

# Selektivnost kukuruza prema kombinaciji reduciranih dozacija herbicida i fenolne kiseline

---

Frketić, Rovena

Master's thesis / Diplomski rad

2022

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:204:614844>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-18**



Repository / Repozitorij:

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



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET**

**SELEKTIVNOST KUKURUZA PREMA KOMBINACIJI  
REDUCIRANIH DOZACIJA HERBICIDA I FENOLNE  
KISELINE**

DIPLOMSKI RAD

Rovena Frketić

Zagreb, rujan, 2022.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET**

Diplomski studij:

Obnovljivi izvori energije u poljoprivredi

**SELEKTIVNOST KUKURUZA PREMA KOMBINACIJI  
REDUCIRANIH DOZACIJA HERBICIDA I FENOLNE  
KISELINE**

DIPLOMSKI RAD

Rovena Frketić

Mentor:  
izv. prof. dr. sc. Maja Šćepanović

Zagreb, rujan, 2022.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET**

**IZJAVA STUDENTA  
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI**

Ja, **Rovena Frketić**, JMBAG 0178113687, rođen/a 13.03.1999. u Karlovcu, izjavljujem da sam samostalno izradila/izradio diplomski rad pod naslovom:

**SELEKTIVNOST KUKURUZA PREMA KOMBINACIJI REDUCIRANIH DOZACIJA HERBICIDA I  
FENOLNE KISELINE**

Svojim potpisom jamčim:

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

U Zagrebu, dana \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
*Potpis studenta / studentice*

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET**

**IZVJEŠĆE**

**O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA**

Diplomski rad studenta/ice **Rovena Frketić**, JMBAG 0178113687, naslova

**SELEKTIVNOST KUKURUZA PREMA KOMBINACIJI REDUCIRANIH DOZACIJA HERBICIDA I  
FENOLNE KISELINE**

obranjen je i ocijenjen ocjenom \_\_\_\_\_, dana \_\_\_\_\_.

Povjerenstvo:

1. izv. prof. dr. Maja Šćepanović mentor
2. izv. prof. dr. sc. Boris Lazarević član
3. izv. prof. dr. sc. Kristina Kljak član

potpisi:

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



## Sadržaj

1. Uvod.....	1
2. Pregled literature .....	3
2.1.    Biomasa.....	3
2.2.    Kukuruz i bioplin.....	5
2.3.    Korovna flora u kukuruзу .....	7
2.4.    Pokrovni usjevi i alelopatija.....	9
3. Materijali i metode.....	13
3.1.    Laboratorijski ( <i>in-vitro</i> ) pokus.....	13
3.1.1.    Priprema otopina i test klijavosti .....	13
3.2.    Pokus u komori rasta (Biotest).....	16
3.3.    Statistička obrada podataka.....	20
4. Rezultati .....	21
4.1.    Rezultati laboratorijskog dijela istraživanja .....	21
4.1.1.    Klijavost kukuruza nakon <i>in vitro</i> primjene fenolnih kiselina i fenolnih kiselina u kombinaciji s reduciranim dozama herbicida.....	22
4.1.2.    Duljina radikule kukuruza nakon <i>in vitro</i> primjene fenolnih kiselina i fenolnih kiselina u kombinaciji s reduciranim dozama herbicida .....	23
4.1.3.    Duljina koleoptile kukuruza nakon <i>in vitro</i> primjene fenolnih kiselina i fenolnih kiselina u kombinaciji s reduciranim dozama herbicida .....	25
4.1.4.    Masa klijanaca kukuruza nakon <i>in vitro</i> primjene fenolnih kiselina i fenolnih kiselina u kombinaciji s reduciranim dozama herbicida .....	27
4.2.    Rezultati biotesta .....	29
4.2.1.    Vizualna ocjena oštećenja nadzemne mase kukuruza .....	29
5. Rasprava.....	31
6. Zaključak.....	35
7. Popis literature .....	36

## Sažetak

Diplomskog rada studenta/ice **Rovena Frketić**, naslova

### **SELEKTIVNOST KUKURUZA PREMA KOMBINACIJI REDUCIRANIH DOZACIJA HERBICIDA I FENOLNE KISELINE**

Kukuruzna silaža predstavlja značajnu sirovinu za proizvodnju bioplina. U usjevu silažnog kukuruza korovi su ograničavajući čimbenik uzgoja, a suzbijanje korova osnovna agrotehnička mjera koja se uglavnom provodi primjenom herbicida. Međutim, cilj EU strategije „Zeleni plan“ je do 2030. godine smanjiti korištenja pesticida za 50%. Stoga su nužno potrebne alternativne metode suzbijanja korova. Fenolne kiseline imaju potencijal inhibicije rasta korova pa se istražuje mogućnost njihove primjene sa značajno reduciranim dozacijama herbicida. Cilj istraživanja je utvrditi selektivnost kukuruza prema kombinaciji reducirane doze herbicida i fenolne kiseline. U laboratorijskom dijelu istraživanja sjeme kukuruza tretirano je punom (x) i reduciranim dozama herbicida Adenga (1/2, 1/4, 1/8, 1/16 x) i s feruličnom/*p*-hidroksibenzojevom kiselinom dodanim istim dozacijama herbicida. Navedeni dio prethodio je biotestu u klima komori u kojem je kukuruz tretiran istim dozacijama herbicida samostalno i u kombinaciji s feruličnom kiselinom. Iako su u laboratorijskom dijelu fenolne kiseline pojačale redukcijski učinak herbicida Adenga na klijavost i rani rast kukuruza, vizualnom ocjenom oštećenja nadzemne mase nisu utvrđena značajna oštećenja mladih biljaka kukuruza.

**Ključne riječi:** alelopatija, ferulična kiselina, *p*-hidroksibenzojeva kiselina, biomasa, fitotoksičnost



## Summary

Of the master's thesis – student **Rovena Frketić**, entitled

### **MAIZE SELECTIVITY TO THE COMBINATION OF REDUCED DOSAGES OF HERBICIDE AND PHENOLIC ACIDS.**

Maize silage is an important raw material for biogas production. In silage maize cultivation, weeds are the limiting factor, and weed control is a basic agrotechnical measure, mainly through the use of herbicides. However, the goal of the EU Green Plan strategy is to reduce the use of pesticides by 50% by 2030. Therefore, alternative methods of weed control are needed. Phenolic acids have the potential to inhibit the growth of weeds. Therefore, the possibility of their application with significantly reduced herbicide doses is being investigated. The aim of the research is to determine the selectivity of maize to the combination of reduced doses of herbicide and phenolic acid. In the laboratory part of the study, maize seeds were treated with full (x) and reduced doses of the herbicide Adenga (1/2, ¼, 1/8, 1/16 x) and with ferulic acid/*p*-hydroxybenzoic acid added to the same herbicide doses. The mentioned part preceded the bioassay in the climate chamber, where maize was treated with the same herbicide doses alone and in combination with ferulic acid. Although in the laboratory part the phenolic acids enhanced the reducing effect of the herbicide Adengo on the germination and early growth of maize, the visual assessment of the injury to the aboveground mass did not reveal any significant damage to young maize plants.

**Keywords:** allelopathy, ferulic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, biomass, phytotoxicity

# 1. Uvod

Sve veća svjetska potražnja za energijom rezultira povećanim iscrpljivanjem i korištenjem fosilnih goriva. Korištenje fosilnih goriva kao izvora energije za potrebe različitih industrija (npr., automobilska, zrakoplovna, pomorstvo) uzrokuje značajno zagađenje okoliša. Poznato je da sagorijevanjem fosilnih goriva u atmosferu ulaze štetni (staklenički) plinovi koji doprinose i pojačavaju efekt staklenika te pridonose ubrzanom globalnom zagrijavanju. Shodno tome, potreba za proizvodnjom ekološki prihvatljivijih i obnovljivih izvora energije je neminovna.

Obnovljivi izvori energije su oblici energije koje je potencijalno nemoguće iscrpiti, jer se kontinuirano obnavljaju. To su energija vode, sunca, geotermalna energija, energija vjetra i energija biomase. Zamjena fosilnih goriva obnovljivim izvorima energije približila bi cilj Pariškog sporazuma iz 2016. godine koji uključuje smanjenje emisije stakleničkih plinova i globalnog zatopljenja. Nadalje, opće zagađenje i nužnost smanjenja emisija stakleničkih plinova, pitanja vezana uz ljudsko zdravlje, zdravlje životinja, sigurnosti hrane, stalni trend rasta potrošnje fosilnih goriva i brzog rasta gospodarstva, znakovi su energetske krize (Cavinato 2010.). Kako se ovisnost Hrvatske o opskrbi energentima, pogotovo plinom, povećava iz godine u godinu (Hrnčević i sur. 2008.), korištenje alternativnih izvora energije je izgledno rješenje za budući razvoj gospodarstva. Obzirom na eksploatacijske vrijednosti biomase u Hrvatskoj, pogotovo istočnog dijela države, potencijal za proizvodnjom energije iz biomase kao alternativna prirodnom (zemnom) plinu, put je ka održivoj budućnosti Republike Hrvatske (Ćosić 2017.). Proizvodnja energije iz biomase započinje od uzgoja energetskih kultura uzgajanih sa ciljem proizvodnje krutih, tekućih ili plinovitih goriva.

Kukuruz je jedna od vodećih energetskih kultura. U usjevu kukuruza korovi predstavljaju glavni ograničavajući čimbenik rasta (Yeganehpoor i sur. 2015.). Utjecaj korova na usjev kukuruza očituje se u morfološkim i anatomskim promjenama kao što su redukcija visine kukuruza i dužine internodija, produžena zrioba i smanjen broj zrna u klipu (Glauning i Holzner 1982.). Upravo zbog toga je primjena agrotehničkih mjera, između ostalog i primjene herbicida, neophodna. Međutim, temeljem ciljeva Europske unije koji nalažu smanjenje upotrebe svih pesticida za 50% do 2030. godine (Europski zeleni plan), potrebno je pronaći alternativne mjere suzbijanja korovnih vrsta.

Pokrovni usjevi su usjevi koji se ne uzgajaju za komercijalnu upotrebu, ali imaju veliku ulogu u sustavu plodoreda. Koriste se u svrhu prekrivanja tla bez obzira na način završetka vegetacije, povećanja organske tvari u tlu, poboljšanja fizikalnih svojstava tla, akumulacije dušika, povećanja mikrobiološke aktivnosti, ali i u svrhu suzbijanja korova (Snapp 2005 ).

Vodeći mehanizam djelovanja kojim pokrovni usjevi doprinose suzbijanju i kontroli distribucije korova, uz kompeticiju za prirodne resurse, je alelopatija. Ova biološka pojava podrazumijeva interakciju dviju biljaka oslobađanjem kemijskih spojeva, alelokemikalija, u okoliš (Rice 1984.). Alelokemikalije se u okoliš oslobađaju ispiranjem, isparavanjem iz listova, izlučivanjem iz korijena i putem razgradnje biljnih ostataka (Singh i sur. 2003.). Ti sekundarni biljni metaboliti mogu pomoći ili naštetiti rastu i razvoju vegetacije (Scavo i sur. 2019.). Alelokemikalije koje potiskuju ili eliminiraju druge biljne vrste dobile su posebnu pozornost u

poljoprivrednoj proizvodnji zbog inhibicijskog potencijala ovih spojeva, tj. zbog potencijalne primjene ovih prirodnih spojeva kao ekološki prihvatljivijih herbicida (Copping 1996.).

Biljne vrste iz porodice *Brassicaceae* često se koriste kao pokrovni usjevi, posebice zbog učinkovitosti u suzbijanju korova. Naime, vodeni ekstrakti nekoliko vrsta iz te porodice imaju potencijal inhibirati klijavost, duljinu radikule i koleoptile koštana (*Echinochloa crus-galli* L.) i sivog muhara (*Setaria glauca* L.), glavnih monokotiledonih korovnih vrsta u usjevu kukuruza (Brijačak i sur. 2020.). Nadalje, vodeni ekstrakti *Brassicaceae* pokrovnih vrsta inhibiraju klijavost i rani rast najčešće dikotiledone korovne vrste u gotovo svim ljetnim usjevima, ambrozije (*Ambrosia artemisiifolia* L.) (Šćepanović i sur. 2021.). Spomenuti vodeni ekstrakti sadrže 15 fenolnih spojeva, od kojih 10 pripada fenolnim kiselinama (Šćepanović i sur. 2021.). Fenolne kiseline ferulična, vanilična, *p*-kumarična i *p*-hidroksibenzojeva iskazale su značajan inhibicijski učinak ( $\geq 50\%$ ) na klijavost i rani rast ambrozije (Šćepanović i sur. 2022.). Obzirom da je takav značajni učinak posljedica primjene fenolnih kiselina u dozama do 16 puta većih od onih koje su prirodno prisutne u biljkama, nije izgledno da primjenom čistih fenola može biti postignut zadovoljavajući učinak zaštite usjeva kukuruza od korova. Međutim, postoji mogućnost da će primjenom kombinacije fenolnih kiselina i smanjenih doza herbicida biti postignuta zadovoljavajuće suzbijanje korova uz značajno smanjeni učinak na okoliš.

Istraživanja su pokazala da alelokemikalije nekih biljaka mogu imati inhibicijski učinak na kukuruz (Moonen i Barberi 2006., Elqahtani i sur. 2017.). Obzirom na potencijalnu iskoristivost alelokemikalija u svrhu suzbijanja korovnih vrsta u usjevima kukuruza, potrebno je istražiti ne samo njihov učinak na korovne vrste već i kakav učinak ti spojevi imaju na rast i razvoj kukuruza. Iako gotovo i nema informacija o mehanizmu djelovanja ferulične i *p*-hidroksibenzojeve kiseline, pretpostavka je da bi kukuruz trebao biti selektivan prema tim fenolnim kiselinama ukoliko imaju sličan mehanizam djelovanja koji ima herbicid koji se inače koristi u usjevu kukuruza (Orcaray i sur. 2011.).

Temeljem svega navedenog, cilj ovog rada je istražiti učinak ferulične i *p*-hidroksibenzojeve kiseline u kombinaciji s reduciranim dozama herbicida Adenga na kukuruz. Adengo (tienkarbazon-metil 90 g/L i izoksaflutol 225 g/L) je zemljišno-lisni herbicid koji se koristi u usjevima kukuruza za suzbijanje jednogodišnjih širokolisnih i uskolisnih korovnih vrsta. Nastavno, cilj je istražiti eventualno sinergijsko ili antagonističko djelovanje fenolnih kiselina u kombinaciji s herbicidom na klijavost i rani rast i razvoj mladih biljaka kukuruza.

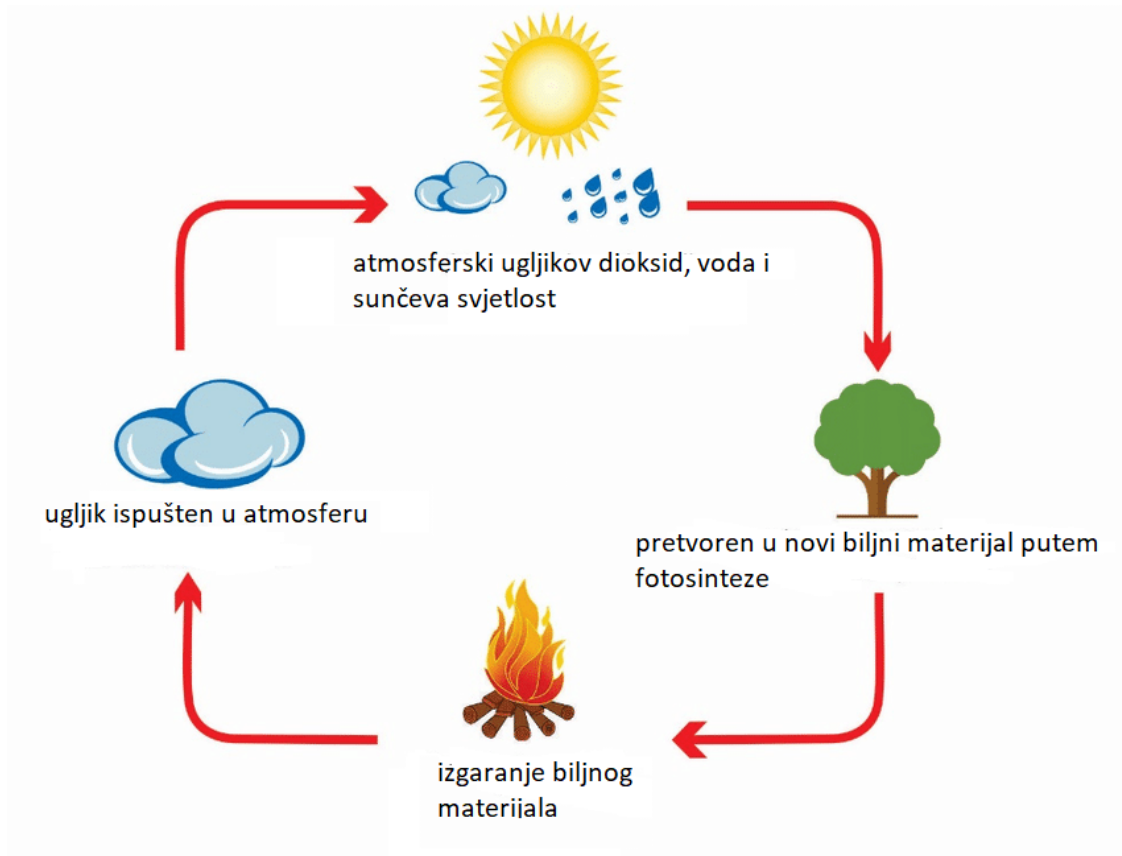
## 2. Pregled literature

### 2.1. Biomasa

Biomasa je biorazgradivi dio proizvoda, otpada ili ostatka iz poljoprivrede koja uključuje biljne i životinjske tvari <sup>1</sup>. Ostaci iz šumarstva, akvakulture i ribarstva, ujedno i biorazgradivi dijelovi komunalnog otpada također se klasificiraju biomasom koja se dijeli na: šumske ostatke (drvena kora, grane, grančice, lišće), poljoprivredne ostatke (ljuske zrna, slama), životinjski otpad (goveđi izmet), industrijski otpad (strugotine drveta, piljevina) i kruti komunalni otpad (Basu 2018.). Upotreba biomase doprinosi smanjenju siromaštva zemalja trećeg svijeta, osigurava potrebe za energijom u datom trenu, može se pretvoriti u željeni oblik energije (čvrsti, tekući, plinoviti), ugljično je neutralna, potpomaže biološkoj aktivnosti tla i vraća plodnost degradiranim zemljištima (Karekezi 2004.). Biomasa se može proizvesti i skladištiti na mjestu potrošnje, čime su znatno smanjeni troškovi transporta i proizvodnje energije. Biogoriva su jedini obnovljivi izvori energije koji mogu riješiti problem velike ovisnosti transportnog sektora o uvoznoj nafti (Chum i sur. 2011.). Inicijativama kao što su "Akcijski plan za biomasu" i "Višegodišnji plan", pripremljen od strane Europske komisije i američkog Ministarstva energetike dokazana je ekonomska važnost bioenergije (Chum i sur. 2011). Akcijski plan za biomasu naglašava potrebu smanjenja emisije ugljičnog dioksida (CO<sub>2</sub>), čime se ispunjavaju obveze potpisane u okviru Protokola iz Kyota i, posebno u odnosu na zemlje koje nisu uključene u ratifikaciju kroz povećanje njihove svijesti o pitanju globalnog zatopljenja (Tursi 2019.). Obzirom da je izgaranje biomase CO<sub>2</sub> neutralno (Slika 2.1.1.), jer CO<sub>2</sub> ispušten njihovim izgaranjem će biti usvojen od strane biljaka za metaboličke procese, korištenje biomase kao sirovine za proizvodnju energije doprinosi ostvarivanju ciljeva akcijskog plana (Tkemaladze i Makhashvili 2016).

---

<sup>1</sup> DIREKTIVA (EU) 2018/2001 EUROPSKOG PARLAMENTA I VIJEĆA



Slika 2.1.1. Prikaz CO<sub>2</sub> neutralnosti

Izvor: <https://www.researchgate.net/publication/336864647/figure/fig1/AS:819152713424897@1572312634652/Illustration-of-the-carbon-neutral-cycle-37.ppm>

Sirovine koprne biomase mogu se općenito kategorizirati u dvije skupine. U prvu skupinu spadaju kukuruzno zrno, šećerna trska, soja, sjemenke uljarica iz kojih se proizvode biogoriva prve generacije. Ove sirovine su bogate šećerom ili lipidima, i imaju visoke prinose nakon pretvorbe u bioetanol ili biodizel. Trenutno se većina biogoriva proizvodi od ovih sirovina, zbog jednostavnosti tehnologije i nižeg troška proizvodnje (Yue i sur. 2014.). Drugu generaciju goriva predstavljaju lignocelulozni materijali kao što su poljoprivredni ostaci, ostaci od rezidbe voćaka i energetske kulture. Treća generacija biogoriva uključuje biomasu algi (Tursi 2019.).

Biomasa se može raznim procesima pretvoriti u električnu odnosno toplinsku energiju i biogoriva. Razlikuju se tri procesa prerade biomase: termokemijska, biokemijska i fizikalno-kemijska pretvorba.

Biokemijska pretvorba biomase uključuje proces anaerobne digestije kojom nastaje bioplina. Anaerobna digestija je biološki proces koji se koristi u svrhu gospodarenja otpadom, ali i za proizvodnju obnovljive energije. Postoje četiri koraka anaerobne digestije (Zamani 2015.). Tijekom cijelog procesa odvijaju se serije kemijskih reakcija prirodnim metaboličkim putovima, što omogućuje mikroorganizmima potrebnim za proces okruženje bez kisika. Ovim

se reakcijama razlažu organske makromolekule u jednostavnije molekule što dovodi do stvaranja bioplina (mješavina metana i ugljičnog dioksida kao i tragovi drugih plinova) i digestata (Sharma 2015.). Proces je idealan za organski otpad sa sadržajem vlage od 80 do 90%, a jedna od prednosti procesa leži u potencijalu izravnog korištenja konačnog bioplina u plinskim motorima i plinskim turbinama. Proces započinje hidrolizom prilikom koje se biomasa koja se sastoji od velike količine polimera poput ugljikohidrata, masti i proteina, razlaže na jednostavnije spojeve, masne kiseline, jednostavnije šećere i aminokiseline (Horan i Wid 2018.). Acidogeneza je drugi stupanj anaerobne digestije u kojemu acidogeni mikroorganizmi (fermentativne bakterije) dalje razgrađuju produkte faze hidrolize, pri čemu nastaju amonijak ( $\text{NH}_3$ ), ugljikov dioksid ( $\text{CO}_2$ ), vodik ( $\text{H}_2$ ), sumporovodik ( $\text{H}_2\text{S}$ ), alkoholi, lakše hlapljive masne kiseline, ugljikove kiseline i alkoholi (Tursi 2019). Acetogeneza, kao treća faza anaerobne digestije uključuje acetogene mikroorganizme koji kataboliziraju produkte, nastaje u fazi acidogeneze u octenu kiselinu ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ),  $\text{CO}_2$  i  $\text{H}_2$ . Acetogeni mikroorganizmi dovršavaju proces razgradnje biomase i time olakšavaju djelovanje metanogenih arheja u završnoj fazi proizvodnje bioplina. Metanogeneza je završna faza anaerobne digestije tijekom koje se, kao što je ranije spomenuto, metan stvara iz glavnih proizvoda acetogeneze (tj.  $\text{CH}_3\text{COOH}$  i  $\text{CO}_2$ ) (Tursi 2019.).

## **2.2. Kukuruz i bioplin**

Biomasa ima ogroman energetske potencijal za zadovoljavanje trenutne potražnje za energijom i osiguravanje buduće potrebe za opskrbom energijom i gorivom. Moderne tehnike obrade biomase koriste i toplinsku i biološku obradu i proizvodnju različitih korisnih proizvoda u obliku plinova (bioplin), tekućih (bioetanol i biodizel) i čvrstih proizvoda (biougljen). Bioplin koji nastaje anaerobnom digestijom sastoji se u najvećem udjelu od  $\text{CH}_4$  (50 – 75%),  $\text{CO}_2$  (25 – 50%) i manjeg udjela  $\text{N}_2$ ,  $\text{H}_2$ , vodene pare i  $\text{H}_2\text{S}$ . Zapaljiv je plin, bezbojan, čiji miris često podsjeća na miris jaja (Korbag i sur. 2020.). Bioplin kao alternativno gorivo, ekološki je prihvatljiv plin koji se može koristiti za proizvodnju električne ili toplinske energije i kao gorivo u motorima (Al Seadi i sur. 2008.). Njegovo korištenje u transportnom sustavu, za proizvodnju toplinske i električne energije dovodi do mnogih društvenih i ekoloških prednosti. Smanjuje se količina otpada, potrošnje fosilnih goriva i vode, smanjuje se razina emisije stakleničkih plinova, i otvaraju se nova radna mjesta (Al Seadi i sur. 2008.). U prirodi može nastati spontano u močvarama, probavnom traktu preživača ili na kompostištim (Deublein i Steinhauser 2011.). Za proizvodnju bioplina, kao supstrat, mogu se koristiti sve vrste biomase sve dok sadrže ugljikohidrate, proteine, masti, celulozu i hemicelulozu. Lignificirane sirovine, poput drva nisu prikladne za anaerobnu digestiju (Braun 2007.). Proizvodnja bioplina je u prošlosti bila fokusirana na korištenje životinjskog gnoja i mulja otpadnih voda kao jedinog supstrata. Dodavanjem kosupstrata životinjskom gnoju, poput ostataka poljoprivrednih kultura, biootpada ili energetskih kultura, povećava se sadržaj organskog materijala čime se postiže

veći prinos bioplina. Ovisno o sastavu supstrata, podrijetlu i organskim komponentama, varirati će prinos bioplina.

Kukuruz (*Zea Mays* L.) pripada porodici trava. Nakon riže i pšenice jedan je od najčešće sijanih usjeva u svijetu, a najveća proizvodnja je u SAD-u, Kini i Meksiku. Koristi se za prehranu ljudi, hranidbu domaćih životinja, u proizvodnji biogoriva, kozmetike, lijekova i plastike. Kukuruz zauzima 40 - 50% zasijanih površina Republike Hrvatske (Hrgović 2007.). Prema podacima FAOSTAT-a za 2020. godinu prosječno se, u Hrvatskoj, godišnje zasije 288400 hektara kukuruza, prinosa 8,29 tona po hektaru.

Na temelju desetogodišnjeg razdoblja (2002. – 2011.) je procijenjeno, da se u Europskoj Uniji proizvede 367 milijuna tona poljoprivrednih ostataka od kojih su 62 milijuna tona ostatci kukuruznih usjeva. Razmatrajući mogućnost proizvodnje bioenergije iz poljoprivrednih ostataka u Hrvatskoj, tehnički potencijal kukuruza se procjenjuje na 0,37 milijuna tona kukuruznih ostataka. Kukuruzna silaža se koristi za proizvodnju bioplina procesom anaerobne digestije diljem Europe i Sjeverne Amerike (Amon i sur. 2007.). Ključan je supstrat koji se koristi za proizvodnju bioplina u Europskoj Uniji zbog visokog potencijala prinosa metana i kemijskog sastava, visokog potencijala proizvodnje biomase te lake integracije u postojeće sustave uzgoja (Schittenhelm 2008., Oslaj i sur. 2010.). Više od 17000 bioplinskih postrojenja u Europi koristi kukuruznu silažu kao glavni supstrat, od kojih se 8000 nalazi u Njemačkoj. Obzirom da je žetva kukuruza koji se uzgaja u umjerenj klimi jednom godišnje, u kasno ljeto ili jesen, biomasa koja se koristi u bioplinskim postrojenjima se većinom konzervira siliranjem (Murphy i sur. 2011.). Tijekom procesa siliranja topljivi ugljikohidrati i bjelančevine fermentiraju na organske kiseline, alkohole i topive dušikove spojeve. Stvaranje kiselina, uglavnom mliječne kiseline, rezultira padom pH i inhibira aktivnosti nepoželjnih mikroorganizama, poput klostridija i enterobakterije, što dovodi do očuvanja suhih i hranjivih tvari (Allen i sur. 2003.). Osim bioplina, anaerobnom digestijom kukuruzne silaže, proizvodi se i sirovi digestat koji se može koristiti kao gnojivo (Santi i sur. 2015.). Obzirom na velike količine proizvodnje kukuruza i kukuruznih ostataka, kako u Europi tako i u Republici Hrvatskoj, pad prinosa koji je uzrokovan kompeticijom s korovima podrazumijeva i smanjenu proizvodnju energije iz bioplina.

Korovi su glavni ograničavajući čimbenik za rast i razvoj kukuruza te uzrokuju značajan gubitak prinosa kada nisu suzbijeni (Keramati i sur. 2008.). Kompeticijom za resurse poput svjetla, vode, tla i nutrijenata korovi potiskuju kukuruz i ograničavaju njegov rast. Istraživanje provedeno na usjevu kukuruza potvrdilo je značajnu redukciju indeksa lisne površine, stope rasta kukuruza i ukupne količine suhe tvari koje je uzrokovala kompeticija s korovima (Cox i sur. 2006.). Procjenjuje se da gubitak prinosa kukuruza uzrokovan kompeticijom s korovima iznosi 13% kod usjeva u kojima se korovi suzbijaju pa sve do 85% u usjevima gdje korovi nisu suzbijani (Carvalho i sur. 2009). Najčešći gubitak prinosa kukuruza uzrokovan korovima iznosi oko 40% (Öerke 2006.). Postotak gubitka povezan je sa sastavom korovne flore, vremenom nicanja korova u odnosu na usjev, gustoću korova, intenzitet i fazu razvoja usjeva u odnosu na kompeticijsko razdoblje korova (Singh i sur. 2018.). Sve veći broj korova rezistentnih na herbicide, kao i svijest o utjecajima primjene herbicida na okoliš, dovela je do nužnog smanjenja količine herbicida koja se koristi na poljoprivrednim površinama (Knezevic i sur.

2002.). Obzirom na navedeno, potrebno je razvijati i implementirati nove metode suzbijanja korova u usjevu kukuruza, a koje bi bile učinkovite poput herbicida.

### 2.3. Korovna flora u kukuruзу

Kukuruz je okopavinska kultura koja u prvim stadijima vegetacije niče sporije od korova, pa zakorovljenost usjeva kukuruza u tom periodu pričinjava najveće štete. Štete od korova mogu biti indirektna i direktna. Indirektna šteta podrazumijevaju otežanu žetvu, povećanje troškova obrade kukuruza te prenošenje različitih virusa i bolesti. Direktna šteta se očitavaju u kompeticiji korova i kukuruza za vodu, svjetlo, hranjiva i životni prostor, smanjujući prinos usjeva kukuruza. Korovna flora kukuruza vrlo je raznolika a prevladavaju jednogodišnji širokolisni i uskolisni korovi (Šćepanović 2007.). Najčešći širokolisni korovi koji se pojavljuju u kukuruзу, koji su vrlo konkurentni i uzrokuju značajan pad prinosa, su ambrozija (*Ambrosia artemisiifolia* L.) (Slika 2.2.3.3.), bijela loboda (*Chenopodium album* L.), pjegasti dvornik (*Polygonum persicaria* L.) (Dávid i Kovács 2007.), ščir (*Amaranthus retroflexus* L.), kužnjak (*Datura stramonium* L.) (Slika 2.2.3.4.) i čičak (*Xanthium strumarium* L.) (Šćepanović, 2007.). Europski mračnjak (*Abutilon theophrasti* Med.) (slika 2.2.3.2.) nekontrolirano se širi i zakorovljuje usjeve kukuruza te utječe na prinos kukuruza svojim kompetitivnim i inhibitornim alelopatskim sposobnostima (Šćepanović i sur. 2007.). Navedene vrste obilježava brzo nicanje, brz rast i stvaranje velikog broja sjemenki koje se lako prenose i zakorovljuju nove prostore. Jedna biljka ambrozije sposobna je proizvesti 250000 sjemenki, mračnjaka do 1800, a bijele lobode do 10000 sjemenki (Šćepanović, 2007.). Prisutne su i jednogodišnje trave poput običnog koštana (*Echinochloa crus-galli* L.), sivog muhara (*Setaria glauca* L.) i vrste roda *Panicum* (vlasasto proso - *Panicum capillare* (Slika 2.2.3.5.), pravo proso – *Panicum miliaceum*). Obični koštan najvažniji je jednogodišnji korov koji predstavlja problem za 36 različitih usjeva u barem 61 državi (Holm i sur. 1991.). Prisutan je u gotovo svim ljetnim usjevima u Hrvatskoj, a pojavom samo 18 biljaka običnog koštana po metru kvadratnom može rezultirati padom prinosa od 50% (Kropff i sur. 1984.), dok se pojavom zelenog muhara (*Setaria viridis* L.) prinos kukuruza može smanjiti za 45% (Clay i sur. 2006.). Višegodišnje korovne vrste iako nisu pretjerano zastupljene u usjevima kukuruza, zbog sposobnosti vegetativnog razmnožavanja (vriježama, gomoljima, podancima) predstavljaju značajan problem. Vegetativni organi im omogućavaju skladištenje pričuvnih tvari zbog kojih ove vrste imaju brzi porast i veliku kompetitivnu moć. Poljski osjak (*Cirsium arvense* L.), poljski slak (*Convolvulus arvensis* L.), gavez (*Symphytum officinale* L.) i pirika (*Agropyron repens* L.) brzo savladaju biljke kukuruza, zasjenjujući ga i time mu usporavaju rast. Još jedna karakteristika višegodišnjih korovnih vrsta je da osim vegetativnog razmnožavanja, produciraju sjeme te se na taj način rasprostranjuju, što dodatno otežava njihovo suzbijanje (Šćepanović 2007.).





Slika: 2.2.3.1. Zakorovljenost kukuruza  
Izvor: Šćepanović (2007).



Slika 2.2.3.2. *Abutilon theophrasti* Med.  
Izvor: Šćepanović (2007).



Slika 2.2.3.3. *Ambrosia artemisiifolia* L.  
Izvor: Šćepanović (2007).



Slika 2.2.3.4.. *Datura stramonium* L.  
Izvor: Šćepanović (2007).



Slika 2.2.3.5. *Panicum capillare*

Izvor: Šćepanović (2007).

Agrotehnička mjera suzbijanja korova kojom se nastoji u potpunosti uništiti korov jest primjena herbicida. Prema Barić i sur. (2022.), herbicidi s navedenim djelatnim aktivnim tvarima mogu se koristiti za zaštitu kukuruza od korova: kizalofop-P-tefuril, cikloheksandioni, foramsulfuron, nikosulfuron, prosulfuron, rimsulfuron, tifensulfuron-metil, tritosulfuron, terbutilazin, metobromuron, flumioksazin, mezotrion, tembotrion, izoksaflutol, klomazon, dinitroanilini, acetoklor, S-metolaklor, propizaklor, napropamid, oksiacetamidi, derivati fenoksi-karboksilnih kiselina – 2,4-D, derivati benzojeve kiseline – dikamba, derivati piridin karboksilne kiseline i flurokloridon.

Jedan od najčešće korištenih herbicida u usjevu kukuruza je herbicid Adengo koji sadrži djelatne tvari tienkarbazon-metil (90 g/L) i izoksaflutol (225 g/L). Koristi se za suzbijanje jednogodišnjih širokolisnih i jednogodišnjih uskolisnih korova u kukuruzu za zrno i silažu. Djelatna tvar tienkarbazon-metil inhibitor je enzima acetolaktat sintaze (ALS). Inhibirajući enzim ALS, koji je zaslužan za katalizu sinteze esencijalnih aminokiselina izoleucina, leucina i valina, dolazi do promjena na mladom lišću biljaka (Šćepanović i sur., 2020.). Izoksaflutol djeluje kao inhibitor karotenoida koji su zaslužni za zaštitu klorofila od fotooksidacije (Topolovec, 2008.).

## 2.4. Pokrovni usjevi i alelopatija

Sve češćom pojavom rezistentnih oblika korova, koja je rezultat prekomjerne primjene herbicida istog mehanizma djelovanja, potreba za primjenom novih učinkovitih, ali ekološki prihvatljivijih agrotehničkih mjera suzbijanja korova je neizbježna (Šćepanović i sur. 2021.). Pojam alelopatija se prvi puta spominje 1937. godine, ali alelopatski učinak na biljne vrste poznat je od davnina (Molisch 1937.). Teofrast je davne 300. godine prije Krista primijetio

inhibitorni učinak slanutka na druge biljke dok je Plinije zabilježio inhibitorni utjecaj stabla oraha (Rice 1984.). Alelopatija je kemijski posredovana interakcija biljaka, koja ima učinak stimulacije ili inhibicije rasta i razvoja neke biljke (Rice 1979.).

Pokrovni usjevi su definirani kao svaka zasijana biljna vrsta na kojoj se ne provodi žetva i nije direktan cilj uzgoja, već se koristi sa ciljem povećanja i očuvanja karakteristika plodnosti tla (Thomas 2002.). Siju se kao čisti usjev ili njihove smjese između razdoblja uzgoja dva glavna usjeva (Eberhardt, 1975.). Ovi usjevi pružaju ekološku i ekonomsku dobrobit i korist u poljoprivrednim usjevima, uključujući recikliranje hranjivih tvari, smanjenje erozije tla, bolje korištenje vlage, povećanje bioraznolikosti, povećanje sadržaja organske tvari, ali i učinkovito suzbijanje korova s potencijalnim doprinosom integriranom suzbijanju korova (Hartwig i Ammon 2002.). Pokrovni usjevi suzbijaju korove na dva načina. Prvo, zbog bujne nadzemne mase izražena je kompeticija za prostor, svjetlost, vodu i hranjive tvari. Gusto sijani pokrovni usjevi oduzimaju korovu navedene čimbenike rasta i uzrokuju njihovo potiskivanje. Gustim sklopom onemogućavaju korovnim kulturama završetak životnog ciklusa što dovodi do smanjenja banke sjemena u tlu i time reducira pojava novih korovnih biljaka (Teasdale 1993.). Drugi oblik potiskivanja korova je kroz alelopatiju (Jabran i sur. 2015.) odnosno lučenjem sekundarnih metabolita, alelokemikalija. Biljke proizvode i sadržavaju sekundarne metabolite u većini biljnih organa: korijenu i rizomima, stabljikama, lišću, cvijetu, polenu, plodu i sjemenu, koji mogu imati različit alelopatski utjecaj na klijavost i rast biljaka (Aziz i sur. 2008.).

Alelokemikalije se otpuštaju procesom hlapljenja, ispiranjem s lista ili stabljike, izlučivanjem iz korijena i razgradnjom biljnih ostataka (Narwal 2004.). Biljke iz porodica *Poaceae*, *Asteraceae* i *Brassicaceae* imaju najveći potencijal za proizvodnju alelokemikalija (Scavo i Mauromicale 2020.), a posebice biljne vrste iz porodice *Brassicaceae* koje sadržavaju spojeve glukozinolate (Mithen 2001.). Potvrđeno je da se sjetvom glukozinolatima bogatih biljnih vrsta, na primjer uljana repica (*Brassica napus* L.) inhibira rast korova (Haramoto i Gallandt 2004.). Tako je sjetva pokrovnih biljaka iz ove porodice (*Brassicaceae*) značajno reducirala biomasu rano i srednje nicajućih korovnih vrsta u usjevu krumpira (Boydston i Hang 1995) i soje (Krishnan i sur. 1998.) u usporedbi s površinama na kojima je bio ugar ili druge pokrovne biljke bez glukozinolata.

Jedan od načina dokazivanja alelopatije je primjena vodenih ekstrakata donor biljnih vrsta na testne vrste. Cilj ovakvih istraživanja je pronaći i izolirati one alelokemikalije koje bi se potencijalno mogle primjenjivati kao bioherbicidi (Dhima i sur. 2009.). Jedna od bioloških najaktivnijih skupina alelokemikalija jesu fenolni spojevi (Kunz i sur. 2016.). Fenolne alelokemikalije nalazimo obilno u tlu i zato se smatraju jednim od najzastupljenijih fitotoksina (Inderjit 1996.). U ovu skupinu pripadaju spojevi jednostavnih struktura kao što su jednostavni aromatski fenoli, hidroksi i supstituirane benzojeve kiseline i aldehidi, hidroksi i supstituirane cimetne kiseline, kumarini, tanini i možda neki od flavonoida (Mallik i sur. 2008.) Fenolni spojevi utječu na biljni sustav putem usvajanja te također mogu regulirati aktivnost simbiotskih mikroorganizama biljaka (Jassey i sur. 2011.). Dokazano je da u biljnim vrstama fenoli utječu na širenje stanica, propusnost membrane, unos hranjivih tvari, fotosintezu, sintezu klorofila i enzimatsku aktivnost (Einhellig 1995.). Jedna komponenta fenolnih spojeva

može biti uključena u više bioloških aktivnosti biljaka (Macías i sur. 2007.). Na primjer, ferulična kiselina utječe na propusnost stanica (Chai i sur. 2013.), a također je i inhibitor fotosinteze (Patterson 1981.). U procesu biosinteze proteina, izražena je i mogućnost inhibicije stvaranja nukleinskih kiselina što dalje utječe na ekspresiju gena (He i Lin 2001.). Ferulična kiselina (FA) je derivat cimetine kiseline koji je u početku izoliran kao žuti talog, alkoholnom ekstrakcijom, iz komercijalne smole (*Ferula foetida* L.) (Hlasiwetz i Bart, 1866.). Sveprisutna je fenolna kiselina u biljnom carstvu (Choudhury, 1999.), a u biljkama se rijetko nalazi u slobodnom obliku već je povezana esterskim vezama za polisaharide (Iiyama, 1994.). Razna istraživanja potvrdila su njenu pojavu u tlu, metabolizmu biljaka i mikroorganizama, u industrijskoj primjeni, fiziološkoj ulozi tijekom lignifikacije i njenu ulogu kao alelokemikalije (Lyu i Blum, 1990.). U tlima, ferulična kiselina se smatra jakim alelokemijским spojem s nekoliko učinaka na biljke, poput smanjenja primanja vode, inhibiciji folijarne ekspanzije i produljenje korijena, smanjenje stope fotosinteze i inhibicija unosa hranjivih tvari (Siqueira i sur. 1991). Primjenom na biljku krastavaca, smanjena je lisna površina, površina korijena i inhibiran rast klijanaca (Blum i sur. 1984). Tretiranjem soje i sirka feruličnom kiselinom, koja je identificirana kao alelopatski agens u agroekosustavima, također su rezultirali niskim lisnim vodenim potencijalom i sniženom stomatalnom difuzijskom vodljivosti (Einhellig i sur. 1979.).

Kao i ferulična kiselina, i *p*-hidroksibenzojeva kiselina, izolirana je iz raznih pokrovnih usjeva i tala (Blum i sur. 1991), pokazuje veliki alelopatski potencijal. Jedna je od nekoliko alelokemikalija koja je pronađena u vodenim ekstraktima biljnog materijala sirka i povezuje je se s utjecajima na klijavost sjemena i eksudata korijena. (Abdul-Wahab i Rice 1967). *P*-hidroksibenzojeva kiselina je biorazgradiva organska kiselina koja se može izolirati prirodnim putem iz biljaka ili kemijski sintetizirati (Khadem i Marles, 2010.). Posjeduje antimikrobna, nematocidna, antivirusna i alelopatska svojstva (Manuja i sur., 2013.). Sugerira se utjecaj na respiraciju jer *p*-hidroksibenzojeva kiselina inhibira sukcinat hidrogenazu i mijenja oksidaciju NADH (Hulme i Jones 1963.). Hidroksibenzojeva kiselina svojim je djelovanjem inhibirala usvajanje kalija i fosfata putem korijena ječma. Daljnjim istraživanjem je potvrđeno kako je došlo do depolarizacije membrane (Glass i Dunlop 1974.).

Istraživanja pokazuju herbicidni potencijal fenolnih spojeva, posebice istraživanja provedena s feruličnom kiselinom. Npr., ferulična kiselina iskazala je inhibitorni učinak na divlju zob (*Avena fatua* L.) gdje je u koncentraciji od 3.0 mM u potpunosti inhibirala klijanje divlje zobi (Almaghrabi 2012.). Potvrđen je i inhibitorni učinak ferulične kiseline na bijelu lobodu (*Chenopodium album* L.), smanjenjem suhe mase za 20% (Stupnicka-Rodzynkiewicz i sur. 2006.). Istraživan je i utjecaj određenih fenolnih kiselina na početni rast ambrozije pod pretpostavkom kako fenolne kiseline producirane u biljkama pokrovnih usjeva porodice *Brassicaceae* mogu inhibirati rast korovne vrste *Ambrosia artemisiifolia* L. Istraživan je inhibitorni potencijal pet fenolnih kiselina, i njihovih kombinacija, među kojima i ferulična kiselina. Istraživanje je pokazalo kako pri najniže primijenjenim dozacijama fenolnih kiselina nije došlo do značajne inhibicije ambrozije, dok se s povećanjem dozacije povećavao i inhibitorni potencijal. Rast ambrozije snažno je inhibiran primjenom dozacije fenolne kiseline

od  $568.54 \times 10^{-8}$  mola, inhibirajući početni rast korovne vrste za 60 do 70% (Šćepanović i sur., 2022.).

No, s druge strane, istraživanja su pokazala da ferulična kiselina može imati negativan učinak na usjev. U kombinaciji s nekoliko drugih fenolnih spojeva može imati inhibitoran učinak na enzim protonske ATPaze ( $H^+$ -ATPaze), koja može biti uzrok smanjenja usvajanja nitrata u korijenje kukuruza s posljedicom smanjenog rasta i razvoja biljke (Abenavoli i sur. 2010.). Zbog toga je potrebno istražiti selektivnost kukuruza prema fenolnim kiselinama, jednako kao što se provjerava i s kemijski sintetiziranim spojevima, neovisno o tome što su prirodnog porijekla

### 3. Materijali i metode

U ovom istraživanju korištene su ferulična i *p*-hidroksibenzojeva kiselina u kombinaciji s herbicidom Adengo. Navedene fenolne kiseline izabrane su na temelju nekoliko prethodnih *screening* procesa. U tim preliminarnim istraživanjima utvrđivan je učinak različitih koncentracija nekoliko fenolnih kiselina na klijanje i početni rast ambrozije, glavnog korova u usjevima kukuruza (Šćepanović i sur. 2022).

Adengo® (Bayer Crop Science) je zemljišno-lisni herbicid namijenjen suzbijanju jednogodišnjih širokolisnih i uskolisnih korova u kukuruza za zrno i silažu. Formulacija ovog herbicida je u obliku koncentrirane suspenzije i sadrži dvije aktivne djelatne tvari: tienkarbazon-metil (90 g/L) i izoksaf lutol (225 g/L) s dva različita mehanizma djelovanja. Tienkarbazon-metil inhibitor je acetolaktat sintaze, a izoksaf lutol inhibira sintezu karotenoida. Propisana dozacija za Adengo iznosi 0,44 L/ha.

Ekperimentalni dio istraživanja proveden je u laboratoriju (*in vitro*) i klima komori i ponavljan je dva puta. *In vitro* je istraživana učinkovitost odabranih fenolnih kiselina s pet (linearno padajućih) različitih dozacija herbicida Adengo. Cilj je bio utvrditi selektivnost kukuruza, tj. eventualno sinergijsko ili antagonističko djelovanje fenolnih spojeva u kombinaciji s herbicidom na klijavost i rani rast klijanaca kukuruza. Temeljem dobivenih podataka odabrana je fenolna kiselina koja je aplicirana samostalno i zajedno s reduciranim dozacijama herbicida Adenga na razvijene biljke kukuruza u komori rasta.

#### 3.1. Laboratorijski (*in-vitro*) pokus

##### 3.1.1. Priprema otopina i test klijavosti

Otopine su pripremane miješanjem standarda<sup>2</sup> ferulične (0,276 g) i *p*-hidroksibenzojeve (0,1117 g) kiselina (Slika 3.1.1.1.) u 250 mL destilirane vode te potom homogenizirane u ultrasoničnoj kupelji (Bandelin, Sonorex TK 52, Njemačka). Svako od fenolnih vodenih otopina dodan je herbicid Adengo u registriranoj dozi  $x$  ( $x$  = registrirana dozacija = 0,44 L/ha) te 1/2, 1/4, 1/8, 1/16  $x$  (Tablica 3.1). Zbog usporedbe, pripremljene su i čiste otopine Adenga u istim linearno padajućim dozacijama te destilirana voda za kontrolne uzorke.

---

<sup>2</sup> Čistoće fenolnih kiselina: PHA 99%, VA >97%, PCA >98%, FA >99%. (<https://www.sigmaaldrich.com/HR/en>)



Slika 3.1.1.1. Standardi ferulične i *p*-hidroksibenzojeve kiseline.

Tablica 3.1.1.1. Dozacije herbicida Adengo primjenjene zasebno ili u kombinaciji s fenolnim kiselinama u laboratorijskom *dose-response* pokusu.

Doza (x)	Adengo (L/ha)
0	0
1	0,44
1/2	0,22
1/4	0,11
1/8	0,055
1/16	0,0275

U staklene Petrijeve zdjelice promjera 120 mm postavljeno je po 25 sjemenki kukuruza (Syngenta, SY CARIOCA) u tri ponavljanja. Na dno posudice postavljen je filter papir u koji je dodano 10 mL fenolne otopine s herbicidom (ferulična kiselina dozacije 0,552 g/L i *p*-hidroksibenzojeva kiselina dozacije 0,445 g/L + određena dozacija Adenga), čisti Adengo u punoj i reduciranim dozacijama ili destilirana voda za kontrolu. Petrijeve posudice postavljene su u klima komoru (Memmert, UF 260, Njemačka; Slika 3.1.1.2.) na optimalan temperaturni režim 25/15°C uz 70% vlage te foto period 12 h/12 h (dan/noć). Intenzitet osvjetljenosti u komori bila je 40 – 50  $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ . Nakon 7 dana izbrojane su proklijale sjemenke kukuruza, a na 10 proklijalih biljaka je ravnalom izmjerena dužina radikule i koleoptile te analitičkom vagom (NewClassic, Mettler, Toledo) izvagana svježa masa klijanaca (Slika 3.1.1.3. a i b).



Slika 3.1.1.2. Klima komora.



a) Analitička vaga



b) 10 klijanaca kukuruza pripremljenih za vaganje

Slika 3.1.1.3. Vaganje svježe mase 10 klijanaca kukuruza.

Postotak klijavosti kukuruza izračunat je prema formuli:

% klijavosti = (broj prokljalih sjemenki na tretmanu/broj prokljalih sjemenki na kontroli) x 100.

Inhibicija klijanja i početnog rasta kukuruza (duljina radikule i koleoptile te masa klijanaca) izračunata je prema formuli:

% inhibicije =  $[(X_c - X_t)/X_c] \times 100$  gdje je:

X<sub>c</sub> - broj prokljalih sjemenki/izmjerena vrijednost parametra početnog rasta kukuruza na kontroli;

X<sub>t</sub> - broj prokljalih sjemenki/izmjerena vrijednost parametra početnog rasta kukuruza na kontroli.



### 3.2. Pokus u komori rasta (Biotest)

Za biotest je birano veličinom i morfologijom ujednačeno sjeme kukuruza istog tipa i proizvođača kao što je korišteno u laboratorijskom pokusu. U uzgojne posude (20 × 20 cm) napunjene s mješavinom supstrata<sup>3</sup> i sterilnog tla<sup>4</sup> posijano je 10 sjemenki kukuruza (po posudi) na 4 cm dubine od površine. Ukupno 30 posuda je postavljeno u komoru rasta na optimalni temperaturni režim za rast kukuruza: 27/20°C uz 70% vlage te foto period 14 h/10 h (dan/noć) nakon sjetve. Biljke kukuruza su kontinuirano praćene tijekom cijelog trajanja pokusa. Nakon nicanja, a do faze rasta drugog lista (BBCH 12) mlade biljke kukuruza su prorjeđivane od početnih 10 poniklih do krajnjih 3. Biljke su odabrane kako bi u vrijeme aplikacije biljke u posudi ostale bile što ujednačenije (Slika 3.2.1. a i b) zbog nadolazećeg praćenja simptoma fitotoksičnosti nakon aplikacije tretmana.



a) prije prorjeđivanja



b) poslije prorjeđivanja

Slika 3.2.1. Prorjeđivanje mladih biljaka kukuruza (BBCH 12).

Temeljem laboratorijskog *dose-response* pokusa u ovom dijelu istraživanja odabrana je fenolna kiselina s jačim fitotoksičnim učinkom koja je primjenjivana s linearno padajućim dozacijama herbicida Adenga. Otopine su pripremljene na način opisan u potpoglavlju 3.1.1. i prikazane u Tablici 3.2.1. Kod tank mix primjene fenolne kiseline i Adenga te čistog Adenga korištene su puna doza te reducirane dozacije od ½ do 1/8x (Slika 3.2.2., Tablica 3.2.1.). U pokusu je bilo ukupno 30 uzgojnih posuda, a postavljen je po shemi slučajnog blokno rasporeda (Slika 3.2.3.) u 3 ponavljanja.

<sup>3</sup> Potgraund H, Klasmann, Njemačka

<sup>4</sup> Tlo je uzorkovano s Pokušališta Šašinovec te sterilizirano na 100°C/60 min kako bi se eliminirale sve sjemenke korova (Dahlquist i sur., 2007). Tlo je neutralnog pH 7.74 (H<sub>2</sub>O), 7.04 (KCl), 4,22% humusa i 2,9% kalcijevog karbonata. Tip tla je pjeskovita glina.



Slika 3.2.2. Pripremljena škropiva čistog herbicida Adenga u dozacijama primijenjenim u biotestu.

Tablica 3.2.1. Dozacije i tretmani Adenga i Adenga i ferulične kiseline.

Broj tretmana	Vrsta tretmana
1	Destilirana voda (kontrola)
2	A x
3	A ½ x
4	A ¼ x
5	A 1/8 x
6	FA
7	A x + FA
8	A ½ x + FA
9	A ¼ x + FA
10	A 1/8 x + FA

A = Adengo, X=puna propisana doza Adenga od strane proizvođača, FA=ferulična kiselina u koncentraciji korištenoj u laboratorijskom pokusu.

1	10	4	7	2	9
2	9	5	6	3	8
3	8	10	1	4	7
4	7	2	9	5	6
5	6	3	8	10	1

Slika 3.2.3. Shema postavljenog pokusa.

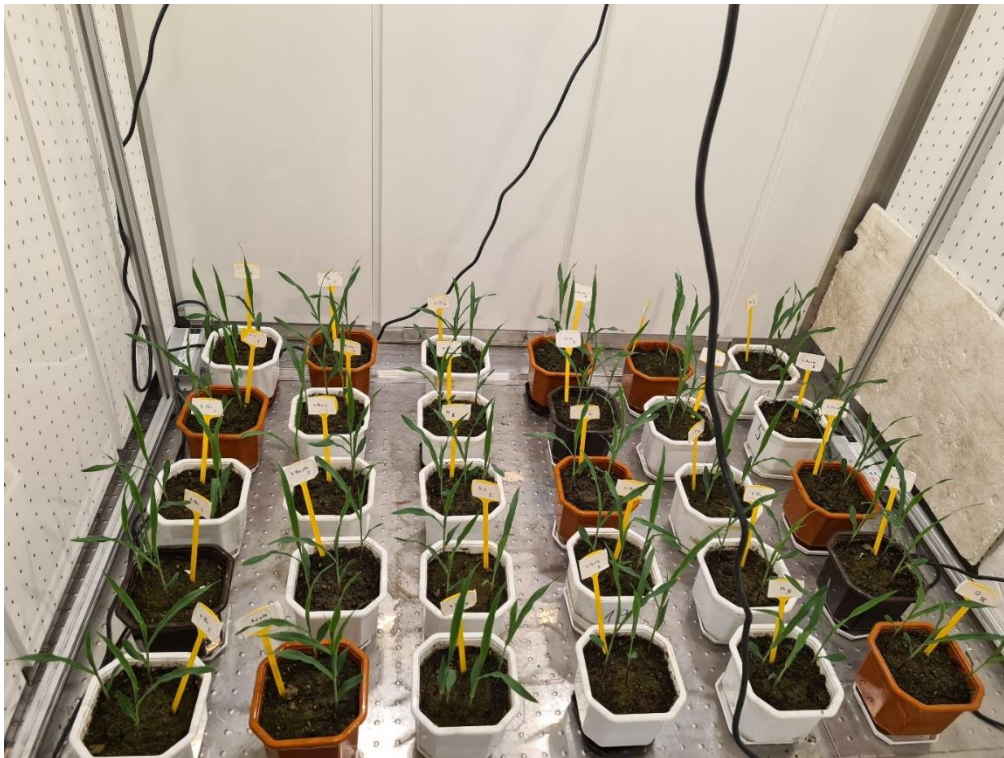
Različite boje predstavljaju repeticije/blokove.

Tretmani su aplicirani ručnom prskalicom (TLC sprayer, CAMAG®, MuttENZ, Švicarska) s utroškom 200 L škropiva po hektaru. Aplikacija tretmana je obavljena kad su biljke kukuruza imale razvijena tri lista (faza rasta prema BBCH skali 13; Slika 3.2.4.).

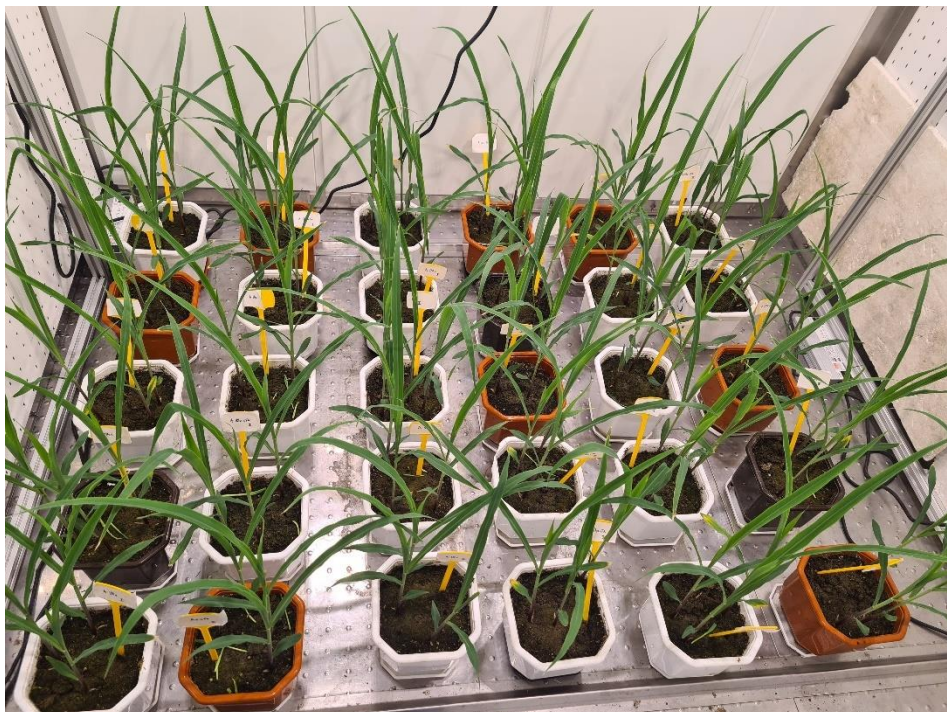


Slika 3.2.4. Mlade biljke kukuruza na dan aplikacije tretmana (BBCH 13).

Nakon primjene tretmana, mlade biljke kukuruza vraćene su u klima komoru (Slika 3.2.5.). Učinak tretmana ocijenjen je vizualnom ocjenom oštećenja 7 (Slika 3.2.6.) i 14 dana nakon tretiranja (DNT) skalom od 0 do 100 gdje je 0 bez oštećenja, a 100 potpuno propadanje biljaka (EPPO PP 1/135 (4)).



Slika 3.2.5. Biljke kukuruza nakon aplikacije ferulične kiseline, Adenga i i Adengom u kombinaciji s feruličnom kiselinom.



Slika 3.2.6. Biljke kukuruza 7 dana nakon primjene tretmana (BBCH 14).

### **3.3. Statistička obrada podataka**

Prikupljeni su podaci za ukupnu klijavost, duljinu radikule i koleoptile, te masu klijanaca u laboratorijskom dijelu istraživanja. Distribucija svih podataka provjerena je Shapiro-Wilk testom, po potrebi transformirana boxcox metodom, a razlike u podacima dvaju pokusa t-testom ili Wilcox testom. Nisu utvrđene razlike između podataka dvaju pokusa, stoga su podaci objedinjeni te potom podvrgnuti statističkoj analizi. Podaci su obrađeni dvosmjernom analizom varijance (herbicide/herbicide + fenolna kiselina i doza) u programu i okolišu R (R verzija 4.0.0, 24.4.2020). Nakon dvosmjerne analize varijance korišten je Tukey HSD test za  $P=0,05$ .

## 4. Rezultati

### 4.1. Rezultati laboratorijskog dijela istraživanja

Rezultati dvosmjerne analize varijance (Tablica 4.1.1.) ukazuju na visoko značajnu razliku ( $P=0,001$ ) u učinku primijenjenih tretmana na kukuruz u svim mjerenim parametrima ranog razvoja kukuruza. Nadalje, značajna razlika ( $P=0,01$ ) u učinku korištenih dozacija ( $x - 16(x)$ ; 0 L/ha) herbicida utvrđena je za duljinu koleoptile. Značajna razlika ( $P=0,05$ ) utvrđena je u učinku korištenih dozacija kod postotka klijavosti, duljini radikule te masi klijanaca biljaka kukuruza.

Za nijedan mjereni parametar nije utvrđena interakcija između primijenjenih tretmana i dozacija. Stoga su podaci ovih faktora uprosječeni, analizirani i prikazani pojedinačno.

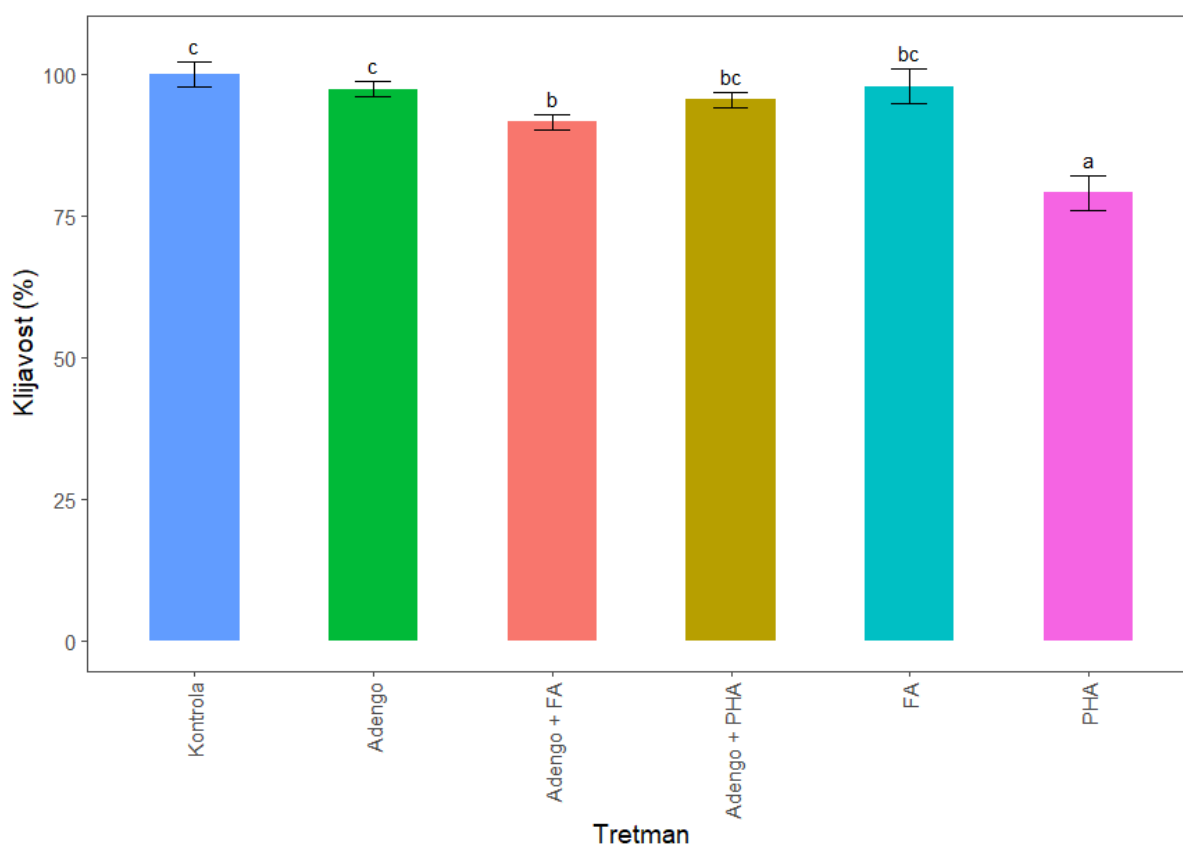
Tablica 4.1.1. Rezultati dvosmjerne analize varijance.

Mjereni parametar	Izvor varijabilnosti	Stupnjevi slobode	Kvadrat srednje vrijednosti	F test
Klijavost (%)	T	4	0,021	8,33***
	D	4	0,007	2,69*
	R	2	0,003	1,10
	T x D	8	0,003	0,98
	P	75	0,002	
Duljina radikule (cm)	T	5	2,07	205,03***
	D	4	0,035	3,50*
	R	2	0,001	0,07
	T x D	1	0,000	0,01
	P	65	0,010	
Duljina koleoptile (cm)	T	5	2,60	83,91***
	D	4	0,129	4,16**
	R	2	0,069	2,25
	T x D	6	0,005	0,17
	P	80	0,031	
Masa klijanaca (g)	T	5	1,284	57,74***
	D	4	0,079	3,57*
	R	2	0,003	0,15
	T x D	1	0,00	0,00
	P	65	0,022	

T=tretman, D=doza, R=repeticija, P=pogreška. Podaci o duljini radikule, masi klijanaca i postotku klijavosti su transformirani prije statističke analize. Oznake signifikantnosti F-testa za  $p$  vrijednost su:  $< 0,001 = ***$ ;  $< 0,01 = **$ ;  $< 0,05 = *$ ; ns = nije signifikantno.

#### 4.1.1. Klijavost kukuruza nakon *in vitro* primjene fenolnih kiselina i fenolnih kiselina u kombinaciji s reduciranim dozama herbicida

Na postotak klijavosti kukuruza najjači utjecaj imala je *p*-hidroksibenzojeva kiselina (Graf 4.1.1.1.) s utvrđenim najnižim postotkom klijavosti (79,1%) u odnosu na kontrolu. Jedina statistička razlika u učinku primijenjenih tretmana na postotak klijavosti jest između Adenga u kombinaciji s feruličnom kiselinom i čistog Adenga. Statistički značajna razlika je u učinku Adenga u kombinaciji s feruličnom kiselinom u odnosu na kontrolu gdje je postotak klijavosti tretmana manji za 8,5%. Primjena čistog Adenga gotovo da nije utjecala na klijanje kukuruza s 97,3% klijavosti u odnosu na 91,5% klijavosti kod kombinacije s feruličnom kiselinom.

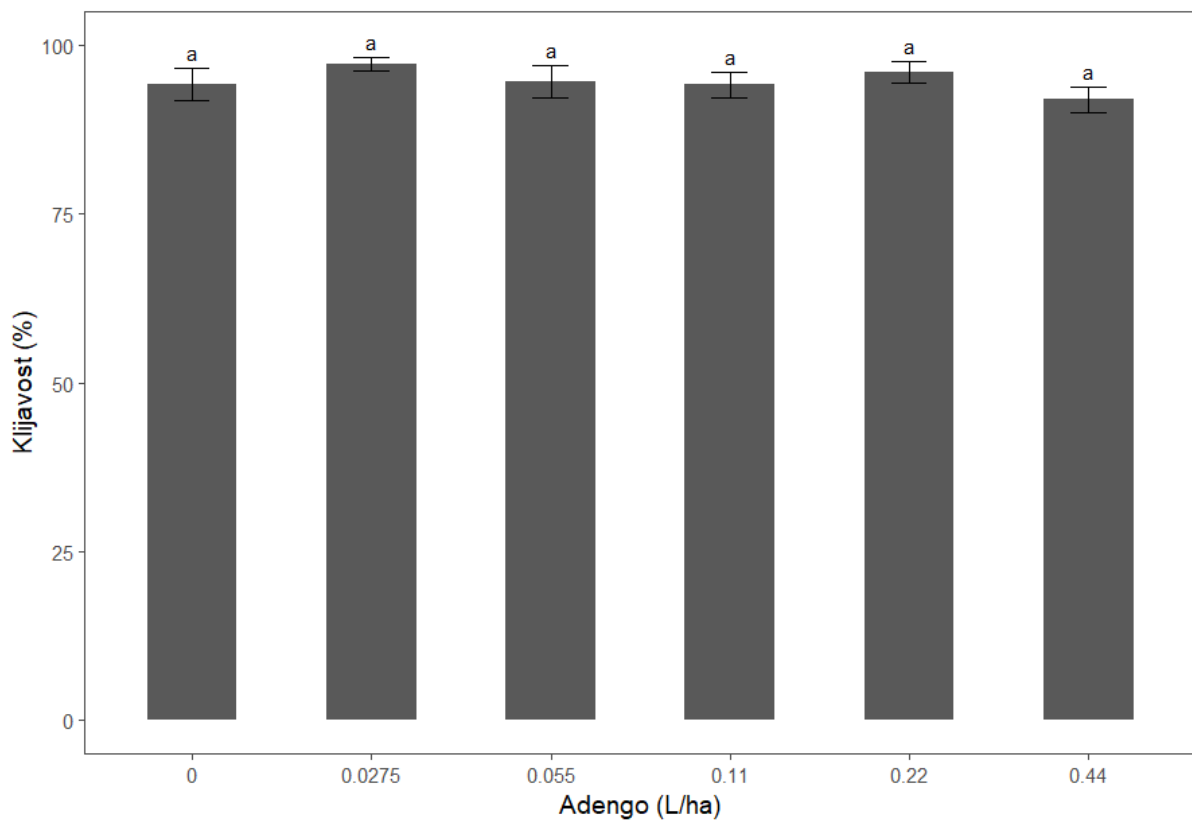


Graf 4.1.1.1. Postotak klijavosti kukuruza 7 DNT s Adengom i kombinacijom Adenga i fenolnih kiselina.

PHA – *p* – hidroksibenzonijeva kiselina, FA – ferulična kiselina; stupci prikazuju srednje vrijednosti postotka klijavosti, a iznad stupaca su prikazane granice standardnih greški dok različita slova iznad stupaca označavaju statistički značajnu razliku prema Tukey testu za  $p < 0,05$ .

Iako je dvosmjerna analiza varijance utvrdila značajne razlike u postotku klijavosti kukuruza unutar primijenjenih dozacija (Tablica 4.1.1.), daljnjom obradom podataka utvrđeno

je da nema razlika između primijenjenih dozacija Adenga čistog, u kombinaciji s fenolnim kiselinama ili fenolnih kiselina primijenjenih zasebno (Graf 4.1.1.2.).



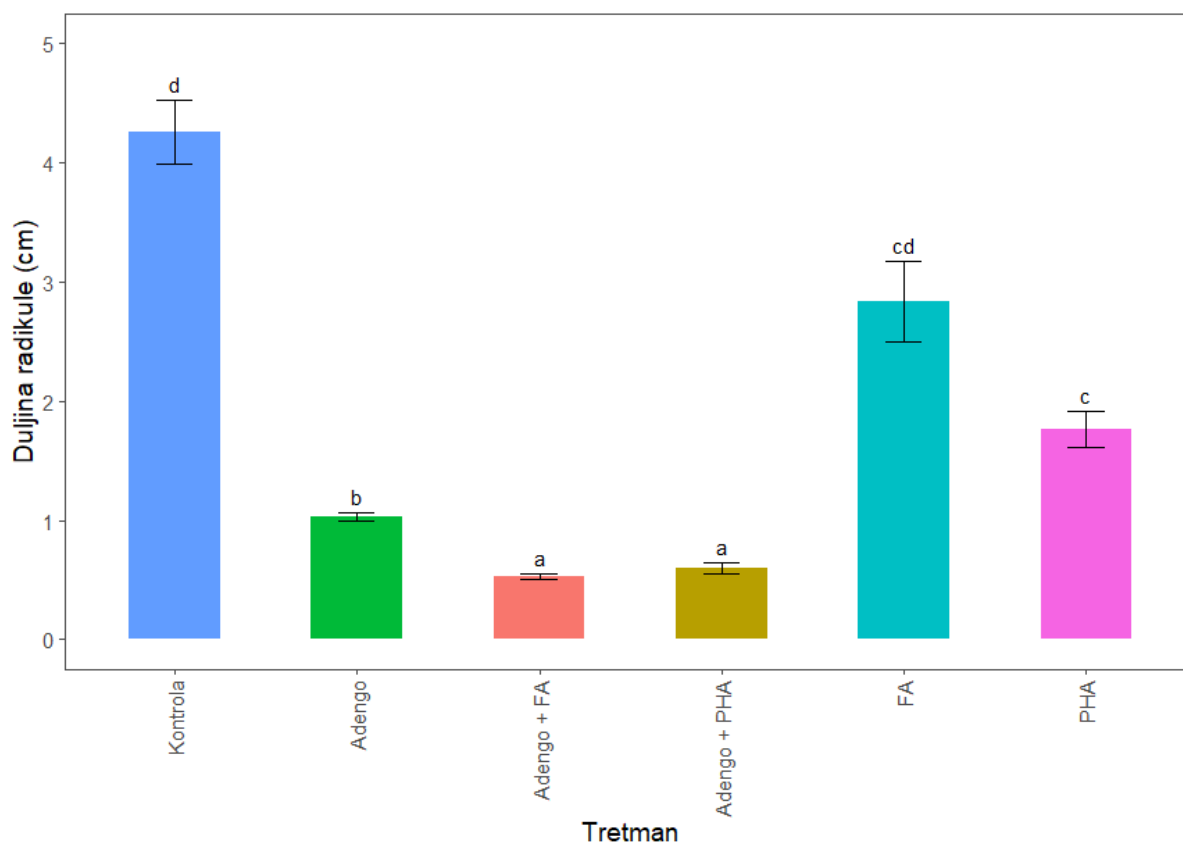
Graf 4.1.1.2. klijavost kukuruza 7 DNT s Adengom i kombinacijom Adenga s fenolnim kiselinama u različitim dozacijama.

Stupci prikazuju srednje vrijednosti postotka klijavosti, iznad stupaca su prikazane granice standardnih greški dok različita slova iznad stupaca označavaju statistički značajnu razliku prema Tukey testu za  $p < 0,05$ . Dozacija 0 podrazumijeva tretmane u kojima nije dodan herbicid Adengo: kontrolni tretman (destilirana voda) te čiste otopine fenolnih kiselina (ferulična, *p*-hidroksibenzojeva).

#### 4.1.2. Duljina radikule kukuruza nakon *in vitro* primjene fenolnih kiselina i fenolnih kiselina u kombinaciji s reduciranim dozama herbicida

Duljina radikule kukuruza najjače je reducirana primjenom kombinacije ferulične i *p*-hidroksibenzojeve kiseline s herbicidom (87,49 i 85,99%) u odnosu na kontrolu (4.1.2.1.). Primjena čistog herbicida također je značajno reducirala duljinu radikule kukuruza (75,81%) kao i primjena čiste *p*-hidroksibenzojeve kiseline (58,66% redukcije) ali značajno manje nego kombinacija fenolne kiseline+herbicid. Nasuprot tome, kod čiste primjene ferulične kiseline nije utvrđena razlika u duljini radikule kukuruza u odnosu na kontrolni tretman.

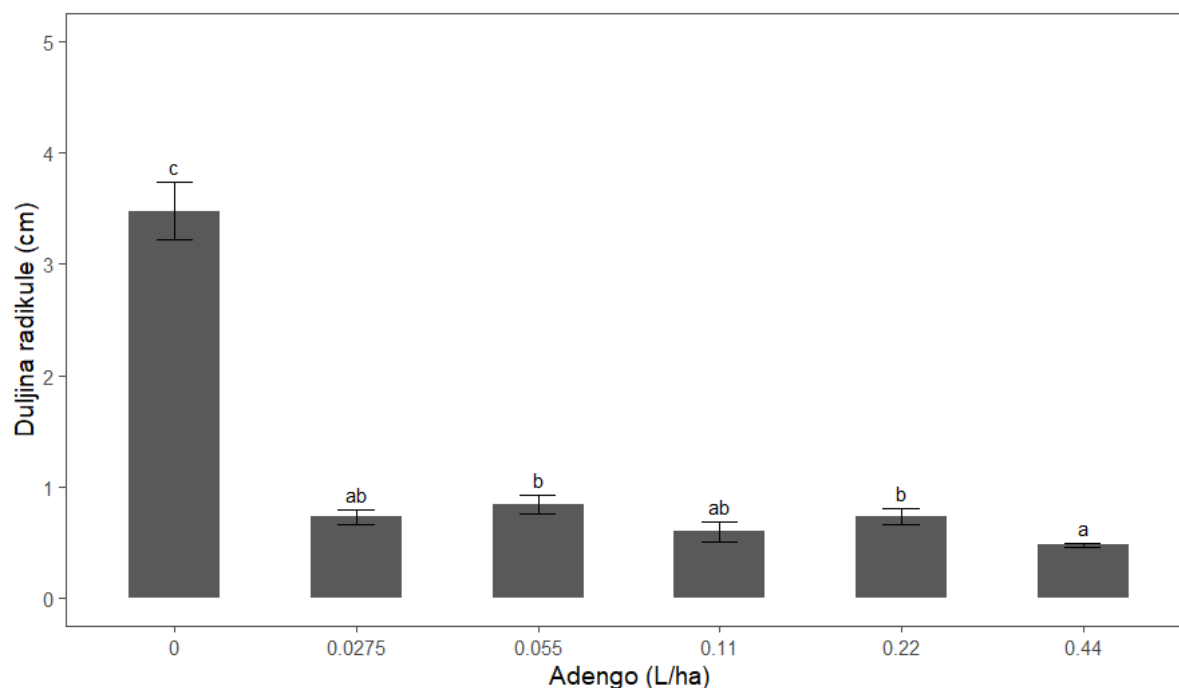




Graf 4.1.2.1. Duljina radikule klijanaca kukuruza 7 DNT s Adengom i kombinacijom Adenga i fenolnih kiselina.

PHA – *p* – hidroksibenzonijeva kiselina, FA – ferulična kiselina; stupci prikazuju srednje vrijednosti postotka klijavosti, a iznad stupaca su prikazane granice standardnih greški dok različita slova iznad stupaca označavaju statistički značajnu razliku prema Tukey testu za  $p < 0,05$ .

Sve dozacije herbicida Adenga značajno su reducirale duljinu radikule kukuruza u odnosu na kontrolni tretman. Najviša dozacija Adenga (0,44 L/ha) imala je najjači učinak na duljinu radikule klijanaca kukuruza s redukcijom od 86,16% u odnosu na kontrolu (4.1.2.2.). Taj učinak nije statistički različit od učinka primijenjene dozacije od 0,11 i 0,0275 L/ha s redukcijom duljine radikule od 82,69 i 78,95%. Nešto niže redukcije su uzrokovane primjenom 0,22 i 0,055 L/ha Adenga, ali i dalje s visokim postotkom redukcije od 78-75%.

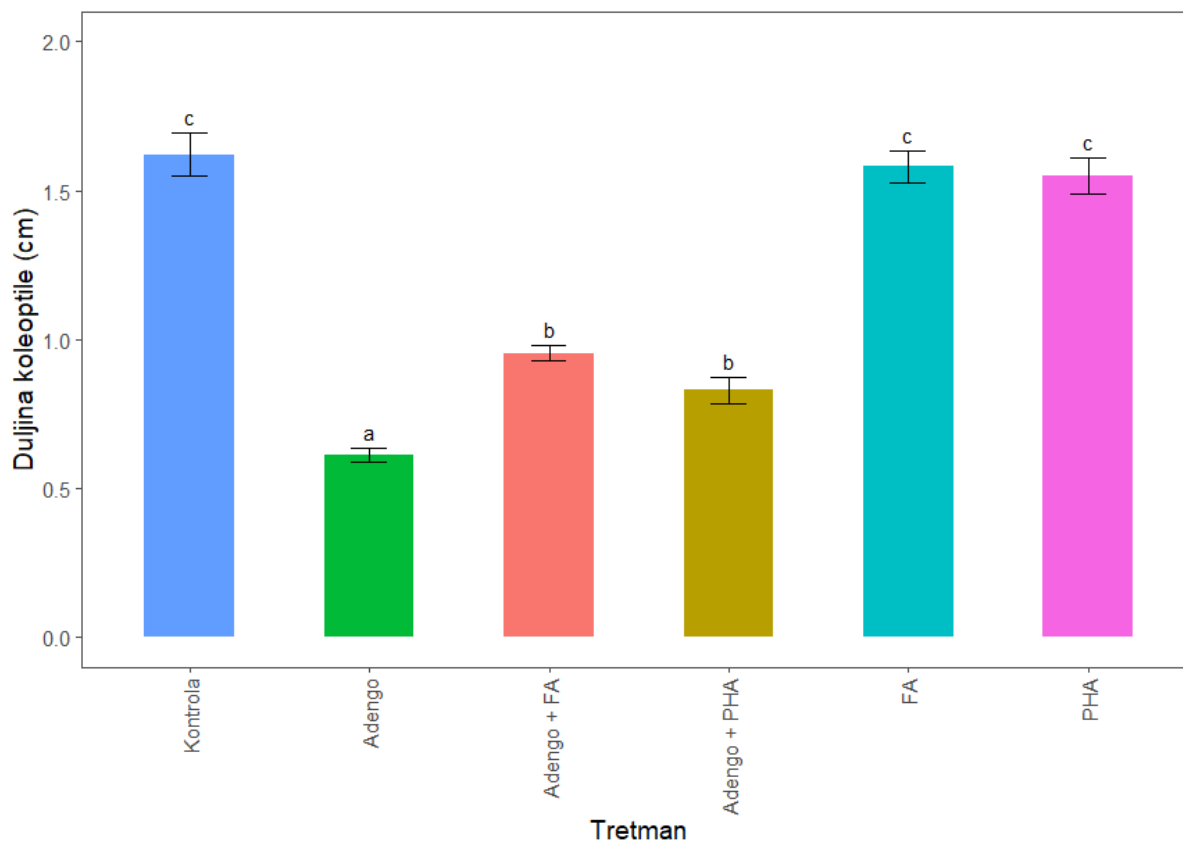


Graf 4.1.2.2. Duljina radikule klijanaca kukuruza 7 DNT s Adengom i kombinacijom Adenga s fenolnim kiselinama u različitim dozacijama.

Stupci prikazuju srednje vrijednosti postotka klijavosti, iznad stupaca su prikazane granice standardnih greški dok različita slova iznad stupaca označavaju statistički značajnu razliku prema Tukey testu za  $p < 0,05$ . Dozacija 0 podrazumijeva tretmane u kojima nije dodan herbicid Adengo: kontrolni tretman (destilirana voda) te čiste otopine fenolnih kiselina (ferulična, *p*-hidroksibenzojeva).

#### 4.1.3. Duljina koleoptile kukuruza nakon *in vitro* primjene fenolnih kiselina i fenolnih kiselina u kombinaciji s reduciranim dozama herbicida

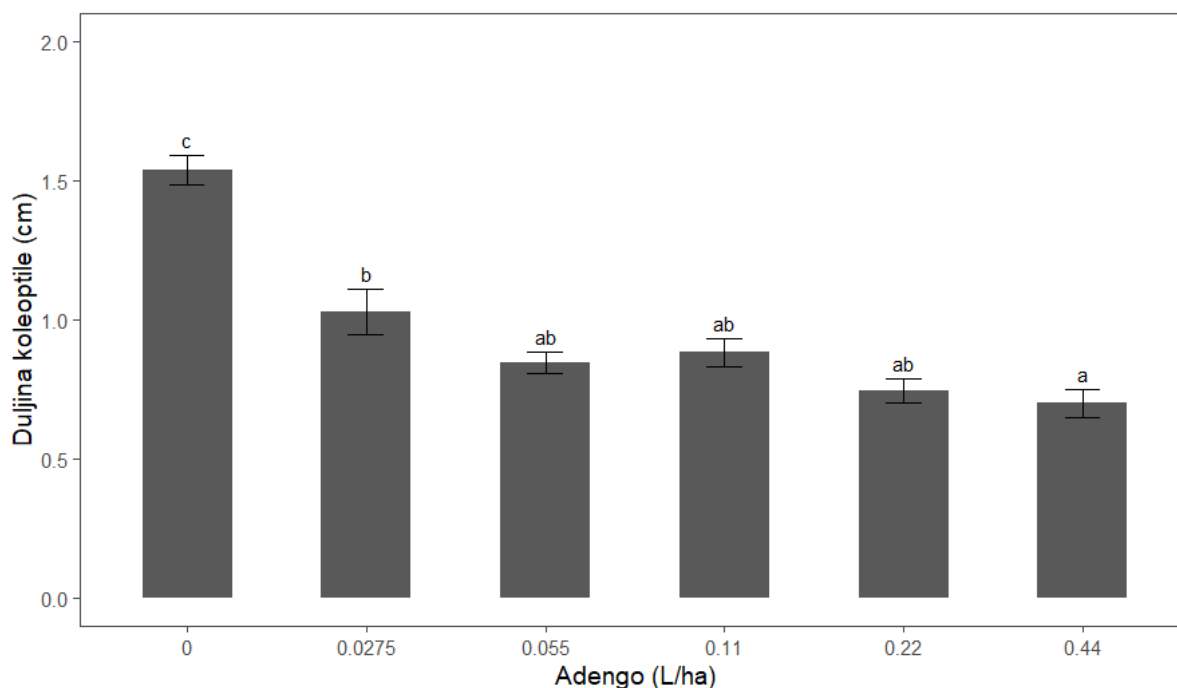
Tretmani Adenga u kombinaciji s fenolnim kiselinama i čisti Adengo su, kao i kod duljine radikule klijanaca kukuruza, opet imali najjači redukcijski učinak na duljinu koleoptile. No, redukcijski učinak čistog Adenga se sa 62,25% redukcije duljine koleoptile statistički značajno razlikuje od učinaka kombinacija s fenolnim kiselinama (41-48%) (Graf 4.1.3.1.). Na kontroli je duljina koleoptile kukuruza najduža te iznosi 1,621 cm, a primijenjene čiste fenolne kiseline gotovo da i nisu imale redukcijskog učinka. Duljina koleoptile kukuruza tretiranog s feruličnom kiselinom iznosi 1,580 cm što je 2,53% redukcije u odnosu na kontrolu, dok je duljina koleoptile kukuruza tretiranog *p*-hidroksibenzojevom kiselinom neznatno kraća (1,550 cm) s redukcijom od 4,38% u odnosu na kontrolu.



Graf 4.1.3.1. Duljina koleoptile klijanaca kukuruza 7 DNT s Adengom i kombinacijom Adenga i fenolnih kiselina.

PHA – *p* – hidroksibenzonijeva kiselina, FA – ferulična kiselina; stupci prikazuju srednje vrijednosti postotka klijavosti, a iznad stupaca su prikazane granice standardnih greški dok različita slova iznad stupaca označavaju statistički značajnu razliku prema Tukey testu za  $p < 0,05$ .

Duljina koleoptile klijanaca kukuruza linearno raste od najviše primijenjene dozacije Adenga do kontrole, te se doze od 0,44-0,055 po učinku statistički ne razlikuju (4.1.3.2.), a duljina koleoptile je reducirana od 54,52 do 42,56%. Iznimka je primijenjena 1/16 propisane doze (0,0275) s 33,20% redukcije čiji se učinak statistički razlikuje od učinka pune propisane doze Adenga (0,44 L/ha) te kontrole.

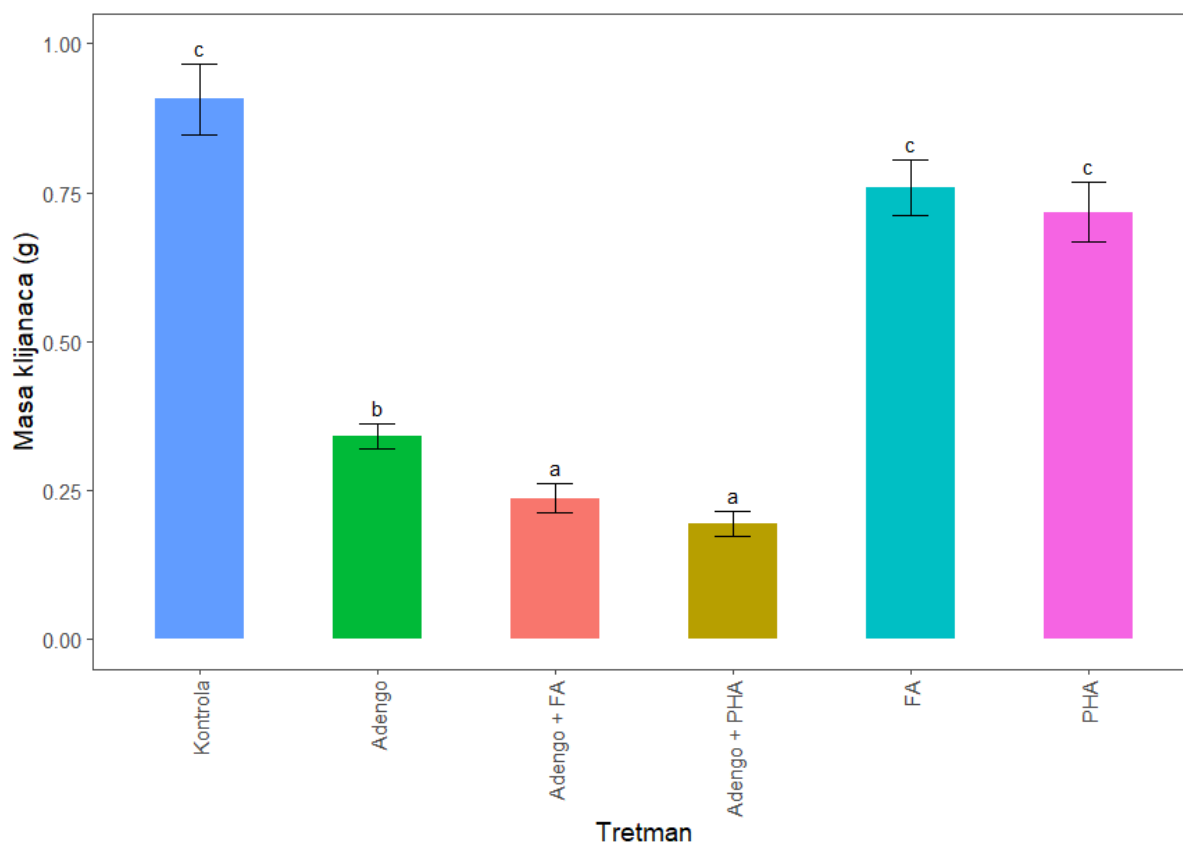


Graf 4.1.3.2. Duljina koleoptile klijanaca kukuruza 7 DNT s Adengom i kombinacijom Adenga s fenolnim kiselinama u različitim dozacijama.

Stupci prikazuju srednje vrijednosti postotka klijavosti, iznad stupaca su prikazane granice standardnih greški dok različita slova iznad stupaca označavaju statistički značajnu razliku prema Tukey testu za  $p < 0,05$ . Dozacija 0 podrazumijeva tretmane u kojima nije dodan herbicid Adengo: kontrolni tretman (destilirana voda) te čiste otopine fenolnih kiselina (ferulična, *p*-hidroksibenzojeva).

#### 4.1.4. Masa klijanaca kukuruza nakon *in vitro* primjene fenolnih kiselina i fenolnih kiselina u kombinaciji s reduciranim dozama herbicida

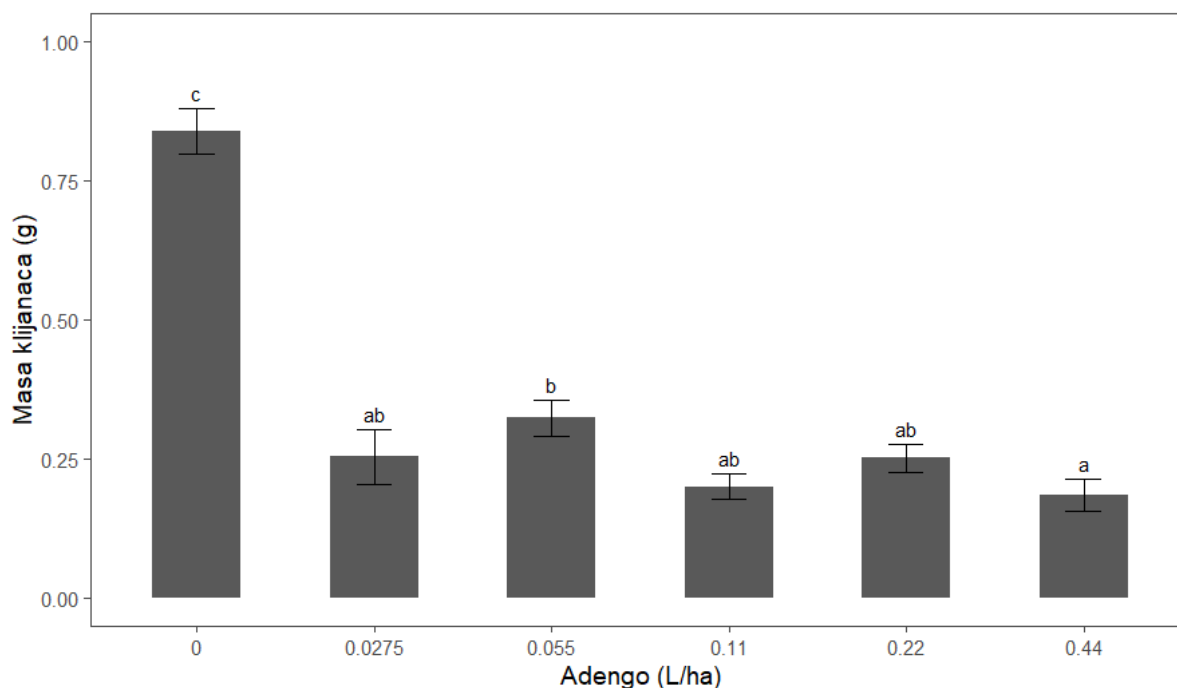
Primjena čistih fenolnih kiselina na sjeme kukuruza u odnosu na kontrolu ponovo nije doprinijela značajnom redukcijском učinku na masu klijanaca kukuruza te se stoga statistički značajno ne razlikuje od kontrole (4.1.4.1.). No, čisti Adengo je reducirao masu klijanaca kukuruza za 62,40%, a u kombinaciji s fenolnim kiselinama značajno više (73,87%) s feruličnom i s *p*-hidroksibenzojevom kiselinom (78,50%).



Graf 4.1.4.1. Masa klijanaca kukuruza 7 DNT s Adengom i kombinacijom Adenga i fenolnih kiselina.

PHA – *p* – hidroksibenzonijeva kiselina, FA – ferulična kiselina; stupci prikazuju srednje vrijednosti postotka klijavosti, a iznad stupaca su prikazane granice standardnih greški dok različita slova iznad stupaca označavaju statistički značajnu razliku prema Tukey testu za  $p < 0,05$ .

Primjenom svih dozacija Adenga na sjeme kukuruza masa klijanaca generalno raste uz smanjenje dozacija prema kontroli (4.1.4.2.). Međutim, u odnosu na kontrolu, nema značajnih razlika između učinaka primijenjenih dozacija 61,38-76,04% za dozacije 0,055-0,11 L/ha osim učinka čistog Adenga koji je reducirao masu klijanaca za 77,83%.



Graf 4.1.4.2. Masa klijanaca kukuruza 7 DNT s Adengom i kombinacijom Adenga s fenolnim kiselinama u različitim dozacijama.

Stupci prikazuju srednje vrijednosti postotka klijavosti, iznad stupaca su prikazane granice standardnih greški dok različita slova iznad stupaca označavaju statistički značajnu razliku prema Tukey testu za  $p < 0,05$ . Dozacija 0 podrazumijeva tretmane u kojima nije dodan herbicid Adengo: kontrolni tretman (destilirana voda) te čiste otopine fenolnih kiselina (ferulična, *p*-hidroksibenzojeva).

## 4.2. Rezultati biotesta

Temeljem rezultata laboratorijskog dijela istraživanja u kojem je utvrđen jači inhibicijski potencijal ferulične kiseline prema mladim biljkama kukuruza, u biotestu su primijenjeni tretmani herbicida Adenga istih dozacija (osim 1/16x) kombiniranog s feruličnom kiselinom u istoj koncentraciji kao što je primijenjeno u laboratorijskom dijelu istraživanja.

### 4.2.1. Vizualna ocjena oštećenja nadzemne mase kukuruza

Fitotoksičnost tretmana na mlade biljke kukuruza vizualno je ocijenjena 7 i 14 DNT. Značajna oštećenja nisu utvrđena niti na jednom od primijenjenih tretmana u usporedbi s biljkama na kontroli. Ukupan raspon oštećenja vizualnom procjenom iznosi od 0 do maksimalnih 5% utvrđenih 7 ili 14 DNT.

Maksimalna oštećenja biljaka utvrđena su na biljkama tretiranim čistim Adengom u punoj propisanoj dozi (Slika 4.2.1.1. a). Međutim, oštećenja nisu utvrđena na svim biljkama po repetaciji niti u svakoj repetaciji. Također, vidljiva oštećenja su na većini biljaka potpuno nestala. Nešto slabija reakcija biljaka na tretman je utvrđena na biljkama tretiranim s 1/2x Adenga s procijenjenih 3% oštećenja.

Puna propisana doza Adenga i pola te doze kombinirane s feruličnom kiselinom uzrokovale su 4% oštećenja na biljkama (Slika 4.2.1.1. b i c). No, 14 DNT ta oštećenja gotovo da nisu bila vidljiva.

Zaključno, vizualnom ocjenom nisu utemeljena značajna oštećenja mladih biljaka kukuruza niti je primijećeno ometanje i usporavanje rasta i razvoja biljaka (Slika 4.2.1.1. d).



a) Oštećenje na listu kukuruza 7 DNT punom dozom Adenga



b) Oštećenje na listu kukuruza 14 DNT punom dozom Adenga i ferulične kiseline



c) Oštećenje na listu kukuruza 14 DNT pola registrirane doze Adenga i ferulične kiseline



d) Usporedba tretmana (s lijeva na desno: kontrola, puna doza Adenga, puna doza Adenga i ferulična kiselina) 14 DAT

Slika 4.2.1.1. Biljke kukuruza 7 i 14 DNT u klima komori.

## 5. Rasprava

Cilj ovog rada bio je utvrditi učinak ferulične i *p*-hidroksibenzojeve kiseline u kombinaciji s reduciranim dozacijama herbicida Adenga na klijavost i parametre ranog rasta i razvoja kukuruza. Drugim riječima, ispitivana je selektivnost kukuruza prema spomenutim tretmanima kroz mjerenje postotka klijavosti kukuruza, duljinu radikule/koleoptile i svježu masu klijanaca u laboratorijskom dijelu istraživanja te vizualnu ocjenu oštećenja nadzemnog dijela biljaka kukuruza 7 i 14 dana nakon tretiranja (DNT).

U laboratorijskom dijelu istraživanja rezultati su pokazali varijabilan učinak tretmana na klijavost i parametre ranog rasta kukuruza. Čista *p*-hidroksibenzojeva kiselina je najjače i jedina značajno inhibirala klijavost kukuruza (20%), dok je na svim ostalim tretmanima klijavost bila viša od 90%. Iako statistički nema značajnih razlika između klijavosti nakon tretmana *p*-hidroksibenzojevom kiselinom u kombinaciji s Adengom (za razliku od Adenga s feruličnom kiselinom) u odnosu na čisti Adengo, već ovdje se vidi uzorak koji se ponavlja u rezultatima koji slijede. Fenolne kiseline dodane herbicidu uzrokuju veću redukciju klijavosti od samog herbicida ili čiste ferulične kiseline, s time da je *p*-hidroksibenzojeva s herbicidom slabije reducirala klijavost od ferulične kiseline u kombinaciji s herbicidom (Graf 4.1.1.1.). To potvrđuju i rezultati istraživanja Bashir i sur. (2018.) koji su utvrdili da su vodeni ekstrakti *Sonchus arvensis* uzrokovali značajnu inhibiciju klijavosti i rasta klijanaca kukuruza, a u kojim je otopinama identificirana ferulična kiselina kao jedna od glavnih alelokemikalija u tim ekstraktima. Isti rezultat proizašao je iz istraživanja Majeed i sur. (2018.) gdje je u vodenim ekstraktima *Echinocloa colona*, koji su značajno reducirali klijavost kukuruza, identificirana ferulična kiselina kao jedna od glavnih vodo-topivih fenola u tim vodenim ekstraktima. Spomenuto je potvrđeno i snažnim redukcijskim učinkom (80%) rezidua krokodilove trave (*Alternanthera philoxeroides*) u tlu na klijavost sjemena kukuruza (Nadeem i sur., 2018.) u kojima je također identificirana ferulična kiselina kao jedna od prisutnih fenola u najvišim koncentracijama.

Primjena različitih dozacija Adenga nije imale utjecaja na postotak klijavosti kukuruza, ali zanimljivo je da je najmanji postotak klijavosti utvrđen nakon tretmana u kojima nije bio dodan Adengo (Graf 4.1.1.2.). Navedeno dovodi do zaključka da je herbicid samostalno ili u kombinaciji s fenolnim kiselinama na neki način potaknuo klijanje kod kukuruza.

Radikula i svježa masa klijanaca kukuruza u ovom istraživanju su primjetno jače inhibirani tretmanima s obje fenolne kiseline kada su bile kombinirane s Adengom nego nakon tretmana čistim Adengom, što je opaženo i kod postotka klijavosti. Devi i Prasad (1992.) dokazali su redukcijski potencijal ferulične kiseline na radikulu i koleoptilu, suhu i svježu masu te hidrolitične enzime klijanaca kukuruza, ali je najviše utjecala na duljinu radikule. Autori su zaključili, obzirom na snažnu redukciju hidrolitičnih enzima, da bi prema mehanizmu djelovanja ferulična kiselina mogla biti inhibitor rasta. No, Orcaray i sur. (2011.) su 20 godina kasnije tvrdili da bi mehanizam djelovanja ferulične kiseline mogao biti inhibicija acetolaktat sintaze, isti mehanizam djelovanja koje ima djelatna tvar tienkarbazon-metilu herbicidu herbicidu Adengu. Radikulu i svježu masu klijanaca kukuruza očekivano je najviše reducirala



dozacija tretmana punom registriranom dozom Adenga, što statistički nije bilo različito nakon primjene najmanje dozacije.

Duljinu koleoptile je u ovom istraživanju najjače inhibirao čisti Adengo, zatim Adengo u kombinaciji s fenolnim kiselinama, a smanjenjem dozacija herbicida rasla je i duljina koleoptile. No, usporedbom fenolnih kiselina, dodatak *p*-hidroksibenzojeve kiseline je jače inhibirao duljinu koleoptile i masu klijanaca nego kad je herbicidu dodana ferulična kiselina. Duran Serantes i sur. (2002.) su istraživali utjecaj alelokemikalija i herbicida na oštricu (*Dactylis glomerata* L.). U njihovom istraživanju, *p*-hidroksibenzojeva kiselina je reducirala fluorescenciju klorofila za više od 25% dok ferulična kiselina nije uzrokovala nikakav fiziološki efekt u testiranim biljkama. Istraživanja drugih autora (Šućur i sur. 2021.) su pokazala da alelokemikalije korova *Ambrosia trifida* L., među kojima je *p*-hidroksibenzojeva kiselina utvrđena u skoro najvišoj koncentraciji, nisu značajno utjecale na kukuruz. Kukuruz je bio osjetljiv 10 dana nakon sijanja, ali već 14. dan nije bio zabilježen nikakav jaki učinak koji bi inhibirao rast i razvoj kukuruza.

U laboratorijskom dijelu ovog istraživanja teško je razlučiti koja je fenolna kiselina u kombinaciji s herbicidom jače utjecala na rani rast klijanaca kukuruza te prema kojoj fenolnoj kiselini je kukuruz manje selektivan. Skromni su rezultati istraživanja dostupni u literaturi vezani za ovu tematiku. Gmerek i Politycka (2010.) su utvrđivali stres biljaka kukuruza uzrokovan primjenom tretmana s feruličnom kiselinom. Kao mjerilo stresa uzeli su proizvodnju reaktivnih metabolita kisika i dokazali da ferulična kiselina generira proizvodnju metabolita u radikuli klijanaca kukuruza već 30 minuta nakon tretmana. U daljnim su istraživanjima isti autori (Gmerek i Politycka 2015.) utvrdili da je ferulična kiselina povećala aktivnosti određenih enzima koji intenziviraju sintezu lignina, a što je bilo u negativnoj korelaciji s rastom korijena kukuruza. Autori su pretpostavili da bi inhibicija rasta korijena izazvana feruličnom kiselinom mogla biti posljedica lignifikacije, a što bi prema autorima mogao biti široko rasprostranjen mehanizam djelovanja ferulične kiseline u biljkama. Nadalje, Majeed i sur. (2018.) utvrdili su maksimalnu redukciju u postotku klijavosti, duljini radikule i koleoptile te suhoj i svježoj masi i indeksu vigora klijanaca kukuruza pri najvišoj koncentraciji vodenih ekstrakata *Echinocloa colona*. U tim vodenim ekstraktima ferulična kiselina je, među ostalim fenolima, identificirana u najvišoj koncentraciji u usporedbi s drugim fenolima. Snažnu redukciju klijavosti (76-87%), duljinu radikule i klijanaca (58-73% i 42-61%), suhu masu radikule i klijanaca (49-58% i 40-48%) i indeks vitalnosti mladih biljaka (87-95%) usjeva kukuruza prijavili su Nadeem i sur. (2018.) kao posljedicu rezidua biljke krokodilova trava (*Alternanthera philoxeroides*) u tlu u kojoj je opet ferulična kiselina identificirana kao jedna od prisutnih fenola u najvišoj koncentraciji.

Generalno gledano, na parametre ranog rasta kukuruza u ovom radu najjači učinak postignut je primjenom tretmana herbicida u kombinaciji s fenolnim kiselinama dok su čiste fenolne kiseline postigle vrlo slab učinak s izmjerenim parametrima vrlo bliskim onima na kontroli. Izuzetak je postotak klijavosti izmjeren nakon tretmana *p*-hidroksibenzojevom kiselinom. Nadalje, između učinaka tretmana na klijavost, radikulu, koleoptilu i svježnu masu klijanaca statistički nema razlike kod ferulične/*p*-hidroksibenzojeve kiseline u kombinaciji s herbicidom. No, pregledom rezultata (Grafikoni: 4.1.1.1., 4.1.2.1., 4.1.3.1., 4.1.4.1.) može se

zaključiti da *p*-hidroksibenzojeva kiselina ima jači redukcijski učinak na kukuruz primijenjena samostalno i/ili u kombinaciji s herbicidom.

Rezultati laboratorijskog dijela ovog istraživanja ukazuju na značajnu redukciju klijavosti i ranog rasta klijanaca kukuruza nakon primjene herbicida Adenga. No, u poljskim uvjetima sjeme kukuruza neće biti okruženo samo otopinom herbicida te nije realno očekivati isti učinak.

Vizualna ocjena oštećenja nadzemne mase u ovom istraživanju potvrđuje selektivnost kukuruza prema ovom herbicidu. Naime, maksimalno je procijenjeno 5% oštećenja na biljkama kukuruza 7 i 14 DNT. Adengo je herbicid koji se sastoji od dvije aktivne tvari, tienkarbazon-metila i izoksaflutola. Grzanka i sur. (2022.) su istraživali učinak primjene Adenga u pre-em roku u kombinaciji s jednom ili dvije aplikacije drugih herbicida u post-em roku na korovne vrste u usjevu kukuruza u tri uzastopne godine te također i ukupan učinak zaštite od korova na kukuruz. U svim godinama istraživanja, najniži učinak na korove primijećen je u kombinacijama u kojima je primijenjen samo jedan herbicidni tretman u post-em roku. Najviša redukcija broja korovnih vrsta po m<sup>2</sup> postignuta je primjenom Adenga te primjenom nižih dozacija ostalih herbicida u post-em roku. U svim godinama istraživanja primjena svih sredstava za zaštitu bilja pridonijela je statistički značajnom porastu razine hektolitarske mase (kg h L<sup>-1</sup>) te mase 1000 sjemenki zrna kukuruza u odnosu na kontrolu. Primjena herbicida u svim kombinacijama doprinijela je i povećanju visine kukuruza u odnosu na kontrolu. Zadnje dvije godine, visina kukuruza je bila najviša kod pre-em primjene Adenga, a prosječnom prinosu zrna kroz tri godine je također najviše doprinijela primjena Adenga. Autori su zabilježili najveće gubitke prinosa kukuruza nakon primjene kombinacije tretmana (i za kontrolu) koji su rezultirali najnižim stupnjem suzbijanja korova. Zaključili su da je smanjenje veličine kukuruza nepovoljno s gledišta razmatranja mogućnosti korištenja kukuruza čak i za hranidbe životinja ili u energetske svrhe. Poznato je da propisane doze registriranih herbicida ne moraju nužno značiti maksimalnu učinkovitost u suzbijanju korova i da učinkovitost značajno ovisi pedoklimatološkim i o biološkim uvjetima. No, vrlo je vjerojatno da višestruko smanjene dozacije, kao što su korištene u ovom eksperimentu, ne bi bile dovoljne za postizanje zadovoljavajućeg učinka. Zhao i sur. (2021.) su testirali učinkovitost izoksaflutola u kukuruzu i utvrdili minimalnu osjetljivost usjeva prema herbicidu. Između primijenjenih 100 i 150 g a.i./ha vizualnom ocjenom utvrđeno je 0 oštećenja 30 DNT, a 5 i 15 DNT je bilo utvrđeno niskih 1 - 10% oštećenja. To potvrđuju i naši rezultati gdje se većina biljaka već 14 DNT gotovo potpuno oporavila od primjene herbicida samostalno ili u kombinaciji s feruličnom kiselinom. Usporedivo s dozacijama herbicida korištenim u ovom istraživanju, pri najvećoj dozi (0,44 L/ha) prisutno je 99 g a.i./ha izoksaflutola, a autori (Zhao i sur. 2021.) na temelju svojih rezultata zaključuju da je optimalan prinos kukuruza moguće dobiti korištenjem tretmana izoksaflutola 100 - 150 g a.i./ha. Usporedbom rezultata laboratorijskog istraživanja u ovom radu gdje su fenolne kiseline u većini slučajeva pojačale redukcijski učinak herbicida na kukuruz i vizualne ocjene gdje ferulična kiselina dodana Adengu nije imala jači učinak od primjene samog herbicida, nije vjerojatno da bi učinak bio drugačiji ukoliko se takva kombinacija tretmana primjeni u polju.

Navedeno je izuzetno bitno za budući razvoj alternativnih sredstava za zaštitu bilja. Brojna istraživanja ukazuju na važnost zaštite usjeva kukuruza od korova ne samo zbog značajnih gubitaka prinosa (Keramati i sur. 2008., Cox i sur. 2006., Carvalho i sur. 2009., Öerke i sur. 2005., i drugi) već i zbog minimuma iskoristivosti usjeva (Grzanka i sur. 2022.). Obzirom na zahtjeve Europske unije za smanjenjem unosa pesticida u okoliš (Europski zeleni plan), ali i zbog sve češćih pojava rezistentnih populacija korovnih vrsta (Heap, 2022), nužno je razvijati nove inovativne ideje koje bi pomogle zaštititi proizvodnju bilja u godinama koje dolaze.

Već dulji niz godina se vrši pritisak na poboljšanje učinkovitosti poljoprivredne proizvodnje, a uz smanjenje kemijskih sredstava koje u tom pomažu. Naglasak je bio na proizvodnji hrane zbog eksponencijalnog rasta broja stanovništva na Zemlji. No, danas se sve više prepoznaje potencijal uzgoja bilja za energetske potrebe. Biomasa kukuruza jedna je od glavnih sirovina na svijetu od kojih se proizvodi energija. Na primjer, u Sjedinjenim Američkim Državama se jedino kukuruzno zrno koristi kao izvor za proizvodnju etanola (Infante i sur. 2018.). Bliže Republici Hrvatskoj, zbog svojih svojstava, kukuruzna silaža je je također prvi izbor između supstrata koji se koriste za proizvodnju bioplina u Europskoj Uniji.

Uzgaja li se kukuruz za hranu ili kao biomasa za energetske potrebe, ishod mora biti jednak, a to je zdrava i jaka biljka i na kraju kvalitetan biljni materijal. U oba tipa proizvodnje, biljkama treba određeni prostor i pedoklimatološki uvjeti. Uz kompeticiju s korovima i prema propisanim ekološkim zahtjevima bez adekvatne zaštite takav ishod nije moguć. Pregledom literature može se zaključiti da se pojačano istražuju bioherbicidni potencijali tvari koje se i inače prirodno nalaze biljkama. Temeljem toga je i proizašlo ovo istraživanje u kojem su testirane fenolne kiseline koje su se pokazale kao potencijalni inhibitori više korovnih vrsta (Stupnicka-Rodzynek i sur. 2006., Šćepanović i sur. 2022.). Obzirom na navedeno i na rezultate dobivene ovim istraživanjem, postoji mogućnost da se ferulična kiselina u kombinaciji s vrlo reduciranim dozama herbicida Adenga koristi kao učinkovito sredstvo za zaštitu od korovnih vrsta u usjevu kukuruza, ali tek nakon što se ovakva istraživanja testiraju u poljskim uvjetima.

## 6. Zaključak

Nakon *in vitro* istraživanja i biotesta o učinku ferulične i *p*-hidroksibenzojeve kiseline samostalno i u kombinaciji s herbicidom Adengom na klijavost i rani rast i razvoj kukuruza može se zaključiti da fenolne kiseline dodane herbicidu Adengu mogu značajno inhibirati klijavost, radikulu i masu klijanaca kukuruza u *in vitro* uvjetima. Obzirom na vizualnu ocjenu mladih biljaka kukuruza, može se zaključiti da dodatak ferulične kiseline herbicidu neće značajno utjecati na rast i razvoj kukuruza u poljskim uvjetima. Odnosno, kukuruz je selektivan prema feruličnoj kiselini primijenjenoj samostalno ili u kombinaciji s herbicidom Adengom.

## 7. Popis literature

1. Abdul-Wahab A. S., Rice E. L. (1967). Plant inhibition by Johnson grass and its possible significance in old-field succession. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 486-497.
2. Abenavoli M. R., Lupini A., Oliva S., Sorgonà A. (2010). Allelochemical effects on net nitrate uptake and plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase activity in maize seedlings. *Biologia Plantarum*, 54(1): 149-153 <https://doi.org/10.1007/s10535-010-0024-0>
3. Al Seadi T., Rutz D., Prassl H., Köttner M., Finsterwalder T., Volk S., Janssen R. (2008). *The Biogas Handbook* (pp. 1–126)
4. Allen M. S., Coors J. G., Roth G. W. (2003). Corn silage. *Silage science and technology*, 42: 547-608. <https://doi.org/10.2134/agronmonogr42.c12>
5. Almaghrabi O. A. (2012). Control of wild oat (*Avena fatua*) using some phenolic compounds I Germination and some growth parameters. *Saudi journal of biological sciences*, 19(1): 17 -24.
6. Amon T., Amon B., Kryvoruchko V., Zollitsch W., Mayer K., Gruber, L. (2007). Biogas production from maize and dairy cattle manure—influence of biomass composition on the methane yield. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 118(1-4): 173-182.
7. Aziz A., Tanveer A., Ali A., Yasin M., Babar, B. H., Nadeem M. A. (2008). Allelopathic effect of cleavers (*Galium aparine*) on germination and early growth of wheat (*Triticum aestivum*). *Allelopathy Journal*, 22(1): 25-34.
8. Barić K., Ostojić Z., Šćepanović M. (2014). Integrirana zaštita bilja od korova. *Glasilo biljne zaštite*, 14(5): 416-434.
9. Bashir T., Anum W., Ali I., Ghaffar A., Ali L., Raza M. U., Javed Z., Zafar A., Mahmood N., Shabir A. (2018). Allelopathic effects of perennial sow thistle (*Sonchus arvensis* L.) on germination and seedling growth of maize (*Zea mays* L.). *Allelopathy Journal*, 43(1): 105-116.
10. Basu P. (2018). *Biomass gasification, pyrolysis and torrefaction: practical design and theory*. Academic press.
11. Blum U., Dalton B.R., Rawlings J.O. (1984). Effects of ferulic acid and some of its microbial metabolic products on radicle growth of cucumber. *Journal of Chemical Ecology* 10: 1169–1191.
12. Blum U., Wentworth T.R., Klein K., Worsham A.D., King L.D., Gerig T.M., Lyu, S.W. (1991). Phenolic acid content of soils from wheat no-till, wheat-conventional till, and fallow- conventional till soybean cropping systems. *Journal of Chemical Ecology* 17:1045–1068.
13. Boydston R. A., Hang A. (1995). Rapeseed (*Brassica napus*) green manure crop suppresses weeds in potato (*Solanum tuberosum*). *Weed technology*, 9(4): 669-675. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0890037X00024039>

14. Braun R. (2007). Anaerobic digestion: a multi-faceted process for energy, environmental management and rural development. U: Improvement of crop plants for industrial end uses. Springer, Dordrecht, str. 335-41.
15. Brijačak E., Koščak L., Šoštarčić V., Kljak K., Šćepanović M. (2020). Sensitivity of yellow foxtail (*Setaria glauca* L.) and barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli* L.) to aqueous extracts or dry biomass of cover crops. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(15): 5510-5517.
16. Cavinato C., Fatone F., Bolzonella D., Pavan P. (2010). Thermophilic anaerobic co-digestion of cattle manure with agro-wastes and energy crops: comparison of pilot and full scale experiences. *Bioresource technology*, 101(2): 545-550.
17. Chai T. T., Ooh K. F., Ooi P. W., Chue P. S., Wong F. C. (2013). *Leucaena leucocephala* leachate compromised membrane integrity, respiration and antioxidative defence of water hyacinth leaf tissues. *Botanical Studies*, 54(1): 1-7. <https://doi.org/10.1186/1999-3110-54-8>
18. Choudhury R., Srail S. K., Debnam E., Rice-Evans C. A. (1999). Urine excretion of hydroxycinnamates and flavonoids after oral and intravenous administration. *Free Radic Bio Med* 27:278–286.
19. Chum H. i sur. (2011). Bioenergy. In *Renewable energy sources and climate change mitigation: Special report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, str. 209-332. Cambridge University Press.
20. Clay S. A., Banken K. R., Forcella F., Ellsbury M. M., Clay, D. E., Olness A. E. (2006). Influence of yellow foxtail on corn growth and yield. *Communications in soil science and plant analysis*, 37(9-10): 1421-1435.
21. Copping L. G. (1996). *Crop protection agents from nature: natural products and analogues*. Royal Society of Chemistry. Cambridge, UK.
22. Cox W. J., Hahn R. R., Stachowski P. J. (2006). Time of weed removal with glyphosate affects corn growth and yield components. *Agronomy Journal*, 98(2): 349-353. <https://doi.org/10.2134/agronj2005.0078>
23. Ćosić B., Stanić Z., Duić N. (2011). Geographic distribution of economic potential of agricultural and forest biomass residual for energy use: Case study Croatia. *Energy*, 36(4): 2017-2028. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2010.10.009>
24. Dávid I., Kovács I. (2007). Competition of three noxious weeds with row crops. *Cereal Research Communications*, 35(2): 341-344.
25. Deublein D., Steinhauser A. (2011). *Biogas from waste and renewable resources: an introduction*. John Wiley & Sons.
26. Devi S.R., Prasad M.N.V. (1992). Effect of ferulic acid on growth and hydrolytic enzyme activities of germinating maize seeds. *Journal of Chemical Ecology*, 18(11): 1981-1990.
27. Dhima K. V., Vasilakoglou I. B., Gatsis T. D., Panou-Philotheou E., Eleftherohorinos I. G. (2009). Effects of aromatic plants incorporated as green manure on weed and maize development. *Field Crops Research*, 110(3): 235-241.

28. Direktiva (EU) 2018/2001 Europskog parlamenta i Vijeća od 11. prosinca 2018. o promicanju uporabe energije iz obnovljivih izvora (preinaka) (SL L 328, 21.12.2018., str. 82.–209.)
29. Durán-Serantes B., González L., Reigosa M. J. (2002). Comparative physiological effects of three allelochemicals and two herbicides on *Dactylis glomerata*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 24(4): 385-392.
30. Eberhardt, S. (1975): Značenje uzgoja međuseva. Poljoprivredni institut, Zagreb, 69.
31. Einhellig F. A., Stille M. L. (1979). Effects of ferulic and p-coumaric acids on plant water status. Abstract. *American Journal of Botany*, 157: 40-41.
32. Elqahtani M. M., El-Zohri M., Galal H. K., El-Enany A. E. (2017). GC-MS analysis of crude extracts from *Heliotropium bacciferum* L. and their allelopathic effects on *Zea mays* L. and *Vicia faba* L. *Allelopathy Journal*, 41(1): 51-64.
33. Food and Agriculture Organization of the United Nations (2020.), FAOSTAT data base: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
34. Gagro M. (1997.): Ratarstvo obiteljskog gospodarstva. Žitarice i zrnate mahunarke. Hrvatsko agronomsko društvo, Zagreb.
35. Glass A. D., Dunlop J. (1974). Influence of phenolic acids on ion uptake: IV. Depolarization of membrane potentials. *Plant Physiology*, 54(6): 855-858.
36. Glauning J., Holzner W. (1982). Interference between weeds and crops: a review of literature. *Biology and ecology of weeds*, str. 149-159. [https://doi.org/10.1007/978-94-0170916-3\\_13](https://doi.org/10.1007/978-94-0170916-3_13)
37. Gmerek J., Politycka B. (2015). Enhanced lignification and root growth inhibition induced by ferulic and p-coumaric acids. *Allelopathy Journal*, 36(2).
38. Grzanka M., Sobiech Ł., Idziak R., Skrzypczak G. (2022). Effect of the Time of Herbicide Application and the Properties of the Spray Solution on the Efficacy of Weed Control in Maize (*Zea mays* L.) Cultivation. *Agriculture*, 12(3): 353.
39. Haramoto E. R., Gallandt E. R. (2004). Brassica cover cropping for weed management: A review. *Renewable agriculture and food systems*, 19(4): 187-198.
40. Hartwig N. L., Ammon H. U. (2002). Cover crops and living mulches. *Weed science*, 50(6):688 699.
41. Holm L.G., Pancho J.V., Herberger J.P., Plunknett D.L. (1991). A geo- graphic atlas of world weeds., Krieger Publishing Co., Mala-bar, Florida, USA.
42. Hrgović S. (2007). Osnove agrotehnike proizvodnje kukuruza (*Zea mays*). *Glasnik Zaštite Bilja*, 30 (3): 48-61.
43. Hrnčević L., Dekanić I., Karasalihoć Sedlar D. (2008). Analiza sigurnosti opskrbe prirodnim plinom u Republici Hrvatskoj. *Journal of Energy: Energija*, 57(6): 600-609.
44. Hulme A. C., Jones, J. D. (1963). Tannin inhibition of plant mitochondria. U: *Enzyme chemistry of phenolic compounds.. Pergamon*, str. 97-120.
45. Iiyama K., Lam T. B. T., Stone B.A. (1994.). Covalent cross-links in the cell wall. *Plant Physiol* 104:315–320.
46. Inderjit S. (1996). Plant phenolics in allelopathy. *The Botanical Review*, 62(2): 186-202.

47. Infante P. A., Moore K., Hurburgh C., Scott P., Archontoulis S., Lenssen A., Fei S. Z. (2018). Biomass production and composition of temperate and tropical maize in Central Iowa. *Agronomy*, 8(6): 88.
48. Jabran K., Mahajan G., Sardana V., Chauhan B. S. (2015). Allelopathy for weed control in agricultural systems. *Crop protection*, 72, 57-65.
49. Jassey V. E., Chiapusio G., Gilbert D., Buttler A., Toussaint M. L., Binet P. (2011). Experimental climate effect on seasonal variability of polyphenol/phenoloxidase interplay along a narrow fenbog ecological gradient in *Sphagnum fallax*. *Global Change Biology*, 17(9): 2945-2957.
50. Jhala A. J., Knezevic S. Z., Ganie Z. A., Singh M. (2014). Integrated weed management in maize. U: *Recent Advances in Weed Management*, str. 177-196. Springer, New York.
51. Karekezi S., Lata, K., Coelho S. T. (2004). Traditional biomass energy: improving its use and moving to modern energy use. U: *International conference for renewable energies*. str. 1-60.
52. Keramati S., Pirdashti H., Esmaili M. A., Abbasian A., Habibi, M. (2008). The Critical Period of Weed Control in Soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11(3): 463-467.
53. Khadem S. Marles R.J.(2010.). *Monocyclic Phenolic Acids: Hydroxy-and Polyhydroxybenzoic Acids: Occurrence and Recent Bioactivity Studies*, *Molecules*, 15, 7985-8005.
54. Knezevic S. Z., Evans S. P., Blankenship E. E., Van Acker R. C., Lindquist J. L. (2002). Critical period for weed control: the concept and data analysis. *Weed science*, 50(6): 773-786.
55. Korbag I., Omer S. M. S., Boghazala H., & Abusasiyah M. A. A. (2020). Recent advances of biogas production and future perspective str 1-3. United Kingdom: IntechOpen.
56. Krishnan G., Holshouser D. L., Nissen S. J. (1998). Weed control in soybean (*Glycine max*) with green manure crops. *Weed technology*, 12(1): 97-102.
57. Kropff M. J., Vossen F. J. H., Spitters C. J. T., De Groot W. (1984). Competition between a maize crop and a natural population of *Echinochloa crus-galli* (L.). *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 32(4): 324-327.
58. Kunz Ch., Sturm D. J., Varnholt D. Walker, F., Gerhards R. (2016). Allelopathic effects and weed suppressive ability of cover crops. *Plant, Soil and Environment*, 62(2): 60-66.
59. Lyu S. W., Blum U. (1990). Effects of ferulic acid, an allelopathic compound, on net P, K, and water uptake by cucumber seedlings in a split-root system. *Journal of Chemical Ecology*, 16(8): 2429-2439.
60. Macías F. A., Molinillo J. M., Varela R. M., Galindo J. C. (2007). Allelopathy—a natural alternative for weed control. *Pest Management Science: Formerly Pesticide Science*, 63(4):327-348.



61. Majeed M. A., Tanveer A., Tahir M., Ahmad R. (2018). Soil mediated allelopathic effect of *Echinochloa colona* on germination and seedling growth of *Zea mays*. *Planta Daninha*, 36.
62. Mallik A. U. (2008). Allelopathy: advances, challenges and opportunities. *Allelopathy in sustainable agriculture and forestry*, str. 25-38.
63. Mithen R. (2001). Glucosinolates and the degradation products. *Advances in Botanical Research*. New York: Academic Press. 35: 214– 262.
64. Molisch H. (1937). *Der Ein̄uss einer Panze auf die andere- Allelopathie*, Fischer, Jena, Germany.
65. Moonen A. C., Barberi P. (2006). An ecological approach to study the physical and chemical effects of rye cover crop residues on *Amaranthus retroflexus*, *Echinochloa crus-galli* and maize. *Annals of Applied Biology*, 148(1): 73-89.
66. Murphy J., Braun R., Weiland P., Wellinger A. (2011). Biogas from crop digestion. U: IEA bioenergy task (Vol. 37, No. 37, pp. 1-23).
67. Nadeem M., Tanveer A., Khaliq A., Murtaza G. (2018). Suppression of Maize (*Zea mays*) Seedling Growth by Invasive Alligatorweed (*Alternanthera philoxeroides*) Residues. *Planta Daninha*, 35.
68. Oerke E. C. (2006). Crop losses to pests. *The Journal of Agricultural Science*, 144(1): 31-43.
69. Orcaray L., Igal M., Zabalza A., Royuela M. (2011). Role of exogenously supplied ferulic and p-coumaric acids in mimicking the mode of action of acetolactate synthase inhibiting herbicides. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(18): 10162-10168.
70. Oslaj M., Mursec, B., Vindis, P. (2010). Biogas production from maize hybrids. *Biomass and bioenergy*, 34(11): 1538-1545.
71. Patterson D. T. (1981). Effects of allelopathic chemicals on growth and physiological responses of soybean (*Glycine max*). *Weed Science*, 29(1): 53-59.
72. R Core Team (2013). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>
73. Rice E. L. (1979). Allelopathy—an update. *The Botanical Review*, 45(1): 15-109.
74. Rice E. L. (1984). *Allelopathy*. Academic Press, Orlando, FL. *Allelopathy*. Drugo izdanje.
75. Santi G., Proietti S., Moscatello S., Stefanoni W., Battistelli A. (2015). Anaerobic digestion of corn silage on a commercial scale: Differential utilization of its chemical constituents and characterization of the solid digestate. *Biomass and Bioenergy*, 83: 17-22. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2015.08.018>
76. Scavo A., Abbate C., Mauromicale G. (2019). Plant allelochemicals: Agronomic, nutritional and ecological relevance in the soil system. *Plant and Soil*, 442(1): 23-48.
77. Scavo A., Mauromicale G. (2020). Integrated weed management in herbaceous field crops. *Agronomy*, 10(4): 466.
78. Schittenhelm S. (2008). Chemical composition and methane yield of maize hybrids with contrasting maturity. *European Journal of Agronomy*, 29(2-3): 72-79.

79. Sharma V. K. (2015). Technology development and innovation for production of next-generation biofuel from lignocellulosic wastes. U: Energy Sustainability Through Green Energy. str. 315-350.
80. Shettel N. L., Balke N. E. (1983). Plant growth response to several allelopathic chemicals. *Weed Science*, 31(3): 293-298.
81. Singh H. P., Batish D. R., Kaur S., Kohli R. K. (2003). Phytotoxic interference of *Ageratum conyzoides* with wheat (*Triticum aestivum*). *Journal of agronomy and crop science*, 189(5): 341-346.
82. Singh K., Kaur T., Bhullar M. S., Brar A. S. (2018). The Critical period for weed control in spring maize in North-West India. *Maydica*, 61(1):7.
83. Siqueira J. O., Nair M. G., Hammerschmidt R., Safir G. R., Putnam A. R. (1991) Significance of phenolic compounds in plant-soil-microbial systems, *Critical Reviews in Plant Sciences*, 10:1, 63-121.
84. Snapp S. S., Swinton S. M., Labarta R., Mutch D., Black J. R., Leep R., Oneil K. (2005). Evaluating cover crops for benefits, costs and performance within cropping system niches. *Agronomy journal*, 97(1): 322-332.
85. Stupnicka-Rodzynekiewicz E., Dabkowska T., Stokłosa A., Hura T., Dubert F., Lepiarczyk A. (2006). The effect of selected phenolic compounds on the initial growth of four weed species. *Zeitschrift für pflanzenkrankheiten und pflanzenschutz-sonderheft*, 20: 479.
86. Šćepanović M. (2007). Korovna flora kukuruza. *Glasilo biljne zaštite*, 5 (5): 352-356.
87. Šćepanović M., Novak N., Barić K., Ostojić Z., Galzina N. Goršić M. (2007). Alelopatski utjecaj korovnih vrsta *Abutilon theophrasti* Med. i *Datura stramonium* L. na početni razvoj kukuruza. *Agronomski glasnik*, 69 (6): 459-472.
88. Šćepanović M., Šoštarčić V., Pintar A., Lakić J., Klara B. (2020). Pojava rezistentnih populacija korova na herbicide inhibitore acetolaktat-sintaze u Republici Hrvatskoj. *Glasilo biljne zaštite*, 20(6): 628-640.
89. Šćepanović M., Sarić-Krsmanović M., Šoštarčić V., Brijačak E., Lakić J., Špirović Trifunović B., Gajić Umiljendić J. Radivojević L. (2021). Inhibitory effects of brassicaceae cover crop on *Ambrosia artemisiifolia* germination and early growth. *Plants*, 10(4):794.
90. Šćepanović M., Koščak L., Šoštarčić V., Pismarović L., Milanović-Litre, A. Kljak K. (2022). Selected Phenolic Acids Inhibit the Initial Growth of *Ambrosia artemisiifolia* L. *Biology*, 11(4):482.
91. Šučur J., Konstantinović B., Crnković M., Bursić V., Samardžić N., Malenčić Đ., Prvulović D., Popov M., Vuković G. (2021). Chemical Composition of *Ambrosia trifida* L. and Its Allelopathic Influence on Crops. *Plants*, 10(10):2222. <https://doi.org/10.3390/plants10102222>
92. Teasdale J.R. (1993.). Interaction of light, soil moisture, and temperature with weed suppression by hairy vetch residue. *Weed Science*, 41, 46–51.

93. Thomas F. (2002.). Crop Covers for Weed Suppression. In: Encyclopedia of Pest Management. (ur. Pimentel D.). str. 159-161.
94. Tkemaladze G. S., Makhshvili K. A. (2016). Climate changes and photosynthesis. *Annals of agrarian science*, 14(2): 119-126.
95. Topolovec D. (2008). Herbicidi i mehanizam djelovanja III. *Glasnik Zaštite Bilja*, 31(5): 98-101.
96. Tursi A. (2019). A review on biomass: importance, chemistry, classification, and conversion. *Biofuel Research Journal*, 6(2): 962-979.
97. Vad A., Zsombik L., Szabó A., Pepó P. (2007). Critical crop management factors in sustainable maize (*Zea mays* L.) production. *Cereal Research Communications*, 35(2): 1253-1256.
98. Vukadinović V., Vukadinović V. (2016). Tlo, gnojidba i prinos. *Vlastita naklada*, Osijek.
99. Wid N., Horan N. J. (2018). Anaerobic Digestion of Screenings for Biogas Recovery. In *Anaerobic Digestion Processes.. Springer, Singapore*. str. 85-103
100. Yeganehpour F., Salmasi S. Z., Abedi G., Samadiyan F., Beyginiya V. (2015). Effects of cover crops and weed management on corn yield. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 14(2): 178-181.
101. Yue D., You F., Snyder S. W. (2014). Biomass-to-bioenergy and biofuel supply chain optimization: Overview, key issues and challenges. *Computers and Chemical Engineering*, 66:36-56.
102. Zamani A. (2015). Introduction to lignocellulose-based products. U: *Lignocellulose- Based Bioproducts*. str. 1-36.
103. Zhao N., Zuo L., Li W., Guo W., Liu W., Wang J. (2017). Greenhouse and field evaluation of isoxaflutole for weed control in maize in China. *Scientific Reports*, 7(1): 1-9.

## ŽIVOTOPIS

Rovena Frketić rođena je 13.03.1999. u Karlovcu. Pohađala je osnovnu školu „Dubovac“, Karlovac gdje je prisustvovala natjecanjima iz predmeta biologija i kemija, te natjecanju u košarci. U izvannastavnim aktivnostima tijekom osnovne škole sudjeluje u raznim natjecanjima suvremenog plesa. Nakon završenog osnovnoškolskog obrazovanja upisuje Jezičnu gimnaziju Karlovac. Godine 2017. upisuje Agronomski fakultet sveučilišta u Zagrebu, smjer Agroekologija. Godine 2019. upisuje izvannastavnu aktivnost Zavoda za herbologiju „Čudesni svijet korova“, pomoću koje stječe komunikacijske vještine, dodatno uči o vrstama korova te poboljšava sposobnosti timskog rada. Od stranih jezika odlično se služi engleskim, osnovnom razinom njemačkog jezika i tijekom srednjoškolskog obrazovanja učila je talijanski jezik. Godine 2020. stekla je zvanje univ. bacc. ing. agr., završivši preddiplomski studij, smjer Agroekologija na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Godine 2020. upisuje Sveučilišni diplomski studij Obnovljivi izvori energije u poljoprivredi.