijednosti fluorescencije sjemena (*Chl*) (Slika 3.3.).



Slika 3.3. Izgled snimljenih sjemenki i očitanih vrijednosti

3.3. Test klijavosti sjemena

Nakon mjerenja fluorescencije sjeme je stavljeno na naklijavanje u klima komoru pri stalnoj temperaturi od 22°C i svjetlosni režim dan/noć 16/8h. Broj proklijalih sjemenki bilježen je svaka dva dana, kroz period od 21 dan. Tijekom pokusa po potrebi je dodavana destilirana voda kako bi se osigurala dovoljna količina potrebna za klijanje sjemena. Slika 3.4. prikazuje proklijalu sjemenku položenu na filter papir s dodanom destiliranom vodom.



Slika 3.4. Proklijala sjemenka dalmatinskog buhača
Autor: Krželj M., 2020.

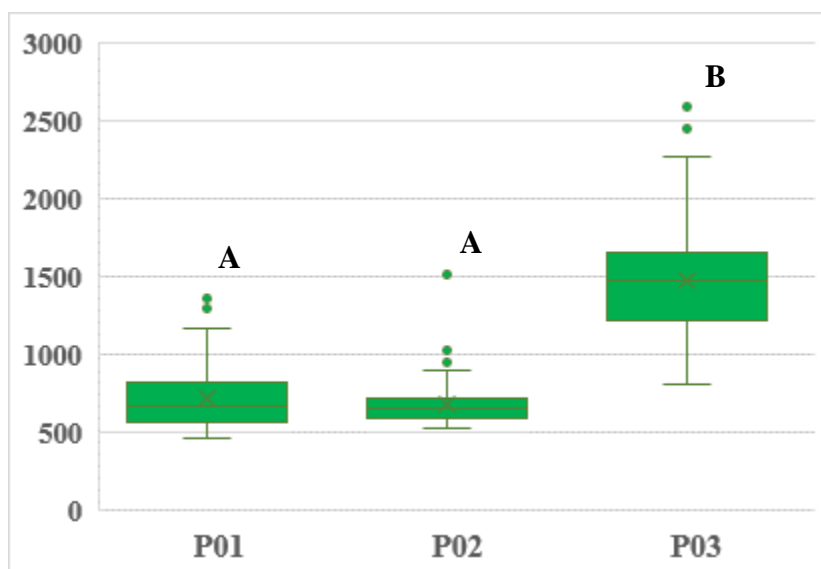
3.4. Statistička obrada podataka

Statistička analiza podataka je provedena pomoću računalnog programa SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC). Provedena je jednosmjerna analiza varijance vrijednosti klorofilne fluorescencije po populacijama i proklijalog i neproklijalog sjemena. Prosječne vrijednosti klorofilne fluorescencije sjemena uspoređene su pomoću Tukeyjevog post hoc testa. Na temelju Pearsonovog korelacijskog koeficijenta izračunate su korelacije između klorofilne fluorescencije, dana od stavljanja na naklijavanje i zemljopisnih podataka lokacija prikupljanja.

4. Rezultati i rasprava

Multispektralnom analizom sjemena tri prirodne populacije dalmatinskog buhača utvrđene su vrijednosti fluorescencije sjemena, dok je testom klijavosti utvrđen broj prokljalih sjemenki po svakoj analiziranoj populaciji. Na temelju podataka o fluorescenciji sjemena i prokljalosti/neprokljalosti sjemena provedena je statistička obrada podataka.

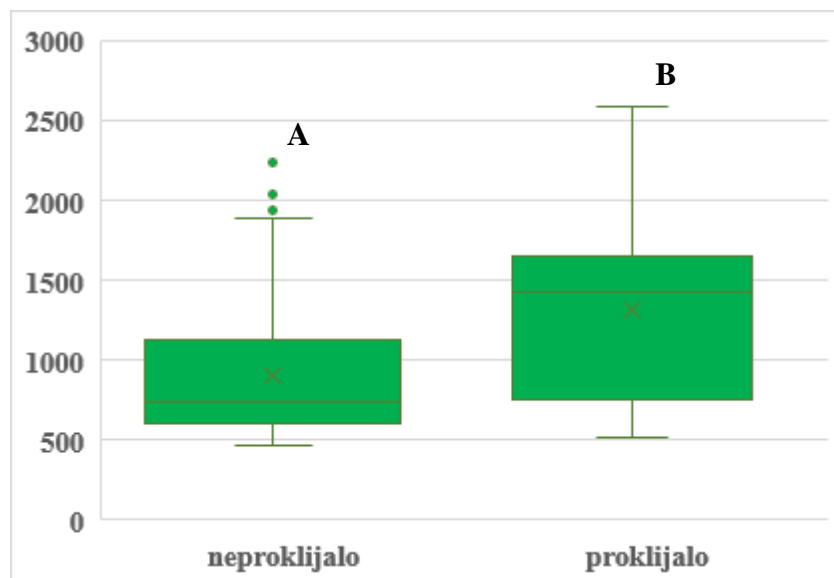
Najviše prosječne vrijednosti fluorescencije sjemena (1479,66) utvrđene su kod populacije P03 (Mljet), dok su najniže prosječne vrijednosti utvrđene kod populacije P02 (Ugljan), a iznosile su 683,76. Kod populacije P01 (Vrbnik), prosječne vrijednosti fluorescencije sjemena iznosile su 722,2. Utvrđena je statistička značajna razlika između populacije P03 i P01, kao i između P03 i P02 (graf 4.1.).



* Populacije označene istim slovom ne razlikuju se značajno na razini $P < 0.05$.

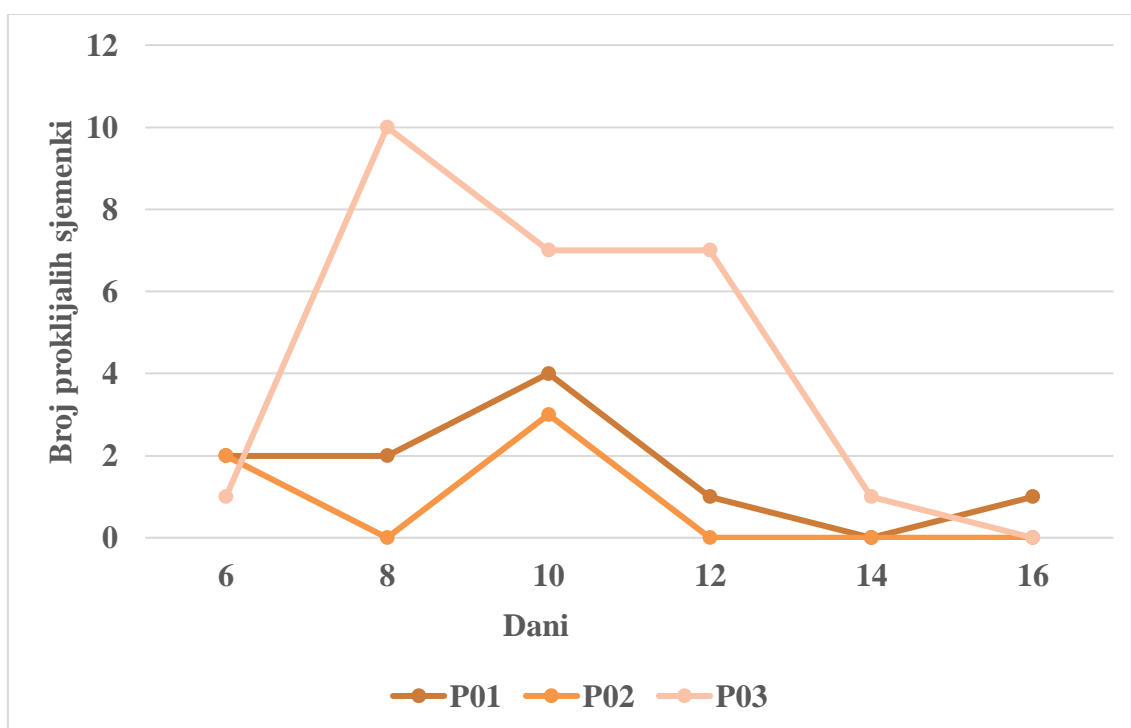
Graf 4.1. Izmjerene vrijednosti fluorescencije sjemena u istraživanim populacijama

Prosječna vrijednost klorofilne fluorescencije kod prokljalog sjemena iznosila je 1312,78, dok je kod neprokljalog sjemena iznosila 906,32. Najniža vrijednost fluorescencije prokljalog sjemena iznosila je 523 (P01), a najviša vrijednost 2596 (P03). Kod neprokljalog sjemena najniža utvrđena vrijednost iznosila je 465 (P01), a najviša 2272 (P03) (graf 4.2.). Utvrđena je statistički značajna razlika u prosječnim vrijednostima klorofilne fluorescencije između prokljalog i neprokljalog sjemena.



* Populacije označene istim slovom ne razlikuju se značajno na razini $P < 0.05$.

Graf 4.2. Klorofilna fluorescencija proklijalog i neproklijalog sjemena

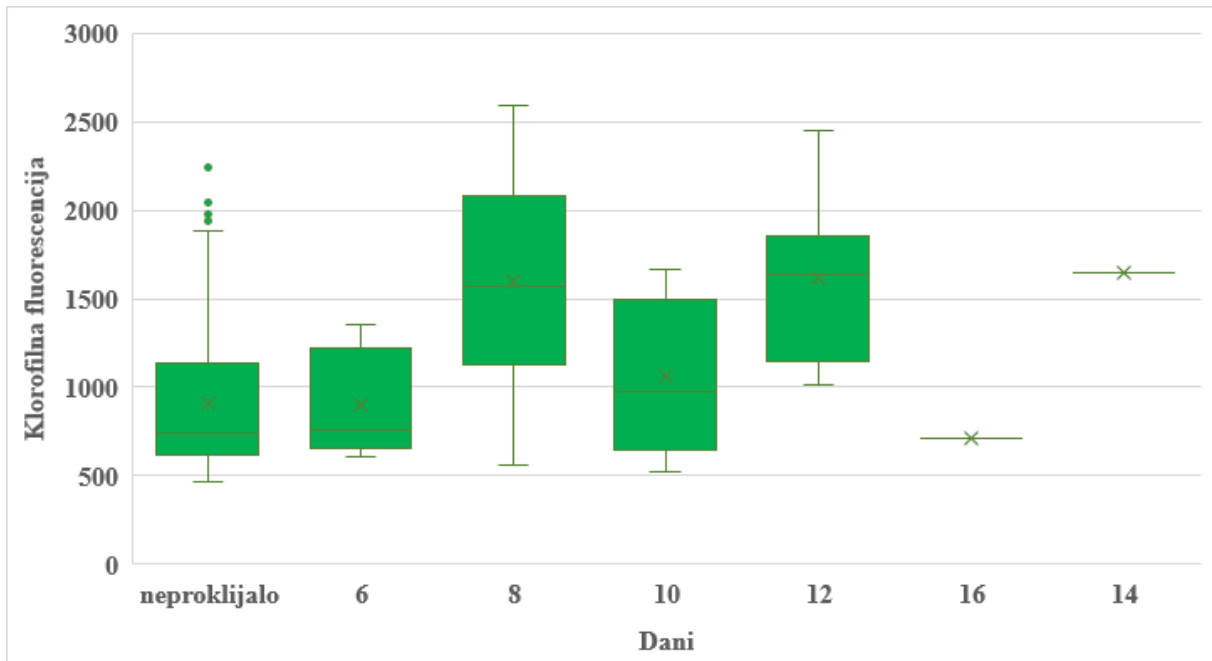


Grafikon 4.3. Dinamika klijanja sjemena dalmatinskog buhača

Na grafikonu 4.3. je prikazana dinamika klijanja sjemena. Prve prokljale sjemenke viđene su 6. dan kod svih populacija. Tijek daljnjeg nastavka klijanja je prikazan grafikonom 4.3. Na grafikonu se jasno ističe populacija P03 koja je imala u prvih 8 dana najviše prokljalih sjemenki (11), a kasnije dolazi do blagog smanjenja u iduća 4 dana sa 7 sjemenki po pregledu, nakon čega je uslijedio nagli pad broja prokljalih sjemenki.

Populacije P01 i P02 su do 10-og dana imale manji broj prokljalih sjemenki u usporedbi s P03. Maksimum klijanja za obje populacije, dosegnut je 10-og dana, nakon čega je uslijedio pad na 0 ili 1 prokljalu sjemenku po pregledu.

Po završetku klijanja, populacija s najviše prokljalih sjemenki je P03 s 26 sjemenki, a populacija s najmanje je P02 kod koje je zabilježeno 5 prokljalih sjemenki.



Graf 4.4. Vrijednosti klorofilne fluorescencije u ovisnosti o danima praćenja klijanja sjemena

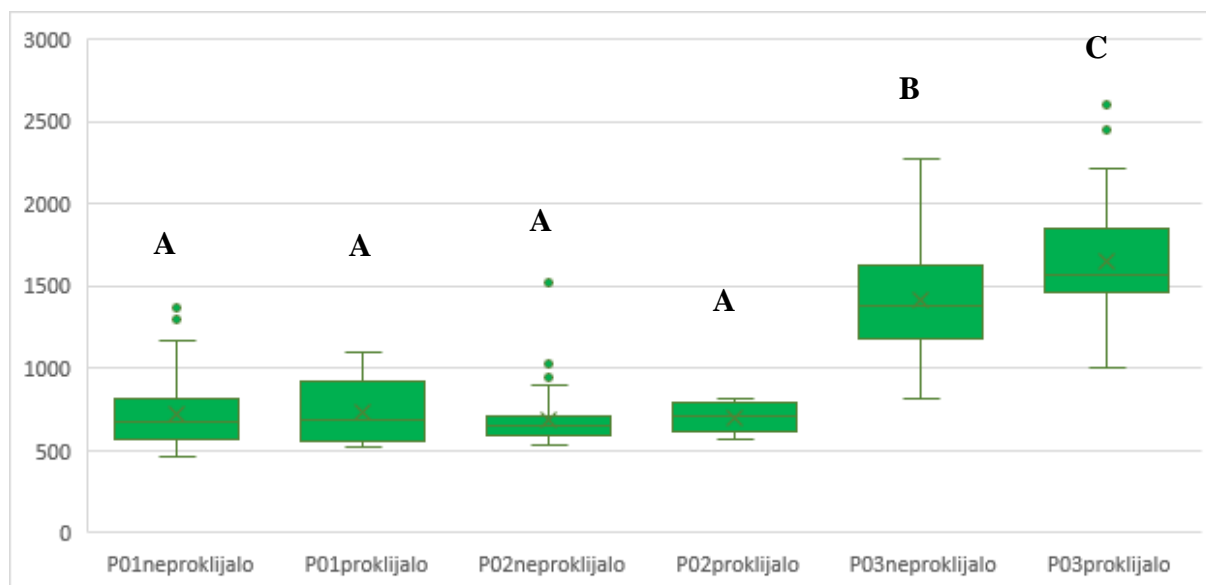
Graf 4.4. prikazuje vrijednosti klorofilne fluorescencije u ovisnosti o danima od stavljanja na naklijavanje. Kod sjemena koje je prokljalo šesti dan nakon stavljanja na naklijavanje vrijednosti klorofilne fluorescencije su se kretale od 605 do 1354, a osmi dan od 558 do 2569. Deseti dan zabilježen je i najveći broj prokljalih sjemenki, njih 14, a vrijednosti klorofilne fluorescencije sjemena kretale su se od 523 do 1665. Na 8 i 12 dan utvrđene su više vrijednosti u odnosu na ostale dane. Uzrok tomu se može zaključiti iz grafikona 4.3. jer su 8 i 12 dana prevladavale sjemenke iz populacije P03 koja u usporedbi s ostalim populacijama u grafu 4.1. ima značajno viši udio klorofilne fluorescencije.

Tablica 4.1. Pearsonov korelacijski koeficijent između vrijednosti klorofilne fluorescencije i klijavosti sjemena na temelju zemljopisnih podataka lokacija prikupljanja istraživanih populacija

	Klorofilna fluorescencija	Nadmorska visina	Broj dana od stavljanja na naklijavanje	Zemljopisna širina	Zemljopisna dužina
Klorofilna fluorescencija		-0.7018***	0.07645ns	-0.7752***	0.80625***
Nadmorska visina			-0.03203 ns	0.9759***	-0.92582***
Broj dana od stavljanja na naklijavanje				-0.0735 ns	0.10294 ns
Zemljopisna širina					0.98594***
Zemljopisna dužina					

ns – nije statistički značajno; *statistički značajno na razini $P<0.05$; **statistički značajno na razini $P<0.01$; *** statistički značajno na razini $P<0.001$.

Korelacije između vrijednosti klorofilne fluorescencije, broja dana od početka stavljanja sjemena na naklijavanje i zemljopisnih podataka lokacije prikupljanja sjemena utvrđene su Pearsonovim korelacijskim koeficijentom (Tablica 4.1.). Utvrđena je visoko značajna negativna korelacija vrijednosti klorofilne fluorescencije i nadmorske visine lokacije prikupljanja, kao i visoko značajna negativna korelacija vrijednosti klorofilne fluorescencije i zemljopisne širine, dok je sa zemljopisnom dužinom lokacije prikupljanja utvrđena visoko značajna pozitivna korelacija.



* Populacije označene istim slovom ne razlikuju se značajno na razini $P < 0.05$.

Grafikon 4.5. Klorofilna fluorescencija prokljalog i neprokljalog sjemena analiziranih populacija

Vrijednosti klorofilne fluorescencije i prokljalog i neprokljalog sjemena kod populacije P03 bile su značajno više u odnosu na prokljalo i neprokljalo sjeme preostalih populacija. Kod populacije P03, vrijednosti klorofilne fluorescencije neprokljalog sjemena kretale su se od 812 do 2272, a kod prokljalog sjemena od 1007 do 2596 te su utvrđene statistički značajne razlike u vrijednostima klorofilne fluorescencije između prokljalog i neprokljalog sjemena (grafikon 4.5.).

Od dosadašnjih objavljenih istraživanja koja su se bavila povezivanjem sadržaja klorofilne fluorescencije i klijavosti, nijedan rad nije promatrao sjeme ljekovitog, aromatičnog ili insekticidnog bilja. Većinom je to bilo sjeme povrtlarskih kultura (Jalink i sur. 1999., Demir i sur. 2013., Yadav i sur. 2015.). Jalink i sur. (1999.) su u svom istraživanju utvrdili povezanost izmjerenih vrijednosti klorofilne fluorescencije sjemena rajčice i kupusa sa zrelošću sjemena. Kod sjemena rajčice niske klijavosti utvrđene su više vrijednosti klorofilne fluorescencije dok su kod visoko kvalitetnog sjemena utvrđene niže razine. Kod nezrelog sjemena kupusa utvrđene su visoke vrijednosti klorofilne fluorescencije.

U istraživanju Yadav i sur. (2015.) na sjemenu kupusa (*Brassica oleracea* var. *capitata*) utvrđeno je da sjeme s nižim vrijednostima klorofilne fluorescencije ima značajno veću klijavost, odnosno da je zrelije što se očitovalo u parametrima koji opisuju brzinu klijanja.

Uspoređujući rezultate istraživanja provedenih na sjemenu kupusa i sjemenu buhača, kod ispitivanja sjemena buhača dobiveni su suprotni rezultati. Kod sjemenki buhača koje su proklijale, utvrđene su veće vrijednosti klorofilne fluorescencije u odnosu na neprokljale.

5. Zaključak

U ovom radu ispitivala se primjenjivost metode utvrđivanja sadržaja klorofila mjerenjem klorofilne fluorescencije, kao alata za predviđanje klijavosti sjemena buhača.

Rezultati su pokazali sljedeće:

1. Populacija s najviše prokljalih sjemenki je P03 (Mljet) s 26 sjemenki (26 %), a populacija s najmanje prokljalih sjemenki, njih 5 (5 %) je populacija (Ugljan)
2. Prosječne vrijednosti fluorescencije sjemena iznosile su: 1479,66 kod P03 (Mljet), 722,2 kod P01 (Vrbnik) i 683,76 kod populacije P02 (Ugljan), čime je utvrđena značajna razlika između populacije P03 i P02, kao i P03 i P01.
3. Najviša prosječna vrijednost klorofilne fluorescencije utvrđena je kod populacije Mljet (P03)
4. Pojedinačne vrijednosti klorofilne fluorescencije prokljalog sjemena su varirale od 523 (P01) do 2596 (P03), a neprokljalog od 465 (P01) do 2272 (P03). Između prokljalog i neprokljalog sjemena utvrđena je statistički značajna razlika.
5. Pearsonovim korelacijskim koeficijentom je utvrđena visoko značajna negativna korelacija vrijednosti klorofilne fluorescencije i nadmorske visine lokacije prikupljanja, kao i vrijednosti klorofilne fluorescencije i zemljopisne širine. Utvrđena je visoko značajna pozitivna korelacija klorofilne fluorescencije sa zemljopisnom dužinom lokacije prikupljanja.

6. Popis literature

1. Ambrožič-Dolinšek J., Camloh M., Žel J., Kovač M., Ravnikar M., Carraro L., Petrovič N. (2008). Phytoplasma infection may affect morphology, regeneration and pyrethrin content in pyrethrum shoot culture. *Scientia Horticulturae*. 116: 213-218
2. Ban D., Sladonja B., Dudaš S., Oplanić M., Perković J., Goreta Ban S. (2019). Production potential and economic viability of Croatian pyrethrum ecotypes. *Journal of Central European Agriculture*. 20 (2): 598-608
3. Ban D., Sladonja B., Lukic M., Lukic I., Lusetic V., Ganic K. K., Znidarcic D. (2010). Comparison of pyrethrins extraction methods efficiencies. *African Journal of Biotechnology*. 9: 2702-2708
4. Barton L. V. (1966). Viability of pyrethrum seeds. *Contributions to the Boyce Thompson Institute* 23: 267-268
5. Benić Penava M. (2005). Poljoprivreda, šumarstvo i ribarstvo na dubrovačkom području između dva svjetska rata. University of Dubrovnik.
6. Benić Penava M. (2012). Proizvodnja buhača u dubrovačkom kotaru između dva svjetska rata. *Ekonomika i ekohistorija*. 8: 108-115
7. Bhat, B. K. (1995). Breeding methodologies applicable to pyrethrum. *Pyrethrum flowers. Production, chemistry, toxicology, and uses*. 67-95
8. Brewer J. G., Henstra S. (1970). A membrane investing mature individual pollen grains of pyrethrum (*Chrysanthemum cinerariaefolium* VIS.). *Euphytica*. 19: 121-124
9. Britvec M. (2015) Interna skripta iz kolegija Botanika. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet.
10. Catalano C., Abbate L., Fatta del Bosco S., Motisi A., Carrubba A. (2014). Micropropagation and In vitro Culture of Pyrethrum (*Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.) Vis.). *Natural Products: Research Reviews*. 2: 189-212
11. Chermenskaya T. D. (2010). Insectoacaricidal and deterrent activities of extracts of Kyrgyzstan plants against three agricultural pests. *Industrial Crops and Products* 32: 157 - 163
12. Delač D. (2017). Klijavost sjemena prirodnih populacija dalmatinskog buhača (*Tanacetum cinerariifolium* /Trevir./ Sch. Bip.). Diplomski rad, Agronomski fakultet
13. Delač D., Gršić K., Ninčević T., Carović-Stanko K., Varga F., Grdiša M. (2018). The Influence of Hydropriming and Osmopriming with KNO₃ on Seed Germination of Dalmatian Pyrethrum (*Tanacetum cinerariifolium* /Trevir./ Sch. Bip.). *Agriculturae Conspectus Scientificus* 83: 205-211
14. Dell'Aquila A. (2009). Development of novel techniques in conditioning, testing and sorting seed physiological quality. *Seed Science and Technology*. 37(3): 608-624
15. Demir I., Kenanoglu B. B., Jalink H., Mavi K. (2013). Chlorophyll fluorescence sorting method to improve seedling emergence potential and vigour of commercial tomato and cucumber seed lots. *International Journal of Agriculture and Forestry*. 3(7): 333-338

16. Dorbić B., Gaćina N., Krnčević M., Krnčević Ž., Srpak M. (2012). Krajobrazno uređenje i zaštita ruralnog okoliša starokršćanske crkve Srima-Prižba kod Šibenika s posebnim osvrtom na gastronomske vrijednosti u svrhu turističke valorizacije. Zbornik radova Međimurskog veleučilišta u Čakovcu. 3 (2): 23-31
17. Dudaš S., Ban D., Krapac M., Ferencić D., Babić H. (2014). Evaluacija buhača iz uzgoja u konsocijaciji s maslinom. Zbornik radova 49. hrvatskog i 9. međunarodnog simpozija agronoma
18. Furbank R. T., von Caemmerer S., Sheehy J., Edwards G., 2009. C4 rice: a challenge for plantphenomics. *Functional Plant Biology*. 36(11): 845-856
19. Gallo M., Formato A., Ianniello D., Andolfi A., Conte E., Ciaravolo M., Varchetta V., Naviglio D. (2017). Supercritical fluid extraction of pyrethrins from pyrethrum flowers (*Chrysanthemum cinerariifolium*) compared to traditional maceration and cyclic pressurization extraction. *The Journal of Supercritical Fluids*. 119: 104-112
20. Glynn-Jones A. (2001). Pyrethrum. *Pestic. Outlook Biopestic.* 195-198
21. Gorbe E., Calatayud A. (2012). Applications of chlorophyll fluorescence imaging technique in horticultural research: A review, *Scientia Horticulturae*. 138: 24–35
22. Grdiša M., Babić S., Periša M., Carović-Stanko K., Kolak I., Liber Z., Jug-Dujaković M., Satovic Z. (2013). Chemical Diversity of the Natural Populations of Dalmatian Pyrethrum (*Tanacetum cinerariifolium*). *Chemistry & Biodiversity*. 10: 460-472
23. Hitmi A., Coudret A., Barthomeuf C. (2000). The production of pyrethrins by plant cell and tissue cultures of *Chrysanthemum cinerariaefolium* and *Tagetes species*. *Critical reviews in plant sciences*. 19(1): 69-89
24. Hulina N. (2011). Više biljke stablašice. *Sistematika i gospodarsko značenje. Golden marketing – Tehnička knjiga. Zagreb*
25. Jalink H., van der Schoor R., Birnbaum Y. E., Bino R. J. (1999). Seed chlorophyll content as an indicator for seed maturity and seed quality. *Acta Horticulturae*. (504): 219-228
26. Jalink H., Van der Schoor R., Frandas A., Van Pijlen J., Bino R. (1998). Chlorophyll fluorescence of *Brassica oleracea* seeds as a non-destructive marker for seed maturity and seed performance. *Seed Science Research*. 8(4): 437-443
27. Kenanoglu B. B., Demir I., Jalink H. (2016) Improvement of Seed Germination Performance of Stored Commercial Pepper Seed Lots with Chlorophyll Fluorescence Sorting Method, *10(4): 1–6*
28. Kolak I., Šatović Z., Rukavina H., Filipaj B. (1999.): Dalmatinski buhač (*Tanacetum cinerariifolium* /Trevir./ Sch. Bip.). *Sjemenarstvo*, 16: 425-440
29. Kumar V., Tyagi D. (2013). Chemical composition and biological activities of essential oils of genus *Tanacetum* – a review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2(3): 155-159
30. Leng G., Gries W., Selim S. (2006). Biomarker of pyrethrum exposure. *Toxicology Letters*. 162: 195-201
31. Li J., Yin L. Y., Jongsma M. A., Wang C. Y. (2011). Effects of light, hydropriming and abiotic stress on seed germination, and shoot and root growth of pyrethrum (*Tanacetum cinerariifolium*). *Industrial crops and products*. 34(3): 1543-1549

32. Long S., Woodward F. (1998). Plants and temperature. Symposium of the Society for Experimental Biology. Cambridge, United Kingdom, 109-132
33. Macan J., Varnai V. M., Turk R. (2006). Zdravstveni učinci piretrina i piretroida, Arhiv za higijenu rada i toksikologiju, 57(2): 237-243
34. Matsuda K., Kikuta Y., Haba A., Nakayama K., Katsuda Y., Hatanaka A., Komai K. (2005) Biosynthesis of pyrethrin I in seedlings of *Chrysanthemum cinerariaefolium*, Phytochemistry 66: 1529-1535
35. Minello E. V., Lai F., Zonchello M. T., Melis M., Russo M., Cabras P. (2005). Effect of sunscreen and antioxidant on the stability of pyrethrin formulations. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 53: 8302-8305
36. Ministarstvo zaštite okoliša i prirode (2013). Pravilnik o strogo zaštićenim vrstama (NN 144/2013)
37. Morris S., Davies N., Brown P. H., Groom T. (2006). Effect of drying conditions on pyrethrins content. Industrial Crops and Products. 23: 9-14
38. Moslemi A. (2017). The pathology of pyrethrum yield – decline in Australia (Doctoral dissertation).
39. Nagar A., Chatterjee A., ur Rehman L., Ahmad A., Tandon S. (2015). Comparative extraction and enrichment techniques for pyrethrins from flowers of *Chrysanthemum cinerariaefolium*. Industrial Crops & Products. 76: 955-960
40. Nikolić T., Milović M., Bogdanović S., Jasprica N. (2015.): Endemi u hrvatskoj flori. Alfa, Zagreb, 491.
41. Ooms D., Destain M.-F. (2011) Evaluation of chicory seeds maturity by chlorophyll fluorescence imaging. Biosystems Engineering. 110(2): 168-177
42. Ozimec R., Karoglan Kontić J., Maletić E., Matotan Z., Strikić F. (2015). Tradicijske sorte i pasmine Dalmacije. Zagreb, Program Ujedinjenih naroda za razvoj.
43. Pravilnik o ekološkoj proizvodnji bilja i životinja (NN 1/2013), Ministarstvo poljoprivrede
44. Stepanović B., Radanović D., Tursić I., Nemčević N., Ivanec J. (2009.). Uzgoj ljekovitog i aromatičnog bilja. Jan-Spider. Pitomača.
45. Šprljan I. (2013). Industrijski objekti u Šibeniku. Godišnjak zaštite spomenika kulture Hrvatske. 37/38: 101-118
46. Vasisht K., Kumar V. (2001) Industrial Utilization of Pyrethrum, ICS-UNIDO
47. Wong D. (2008). The Occurrence, Bioactivity, Biosynthesis, and Synthesis of Pyrethrins. Chemistry 150
48. Yadav S. K., Yadav S., Dadlani M., Jalink H., Groot S. P. C., Van Der Schoor R., Kodde J. (2015). Quality improvement of aged cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*) seeds using chlorophyll fluorescence sensor. Scientia Horticulturae. 189: 81-85
49. Yang T., Stoopen G., Wieggers G., Mao J., Wang C., Dicke M., Jongsma M. A. (2012). Pyrethrins Protect Pyrethrum Leaves Against Attack by Western Flower Thrips, *Frankliniella occidentalis*. Journal of Chemical Ecology. 38: 370-377

Životopis

Maja Krželj rođena je 25.9.1996. godine u Splitu. Od 2011. do 2015. godine pohađala je prirodoslovnu gimnaziju u Prirodoslovno-tehničkoj školi. Za vrijeme srednje škole je završila volontiranje i jedan volonterski projekt u kojem je ostala uključena sve do danas. Na Državnoj maturi je položila engleski B2 razinu, te položila i Cambridge test za B2 razinu. Završila je preddiplomski studij Ekološka poljoprivreda i istim slijedom nastavila na diplomski studij Ekološka poljoprivreda i agroturizam na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu.