

Primjena plazma aktivirane vode u ispitivanju otpornosti na sušu biljnih vrsta važnih za prehrambenu industriju

Pajić, Tajana

Master's thesis / Diplomski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambena-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:836155>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](#)/[Imenovanje-Nekomercijalno-Dijeli pod istim uvjetima 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-23**

REPOZITORIJ

PTFS

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Tajana Pajić

PRIMJENA PLAZMA AKTIVIRANE VODE U ISPITIVANJU
OTPORNOSTI NA SUŠU BILJNIH VRSTA VAŽNIH ZA
PREHRAMBENU INDUSTRIJU

DIPLOMSKI RAD

Osijek, rujan, 2024.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Sveučilišni diplomski studij Prehrambeno inženjerstvo
Zavod za ispitivanje hrane i prehrane
Katedra za biologiju i mikrobiologiju
Franje Kuhača 18, 31000 Osijek, Hrvatska

Znanstveno područje: **Biotehničke znanosti**
Znanstveno polje: **Prehrambena tehnologija**

Tema rada **prihvaćena je na IX. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća
Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2023./2024.
održanoj 28. lipnja 2024.**
Mentor: **izv. prof. dr. sc. Tihana Marčec**

PRIMJENA PLAZMA AKTIVIRANE VODE U ISPITIVANJU OTPORNOSTI NA SUŠU BILJNIH VRSTA VAŽNIH ZA PREHRAMBENU INDUSTRIJU

Tajana Pajić, 0113146950

Sažetak:

U novije vrijeme primjena plazma aktivirane vode (PAW) koristi se za povećanje otpornosti sjemena na sušu. Cilj istraživanja bio je provjeriti učinak PAW na klijanje i rast konoplje, zobi, pšenoraži i ječma u uvjetima suše (15% PEG) te provjeriti vremenski efekt svih PAW tretmana na vijabilnost sjemena. Pri tome se koristila plazma aktivirana voda bez dodatka plina (PAW), s dodatkom dušika (PAW+N₂), te s dodatkom zraka (PAW+Z). Primjena PAW i PAW+ N₂ tretmana potaknula je klijanje konoplje, pšenoraži i ječma u uvjetima suše, dok je stimulacija rasta pri PAW+ N₂ uočena u zobi i pšenoraži. U razvoju otpornosti na sušu u ječma veći potencijal pokazao je PAW+Z tretman koji je potaknuo brži rast izdanka. Sjeme konoplje i zobi tretirano PAW+ N₂ zadržalo je sposobnost bržeg rasta (zob i konoplja) nakon 4. dana skladištenja što govori o memorijskom efektu PAW+ N₂ tretmana. Nadalje, tretman zrakom (PAW+Z) u ječma pokazao se učinkovitijim u zadržavanju sposobnosti veće kljavosti i rasta korijena nakon 9. dana skladištenja što opet govori kako je tretman zrakom pogodniji za produljenje vijabilnosti sjemena ječma. Konačno, pšenoraž je bila jedina vrsta u koje je obogaćivanje PAW medija dušikom i zrakom imalo pozitivan učinak na klijanje i rast nakon 9. dana skladištenja što upućuje na šire mogućnosti primjene oba tretmana u produljenju dugovječnosti sjemena pšenoraži.

Ključne riječi: suša, plazma aktivirana voda, žitarice, uljarica, vremenski efekt PAW

Rad sadrži: 63 stranica
31 slika
0 tablica
76 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:

1.	izv. prof. dr. sc. Antun Jozinović	predsjednik
2.	izv. prof. dr. sc. Tihana Marčec	član-mentor
3.	prof. dr. sc. Tihomir Moslavac	član
4.	prof. dr. sc. Natalija Velić	zamjena člana

Datum obrane: 20. rujna, 2024.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 18, 31000 Osijek.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
University Graduate Study Food engineering
Department of Food and Nutrition Research
Subdepartment of Biology and Microbiology
Franje Kuhača 18, HR-31000 Osijek, Croatia

Scientific area: Biotechnical sciences
Scientific field: Food technology
Thesis subject: was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. IX. held on 28th June 2024.
Mentor: *Tihana Marček*, PhD, associate prof.

APPLICATION OF PLASMA-ACTIVATED WATER IN TESTING DROUGHT RESISTANCE OF PLANT SPECIES IMPORTANT FOR THE FOOD INDUSTRY Tajana Pajić, 0113146950

Summary:

Recently, application of plasma-activated water has been used for improving seed drought tolerance. The aim was to verify the PAW effect on the germination and growth in hemp, oat, triticale, and barley under drought (15% PEG), and to check the temporal effect of all PAW solutions on seed viability. Plasma-activated water without added gas (PAW), with added nitrogen (PAW+N₂), and with added air (PAW+Z) were used in the experiment. The application of PAW and PAW+N₂ treatments stimulated the germination of hemp, triticale, and barley under drought conditions, while growth stimulation with PAW+N₂ was observed in oats and triticale. In the development of drought resistance in barley, the PAW+Z treatment showed greater potential by promoting faster shoot growth. Hemp and oat seeds treated with PAW+N₂ retained the ability for faster growth (oats and hemp) after 4 days of storage, indicating a memory effect of the PAW+N₂ treatment. Furthermore, the air treatment (PAW+Z) in barley proved more effective in maintaining higher germination rates and root growth after 9 days of storage, suggesting that the air treatment is more suitable for extending barley seed viability. Finally, triticale was the only species in which enriching the PAW medium with nitrogen and air had a positive effect on germination and growth after 9 days of storage, pointing to broader possibilities for applying both treatments in extending the longevity of triticale seeds.

Key words: drought, plasma activated water, crops, oilseed, temporal effect of PAW

Thesis contains: 63 pages
31 figures
0 tables
76 references

Original in: Croatian

Defense committee:

- | | | |
|----|---------------------------------------|--------------|
| 1. | Antun Jozinović, PhD, associate prof. | chair person |
| 2. | Tihana Marček, PhD, associate prof. | member |
| 3. | Tihomir Moslavac, PhD, full prof. | member |
| 4. | Natalija Velić, PhD, full prof. | stand-in |

Defense date: 20 September, 2024.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 18, 31000 Osijek.

DIPLOMSKI RAD JAVNO JE OBRANJEN DANA

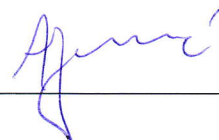
20. 9. 2024.

TE OCIJENJEN USPJEHOM

IZVRSTAN (5)

Pred Povjerenstvom za obranu diplomskog rada:

1. **izv. prof. dr. sc. Antun Jozinović** predsjednik



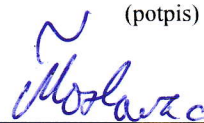
(potpis)

2. **izv. prof. dr. sc. Tihana Marček** član



(potpis)

3. **prof. dr. sc. Tihomir Moslavac** član



(potpis)

Najljepše se zahvaljujem izv. prof. dr. sc. Tihana Marček na mentorstvu, stručnim savjetima i vodstvu, prenesenom znanju te nesebično ukazanoj pomoći tijekom izrade ovog diplomskog rada.

Srdačno se zahvaljujem svojim roditeljima i sestri na velikoj podršci i razumijevanju tijekom cijelog studija.

Zahvaljujem se prijateljima koji su uvijek bili uz mene kao podrška i oslonac tijekom studiranja.

Sadržaj

1.	UVOD	1
2.	TEORIJSKI DIO	2
2.1.	Morfološka obilježja i primjena odabranih vrsta u različitim industrijama.....	3
2.1.1.	Ječam.....	3
2.1.2.	Pšenoraž	5
2.1.3.	Zob.....	6
2.1.4.	Konoplja.....	7
2.2.	Suša	9
2.2.1.	Suša kao globalni problem.....	9
2.2.2.	Učinak suše na biljku	10
2.3.	Tehnologija hladne plazme.....	11
2.3.1.	Plazma aktivirana voda (Plasma Activated Water, PAW)	12
2.3.2.	PAW u biološkim istraživanjima	13
3.	EKSPERIMENTALNI DIO.....	15
3.1.	Zadatak.....	16
3.2.	Materijali i metode.....	17
3.2.1.	Uzgoj biljnog materijala	17
3.2.2.	Predtretman sjemena plazmom aktiviranom vodom (PAW).....	18
3.2.3.	Određivanje germinacije i praćenje rasta.....	18
3.2.4.	Praćenje morfometrijskih parametara PAW tretiranog sjemena s vremenom.....	19
3.2.5.	Određivanje električne vodljivosti i pH vrijednosti različitih PAW tretmana	20
3.3.	Statistička obrada podataka	21
4.	REZULTATI.....	22
4.1.	Učinak PAW obogaćene dušikom (PAW+N ₂) na morfometrijske parametre.....	25
4.1.1.	Klijavost i rast konoplje na kontroli i uvjetima suše.....	25
4.1.2.	Klijavost i rast zobi na kontroli i uvjetima suše	27
4.1.3.	Klijavost i rast pšenoraži na kontroli i uvjetima suše	29
4.1.4.	Klijavost i rast ječma na kontroli i uvjetima suše	32
4.2.	Učinak PAW obogaćene dušikom (PAW+N ₂) na morfometrijske parametre nakon skladištenja 34	
4.2.1.	Vijabilnost sjemena konoplje	34
4.2.2.	Vijabilnost sjemena zobi	35
4.2.3.	Vijabilnost sjemena ječma	36
4.2.4.	Vijabilnost sjemena pšenoraži.....	36
4.3.	Učinak PAW obogaćene zrakom (PAW+Z) na morfometrijske parametre.....	37
4.3.1.	Klijavost i rast ječma na kontroli i uvjetima suše	37
4.3.2.	Klijavost i rast pšenoraži na kontroli i uvjetima suše	40
4.4.	Učinak PAW obogaćene zrakom (PAW+Z) na morfometrijske parametre nakon skladištenja ..	42
4.4.1.	Vijabilnost sjemena ječma	42

4.4.2.	Vijabilnost sjemena pšenoraži.....	43
4.5.	Fizikalno-kemijska svojstva PAW medija.....	44
4.5.1.	Električna vodljivost	44
4.5.2.	pH vrijednost	45
5.	RASPRAVA	46
6.	ZAKLJUČCI.....	56
7.	LITERATURA.....	58

Popis oznaka, kratica i simbola

PAW – Plazmom aktivirana voda (Plasma Activated Water)

PAW+N₂ - Plazmom aktivirana voda s dodatkom dušika

PAW+Z - Plazmom aktivirana voda s dodatkom zraka

PEG - Polietilen glikol

EC - Električna vodljivost

ROS – Reaktivne čestice kisika (Reactive Oxygen Species)

RNS – Reaktivne čestice dušika (Reactive Nitrogen Species)

H₂O₂ - Vodikov peroksid

O₃ - Ozon

NO₃⁻ - Nitrati

NO₂⁻ - Nitriti

·OH - Hidroksil radikal

ONOO⁻ - Peroksinitril

¹O₂ - Singletni kisik

O²⁻ - Superoksidni anion

N²⁺ - Kation atmosferskog dušika

NO· - Radikal dušikovog oksida

1. UVOD

Biljna proizvodnja obuhvaća uzgoj raznovrsnih biljnih vrsta koje se koriste za različite svrhe, uključujući prehranu ljudi i životinja, proizvodnju vlakana, biogoriva i druge namjene. Uključuje širok spektar biljnih kultura, kao što su strne žitarice koje su ključne za ishranu ljudi i životinja te biljke poput pamuka i konoplje koje su važne u tekstilnoj industriji. Nedostatak vode u poljoprivrednoj proizvodnji najčešći je ograničavajući faktor (Pospišil, 2010). S obzirom na klimatske promjene i česta sušna razdoblja, od interesa je istražiti načine tretiranja sjemena koji bi poboljšale proces proizvodnje i održale kontinuitet procesa uzgoja od sjetve do žetve, a ujedno bile ekonomične.

U tom kontekstu, primjena plazma aktivirane vode javlja se kao relativno nova tehnologija, a znanstvena istraživanja do sada potvrđuju da je obećavajuća jer je brza, održiva, sigurna i niskorizična metoda koja doprinosi povećanju prinosa u proizvodnji (Jiang i sur., 2014). "Niskorizična" u ovom kontekstu znači da metoda ima minimalne štetne posljedice za okoliš te da je sigurna za upotrebu u kontekstu prehrambene proizvodnje, smanjujući rizik od kontaminacije ili štetnih učinaka na biljke i tlo. Zhao i sur. (2020) u svom pregledu pokazuju kako ova tehnologija ima potencijal za uspješnu upotrebu u prehrambenoj industriji, jer je osim za klijanje sjemena i rast biljaka, njena potencijalna primjena moguća i u dekontaminaciji površina različitih prehrambenih proizvoda poput voća, povrća, mesa i plodova mora. Ovaj diplomski rad ima za cilj istražiti utjecaj plazma aktivirane vode (PAW) na klijanje i rast četiri različite vrste sjemena: ječma, pšenoraži, zobi i konoplje, čime se nastoji proširiti razumijevanje potencijala PAW kao održive alternative u prehrambenoj industriji.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Morfološka obilježja i primjena odabranih vrsta u različitim industrijama

Ječam (*Hordeum vulgare* L.), pšenoraž (*Triticosecale*), zob (*Avena sativa* L.) i konoplja (*Cannabis sativa* L.) pripadaju pododjeljku kritosjemenjača (*Magnoliophytina* ili *Angiospermae*). Prema tradicionalnoj klasifikaciji, žitarice kao što su ječam, pšenoraž i zob, pripadaju jednosupnicama (*Monocotyledoneae*) unutar porodice trava (*Poaceae*) (Pospišil, 2010). S druge strane, tradicionalna klasifikacija svrstava konoplju u dvosupnice (*Dicotyledoneae*) unutar porodice *Cannabaceae* (Augustinović, 2016).

S obzirom na različite morfološke i biološke karakteristike, pri uzgoju biljaka koristi se različita agrotehnika, ali je i njihova primjena u konačnici različita. Tako se promatraju kao industrijska i krmna bilja. Prema Augustinoviću (2016) industrijsko bilje se dijele na uljarice, prediva bilja, biljke za proizvodnju šećera, škroba i alkohola te ostala industrijska bilja. U kategoriju prediva bilja spada konoplja. Ostale žitarice kao što su ječam, pšenoraž i zob, klasificiraju se kao škrobne zrnate usjeve (Pospišil, 2010).

2.1.1. Ječam

Morfološki, ječam se sastoji od korijena, seminalnog i nodijalnog (adventivnog) tkiva, stabljike (vlat), listova i klasa. Korijen je najslabije razvijen dio biljke među svim strnim žitaricama i ima manju sposobnost upijanja hranjivih tvari. Seminalno korijenje se razvija tijekom klijanja zrna, prodire u tlo, grana se i na njemu se razvijaju korijenove dlačice koje povećavaju površinu korijena za upijanje vode i hranjivih tvari. Nodijalno korijenje se razvija naknadno u fazi busanja, iako nije nužno. Razvoj ovog dijela biljke ovisi o tipu i dubini tla, dostupnosti hranjivih tvari, tipu ječma, ali i vodi. Cilindrična stabljika sastoji se od šupljih internodija (najčešće 5-7) razdvojenih čvrstim nodijima, gdje se na svakom nodiju razvija jedan list. Broj stabljika (1-6) ovisi o gustoći sjetve, sorti i uvjetima okoline. Stabljika u pravilu nosi od 5 do 10 listova, a najvažniju ulogu u nalijevanju zrna imaju dva gornja lista. List se sastoji od plojke, uški, jezičca i lisnog rukavca koji daje mehaničku čvrstoću stabljici. Klas je cvjetni skup ječma koji se razvija na vrhu stabljike i sastoji se od klasića pričvršćenih na nodije klasnog vretena. Svaki klasić sastoji se od cvjetića i dvije pljeve. Sastavni dio cvjetića, obuvenac, obično sadrži osje koje imaju značajnu ulogu u fazi zriobe radi pravilnog odvođenja vode iz zrna (Pospišil, 2010). Pri sjetvi ječma potrebno je koristiti certificirano sjeme, sijati ga na dubinu od 3 do 5 cm, pri čemu

je poželjno birati krupnije frakcije sjemena. Za ozime sorte, idealno vrijeme za sjetvu je između 1. i 10. listopada, s ciljem završetka sjetve do 15. listopada. Broj klijavih sjemenki po kvadratnom metru za ozime sorte varira od 300 do 500. Sjetva jarog ječma treba početi što ranije, idealno između početka veljače i sredine ožujka, s normom sjetve od 350 do 500 klijavih zrna po kvadratnom metru. Pravovremena sjetva, bilo jesenska ili rana proljetna, ključna je za postizanje visokih prinosa. Žetva ozimog ječma obično se događa oko osam dana prije žetve pšenice, dok se žetva jarog preklapa s kasnim sortama pšenice. Žetvu treba obaviti kada vlaga zrna padne ispod 14 %, pogotovo kada je u pitanju pivarski ječam (Hrgović, 2006).

Prema Pospisil (2010) najvažnija primjena ječma je u hranidbi stoke i pivarskoj industriji, ali se koristi i u proizvodnji alkohola, sladnog ekstrakta, u farmaceutskoj industriji, pekarstvu, tekstilnoj industriji, kao i u proizvodnji škroba i ulja. Ječam se također koristi kao stočna hrana i kao sirovina u proizvodnji slada i pića, poput piva i žestica (Baik i Ullrich, 2008). Postoje izvještaji o mogućnosti upotrebe tek proklijalog sjemena ječma u pivarstvu i pekarstvu, što zahtijeva daljnje literaturno potvrđivanje (Agu i Palmer, 1997). Mehaničko obrubljivanje ječma uklanja vanjske slojeve zrna, olakšavajući klijanje i poboljšavajući kvalitetu slada za pivarstvo. Klijanje aktivira enzime koji pretvaraju škrob u šećere, ključne za fermentaciju u pivu i teksturu kruha.

Primjena fitohormona giberelina tijekom klijanja poboljšava enzimsku aktivnost, omogućujući bolju konverziju škroba i razvoj glutena. Na taj način klijanje ječma doprinosi kvaliteti kruha jer aktivirani enzimi, poput amilaze, razgrađuju škrob u jednostavne šećere, koji su ključni za hranjenje kvasca tijekom fermentacije, čime se poboljšavaju volumen i tekstura kruha. Osim toga, enzimska aktivnost i primjena fitohormona potiču razvoj glutena, proteina odgovornog za elastičnost tijesta, što rezultira boljom strukturom i poroznošću kruha. Klijanje također doprinosi boljoj konzistenciji i aromi kruha jer proizvodi melanoidine koji su odgovorni za smeđi pigment i bogatiji okus. Dodatno, proklijali ječam povećava nutritivnu vrijednost kruha zbog povećanja sadržaja vitamina B skupine, antioksidansa i vlakana, čineći kruh zdravijim i bogatijim hranjivim tvarima. Smanjuje se i prisutnost anti-nutritivnih spojeva, poput fitata, koji mogu ometati apsorpciju minerala, čime se poboljšava probavljivost kruha i povećava dostupnost važnih minerala poput željeza i cinka (Whole grains council, 2024). Otpad koji nastaje tijekom proizvodnje slada i piva može se iskoristiti kao stočna hrana ili u proizvodima koji nisu namijenjeni prehrani, čime se smanjuje problem otpada. Raznolikost kultivara ječma, posebno onih s posebnim vrstama škroba ili visokim udjelom proteina i lizina, omogućuje njihovu upotrebu u proizvodnji modificiranog škroba i žitarica s poboljšanim nutritivnim

vrijednostima (Pomerant i Shands, 2009). Najprikladnije sorte ječma za pivarsku industriju su dvoredne sorte zbog specifičnog oblika klasa, dok su višeredne sorte češće korištene u stočarstvu. Osim morfoloških razlika između stočarskog i pivarskog ječma, postoje i značajne razlike u fiziološkim karakteristikama i sortnim svojstvima, kao i u principima gnojidbe dušikom. Pivarski ječam mora ispuniti određene kvalitativne zahtjeve za proizvodnju slada, uključujući niski sadržaj bjelančevina, koji ne smije premašiti 10%. Povećana dostupnost dušika može dovesti do većeg sadržaja bjelančevina u sjemenu, stoga je važno kod pivarskog ječma provoditi kontroliranu gnojidbu dušičnim gnojivima kako bi se regulirao njegov sadržaj (Hrgović, 2006).

2.1.2. Pšenoraž

Pšenoraž (x *Triticale*) nastaje križanjem pšenice (*Triticum*) i raži (*Secale*), stvarajući žitaricu koja kombinira određene karakteristike obiju vrsta. Kao rezultat hibridizacije, pšenoraž posjeduje aminokiselinski sastav koji je poboljšana u odnosu na raž, dok energetska vrijednost ostaje slična pšenici (Pospišil, 2010). Zahvaljujući značajnoj količini enzima fitaze, pšenoraž se smatra boljim izvorom biodostupnog fosfora u usporedbi s drugim žitaricama, što ga čini korisnim u prehrani životinja. Intenzivno busanje i brzi proljetni rast ovih sorti doprinose zasjenjivanju tla, što smanjuje rast korova i smanjuje potrebu za upotrebom herbicida. Ove karakteristike čine pšenoraž atraktivnom opcijom za održivo poljoprivredno gospodarstvo (Pospišil, 2010). Pšenoraž se odlikuje visokom otpornošću prema niskim temperaturama i, zahvaljujući izraženoj sposobnosti stanica da u citoplazmi zadržavaju vodu, prisustvu voštane prevlake na biljkama i dobro razvijenom žiličastom korijenovom sustavu, ima veliku otpornost prema suši (Marjanović, 2017). Stabljika je slabije čvrstoće u odnosu na pšenicu i sorte s višom stabljikom imaju veću opasnost od polijeganja. Izduženi listovi sporije odumiru u usporedbi s ostalim žitaricama pa duže traje faza formiranja i nalijevanja zrna. Cvat je sastavljen od klasnog vretena i klasića dok je plod zrno ili pšeno (Pospišil, 2010). Uzgoj uključuje ozime, fakultativne i jare varijante pšenoraži. Rad na oplemenjivanju započeo je u Bc Institutu ranih 1990-ih. Prva registrirana ozima sorta, Bc Goran, pojavila se 2004. godine. Uspjeh u oplemenjivanju potvrdila je registracija sorte Bc Ranko 2010. godine, dok su 2019. godine priznate sorte Bc Trenk i Bc Zmaj. Sorta Bc Trenk odlikuje se ranošću vegetacije, niskom stabljikom i izvrsnom otpornošću na bolesti pšenoraži (Maričević i sur., 2021). Što se tiče sjetve, optimalan je rok od 1. do 20. listopada, a potrebna je gustoća sjetve 200-550 klijavih zrna/m², ovisno o sorti. Dubina sjetve je 4-6 cm, a međuredni razmak 12,5-15 cm. Žetva pšenoraži obavlja se na prelasku iz voštane

u punu zriobu, najčešće u prvoj polovici srpnja. Žetva se preporučuje obaviti kada vlaga zrna padne na približno 13% (otprilike pri kraju žetve pšenice). Prinosi pšenoraži mogu biti iznimno visoki (iznad 7,0 t/ha) uz odgovarajuću agrotehniku (Međimurec, 2018).

Glavna upotreba pšenoraži je u svrhu hranidbe stoke. Također se koristi za proizvodnju škroba, alkohola i slada u industriji piva te kao jedna od sirovina za dobivanje bioetanol, što je posebno važno u kontekstu održive energetike (Pospišil, 2010). Prema Mergoum i Gomez-Macpherson (2004) prvobitna ideja uzgoja pšenoraži bila usmjerena na razvoj kulture koja zadržava hranjivu vrijednost pšenice, ali je otpornija na okolišne stresove poput raži. Međutim, pokazalo se kako je urod nove kulture nešto slabiji od očekivanog. S obzirom da se na oplemenjivanu pšenoraži radi kraći vremenski period nego što je to bio slučaj na drugim usjevima čija je selekcija trajala i do 1000 godina. Prema predviđanjima nekih autora pšenoraž će u budućnosti biti sve više interesantnija uzgajivačima i krajnjim korisnicima zbog rastuće potražnje za prehrambenim resursima i svijesti o okolišu (McGoverin i sur., 2011). Pšenoraž je otporna na okolišne stresove, što joj omogućava uzgoj na područjima gdje bi druge žitarice teško uspijevale. Ova otpornost smanjuje potrebu za agrokemijskim tretmanima, što direktno doprinosi očuvanju okoliša. Brzi rast i sposobnost busanja pomažu u prirodnom suzbijanju korova, što dovodi do manje upotrebe herbicida i pesticida, smanjujući tako kemijski otisak poljoprivrede. Korištenje pšenoraži za proizvodnju bioetanol, obnovljivog izvora energije, pomaže u smanjenju ovisnosti o fosilnim gorivima i smanjuje emisiju stakleničkih plinova, što dodatno doprinosi ekološkoj održivosti. Kontinuirani rad na oplemenjivanju pšenoraži može dodatno poboljšati njezine genetske osobine i ekološku prihvatljivost. Selekcija otpornijih sorti može umanjiti potrebu za agrokemijskim intervencijama, čime se dodatno smanjuje negativan utjecaj poljoprivredne proizvodnje na okoliš. Sve ove prednosti čine pšenoražu privlačnom opcijom za ekološki osviješteno poljoprivredno gospodarstvo, dok rastuća globalna svijest o važnosti zaštite okoliša potiče sve veću popularnost pšenoraži među uzgajivačima i potrošačima.

2.1.3. Zob

Zob (*Avena sativa* L.) je žitarica koja razvija sekundarno korijenje, dok primarno korijenje ima tri ili četiri korjenčića koji se napredovanjem rasta zamjenjuju sekundarnim. Zob posjeduje vrlo razvijen korijenski sustav koji joj omogućava efikasno apsorbiranje hranjivih tvari, što rezultira dobrim učinkom čak i na osiromašenim i kiselim tlima s pH vrijednostima nižim od 4,5 (Hrgović, 2006). Stabljika zobi je glatka, šuplja i dosta osjetljiva na polijeganje. Listovi su lancetasti i zašiljeni, a njihova veličina varira ovisno o klimatskim uvjetima. Cvat zobi čini

metlica sastavljena od više grančica koje nose klasiće (Pospišil, 2010). Zob ima veću potrebu za vodom tijekom svog vegetacijskog ciklusa u usporedbi s drugim žitaricama, što može biti ograničavajući faktor za uzgoj na pjeskovitim tlima, osobito u područjima s malo padalina.

Sjetva zobi započinje što je ranije moguće, obično između kraja veljače i sredine ožujka, preferirajući nešto vlažnije tlo. Standardna praksa je korištenje žitnih sijačica s razmakom redova od 8 do 12 cm i dubinom sjetve od 2 do 3,5 cm. Važno je koristiti certificirano sjeme visoke kvalitete i krupnoće. Za jaru zob uobičajena je gustoća sjetve od oko 500 klijavih sjemenki po kvadratnom metru (Hrgović, 2006). Žetva zobi može biti izazovna zbog neujednačenog sazrijevanja, što otežava određivanje idealnog trenutka za žetvu. Trebalo bi je obaviti kada su vršni dijelovi metlice potpuno zreli, ali prije nego što zrna počnu otpadati. Jaru zob žanje se nakon žetve pšenice, dok se ozima zob žanje prije. Prinosi zobi obično variraju između 3,5 i 4,5 tona po hektaru, iako uz odgovarajuću agrotehniku mogu biti znatno veći (Hrgović, 2006).

Prema Pospišil (2010) zob je zbog svoje dobre probavljivosti vrlo značajna u hranidbi ne samo životinja, već i ljudi. Zob pomaže snižavanju razine kolesterola u krvi, povećava imunitet i pokazuje diuretska svojstva. Zob se prilagodila širokom rasponu tipova tla i klimatskih uvjeta te se smatra najvažnijim zimskim krmnim usjevom zbog svoje pogodnosti za višestruko rezanje (Dangi, 2021). Ova žitarica se dobro uklapa u poljoprivredne sustave za osiguravanje kvalitetne i obilne hrane tijekom zimskih mjeseci. Zob je također vrhunski izvor hrane za konje i koristi se ne samo u obliku zrna, već i u svježem stanju ili u kombinaciji sa leguminozama za ishranu stoke. Sadrži više masti i probavljivih proteina od zrna drugih žitarica. Zobena slama, koja je superiornija od slame drugih žitarica za ove svrhe, korisna je za dodavanje volumena stočnoj hrani (Hrgović, 2006).

2.1.4. Konoplja

Industrijska konoplja (*Cannabis sativa* subsp. *Indica* L.) je dvodomna biljka koja ima različite morfološke karakteristike ovisno o spolu. Kao biljka je višestruko iskoristiva, a zbog karakteristika njezinih vlakana, kao što su čvrstoća, elastičnost, dugotrajnost i otpornost na vodu (Augustinović, 2016). Gagro (1998) opisuje biljku konoplje kao dobro prilagođenu tlu i klimi mijenjanjem svojih morfoloških i fizioloških osobina. Posjeduje vretenasti korijenski sustav gdje korijenje prvog reda omogućava razvoj korijenja drugog reda, stvarajući gustu mrežu korijenskog sustava. Korijen ženskih biljaka bolje je razvijen od muških, što je značajno jer ženske biljke ishranjuju sjeme do dozrijevanja i stoga trebaju više vode i hranjivih tvari

(Gagro, 1998). Stabljika konoplje u početku je nježna i zeljasta, a kasnije očvršne i postane drvenasta te je uspravna. Udio vlakana u biljci ovisi o kultivaru, području uzgoja, tipu tla, klimi i primijenjenoj agrotehnici, pri čemu su poželjne visoke i tanke stabljike jer one imaju veći udio vlakana. List se sastoji od peteljke i plojke, a listovi ženskih biljaka su obično krupniji od listova muških biljaka. Cvjetovi su raspoređeni u gornjoj trećini biljke i formiraju cvat (Augustinović, 2016). Sjetva konoplje provodi se žitnim sijačicama s međurednim razmakom od 12,5 do 30 cm i na dubinu od 2 do 4 cm, ovisno o vrsti tla. Tlo prije sjetve treba biti dobro pripremljeno i slegnuto, a ponekad se preporučuje i valjanje nakon sjetve kako bi se osigurao bolji kontakt sjemena s tlom. Potrebna količina sjemena je 30-40 kg po hektaru. Za sjetvu se koriste jednodomne sorte iz Francuske i Mađarske koje su na sortnoj listi EU, poput sorti Fedora 17, Kc Dora, Felina 32, Santhica 27, Finola i Epsilon 68. Idealno vrijeme za sjetvu je sredinom travnja, otprilike 4-5 dana prije sjetve kukuruza, a sjetva može trajati do početka svibnja, ovisno o vremenskim uvjetima (Tresk Penezić, Bogović, 2016). Žetva konoplje obavlja se kada je 60-70% sjemena zrelo, idealno specijaliziranim kombajnom, iako se često koristi i žitni kombajn. Tijekom žetve važno je prilagoditi brzinu i postavke kombajna kako bi se izbjeglo otpadanje sjemena i mogućnost zagrijavanja te samozapaljenja zbog vlakana koja se namataju na dijelove kombajna. Prinosi sjemena variraju između 0,5 i 1,0 t/ha, s prosječnim prinosom oko 0,7 t/ha (Tresk Penezić i Bogović, 2016).

Kao važna prediva kultura, konoplja se ističe zbog svoje višestruke iskoristivosti. Augustinović (2016) navodi da iz konoplje može proizaći preko 25 000 različitih proizvoda, uključujući užad, konopce, jedra, platna, cerade, šatore, ribarske mreže i vatrogasne cijevi. Posebno se ističe njena prednost u proizvodnji papira koji se može reciklirati čak 7 do 8 puta, za razliku od običnog papira koji se reciklira do 3 puta. Konoplja se također koristi u automobilske industriji i za proizvodnju potpuno biorazgradive plastike. Konoplji se pripisuju i nutritivne vrijednosti zbog esencijalnih masnih kiselina i tokoferola, zbog čega se konopljino ulje koristi u prehrambenoj, kemijskoj i farmaceutskoj industriji. Njena upotreba sve je češća u liječenju i ublažavanju tegoba pri različitim oboljenjima. Gagro (1998) navodi da nakon ekstrakcije ulja mehaničkim postupkom prešanja, ostaju uljne pogače koje predstavljaju vrlo vrijedne koncentrate hrane za životinje. Konoplja također služi kao odlična predkultura za većinu drugih ratarskih kultura zbog svoje agrotehničke vrijednosti, poboljšavajući plodnost i prozračnost tla te uklanjajući teške metale. Gusti sklop biljaka štiti tlo od erozije. Industrijska konoplja sadrži nizak postotak tetrahidrokanabinola (THC), obično manje od 0,2% u suhoj tvari, dok nezrele sjemenke mogu imati viši postotak. Sadržaj THC-a može varirati ovisno o agroklimatskim uvjetima. Za razliku

od industrijske, indijska konoplja koja sadrži između 5-20% THC-a, zabranjena je za sjetvu u Hrvatskoj i njena primjena ograničena je na medicinske svrhe (Tresk Penezić i Bogović, 2016).

2.2. Suša

Suša se javlja kada je količina padalina manja od stope isparavanja i transpiracije, što rezultira deficitom vode u određenim područjima za određeno razdoblje. Definira se kao fenomen koji proizlazi iz interakcije određenih klimatskih varijabli poput oborina, temperature zraka, vlažnosti tla, isparavanja i transpiracije (Raham i sur., 2016). Svjetska meteorološka organizacija sušu definira kroz produljeni izostanak ili naglašeni deficit oborina te nedostatak vode potrebne za opskrbu, ljudske aktivnosti i okoliš. Nastanak suše može biti uzrokovan nedostatkom oborina, ali i krčenjem šuma koje potiče eroziju te negativno utječe na površinske i podzemne zalihe vode i protok vode u rijekama i potocima. Prekomjerno iskorištavanje također doprinosi degradaciji tla i smanjenju njegove sposobnosti da skladišti i zadržava vodu. Procjena rizika od katastrofa za Republiku Hrvatsku pokazuje da će porast temperatura zraka značajno utjecati na povećanje temperatura mora, kopnenih i podzemnih voda, te tla. Kao posljedica, očekuje se viša stopa isparavanja što dovodi do smanjenja podzemnih voda, razina jezera i rijeka, te vlažnosti tla, rezultirajući češćim i intenzivnijim sušama, posebice u regijama kao što su Mediteran, središnja Europa i Balkan, gdje suša ima ozbiljne posljedice na poljoprivredu i opskrbu vodom (Blauhut i sur., 2022).

Suša je jedan od glavnih uzročnika gubitka usjeva na globalnoj razini, što rezultira značajnim gubicima prinosa u pojedinim regijama svijeta, čak do 50%. Ako se suša pojavi i održi tijekom rane faze razvoja biljke, poput klijanja i rane faze rasta, štete za komercijalni sektor mogu biti značajne (Amaghrabi, 2012). U Republici Hrvatskoj, najštetnija je ljetna suša u istočnim krajevima tijekom srpnja i kolovoza, kada su temperature zraka najviše, što dodatno utječe na transpiraciju vode iz biljaka. Ovo je posebno izraženo u kontinentalnim dijelovima Hrvatske gdje su zabilježeni značajni porasti površina pogođenih sušom, kao i povećane stope godišnjih pojava suše, posebice na šestomjesečnoj i dvanaestomjesečnoj razini Standardnog indeksa evapotranspiracije oborina (SPEI) (Lončar-Petrinjak i Cindrić Kalin, 2024).

2.2.1. Suša kao globalni problem

Prema definiciji znanstvene organizacije NASA, suša je period neobično dugog trajanja suhog perioda. Uzrokuje ju smanjena količina padalina kroz dulji vremenski period što uzrokuje štete na usjevima ili ometa opskrbu biljaka vodom. Prema uzročniku koji izaziva sušu, razlikujemo:

meteorološku, hidrološku sušu i agronomsku sušu (Hooshyaripor i sur., 2022). Meteorološka suša nastaje kada je količina oborina na određenom području manja od prosjeka. Hidrološka suša pak označava situaciju kada zbog smanjene količine oborina opskrba vodom je otežana, što uključuje manje oborina koje uzrokuju smanjenu vlažnost tla, smanjenje razine površinskih voda i voda temeljnica. Konačno, agronomska suša je posljedica interakcije prethodno navedenih uzročnika, a ogleda se u otežanom provođenju agronomskih aktivnosti. Raham i sur. (2016) navode da je oko 28% poljoprivrednih svjetskih površina pogođeno sušom koja nastaje kao posljedica prekomjerne proizvodnje stakleničkih plinova. Takvi sušni uvjeti stvaraju urbane i polupustinjske teritorije, ali i povećavaju potražnju za vodom u poljoprivredne i potrošačke svrhe.

Zagrijavanje planeta se bilježi od 1950-ih godina kao posljedica emisije stakleničkih plinova, posebno ugljičnog dioksida, koji zadržava sve veće količine solarne energije u atmosferi. To zadržavanje energije utječe na temperature vode i kretanje morskih struja, što dovodi do topljenja ledenjaka i smanjenja ukupne količine ledenog pokriva. Klimatske promjene utječu na povećanje razine pare u atmosferi što može dovesti do jačih kiša, ali i do jačih suša, posebice u Europi gdje se već svjedoči brojnim ekstremnim poplavama i sušama. Vrući val "Lucifer" koji je pogodio južne regije Europe tijekom 2017. godine izazvao je temperature od preko 40 °C, što je prouzročilo gubitke života, suše i požare, istaknuvši važnost razvoja strategija za prilagodbu i smanjenje rizika od budućih ekstremnih vremenskih događaja (European Environment Agency, 2024).

Suša se također smatra jednim od najrazornijih čimbenika abiotičkog stresa u svijetu, koji ima direktan ogroman utjecaj na gospodarstvo i ekonomiju (Marthandan i sur., 2020). U Hrvatskoj suša predstavlja prirodnu nepogodu koja uzrokuje najveće ekonomske gubitke (Perčec Tadić i sur., 2014). Predviđa se da će do 2050. godine oko 50% obradivih površina biti pogođeno negativnim učincima ovog stresnog čimbenika pod stresom suše (Kasim i sur., 2013; Trenberth i sur., 2015).

2.2.2. Učinak suše na biljku

Prema Svečnjak (2023) rani znakovi nedostatka vode u usjevu se mogu opaziti već za vrijeme ranog vegetativnog rasta kulture. Biljke reagiraju uvijanjem listova kako bi se smanjila njihova izloženost sunčevim zrakama i minimizirao gubitak vode. Trajanjem sušnih perioda biljke zaostaju u razvoju, listovi postaju manji što dovodi do inhibicije fotosinteze i smanjene sposobnosti nalijevanja zrna. Morfološke, fiziološke i biokemijske promjene koje suša izaziva

u biljkama uključuju uvrtnje lisne površine, inhibiciju rasta izdanaka i korijena, te smanjenje biomase izdanaka i korijena. Također, smanjuje se broj puči, događa se zadebljanje staničnih stijenki lista, intenzivira se odlaganje epikutikularnog voska i pojava senescence prije sazrijevanja (Ahmad i sur., 2016; Marthandan i sur., 2020). Povećano i produljeno zatvaranje puči tijekom osvjetljenja dovodi do fotorespiracije što uzrokuje akumulaciju kisika i dovodi do pojave oksidativnog stresa. Ovaj stres rezultira hiperprodukcijom reaktivnih kisikovih čestica (ROS), koje mogu izazvati oštećenje proteina, lipida i DNA molekula (Kosar i sur., 2015; Liu i sur., 2016).

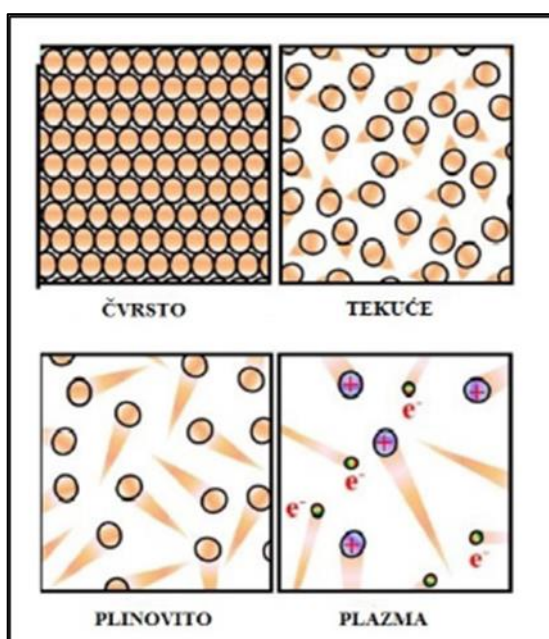
Na staničnoj razini, suša izaziva osmotski stres koji uzrokuje pad turgora, što rezultira dehidracijom stanica. To dovodi do inhibicije sinteze funkcionalnih i strukturalnih proteina, kao i do njihove denaturacije. Osim toga, povećanje ROS narušava integritet biomembrana smanjujući njihovu fluidnost i selektivnu propusnost za prijenos tvari i signala iz okoline (Kosar i sur., 2015; Liu i sur., 2016). Ovi podaci jasno ukazuju na složenost i ozbiljnost utjecaja suše na biljke, te potrebu za daljnjim istraživanjima i razvojem strategija za ublažavanje tih učinaka.

2.3. Tehnologija hladne plazme

Pojam „plazma“ prvi puta je spomenut 1928. godine, a uveo ga je američki fizičar Irving Langmuir (Bora i sur., 2022). Plazma je četvrto stanje materije, uz čvrsto, tekuće i plinovito stanje, koje se stvara dodavanjem energije neutralnom plinu. Plazma se često opisuje kao "ionizirani plin" i može se generirati različitim metodama, uključujući visokonaponska električna pražnjenja, mikrovalnu energiju i lasersko zagrijavanje. Radi se o inovativnom pristupu u brojnim primijenjenim sektorima. Tehnologija je ekološki prihvatljiva, odnosno ne zahtijeva primjenu (ili u manjoj mjeri) opasnih kemikalija, visoko je učinkovita u obradi i dezinfekciji materijala te pokazuje široke mogućnosti primjene od raznim industrijama, od sterilizacije u medicini do tretiranja biljaka i algi u smislu veće produktivnosti biomase ili ciljne skupine metabolita (Olatunde i sur., 2021).

Općenito, razlikujemo termalnu i hladnu plazmu ("cold plasma" ili "non-thermal plasma"). Termalna plazma nastaje izlaganjem plina vrlo visokim temperaturama (>20 000 K) pri čemu su sve reaktivne čestice, elektroni i ioni u termodinamičkoj ravnoteži i imaju slične temperature. Suprotno, hladna plazma, nastaje pod utjecajem visokoelektričnog naponskog pražnjenja pri sobnoj temperaturi, elektroni imaju visoke energije, a ioni i neutralne čestice su na nižim temperaturama, odnosno ne nalaze se u termodinamičkoj ravnoteži (Afshari i Hosseini, 2014).

Hladna plazma je ionizirani ili djelomično ionizirani plin koji se sastoji od nabijenih čestica (elektrona i iona), radikala (singletni kisik [$1O_2$], superoksidni anion [O_2^-], kation atmosferskog dušika [N_2^+], radikal dušikovog [$NO\cdot$], fotona i neutralnih čestica atoma i molekula u osnovnom ili pobuđenom stanju (**Slika 1**) (Afshari i Hosseini, 2014; Stoica i sur., 2014). Plazma nastaje ionizacijom plina (dušika, kisika, argona, helija i dr.) ili smjese plinova (zrak) pomoću električnog polja. Nabijene čestice koje tada nastaju osiguravaju veću električnu provodljivost i pokazuju izrazitu tendenciju stupanja u različite kemijske reakcije (Fridman, 2008). Jiang i sur. (2022) navode i antimikrobna svojstva plazme. Naime, osim reaktivnih čestica tijekom generiranja plazme oslobađa se UV svjetlost koja uzrokuje stvaranje timinskih dimera, modifikaciju dušičnih baza u nukleotidima, te oksidaciju nukleotida što ometa proces replikacije DNA molekule patogenih organizama. ROS i RNS u PAW uzrokuju lipidnu peroksidaciju u staničnim membranama te razaraju međumolekulske veze u peptidoglikanima membrana bakterijskih stanica čime one postaju disfunkcionalne (Zhang i sur., 2013).



Slika 1 Agregatna stanja vode (Vojvoda, 2019).

2.3.1. Plazma aktivirana voda (Plasma Activated Water, PAW)

Kada se voda izloži djelovanju hladne plazme nastaje plazma aktivirana voda (PAW) u kojoj su generirane različite reaktivne čestice kisika (ROS) i dušika (RNS). PAW sadrži relativno malu koncentraciju kratkoživućih ROS i RNS čestica, ali sadrži veći udio stabilnih dušikovih i kisikovih čestica koje ne predstavljaju opasnost za biljku (Sarinont i sur., 2017). Vodikov

peroksid (H_2O_2), ozon (O_3), nitrati (NO_3^-) i nitriti (NO_2^-) su relativno stabilne, dugoživuće čestice čije vrijeme poluraspada iznosi od nekoliko minuta do nekoliko dana (Wong i sur., 2023). S druge strane, nestabilne čestice kao što su hidroksil radikal ($\cdot\text{OH}$) i peroksinitril (ONOO^-) imaju vrlo kratki životni vijek koji iznosi svega 1 nanosekundu do nekoliko sekundi prije nego što se konvergiraju u stabilne čestice (Tarabova i sur., 2019).

Kako je spomenuto ranije, hladna plazma se generira korištenjem izvora energije kao što su visok napon, mikrovalna energija te radio frekvencija koji ioniziraju plin koji se upuhuje direktno u vodu ili iznad njezine površine. U vodi, slobodni elektroni primaju energiju iz električnog polja koje nastaje između dviju elektroda. Takvi visokoenergizirani elektroni stupaju u interakciju s drugim molekulama, kisikom ili ionima koji stupaju u veliki broj fizikalno-kemijskih interakcija unutar medija. Zbog povećane koncentracije iona i slobodnih čestica, PAW ima veću gustoću i veću električnu vodljivost. Također, površinska napetost PAW je manja zbog povećane električne vodljivosti, ali i interakcije NO_3^- iona (koji je prisutan u znatnijoj količini u PAW) s vodikovim vezama u molekuli vode u slučaju kada se NO_3^- ioni nalaze na granici zrak-tekućina (Petersen i Saykally, 2005).

Za razliku od netretirane vode, pH vrijednost PAW je niža, a s vremenskim povećanjem duljine tretiranja opada. No, uslijed dovoljno dugog vremena izlaganja vode električnom polju, brzina redukcije pH vrijednosti se usporava te se postiže trajnije „steady-state“ stanje. Pri neutralnoj pH vrijednosti, koncentracije H_2O_2 , NO_2^- , NO_3^- i ONOO^- u PAW mogu ostati stabilne. Konačno, pri niskoj kiselosti PAW ($\text{pH} < 3.5$) ROS i RNS postaju nestabilne i međusobno reagiraju, a kao rezultat tih nespecifičnih interakcija koncentracija reaktivnih čestica je promjenjiva (Kutasi i sur., 2021; Wong i sur., 2023).

2.3.2. PAW u biološkim istraživanjima

Potencijal PAW u biološkim istraživanjima primarno se ogleda u indukciji klijavosti i rasta. Nadalje, optimalne koncentracije ROS reguliraju metabolizam fitohormona i utječu na metaboličke procese u biljkama. Tijekom generiranja PAW dolazi do emisije UV svjetlosti koja, zajedno s reaktivnim česticama kao što su H_2O_2 , $\cdot\text{NO}$, NO_3^- i $\cdot\text{OH}$, inducira pojačanu biosintezu hormona rasta (giberelina) te pojačanu aktivnost enzima uključenih u katabolizam ABA hormona koji je glavni regulator dormantnosti sjemena (Grainge i sur., 2022). Kao rezultat promjena u omjeru giberelina i ABA, prekida se fiziološka dormancija, a takvo sjeme pokazuje bolju klijavost.

Važno je naglasiti kako povećana koncentracija ROS može uzrokovati oksidacijski stres koji inhibira klijanje i rast, stoga primjena PAW u različitim biljnih vrsta zahtijeva individualizirani pristup (Fan i sur., 2020). Međutim, sve je više dokaza koji pokazuju pozitivan učinak PAW u biološkim istraživanjima. Primjerice, Jiang i sur. (2022) ističu kako je primjena PAW inducirala rast stabljike heljde, dok je klijavost u PAW tretiranog sjemena bila 1,12 puta veća od netretiranog. U istom istraživanju, izdanci izloženi PAW tretmanu imali veći udio vode, aminokiselina i reduciranih šećera, dok su proteini, ugljikohidrati i sirove masti pokazivali trend pada.

U rotkvice i ječma, primjena PAW uz dodatak N₂ kao radnog plina potaknula je klijanje te rast stabljike (Vojvoda, 2019). Slično je uočeno u papra (Japundžić-Palenkić i sur., 2023), rotkvice i rajčice (Sivachandiran i Khacef, 2017) te graška (Rathore i sur., 2022). Nadalje, presadnice sorte kupusa (Brgujski kupus) tretirane PAW pokazale su izraženiji vegetativni rast što otvara mogućnost korištenja PAW nad tradicionalnim načinom uzgoja kupusa (Ibrišević, 2022).

Pozitivan učinak PAW na morfološke pokazatelje i količinu klorofila uočen je u zelene salate (Than i sur., 2022), kukuruza (Škarpa i sur., 2020) i kineskog kupusa (Javed i sur., 2023). Zbog povećane koncentracije klorofila boja listova je intenzivnija, a stopa fotosinteze povećana što doprinosi cjelokupnom zdravlju jedinke. U šampinjona, upotreba PAW inhibirala je proces tamnjenja (browning) te očuvala organoleptička svojstva (Zheng i sur., 2022), dok je u listovima bosiljka koncentracija ukupnih flavonoida i antioksidativnih komponenti bila značajno povećana nakon tretmana (Abarghuei i sur., 2021).

U duhana, tretman PAW uzrokovao je povećanu ekspresiju giberelin-3-oksidaze i ekspanzina A4, gena uključenih u proces klijanja i rasta (Grainge i sur., 2022). Konačno, primjena PAW kao izvor nitrata u hidroponskom uzgoju zelene salate inducirala je biosintezu esencijalnih aminokiselina te povećala ukupnu biomasu (Ruamrungsri i sur., 2023).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Zadatak

Eksperimentalni dio rada sastojao se iz dva dijela. U prvom postavu praćen je učinak dvaju PAW predtretmana (PAW bez upuhivanja plinova (PAW) i PAW+dušik (PAW+N₂)) na morfometrijske parametre zobi i konoplje, pšenoraži i ječma na kontroli (0) i uvjetima suše (PEG). Na temelju rezultata 1. postava, selektirane su biljne vrste u kojih je predtretman PAW+N₂ bio najuspješniji. U 2. postavu, na sjemenu ječma i pšenoraži je ispitan učinak PAW uz dodatak struje zraka (PAW+Z) na kontroli (0) i uvjetima suše (PEG).

Zadaci ovog rada bili su sljedeći:

1. postav:

- Provjeriti postoje li razlike u morfometrijskim parametrima konoplje, zobi, pšenoraži i ječma između PAW i PAW+N₂ predtretmana pod kontrolnim uvjetima i u uvjetima suše.
- Istražiti vijabilnost sjemena zobi i konoplje prethodno tretiranog PAW i PAW+N₂ nakon četiri dana u kontrolnim uvjetima.

2. postav:

- Provjeriti postoje li razlike u morfometrijskim parametrima pšenoraži i ječma između PAW i PAW+Z predtretmana pod kontrolnim uvjetima i suši.
- Istražiti vijabilnost sjemena pšenoraži i ječma prethodno tretiranog PAW i PAW+N₂, kao i PAW+Z, nakon devet dana u kontrolnim uvjetima.
- Provjeriti fizikalno-kemijska svojstva tretirane vode (PAW, PAW+N₂ i PAW+Z).

3.2. Materijali i metode

Za potrebe istraživanja korišteno je sjeme konoplje (Futura 83; Organica Vita, RH), ozimi genotip zobi (Bc Martina), ozimi genotip ječma (Bc Vedran) te ozima pšenoraž (Bc Trenk). Zob, ječam i pšenoraž pripadaju Bc Institutu Rugvica d. d.

3.2.1. Uzgoj biljnog materijala

Postupak uzgoja biljnog materijala bio je identičan za sve vrste i sve tretmane. Na dno prozirnih posudica (20 cm x 15 cm x 3 cm) postavljen je dvoslojni filter papir koji je namočen s 12 mL dH₂O (kontrola) (**Slika 2**). Za izazivanje suše korištena je 15% otopina polietilen glikola (PEG-6000) u istom volumenu. Potom je na namočen filter papir za svaku vrstu posebno dodano sjeme na način da su sjemenke međusobno bile na podjednako udaljenosti. Broj sjemenki koji se naklijavao po jednoj posudici iznosio je 56 za konoplju, dok je za pšenoraž, ječam i zob iznosio 36 sjemenki. U svakom postavu za svaku vrstu korišteno je po tri posudice za svaki tretman i kombinaciju tretmana. Nakon naklijavanja posudice sa sjemenkama su odložene u tamu, tijekom 48 sati, s time da je sjeme konoplje zbog sporije dinamike rasta bilo izloženo tami tijekom četiri dana. Potom su biljke izložene djelovanju umjetnoj svjetlosti (80 μmol fotona $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$), fotoperiodu 12 sati dan/12 sati noć i temperaturi 23 ± 2 °C. Kod svakog postava je rađeno zalijevanje po potrebi.



Slika 2 Naklijavanje sjemenki ječma

Fotografirala: T. Pajić

3.2.2. Predtretman sjemena plazmom aktiviranom vodom (PAW)

Plazmom aktivirana voda (PAW) dobivena je korištenjem uređaja za stvaranje visokonaponskog električnog pražnjenja (HVED), gdje su elektrode bile postavljene na međusobnoj udaljenosti od 1 cm, s naponom od 30 kV, uz stalno miješanje (**Slika 3**). Postupak tretiranja bio je jednak za sve PAW tretmane (PAW, PAW+N₂ i PAW+Z), a sjeme svake biljne vrste tretirano je pojedinačno. Sjemenke (20 g) su bile potopljene u dH₂O (600 mL) te izložene djelovanju PAW 30 sekundi pri frekvenciji 30 Hz. Tijekom stvaranja PAW uz dotok dušika (PAW+N₂) i zraka (PAW+Z), upuhivanje plina bilo je konstantno (2 Lmin⁻¹). Kontrolu je predstavljalo sjeme koje je tijekom cijelog postupka bilo uronjeno u dH₂O. Kontrolno i tretirano sjeme je ocijeđeno, posušeno na papirnatom ubrusu nakon čega korišteno za naklijavanje.



Slika 3 Uređaj za stvaranje PAW

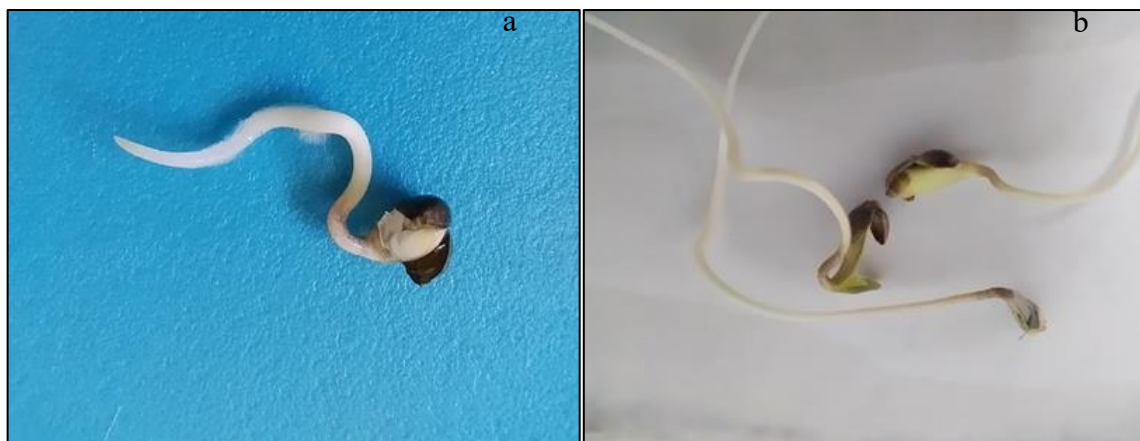
Fotografirala: T. Pajić

3.2.3. Određivanje germinacije i praćenje rasta

Na svim postavima klijavost je praćena svakog dana. S obzirom da je svaka vrsta imala drugačiju dinamiku rasta, kao kriterij za klijavost smatrana je prva pojava korjenčića duljeg od 1 mm (**Slike 4a i 4b**). Postotak germinacije (G) izračunat je prema formuli (Thabet i sur., 2018):

$$G(\%) = \frac{n}{N} * 100$$

Gdje je n broj proklijalih sjemenki, a N ukupan broj sjemenki u posudi. Duljine korijena i izdanka mjerene su ravnalom. Za svaku posudu i tretman odabrano je deset reprezentativnih uzoraka radi mjerenja.



Slika 4 Odbacivanje supki sjemenki konoplje (a) i pojavnost izdanka (b) nakon 4. dana uzgoja.

Fotografirala: T. Pajić

3.2.4. Praćenje morfometrijskih parametara PAW tretiranog sjemena s vremenom

U 1. postavu, sjeme zobi i konoplje nakon tretiranja u PAW i PAW+N₂ (vidi pododlomak 3.2.2.), posušeno je i čuvano u tami četiri dana pri sobnoj temperaturi. Potom je sjeme naklijano u posudice (zob 20 sjemenki/posudici; konoplja 56 sjemenki/posudici), a klijanje i rast zabilježeni su 4. dana rasta (vidi pododlomak 3.2.1.) (**Slika 5**). U 2. postavu, sjeme ječma i pšenoraži nakon tretiranja PAW, PAW+N₂ i PAW+Z posušeno je i čuvano u tami devet dana pri sobnoj temperaturi. Broj sjemenki po posudici za ječam bio je 20, a za pšenoraž 15. Svi tretmani rađeni su u optimalnim uvjetima (kontrola) u tri ponavljanja.



Slika 5 Praćenje rasta sjemena konoplje

Fotografirala: T. Pajić

3.2.5. Određivanje električne vodljivosti i pH vrijednosti različitih PAW tretmana

Nakon tretiranja sjemenki ječma i pšenoraži na različitim PAW tretmanima (PAW, PAW+N₂ i PAW+Z) (vidi pododlomak 3.2.2.) sjeme je procijeđeno, a dobivena tekućina upotrijebljena je za mjerenje električne vodljivosti prije i nakon PAW tretmana, dok je pH vrijednost određena samo nakon tretmana. Mjerenja električne vodljivosti i pH vrijednosti određena su pri sobnoj temperaturi (**Slike 6a** i **6b**). Električna vodljivost uzorka izračunata je prema Tong i sur. (2014).

$$EC = \frac{C_{uz.} - C_{s.p.}}{\text{masa } 50 \text{ sjemenki}} [\mu S/cm \cdot g]$$

gdje je:

EC = električna vodljivost,

C uz. = vodljivost uzorka,

C s.p. = vodljivost slijepe probe.



Slika 6 Prikaz mjerenja električne vodljivosti (a) i pH vrijednosti (b) otopina tretiranih različitim PAW postupcima.

Fotografirala: T. Pajić

3.3. Statistička obrada podataka

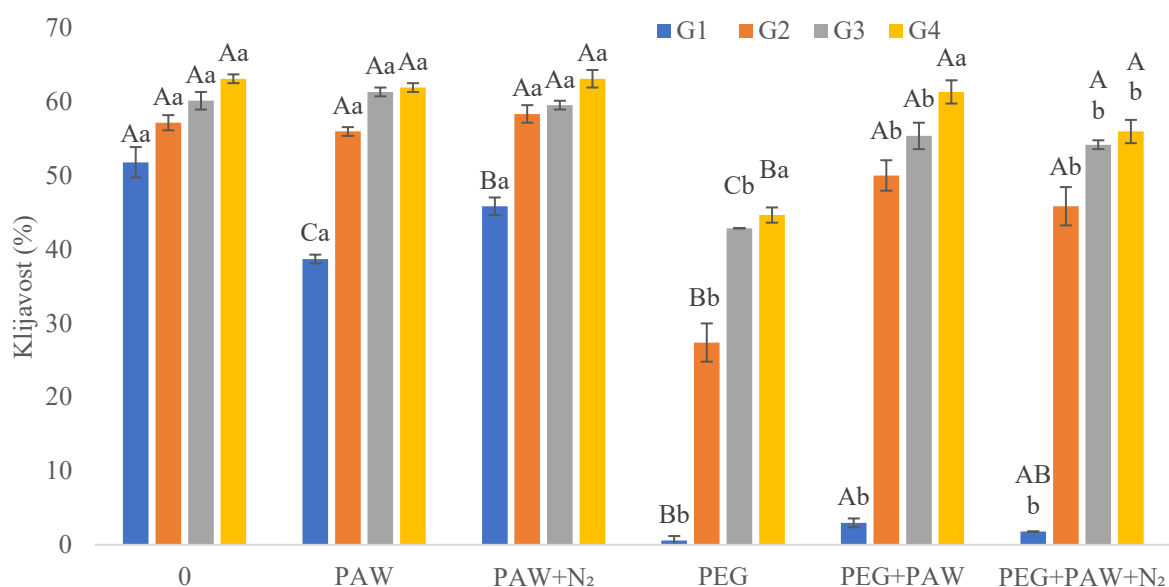
Podatci su obrađeni korištenjem jednofaktorijalne analize varijance (One-Way ANOVA). Za utvrđivanje statistički značajnih razlika između genotipova i tretmana korišten je Tukey HSD test pomoću statističkog programa (Statistica 14.0.0.15) ($P \leq 0.05$).

4. REZULTATI

4.1. Učinak PAW obogaćene dušikom (PAW+N₂) na morfometrijske parametre

4.1.1. Klijavost i rast konoplje na kontroli i uvjetima suše

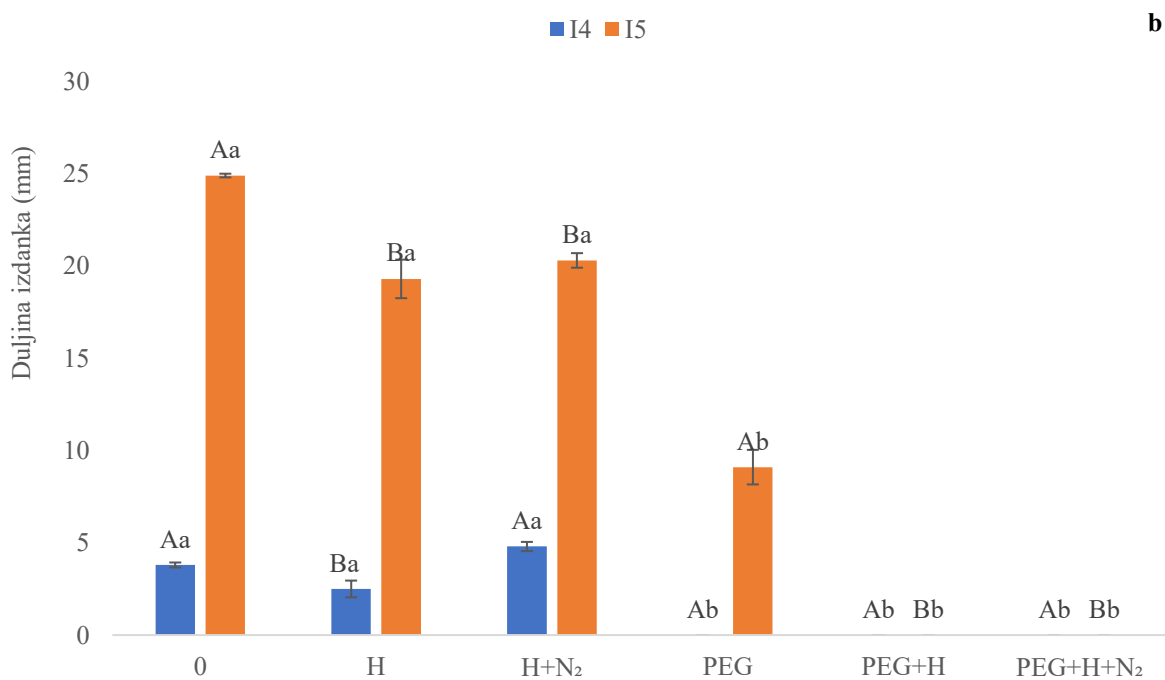
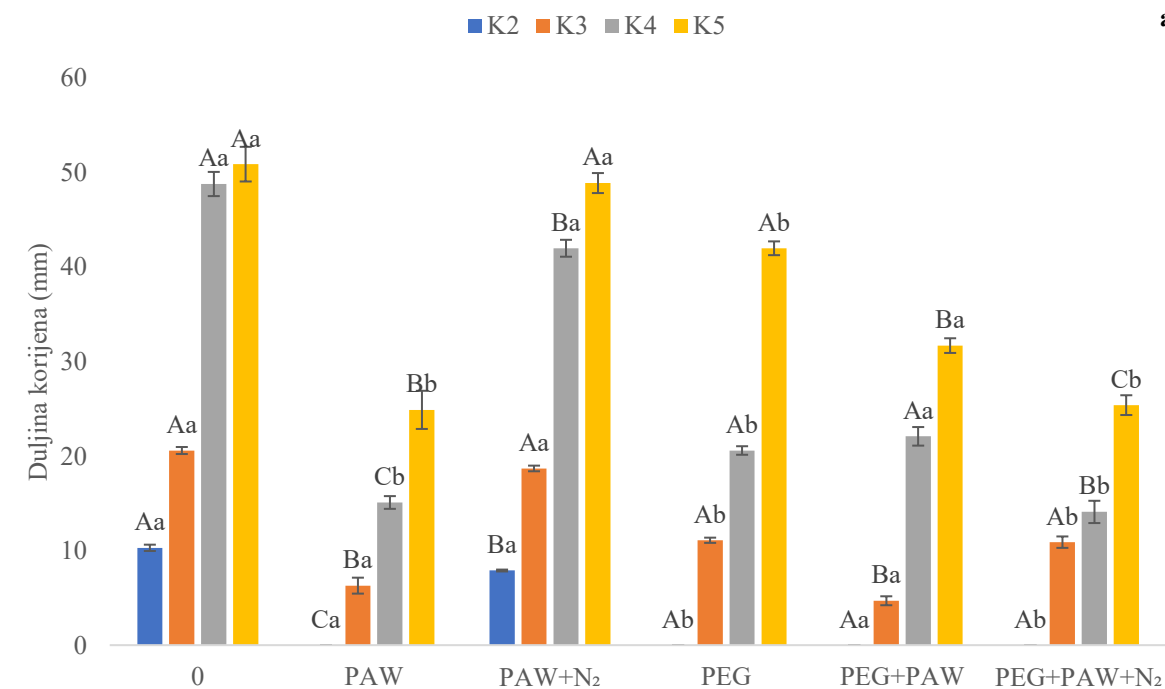
Primjena suše djelovala je inhibitorno na klijavost i rast. Naime, postotak klijavosti, duljina korijena i izdanka su se značajno smanjili na svim tretmanima suše (PEG, PEG+PAW i PEG+PAW+N₂) u odnosu na pripadajuće kontrole (0, PAW i PAW+N₂) (Slike 7, 8a i 8b). Rezultati pokazuju značajnije veću klijavost netretiranog sjemena (0) i sjemena tretiranog s PAW+N₂ nakon 1. dana uzgoja na kontroli u odnosu na sjeme tretirano PAW (Slika 7). S druge strane, na suši oba PAW tretmana (PEG+PAW i PEG+PAW+N₂) inducirala su veću klijavost u odnosu na netretirano sjeme (PEG) u svim vremenskim točkama.



Slika 7 Klijavost netretiranog sjemena konoplje (0), predtretiranog sjemena (PAW) i predtretiranog sjemena uz dotok dušika (PAW+N₂). Tretmani bez suše: 0, PAW i PAW+N₂; suša: PEG, PEG+PAW, PEG+PAW+N₂; Brojčane vrijednosti kod slova „G“ označavaju broj dana rasta. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost 3 ponavljanja ± standardna devijacija (S.D.) Velika slova iznad stupaca označavaju statistički značajne razlike između predtretmana (0, PAW i PAW+N₂) na jednom tretmanu (0 ili PEG) za jednu vremensku točku, dok mala slova označavaju razlike između različitih tretmana (0 i PEG) na istom predtretmanu (0, PAW ili PAW+N₂).

U optimalnim uvjetima korijen netretiranog sjemena i sjemena tretiranog PAW+N₂ bio je značajno dulji nego korijen sjemena tretiranog PAW u svim vremenskim točkama dok je u uvjetima suše primjena oba PAW tretmana reducirala rast korijena u odnosu na netretirano sjeme (PEG) (Slika 8a). Uspoređujući rast korijena između kontrole i suše, vidljivo je da je

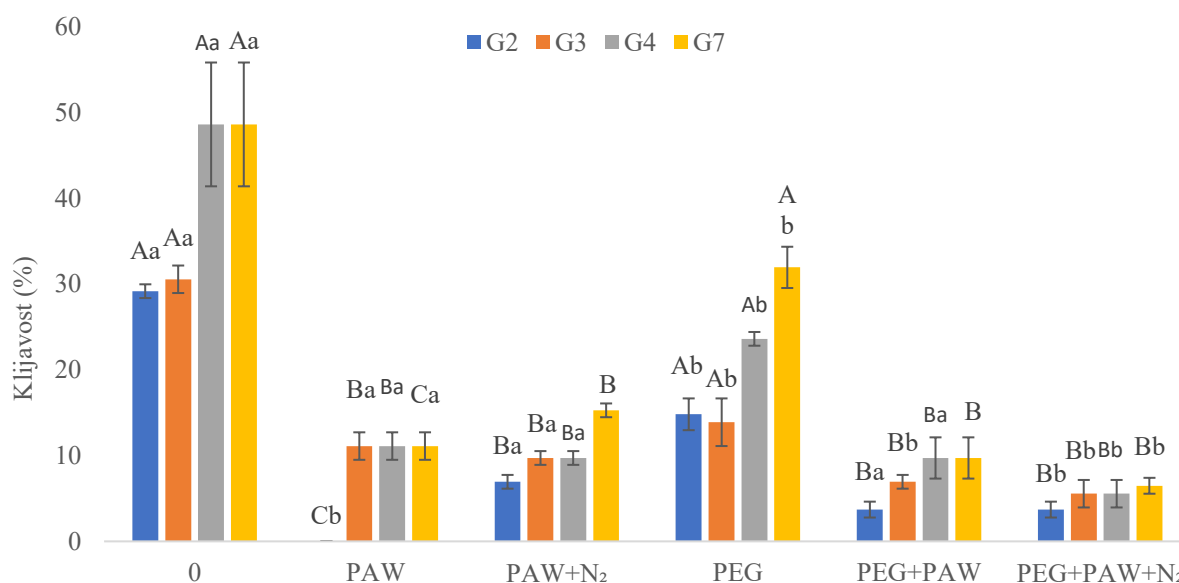
korijen sjemena tretiranog PEG+PAW bio dulji od sjemena tretiranog PAW u 4. i 5. danu uzgoja. Suprotno, nakon 5. dana izdanci koji su rasli na suši (PEG) bili su dulji od izdanaka uzgajanih na PAW tretmanima (**Slika 8b**).



Slika 8 Rast korijena (a) i izdanka (b) netretiranog sjemena konoplje (0), predtretiranog sjemena (PAW) i predtretiranog sjemena uz dotok dušika (PAW+N₂). Tretmani bez suše: 0, PAW i PAW+N₂; suša: PEG, PEG+PAW, PEG+PAW+N₂; Brojčane vrijednosti kod slova „K“ ili „I“ označavaju broj dana rasta. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost 3 ponavljanja ± standardna devijacija (S.D.) Velika slova iznad stupaca označavaju statistički značajne razlike između predtretmana (0, PAW i PAW+N₂) na jednom tretmanu (0 ili PEG) za jednovremensku točku, dok mala slova označavaju razlike između različitih tretmana (0 i PEG) na istom predtretmanu (0, PAW ili PAW+N₂).

4.1.2. Klijavost i rast zobi na kontroli i uvjetima suše

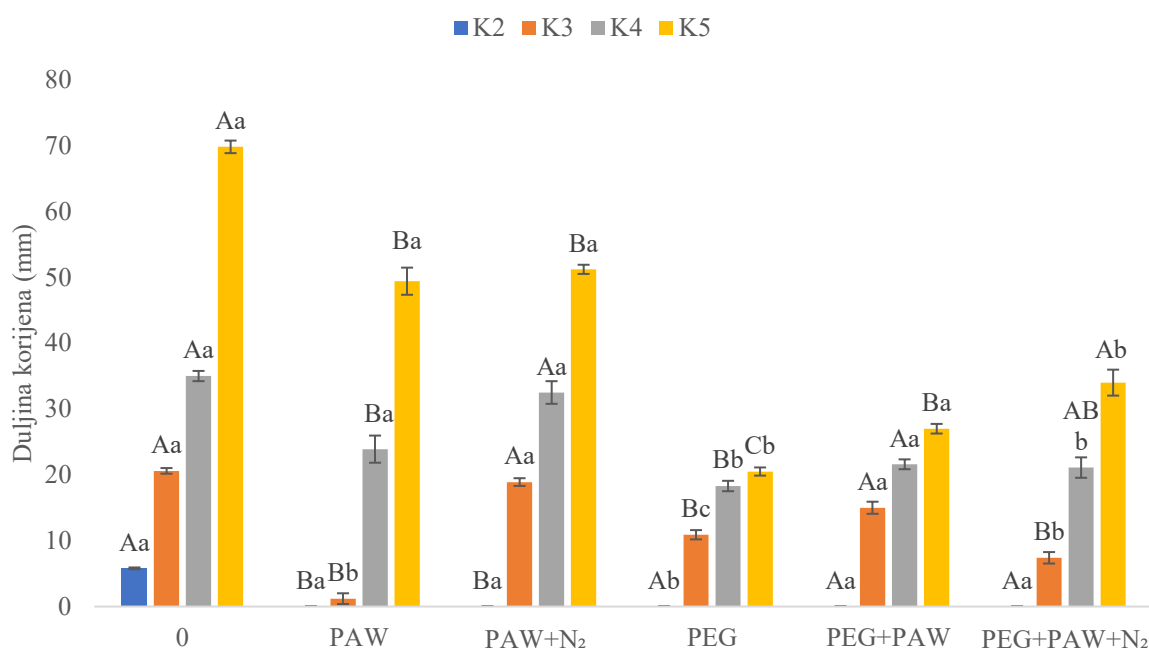
Biljke zobi koje su uzgajane na suši (PEG, PEG+PAW i PEG+PAW+N₂) pokazale su značajnu redukciju klijavosti te kraći korijen i izdanak u odnosu na odgovarajuće kontrolne biljke (0, PAW i PAW+N₂) (Slike 9, 10 i 11). Netretirano sjeme zobi (0) imalo je značajno veću klijavost u odnosu na tretirano sjeme (PAW i PAW+N₂) u kontrolnim uvjetima. Ista pojava uočena je i na suši (Slika 13).



Slika 9 Klijavost netretiranog sjemena zobi (0), predtretiranog sjemena (PAW) i predtretiranog sjemena uz dotok dušika (PAW+N₂). Tretmani bez suše: 0, PAW i PAW+N₂; suša: PEG, PEG+PAW, PEG+PAW+N₂; Brojčane vrijednosti kod slova „G“ označavaju broj dana rasta. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost 3 ponavljanja ± standardna devijacija (S.D.) Velika slova iznad stupaca označavaju statistički značajne razlike između predtretmana (0, PAW i PAW+N₂) na jednom tretmanu (0 ili PEG) za jednu vremensku točku, dok mala slova označavaju razlike između različitih tretmana (0 i PEG) na istom predtretmanu (0, PAW ili PAW+N₂).

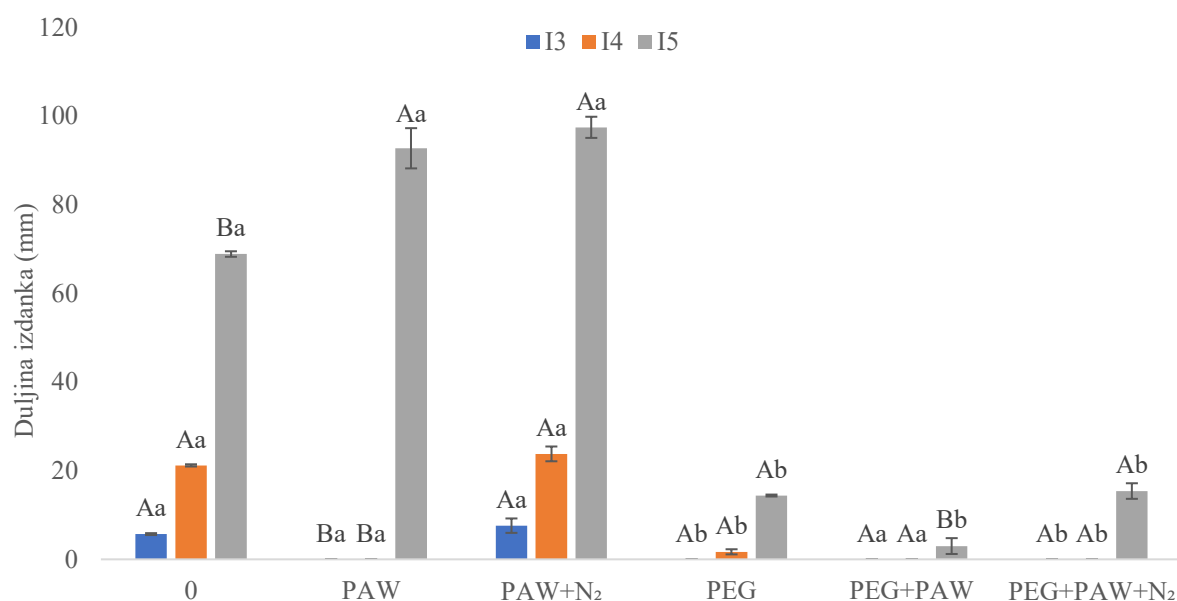
U kontrolnim uvjetima korijen netretiranog sjemena (0) bio je značajno dulji (K2, K5) ili jednak (K3, K4) od korijena sjemena tretiranog na oba PAW (Slika 10). Pozitivan učinak predtretmana na duljinu korijena je bio vidljiv na suši. Naime, oba PAW tretmana na suši (PEG+PAW i

PEG+PAW+N₂) potakla su rast korijena, dok je korijen koji je rastao na PEG pokazao redukciju rasta (K4, K5). Za istaknuti je kako je nakon 3. i 4. dana (K3 i K4) predtretman sjemena s PAW bio značajno bolji (PEG+PAW), nego pretretman uz dodatak dušika (PEG+PAW+N₂). Suprotno, u posljednjoj vremenskoj točki (K5) korijen sjemena tretiranog dušikom (PEG+PAW+N₂) bio je dulji korijena čije je sjeme bilo tretirano bez dodatka dušika (PEG+PAW).



Slika 10 Rast korijena netretiranog sjemena zobi (0), predtretiranog sjemena (PAW) i predtretiranog sjemena uz dotok dušika (PAW+N₂). Tretmani bez suše: 0, PAW i PAW+N₂; suša: PEG, PEG+PAW, PEG+PAW+N₂; Brojčane vrijednosti kod slova „K“ označavaju broj dana rasta. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost 3 ponavljanja ± standardna devijacija (S.D.) Velika slova iznad stupaca označavaju statistički značajne razlike između predtretmana (0, PAW i PAW+N₂) na jednom tretmanu (0 ili PEG) za jednu vremensku točku, dok mala slova označavaju razlike između različitih tretmana (0 i PEG) na istom predtretmanu (0, PAW ili PAW+N₂).

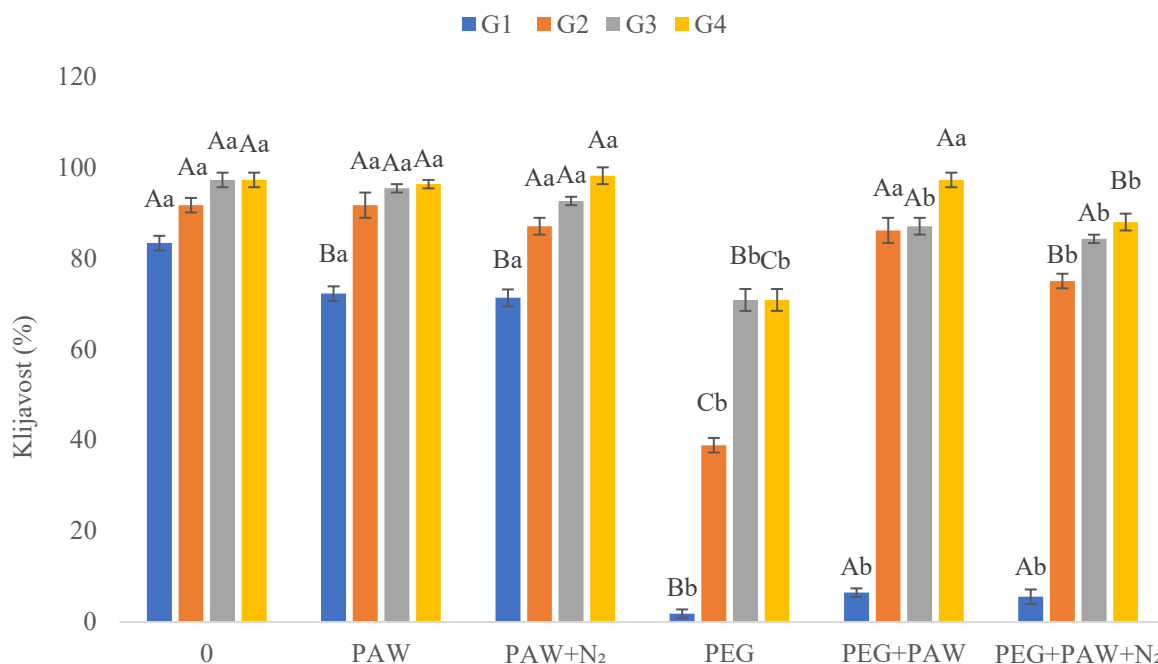
U ranijim vremenskim točkama (I3, I4) izdanak sjemena tretiranog PAW bio je kraći od izdanaka netretiranog sjemena (0) i sjemena tretiranog strujom dušika (PAW+N₂) na kontroli (Slika 11). Kasnije, nakon 5. dana oba predtretmana sjemena (PAW i PAW+N₂) potaknuli su brži rast izdanka u odnosu na izdanak netretiranog sjemena (0). Na suši duljina korijena je bila značajno manja u sjemena tretiranog PAW (PEG+PAW) u odnosu na netretirano sjeme (PEG) i tretirano uz upuhivanje dušika (PEG+PAW+N₂).



Slika 11 Rast izdanka netretiranog sjemena zobi (0), predtretiranog sjemena (PAW) i predtretiranog sjemena uz dotok dušika (PAW+N₂). Tretmani bez suše: 0, PAW i PAW+N₂; suša: PEG, PEG+PAW, PEG+PAW+N₂; Brojčane vrijednosti kod slova „I“ označavaju broj dana rasta. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost 3 ponavljanja ± standardna devijacija (S.D.) Velika slova iznad stupaca označavaju statistički značajne razlike između predtretmana (0, PAW i PAW+N₂) na jednom tretmanu (0 ili PEG) za jednu vremensku točku, dok mala slova označavaju razlike između različitih tretmana (0 i PEG) na istom predtretmanu (0, PAW ili PAW+N₂).

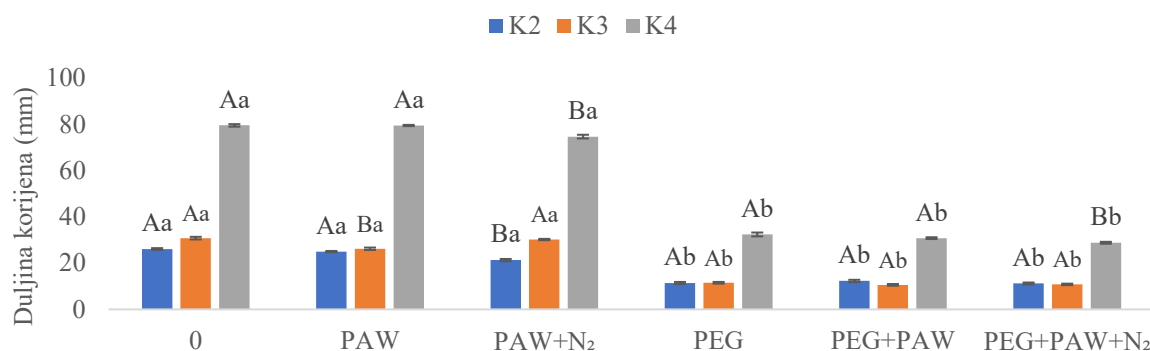
4.1.3. Klijavost i rast pšenoraži na kontroli i uvjetima suše

Biljke kontrolnih tretmana (0, PAW, PAW+N₂) imale su višu klijavost i bolji rast korijena i izdanka u odnosu na tretmane sa sušom (PEG, PEG+PAW, PEG+PAW+N₂) u svim vremenskim točkama (Slike 12, 13 i 14). Oba PAW predtretmana na suši (PEG+PAW, PEG+PAW+N₂) pokazala su veći postotak klijavosti nego netretirano sjeme (PEG) u svim promatranim točkama.



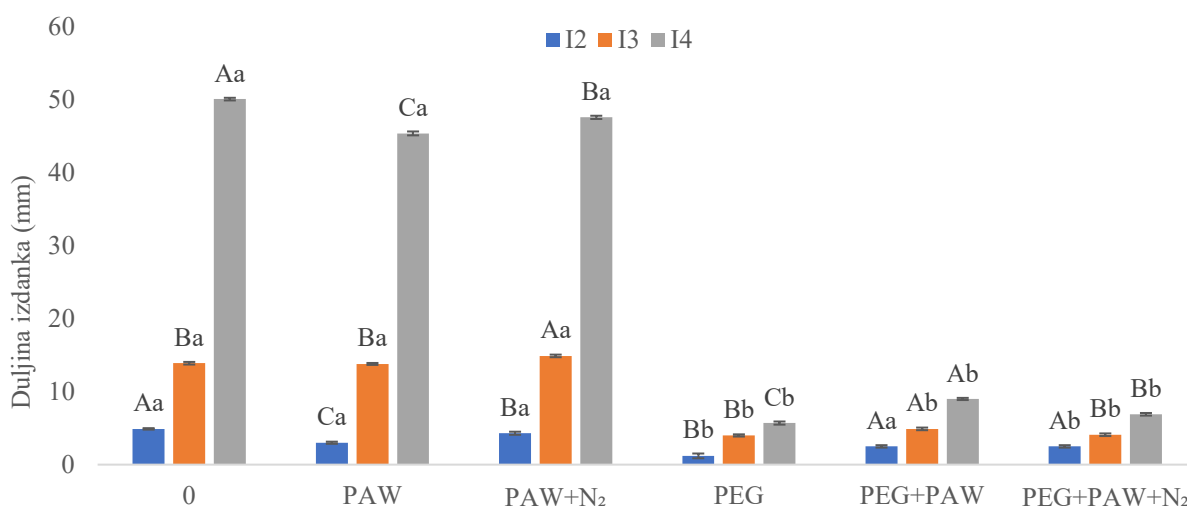
Slika 12 Klijavost netretiranog sjemena pšenoraži (0), predtretiranog sjemena (PAW) i predtretiranog sjemena uz dotok dušika (PAW+N₂). Tretmani bez suše: 0, PAW i PAW+N₂; suša: PEG, PEG+PAW, PEG+PAW+N₂; Brojčane vrijednosti kod slova „G“ označavaju broj dana rasta. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost 3 ponavljanja ± standardna devijacija (S.D.) Velika slova iznad stupaca označavaju statistički značajne razlike između predtretmana (0, PAW i PAW+N₂) na jednom tretmanu (0 ili PEG) za jednu vremensku točku, dok mala slova označavaju razlike između različitih tretmana (0 i PEG) na istom predtretmanu (0, PAW ili PAW+N₂).

Korijen sjemenki tretiranih s dotokom dušika (PAW+N₂) i korijen netretiranih sjemenki (0) bio je značajno dulji nakon 3. dana nego što je to u slučaju PAW gdje je duljina korijena bila manja (**Slika 13**). Suprotno, u 2. i 4. danu rasta, primjena PAW bez dotoka dušika (PAW) kao i tretman bez PAW (0) značajno je ubrzala rast korijena u odnosu na sjeme tretirano PAW+N₂. Na suši, netretirano sjeme (PEG) i sjeme tretirano PAW (PEG+PAW) imalo je dulji korijen (K4) od sjemena tretiranog PAW+N₂.



Slika 13 Rast korijena netretiranog sjemena pšenoraži (0), predtretiranog sjemena (PAW) i predtretiranog sjemena uz dotok dušika (PAW+N₂). Tretmani bez suše: 0, PAW i PAW+N₂; suša: PEG, PEG+PAW, PEG+PAW+N₂; Brojčane vrijednosti kod slova „K“ označavaju broj dana rasta. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost 3 ponavljanja ± standardna devijacija (S.D.) Velika slova iznad stupaca označavaju statistički značajne razlike između predtretmana (0, PAW i PAW+N₂) na jednom tretmanu (0 ili PEG) za jednu vremensku točku, dok mala slova označavaju razlike između različitih tretmana (0 i PEG) na istom predtretmanu (0, PAW ili PAW+N₂).

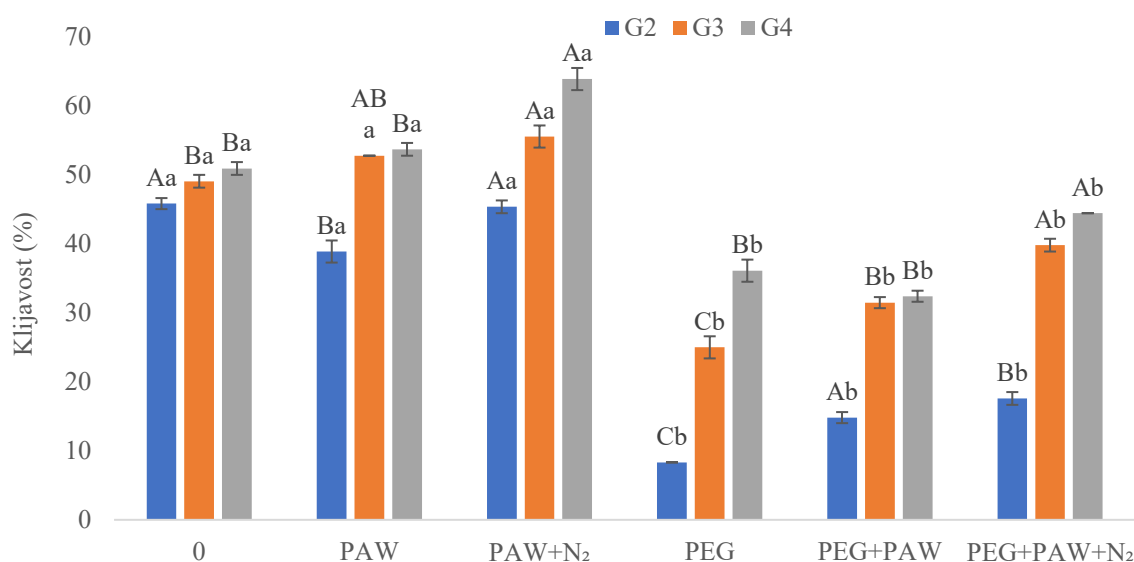
Duljina izdanka netretiranog sjemena (0) u nestresnim uvjetima bila je značajno najveća, dok je izdanak bio najkraći u sjemena tretiranog PAW u svim promatranim točkama (I2, I3 i I4) (Slika 14). Promovirajući učinak na rast izdanka zabilježen je u uvjetima stresa. Naime, primjena oba PAW tretmana (PEG+PAW i PEG+PAW+N₂) stimulirala je rast izdanka u odnosu na izdanak koji je bio izložen suši (PEG) u svim promatranim točkama (I2-I4).



Slika 14 Rast izdanka netretiranog sjemena pšenoraži (0), predtretiranog sjemena (PAW) i predtretiranog sjemena uz dotok dušika (PAW+N₂). Tretmani bez suše: 0, PAW i PAW+N₂; suša: PEG, PEG+PAW, PEG+PAW+N₂; Brojčane vrijednosti kod slova „I“ označavaju broj dana rasta. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost 3 ponavljanja ± standardna devijacija (S.D.) Velika slova iznad stupaca označavaju statistički značajne razlike između predtretmana (0, PAW i PAW+N₂) na jednom tretmanu (0 ili PEG) za jednu vremensku točku, dok mala slova označavaju razlike između različitih tretmana (0 i PEG) na istom predtretmanu (0, PAW ili PAW+N₂).

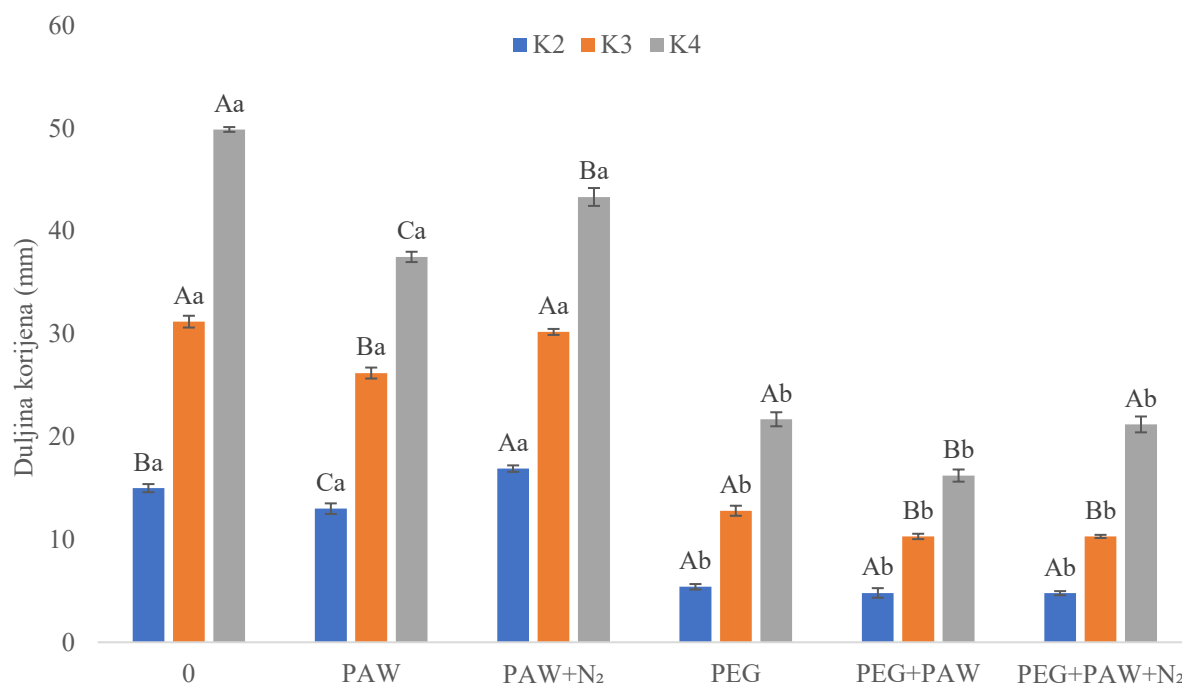
4.1.4. Klijavost i rast ječma na kontroli i uvjetima suše

Biljke kontrolnih tretmana (0, PAW, PAW+N₂) imale su višu klijavost i bolji rast korijena i izdanka u odnosu na tretmane sa sušom (PEG, PEG+PAW, PEG+PAW+N₂) u svim vremenskim točkama (Slike 15, 16 i 17). U kasnijim vremenskim točkama (G3 i G4) aplikacija oba PAW tretmana (PAW i PAW+N₂) u optimalnim uvjetima, potaknula je povećanje postotka klijavosti u odnosu na netretirano sjeme (Slika 15). Isti trend primijećen je i na suši, na kojoj je predtretman sjemena dušikom (PAW+N₂) pokazao najveći postotak klijavosti u odnosu na PEG i PEG+PAW sjeme.



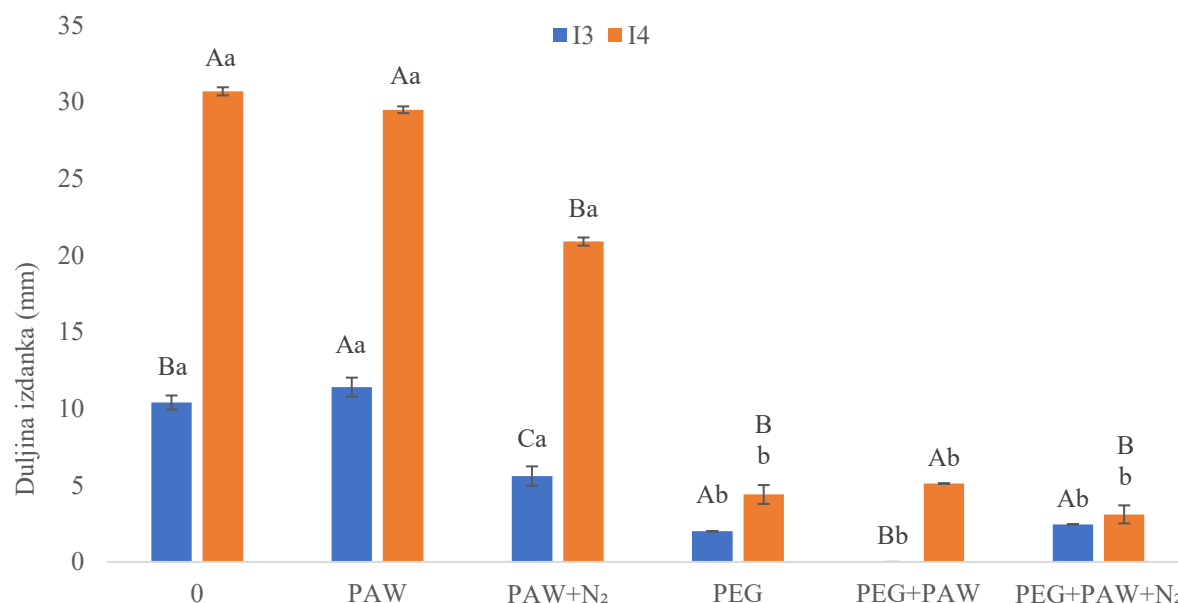
Slika 15 Klijavost netretiranog sjemena ječma (0), predtretiranog sjemena (PAW) i predtretiranog sjemena uz dotok dušika (PAW+N₂). Tretmani bez suše: 0, PAW i PAW+N₂; suša: PEG, PEG+PAW, PEG+PAW+N₂; Brojčane vrijednosti kod slova „G“ označavaju broj dana rasta. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost 3 ponavljanja ± standardna devijacija (S.D.) Velika slova iznad stupaca označavaju statistički značajne razlike između predtretmana (0, PAW i PAW+N₂) na jednom tretmanu (0 ili PEG) za jednu vremensku točku, dok mala slova označavaju razlike između različitih tretmana (0 i PEG) na istom predtretmanu (0, PAW ili PAW+N₂).

U optimalnim uvjetima sjeme tretirano PAW uz dotok dušika (PAW+N₂) imalo je najdulji izdanak, dok je korijen sjemena tretiranog s PAW bio najkraći (Slika 16). Nasuprot tomu, na suši primjena bilo kojeg PAW tretmana (PEG+PAW i PEG+PAW+N₂) reducirala je duljinu korijena.



Slika 16 Rast korijena netretiranog sjemena ječma (0), predtretiranog sjemena (PAW) i predtretiranog sjemena uz dotok dušika (PAW+N₂). Tretmani bez suše: 0, PAW i PAW+N₂; suša: PEG, PEG+PAW, PEG+PAW+N₂; Brojčane vrijednosti kod slova „K“ označavaju broj dana rasta. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost 3 ponavljanja ± standardna devijacija (S.D.) Velika slova iznad stupaca označavaju statistički značajne razlike između predtretmana (0, PAW i PAW+N₂) na jednom tretmanu (0 ili PEG) za jednu vremensku točku, dok mala slova označavaju razlike između različitih tretmana (0 i PEG) na istom predtretmanu (0, PAW ili PAW+N₂).

Primjena PAW uz dotok dušika (PAW+N₂) reducirala je rast izdanka (I3 i I4) u odnosu na kontrolu (0) i tretman bez dotoka dušika (PAW) (Slika 17). Također, nakon 4. dana rasta u uvjetima suše, izdanak sjemena tretiranog s PAW (PEG+PAW) bio je dulji nego u sjemenki raslih pri PEG i PEG+PAW+N₂.

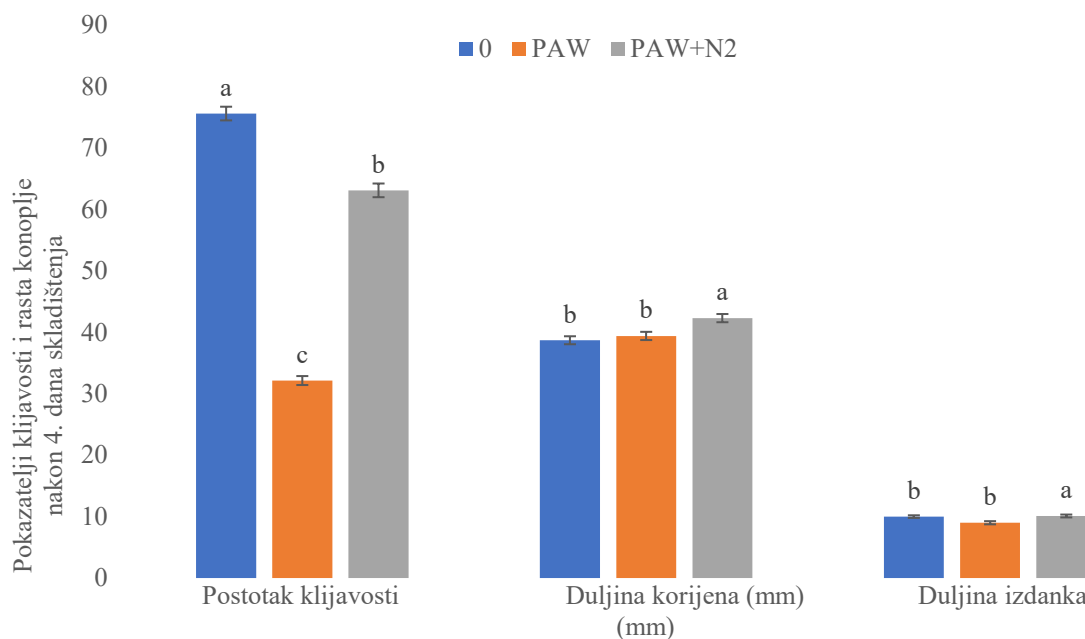


Slika 17 Rast izdanka netretiranog sjemena ječma (0), predtretiranog sjemena (PAW) i predtretiranog sjemena uz dotok dušika (PAW+N₂). Tretmani bez suše: 0, PAW i PAW+N₂; suša: PEG, PEG+PAW, PEG+PAW+N₂; Brojčane vrijednosti kod slova „I“ označavaju broj dana rasta. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost 3 ponavljanja ± standardna devijacija (S.D.) Velika slova iznad stupaca označavaju statistički značajne razlike između predtretmana (0, PAW i PAW+N₂) na jednom tretmanu (0 ili PEG) za jednu vremensku točku, dok mala slova označavaju razlike između različitih tretmana (0 i PEG) na istom predtretmanu (0, PAW ili PAW+N₂).

4.2. Učinak PAW obogaćene dušikom (PAW+N₂) na morfometrijske parametre nakon skladištenja

4.2.1. Vijabilnost sjemena konoplje

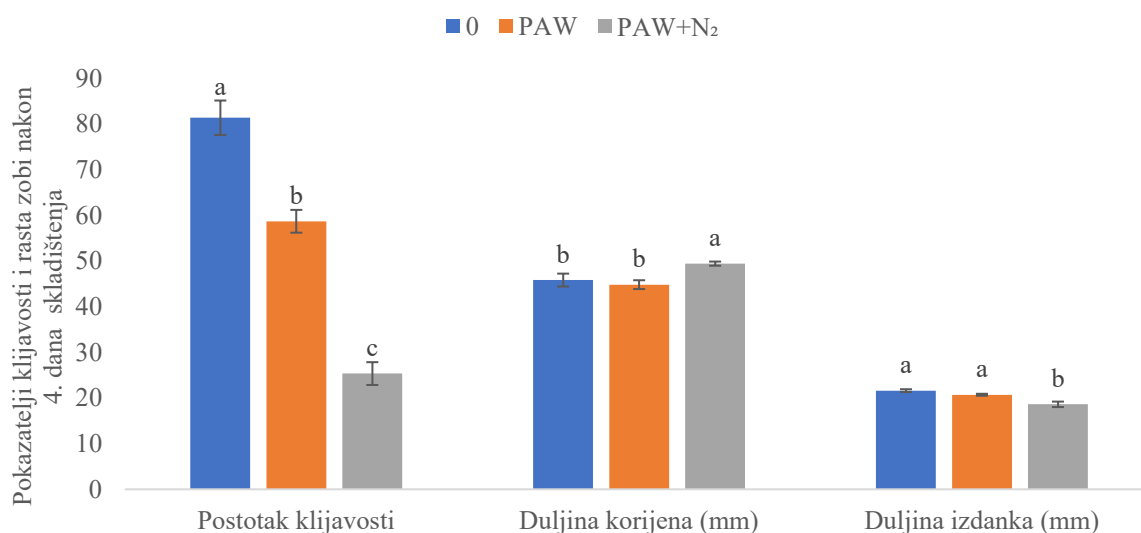
Kako je prikazano na **Slici 18**, tretman PAW obogaćen dušikom (PAW+N₂) stimulirao je rast korijena i izdanka u odnosu na kontrolu i tretman bez dodatka dušika (PAW). Suprotno, tretirano sjeme PAW tretmanima, pokazalo je značajnu inhibiciju klijavosti u odnosu na kontrolu, s time da je PAW tretman uzrokovao najjaču redukciju germinacije.



Slika 18 Klijanje i rast konoplje nakon 4. dana skladištenja na kontroli (0), predtretmanu sjemena (PAW) i predtretmanu uz dotok dušika (PAW+N₂). Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost 3 ponavljanja ± standardna devijacija (S.D.) Mala slova iznad stupaca označavaju statistički značajne razlike između predtretmana (0, PAW i PAW+N₂).

4.2.2. Vijabilnost sjemena zobi

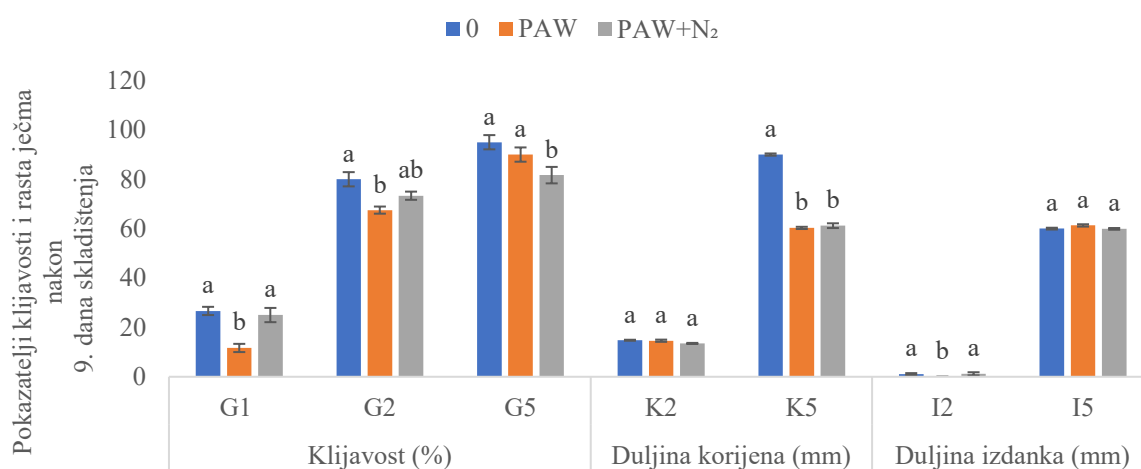
Korijen sjemena tretiranog PAW+N₂ bio je dulji u odnosu na kontrolu i PAW tretman (**Slika 19**), dok je za druge pokazatelje primjena oba PAW tretmana imala negativni učinak u odnosu na kontrolu.



Slika 19 Klijanje i rast zobi nakon 4. dana skladištenja na kontroli (0), predtretmanu sjemena (PAW) i predtretmanu uz dotok dušika (PAW+N₂). Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost 3 ponavljanja ± standardna devijacija (S.D.) Mala slova iznad stupaca označavaju statistički značajne razlike između predtretmana (0, PAW i PAW+N₂).

4.2.3. Vijabilnost sjemena ječma

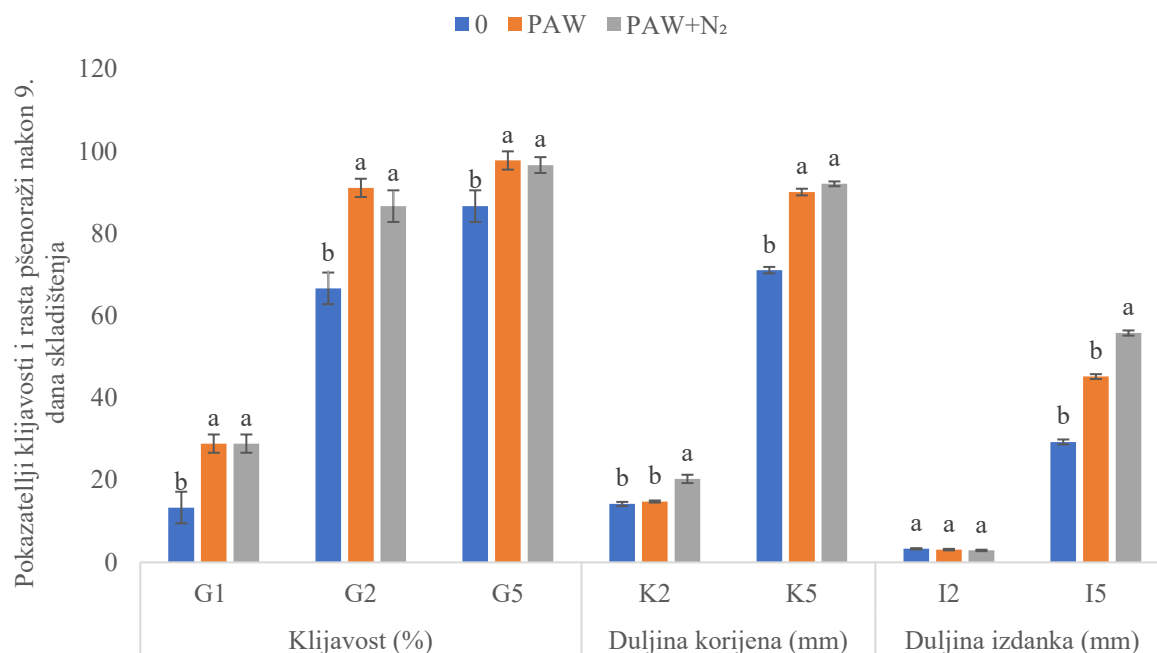
U 1. danu klijavost se značajno smanjila su skupinama čije je sjeme bilo predtretirano PAW u odnosu na netretirano sjeme i sjeme tretirano PAW+N₂ (Slika 20). Nakon 2. dana netretirano sjeme (0) imalo je bolju klijavost od PAW skupine, dok je u kasnijoj vremenskoj točki klijavost bila najlošija u PAW+N₂ skupini. Duljina korijena bila je značajno manja na oba PAW tretmana, nego kontrolna skupina (K5), dok je redukcija duljine izdanka uočena u PAW skupini (I2).



Slika 20 Klijanje i rast netretiranog sjemena ječma (0), predtretiranog sjemena (PAW) i predtretiranog sjemena uz dotok dušika (PAW+N₂) nakon 9. dana skladištenja. Brojčane vrijednosti kod slova „G, K i I“ označavaju broj dana rasta. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost 3 ponavljanja ± standardna devijacija (S.D.) Mala slova iznad stupaca označavaju statistički značajne razlike između predtretmana (0, PAW i PAW+N₂).

4.2.4. Vijabilnost sjemena pšenoraži

Aplikacija oba PAW tretmana djelovala je stimulirajuće na klijanje i rast pšenoraži u svim vremenskim točkama (izuzev duljine izdanka na 2. danu) (Slika 21).

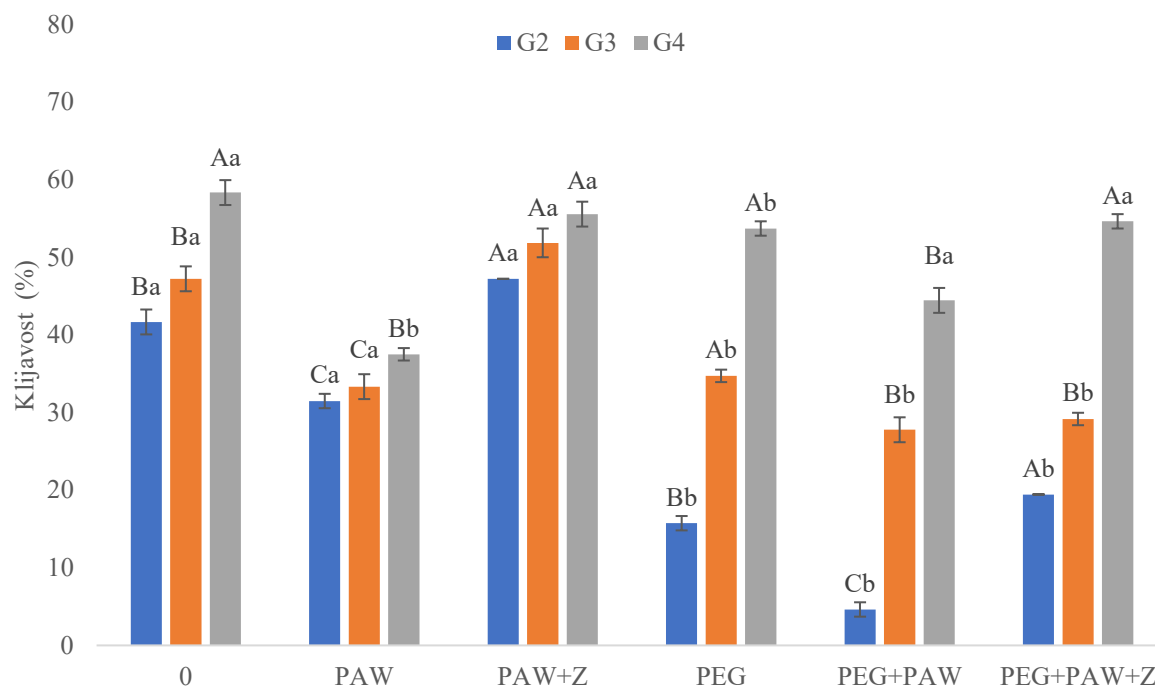


Slika 21 Klijanje i rast netretiranog sjemena pšenoraži (0), predtretiranog sjemena (PAW) i predtretiranog sjemena uz dotok dušika (PAW+N₂) nakon 9. dana skladištenja. Brojčane vrijednosti kod slova „G, K i I“ označavaju broj dana rasta. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost 3 ponavljanja ± standardna devijacija (S.D.) Mala slova iznad stupaca označavaju statistički značajne razlike između predtretmana (0, PAW i PAW+N₂).

4.3. Učinak PAW obogaćene zrakom (PAW+Z) na morfometrijske parametre

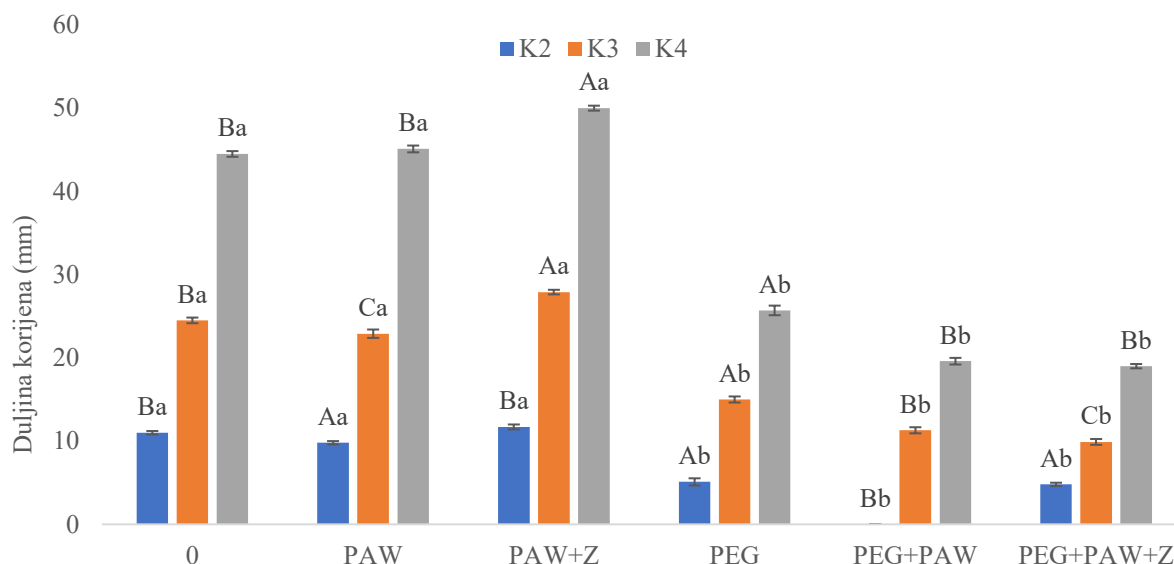
4.3.1. Klijavost i rast ječma na kontroli i uvjetima suše

Primjena suše djelovala je inhibitorno na klijavost i rast. Naime, postotak klijavosti, duljina korijena i izdanka su se značajno smanjili na svim tretmanima i predtretmanima suše (PEG, PEG+PAW i PEG+PAW+Z) u odnosu na pripadajuće kontrole (0, PAW i PAW+Z) (**Slike 22, 23 i 24**). Za istaknuti je da je klijavost na 4. danu značajno veća pri PEG+PAW nego na odgovarajućoj kontroli (PAW) (**Slika 26**). Najveći postotak klijavosti na kontroli zabilježen je na PAW predtretmanu obogaćenom zrakom (PAW+Z), a najslabija klijavost uočena je na PAW predtretmanu u svim vremenskim točkama. Na suši, predtretman PEG+PAW+Z pokazao je najveću klijavost (G2 i G4), dok je predtretman PEG+PAW bio najlošiji (G2, G3 i G4).



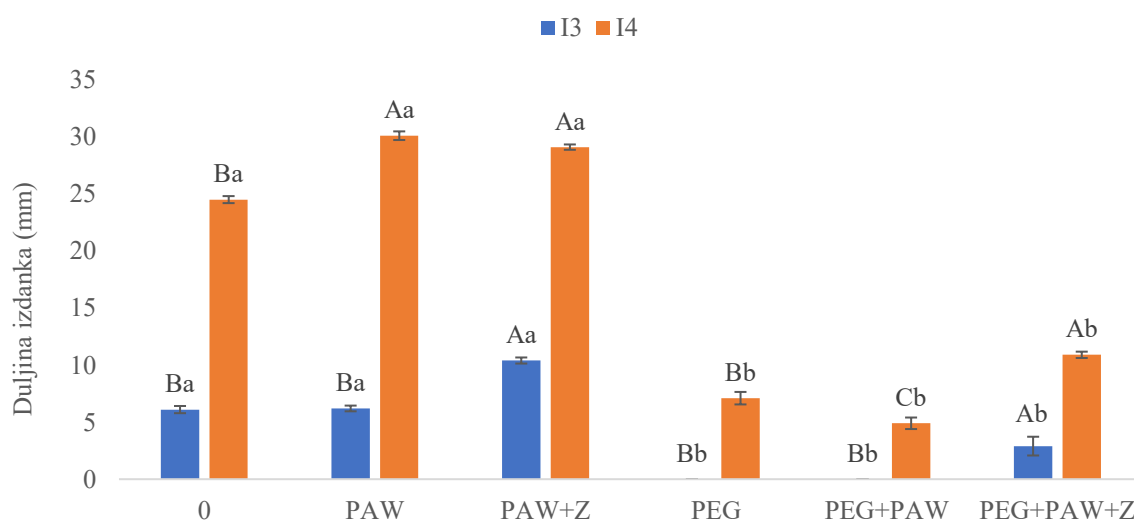
Slika 22 Klijavost netretiranog sjemena ječma (0), predtretiranog sjemena (PAW) i predtretiranog sjemena uz dotok zraka (PAW+Z). Tretmani bez suše: 0, PAW i PAW+Z; suša: PEG, PEG+PAW, PEG+PAW+Z; Brojčane vrijednosti kod slova „G“ označavaju broj dana rasta. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost 3 ponavljanja \pm standardna devijacija (S.D.) Velika slova iznad stupaca označavaju statistički značajne razlike između predtretmana (0, PAW i PAW+Z) na jednom tretmanu (0 ili PEG) za jednu vremensku točku, dok mala slova označavaju razlike između različitih tretmana (0 i PEG) na istom predtretmanu (0, PAW ili PAW+Z).

Pri optimalnim uvjetima najveća duljina korijena zabilježena je kod biljaka čije je sjeme bilo predtretirano PAW+Z (K2, K3 i K4), dok je predtretman PAW uzrokovao najkraći korijen (**Slika 23**). Primjena oba predtretmana (PEG+PAW i PEG+PAW+Z) uzrokovala je jaču inhibiciju rasta korijena nego tretman sušom (PEG) u svim vremenskim točkama.



Slika 23 Rast korijena netretiranog sjemena ječma (0), predtretiranog sjemena (PAW) i predtretiranog sjemena uz dotok zraka (PAW+Z). Tretmani bez suše: 0, PAW i PAW+Z; suša: PEG, PEG+PAW, PEG+PAW+Z; Brojčane vrijednosti kod slova „K“ označavaju broj dana rasta. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost 3 ponavljanja \pm standardna devijacija (S.D.) Velika slova iznad stupaca označavaju statistički značajne razlike između predtretmana (0, PAW i PAW+Z) na jednom tretmanu (0 ili PEG) za jednu vremensku točku, dok mala slova označavaju razlike između različitih tretmana (0 i PEG) na istom predtretmanu (0, PAW ili PAW+Z).

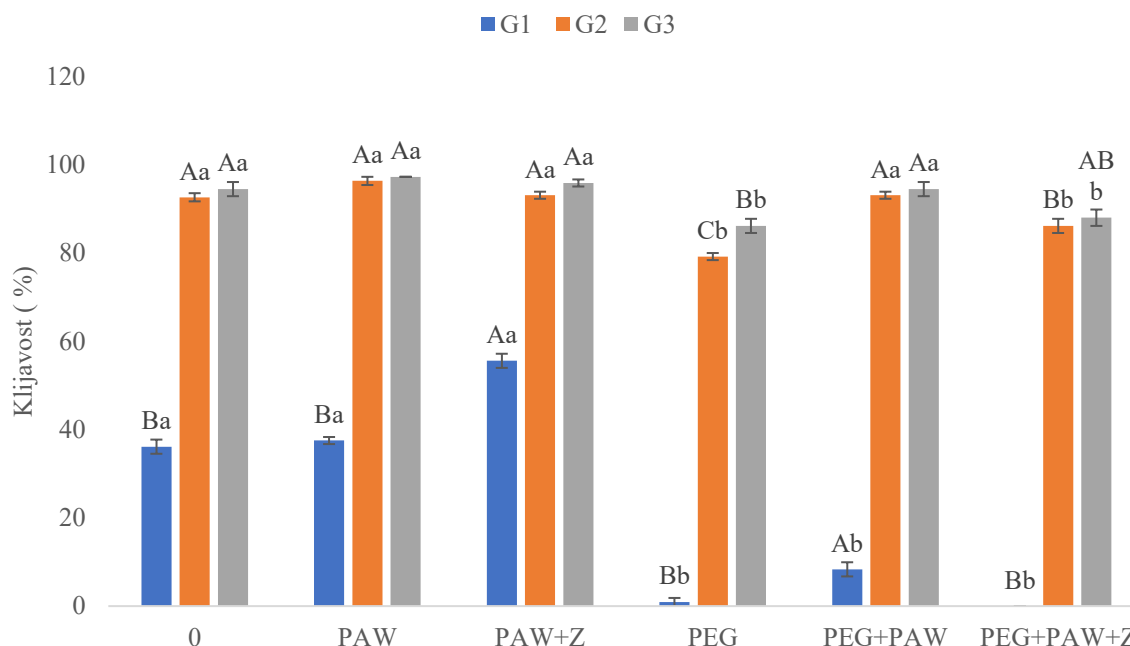
Na kontroli, oba PAW tretmana (PAW+Z i PAW), potaknuli su bolji rast izdanka od netretiranih biljaka (0) (**Slika 24**). Izdanci čije je sjeme bilo izloženo djelovanju PEG+PAW+Z bili su značajnije dulji od izdanaka raslih pri PEG i PEG+PAW u svim vremenskim točkama.



Slika 24 Rast izdanka netretiranog sjemena ječma (0), predtretiranog sjemena (PAW) i predtretiranog sjemena uz dotok zraka (PAW+Z). Tretmani bez suše: 0, PAW i PAW+Z; suša: PEG, PEG+PAW, PEG+PAW+Z; Brojčane vrijednosti kod slova „I“ označavaju broj dana rasta. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost 3 ponavljanja \pm standardna devijacija (S.D.) Velika slova iznad stupaca označavaju statistički značajne razlike između predtretmana (0, PAW i PAW+Z) na jednom tretmanu (0 ili PEG) za jednu vremensku točku, dok mala slova označavaju razlike između različitih tretmana (0 i PEG) na istom predtretmanu (0, PAW ili PAW+Z).

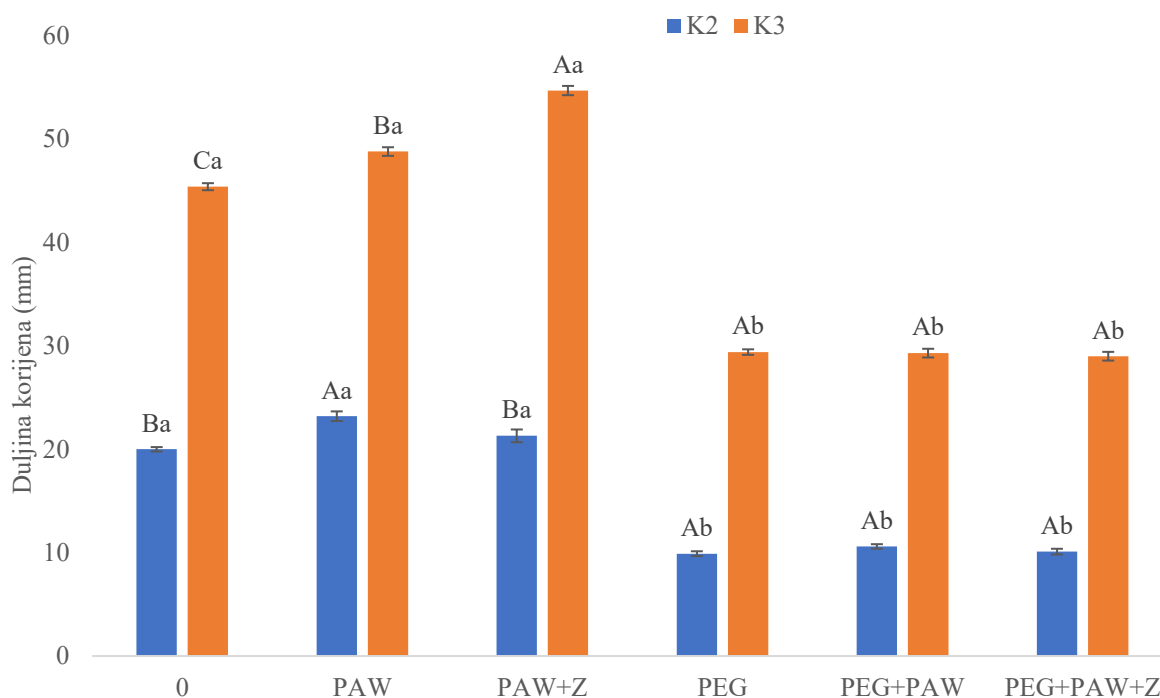
4.3.2. Klijavost i rast pšenoraži na kontroli i uvjetima suše

Aplikacija suše inhibirala je germinaciju i rast neovisno o vrsti predtretmana sjemena PAW (Slike 25, 26 i 37). Sjeme tretirano PAW+Z pokazalo je veću klijavost od PAW tretiranog PAW i netretiranog sjemena (0) (Slika 25). Oba PAW tretmana (PEG+PAW i PEG+PAW+Z) stimulirala su klijanje (G1-G3) za razliku od netretiranog sjemena na suši (PEG) u kojeg je bila niža.



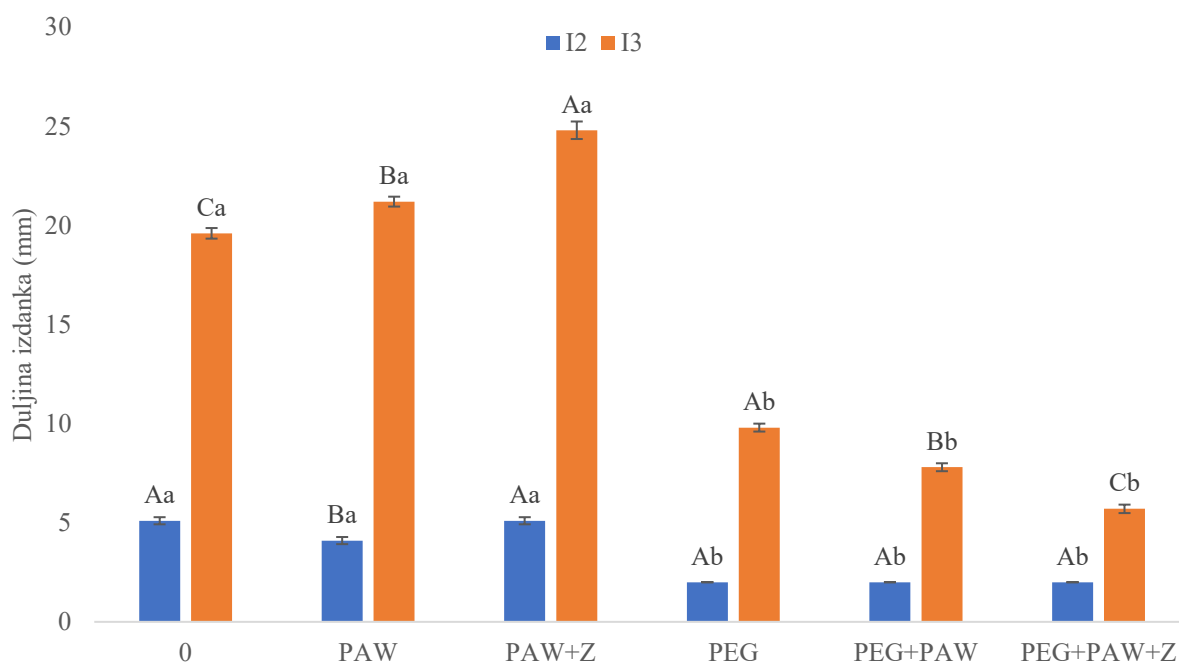
Slika 25 Klijavost netretiranog sjemena pšenoraži (0), predtretiranog sjemena (PAW) i predtretiranog sjemena uz dotok zraka (PAW+Z). Tretmani bez suše: 0, PAW i PAW+Z; suša: PEG, PEG+PAW, PEG+PAW+Z; Brojčane vrijednosti kod slova „G“ označavaju broj dana rasta. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost 3 ponavljanja \pm standardna devijacija (S.D.) Velika slova iznad stupaca označavaju statistički značajne razlike između predtretmana (0, PAW i PAW+Z) na jednom tretmanu (0 ili PEG) za jednu vremensku točku, dok mala slova označavaju razlike između različitih tretmana (0 i PEG) na istom predtretmanu (0, PAW ili PAW+Z).

Promotivni učinak PAW tretmana na rast korijena zabilježen je samo u nestresnim skupinama (Slika 26). Naime, one biljke koje su bile izložene PAW i PAW+Z predtretmanima pokazale su dulji korijen, nego biljke čije sjeme nije bilo izloženo predtretmanima.



Slika 26 Rast korijena netretiranog sjemena pšenoraži (0), predtretiranog sjemena (PAW) i predtretiranog sjemena uz dotok zraka (PAW+Z). Tretmani bez suše: 0, PAW i PAW+Z; suša: PEG, PEG+PAW, PEG+PAW+Z; Brojčane vrijednosti kod slova „K“ označavaju broj dana rasta. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost 3 ponavljanja \pm standardna devijacija (S.D.) Velika slova iznad stupaca označavaju statistički značajne razlike između predtretmana (0, PAW i PAW+Z) na jednom tretmanu (0 ili PEG) za jednu vremensku točku, dok mala slova označavaju razlike između različitih tretmana (0 i PEG) na istom predtretmanu (0, PAW ili PAW+Z).

Na kontroli duljina izdanka bila je najveća u skupini PAW+Z (I2 i I3) (**Slika 27**). Izdanak čije je sjeme bilo netretirano je pak bolje rastao na suši (PEG) nego na izdanak čije je sjeme bilo izloženo djelovanju oba PAW predtretmana.

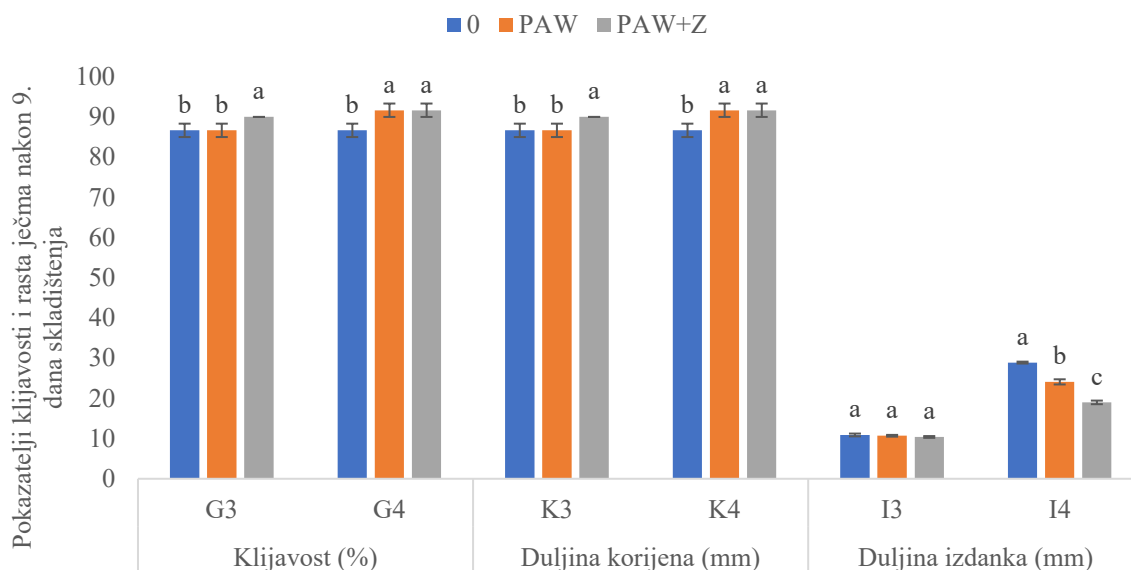


Slika 27 Rast izdanka netretiranog sjemena pšenoraži (0), predtretiranog sjemena (PAW) i predtretiranog sjemena uz dotok zraka (PAW+Z). Tretmani bez suše: 0, PAW i PAW+Z; suša: PEG, PEG+PAW, PEG+PAW+Z; Brojčane vrijednosti kod slova „I“ označavaju broj dana rasta. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost 3 ponavljanja ± standardna devijacija (S.D.) Velika slova iznad stupaca označavaju statistički značajne razlike između predtretmana (0, PAW i PAW+Z) na jednom tretmanu (0 ili PEG) za jednu vremensku točku, dok mala slova označavaju razlike između različitih tretmana (0 i PEG) na istom predtretmanu (0, PAW ili PAW+Z).

4.4. Učinak PAW obogaćene zrakom (PAW+Z) na morfometrijske parametre nakon skladištenja

4.4.1. Vijabilnost sjemena ječma

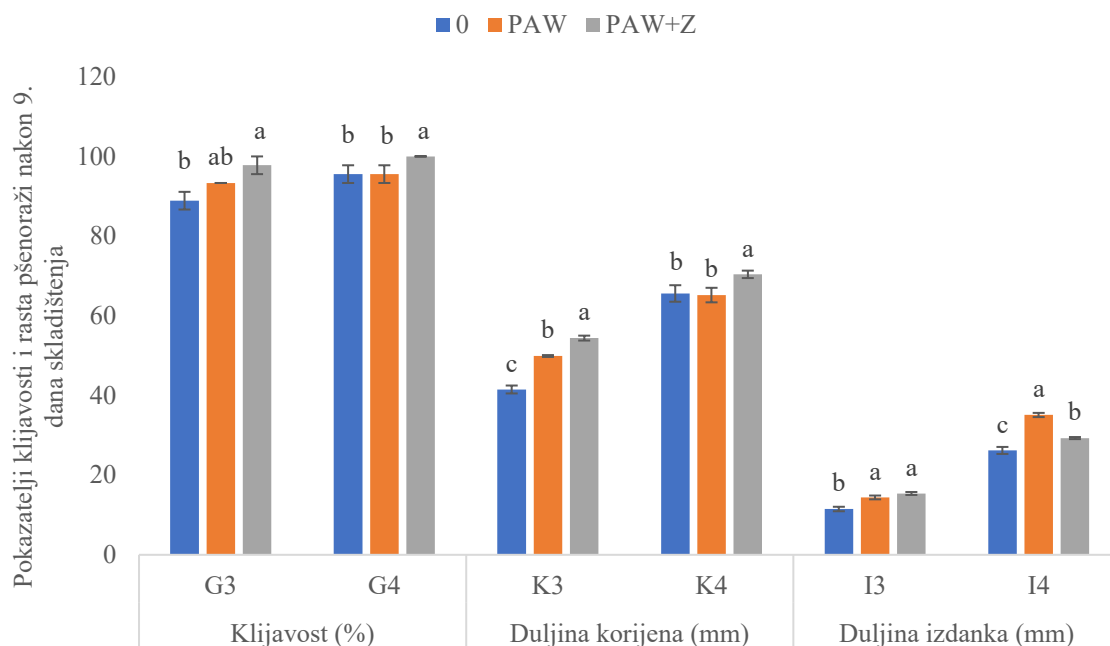
Klijavost i duljina korijena su na oba PAW tretmana (PAW i PAW+Z) bila veća u odnosu na netretirano sjeme (0) u obje promatrane vremenske točke (**Slika 28**). Suprotno, izdanak je bio duži na kontroli (0), nego na PAW tretmanima.



Slika 28 Klijanje i rast netretiranog sjemena ječma (0), predtretiranog sjemena (PAW) i predtretiranog sjemena uz dotok zraka (PAW+Z) nakon 9. dana skladištenja. Brojčane vrijednosti kod slova „G, K i I“ označavaju broj dana rasta. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost 3 ponavljanja \pm standardna devijacija (S.D.) Mala slova iznad stupaca označavaju statistički značajne razlike između predtretmana (0, PAW i PAW+Z).

4.4.2. Vijabilnost sjemena pšenoraži

Sjeme predtretirano PAW+Z pokazalo je najveći postotak klijavosti (G3 i G4), te najdulji korijen (K3 i K4) i izdanak (I3) u odnosu na netretirano sjeme (0) i sjeme tretirano PAW bez dotoka zraka (**Slika 29**). Izdanak je pokazao veće vrijednosti nakon 4. dana rasta na tretmanu PAW što može ukazivati na intenzivan početni rast, ali PAW+Z tretman održava dosljedno bolji rast u kasnijim fazama.



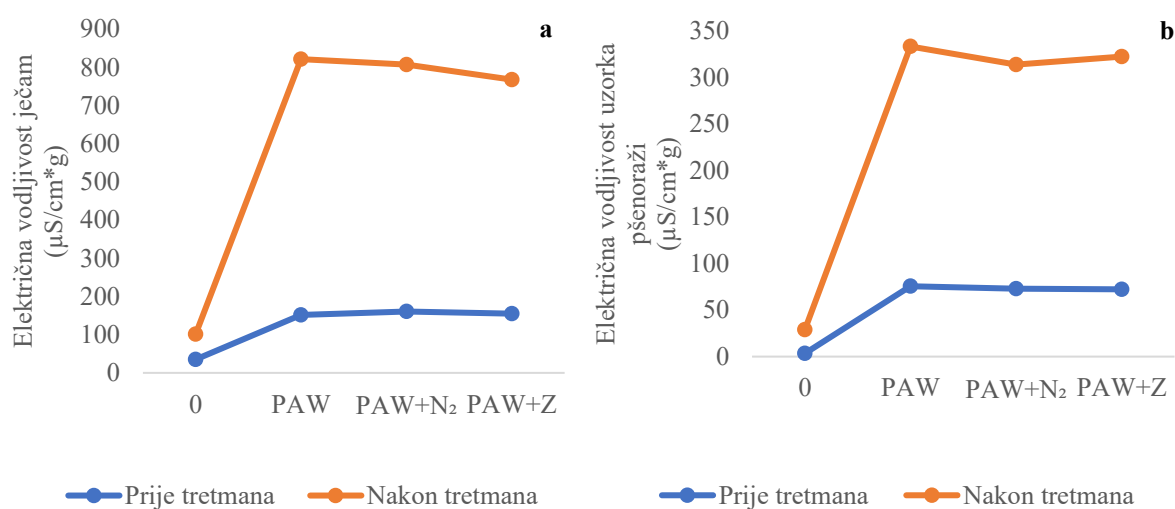
Slika 29 Klijanje i rast netretiranog sjemena pšenoraži (0), predtretiranog sjemena (PAW) i predtretiranog sjemena uz dotok zraka (PAW+Z) nakon 9. dana skladištenja. Brojčane vrijednosti kod slova „G, K i I“ označavaju broj dana rasta. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost 3 ponavljanja

± standardna devijacija (S.D.) Mala slova iznad stupaca označavaju statistički značajne razlike između predtretmana (0, PAW i PAW+Z).

4.5. Fizikalno-kemijska svojstva PAW medija

4.5.1. Električna vodljivost

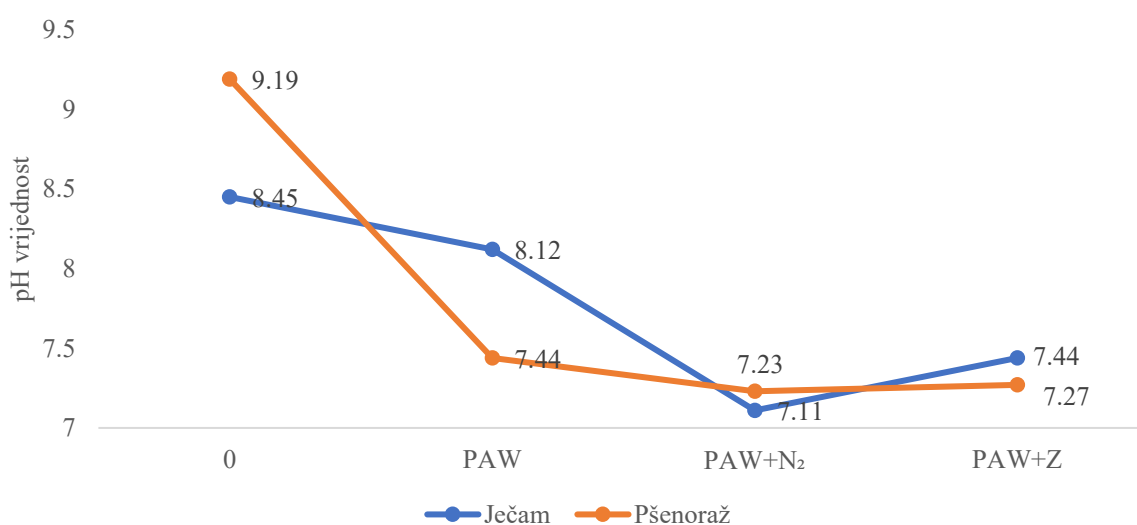
Uzorci vode koji su sadržavali sjeme (prije PAW tretmana) te uzorci čije je sjeme bilo tretirano PAW tretmanima, pokazali su porast električne vodljivosti u odnosu na otopinu koja je sadržavala netretirano sjeme za obje žitarice (**Slika 30a** i **30b**). U ječma nakon PAW, PAW+N₂ i PAW+Z tretmana, vodljivost je bila 7.1, 6.9 te 6.6 puta veća u odnosu na kontrolu (netretirano sjeme). Također, kod pšenoraži nakon PAW, PAW+N₂ i PAW+Z tretmana vodljivost je bila 10.5, 9.9 te 10.1 puta veća nego u netretirane skupine.



Slika 30 Električna vodljivost vode s uzorcima ječma (a) i pšenoraži (b). Netretirano sjeme (0), predtretirano sjeme (PAW), predtretirano sjeme uz dotok dušika (PAW+N₂) i predtretirano sjeme uz dotok zraka (PAW+Z). Rezultati su prikazani na temelju vrijednosti jednog uzorka.

4.5.2. pH vrijednost

Pad pH vrijednosti zabilježen je u svim PAW skupinama u odnosu na PAW netretiranu skupinu za obje vrste žitarica (**Slika 31**). Za uzorke ječma najnižu pH vrijednost imala je PAW+N₂ skupina, dok su za pšenoraž vrijednosti PAW+N₂ i PAW+Z bile podjednake.



Slika 31 Kiselost PAW medija ovisno o vrsti sjemena. Netretirano sjeme (0), predtretirano sjeme (PAW), predtretirano sjeme uz dotok dušika (PAW+N₂) i predtretirano sjeme uz dotok zraka (PAW+Z). Rezultati su prikazani na temelju vrijednosti jednog uzorka.

5. RASPRAVA

Suša negativno djeluje na rast i razvoj biljke, pri čemu su klijanje i rana faza predstavljaju posebno osjetljivo razdoblje (Ahmad i sur., 2016). Generalno, u ovom istraživanju suša je inhibirala klijanje i rast PAW netretiranih skupina u svih modelnih vrsta u odnosu na biljke koje su rasle u optimalnim uvjetima (1. i 2. postav). Učinak suše na PAW predtretmanima i kombiniranim tretmanima ovisio je o biljnoj vrsti, razvojnom stadiju, vremenskoj točki i organu biljke.

U 1. postavu pratio se učinak PAW (bez i s dodatkom dušika) na klijanje i rast konoplje, zobi, ječma i pšenoraži. Primjena oba PAW tretmana, neovisno o dodatku dušika, povećala su postotak klijavosti konoplje u uvjetima suše, dok je rast izdanka i korijena bio reduciraniji na PAW tretmanima u odnosu na biljke rasle na suši (naročito 5. dana) (**Slike 7, 8a i 8b**). Konoplja može tolerirati sušu te uspješno prijeći u generativnu fazu razvoja pri ekstremno niskoj gravimetrijskoj vlažnosti tla (5%) koja je za većinu žitarica letalna (Gill i sur., 2022). Toleranciji suše kod konoplje doprinose i kanabinoidi, čija je proizvodnja pojačana u uvjetima umjerene suše, dok se pri jačem intenzitetu koncentracija THC-delta-9-tetrahidrokanabinola i CBD kanabidiola smanjuje (Gill i sur., 2022; Park i sur., 2022). Iz ovoga možemo pretpostaviti kako u ovom istraživanju kako manjak vode nije bio dovoljno intenzivan za konoplju da bi vidjeli protektivnu ulogu plazma aktivirane vode na izdanku i korijenu. Suprotno, PAW tretmani potaknuli su klijanje konoplje već nakon 1. dana germinacije, što predstavlja obećavajući potencijal u povećanju brzine klijanja. Pozitivni učinak tehnologije hladne plazme na klijanje te rast muških jedinki potvrđen je i u kultivara konoplje Futura 75, dok je tretman elektromagnetskim poljem pokazao bolje rezultate u ženskih biljaka (Ivankov i sur., 2020). U istom istraživanju stimulacija proizvodnje CBD inducirana je upotrebom vakuuma pa autori zaključuju da učinkovitost germinacije u laboratorijskim uvjetima ne garantira uspješnost metode u polju. U drugom istraživanju sjemenke, konoplje koje su prije naklijavanja bile podvrgnute 24-satnom namakanju u PAW nisu imale povećanu germinaciju (Somjaimak i sur., 2023). Iz svega navedenog, možemo zaključiti kako uspješnost germinacije u ovakvim studijama ovisi o metodološkom pristupu.

Netretirano sjeme zobi pokazalo je veći postotak klijavosti na kontroli i suši od sjemena tretiranog PAW i PAW+N₂ pa možemo pretpostaviti kako je primjena ovih predtmana izazvala oksidacijski stres (**Slika 9**). Naime, prevelika koncentracija ROS i RNS čestica te drugih iona koji se nalaze u plazma aktiviranoj vodi mogu izazvati oštećenja makromolekula i inhibirati klijanje (Farooq i sur., 2021). Također, moguće je da uvjeti tretiranja (30Hz/30s) nisu bili optimalni za zob. Valja napomenuti da uspjeh germinacije ovisi i o broju izboja. Prema Ji i sur.

(2016) sjemenke špinata tretirane s jednim do pet energetska izboja imali su značajni učinak na germinaciju, nego sjemenke koje su bile tretirane s deset izboja. Za razliku od germinacije, korijen zobi koji je pripadao PEG+PAW+N₂ skupini nakon 5. dana rasta bio je značajno dulji od korijena koji je rastao na suši (PEG) i korijena skupine PEG+PAW (**Slika 10**), što je vjerojatno povezano s povećanim unosom nitrata i nitrita koji se generiraju upuhivanjem dušika tijekom tretiranja sjemena PAW. Dokazano je da nitratni ioni povećavaju otpornost na abiotički stres u kukuruza (Rios-Gonzales i sur., 2002) i trava (Wang i Macko, 2011). Poznato je da je metabolizam dušika direktno vezan za interakciju s fitohormonima (Nazir i sur., 2023). U ovom istraživanju indukcija rasta korijena u PEG+PAW+N₂ skupini vjerojatno je rezultat hormonalne regulacije posredovane povećanim stvaranjem NO. Prema Fernandez-Marcos i sur. (2011) postoji međusobna interakcija između NO i auksina u očuvanju veličine i aktivnosti apikalnog meristema korijena.

Sjeme pšenoraži tretirano PAW i PAW+N₂, pokazalo je bolju klijavost i rast izdanka na suši od netretiranog sjemena (**Slike 12 i 14**) potvrđujući u hibridu pšenice i raži sličan potencijal plazma aktivirane vode koji je viđen kod pšenice. U pšenice izložene salinitetu (90, 160 i 230 mM NaCl) i suši (15, 20 i 30% PEG) primjena PAW stimulirala je germinaciju, rast izdanka i korijena, te povećala indeks tolerancije saliniteta (Marček i sur., 2021). U istom istraživanju SEM mikrografije sjemene lupine pokazuju abraziju površine, te smanjenje broja poprečnih struktura nalik mreži na površini sjemenke. Autori zaključuju da ovakve modifikacije povećavaju hidrofilnost sjemena i skraćuju vrijeme imbibicije. Iz ovo slijedi da je topografija sjemene lupine pšenoraži slična lupini pšenice što može biti jedan od razloga djelotvornosti PAW metode. Međutim, ovo još treba dodatno provjeriti analizama koje uključuju screening površine i sastava strukturnih polisaharida površine sjemena pšenoraži. U 2. postavu (koji je uključivao dotok zraka u PAW), sjemenke pšenoraži su pokazale najveću klijavost u PAW+Z skupini (G1) u optimalnim uvjetima, a na suši najveća klijavost bila je u skupini sjemenki tretiranih PAW bez dodatka zraka (G1, G2 i G3) (**Slika 25**). Rast izdanka na suši u 2. postavu bio je inhibiran u obje PAW skupine (PEG+PAW i PEG+PAW+Z) u odnosu na izdanke netretiranih sjemenki (PEG) (**Slika 27**). Usporedbom 1. i 2. postava, možemo zaključiti da je za povećanje tolerancije suše u pšenoraži optimalniji tretman koji uključuje dotok dušika.

Od svih testiranih vrsta (konoplje, zobi i pšenoraži) u 1. postavu jedino je u ječma uočeno pozitivno djelovanje PAW tretmana u nestresnim uvjetima. Naime, ječam je na kontroli (0) imao bolju klijavost u PAW i PAW+N₂ skupini te dulji korijen (PAW+N₂) i izdanak (PAW), nego sjeme koje nije bilo izloženo djelovanju PAW i PAW+N₂ (**Slike 15, 16 i 17**). Plazma

aktivirana voda sadrži H_2O_2 , NO, ROS i RNS čestice koje mogu izmijeniti ravnotežu fitohormona u sjemenci i potaknuti germinaciju (Mildaziene i Sera, 2022). U istraživanju hormonalnog odgovora i profila polifenola pšenice utvrđeno je postojanje veze između PAW tretmana i metaboličkih promjena koje su specifične za stresni odgovor (preveliko nakupljanje RONS) koje stimuliraju klijanje (Marček i sur., 2023). Iz ovog možemo pretpostaviti da u ječma ROS i RNS djeluju kao signalne molekule koje su ključne za prekid dormancije. U uvjetima suše, oba PAW tretmana pokazala su značajnije veći postotak klijavosti od netretiranih sjemenki (**Slika 15**). Nadalje, korijen biljaka čije su sjemenke bile izložene PAW i PAW+N₂ pokazao je izraženiju redukciju rasta na suši nego izdanci netretiranih sjemenki (PEG) (K3-K5). Konačno, duljina izdanka u uvjetima suše nakon 3. dana rasta bila je najkraća u PEG+PAW skupini, a na 4. danu u PEG i PEG+PAW+N₂ skupini. Na temelju ovoga zaključujemo kako se radi o tkivno specifičnom odgovoru. Slični rezultati uočeni su u pšenice u koje je korijen nakon izlaganja sjemenki HVED tretmanu, pokazao veću indukciju benzojeve i salicilne kiseline, a izdanak pojačanu sintezu JA_Le_Iie, aktivnog oblika jasmonske kiseline, kafeinske, *p*-kumarinske i cinaminske kiseline (Marček i sur., 2023).

Osim za pšenoraž, u 2. postavu pratio se učinak PAW (bez i s dodatkom zraka) na klijanje i rast ječma. Dodatak zraka u PAW (PAW+Z), stimulirao je germinaciju (G3), rast korijena (K3, K4) i izdanka (I3, I4) u optimalnim uvjetima (**Slike 22, 23 i 24**). Slična indukcija rasta ječma, uočena je i u 1. postavu prilikom aplikacije PAW i PAW+N₂ predtretmana. Na temelju ovoga zaključujemo, kako ova tehnologija se može koristiti za porast klijavosti i rasta ječma i u optimalnim uvjetima. No s obzirom da je istraživanje rađeno u laboratorijskim uvjetima u ranoj razvojnoj fazi, potrebna su dodatna istraživanja koja će uključiti promatranje interakciju PAW tretiranih biljaka na složene okolišne uvjete. Na suši, najveća veća klijavost (G2) i duljina izdanka (I3 i I4) uočeni su u PEG+PAW+Z skupini (**Slike 22 i 24**). Ako ovo usporedimo s rezultatima 1. postava u kojem je dodatak dušika PAW mediju potakao klijanje (**Slika 15**) na suši ali ne i rast (**Slike 16 i 17**), možemo zaključiti kako je plazma aktivirana voda obogaćena zrakom pogodnija od PAW obogaćene dušikom za razvoj tolerancije suše u ječma. Iako u ovom radu nije bio mjeren kemijski sastav PAW, možemo pretpostaviti da je razlog boljeg rasta izdanka, veća koncentracija ROS (npr. H_2O_2) čestica u PAW+Z mediju koje djeluju kao inicijatori staničnog odgovora na stres, u odnosu na PAW+N₂. Drugi razlog zašto uvođenje dušika u PAW medij nije ispunilo očekivanja, jest prekratko vrijeme tretiranja (30s) ili možda slab protok plina (2L/min) koji nisu doveli do znatnijeg povećanja koncentracije NO₃⁻ i NO₂⁻ u PAW koje potiču rast. To potvrđuju i rezultati mjerenja pH vrijednosti koja je za ječam pokazala

pad od 15,8% (na PAW+N₂), odnosno 11,9% (u PAW+Z), u odnosu na netretiranu vodu (**Slika 31**). Prema Chuea-uan i sur. (2024) povećanje protoka dušika (2, 4, 5 i 6 L/min) kroz 20 min u volumenu 50 mL, uzrokovalo je pad pH (3.05-3.19). Međutim, u istom istraživanju PAW medij nije sadržavao sjemenke, stoga ovo istraživanje nije kompatibilno s našim eksperimentalnim postavom. Iz ovoga slijedi da za učinkovitu i ciljanu primjenu PAW važno je prilagoditi sastav željenih RONS čestica u plazma aktiviranoj vodi.

U eksperimentima vijabilnosti sjemena testiran je vremenski učinak PAW tretmana kod konoplje i zobi (4. dan skladištenja; za PAW i PAW+N₂) te kod ječma i pšenoraži (9. dan skladištenja; za PAW, PAW+N₂ i PAW+Z) u nestresnim uvjetima. Predtretman PAW+N₂ uzrokovao je dulji izdanak (konoplja i pšenoraž) i korijen (konoplja, zob i pšenoraž) u odnosu na netretirano i PAW tretirano sjeme (**Slike 18, 19 i 21**). Dobiveni rezultati pokazuju potencijal u produljenju dugovječnosti sjemena konoplje, zobi i pšenoraži tijekom stajanja. PAW obogaćena dušikom sadrži više NO pa možemo zaključiti kako su u konoplje, zobi i pšenoraži akumulirani NO započeli prekid dormancije povećavajući GA/ABA omjer. Giberelini (GA) u endospermu povećavaju aktivnost hidrolitičkih enzima koji osiguravaju energiju za rast embrija (Ahammed i sur., 2020). Tijekom HVED tretmana oslobađa se UV svjetlost što utječe na složenu interakciju regulatora rasta (Marček i sur., 2021). UV svjetlost potiče fotomorfogenezu, a posljedica je povećana biosinteza auksina i citokinina, hormona koji stimuliraju diobu i elongaciju stanica embrija (Miransari i Smith, 2014). Iz ovog možemo pretpostaviti da PAW+N₂ tretman u navedenih vrsta ima produljeno djelovanje na hormonalnu regulaciju. Zanimljivo je istaknuti kako su isti parametri rasta u konoplje na kontroli (**Slika 8a i 8b**), zobi (**Slika 9**) i pšenoraži (**Slika 12**) u 1. postavu bili su značajno reducirani na PAW+N₂ tretmanu u odnosu na netretirano i PAW tretirano sjeme, iz čega slijedi da je kod ovih vrsta potreban određeni vremenski odmak (inkubacija) kako bi se vidjeli pozitivni učinci plazma aktivirane vode.

Obogaćivanje PAW medija zrakom imalo je pozitivan učinak na klijanje i rast pšenoraži u odnosu na PAW i netretirano sjeme (**Slika 29**). Iz ovog slijedi plazma da aktivirana voda obogaćena zrakom ili dušikom izaziva isti efekt u pšenoraži te da vijabilnost raste tijekom skladištenja (do 9. dana). Za provjeru efekta kroz dulji vremenski period potrebno je provesti dodatna istraživanja.

Nakon 9. dana skladištenja sjemenke ječma tretirane PAW+Z pokazale su veći postotak klijavosti i dulji korijen od netretiranih sjemenki (0) i sjemenki tretiranih PAW (**Slika 28**). U 2. postavu uočeno je slično, odnosno sjemenke tretirane aktiviranom vodom obogaćene zrakom,

pokazale su bolju klijavost i rast (**Slike 22, 23 i 24**). Iz ovog slijedi kako je dotok zraka (2L/min) u PAW bio dovoljan za očuvanje koncentracije dugoživućih čestica kao što je to H_2O_2 .

Za razliku od zraka, obogaćivanje PAW medija dušikom nije imalo promovirajući učinak na klijanje i rast ječma 9. dana nakon tretiranja (**Slika 20**). Ako uzmemo u obzir rezultate 1. postava u kojemu je neposredna primjena PAW+N₂ potaknula klijanje i rast, možemo zaključiti da je možda koncentracija dugoživućih RONS (NO_3^- , NO_2^- i H_2O_2) bila premala da bi sjeme nakon 9. dana skladištenja zadržalo ista svojstva koje je imalo nedugo nakon tretiranja. To potvrđuju rezultati mjerenja pH vrijednosti PAW medija za ječam (**Slika 31**). Slično navode Chuea-uan i sur. (2024) koji su primjetili kako tijekom duljeg stajanja koncentracija NO_3^- , NO_2^- i H_2O_2 može postati niska zbog temperaturnog utjecaja i djelovanja svjetlosti. Na temelju ovih opažanja za ječam vrijedi kako H_2O_2 i NO_3^- i NO_2^- u optimalnim koncentracijama mogu potaknuti rast. Drugi razlog relativno visoke pH vrijednosti u PAW mediju s dodatkom dušika, može biti i prekratko vrijeme tretiranja (30s). U istraživanju Yang i sur. (2023) pH vrijednost PAW nakon 1 minute iznosila je 3.3.

Električna vodljivost svih PAW medija koji su sadržavali sjemenke pšenoraži, odnosno ječma, bila je povećana u odnosu na kontrolno sjeme (netretirano sjeme, uronjeno u vodu, bez izlaganja PAW mediju) (**Slika 30a i 30b**). Vrijednosti svih PAW medija bile su međusobno vrlo slične. Neznatan porast provodljivosti zabilježen je u PAW (bez dodatka dušika ili zraka). Za razliku od igle koja se koristila kao elektroda, ali i kroz koju su se upuhivali plinovi, površina tekućine koja se koristila tijekom PAW tretmana (bez upuhivanja plinova) zauzimala je volumen čaše od 1L. Iz ovoga možemo pretpostaviti kako ja povećana vodljivost PAW medija posljedica veće količine RNS ili ROS koji se generiraju na granici dodira površine tekućine i zraka. Međutim, kako su vrijednosti vodljivosti rezultat samo jednog mjerenja, potrebne su dodatne analize sastava PAW medija kako bi se podatci mogli interpretirati.

6. ZAKLJUČCI

Na temelju ispitivanja učinka različitog sastava plazma aktivirane vode (bez i s dodatkom dušika, odnosno zraka) na morfometrijske parametre konoplje, zobi, pšenoraži i ječma u uvjetima suše, slijedi kako:

- Primjena oba PAW tretmana (bez i s dodatkom dušika) povećava germinaciju konoplje u uvjetima suše, a negativno djeluje na rast izdanka i korijena,
- Primjena oba PAW tretmana (bez i s dodatkom dušika) reducira germinaciju zobi na kontroli i suši, dok obogaćivanje PAW dušikom stimulira rast korijena (5. dan) u uvjetima suše,
- Primjena oba PAW tretmana (bez i s dodatkom dušika) potaknula je klijanje pšenoraži u uvjetima suše, dok je obogaćivanje PAW zrakom potaknulo klijanje pšenoraži samo u optimalnim uvjetima,
- Dodatak dušika PAW mediju stimulirao je rast izdanaka pšenoraži u uvjetima suše (1. postav), za razliku od izdanaka čije je sjeme bilo tretirano PAW obogaćenom zrakom (2. postav) što govori da je za povećanje tolerancije suše u pšenoraži optimalniji tretman koji uključuje dotok dušika,
- Primjena svih PAW tretmana (bez i s dodatkom dušika, odnosno zraka) stimulirala je germinaciju i rast ječma u optimalnim uvjetima iz čega slijedi kako je ova metoda pogodna za povećanje prinosa ječma u nestresnim uvjetima,
- U uvjetima suše, oba PAW tretmana (bez i s dodatkom dušika) inducirali su klijavost ječma, dok je učinak oba PAW tretmana na rast bio inhibirajući,
- Za razliku od dušika, dodatak zraka PAW mediju stimulirao je rast izdanka ječma na suši upućujući na veći potencijal zraka u PAW u toleriranju suše,
- Postoji pozitivan vremenski učinak PAW s dodatkom dušika na rast izdanka (konoplja i pšenoraž) i korijena (konoplja, zob i pšenoraž), što govori o postojanju efekta memorije (4. i 9. dan) vijabilnosti sjemena u slučaju obogaćivanja PAW dušikom,
- Obogaćivanje PAW medija dušikom i zrakom imalo je pozitivan učinak na klijanje i rast pšenoraži nakon skladištenja (9. dana), što upućuje na šire mogućnosti primjene oba tretmana u produljenju dugovječnosti sjemena pšenoraži,
- Sjeme ječma tretiranog PAW obogaćenom zrakom nakon 9. dana skladištenja imalo je veću klijavost i dulji korijen, dok obogaćivanje PAW medija dušikom nije imalo

promovirajući učinak na iste parametre što upućuje da je tretman zrakom pogodniji za produljenje vijabilnosti sjemena ječma,

- Primjena svih PAW tretmana uzrokovala je pad pH vrijednosti u odnosu na netretiranu vodu i
- Električna vodljivost svih PAW medija (bez i s dodatkom dušika, odnosno zraka) koji su sadržavali sjemenke pšenoraži, odnosno ječma, bila je povećana u odnosu na netretirano sjeme s time da je vodljivost svih PAW medija bila podjednaka.

7. LITERATURA

- Abarghuei, F.M., Etemadi, M., Ramezani, A., Esehaghbeygi, A., Alizargar, J. (2021) An application of cold atmospheric plasma to enhance physiological and biochemical traits of basil. *Plants* [online]. Dostupno na: doi:10.3390/plants10102088 [10. rujna 2024].
- Afshari, R., Hosseini, H. (2014) Non-thermal plasma as a new food preservation method, its present and future prospect. *Journal of Clinical Research in Paramedical Sciences*, 5, 2008-2078.
- Ahamed, G.J., Gantait S., Mitra M., Yang Y., Li X. (2020) Role of ethylene crosstalk in seed germination and early seedling development: A review. *Plant Physiology and Biochemistry* [online], 151, 124-131. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.03.016> [10. rujna 2024.]
- Ahmad, P., Rasool, S., Gul, A., Sheikh, S. A., Akram, N. A., Ashraf, M., Kazi, A. M., Gucel, S. (2016) Jasmonates: Multifunctional roles in stress tolerance. *Frontiers in plant science* [online], 7, 813. Dostupno na <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00813> [10. rujna 2024.]
- Agu, R.C., Palmer, G.H. (1997) The effect of malting conditions on malt characteristics and on proteolysis. *Journal of the Institute of Brewing*, 103(5), 287-291.
- Amaghrabi, O.A. (2012) Impact of drought stress on germination and seedling growth parameters of some wheat cultivars. *Life Science Journal*, 9(1), 590-598.
- Augustinović, Z. (2016) *Uzgoj industrijskog bilja*. Križevci: Visoko gospodarsko učilište.
- Baik, B. K., Ullrich, S. E. (2008) Barley for food: Characteristics, improvement, and renewed interest. *Journal of Cereal Science* [online], 48(2), 233-242. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2008.02.002> [8. rujna 2024.]
- Blauhut, V., Stoelzle, M., Ahopelto, L., Brunner, M. I., Teutschbein, C., Wendt, D. E., Akstinis, V., Bakke, S. J., Barker, L. J., Bartošová, L., Briede, A., Cammalleri, C., Kalin, K. C., De Stefano, L., Fendeková, M., Finger, D. C., Huysmans, M., Ivanov, M., Jaagus, J., Jakubínský, J., Krakovska, S., Laaha, G., Lakatos, M., Manevski, K., Neumann Andersen, M., Nikolova, N., Osuch, M., van Oel, P., Radeva, K., Romanowicz, R. J., Toth, E., Trnka, M., Urošev, M., Urquijo Reguera, J., Sauquet, E., Stevkov, A., Tallaksen, L. M., Trofimova, I., Van Loon, A. F., van Vliet, M. T. H., Vidal, J.-P., Wanders, N., Werner, M., Willems, P., Živković, N. (2022) Lessons from the 2018–2019 European droughts: a collective need for unifying drought risk management. *Natural Hazards and Earth System Sciences* [online], 22, 2201–2217. Dostupno na: <https://doi.org/10.5194/nhess-22-2201-2022> [10. rujna 2024.]
- Bora, J., Khan, T., Kumar Mahnot, N. (2022) Cold Plasma Treatment Concerning Quality and Safety of Food: A Review . Dostupno na: <https://dx.doi.org/10.12944/CRNFSJ.10.2.3> [8. rujna 2024.]
- Chuea-uan, S., Boonyawan, D., Sawangrat, C., Thanapornpoonpong, S. (2024) Using plasma-activated water generated by an air gliding arc as a nitrogen source for rice seed germination. *Agronomy* [online], 14, 15. Dostupno na: <https://doi.org/10.3390/agronomy14010015> [10. rujna 2024]
- Dangi, S. (2021) Oat as green fodder and its intercropping benefits: A Review. *Agricultural Reviews*, 42(1), 66-72.
- European Environment Agency: *Klimatske promjene i voda* [online], (2024) Dostupno na: <https://www.eea.europa.eu/hr/signals/eea-signali-2018-voda-je-zivot/clanci/klimatske-promjene-i-voda-2013> [5. lipnja 2024.]

- Fan, L., Liu, X., Ma, Y., Xiang, Q. (2020) Effects of plasma-activated water treatment on seed germination and growth of mung bean sprouts. *Journal of Taibah University for Science* [online], 14(1), 823–830. Dostupno na: <https://doi.org/10.1080/16583655.2020.1778326> [10. rujna 2024.]
- Farooq M.A., Zhang X., Zafar M.M., Ma W., Zhao J. (2021) Roles of reactive oxygen species and mitochondria in seed germination. *Frontiers in Plant Science* [online]. Dostupno na doi: 10.3389/fpls.2021.781734 [10. rujna 2024.]
- Fernández-Marcos, M., Sanz, L., Lewis, D. R., Muday, G. K., Lorenzo, O. (2011) Nitric oxide causes root apical meristem defects and growth inhibition while reducing PIN-FORMED 1 (PIN1)-dependent acropetal auxin transport. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online], 108(45), 18506–18511. Dostupno na: <https://doi.org/10.1073/pnas.1108644108> [10. rujna 2024.]
- Fridman, A. (2008) *Plasma Chemistry* [online]. Cambridge: Cambridge University Press. Dostupno na: https://assets.cambridge.org/97805218/47353/frontmatter/9780521847353_frontmatter.pdf [10. rujna 2024.]
- Gagro, M. (1998) *Ratarstvo obiteljskog gospodarstva: Industrijsko i krmno bilje*. Zagreb: Hrvatsko agronomsko društvo.
- Gill, A., Loveys, B., Cowley, J., Hall, T., Cavagnaro, T., Burton, R. (2022) Physiological and morphological responses of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) to water deficit. *Industrial Crops and Products* [online]. Dostupno na: doi:10.1016/j.indcrop.2022.115331 [10. rujna 2024.]
- Grainge G., Nakabayashi K., Iza F., Leubner-Metzger G., Steinbrecher T. (2022) Gas-plasma-activated water impact on photo-dependent dormancy mechanisms in *Nicotiana tabacum* seeds. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. Dostupno na: doi:10.3390/ijms23126709 [10. rujna 2024.]
- Hooshyaripor, F., Sardari, J., Dehghani, M., Noori, R. (2022) A new concept of drought feeling against the meteorological drought. *Scientific Reports*, [online], 12. Dostupno na: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-21181-9> [10. rujna 2024.]
- Hrgović, S. (2006) Osnove agrotehnike proizvodnje ječma, zobi i raži. *Glasnik zaštite bilja*, 29(1).
- Ibrišević, M. (2022) *Primjena plazma aktivirane vode za poboljšavanje rasta presadnica kupusa (Brassica oleracea L.var.capitata)*. Završni rad. Veleučilište u Rijeci.
- Ivankov, A., Nauciene, Z., Zukiene, R., Degutyte-Fomins, L., Malakauskiene, A., Kraujalis, P., Venskutonis, P.R., Filatova, I., Lyushkevich, V., Mildaziene, V. (2020) Changes in growth and production of non-psychoactive cannabinoids induced by pre-sowing treatment of hemp seeds with cold plasma, vacuum and electromagnetic field. *Applied Sciences* [online], 10. Dostupno na: <https://doi.org/10.3390/app10238519> [10. rujna 2024.]
- Japundžić-Palenkić, B., Romanjek Fajdetić, N., Benković, R., Marković, M. (2023) Utjecaj hladne plazme na razvoj poljoprivrednih biljaka. U: Carović-Stanko, K., Širić, I. (ur.), *Proceedings of 58th Croatian & 18th International Symposium on Agriculture*. Zagreb: Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, str. 432-437.
- Javed, R., Mumtaz, S., Choi, E.H., Han, I. (2023) Effect of plasma-treated water with magnesium and zinc on growth of chinese cabbage. *International Journal of Molecular*

- Sciences* [online], 24(9), 8426. Dostupno na: doi: 10.3390/ijms24098426 [10. rujna 2024]
- Ji, S. H., Choi, K. H., Pengkit, A., Im, J. S., Kim, J. S., Kim, Y. H., Park, Y., Hong, E. J., Jung, S. K., Choi, E. H., Park, G. (2016) Effects of high voltage nanosecond pulsed plasma and micro DBD plasma on seed germination, growth development and physiological activities in spinach. *Archives of biochemistry and biophysics* [online], 605, 117–128. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.abb.2016.02.028> [10. rujna 2024]
- Jiang, B., Zheng, J., Qiu, S., Wu, M., Zhang, Q., Yan, Z., Xue, Q. (2014) Review on electrical discharge plasma technology for wastewater remediation. *Chemical Engineering Journal*, 236, 348-368.
- Jiang, H., Lin, Q., Shi, W., Yu, X., Wang, S. (2022) Food preservation by cold plasma from dielectric barrier discharges in agri-food industries. *Nutrition and Food Science Technology* [online], 9. Dostupno na: <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1015980> [8. rujna 2024.]
- Kasim, W.A., Osman, M.E., Omar, M.N., Abd El-Daim, I.A., Bejai, S., Meijer J. (2013) Control of drought stress in wheat using plant growth promoting bacteria. *Journal of Plant Growth Regulation*, 32, 122-130.
- Kosar, F., Akram, N., Ashraf, M. (2015) Exogenously-applied 5-aminolevulinic acid modulates some key physiological characteristics and antioxidative defense system in spring wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings under water stress. *South African Journal of Botany*, 96, 71–77.
- Kutasi, K., Krstulović, N., Jurov, A., Salamon, K., Popović, D., Milošević, S. (2021) Controlling: The composition of plasma-activated water by Cu ions. *Plasma Sources Science and Technology* [online], 30, 045015. Dostupno na: doi 10.1088/1361-6595/abf078 [10. rujna 2024.]
- Liu, Z., Li, C., Zhou, P., Chen X. (2016) A probabilistic assessment of the likelihood of vegetation drought under varying climate conditions across China. *Scientific Reports* [online], 6, 35105. Dostupno na: <https://doi.org/10.1038/srep35105> [10. rujna 2024.]
- Lončar-Petrinjak, I., Cindrić Kalin, K. (2024) Praćenje suše u Hrvatskoj standardiziranim oborinsko evapotranspiracijskim indeksom. *Geofizika* [online], 41, 1. Dostupno na <https://doi.org/10.15233/gfz.2024.41.2> [10. rujna 2024.]
- Marček, T., Kovač, T., Jukić, K., Lončarić, A., Ižaković, M. (2021) Application of high voltage electrical discharge treatment to improve wheat germination and early growth under drought and salinity conditions. *Plants* [online], 10(10). Dostupno na doi:10.3390/plants10102137 [10. rujna 2024.]
- Marček, T., Hamow, K.Á., Janda, T., Darko, E. (2023) Effects of high voltage electrical discharge (HVED) on endogenous hormone and polyphenol profile in wheat. *Plants* [online], 12(6). Dostupno na <https://doi.org/10.3390/plants12061235> [10. rujna 2024.]
- Maričević, M., Jukić, K., Sever, M., Stepinac, D., Ivanušić, T., Ikić, I. (2021) Nove sorte pšenoraži BC instituta. *Sjemenarstvo*, 32(1-2).
- Marjanović, D. (2017) *Osobine pšenoraži i uvjeti uzgoja*. Dostupno na: <https://www.agronomija.info/ratarstvo/osobine-psenorazi-i-uvjeti-uzgoja> [1. lipnja 2024]
- Marthandan, V., Geetha, R., Kumutha, K., Renganathan, V.G., Karthikeyan, A., Ramalingam, J. (2020) Seed priming: A feasible strategy to enhance drought tolerance in crop plants.

- International Journal of Molecular Sciences* [online], 21(21). Dostupno na doi: 10.3390/ijms21218258 [10. rujna 2024.]
- McGoverin, C., Snyders, F., Muller, N., Botes, W., Fox, G., Manley, M. (2011) A review of triticale uses and the effect of growth environment on grain quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture* [online], 91(7), 1155-1165. Dostupno na: <https://doi.org/10.1002/jsfa.4338> [8. rujna 2024.]
- Međimurec, T. (2018) *Agrotehnika proizvodnje pšenorazi*. Hrvatska poljoprivredno-šumarska savjetodavna služba. Dostupno na: <https://www.savjetodavna.hr/wp-content/uploads/publikacije/AgrotehnikaPsenorazWeb102018.pdf> [5. rujna 2024.]
- Mildaziene, V., Sera, B. (2022) Effects of non-thermal plasma treatment on plant physiological and biochemical processes. *Plants* [online], 11(8). Dostupno na <https://doi.org/10.3390/plants11081018> [10. rujna 2024]
- Miransari, M., Smith, D. L. (2014) Plant hormones and seed germination. *Environmental and Experimental Botany* [online], 99, 110-121. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2013.11.005> [11. rujna 2024]
- Moergoum, M., Gomez-Macpherson, H. (2004) *Triticale improvement and production* [online]. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. Dostupno na: <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/bff34a96-8fac-497f-b3e8-e627ea781c58/content> [11. rujna 2024]
- Nazir, F., Mahajan, M., Khatoon, S., Albaqami, M., Ashfaq, F., Chhillar, H., Chopra, P., Khan, M. I. R. (2023) Sustaining nitrogen dynamics: A critical aspect for improving salt tolerance in plants. *Frontiers in plant science* [online], 14. Dostupno na: <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1087946> [10. rujna 2024.]
- Olatunde, O. O., Shiekh, K. A., Benjakul, S. (2021) Pros and cons of cold plasma technology as an alternative non-thermal processing technology in seafood industry. *Trends in Food Science & Technology* [online], 111, 617–627. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.03.026> [10. rujna 2024.]
- Park, S. H., Pauli, C. S., Gostin, E. L., Staples, S. K., Seifried, D., Kinney, C., Vanden Heuvel, B. D. (2022) Effects of short-term environmental stresses on the onset of cannabinoid production in young immature flowers of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.). *Journal of Cannabis Research* [online], 4,1. Dostupno na: <https://doi.org/10.1186/s42238-021-00111-y> [10. rujna 2024.]
- Perčec Tadić, M., Gajić-Čapka, M., Zaninović, K., Cindrić, K. (2014) Drought vulnerability in Croatia. *Agriculturae Conspectus Scientificus* [online], 79 (1), 31-38. Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/120753> [10. rujna 2024.]
- Petersen, P. B., Saykally, R. J. (2005) Adsorption of ions to the surface of dilute electrolyte solutions: The Jones-Ray effect revisited. *Journal of the American Chemical Society*, 127, 15446–15452.
- Pomerant, Y., Shands, H. L. (2009) Food use of barley. *Critical Reviews in Food Technology* [online], 4(3), 377–394. Dostupno na: <https://doi.org/10.1080/10408397409527162> [8. rujna 2024.]
- Pospišil, A. (2010) *Ratarstvo 1. dio*. Čakovec: ZRINSKI.
- Rathore, V., Tiwari B. S., Nema, S. K. (2022) Treatment of pea seeds with plasma activated water to enhance germination, plant growth, and plant composition. *Plasma Chemistry*

- and Plasma Processing* [online], 42, 109–129. Dostupno na: doi: 10.1007/s11090-021-10211-5 [10. rujna 2024.]
- Raham IM. dMd., Begum, Z.A., Hasegawa, H. (2016) *Water Stress in Plants*. Rijeka: Intech Open. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.5772/61897> [11. rujna 2024]
- Rios-Gonzalez, K., Erdei, L., Lips, S. H. (2002) The activity of antioxidant enzymes in maize and sunflower seedlings as affected by salinity and different nitrogen sources. *Plant Science* [online], 162, 923–930. Dostupno na doi: 10.1016/S0168-9452(02)00040-7 [10. rujna 2024.]
- Ruamrungsri, S., Sawangrat, C., Panjama, K., Sojithamporn, P., Jaipinta, S., Srisuwan, W., Intanoo, M., Inkham, C., Thanapornpoonpong, S. (2023) Effects of using plasma-activated water as a nitrate source on the growth and nutritional quality of hydroponically grown green oak lettuces. *Horticulturae* [online], 9. Dostupno na doi: 10.3390/horticulturae9020248 [10. rujna 2024.]
- Sarinont, T., Katayama, R., Wada, Y., Koga, K., Shiratani, M. (2017) Plant growth enhancement of seeds immersed in plasma activated water. *MRS Advances*, 2, 995–1000.
- Sivachandiran, L., Khacef, A. (2017) Enhanced seed germination and plant growth by atmospheric pressure cold air plasma: Combined effect of seed and water treatment. *RSC Advances* [online], 7(4), 1822-1832. Dostupno na: <https://doi.org/10.1039/C6RA24762H> [8. rujna 2024.]
- Somjaimak, A., Prakrajang, K., Sarapirom, S., Rimjaem, S., Janpong, K. (2023) Study of plasma activated water and secondary effects on water using gamma radiation with FTIR in seeds germinations. *Journal of Physics: Conference Series* [online], 2431. Dostupno na: doi: 10.1088/1742-6596/2431/1/012013 [10. rujna 2024.]
- Stoica, M., Alexe, P., Mihalcea, L. (2014) Atmospheric cold plasma as new strategy for foods processing—an overview. *Innovative Romanian Food Biotechnology*, 15, 1-8.
- Svečnjak, Ž. (2023) Štete od ljetnih suša u proizvodnji kukuruza i soje. *Glasnik zaštite bilja*, 46(6), 26-33. Dostupno na: <https://doi.org/10.31727/gzb.46.6.3> [10. rujna 2024.]
- Škarpa, P., Klofáč, D., Krčma, F., Šimečková, J., Kozáková, Z. (2020) Effect of plasma activated water foliar application on selected growth parameters of maize (*Zea mays* L.). *Water* [online], 12. Dostupno na doi: 10.3390/w12123545 [10. rujna 2024.]
- Tadić, L., Brleković, T., Potočki, K., Leko-Kos, M. (2021) Application of principal component analysis to drought indicators of three representative Croatian regions. *Electronic Journal of the Faculty of Civil Engineering Osijek-e-GFOS* [online], 12 (22), 41-55. Dostupno na: <https://doi.org/10.13167/2021.22.4> [10. rujna 2024.]
- Tarabová, B., Lukeš, P., Hammer, M. U., Jablonowski, H., von Woedtke, T., Reuter, S., Machala, Z. (2019) Fluorescence measurements of peroxyxynitrite/ peroxyxynitrous acid in cold air plasma treated aqueous solutions. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 21(17), 8883–8896.
- Thabet, S. G., Moursi, Y. S., Karam, M. A., Graner, A., Alqudah, A.M. (2018) Genetic basis of drought tolerance during seed germination in barley. *PLOS ONE* 13(11). Dostupno na: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206682> [10. rujna 2024.]
- Than, H. A. Q., Pham, T. H., Nguyen, D. K. V., Pham, T. H., Khacef, A. (2022) Non-thermal plasma activated water for increasing germination and plant growth of *Lactuca sativa* L. *Plasma Chemistry Plasma Processing* [online], 42, 73–89. Dostupno na doi: 10.1007/s11090-021-10210-6 [10. rujna 2024.]

- Tong, J., He, R., Xiaoli, Z., Ruoting, Z. (2014) Effects of atmospheric pressure air plasma pretreatment on the seed germination and early growth of *Andrographis paniculata*. *Plasma Science and Technology* [online], 16, 3. Dostupno na: doi: 10.1088/1009-0630/16/3/16 [10. rujna 2024.]
- Trenberth, K. E., Zhang, Y., Fasullo, J. T., Taguchi, S. (2015) Climate variability and relationships between top-of-atmosphere radiation and temperatures on Earth. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres* [online], 120, 3642–3659. Dostupno na: doi:10.1002/2014JD022887 [10. rujna 2024.]
- Tresk Penezić, D., Bogović, M. (2016) *Koraci do uspješne proizvodnje industrijske konoplje (Cannabis sativa L.)* [online]. Dostupno na: <https://www.savjetodavna.hr/wp-content/uploads/publikacije/KoraciKonoplja772016.pdf> [5. lipnja 2024.]
- Vojvoda, J. (2019) Hladna plazma kao nova tehnologija u obradi hrane. *Reaktor ideja*, 4(2), 1–32. Dostupno na: https://www.hdki.hr/hdki/casopisi/reaktor_ideja [10. rujna 2024.]
- Wang, L., Macko, S. A. (2011) Constrained preferences in nitrogen uptake across plant species and environments. *Plant Cell Environment* [online]. 34, 525–534. Dostupno na:doi: 10.1111/j.1365-3040.2010.02260.x [10. rujna 2024.]
- Wong, K. S., Chew, N. S. L., Low, M., Tan, M. K. (2023) Plasma-activated water: Physicochemical properties, generation techniques, and applications. *Processes* [online], 11. Dostupno na <https://doi.org/10.3390/pr11072213> [10. rujna 2024.]
- Whole grains council: Sprouted whole grains* Dostupno na: [shttps://wholegrainscouncil.org/whole-grains-101/whats-whole-grain-refined-grain/sprouted-whole-grains](https://wholegrainscouncil.org/whole-grains-101/whats-whole-grain-refined-grain/sprouted-whole-grains) [8. rujna 2024.]
- Yang, X., Zhang, C., Li, Q., Cheng, J. H. (2023) Physicochemical properties of plasma-activated water and its control effects on the quality of strawberries. *Molecules* [online], 16, 28(6). Dostupno na doi: 10.3390/molecules28062677 [10. rujna 2024.]
- Zhang, Q., Liang, Y., Feng, H., Ma, R., Tian, Y., Zhang, J., Fang, J. (2013) A study of oxidative stress induced by non-thermal plasma-activated water for bacterial damage. *Applied Physics Letters* [online], 102. Dostupno na: <https://doi.org/10.1063/1.4807133> [10. rujna 2024.]
- Zhao, Y., Patange, A., Zun, D., Kumar, B. T. (2020) Plasma-activated water: Physicochemical properties, microbial inactivation mechanisms, factors influencing antimicrobial effectiveness, and applications in the food industry. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* [online], 19, 6, 3951-3979. Dostupno na doi:10.1111/1541-4337.12644 [10. rujna 2024.]
- Zheng Y., Zhu Y., Zheng Y., Hu J., Chen J., Deng, S. (2022) The effect of dielectric barrier discharge plasma gas and plasma-activated water on the physicochemical changes in button mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Foods*, 11 [online]. Dostupno na doi: 10.3390/foods11213504 [10. rujna 2024.]