Učinak ekstrakata koprive (Urtica dioica L.) na vegetativni rast, sastavnice prinosa i kemijski sastav graha mahunara (Phaseolus vulgaris L.)

Maričić, Branka

Doctoral thesis / Disertacija

2021

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

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:306744

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Sveučilište u Zagrebu

AGRONOMSKI FAKULTET

Branka Maričić

UČINAK EKSTRAKATA KOPRIVE (*Urtica dioica* L.) NA VEGETATIVNI RAST, SASTAVNICE PRINOSA I KEMIJSKI SASTAV GRAHA MAHUNARA (*Phaseolus vulgaris* L.)

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2021.

University of Zagreb

FACULTY OF AGRICULTURE

Branka Maričić

THE EFFECT OF NETTLE EXTRACTS (*Urtica dioica* L.) ON VEGETATIVE GROWTH, YIELD COMPONENTS AND CHEMICAL COMPOSITION OF GREEN BEANS (*Phaseolus vulgaris* L.)

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2021.

Sveučilište u Zagrebu

AGRONOMSKI FAKULTET

Branka Maričić

UČINAK EKSTRAKATA KOPRIVE (*Urtica dioica* L.) NA VEGETATIVNI RAST, SASTAVNICE PRINOSA I KEMIJSKI SASTAV GRAHA MAHUNARA (*Phaseolus vulgaris* L.)

DOKTORSKI RAD

Mentorice:

Doc. dr. sc. Sanja Radman
Izv. prof. dr. sc. Smiljana Goreta Ban

Zagreb, 2021.

University of Zagreb

FACULTY OF AGRICULTURE

Branka Maričić

THE EFFECT OF NETTLE EXTRACTS (*Urtica dioica* L.) ON VEGETATIVE GROWTH, YIELD COMPONENTS AND CHEMICAL COMPOSITION OF GREEN BEANS (*Phaseolus vulgaris* L.)

DOCTORAL THESIS

Supervisors:

Assistant Professor Sanja Radman, Ph.D.
Associate Professor Smiljana Goreta Ban, Ph.D.

Zagreb, 2021.

BIBLIOGRAFSKA STRANICA

Bibliografski podaci:

- Znanstveno područje: Biotehničko područje
- Znanstveno polje: Poljoprivreda
- Znanstvena grana: Povrćarstvo
- Institucija: Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zavod za povrćarstvo
- Voditelj doktorskog rada: doc. dr. sc. Sanja Radman i izv. prof. dr. sc. Smiljana Goreta Ban
- Broj stranica: 112
- Broj slika: 14
- Broj tablica: 15
- Broj grafikona: 28
- Broj priloga: 3
- Broj literaturnih referenci: 144
- Datum obrane doktorskog rada:
- Sastav povjerenstva za obranu doktorskog rada:

    1. Doc. dr. sc. Sanja Fabek Uher
    2. Dr. sc. Igor Palčić
    3. Doc. dr. sc. Zoran Zorić

Rad je pohranjen u:

Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, Ulica Hrvatske Bratske Zajednice 4 p.p. 550, 10 000 Zagreb.

Knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Agronomskog fakulteta, Svetošimunska cesta 25, 10 000 Zagreb.

Tema rada prihvaćena je na sjednici Fakultetskog vijeća Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, održanoj 7. svibnja 2019. te odobrena na 12. sjednici Senata Sveučilišta u Zagrebu, održanoj 9. srpnja 2019.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja, **Branka Maričić**, izjavljujem da sam samostalno izradila doktorski rad pod naslovom:

UČINAK EKSTRAKATA KOPRIVE (*Urtica dioica* L.) NA VEGETATIVNI RAST, SASTAVNICE PRINOSA I KEMIJSKI SASTAV GRAHA MAHUNARA (*Phaseolus vulgaris* L.)

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica ovoga doktorskog rada;
- da je doktorski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u izradi istoga nisam koristila drugim izvorima osim onih koji su u njemu navedeni;
- da sam upoznata odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

Zagreb, 2021. godine

_____

Potpis doktorandice

Ocjena doktorskog rada

Ovu disertaciju je ocijenilo povjerenstvo u sastavu:

1. Doc. dr. sc. Sanja Fabek Uher,
   Docentica Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

2. Dr. sc. Igor Palčić,
   znanstveni suradnik Instituta za poljoprivredu i turizam, Poreč

3. Doc. dr. sc. Zoran Zorić,
   viši znanstveni suradnik Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Disertacija je obranjena na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu,
_____2021. godine pred povjerenstvom u sastavu:

1. Doc. dr. sc. Sanja Fabek Uher,
   _____
   Docentica Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

2. Dr. sc. Igor Palčić,
   _____
   znanstveni suradnik Instituta za poljoprivredu i turizam, Poreč

3. Doc. dr. sc. Zoran Zorić,
   _____
   viši znanstveni suradnik Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Informacije o mentoricama:

Mentorica: Doc. dr. sc. Sanja Radman, znanstvena suradnica

Sanja Radman (djevojačko Stubljar) rođena je 6. srpnja 1986. godine u Novom Mestu. Nakon završene Gimnazije u Karlovcu, 2005. godine upisuje Preddiplomski studij Hortikultura na Sveučilištu u Zagrebu Agronomski fakultet, kojeg završava obranom završnog rada 2008. godine. Iste godine upisuje Diplomski studij Voćarstvo, a završava 2010. godine obranom diplomskog rada. Godine 2011. upisuje Poslijediplomski doktorski studij Poljoprivredne znanosti te se zapošljava kao znanstveni novak-asistent na Sveučilištu u Zagrebu Agronomski fakultet, na Zavodu za povrćarstvo. Doktorsku disertaciju na temu *Utjecaj gnojidbe dušikom i načina uzgoja na kemijski sastav dvodomne koprive (Urtica dioica* L.*)* obranila je 2015. godine. U znanstveno zvanje znanstvenog suradnika te znanstveno–nastavno zvanje docenta izabrana je 2017. godine. Kao autor ili koautor objavila je ukupno 29 znanstvenih radova, od toga pet radova u kategoriji a1, osam radova u kategoriji a2 i 16 radova u kategoriji a3. Sudjelovala je na 18 međunarodnih znanstvenih skupova i jednom nacionalnom znanstvenom skupu, na kojima je osobno prezentirala ukupno 13 priopćenja. Suradnica je na četiri predmeta na preddiplomskom studiju (*Osnove uzgoja aromatičnog i ljekovitog bilja; Osnove povrćarstva; Osnove proizvodnje povrća; Zaštićeni prostori*) i isto toliko na diplomskom studiju (*Suvremena proizvodnja aromatičnog i ljekovitog bilja; Organsko-biološka proizvodnja povrća; Proizvodnja sjemena povrća; Proizvodnja i prerada jestivih i ljekovitih gljiva*) te jednom predmetu na poslijediplomskom doktorskom studiju (*Tehnološki čimbenici proizvodnje ljekovitog bilj*a). Bila je neposredna voditeljica u izradi 17 završnih i 16 diplomskih radova te mentorica dva završna i jednog diplomskog rada, što je rezultiralo objavom ukupno 14 znanstvenih radova u koautorstvu sa studentima. Trenutno je mentorica u izradi doktorske disertacije u sklopu znanstvenog projekta Hrvatske zaklade za znanost naslova *Nutritivna i funkcionalna vrijednost koprive (Urtica dioica* L.*) primjenom suvremenih hidroponskih tehnika uzgoja (URTICA-BioFuture*), na kojem je suradnica. Suradnica je na još jednom znanstvenom [*Izolacija i enkapsulacija bioaktivnih molekula samonikle i kultivirane koprive i komorača i učinci na fiziologiju organizma (PlantBioPower*)] i nastavnom (*Unapređenje stručne prakse na preddiplomskim i diplomskim studijima Agronomskog fakulteta*) projektu. Bila je članica organizacijskog odbora međunarodnog znanstvenog simpozija „6th Balkan Symposium on Vegetables and Potatoes“, održanog u Zagrebu 2014. godine te urednica znanstvenog zbornika „Book of Abstracts 6th Balkan Symposium on Vegetables and Potatoes“ i moderatorica sekcije „Vegetable Growing, Ornamental, Aromatic and Medicinal Plants“ na međunarodnom simpoziju agronoma u Vodicama 2019. godine. Od 2011. godine članica je Međunarodnog znanstvenog hortikulturnog društva – International Society for Horticultural Science (ISHS). Od 2018. je članica stručne radne skupina za Codex Alimentarius - Odbor za

začine i začinsko bilje u Ministarstvu poljoprivrede RH. Trenutno je članica Uređivačkog Odbora međunarodnog znanstvenog časopisa Journal of Central European Agriculture (JCEA). Pored navedenog, recenzirala je 15 znanstvenih radova prijavljenih za publiciranje u znanstvenim časopisima, od kojih su dva iz kategorije a1, devet iz kategorije a2 i četiri iz kategorije a3. Vezano uz stručnu djelatnost, doc. dr. sc. Sanja Radman objavila je nekoliko stručnih te stručno-popularnih radova, aktivno je sudjelovala na stručnim skupovima kao i ostalim javnim predstavljanjima Fakulteta (Dani očaranosti biljkama, Dani otvorenih vrata, Smotra fakulteta), čime kontinuirano pridonosi popularizaciji agronomske struke. Od 2016. godine voditeljica je Vrtlarske grupe, osnovane u okviru izvannastavnih aktivnosti Sveučilišta u Zagrebu Agronomskog fakulteta.

Mentorica: Izv. prof. dr. sc. Smiljana Goreta Ban, znanstvena savjetnica u trajnom zvanju

Smiljana Goreta Ban, znanstvena savjetnica u trajnom zvanju, diplomirala je 1992. godine na Agronomskom fakultetu u Zagrebu na smjeru Voćar, vinogradar, vinar. Poslijediplomski studij iz „Genetike i oplemenjivanja bilja“ završila je 1997. godine te magistrirala na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, na istom fakultetu je i doktorirala 2002. godine te stekla pravo na akademski naslov doktora biotehničkih znanosti, znanstvenog polja Agronomija. U znanstveno zvanje znanstvene savjetnice u trajnom zvanju te znanstveno-nastavno naslovno zvanje izvanredne profesorice izabrana je 2019. godine. Težište znanstvene aktivnosti dr. sc. Goreta Ban najvećim je dijelom vezano uz granu povrćarstvo, no s obzirom na istraživanja vezana uz fiziologiju stresa te biologiju cvatnje intenzivno je radila i na drugim poljoprivrednim kulturama. Sa svrhom boljeg razumijevanja morfoloških, bioloških i metaboličkih procesa koji doprinose otpornosti biljke na biotički i abiotički stres u radu je primjenjivala suvremene analitičke metode te metode statističke obrade podataka. Od 1994. do 2014. bila je zaposlena na Institutu za jadranske kulture i melioraciju krša u Splitu, a od 2014. godine radi na Institutu za poljoprivredu i turizam u Poreču. Također, u razdoblju od 2012. do 2014. godine bila je ravnateljica Agencije za poljoprivredno zemljište. Od 2001. do 2003. godine obnašala je dužnost predstojnice Središnjeg zavoda Instituta za jadranske kulture – Split, od 2003. do 2009. predstojnice Zavoda za biljnu proizvodnju navedenog Instituta, a od 2011. do 2014. dužnost pomoćnice ravnatelja. Ujedno je bila/je članica Upravnog vijeća Instituta za jadranske kulture i melioraciju krša (2004. - 2008.), Vijeća za istraživanja u poljoprivredi (2007. - 2010.), Upravnog vijeća Hrvatske poljoprivredne agencije (2012. - 2014.), Upravnog odbora Hrvatske zaklade za znanost (od 2013. – 2021.), te Nadzornog odbora Akademije poljoprivrednih znanosti (od 2017. do danas). Aktivno je sudjelovala u radu niza stručnih i znanstvenih odbora i povjerenstava. Tijekom svoje karijere dodatno se usavršavala u inozemstvu te je posjetila ili provela određeno vrijeme u srodnim institucijama u Italiji, Nizozemskoj, Njemačkoj i SAD-u. Dr. sc. Goreta Ban je dobitnica stipendije Cochran Fellowship Programa te je godinu dana provela na Texas A&M University kao stipendist Fulbright Programa. Dugi niz godina je članica Hrvatskog agronomskog društva te International Society for Horticultural Science. Dr. sc. Smiljana Goreta Ban sudjeluje ili je sudjelovala u radu na trideset i četiri (34) znanstvenoistraživačka projekta, od kojih je na sedam bila/je voditeljica, a na preostalima je bila/je suradnica. Od toga je osam međunarodnih, od kojih je na dva bila/je voditeljica. Kao autorica ili koautorica objavila je ukupno sto dvadeset devet (129) recenziranih znanstvenih radova, i to: pedest sedam (57) znanstvenih radova iz skupine a1, trideset osam (38) znanstvenih radova iz skupine a2, zatim trideset i četiri (34) znanstvena rada iz skupine a3 te cijeli niz ostalih recenziranih publikacija. Sudjelovala je u izvođenju seminara i predavanja na

modulu „Povrćarstvo“ (2007. godine) na Stručnom studiju „Poljoprivreda krša“ te kao suradnica u izvođenju nastave na Međusveučilišnom preddiplomskom studiju „Mediteranska poljoprivreda“, seminari i predavanja na modulu „Osnove povrćarstva“ i modulu „Fiziologija bilja“. Trenutno je nositeljica kolegija „Rasadničarstvo“ na Stručnom studiju Mediteranske poljoprivrede na Veleučilištu u Rijeci. Dr. sc. Goreta Ban je bila mentorica na tri doktorske disertacije, mentorica jednog diplomskog rada te pet završnih radova.

Zahvala

Od srca sam zahvalna svim dragim osobama koje su sa mnom podijelile ovaj dio životnog puta i podarili mi blagoslove, lekcije i iskustva.

Zahvaljujem mentoricama Doc. dr. sc. Sanji Radman i Izv. prof. dr. sc. Smiljani Goreta Ban na savjetima i vodstvu tijekom prijave teme disertacije, njene izrade i obrane.

Disertacija je izrađena na Institutu za poljoprivredu i turizam u Poreču te na OPG-u Marinko Nekić, stoga se zahvaljujem ravnatelju Instituta dr.sc. Deanu Banu i vlasniku obiteljskog gospodarstva Marinku Nekiću na pruženoj suradnji.

Nadalje zahvaljujem se dragim kolegama s Instituta za jadranske kulture i melioraciju krša u Splitu, Agronomskog fakulteta u Zagrebu, Zavoda za melioracije te Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Centra za prehrambenu tehnologiju i biotehnologiju Zadar na znanstvenoj podršci. Posebnu zahvalnost dugujem Igoru Kaluđeroviću, bacc. ing. agr., te upravi Kaznionice u Valturi koji su omogućili da na njihovim površinama prikupim koprivu potrebnu za provedbu istraživanja.

Srdačno zahvaljujem Dr. sc. Igor Palčiću na podršci i pomoći u objavi znanstvenog rada kao i izradi disertacije.

Posebnu zahvalnost na podršci dugujem mojoj matičnoj instituciji Sveučilištu u Zadru i kolegama s Odjela za ekologiju, agronomiju i akvakulturu čiji sam djelatnik.

Veliku zahvalnost dugujem svojim dragim kolegama i bliskim prijateljima kao i svojim studentima na praktičnoj, stručnoj, znanstvenoj i prijateljskoj podršci koja je bila nezamjenjiva.

Hvala Dubravki Lisičak, prof. na nesebičnoj pomoći i podršci prilikom prijave disertacije i administracije.

Zahvaljujem svojim roditeljima, Branimiru i Miri, i čitavoj obitelji na podršci koju mi pružaju tijekom cijelog životnog puta.

Posebna zahvalnost dragom Bogu koji mi je podario utjehu, strpljenje kao i mudrost u ovom izazovu.

Ovaj doktorat posvećujem svom sinu Tinu Lucijanu kao potporu za njegove životne izazove i ciljeve, te mojoj najvjernijoj pratiteljici Anii koja me slijedila u svim izazovima.

SAŽETAK

Jedan od izazova u suvremenoj poljoprivrednoj proizvodnji je proizvodnja hrane sa svrhom zadovoljenja potreba rastuće populacije bez ugrožavanja prirodnih resursa. Osim mineralnih gnojiva sve se više istražuju alternative u vidu organskih gnojiva, s ciljem povećanja prinosa te nutritivne vrijednosti poljoprivrednih kultura. Najčešće primjenjivana organska gnojiva su stajski gnoj, dehidrirana organska gnojiva i kompost, a uz njih učestalo se primjenjuju i botanički pripravci (biljni vodeni ekstrakti) od samoniklih i/ili ljekovitih biljaka koji mogu stimulativno djelovati na rast i razvoj biljaka te jačanje njihove otpornosti na abiotički i biotički stres. Glavni nedostatak ovih ekoloških pripravaka je neprovjeren i promjenjiv kemijski sastav, slabija djelotvornost i kraće razdoblje djelovanja. Ovisno o biljnoj vrsti pripravci od ljekovitih biljaka primjenjuju se kao gnojivo (bio-gnojivo) ili mogu djelovati protiv uzročnika bolesti te štetnika (bio-pesticidi). Kopriva (*Urtica dioica* L.) je široko rasprostranjena samonikla i lako dostupna ljekovita vrsta, a može se uzgajati i kao kultivirana što predstavlja veliki potencijal ove vrste za izradu vodenih ekstrakata. Od davnina je poznato da se kao bio-insekticid primijenjuje krakotrajni ekstrakt koprive, dok dugotrajni ekstrakt ima gnojidbeni učinak. Nema znanstvenih istraživanja o učincima katkotrajnog vodenog ekstrakta kao gnojiva.

Cilj ovog istraživanja je bio utvrditi utjecaj primjene dugog i kratkog vodenog ekstrakta koprive na kemijski sastav, pokazatelje vegetativnog rasta i prinos graha mahunara (*Phaseolus vulgaris* L.) u poljskom pokusu na dvije klimatski i pedološki različite lokacije (Zadar i Poreč) te u dva roka uzgoja (proljeće i jesen). Kratki ekstrakt (KE) je pripremljen ekstrakcijom suhe herbe (183 g/10 L vode) u vodi 24 sata, a dugi ekstrakt (DE) u istom omjeru s vodom ekstrakcijom tijekom 14 dana. Oba ekstrakta su razrijeđena prije upotrebe u omjeru 1:3, pri čemu se KE koristio folijarno, a DE zalijevanjem putem tla. Pokus je bio postavljen po slučajnom bloknom rasporedu u četiri ponavljanja. Navedeni tretmani su se provodili na pokusnim parcelama u jednom, dva ili tri tretiranja graha mahunara tijekom vegetacije, te uspoređivali s parcelama gnojenim s dušičnim mineralnim gnojivom urea (46% N) i kontrolnim varijantama bez primjene gnojiva.

Utjecaj gnojidbenih tretmana bio je promjenjiv u odnosu na lokaciju i rok uzgoja. Svi vegetativni pokazatelji te prinos, zatim ukupni fenoli, antioksidacijska aktivnost te količina minerala (P, K, S i Mn) u grahu mahunaru bili su značajno veći na lokaciji Poreč, kao rezultat početnih viših vrijednosti nekih svojstava plodnost tla. Jesenski uzgoj bio je povoljniji za vegetativne parametre rasta biljke, ali ne i za prinos i veličinu mahuna. Udio fenola i

antioksidacijska aktivnost kod graha mahunara bili su veći u jesenskom uzgoju kao i količine P, Mg, S, Fe i Mn.

Mineralna gnojidba ureom očekivano je rezultirala znatno većim vrijednostima većine vegetativnih pokazatelja, ali su opravdano veću antioksidacijsku aktivnost te više ukupnih fenola ostvarile varijante gnojene dugim ekstraktom dva puta tijekom vegetacije graha (DE2).

Uspoređujući međusobno vodene ekstrakte koprive, folijarna gnojidba KE pokazala se gotovo jednako učinkovitom na vegetativne pokazatelje graha mahunara kao i aplikacija DE putem tla. Organska gnojidba koprivom rezultirala je većom količinom željeza u herbi graha mahunara u odnosu na biljake gnojene s ureom.

Ključne riječi: grah mahunar, kopriva, biljna gnojiva, ekološka poljoprivreda, vodeni ekstrakt.

ABSTRACT

One of the main challenges in modern agricultural production is how to produce healthy food that meets the needs of a growing population without compromising natural resources. In addition to synthetically produced chemical fertilizers, organic fertilizers are increasingly being explored, in order to support the yield as well as nutritional values of agricultural crops. The most commonly used organic fertilizers are manure, dehydrated organic fertilizers and compost. Organic fertilizers are often combined with various botanical preparations (herbal aqueous extracts) from wild and/or medicinal plants that can stimulate plant growth and development, while strengthening plants' resistance to abiotic and biotic stress. The main disadvantages of these ecological and botanical preparations are variations in their chemical composition, lower and shorter period of efficiency . Depending on the crop species,various medicinal plant preparations are used as fertilizer (bio-fertilizer) and can also act against pathogens and pests (bio-pesticides). Nettle (*Urtica dioica* L.) is a wild grow and easily available medicinal species, which can also be grown as a cultivated species, making this plant as a great potential for the aquatic extract production. It has long been known that a short-term nettle extract is used as a bio-insecticide, while a long-term nettle extract has a fertilizer effect. There is a lack of scientific research analyzing the impacts of a short-term aqueous extract as bio-fertilizer.

The goal of this research was to analyse the effects of long and short aqueous nettle extracts on the chemical composition, vegetative parameters and yield component of green bean (*Phaseolus vulgaris* L.). The field experiment was established at two climatically and pedologically different locations in Croatia (Zadar and Poreč) during two growing seasons (spring and autumn). A short extract (KE) was prepared by extracting dry nettle (183g/10L of water) for 24 hour; a long extract (DE) was prepared in the same ratio with water, but for 14 days. Both extracts were diluted before application in a ratio of 1:3, KE was applied foliarly, and DE by soil watering. The experiment was set up according to a randomized block schedule (RCBD) in four replications. These treatments were performed on experimental plots in one, two or three treatments of green bean during the growing season, and compared with plots fertilized with urea nitrogen fertilizer (46% N) and control variants without fertilizer application.

The impact of fertilization treatments was variable with respect to location and growing date. All vegetative parameters and yield, then total phenols, antioxidant activity and the amount of minerals (P, K, S and Mn) in green bean were significantly higher at the location Poreč, as a result of the initial higher values of some soil fertility properties. Autumn cultivation was more favorable for the vegetative parameters of plant growth, but not for the yield and

size of pods. The phenol content and antioxidant activity in green bean were higher in autumn cultivation, the same as amounts of P, Mg, S, Fe and Mn.

As expected, urea mineral fertilization resulted in significantly higher values of most vegetative parameters, but justifiably higher antioxidant activity and more total phenols were achieved by variants fertilized with long extract twice during bean vegetation (DE2).

Comparing the aqueous extracts of nettle with each other, foliar fertilization of KE proved to be almost as effective on the vegetative parameters of green bean as the application of DE through the soil. Organic nettle fertilization resulted in a higher amount of Fe in the herb of green bean compared to plants fertilized with urea.

Key words: green bean, nettle, plant fertilizers, organic farming, aqueous extract.

SADRŽAJ

1. UVOD 1
1.1. Hipoteze i ciljevi istraživanja 4
2. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA 5
2.1. Grah mahunar (*Phaseolus vulgaris* L.) 5
2.2.1. Kopriva u medicini 8
2.2.2. Kopriva kao pesticid 9
2.2.3. Kopriva kao gnojivo 9
2.3. Kemijski sastav biljaka 10
2.3.1. Dušik 10
2.3.2. Fosfor 11
2.3.3. Kalij 12
2.3.4. Kalcij 13
2.3.5. Magnezij 13
2.3.6. Željezo 14
2.3.7. Cink 14
2.3.8. Mangan 15
2.3.9. Bakar 15
2.3.10. Fenoli i antioksidacijska svojstva 16
3. MATERIJAL I METODE ISTRAŽIVANJA 19
3.1. Provedba pokusa 19
3.1.1. Primijenjeni tretmani u pokusu 19
3.1.2. Lokacije postavljanja pokusa 22
3.1.3. Rok uzgoja graha mahunara 23
3.2. Kemijska analiza tla 24
3.3. Kemijska analiza bilja 24
3.3.1. Mineralni sastav vodenog ekstrakta koprive 24
3.3.2. Kiselost i električna provodljivost vodenih otopina koprive 25
3.3.3. Određivanje ukupnog dušika i mineralnog sastava u grahu mahunaru 25
3.3.4. Određivanje ukupnih fenola u ekstraktima koprive i grahu mahunaru 26
3.3.5. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta DPPH metodom u ekstraktima koprive i grahu mahunaru 27

3.3.6. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta FRAP metodom u ekstraktima koprive i grahu mahunaru 28
3.4. Vegetativna mjerenja biljke graha mahunara 28
3.5. Sastavnice prinosa 30
3.6. Statistička analiza podataka 30
3.7. Meteorolški podaci lokaliteta tijekom 31
3.7.1 Osnovna klimatska obilježja lokacija Zadar - Baštica i Poreč 31
3.7.2. Usporedba klimatskih obilježja lokacija Zadar - Baštica i Poreč za vrijeme provedbe pokusa 37
4. REZULTATI 39
4.1. Analiza tla na početku pokusa 39
4.2. Pokazatelji kemijskih svojstva vodenih ekstrakata koprive 39
4.3. Pokazatelji vegetativnog rasta 41
4.3.1. Visina graha mahunara 42
4.3.2. Promjer stabljike graha mahunara 43
4.3.3. Broj listova graha mahunara 44
4.3.4. Masa suhog lista graha mahunara 45
4.3.5. Masa suhe stabljike graha mahunara 46
4.3.6. Površina lista graha mahunara 48
4.4. Pokazatelji vegetativnog rasta mahuna 50
4.4.1. Dužina mahuna graha mahunara 51
4.4.2. Promjer mahuna graha mahunara 52
4.5. Pokazatelji prinosa mahuna 54
4.5.1. Ukupni prinos mahuna graha mahunara 55
4.5.2. Prinos mahuna graha mahunara po m^2 58
4.6. Kemijska analiza suhe herbe graha mahunara 60
4.6.1. Ukupni fenoli 61
4.6.2. Antioksidacijska aktivnost - DPPH metoda 62
4.6.3. Antioksidacijska aktivnost – FRAP metoda 63
4.7. Ukupni dušik i mineralni sastav graha mahunara 65
4.7.1. Ukupni dušik (N) 67
5.7.2. Fosfor (P) 69
4.7.3. Kalij (K) 71
4.7.4. Kalcij (Ca) 73

4.7.5. Magnezij (Mg) 73
4.7.6. Sumpor (S) 74
4.7.7. Željezo (Fe) 75
4.7.8. Cink (Zn) 76
4.7.9. Mangan (Mn) 77
4.7.10. Bakar (Cu) 79
5. RASPRAVA 81
6. ZAKLJUČCI 87
7. POPIS LITERATURE 88
8. PRILOZI 100
Prilog 1. Vegetativna mjerenja biljke graha mahunara 100
Prilog 2. Kemijske analize suhe herbe graha mahunara 104
Prilog 3. Ukupni dušik i mineralni sastav nadzemnog dijela biljke graha mahunara 108
ŽIVOTOPIS 112

POPIS KRATICA

ANOVA	Analiza varijance
AOAC	Associaton of Official Analytical Chemists
DE	Dugi ekstrakt
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidraziaza
EC	Električna konduktivnost
FRAP	Antioksidativna snaga reducirajućeg željeza
GAE	Ekvivalent galne kiseline
KE	Kratki ekstrakt
pH	Mjera kiselost i bazičnosti
st	Suha tvar
TE	Ekvivalent troloxa
U	Urea

POPIS TABLICA

Tablica 1. Rokovi sjetve i tretiranja graha mahunara
Tablica 2. Plan tretiranja pokusnih gredica
Tablica 3. Vegetacijski kalendar graha mahunara za proljetni i jesenski rok sjetve
Tablica 4. Kemijska svojstva tla u Poreču i Zadru prije početka pokusa
Tablica 5. Mineralni sastav vodenog ekstrakta koprive
Tablica 6. Prosječna mjesečna temperatura zraka i suma oborina: Zadar – Baštica, Poreč; od 1995. do 2015. godine.
Tablica 7. Meteorološki pokazatelji dekadnih temperatura, s značajnim temperaturnim naznakama (negativne temperature, topli i vrući dani) - Zadar-Baštica 2016. godine
Tablica 8. Meteorološki pokazatelji dekadnih temperatura, s značajnim temperaturnim naznakama (negativne temperature, topli i vrući dani) – Poreč, 2016. godina
Tablica 9. Analiza tla u Poreču i Zadru na početku pokusa
Tablica 10. Mineralni sastav vodenih ekstrakata koprive nakon ekstrakcije 24 sata (KE-kratki ekstrakt) i 14 dana (DE - dugi ekstrakt)
Tablica 11. Vegetativna mjerenja biljke graha mahunara
Tablica 12. Vegetativna mjerenja mahuna graha mahunara
Tablica 13. Prinos mahuna biljke graha mahunara
Tablica 14. Rezultati kemijskih analiza lista graha mahunara
Tablica 15. Ukupni dušik i mineralni sastav nadzemnog dijela biljke graha mahunara

POPIS GRAFIKONA

Grafikon 1. Meteorološki podaci za minimalnu, maksimalnu i srednju temperaturu zraka i količinu oborina za lokaciju Zadar-Baštica, 2016. godina.
Grafikon 2. Meteorološki podaci za minimalnu, maksimalnu i srednju temperaturu zraka i količinu oborina za lokaciju Poreč, 2016. godina.
Grafikon 3. pH vrijednost kratkog KE (24 sata) i dugog ekstrakta koprive DE (14 dana)
Grafikon 4. Električna provodljivost kratkog KE (24 sata) i dugog ekstrakta koprive DE (14 dana)
Grafikon 5. Utjecaj interakcije lokacije i roka (L × R) na promjer stabljike (mm) graha mahunara ($p \leq 0,01$)
Grafikon 6. Utjecaj interakcije lokacije i roka (L × R) na broj listova biljke graha mahunara ($p \leq 0,05$)
Grafikon 7. Utjecaj interakcije lokacije i roka (L × R) na masu suhog lista (g) biljke graha mahunara ($p \leq 0,001$)
Grafikon 8. Utjecaj interakcije lokacije i roka (L × R) na masu suhe stabljike graha mahunara ($p \leq 0,001$)
Grafikon 9. Utjecaj interakcije lokacije i roka (L × R) na površinu lista graha mahunara ($p \leq 0,001$)
Grafikon 10. Utjecaj interakcije lokacije i roka (L × R) na dužinu mahune ($p \leq 0,001$)
Grafikon 11. Utjecaj interakcije lokacije i roka (L × R) na promjer mahune ($p \leq 0,001$)
Grafikon 12. Utjecaj interakcije tretmana i lokacije (T× L) na promjer mahune ($p \leq 0,05$)
Grafikon 13. Utjecaj interakcije lokacije i roka (L × R) na ukupni prinos mahuna ($p \leq 0,001$)
Grafikon 14. Utjecaj interakcije tretmana, lokacije i roka (T × L × R) na ukupni prinos mahuna ($p \leq 0,01$)
Grafikon 15. Utjecaj interakcije lokacije i roka (L × R) na prinos mahuna po m^2 ($p \leq 0,001$)
Grafikon 16. Utjecaj interakcije tretmana, lokacije i roka (T × L × R) na ukupni prinos mahuna ($p \leq 0,01$)
Grafikon 17. Utjecaj interakcije tretmana, tretmana i roka (T × R) na sadržaj ukupnih fenola ($p \leq 0,05$)
Grafikon 18. Utjecaj interakcije tretmana i lokacije (T × L) na sadržaj ukupnih fenola ($p \leq 0,05$)
Grafikon 19. Utjecaj interakcije tretmana i roka (T × R) na antioksidacijsku aktivnost - FRAP ($p \leq 0,01$)
Grafikon 20. Utjecaj interakcije lokacije i roka (L × R) na sadržaj ukupnog dušika u herbi graha mahunara ($p \leq 0,001$)

Grafikon 21. Utjecaj interakcije tretmana, lokacije i roka (T × L × R) na količinu ukupnog dušika u herbi graha mahunara (p ≤ 0,05)
Grafikon 22. Utjecaj interakcije lokacije i roka (L × R) na količinu fosfora u herbi graha mahunara (p ≤ 0,001)
Grafikon 23. Utjecaj interakcije tretmana i lokacije (T × L) na sadržaj fosfora u herbi graha mahunara (p ≤ 0,05)
Grafikon 24. Utjecaj interakcije lokacije i roka (L × R) na sadržaj kalija u herbi graha mahunara (p ≤ 0,001)
Grafikon 25. Utjecaj interakcije lokacije i roka (L × R) na sadržaj cinka u herbi graha mahunara (p ≤ 0,001)
Grafikon 26. Utjecaj interakcije tretmana i lokacije (T × L) na količinu mangana u herbi graha mahunara (p ≤ 0,01)
Grafikon 27. Utjecaj interakcije tretmana, lokacije i roka (T × L × R) na količinu mangana u herbi graha mahunara (p ≤ 0,001)
Grafikon 28. Utjecaj interakcije lokacije i roka (L × R) na sadržaj bakra u herbi graha mahunara (p ≤ 0,001)

POPIS SLIKA

Slika 1. Grah mahunar (*Phaseolus vulgaris* L.), (izvor: https://innspubnet.wordpress.com)

Slika 2. Kopriva (*Urtica dioica* L.) (izvor: http://powo.science.kew.org/taxon/urn)

Slika 3. Osnovna struktura flavonoida

Slika 4. Osnovna struktura hidroksibenzojevih (a) i hidroskicimetnih kiselina (b)

Slika 5. Sjeme graha mahunara 'Top crop' (Izvor: B. Maričić)

Slika 6. Priprema vodenog ekstrakta koprive (Izvor: B. Maričić)

Slika 7. Shema primjene tretmana (Izvor: B. Maričić)

Slika 8. Pokusno polje Zadar - Baštica, grah mahunar (Izvor: B. Maričić)

Slika 9. Pokusno polje Poreč, grah mahunar (Izvor: S. Goreta Ban)

Slika 10. Baždarni dijagram za ukupne fenole

Slika11. Mjerenje visine nadzemnog dijela (a) i promjera stabljike graha mahunara (b), (Izvor: B. Maričić)

Slika 12. Mjerenje površine lista (Izvor: B. Maričić)

Slika 13. Suha masa stabljika (Izvor: B. Maričić)

Slika 14. Mjerenje dužine (a) i promjera (b) mahuna, (Izvor: B. Maričić)

POPIS PRILOGA

Prilog 1. Vegetativna mjerenja biljke graha mahunara

Prilog 2. Kemijske analize suhe herbe graha mahunara

Prilog 3. Ukupni dušik i mineralni sastav nadzemnog dijela biljke graha mahunara

1. UVOD

Uspjesi moderne poljoprivrede te intenzivna poljoprivredna proizvodnja doveli su do pretjerane uporabe kemijskih gnojiva, pesticida i herbicida što je rezultiralo gubitkom genetske raznolikosti usjeva, smanjenjem mikrobiološke aktivnost tla te sadržaja hranjivih tvari u tlu što utječe na zdravlje usjeva (Dayan i sur., 2009; Zhen i sur., 2014).

Posljednjih godina pažnja potrošača je sve više usmjerena na kvalitetu i kontrolu hrane, što je dovelo do povećanih zahtjeva za ekološki proizvedenom hranom. Ekološka poljoprivreda je poseban sustav proizvodnje koji podrazumijeva kontroliran proces od početka uzgoja pa do krajnjeg proizvoda i pakiranja. Raste potražnja za ekološkim proizvodima u svijetu i kod nas, kao i udio površina pod ekološkom poljoprivredom s obzirom na ukupne obradive površine.

S ciljem visokog prinosa i kvalitete usjeva u konvencionalnoj proizvodnji potrebno je provoditi mjere gnojidbe tijekom vegetacijske sezone (Sorensen i Thorup-Kristensen, 2011), no pretjerana upotreba mineralnih gnojiva i pesticida negativno utječe na nutritivnu vrijednost biljaka, smanjuje brojnost mikroorganizama u tlu te ugrožava održivu proizvodnju i zdravlje ekosustava (Hartmann i sur., 2015). Kako bi postigli veće prinose proizvođači često koriste velike količine dušičnih gnojiva što za rezultat ima akumulaciju nitrata te smanjenje kvalitete prinosa (Fabek i sur., 2012).

Gnojidba kao nezamjenjiv agrotehnički postupak utječe na količinu minerala u povrću (kalij, magnezij, fosfor, kalcij, sumpor, željezo, cink, bakar, mangan, bor, molibden), kao i primarnih i sekundarnih metabolita važnih za kvalitetu povrća i antioksidativno djelovanje. Uspjeh gnojidbe i unosa hranjivih sastojaka od strane biljaka ovisi o raznim čimbenicima, kao što su vrsta tla, vrsta biljke, stres zbog suše, velike oscilacije temperature, vlaga tla i hranjive tvari (Petek, 2017).

Početkom 20. stoljeća započeo je pokret organske poljoprivrede kako bi se sanirale štete nastale erozijom i osiromašenjem tla, smanjenja bioraznolikosti i kvalitete proizvodnje usjeva za ljude i životinje te na značaju dobiva biologija i hranjivost tla.
S druge strane, gospodarenje tlom bez gnojidbe dovodi do značajnog gubitka prinosa. Ekološka poljoprivreda potiče plodnost tla uz povećanje organske tvari u tlu (Fließbach i sur., 2007), koja pozitivno utječe na rast i prinos biljaka, izravno ih opskrbljujući hranjivim tvarima ili indirektno mijenjanjem fizikalno-kemijskih svojstava tla. Time se poboljšavaju uvjeti u rizosferi i potiče rast biljaka (Haller i sur., 2016).

S ciljem zamjene sintetičkih spojeva sve više se istražuju nove mogućnosti upotrebe prirodnih produkata dobivenih iz biljaka (Filgueiras i sur., 2011).

U ekološkoj poljoprivredi plodnost tla se postiže i održava na više načina: zastiranjem pokrovom živih biljaka, zelenom gnojidbom, zastiranjem mrtvom biomasom za što se najčešće koristi slama, ali i biljke poput koprive (*Urtica dioica* L.) i gaveza (*Symphytum officinale* L.), (Hulina, 1998; Kuepper, 2010). One svojim raspadanjem obogaćuju tlo dušikom i kalijem kojima obiluju. Među prvima, Jean Baptiste Boussingault, francuski kemičar 19. stoljeća, je dokazao važnost dušika u ishrani bilja (Antonkiewicz i Łabętowicz, 2016). Korektivna gnojidba obavlja se dodavanjem stajskog gnoja, komposta i kompostnih čajeva (Kim i sur., 2015), vermikomposta, treseta, pepela i kamenog brašna te biljnim pripravcima za gnojidbu (Mirecki i sur., 2011). Biljni pripravci bogati su hranjivim tvarima koje se brzo otpuštaju u tlo te su stoga značajni za biološku aktivnost tla (Reganold, 1995), imaju pozitivan učinak na rast i razvoj biljaka te suzbijanje biljnih bolesti i štetnika (Rivera i sur., 2012). Iako njihova upotreba datira još iz antičke Grčke, Kine i Indije (Isman, 2006; Kuštrak, 2005; Bilkova, 2013), posljednjih godina sve više se pridaje važnost istraživanjima o djelovanju takvih pripravaka, osobito vodenog ekstrakta koprive - *Urtica dioica* L. (Rivera i sur., 2012).

Ekstrakt koprive bogat je dušikom, fosforom, kalcijem, magnezijem i željezom i potiče rast biljaka (Rivera i sur., 2012). Kada se ekstrakt priprema namakanjem biljaka koprive u vodi tijekom 14 dana, koristi se kao organsko gnojivo (Peterson i Jensen, 1985). Kratkotrajni ekstrakt koprive priprema se namakanjem biljke u vodi tijekom 24 sata (Omahen, 1985) i koristi se folijarno, a vjeruje se da ima odbojan učinak na insekte

(Bozsik, 1996; Dabrowski i Seredynska, 2007). Vrlo je malo poljskih istraživanja o učinku kratkog ekstrakta koprive kao gnojiva.

1.1. Hipoteze i ciljevi istraživanja

Intenzivna proizvodnja povrća rezultirala je povećanom gnojidbom mineralnim gnojivima te primjenom sredstava za zaštitu bilja. Budući da je povrće vrlo osjetljivo na akumulaciju toksičnih tvari i uglavnom se koristi u svježem stanju ili blago termički obrađeno, sve je veća potražnja za ekološki uzgojenim povrćem bez rezidua pesticida, tragova metala i drugih štetnih sastojaka. Većina ekoloških pripravaka koji se koriste kao gnojivo ili kao sredstva za zaštitu bilja rezultat su iskustva proizvođača, prenose se generacijski te imaju uporište u narodnoj predaji. Jedan od ekoloških pripravaka koji se koristi kao gnojivo je vodeni ekstrakt koprive *Urtica dioica* L.

HIPOTEZE:

1. Trajanje ekstrakcije utjecat će na količinu minerala, aminokiselina i ukupnih fenola u vodenim ekstraktima koprive.
2. Tretmani vodenim ekstraktima koprive utjecat će na količinu minerala, ukupnih fenola i antioksidacijsku aktivnost graha mahunara, ovisno o lokaciji i roku uzgoja.

CILJEVI

1. Odrediti razlike u kemijskom sastavu vodenih ekstrakata koprive ovisno o trajanju ekstrakcije.
2. Utvrditi učinke primjene različitih ekstrakata koprive na kemijski sastav i prinos graha mahunara na dvije lokacije i u dva roka uzgoja.
3. Izdvojiti kombinaciju trajanja ekstrakcije i broja primjena vodenog ekstrakta koprive obzirom na nutritivnu vrijednost i komponente prinosa graha mahunara.

2. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA

2.1. Grah mahunar (*Phaseolus vulgaris* L.)

Grah mahunar (*Phaseolus vulgaris* L.) je jednogodišnja samooplodna zeljasta biljka iz porodice mahunarki (Fabaceae), te pripada rodu *Phaseolus* koji broji 200 vrsta (Matotan, 2004; Nikolić, 2013). Podrijetlom je iz Meksika, Gvatemale i područja oko Anda u Južnoj Americi, odakle potječe autohtona vrsta *Phaseolus aborgineus* od koje su nastali današnji kultivari (Nikolić, 2013; Lešić i sur., 2016). Vrlo je rasprostranjen, te se uzgaja u mnogim umjerenim, suptropskim i tropskim područjima. Predstavlja vrlo značajnu namirnicu u svjetskoj prehrani te se u svijetu uzgaja na 1. 535 tisuća hektara (Lešić, 2016). Najveći proizvođači su Kina, Indija i Turska, dok se u Europi uzgaja na oko 108 929 hektara (Lešić, 2016).

Carstvo: Plantae
Odjeljak: Magnoliophyta
Razred: Magnoliopsida
Red: Fabales
Porodica: Fabaceae
Rod: Phaseolus
Vrsta: *Phaseolus vulgaris* L. (**slika 1**)



Slika 1. Grah mahunar (*Phaseolus vulgaris* L.).
Izvor: https://innspubnet.wordpress.com – pristup 05.02.2020.

Listovi su mu naizmjenično položeni i sastavljeni od tri perasto sastavljene liske od kojih je srednja više razvijena. Liske su jajolikog oblika obrasle sitnim dlačicama (Matotan, 2004; Lešić i sur., 2016; Nikolić, 2013).

Glavni korijen je vretenast sa sekundarnim korijenjem, na kojem se razvijaju kvržične bakterije iz roda *Rhizobium*. Stabljika kod niskih sorti naraste od 30 do 40 cm (Matotan, 2004). Cvjetovi su leptirasti, smješteni u pazušcima lisnih peteljki na kratkim stapkama u skupinama 2-6 cvjetova. Dvospolni cvjetovi, bijele, ružičaste ili ljubičaste boje, građeni su od pet čašičnih zelenih listića i pet kruničnih. Donje dvije srasle latice formiraju lađicu, bočne su slobodne tzv. krilca, te gornja latica tzv. zastavica. Cvijet ima devet sraslih i jedan slobodan prašnik koji su zajedno s tučkom spiralno utisnuti u lađicu (Matotan, 2004; Lešić i sur., 2016).

Plod je mahuna duga od 4 do 20 cm različitog oblika (sploštene, okrugle, ovalne) s do desetak sjemenki. Potječe iz tropskih područja te ima visoke potrebe za toplinom. Najbrže niče na temperaturi od 18 do 22 °C (Matotan, 2004; Lešić i sur., 2016).

Cvatnja traje od 5 do 10 dana i u tom se razdoblju razvijaju mahune. Berba mahuna provodi se sukcesivno u više navrata jer se na biljkama istovremeno nalaze i cvjetovi i mahune (Lešić i sur., 2016).

Mahune su bogate ugljikohidratima, fosforom i kalijem, te vitaminima B skupine (Parađiković, 2002; Matotan, 2004). Pripada povrtnim vrstama koje imaju i blagotvorno djelovanje na zdravlje. Redovita konzumacija utječe na smanjenje krvnog tlaka, količinu šećera u krvi i urinu te se preporučuje i kod bolesti bubrega (Lešić i sur., 2016).

Za proizvodnju graha mahunara najviše je pogodno plodno tlo dobre dreniranosti i strukture te visokog sadržaja organske tvari na neutralnim ili slabo kiselim tlima (Matotan, 2004). Niski grah mahunar ima kratku vegetaciju. Uzgoj do tehnološke zrelosti traje od 60 do 80 dana. Može se uzgajati u različitim klimatskim uvjetima mediteranske, kontinentalne i planinske klime. Optimalne potrebe za gnojidbu za prinos od 12 t/ha graha mahunara su 140 kg N, 35 kg P_2O_5, 150 kg K_2O, 100 kg CaO i 18 kg MgO (Lešić i sur., 2016).

2.2. Dvodomna kopriva (*Urtica dioica* L.)

Kopriva (*Urtica dioica* L.) je dvodomna zeljasta trajnica (**slika 2**) iz porodice Urticaceae koja ima 45 rodova i preko 1000 biljnih vrsta. Izvorno je euroazijska biljka umjerenih i tropskih područja (Hadizadeh i sur., 2009; Nikolić, 2013). Rasprostranjena je u predjelima umjerenog pojasa, gdje raste na vlažnim tlima uz potoke i rubove bjelogoričnih šuma, kao i na planinskim obroncima i šumskim čistinama, te kao korov često na zapuštenim mjestima, uz puteve u blizini naselja (Vogl i Hartl, 2003; Stepanović i sur., 2009; Krystofova i sur., 2010).

Carstvo: Plantae
Odjeljak: Magnoliophyta
Razred: Magnoliopsida
Red: Rosales
Porodica: Urticaceae
Rod: Urtica
Vrsta: *Urtica dioica* L. (**slika 2**), (Nikolić, 2013).



Slika 2. Kopriva (*Urtica dioica* L.).
Izvor: http://powo.science.kew.org/taxon/urn - pristup 05.02.2020.

Nitrofilna je biljka koja prirodno raste na staništima koja su bogata hranjivim tvarima, osobito dušikom (Hulina, 1998). U Europi je višegodišnja obična kopriva kultivirana tijekom 19. stoljeća (Vogl i Hartl, 2003). Prema Nikoliću (2015) i FCD (http://hirc.botanic.hr/fcd) u Hrvatskoj

se razlikuje više vrsta samonikle koprive: *Urtica dioica* L. dvodomna kopriva, *Urtica urens* L. mala kopriva, *Urtica kioviensis* Rogow., *Urtica membranacea* Poir. opnasta kopriva, *Urtica pilulifera* L. loptasta kopriva.

Kopriva ima razvijeni korijenov sustav rizoma koji u proljeće na čvorovima razvijaju zračne mladice visine 1,5-2 m (Taylor, 2009).

Listovi su nasuprotno raspoređeni, ovalnog oblika, nazubljeni i s naličja obrasli žarnim dlačicama kao i ravna, četvrtasta stabljika (Stepanović i sur., 2009). Žarne silificirane dlačice tzv. 'žaoke' (trihomi) sadrže acetilkolin, histamin, serotonin, moroidin, leukotrin i mravlju kiselinu koje ispuštaju kada se dodirom žaokama odlomi vrh te uzrokuju osjećaj žarenja (Grlić, 1990; Kuštrak, 2005; Zomlefer, 2006). Cvjetovi su jednospolni, zeleni i neugledni skupljeni u cvat u obliku resa. Oplođuju se vjetrom. Cvijeta od svibnja do kolovoza. Jednospolni sitni zeleni cvjetovi skupljeni su u paštitaste cvatove, te su smješteni u pazušcima listova. Muški cvatovi su uspravni s međusobno jednakim listićima perigona najviše do polovine međusobno srasli, a ženski cvatovi vise te su dva vanjska listića perigona kraća od polovine unutarnjih. Sjeme je vrlo sitno, plod je mali jednosjemeni oraščić. Razmnožava se sjetvom sjemena ili rizomima (Stepanović i sur., 2009; Nikolić, 2013).

Ovisno o vegetativnom razvoju listovi koprive sadrže triterpene i sterole (β-sitosterol), do 174 mg vitamina C, askorbinske kiseline od 75 do 137 mg, do 20 mg karotina te do 5,9 mg bjelančevina. Obiluje vitaminima K, B_2, C i A i pantotenskom kiselinom. Bogata je i kalcijem (490 mg) i željezom (10 mg). Također sadrži sumpor, natrij, kalij, mangan, magnezij, fosfor te metasilicijsku kiselinu. Cvjetovi sadrže glikozide kvercetina, kemferola i ramnetina. Tamnozelena boja koprive potječe iz a i b klorofila kojeg u nadzemnom dijelu biljke ima 0,3-1%, te se u industriji koristi za dobivanje sirovoga klorofila (Kuštrak, 2005). Kopriva se još u srednjem vijeku koristila u prehrani, a zabilježeno je i njezino ljekovito djelovanje. Sadrži saponine, masne kiseline, karotenoidne sterole, amionokiseline, dušične spojeve i fenole (Kudritsata i sur., 1986; Kavtaradze i sur., 2003). Iznimno je bogata dušikom (3,81%), fosforom (0,48%), kalijem (2,57%), manganom (0,62%) i kalcijem (5,35%), (Taylor, 2009).

2.2.1. Kopriva u medicini

Preparati od koprive imaju višestruko djelovanje: antimikrobno, antioksidacijsko, antiulceričko i analgetičko svojstvo (Gulcin i sur., 2004). U narodnoj medicini koristi se za hemostazu i hipoglikemiju, kao diuretik, antiasmatik, protiv prhuti i uboda, te kao tonik za

reumu, a također ima pozitivan učinak na kardiovaskularni sustav (Testai i sur., 2002). Isto tako pozitivno djeluje na liječenje nedostatka neutrofilne funkcije i kroničnih granulomatoznih bolesti (Akbay i sur., 2000), potiče proliferaciju limfocita (Wagner i sur.,1989) te ima antiproliferativan učinak na stanice prostate (Konrad i sur., 2000).

2.2.2. Kopriva kao pesticid

Sve je veća potreba pronalaženja alternativnih zamjena današnjim pesticidima. Biljke, zbog različitih bioaktivnih kemijskih spojeva, imaju potencijal za suzbijanje i kontrolu biljnih štetnika. Poznato je oko 2000 biljnih ekstrakata (botaničkih pripravaka) koji imaju pesticidno djelovanje, mada se ne može tvrditi da li djeluju kao izravni ili neizravni pesticidi tj. jačaju biljku i ona sama postaje otpornija na napad bolesti i štetnika (Znaor, 1996). Istraživanja mehanizma djelovanja biljnih kemijskih tvari omogućavaju proizvodnju novih ekološki prihvatljivih bio-pesticida (Prakash i Rao, 1997). Danas postoji više botaničkih proizvoda koji se koriste za kontrolu insekata kao rotenon, piretrum, neem i razna eterična ulja (Isman, 2006). Fu i suradnici (2006) smatraju da se insekticidna svojstva koprive temelje na djelovanju mravlje kiseline i drugih organskih kiselina kao što su vinska i oksalna. Učinkovitost biljnih ekstrakata koji se koriste kao pesticidi znatno ovisi o načinu pripreme i primjeni pripravaka.

Znanstveno je dokazana djelotvornost koprive kao botaničkog pripravka. Kopriva ima antigljivično (Hadizadeh i sur., 2009) i insekticidno djelovanje (Kim i sur., 2005). Dabrowski i Seredynska (2007) su dokazali pozitivan repelentni učinak ekstrakta koprive, neema te češnjaka i gorušice na koprivinu grinju. Ekstrakt koprive se uspješan dokazao i u suzbijanju lisnih ušiju (Bozsik, 1996), te ima pozitivan učinak na smanjenje ishrane kod različitih štetnika (Kaberia, 2007).

2.2.3. Kopriva kao gnojivo

Posljednjih desetljeća razvojem ekološke poljoprivrede istražuju se prirodni i ekološki načini zaštite i ishrane bilja. Mnoge metode koje se koriste prenesene su usmenom narodnom predajom tradicijskog poljodjelstva.

Tradicionalno se upotrebljava u ekološkoj poljoprivredi u obliku vodenih ekstrakata, takozvanih „biljnih juha" koje se primjenjuju kao gnojivo (Nygaard Sørensen i Thorup-

Kristensen, 2010; Mirecki i sur., 2011). Osim dušika kojim obiluje, ekstrakt koprive sadrži i velike količine fosfora, kalcija i magnezija te posebice željeza i kao takav stimulira rast biljaka (Rivera i sur., 2012; Radman i sur., 2015), te vitamine A, C, D (Luna, 2001). Peterson i Jensen (1988) istraživali su učinak ekstrakta koprive kao stimulatora rasta biljaka na rajčici te zaključili kako njegova primjena potiče apsorpciju dušika, ali ne i fosfora i kalija. Pored navedenog, primjenom ekstrakta koprive udvostručuje se respiracija tla, a pH vrijednost u supstratu se povećava do dvije jedinice (Peterson i Jensen, 1986). Osobito je važan utjecaj na tlo u smislu oporavka tala degradiranih intenzivnom poljoprivrednom proizvodnjom (Dindar i sur., 2015), bez primjene organskih gnojiva te odgovarajuće plodosmjene. Pasković i sur. (2017) navode da vodeni ekstrakt koprive pozitivno utječe na aktivnost enzima fosfataze ukazujući na potencijalno pozitivno djelovanje otopine u uvjetima deficijencije fosfora u tlu.

U literaturi se navodi dvojako djelovanje pripravaka od koprive, ovisno o načinu pripreme odnosno trajanju ekstrakcije (Omahen, 1985; Peterson i Jensen, 1985). Dugi ekstrakt upotrebljava se kao biljno gnojivo i priprema se namakanjem herbe koprive u vodi 14 dana (Peterson i Jensen, 1985). Bioinsekticidno djelovanje ima kratki ekstrakt, koji se priprema namakanjem herbe u vodi 24 sata (Omahen, 1985), a primjenjuje se folijarno. Međutim, vrlo malo se zna o kemijskom sastavu navedenih ekstrakata, njihovoj učinkovitosti te mehanizmima djelovanja, posebice njihovom utjecaju na mineralni sastav, specijalizirane metabolite te komponente prinosa biljaka na koje se primjenjuje.

2.3. Kemijski sastav biljaka

2.3.1. Dušik

Dušik (N) pripada u skupinu esencijalnih elemenata te je u prirodi rasprostranjen u litosferi, atmosferi, hidrosferi i biosferi. Sastavni je dio spojeva poput proteina, nukleinskih kiselina, amina, amida i fotosintetskih pigmenata (Vukadinović i Vukadinović, 2011). Porijeklo dušika je iz atmosfere, gdje se nalazi kao molekula (N_2), međutim biljke ga usvajaju jedino u mineralnom obliku (Topol i Šarić, 2013). Najmanje je prisutan u tlu iz razloga što je za prevođenje molekularnog dušika do amonijaka (NH_4^+) ili nitrita (NO_3^-), u kojim oblicima ga biljke vežu, potrebna velika količina energije. U prirodi se konstantno odvija ciklus dušika u kojem je izvor atmosfera, a pretvorbu dušika iz tla obavljaju mikroorganizmi (Vukadinović i Vukadinović, 2011). Fiksacija dušika se definira kao proces vezanja molekularnog dušika u nove spojeve

kako bi dušik postao raspoloživ biljkama (Topol i Šarić, 2013). Kvržične bakterije iz roda Rhizobium i leguminoze u procesu simbiotske fiksacije dušika odvijaju sami proces prevođenja dušika iz molekularnog oblika u amonijačni oblik, dostupan biljkama (Flynn i Idowu, 2015). Prema Vukadinović i Vukadinović (2011) ukupna količina dušika u poljoprivrednim tlima kreće se od 0,1 do 0,3%, od čega je samo od 1 do 3% pristupačno za ishranu bilja tijekom vegetacijske sezone. No, biljke su izraziti sakupljači dušika i ugrađuju ga u organsku tvar tijekom čitave vegetacije. Neke leguminoze bolje fiksiraju dušik od drugih, međutim grah mahunar je loš fiksator i fiksira manje dušika od njegovih potreba (Flynn i Idowu, 2015). Istraživanje koje su proveli Wilker i sur. (2019) je pokazalo da su stotine genotipova graha mahunara zabilježili širok kapacitet fiksacije dušika od 2,7 do 69,7 kg N_2 fiksiranog po ha. Količine dušika u tlu uglavnom su nedovoljne za postizanje visokih prinosa stoga je gnojidba dušikom nezamjenjiva agrotehnička mjera u poljoprivrednoj proizvodnji (Vukadinović i Vukadinović, 2011). Za grah mahunar uobičajeno se za početni rast osigurava od 30 do 40 kg N mineralnom gnojidbom (Lešić i sur., 2016).

2.3.2. Fosfor

Fosfor (P) je jedan od najvažnijih hranjivih elemenata, nakon dušika. Izuzetno je reaktivan i poznato je čak oko 170 minerala fosfora (Holford, 1997). To je nemetal koji se u prirodi, biljkama i tlu javlja i u organskom i u anorganskom obliku. Važan je element u ishrani bilja. U prirodi se nalazi u peterovalentnom obliku, ali nikad u slobodnom stanju, već kao dio važnih organskih spojeva (Vukadinović i Vukadinović, 2011). Svi važni biološki procesi u biljci poput fotosinteze, disanja, glikolize uključuju i fosfor (Lešić i sur., 2016). Ukupna količina fosfora u tlu kreće se od 0,03 do 0,20% (Holford, 1997). Većina poljoprivrednih tala sadrži od 40 do 80% anorganskog vezanog fosfora i od 20 do 60% organski vezanog fosfora (Vukadinović i Vukadinović, 2011) od čega biljke apsorbiraju samo fosfor u anionskom obliku (Holford, 1997). Potrebe biljaka za fosforom ovise o vegetativnim fazama, potrebe su veće početkom vegetacije, prilikom razvijanja korjenova sustava i prijelaza iz vegetacijske u reprodukcijsku fazu života (Vukadinović i Vukadinović, 2011). Fosforna gnojiva mogu se primjenjivati svake druge godine bez opasnosti od pada prinosa (Butorac i sur., 2005). Wang i Li (2004) navode kako je gnojidba fosforom ključna za poboljšanje rasta povrća i povećanje prinosa. Optimalna količina fosfora ovisi o vrsti biljke, ali i o agrotehničkim zahvatima i tipu tla. Optimalna razina fosfora u tlu iznosi 10-30 mg P po kg. Dobra opskrbljenost tla fosforom kod leguminoza potiče

rad dušičnih bakterija (Kamprath i Watson, 1980). Prema Martinez-Ballesta i suradnicima (2010) fosfor se u povrću nalazi od 16,2 do 437 mg/100 g, dok su preporučene dnevne doze za unos 800-1300 mg. Grah mahunar kao suhi grah u 100 grama sadrži 400-475 mg fosfora, u zelenom zrnu 136-142 mg/100 g, dok je u mahunama prisutno 23-50 mg/100g fosfora (Lešić i sur., 2016). Prema Ait Haj Said i suradnicima (2015) svježe lišće koprive sadrži minimalno 29 mg/100 g P dok je maksimalna količina fosfora 75 mg /100g.

2.3.3. Kalij

Kalij (K) je alkalijski element i jedan od najzastupljenijih elemenata u zemljinoj kori. Površinski sloj zemljine kore sadrži prosječno oko 2,3% kalija (Zorb i sur., 2014). U tlu i biljkama dostupan je samo kao jednovalentni kation s redukcijskim svojstvima (Vukadinović i Vukadinović, 2011). Esencijalan je element za rast biljaka i to je prvi prepoznao Liebig davne 1841. godine. Također kalij ima važnu ulogu u aktivaciji enzima, kao i u regulaciji propusnosti staničnih membrana (Medved, 2019). Prema Zorb i suradnicima (2014) većina kalija u tlu se nalazi u spojevima koji su sastavni dio primarnih minerala gdje je određen u masenim udjelima od 0,5 do 2,5%. U tlu je pokretljivost kalija niska te skoro da i ne postoji opasnost od ispiranja (Vukadinović i Vukadinović, 2011). Biljke koje su dobro opskrbljene kalijem su otporne na sušu i bolesti (Medved, 2019). Vukadinović i Vukadinović (2011) navode kako je kalij ključan u procesu fotosinteze, transportu asimilata u floemu, metabolizmu dušika te ima važnu ulogu u prilagodbi biljaka na nepovoljne uvjete. Biljka tijekom cijelog rasta apsorbira kalij te je intenzitet apsorpcije nešto veći u početku dok se pri završetku vegetacije usporava (Mihaljev i sur., 2015). Hrana biljnog porijekla uobičajeno sadrži od 20 do 730 mg/100g kalija u suhoj tvari, dok je preporučena dnevna doza ovog elementa 2240 mg (Martinez-Ballesta i sur., 2010). Vukadinović i Vukadinović (2011) navode kako je dnevna preporučena doza za odraslog čovjeka otprilike 3,5 g K, a sve do količine od 5 g na dan je neškodljiv. U 100 grama suhog graha mahunara prisutno je 1100-1350 mg K, u zelenom zrnu 650 mg K/100g, dok ga u mahunama ima od 186 do 340 mg K/100 g (Lešić i sur., 2016). Kopriva u svježem listu sadrži od 532 do 917,2 mg/100g kalija (Aid Haj Said i sur., 2015).

2.3.4. Kalcij

Kalcij (Ca) je element iz skupine zemnoalkalijskih metala te ima sposobnost izgradnje kompleksnih spojeva. Glavni izvori kalcija su minerali koji su po svom kemijskom sastavu najčešće karbonati, silikati, sulfati i fosfati. Za razliku od kalija i magnezija, kalcij se u biljkama premješta ksilemom u transpiracijskoj struji. U tlu je prisutan kao dvovalentni kation Ca^{2+} i najčešće je zastupljen od 0,2 do 2,0%. U biljkama koncentracija kalcija u prosjeku iznosi od 0,1 do 0,5%. Biljke kalcij pretežno apsorbiraju aktivnom zonom korijena (Vukadinović i Vukadinović, 2011). Koncentracija kalcija u hrani biljnog podrijetla pokazuje široku varijaciju, od najniže od 8,7 mg/100 g (u jabuci, zelenoj paprici i krumpiru) do najviše od 600 mg/100 g (u špinatu) dok su dnevne preporuke za kalcijem od 800 do 1300 mg (Martinez-Ballesta i sur., 2010). Lešić i suradnici (2016) navode kako suhi grah mjeri 52-163 mg Ca/100 g, zeleno zrno od 28 do 52 mg Ca/100 g, dok mahune sadrže 40-91 mg Ca/100 g. Prema istraživanju Rafajlovske i suradnika (2013) listovi, stabljike i korijen koprive sadrže veće količine kalcija nego magnezija. Prema Aid Haj Said i suradnicima (2015) količine Ca u koprivi se kreću do 113,2 do maksimalnih 5090 mg/100 g.

2.3.5. Magnezij

Magnezij (Mg) je zemnoalkalijski element prisutan u litosferi koja ga sadrži oko 2,1%. Nalazi se u biljkama gdje je bitan sastojak klorofila. Značajna je i njegova uloga u metabolizmu proteina i masti, ugljikohidrata, aktivaciji velikog broja enzima i neizmjerno je važan u ishrani bilja. U tlu se nalazi u obliku primarnih (silikati, bazični minerali) i sekundarnih minerala (dolomiti, magneziti), (Vukadinović i Vukadinović, 2011). Prema istraživanju koje su proveli Kirkby i Mengel (1976) magnezij se u tlu nalazi u rasponu od 0,05% koliko je određeno u pjeskovitim do 0,5% u glinovitim tlima. Sadržaj magnezija u povrću i voću kreće se od 5,5 do 191 mg/100 g suhe tvari (Martinez-Ballesta i sur., 2010). Prema Lešić i suradnicima (2016) u suhom grahu koncentracija magnezija na 100 grama je 130-134 mg, dok je u mahunama određen u količini od 15-31 mg/100 g. Preporučene dnevne doze unosa magnezija su 200-400 mg (Martinez-Ballesta i sur., 2010). Količina magnezija u svježoj koprivi kreće se od 0,22 do 3560 mg/100 g.

2.3.6. Željezo

Željezo (Fe) se u zemljinoj kori najčešće nalazi u obliku minerala (hematit, ilmenit, magnetit i siderit), (Gluhić 2013a). U biljci je slabo pokretan, a biljke željezo apsorbiraju kao Fe^{2+} i Fe^{3+} ione (Vukadinović i Vukadinović, 2011). U procesu usvajanja željeza često se pojavljuje kompeticija s kationima Mn^{2+}, Ca^{2+}, Cu^{2+}, Zn^{2+}, Mg^{2+} i K^{+} (Gluhić 2013a). Željezo sudjeluje u fotosintezi, disanju, sintezi DNA te strukturi i djelovanju hormona (Graziano i Lamattina, 2005), te sudjeluje u redukciji nitrata i sulfata, asimilaciji N_2 te transportu elektrona (Vukadinović i Vukadinović, 2011). Također, jedna od važnijih funkcija željeza povezana je sa sintezom hemoglobina i mioglobina (Martinez-Ballesta i sur., 2010). Željezo je i građevna komponenta enzima zaduženih za transfer energije, fiksaciju dušika i formiranju lignina (Gluhić, 2013a). Sadržaj željeza u povrću i voću je prilično nizak, od 0,13 do 3,01 mg/100 g te se uglavnom, u hrani biljnog porijekla, nalazi u obliku netopivih kompleksa Fe^{3+} (Martinez-Ballesta i sur., 2010). Sandberg (2002) navodi količine željeza za *Phaseolus vulgaris* koja iznosi 7,0 mg/100 g. Prema Lešić i suradnicima (2016) količina željeza u suhom grahu kreću se od 5 do 12,5 mg/100 g, u zelenom zrnu od 2,4 do 2,8 mg/100 g, dok je u mahunama željezo prisutno od 0,5 do 2,77 mg/100 g. Preporučene dnevne doze željeza su od 8 do 18 mg (Martinez-Ballesta i sur., 2010). Prema istraživanjima sadržaj željeza u koprivi kreće se od 3,4 do 30,30 mg/kg (Aid Haj Said i sur., 2015) ili maksimalnih 34 mg/kg (Rutto i sur., 2013), dok znatno varirajući sadržaj željeza (0,62-2,96 g/kg) pokazalo je provedeno istraživanje Radman i suradnika (2016).

2.3.7. Cink

Cink (Zn) je teški metal i bitna komponenta proteina u biljkama, te u suvišku može biti toksičan (Broadley i sur., 2007). Važna je komponenta mnogih enzima koji sudjeluju u produkciji energije, sintezi proteina i regulaciji rasta (Gluhić, 2013b). Porijeklo cinka u tlu veže se za razgradnju primarnih i sekundarnih minerala (Vukadinović i Vukadinović, 2011). Nakon željeza, cink je drugi najčešći prijelazni element (Broadley i sur., 2007). Za razliku od željeza, magnezija, bakra i molibdena u biljkama je uvijek prisutan kao kation Zn^{2+}, kako ga biljke i usvajaju (Vukadinović i Vukadinović, 2011). Cink je slabo pokretljiv u biljci te je za normalan rast biljke potrebna konstantna opskrba tim mineralom (Gluhić, 2013b). Slabo usvajanje cinka nastaje uslijed niskih temperatura i suviška fosfora. U prosjeku tlo sadrži 5-20 ppm Zn

(Vukadinović i Vukadinović, 2011). Količina cinka u biljnim vrstama je od 0,05 do 11,8 mg/100 g. Najmanje količine cinka su u svježem voću (do 0,61 mg/100 g). Dnevne preporuke za unos cinka kreću se od 8 do 11 mg (Martinez-Ballesta i sur., 2010). U svježim listovima koprive minimalne količine cinka su 0,9 mg/100 g, dok je maksimalan sadržaj 3,03 mg/100 g cinka (Ait Haj Said i sur., 2015)

2.3.8. Mangan

Mangan (Mn) je važan mikroelement s mnogim funkcijama u biljnom metabolizmu. Najvažniji oblik mangana u tlu je Mn^{2+}, kako ga biljke jedino usvajaju. Na njegovo usvajanje značajno utječe i količina ostalih kationa, Mg^{2+} i Ca^{2+} (Schmidt i Husted, 2019). Mangan je neophodan za proces fotosinteze i metabolizam dušika kao i za ostale metaboličke procese (Gluhić, 2013b; Alejandro i sur., 2020). U tlima je ukupno sadržano 200-3000 ppm Mn od čega je samo 0,1-1,0 % raspoloživo biljkama (Vukadinović i Vukadinović, 2011) gdje je bitan čimbenik za njihov rast i razmnožavanje. Povrće i voće sadrži niske količine mangana. U povrću Mn je prisutan od 0,01 do 0,078 mg/100 g. Preporučena dnevna doza mangana je 2 mg (Martinez-Ballesta i sur., 2010). Basgel i Erdemoglu (2006) navode sadržaj mangana u koprivi od 79,8 mg/100 g, također Đurović i suradnici (2017) navode visoke količine mangana u koprivi, 81,40 mg/100 g.

2.3.9. Bakar

Bakar (Cu) je teški metal i sastavni je dio primarnih minerala. Usvaja se u obliku Cu^{2+}, a u tlu je prisutan u prosjeku 5-50 ppm (Vukadinović i Vukadinović, 2011). Bakar je neophodan u metabolizmu dušika i ugljikohidrata, također je nužan u sintezi lignina, koji je zadužen za čvrstoću stanične stijenke. Nedostatak bakra dovodi do zaostajanja biljke u razvoju (Gluhić, 2013b). Igra važnu ulogu u fotosintetskom i respiratornom transportu elektrona, metabolizmu stanične stijenke, mobilizaciji željeza i biogenezi kofaktora molibdena (Yruela, 2009). Konkurenciju bakru kod usvajanja čine Fe, Mn i Zn, a također je utvrđeno kako biljke koje imaju veću količinu dušika slabije usvajaju bakar (Vukadinović i Vukadinović, 2011). Bakar je u povrću prisutan u niskim količinama (0,004-0,24 mg/100 g) dok leguminoze sadrže veće količine bakra (0,5 mg/100 g), (Martinez-Ballesta i sur., 2010). Luo i suradnici (2013) su utvrdili sadržaj bakra

u zrnima boba od 2,5 mg/kg. Preporučene dnevne doze unosa bakra u ljudski organizam su od 1,0 do 1,6 mg (Martinez-Ballesta i sur., 2010). Istraživanje Rafajlovske i suradnika (2013) pokazalo je najveću količinu cinka (27,44 mg/kg) u listovima koprive, a odmah nakon Zn izmjeren je najveći sadržaj bakra 17,47 mg kg^{-1}. Basgel i Erdemoglu (2006) navode da je količina bakra u koprivi od 5,60 mg/kg.

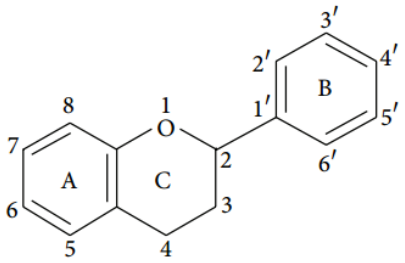
2.3.10. Fenoli i antioksidacijska svojstva

Fenolni spojevi se ubrajaju u specifične pigmente i sekundarni su biljni metaboliti prisutni u velikom broju biljaka u značajnim količinama (Spanos i Wrolstad, 1992). Obično se nalaze vezani na druge molekule poput ugljikohidrata (glikozidi), a osim hidroksilnih, na polifenolne spojeve mogu biti vezane sulfatne ili acetilne skupine.

Međusobno se razlikuju po strukturi, od jednostavnih koji sadrže hidroksilirani jednostavni aromatski prsten do visoko polimeriziranih spojeva (Macheixi i sur., 1990; Strube i sur., 1993; Harborne, 1994). Prema kemijskoj strukturi dijele se na:

- flavonoide
- fenolne kiseline i srodne spojeve

Flavonoidi su spojevi koji imaju istu osnovnu strukturu, koju tvori difenilpropanski kostur C15(C6-C3-C6), tj. dva benzenska prstena (A i B) povezana piranskim prstenom (C) koji sadrži kisik (**slika 3**).



Slika 3. Osnovna struktura flavonoida (Del Rio i sur., 2013)

U glavne skupine flavonoida ubrajaju se: flavonoli, flavani, flavanoni, flavoni,izoflavoni i antocijanidini, dok u manje zastupljene skupine flavonoida spadaju: flavan-3,4-dioli, dihidroflavonoli, čalkoni, dihidročalkoni, kumarini i auroni (Rodriguez-Mateos i sur., 2014).

Flavonoidi prisutni u svježim listovima i cvjetovima koprive su flavonoli i to: kvercetin, kamferol i izoramnetin i te njiihovi glikozidi. Flavonoidi pronađeni u korijenu koprive su kvercetin, kamferol, rutin, miricetin, isoramnetin, katehin i naringin (Spina i sur., 2008).

Fenolne kiseline spadaju u skupinu jednostavnih fenola s benzenskim prstenom koji ima najmanje jednu karboksilnu skupinu. Prema položaju karboksilne skupine u odnosu na aromatsku jezgru i stupnju hidroksilacije i metoksilacije dijele se u dvije skupine: derivate hidroksibenzojeve kiseline (**slika 4a**) i derivate hidroksicimetne kiseline (**slika 4b**) (Shahidi i Naczk, 2004).



a) b)

Slika 4. Osnovna struktura hidroksibenzojevih (a) i hidroskicimetnih kiselina (b)

Generalno, na fenolni sastav biljaka utječu različiti čimbenici poput sorte, genotipa, klime i tla, vegetacijskog stadija biljke, vremena berbe kao i skladištenja, prerade i tretiranja (Kregiel i sur., 2018).

U koprivi su određene fenolne kiseline kao što su: kava, klorogenska i kaveomalična kiselina u masenom udjelu do 1,8%, dok je u listovima identificiran kumarina skopoletin. Klorogenska i kaveomalična kiselina čine čak preko 70% ukupne količine fenola u 1,5 g uzgojenog zelenog biljnog materijala koprive odnosno preko 75% u 1,5 g biljnog materijala prikupljenog u prirodi (Upton, 2013).

Rezultati istraživanja koje su proveli Radman i sur. (2015) su pokazali da je maseni udio ukupnih fenola u koprivi određen od 348,68 do 962,70 mg GAE/100 g što su najviše vrijednosti ukupnih fenola izmjerene u odsutnosti dodatne gnojidbe. Kukrić i sur. (2012) su u svom istraživanju provedenom na ekstraktu koprive odredili ukupne fenole u udjelu od 208,37 mg GAE/g suhe mase, od kojih su u manjoj mjeri bili zastupljeni ukupni flavonoidi (20,29 mg QE/g suhe mase). Količina fenola u koprivi ovisi o lokaciji prikupljanja, a osim toga varira i unutar biljke, tako da su ukupni fenoli najviše zastupljeni u listovima, zatim u rizomima te u stabljici (Otles i Yalcin, 2012).

Mahunarke su također dobar izvor fenolnih spojeva. Vrste koje se koriste za prehranu uglavnom sadrže fenolne kiseline, flavonoide i kondenzirane tanine. Pigmentirane sorte graha imaju veće količine fenolnih spojeva poput antocijana (Singh i sur., 2017). Mahunarke s crnim

sjemenom kao crna soja ili leća posjeduju i visoku antioksidativnu aktivnost uslijed većih količina fenolnih spojeva uglavnom antocijana i kondenziranih tanina (Xu i sur., 2007). Istraživanje Singh i suradnika (2017) pokazalo je kako grah mahunar u suhom sjemenu ima od 1,5 do 2,4 mg GAE/g ukupnih fenola dok su u bobu fenoli izmjereni u količinama od 117,8 do 157,6 mg/g suh. tvari.

Antioksidanti su tvari prisutne u niskim koncentracijama, koje spajanjem sa supstratom podložnim oksidaciji odgađaju ili sprečavaju njegovu oksidaciju Sprječavanje ili odgađanje oksidacijskih procesa, naziva se antioksidativna aktivnost. Zajedničko svim antioksidantima je sposobnost da uspostave ravnotežu nesparenih elektrona i neutraliziraju potencijalno štetno djelovanje slobodnih radikala, a da istodobno sami ne postanu nestabilni (Dai i Mumpar, 2010). Slobodni radikali su povezani s nizom bolesti poput raka, dijabetesa, kardiovaskularnih bolesti i neurodegenerativnih poremećaja (Joshi i sur., 2014).

Istraživanje djelovanja vodenog ekstrakta listova koprive na peroksidaciju linolenske kiseline primjenom tiocijanatne metode koje su proveli Gülçin i sur. (2004) je pokazalo da vodeni ekstrakt ima jaku antioksidacijsku aktivnost u svim ispitivanim koncentracijama postižući bolji učinak od referentnog α – tokoferola.

Radman i sur. (2015) su u svom istraživanju također izmjerili antioksidacijski kapacitet koprive koji je određen od 1504,0 do 2149,91 mmol Trolox/L. Njihovo istraživanje je pokazalo kako utjecaj dušičnom gnojidbom na antioksidacijski kapacitet koprive uvelike ovisi o vremenu berbe. Sirov materijal skupljan u svibnju imao je veći antioksidacijski kapacitet u usporedbi s koprivom skupljanom u srpnju. U koprivi najveću antioksidacijsku aktivnosti imaju rizomi, a onda stabljika i listovi (Otles i Yalcin, 2012).

3. MATERIJAL I METODE ISTRAŽIVANJA

3.1. Provedba pokusa

Cilj ovog istraživanja je istražiti mehanizam djelovanja različitih ekstrakata koprive (*Urtica dioica* L.) kao organskih gnojiva, usporedno s mineralnim gnojivom urea te kontrolnim varijantama bez gnojidbe, na vegetativni rast, prinos te kemijski sastav graha mahunara (L.) uzgajanog na dvije pedoklimatski različite lokacije i u dva roka uzgoja.

Poljski pokus proveden je u razdoblju od travnja pa do kraja listopada 2016. godine, na dvije lokacije: Zadar - poljoprivredno dobro Baštica, OPG Marinko Nekić Zadar i Poreč - poljoprivredno dobro Instituta za poljoprivredu i turizam.

U pokusu je korišteno sjeme niskog graha mahunara sorte 'Top crop' (MIAGRA d.o.o.), (**slika 5**).



Slika 5. Sjeme graha mahunara 'Top crop'. Izvor: B. Maričić

3.1.1. Primijenjeni tretmani u pokusu

Priprema ekstrakta koprive

Za oba dva pokusa herba koprive (*Urtica dioica* L.) sakupljena je se s livadnog staništa u Valturi – Pula (N 44.899768; E 13.908938). Za pripremu vodenih ekstrakata korištena je suha herba koprive osušena na zraku (natkrivena prostorija s cirkulacijom zraka i temperaturom 30 ºC) do konstantne mase. Ekstrakt je pripreman na način da se 183 g usitnjene koprive potopilo u 10 L vode (Peterson i Jensen, 1985), nakon čega je kopriva odstajala u posudi na vanjskoj temperaturi uz povremeno miješanje. Pripremana su dva preparata (vodena ekstrakta) koja su različita po trajanju ekstrakcije i načinu primjene. Gotovi ekstrakti su filtrirani kroz cjedilo (2 mm pore), (**slika 6**) .Kratki ekstrakt odstajao je 24 sata i primjenjivao se folijarno razrijeđen s

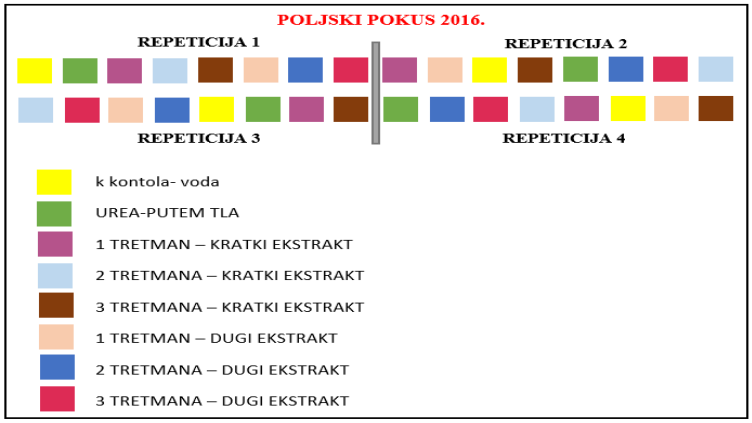
vodom u omjeru 1:3, dok je dugi ekstrakt odstajao 14 dana i razrijeđen s vodom u omjeru 1:3 se primjenjivao zalijevanjem tla oko biljaka graha mahunara.



Slika 6. Priprema vodenog ekstrakta koprive. Izvor: B. Maričić

Gnojidbeni tretmani

U pokusu se ispitivao utjecaj osam različitih tretmana na vegetativne pokazatelje rasta (visinu biljke, promjer stabljike, broj listova, masu suhog lišća, masu suhe stabljike, površinu listova, dužinu i promjer mahuna), komponente prinosa te kemijski sastav nadzemnog dijela graha mahunara (ukupni dušik, mineralni sastav, ukupne fenole, antioksidacijsku aktivnost). Osam različitih tretmana su uključivali gnojidbu ureom (U), gnojidbu ekstraktima koprive različitih duljina ekstrakcija (kratki ekstrakt=KE; dugi ekstrakt=DE) i različitog broja primjena tijekom vegetacije (jednu, dvije, tri) u odnosu na kontrolne varijante s vodom (k). Shema primjene tretmana prikazana je na **slici 7**.



Slika 7. Shema primjene tretmana.

Kratki ekstrakt (KE) razrijeđen s vodom u omjeru 1:3 aplicirao se na biljku folijarno s ručnom pumpom. Količina primijenjenog ekstrakta (KE) povećavala se ovisno o razvojnoj fazi

biljke od 0,02 L/biljci kod prvog tretiranja (KE1=1,00 L/m^2), 0,05 L/biljci kod drugog tretiranja (KE2=2,5 L/m^2) odnosno 0,09 L/po biljci kod trećeg tretiranja (KE3=4,5 L/m^2). Dugi ekstrakt (DE) razrijeđen u omjeru 1:3 te se primjenjivao zalijevanjem tla u količini od 4,8 L/m^2, odnosno 0,096 L/biljci.

Početak primjene vodenih ekstrakata koprive bio je u fazi prvog pravog lista, a završetak u fazi cvatnje. Navedeni tretmani uspoređivali su se s tretmanom dušične gnojidbe u količini 40 kg/ha (Lešić i sur., 2016) dodanom jednokratno u obliku uree (U), koja je aplicirana u vrijeme drugog tretmana s vodenim ekstraktom koprive (**tablica 1**), te varijantom bez primjene navedenih tretmana (k - kontrola).

Tablica 1. Rokovi sjetve i tretiranja graha mahunara

lokacija	Rok sjetve	sjetva	1. tretiranje	2. tretiranje	Gnojidba ureom	3.tretiranje
Zadar	proljeće	21.04.2016.	25.05.2016.	01.06.2016.	01.06.2016.	08.06.2016.
	jesen	09.08.2016.	06.09.2016.	13.09.2016.	13.09.2016.	20.09.2016.
Poreč	proljeće	26.04.2016.	30.05.2016.	06.06.2016.	06.06.2016.	13.06.2016.
	jesen	08.08.2016.	05.09.2016.	12.09.2016.	12.09.2016.	19.09.2016.

Svaka od osam gredica unutar jedne repeticije imala je drugačiji tretman prema planu **(tablica 2)**. Gredice koje nisu tretirane vodenim ekstraktom koprive, prema planiranoj shemi, u isto vrijeme su tretirane s istom količinom vode putem tla ili folijarno preko lista.

Tablica 2. Plan tretiranja pokusnih gredica

Gredica	Plan tretmana
k	Gredica koja nije tretirana (kontrola)
U	Gredica tretirana s dušičnim gnojivom - UREA (40 kg N/ha)
KE1	Gredica tretirana folijarno jedan put u tijeku vegetacije s pripravkom kratkog vodenog ekstrakta suhe biljke koprive
KE2	Gredica tretirana folijarno dva puta u tijeku vegetacije s pripravkom kratkog vodenog ekstrakta suhe biljke koprive u razmaku od sedam dana
KE3	Gredica tretirana folijarno tri puta u tijeku vegetacije s pripravkom kratkog vodenog ekstrakta suhe biljke koprive u razmaku od sedam dana
DE1	Gredica tretirana zalijevanjem tla jedan put u tijeku vegetacije s pripravkom dugog vodenog ekstrakta suhe biljke koprive
DE2	Gredica tretirana zalijevanjem tla dva puta u tijeku vegetacije s pripravkom dugog vodenog ekstrakta suhe biljke koprive u razmaku od sedam dana
DE3	Gredica tretirana zalijevanjem tla tri puta u tijeku vegetacije s pripravkom dugog vodenog ekstrakta suhe biljke koprive u razmaku od sedam dana

3.1.2. Lokacije postavljanja pokusa

Na lokaciji Zadar pokus je postavljen na poljoprivrednom dobru ‘Baštica’, na obiteljskom gospodarstvu Marinka Nekića (N 44.156829; E 15.434074). Smeđe tlo je hidro-meliorirani kalcitni-glejsol (Bogunović i sur., 1998) na kome je više godina uzgajana lubenica (*Citrullus lanatus* L.) uz mineralnu gnojidbu **(slika 8)**.



Slika 8. Pokusno polje Zadar - Baštica, grah mahunar. Izvor: B. Maričić

Isti pokus postavljen je u Poreču na pokusnom polju poljoprivrednog dobra Instituta za poljoprivredu i turizam (N 45.221810; E 13.603338), (**slika 9**). Crveno tlo je eutrični kambisol (Bogunović i sur., 1998), na kojem su uzgajane različite kulture uz redovitu gnojidbu te je poštivan plodored. Predkultura grahu mahunaru bio je ječam gnojen organskim gnojem.



Slika 9. Pokusno polje Poreč, grah mahunar. Izvor: S. Goreta Ban

3.1.3. Rok uzgoja graha mahunara

Izravna sjetva graha mahunara sorte 'Top crop' na obje lokacije obavljena je u dva roka uzgoja: proljetni rok (u travnju) i jesenski rok (u kolovozu). Mjere njege nasada provodile su se prema potrebi i uključivale su okopavanje te navodnjavanje sustavom kapanja prema potrebi. Berba fiziološki zrelih mahuna provodila se sukcesivno, svakih od 5 do 7 dana.

Proljetni sjetveni rok

Jesensko oranje gredica obavljeno je 2015., a predsjetvena priprema tla frezanjem provela se u proljeće 2016. U proljetnom roku sjetva graha mahunara na lokaciji Zadar obavljena je 21. travnja 2016., a na lokaciji Poreč 26. travnja 2016. Grah se sijao na gredice dimenzija 2 m × 2,5 m (površina osnovne gredice 5 m^2) s po četiri reda na gredici. Razmak između redova bio je 50 cm, a između biljaka u redu 4 cm, što je činilo sklop od 50 biljaka/m^2. Obračunsku gredicu činila su dva srednja reda te je ona iznosila 2,50 m^2.

Nicanje graha mahunara u proljetnom roku je bilo duže (19 - 20 dana) u odnosu na jesenski rok sjetve zbog niskih temperatura. Cvatnja je nastupila 42 - 45 dana od nicanja, dok se berba mahuna na obje lokacije provodila sukcesivno u razdoblju od 19 dana (29.06. - 18.07.2016.). Porastom temperatura zametanje cvjetova je prestalo, kao i plodonošenje (**tablica 3)**.

Jesenski sjetveni rok

U jesenskom roku na lokaciji Zadar sjetva je obavljena 09. kolovoza 2016., a na lokalitetu Poreč 08. kolovoza 2016. Nicanje graha u jesenskom roku je bilo 6. dan nakon sjetve zbog povoljnih temperaturnih uvjeta. Cvatnja je nastupila 43-44 dana od nicanja, dok se berba mahuna provodila sukcesivno u razdoblju od 10.10. do 30.10.2016. Berba je završena nastupom obilnih kiša, kraćih dana i nižih temperatura, kada nije bilo formiranja novih mahuna **(tablica 3**).

Tablica 3. Vegetacijski kalendar graha mahunara za proljetni i jesenski rok sjetve.

Lokacija	Rok sjetve	Sjetva	Nicanje	Cvatnja	Berba	Vađenje biljaka
Zadar	proljeće	21.04.2016.	10.05.2016.	21.06.2016.	29.06. - 18.07. 2016.	19.07.2016.
	jesen	09.08.2016.	15.08.2016.	28.09.2016.	11.10.- 30.10. 2016.	31.10.2016.
Poreč	proljeće	26.04.2016.	16.05.2016.	24.06.2016.	2.07.- 21.07. 2016.	22.07.2016.
	jesen	08.08.2016.	14.09.2016.	26.09.2016.	10.10. - 30.10. 2016.	31.10.2016.

3.2. Kemijska analiza tla

Tlo se uzorkovalo na početku pokusa na obje lokacije (**tablica 4**). Prosječni uzorci tla uzeti su iz sloja 0-30 cm dubine, potom su sušeni, samljeveni, homogenizirani prema normi HRN ISO 11464:2009 (http://www.hzn.hr), te analizirani u pedološkom laboratoriju Instituta za poljoprivredu i turizam Poreč. Kiselost tla (pH reakcija) određena je elektrometrijski, kombinirano elektrodom na Mettler Toledo pH-meteru MPC 227 u suspenziji tla i destilirane vode u omjeru 1:2,5 (trenutna ili aktivna kiselost) te suspenziji tla i 1M KCl (supstitucijska ili izmjenjiva kiselost), prema protokolu HRN ISO 10390:2005 (http://www.hzn.hr). Ukupni dušik određen je po Kjeldahlovoj metodi (AOAC, 1995) prema normi HRN ISO 11261:2004 (http://www.hzn.hr). Određivanje humusa bikromatnom metodom je utvrđeno prema normi HRN ISO 14235:1998 (http://www.hzn.hr) mokrim spaljivanjem organske tvari tla s kalijevim bikromatom. Koncentracija humusa nakon spaljivanja organske tvari u uzorcima određena je spektrofotometrijski. Fosfor i kalij u tlu određeni su ekstrakcijom iz tla u amonij-acetatu prema Egner-Riehm-Domingo metodom (Egner i sur., 1960). Nakon ekstrakcije koncentracija fosfora određena je spektrofotometrijski, a kalij je određen plamenfotometrijski.

Tablica 4. Kemijska svojstva tla u Poreču i Zadru prije početka pokusa

Lokacija	pH (H_20)	pH (KCl)	N (%)	P (mg/100 g)	K (mg/100 g)	Humus (%)
Poreč	7,82	6,54	0,16	12,64	33,50	2,42
Zadar	8,05	7,15	0,13	8,03	15,00	2,24

3.3. Kemijska analiza bilja

3.3.1. Mineralni sastav vodenog ekstrakta koprive

U uzorku vodene hranjive otopine amonijski dušik određen je spektrofotometrijski uz pomoć Nesslerovog reagensa, nitratni dušik spektrofotometrijski s fenol disulfonskom kiselinom, fosfor spektrofotometrijski (molibdenovanadatni reagens), kalij plamenfotometrijski, kalcij i magnezij atomskom apsorpcijskom spektrometrijom, sumpor gravimetrijski, a željezo, cink, mangan i bakar atomskom apsorpcijskom spektrometrijom (HRN EN ISO 13395:1998,

HRN EN ISO 11732:2008 i HRN EN ISO 15681-2:2008), (http://www.hzn.hr). Dobivene vrijednosti prikazane su u **tablici 5.**

Tablica 5. Mineralni sastav vodenog ekstrakta koprive

Ekstrakcija	NO_3-N	NH_4-N	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Zn	Mn	Cu
	mg/L										
KE	127,75	17,96	17,34	562,33	325,16	43,42	42,42	0,06	0,46	0,03	0,05
DE	0,63	111,78	18,94	646,00	645,89	60,24	48,96	0,21	0,08	0,04	0,04

3.3.2. Kiselost i električna provodljivost vodenih otopina koprive

Kiselost (pH) određena je na uređaju MettlerToledo pH-metar MPC 227 (HRN ISO 10523:2012) kao i električna provodljivost (EC), (HRN EN 27888:2008). Određene vrijednosti pH su bile od 7,85 do 7,93 za kratki vodeni ekstrakt koprive – KE (ekstrakcija 24 sata), dok su vrijednosti EC bile od 3,29 do 3,47 dS/m. Za dugi vodeni ekstrakt koprive - DE (ekstrakcija 14 dana) pH vrijednosti su bile od 6,46 do 6,61, a EC vrijednosti od 5,27 do 5,51 dS/m.

3.3.3. Određivanje ukupnog dušika i mineralnog sastava u grahu mahunaru

Sa svake obračunske gredice su uzeti reprezentativni uzorci nadzemnog biljnog materijala graha mahunara. Uzorci graha mahunara su oprani u destiliranoj vodi, osušeni na temperaturi od 70 ºC, samljeveni i homogenizirani. Udio suhe tvari utvrđen je gravimetrijski sušenjem na 105 °C (HRN ISO 11465:2004), (http://www.hzn.hr).

Koncentracija hranjivih sastojaka u listu određena je u najmlađim potpuno razvijenim listovima nakon što su listovi osušeni na 70 °C i potom samljeveni. Ukupni dušik određen je metodom po Kjeldahu (HRN ISO11261:2004), (AOAC, 1995). Ukupna koncentracija kalcija, željeza, kalija, magnezija, fosfora i sumpora određena je induktivno spregnutom plazmom optičkom emisijskom spektroskopijom (ICP-OES) na uređaju Vista MPX AX (Vista MPX AX, Varian, Palo Alto, Calif.) nakon ekstrakcije u smjesi HCl, HNO_3 i H_2O_2 mikrovalnom tehnikom na instrumentu MARS Xpress (CEM, Matthews, N.C.) u zatvorenim TFM posudama s automatskom regulacijom tlaka i temperature (HRN ISO 11466:2004) (http://www.hzn.hr). Mangan, cink i bakar određeni su atomskom apsorpcijskom spektrofotometrijom, nakon

digestije s koncentriranom HNO_3 i $HClO_4$ (MILESTONE 1200 Mega Microwave Digester), (AOAC, 1995).

3.3.4. Određivanje ukupnih fenola u ekstraktima koprive i grahu mahunaru

Određivanje ukupnih fenola provodi se u ekstraktima koprive i suhoj herbi graha mahunara primjenom spektrofotometrijske metode koja temelji se na kolornoj reakciji fenola s Folin-Ciocalteu reagensom te mjerenjem nastalog intenziteta obojenja pri 765 nm (Shortle i sur., 2014).

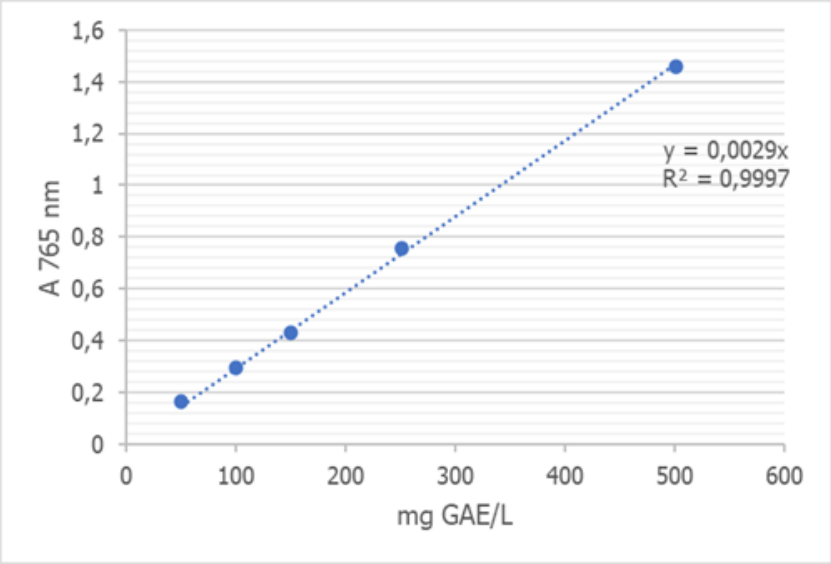
Postupak određivanja:

U staklenu epruvetu otpipetira se redom 100 µL ekstrakta, 200 µL Folin Ciocalteu reagensa i 2 mL destilirane vode. Nakon 3 min doda se 1 mL zasićene otopine natrijeva karbonata. Pomoću Vortexa sve se skupa promiješa, te se uzorci termostatiraju 25 minuta pri t=50 °C (u kupelji od rotavapora). Nakon toga mjeri se apsorbancija (optička gustoća otopine) pri valnoj duljini 765 nm. Na isti način pripremi se i slijepa proba, ali se umjesto ekstrakta uzima otapalo za ekstrakciju.

Izrada baždarnog pravca:

Za pripremu baždarnog pravca odvaže se 0,5 g galne kiseline. Odvaga se otopi u 10 mL 96%-tnog etanola u odmjernoj tikvici od 100 mL i nadopuni destiliranom vodom do oznake. Od te otopine galne kiseline rade se razrijeđenja u odmjernim tikvicama od 100 mL tako da se otpipetira redom 1, 2, 3, 5 i 10 mL alikvota standardne otopine galne kiseline u svaku tikvicu i potom se nadopunjavaju do oznake destiliranom vodom. Koncentracije galne kiseline u tim tikvicama iznose 50, 100, 150, 250 i 500 mg/L. Iz svake tikvice otpipetira se 100 µL otopine standarda u staklene epruvete. Potom se dodaje redom 200 µL Folin Ciocalteu reagensa i 2 mL destilirane vode. Nakon 3 min doda se 1 mL zasićene otopine natrijeva karbonata. Sve skupa se promiješa (pomoću Vortexa), a potom se uzorci termostatiraju 25 minuta pri t=50 °C (u kupelji od rotavapora). Za slijepu probu uzima se 100 µL destilirane vode. Nakon toga mjeri se apsorbancija (optička gustoća otopine) pri valnoj duljini 765 nm.

Iz izmjerenih vrijednosti apsorbancija nacrta se baždarni pravac (**slika 10**) pomoću programa Microsoft Excel pri čemu su na apscisi nanesene masene koncentracije galne kiseline (mg/L), a na ordinati izmjerene vrijednosti apsorbancije pri 765 nm. Koncentracija ukupnih fenola izračuna se prema dobivenoj jednadžbi pravca.



Slika 10. Baždarni dijagram za ukupne fenole

3.3.5. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta DPPH metodom u ekstraktima koprive i grahu mahunaru

Metoda za određivanje antioksidacijskog kapaciteta DPPH metodom temelji na redukciji stabilnog DPPH u prisustvu antioksidanta pri čemu dolazi do promjene ljubičaste boje u žutu, a apsorbancija se mjeri pri 517 nm. Antioksidativni kapacitet ekstrakta suhog lišća određen je u reakciji sa slobodnim radikalom 2,2-difenil-1-pikrilhidrazilom (DPPH) (Brand-Williams i sur., 1995) s određenom modifikacijama: u epruvetu je otpipetirano 1 mL uzorka, 1 mL metanola i 0,5 mL 0,5 mM otopine DPPH (0,02 g DPPH otopljeno je u odmjernoj tikvici od 100 mL s metanolom i nadopunjeno do oznake). Epruvete su bile 20 minuta u mraku na sobnoj temperaturi te se nakon toga mjerila apsorbancija pri 517 nm (Uviline 9400, Secomam, Francuska) (Zorić i sur., 2016). Za slijepu probu koristila se otopina metanola. Rezultati su izračunati prema kalibracijskoj krivulji za Trolox (5-100 mM), a vrijednosti DPPH izražene su kao mmol ekvivalenta Troloxa (TE) na 1 g suhe tvari (st), kao srednja vrijednost ± standardna devijacija (N = 3 ponavljanja).

3.3.6. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta FRAP metodom u ekstraktima koprive i grahu mahunaru

Metoda se temelji na reakciji redukcije žuto obojenog kompleksa željezo-2,4,6-tripiridil-striazina (TPTZ) pri čemu nastaje plavo obojeni kompleks fero-tripiridiltriazin koji ima apsorpcijski maksimum pri 593 nm (Shortle i sur., 2014). Reakcija je popraćena smanjenjem intenziteta obojenja koji je izravno proporcionalan koncentraciji antioksidanta i odvija se u kiselom mediju, pri pH 3,6 čime se osigurava dobra topljivost željeza i niži ionizacijski potencijal koji omogućuje prijenos elektrona, a ujedno se povećava i redoks potencijal, koji dodatno omogućava pomak reakcije u smjeru prijenosa elektrona (Benzie i Strain, 1999). Redoks potencijal reakcije Fe^{3+}/Fe^{2+} iznosi 0,77 V i svi spojevi s nižim redoks potencijalom, ulazit će u reakciju redukcije željeza i na taj način doprinijeti konačnom rezultatu antioksidacijske aktivnosti. Reakcija prijenosa elektrona odvija se relativno brzo, od 4 do 6 minuta, pa se njome može opisati antioksidacijska aktivnost onih fenolnih spojeva koji ulaze u reakciju veoma brzo. U staklene se epruvete najprije otpipetira 300 µL ekstrakta i 2250 µL FRAP reagensa, nakon čega se dobro promiješa te 10 min termostatira na temperaturi 37 °C u vodenoj kupelji od rotavapora. Potom se mjeri apsorbancija pri 593 nm. Potrebno je napraviti i slijepu probu koja mora sadržavati sve navedeno osim samog uzorka umjesto kojeg se dodaje otapalo u kojem je uzorak ekstrahiran. Rezultati su izračunati prema kalibracijskoj krivulji za $FeSO_4$, a vrijednosti FRAP izražene su kao mmol ekvivalenta Fe^{2+}/1 g suhe tvari (st), kao srednja vrijednost ± standardna devijacija (N = 3 ponavljanja).

3.4. Vegetativna mjerenja biljke graha mahunara

Vegetativna mjerenja biljke graha mahunara provedena su neposredno pred početak berbe mahuna. Sa svake obračunske parcele analizirano je ukupno 10 biljaka, odnosno 40 biljaka po tretmanu kako bi se odredili sljedeći pokazatelji:

a) visina nadzemnog djela - izmjerena je ravnalom od prvog nodija do baze vršnih listova (**slika 11a**).

b) promjer stabljike (mm) - izmjeren je pomičnim mjerilom (Pittsburg 6”) na prvom nodiju stabljike **(slika 11b)**.



(a) (b)

Slika 11. Mjerenje visine nadzemnog dijela (a) i promjera stabljike graha mahunara (b), (Izvor: B. Maričić)

c) broj listova većih od 1 cm

d) površina lista (cm^2) - listovi su odvojeni od stabljike te je izmjerena je njihova površina na sceneru Cannon LiDE 300 pomoću programa Image - J (Rasband, W.S., 1997.- 2016), (**slika 12**).



Slika 12. Mjerenje površine lista (Izvor: B. Maričić)

Biljke su potom sušene u sušioniku (Inko 1935) na 60 °C do konstantne mase da bi se odredila suha masa listova i stabljike (**slika 13**).



Slika 13. Suha masa stabljika (Izvor: B. Maričić)

3.5. Sastavnice prinosa

Berba mahuna provedena je sukcesivno u skladu s tehnološkom zrelošću. Po svakoj obračunskoj gredici mahune su vagane kako bi se utvrdio ukupni prinos (kg/m^2). Pored toga, u punoj berbi se sa svake gredice uzeo uzorak te se s ravnalom izmjerila dužina (cm), **(slika 14a**) i promjer mahune (mm), (**slika 14b**) uz pomoć pomičnog mjerila (Pittsburg 6").



(a) (b)

Slika 14. Mjerenje dužine (a) i promjera mahuna (b). Izvor: B. Maričić

3.6. Statistička analiza podataka

Poljski pokusi s 8 gnojidbenih tretmana po slučajnom bloknom rasporedu (RCBD) u 4 ponavljanja proveden je kao serija pokusa na dvije lokacije u dva roka uzgoja.

Dobiveni podaci za varijable vegetativnih pokazatelja, komponente prinosa te kemijskih analiza obrađeni su analizom varijance (ANOVA). Za signifikantne učinke provedena je usporedba srednjih vrijednosti primjenom Tukey-testa višestrukih usporedbi (Tukey's HSD - Honestly Significant Difference test) na razini signifikantnosti $p \leq 0,05$. Statistička analiza provedena je korištenjem GLM postupka računalnog programa Statistica v. 13.3.0 (Tibco softver, Palo alto, CA, SAD, 2017).

3.7. Meteorološki podaci lokaliteta tijekom provedbe pokusa

3.7.1 Osnovna klimatska obilježja lokacija Zadar - Baštica i Poreč

Za analizu klimatskih obilježja dviju lokacija praćena je dnevna temperatura zraka (minimalna, srednja i maksimalna) te raspored i količina oborina. U tu svrhu korišteni su meteorološki podaci meteoroloških stanica Zadar i Poreč za period provedbe pokusa (2016. godina), koji će se usporediti sa referentnim višegodišnjim prosjekom za razdoblje 1995. do 2015. istih meteoroloških stanica (www.dhmz.htnet.hr - Državni hidrometeorološki zavod). Klasifikacija klime određena je prema W. Köppenu (Šegota i Filipčić, 2003). Zadar spada pod Csa klimu, tj. sredozemnu klimu sa vrućim i suhim ljetom (pod utjecajem suptropskih anticiklona) i blagom zimom s povremenim hladnim valovima. Poreč spada pod Cfa klimu, tj. umjereno toplu vlažnu klimu s vrućim ljetom uz obilje padalina i njihovu povoljnu raspodjelu tijekom godine. Prikaz prosječnih vrijednosti srednjih mjesečnih temperatura zraka i suma mjesečnih oborina za dvadesetogodišnje razdoblje (1995. – 2015.) za meteorološke postaje Zadar – Baštica i Poreč vidljiv je u **tablici 6**.

Tablica 6. Prosječna mjesečna temperatura zraka i suma oborina: Zadar – Baštica, Poreč; od 1995. do 2015. godine. Izvor: www.dhmz.htnet.hr

Mjesec	Mjesečna temperatura zraka (°C)			Oborine (mm)
	Min.	Sred.	Maks.	Sred.
		ZADAR		
I	5,8	7,7	10,9	84,2
II	4,4	7,7	11,0	66,5
III	8,1	10,3	13,2	54,8
IV	10,6	13,8	15,8	63.0
V	16,6	18,4	20,2	70,0
VI	20,3	22,6	25,4	45,6
VII	23,6	25,1	27,3	39,2
VIII	22,4	24,6	27,2	46,3
IX	17,5	20,3	23,5	120,1
X	14,9	16,6	18,2	96,4
XI	10,0	12,5	15,0	115,0
XII	5,4	8.9	10,9	107,1
prosjek	14,8	15,7	16,5	75,7

POREČ				
I	2,7	5,5	9,2	62,5
II	1,9	5,5	10,0	60,4
III	5,5	8,4	11,7	50,7
IV	9,5	12,5	14,4	61,1
V	15,2	17,4	19,1	69,1
VI	18,8	21,6	24,8	63,5
VII	21,6	23,9	26,5	51,7
VIII	20,6	23,2	25,9	62,6
IX	15,8	18,6	21,7	103,0
X	12,8	14,5	16,6	92,5
XI	7,8	10,5	13,3	120,5
XII	3,5	6,6	8,8	87,6
prosjek	12,9	14,0	15,1	73,7

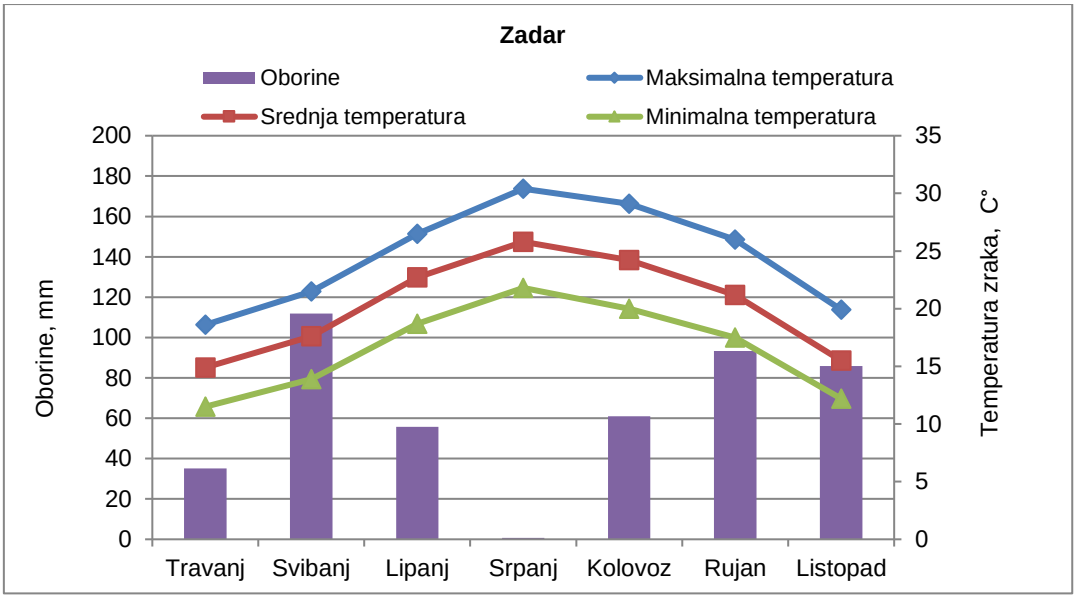
Gledajući višegodišnji prosjek vidljivo je kako je u Zadru najtopliji mjesec srpanj sa srednjom mjesečnom temperaturom zraka 25,1 °C, a najhladniji siječanj i veljača sa 7,7 °C. Prosječno najmanje oborina padalo je u srpnju (39,2 mm), dok je najviše oborina zabilježeno u rujnu (120,1 mm).

U Poreču je također najtopliji mjesec srpanj sa srednjom mjesečnom temperaturom zraka 23,9 °C, a najhladniji siječanj i veljača sa 5,5 °C. Prosječno najmanje oborina zabilježeno je u ožujku (50,7 mm), a najviše u studenom (120,5 mm).

3.7.1.1 Vremenske prilike meteoroloških stanica lokaliteta provedbe pokusa

Zadar – Baštica, 2016. godine

Meteorološki podaci za minimalnu, maksimalnu i srednju temperaturu zraka te količinu i raspored oborina u 2016. godini za vegetacijsko razdoblje uzgoja graha mahunara prikazani su u **grafikonu 1** za lokaciju Zadar-Baštica u dva roka uzgoja (proljetni: travanj-srpanj; jesenski: kolovoz - listopad). Mjerenje je provedeno na visini od 2 m iznad tla.



Grafikon 1. Meteorološki podaci za minimalnu, maksimalnu i srednju temperaturu zraka i količinu oborina za lokaciju Zadar-Baštica, 2016. godine. Izvor: www.dhmz.htnet.hr

Prema podacima meteorološke postaje Zadar za 2016. godinu (**tablica 7**) vrijednosti srednjih mjesečnih temperatura zraka u provedbi pokusa uzgoja graha mahunara (travanj-listopad) su bile od 14,9°C u travnju do 25,8°C u srpnju, a srednja temperatura čitavog uzgojnog razdoblja bila je 20,3 °C. Najniža srednja dnevna temperatura zraka bila je 9,0°C (25. travnja), dok je najviša bila 28,3°C (11. srpnja). Srednja vrijednost minimalnih dnevnih temperatura zraka je bila 16,5°C, dok je srednja vrijednost maksimalnih dnevnih temperatura zraka u navedenom razdoblju bila 24,5°C. Minimalna dnevna temperatura zraka oscilirala je od 5,0°C (26. travnja) do 24,3°C (13. srpnja), dok je maksimalna dnevna oscilirala od 13,4°C (25. travnja) do 33,5°C (11. srpnja).

Uspoređujući s referentnim desetogodišnjim razdobljem (**tablica 6**), srednje dnevne temperaturne vrijednosti u 2016. godini (**tablica 7**) bile su slične dvadesetogodišnjem prosjeku. Najveća razlika bila je u travnju kada je temperatura bila za 1,1°C viša od dvadesetogodišnjeg prosjeka, dok je najmanja razlika zabilježena u lipnju sa 0,1 °C višom temperaturom. U 2016. godini najmanje oborina bilo je u srpnju (0,7 mm), dok je u dvadesetogodišnjim prosjecima taj mjesec imao umjerenu količinu oborina (39,2 mm). Najkišovitiji je bio mjesec svibanj (118,8 mm), za razliku od dvadesetogodišnjeg razdoblja gdje je najkišovitiji bio rujan.

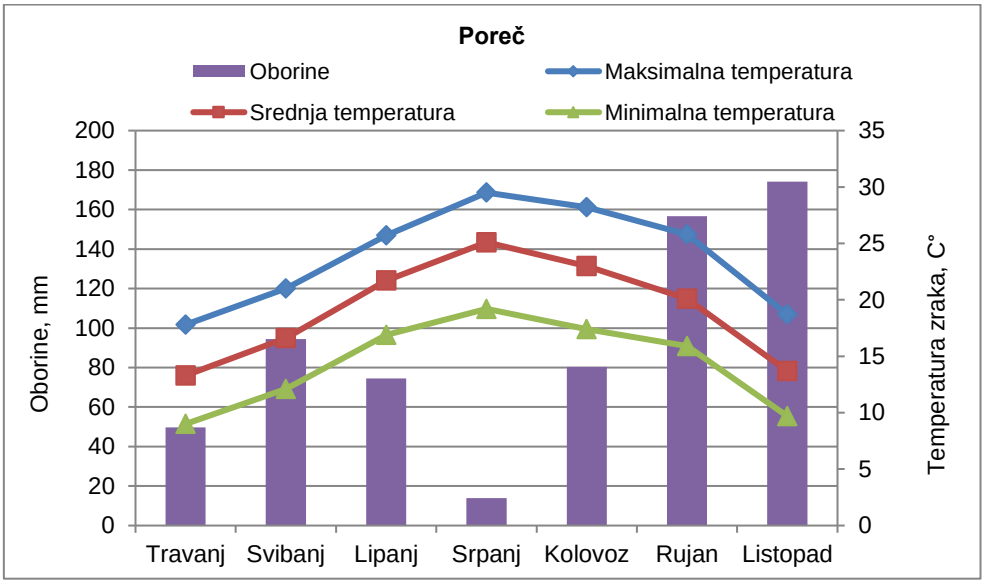
Tablica 7. Meteorološki pokazatelji dekadnih temperatura, s značajnim temperaturnim naznakama (negativne temperature, topli i vrući dani) - Zadar-Baštica 2016. godine. Izvor: www.dhmz.htnet.hr

		Broj dana			Temperatura zraka (°C)			Oborine (mm)
Mjesec	**Dekada**	**Topli*** **	**Vrući****	**S negativnim temp.**	**Minimalna**	**Srednja**	**Maksimalna**	
Travanj	I	0	0	0	12,0	14,9	18,7	13,0
	II	0	0	0	12,4	16,1	20,0	2,4
	III	0	0	0	10,0	13,8	17,2	19,8
					11,5	**14,9**	**18,6**	**35,2**
Svibanj	I	0	0	0	12,9	16,6	20,7	36,1
	II	2	0	0	13,2	16,5	19,8	54,0
	III	0	0	0	15,5	19,5	23,8	21,7
					13,9	**17,6**	**21,5**	**111,8**
Lipanj	I	4	0	0	17,1	21,0	24,5	16,5
	II	5	0	0	18,3	21,9	25,3	33,2
	III	6	4	0	20,7	25,1	29,6	6,1
					18,7	**22,7**	**26,5**	**55,8**
Srpanj	I	2	8	0	21,9	26,4	30,9	0,1
	II	3	5	0	20,8	24,5	28,7	0,6
	III	0	11	0	22,7	26,5	31,6	0,0
					21,8	**25,8**	**30,4**	**0,7**
Kolovoz	I	4	6	0	21,1	25,1	29,9	9,4
	II	1	9	0	18,7	23,0	27,9	26,1
	III	6	5	0	20,2	24,5	29,4	25,4
					20,0	**24,2**	**29,1**	**60,9**
Rujan	I	7	2	0	19,4	23,2	28,4	44,1
	II	8	0	0	18,9	22,0	25,7	49,2
	III	0	0	0	14,1	18,4	23,8	0,0
					17,5	**21,2**	**26,0**	**93,3**
Listopad	I	0	0	0	12,4	15,4	20,2	12,0
	II	0	0	0	12,0	15,5	19,5	72,8
	III	0	0	0	12,3	15,6	20,0	1,0
					12,2	**15,5**	**19,9**	**85,8**

* dan s maksimalnom temperaturom zraka ≥ 25°C; ** dan s maksimalnom temperaturom zraka ≥ 30°C; *** dan s minimalnom temperaturom zraka ≤ 0°C

3.7.1.2. Vremenske prilike meteoroloških stanica lokaliteta provedbe pokusa Poreč 2016. godine

Meteorološki podaci za minimalnu, maksimalnu i srednju temperaturu zraka te raspored i količinu oborina u 2016. godini za vegetacijsko razdoblje uzgoja graha mahunara prikazani su u **grafikonu 2** za lokaciju Poreč u dva roka uzgoja (proljetni: travanj-srpanj; jesenski: kolovoz - listopad). Mjerenje je provedeno na visini od 2 m iznad tla.



Grafikon 2. Meteorološki podaci za minimalnu, maksimalnu i srednju temperaturu zraka i količinu oborina za lokaciju Poreč, 2016. godine. Izvor: www.dhmz.htnet.hr

Prema podacima meteorološke postaje Poreč za 2016. godinu (**tablica 8**) vrijednosti srednjih mjesečnih temperatura zraka u provedbi pokusa uzgoja graha mahunara (travanj-listopad) su bile od 13,3 °C u travnju do 25,1 °C u srpnju, a srednja temperatura tog razdoblja bila je 19,1 °C. Najniža srednja dnevna temperatura zraka bila je 8,9 °C (25. travnja), dok je najviša bila 28,5 °C (21. srpnja). Srednja vrijednost minimalne dnevne temperature zraka je bila 14,1°C, dok je maksimalna dnevna temperatura zraka u navedenom razdoblju bila 24,2 °C. Minimalna dnevna temperatura zraka oscilirala je od 4,0 °C (6. listopada) do 25 °C (13. srpnja), dok je maksimalna dnevna oscilirala od 13,5 °C (25. travnja) do 33,2 °C (12. srpnja).

Tablica 8. Meteorološki pokazatelji dekadnih temperatura, s značajnim temperaturnim naznakama (negativne temperature, topli i vrući dani) – Poreč, 2016. godina. Izvor: www.dhmz.htnet.hr

		Broj dana			Temperatura zraka (°C)			
Mjesec	**Dekada**	**Topli*** **	**Vrući****	**S negativnim temp.**	**Minimalna**	**Srednja**	**Maksimalna**	**Oborine (mm)**
Travanj	I	0	0	0	9,2	12,7	16,9	21,3
	II	0	0	0	10,4	15,0	19,9	6,5
	III	0	0	0	7,5	12,3	16,6	21,9
					9,0	**13,3**	**17,8**	**49,7**
Svibanj	I	0	0	0	11,1	15,6	20,2	13,0
	II	0	0	0	11,7	15,4	19,6	63,5
	III	2	0	0	13,4	18,5	23,2	18,0
					12,1	**16,5**	**21,0**	**94,5**
Lipanj	I	2	0	0	15,9	20,2	23,8	9,1
	II	3	0	0	16,5	20,6	24,4	65,4
	III	5	4	0	18,4	24,5	29,0	0,0
					16,9	**21,7**	**25,7**	**74,5**
Srpanj	I	8	2	0	19,1	25,3	29,3	0,3
	II	4	5	0	18,5	24,4	29,0	6,9
	III	5	6	0	19,9	25,5	30,2	6,7
					19,2	**25,1**	**29,5**	**13,9**
Kolovoz	I	8	2	0	18,1	23,6	29,0	3,8
	II	9	0	0	16,5	22,2	26,7	51,7
	III	8	3	0	17,5	23,1	28,7	24,8
					17,4	**23,0**	**28,2**	**80,3**
Rujan	I	7	2	0	18,4	22,8	28,4	8,4
	II	6	0	0	17,0	20,6	26,1	148,3
	III	1	0	0	12,3	17,0	23,1	0,0
					15,9	**20,1**	**25,8**	**156,7**
Listopad	I	0	0	0	9,4	13,6	19,1	96,9
	II	0	0	0	10,3	14,4	18,6	56,4
	III	0	0	0	9,3	13,2	18,3	20,8
					9,7	**13,7**	**18,7**	**174,1**

* dan s maksimalnom temperaturom zraka ≥ 25°C; ** dan s maksimalnom temperaturom zraka ≥ 30°C; *** dan s minimalnom temperaturom zraka ≤ 0°C

U usporedbi s referentnim desetogodišnjim razdobljem (**tablica 6**) srednje dnevne temperaturne vrijednosti u 2016. godini bile su vrlo slične dvadesetogodišnjem prosjeku mada je srpanj bio topliji za 1,2 °C, rujan za 1,5 °C. U 2016. godini najmanje oborina bilo je u srpnju (13,9 mm), dok u dvadesetogodišnjim prosjecima istog razdoblja zabilježena je umjerena količina oborina (51,7 mm). Najkišovitiji mjeseci su bili rujan (156,7 mm), i listopad (174,1 mm) uz znatno veću količinu oborina od dvadesetogodišnjeg razdoblja u rujnu (rujan / 103 mm i listopad / 92,5 mm).

3.7.2. Usporedba klimatskih obilježja lokacija Zadar - Baštica i Poreč za vrijeme provedbe pokusa

U **tablicama 7** i **8** prikazani su meteorološki pokazatelji dekadnih temperatura, s značajnim temperaturnim naznakama (negativnim temperaturnim, toplih i vrućih dana) za Zadar i Poreč, za razdoblje vegetacije prvog (travanj-srpanj) i drugog roka (kolovoz-listopad) uzgoja graha mahunara.

U prvom roku provedbe istraživanja sjetva graha mahunara u Zadru i Poreču započela je u trećoj dekadi travnja (Zadar: 21. travanj; Poreč: 26. travanj). Za vrijeme nicanja graha mahunara u mjesecu svibnju prosjek srednje temperature u trećoj dekadi za Zadar bio je viši nego u Poreču za 1,5 °C (Zadar: 13,8 °C; Poreč: 12,3 °C), uz oborine koje su bile za 2,1 mm niže nego u Poreču (Zadar: 19,8 °C; Poreč: 21,9 mm). Navedene prosječne temperature bile su niže od optimalne temperature nicanja od 18 do 22 °C (Lešić i sur., 2016), pa je razdoblje nicanja bilo dulje.

U generativnom razdoblju uzgoja graha mahunara u mjesecu lipnju prosjek srednje dekadne temperature zraka iznosio je u Zadru 22,7 °C, dok je u istom mjesecu u Poreču iznosio 21,7 °C. Uz 1 °C višu prosječnu srednju dekadnu temperaturu Zadar je imao nižu (55,8 mm) sumu oborina za 18,7 mm, od Poreča (74,5 mm). Temperatura za cvatnju i zametanje mahuna bila je optimalna u skladu s literaturom od oko 23 °C, dok se cvatnja zaustavlja na temperaturi nižoj od 15 i višoj od 35 °C (Lešić i sur., 2016).

Mjesec srpanj, kada se provodio veći dio berbe mahuna, bio je izrazito suh uz najviši prosjek dekadnih minimalnih, srednjih i maksimalnih temperatura zraka u Zadru (21,8 °C; 25,8 °C; 30,4 °C) uz gotovo ništa oborina (0,7 mm). Za iste vrijednosti Poreč je bilježio također visoke temperature (19,2 °C; 25,1°C; 29,5 °C) uz malo oborina (13,9 mm).

U drugom roku provedbe istraživanja sjetva graha mahunara u Zadru i Poreču započela je u drugoj dekadi kolovoza (Zadar: 9. kolovoz; Poreč: 8. kolovoz). Za vrijeme nicanja graha

mahunara, u drugoj dekadi mjeseca kolovoza, prosjek srednje temperature druge dekade za Zadar (23,0 °C) bio je viši nego u Poreču (22,2 °C). Slično je bilo i u trećoj dekadi gdje je Zadar (24,5 °C) imao višu temperaturu od Poreča (23,1 °C). U drugoj dekadi kolovoza, u vrijeme vegetativnog razvoja mlade biljke, Poreč (51,7 mm) je bilježio gotovo dvostruku sumu oborina od Zadra (26,1 mm) za isto razdoblje. U trećoj dekadi kolovoza oborine su bile u Zadru (25,4 mm) i Poreču (24,8 mm) gotovo ujednačene. U mjesecu rujnu za vrijeme generativne faze, cvatnje, zametanja mahuna temperatura je bila optimalna. U ovom razdoblju vrijednosti dekadnih minimalnih, srednjih i maksimalnih temperatura zraka u Zadru (17,5 °C; 21,2 °C; 26,0 °C) uz oborine (93,3 mm) bile su slične kao u Poreču za ista mjerenja (15,9 °C; 20,1 °C; 25,8 °C) uz znatno više oborina (156,7 mm). U listopadu za vrijeme berbe mahuna i kraja vegetacije, u Poreču se prosjek srednje dekadne temperature značajno spustio uz (13,7 °C) uz veće količine kiše (174,1 mm). Za isto razdoblje Zadar je za ista mjerenja imao za 1,8 °C višu temperaturu (15,5 °C), te dvostruko nižu količinu oborina (85,8 mm). Pad temperature i povećane količine kiše skratile su vegetaciju i berbu mahuna.

4. REZULTATI

4.1. Analiza tla na početku pokusa

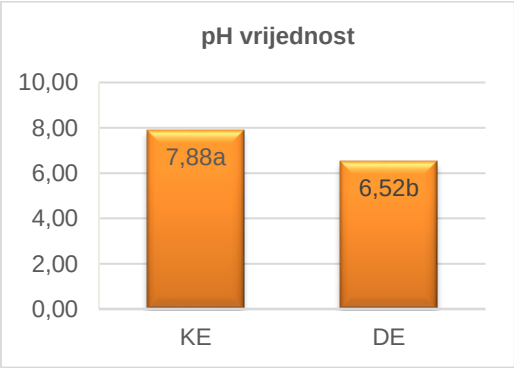
Pokazatelji reakcije tla (H_2O i KCl) te količine dušika (N), kao i biljci pristupačni fosfor (P) i kalij (K) te sadržaj humusa imali su statistički značajno više vrijednosti na lokaciji Poreč u odnosu na Zadar (**tablica 9**).

Tablica 9. Analiza tla u Poreču i Zadru na početku pokusa

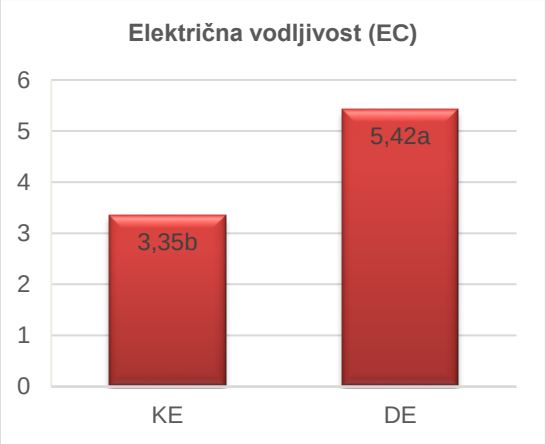
	pH (H_20)	pH (KCl)	N (%)	P (mg/100 g)	K (mg/100 g)	Humus (%)
Lokacija						
Poreč	7,82	6,54	0,16	12,64	33,50	2,42
Zadar	8,05	7,15	0,13	8,03	15,00	2,24

4.2. Pokazatelji kemijskih svojstva vodenih ekstrakata koprive

Kiselost (pH vrijednost) kratkog ekstrakta koprive – KE (ekstrakcija 24 sata) bila je signifikantno veća (7,88) od pH dugog ekstrakta – DE (ekstrakcija 14 dana), (6,52), dok je obrnuto tome električna provodljivost (EC vrijednost) bila statistički značajno viša kod dugog ekstrakta (5,42), za razliku od kratkog (3,35), (**grafikoni 3, 4**).



Grafikon 3. pH vrijednost kratkog KE (ekstakcija 24 sata) i dugog ekstrakta koprive DE (ekstrakcija 14 dana)



Grafikon 4. Električna provodljivost kratkog KE (ekstrakcija 24 sata) i dugog ekstrakta koprive DE (ekstrakcija 14 dana)

Kemijska analiza vodenog ekstrakata koprive (**tablica 10**) pokazala je da je udio dušika u nitratnom obliku bio veći u kratkom ekstraktu (127,75 mg/L) za razliku od dugog ekstrakta (0,63 mg/L), dok je udio amonijevog oblika bio veći u dugom ekstraktu (111,78 mg/L) nego u kratkom (17,96 mg/L). Vrijednosti fosfora nisu pokazale velike razlike (DE=18,94; KE=17,34 mg/L), kao ni razine kalija (DE=646,00; KE=562,33 mg/L). Kalcij je određen u većoj koncentraciji u dugom ekstraktu (645,89 mg/L) za razliku od kratkog (325,16 mg/L). Nešto veća količina magnezija bila je u dugom (60,24 mg/L) u odnosu na kratki ekstrakt (43,42 mg/L), kao i količina sumpora (DE=48,96; KE=42,42 mg/L) i željeza (DE=0,21; KE=0,06 mg/L). Količine ostalih mikroelemenata bile su približne u oba ekstrakta (Zn-DE=0,08; KE=0,46 mg/L / Mn-DE=0,04; KE=0,03 mg/L / Cu-DE=0,04; KE=0,05 mg/L).
Koncentracija ukupnih fenola je bila veća u dugom ekstraktu (115,86 mg/L GAE) nego u kratkom (94,6 mg/L GAE), kao i antioksidacijska aktivnost (DE=11,78; KE=6,18 TE/L).

Tablica 10. Kemijski sastav vodenih ekstrakata koprive nakon ekstrakcije 24 sata (KE-kratki ekstrakt) i 14 dana (DE - dugi ekstrakt)

Vodeni ekstrakt	NO3-N mg/L	NH_4-N mg/L	P mg/L	K mg/L	Ca mg/L	Mg mg/L	S mg/L	Fe mg/L	Zn mg/L	Mn mg/L	Cu mg/L	Ukupni fenoli (mg/L GAE)	Antioksidacijski-DPPH (mmol TE/L)
KE	127,75	17,96	17,34	562,33	325,16	43,42	42,42	0,06	0,46	0,03	0,05	94,60	6,18
DE	0,63	111,78	18,94	646,00	645,89	60,24	48,96	0,21	0,08	0,04	0,04	115,86	11,78

4.3. Pokazatelji vegetativnog rasta

U **tablici 11** prikazana je analiza varijance (ANOVA) utjecaja osam različitih tretmana (T), dvije pedoklimatski različite lokacije (L), dva roka uzgoja (R) te njihovih interakcija na morfološke pokazatelje (visina i promjer biljke, broj listova, masa suhog lista, masa suhe stabljike te površina lista) graha mahunara. Interakcije faktora T × L, T × R, T × L × R) koje su se pokazale kao statistički značajne (prikazane su u **grafikonima 5-9**, dok su sve vrijednosti koje nisu bile statistički značajne prikazane u **prilogu 1** ovog doktorskog rada.

Tablica 11. Vegetativna mjerenja biljke graha mahunara

	Visina biljke (cm)	**Promjer stabljike (mm)**	**Broj listova**	**Masa suhog lista (g)**	**Masa suhe stabljike (g)**
Tretman					
k	28.1^{ab}	4,9^{b}	10	3,9	1,8
U	31,0^{a}	6,1^{a}	13,8	5,8	2,4
KE1	28,2^{ab}	5,3^{b}	12,4	4,3	2,3
KE2	29,7^{ab}	5,2^{b}	11,4	4,0	2,0
KE3	25,2^{b}	5,4^{ab}	11,6	4,2	2,2
DE1	29,1^{ab}	5,3^{b}	11,3	4,0	2,3
DE2	32,6^{a}	5,5^{ab}	11,9	4,6	2,3
DE3	30,6^{ab}	5,2^{b}	10,9	4,0	2,0
Lokacija					
Zadar	25,2^{b}	5,0^{b}	11.6	3.8^{b}	1,5
Poreč	33,2^{a}	5.7^{a}	11.8	4.8^{a}	2,7
Rok					
Proljeće	20,7^{b}	5,2^{b}	11,0^{b}	2,9^{b}	0,9
Jesen	37,2^{a}	5,6^{a}	12,2^{a}	5,7^{a}	3,2
ANOVA					
T	**	***	NS	NS	NS
L	***	**	NS	**	***
R	***	**	*	***	***
L x R	NS	**	*	***	***
L x T	NS	NS	NS	NS	NS
R x T	NS	NS	NS	NS	NS

k – kontrola; **U** – urea; **KE** – kratki ekstrakt koprive; **DE**- dugi ekstrakt koprive; **1,2,3** – broj primjena u toku vegetacije - jedna, dvije, tri; **T** – tretman; **L** – lokacija; **R** – rok; Srednje vrijednosti s različitim slovima u stupcu signifikantno se razlikuju po Tukey testu; ******* Signifikantno pri **p ≤ 0,001**; ****** Signifikantno pri **p ≤ 0,01**; ***** Signifikantno pri **p ≤ 0,05**; **NS nije signifikantno**

Analiza varijance u **tablici 11** pokazuje da je utjecaj tretmana (T) bio visoko statistički značajan za visinu i promjer graha mahunara, dok je njihov učinak izostao za pokazatelje broja listova, mase suhog lista, mase suhe stabljike te površine lista. Utjecaj lokacije (L) bio je statistički značajan za sve promatrane pokazatelje, osim za broj listova, dok je rok (R) imao značajan učinak na sve istraživane pokazatelje graha mahunara. Interakcija lokacije i roka (L × R), (**tablica 11**) pokazala se signifikantna za sve pokazatelje (promjer, broj listova, masa suhog lista, masa suhe stabljike, površina lista), osim za visinu stabljike graha mahunara. Interakcije tretmana i lokacije (T × L), tretmana i roka (T × R) te tretmana, lokacije i roka (T × L × R), nisu bile statistički značajne niti za jedan morfološki pokazatelj graha mahunara (**prilog 1**).

4.3.1. Visina graha mahunara

Utjecaj različitih tretmana (T) bio je statistički značajan za pokazatelj **visine biljke** graha mahunara ($p \leq 0,01$), (**tablica 11**). Ovisno o primijenjenim tretmanima visina graha mahunara bila je je od 25,2 do 32,6 cm. Statistički značajno najveća visina graha mahunara (32,6 cm) izmjerena je na varijantama gdje je primijenjen tretman dugog ekstrakta koprive koji se zalijevao po tlu dva puta u toku vegetacijske sezone (DE2) te na varijantama (31,0 cm) s tretmanom uree (U). Ostali tretmani s dugim (DE1, D3) i kratkim ekstraktima koprive (KE1, KE2), zajedno s kontrolom (k) nisu se statistički značajno razlikovali od opisanih tretmana DE2 i U, ali i tretmana KE3, kod kojeg je izmjerena značajno najmanja visina biljaka (25,2 cm). Promatrajući preostale faktore u pokusu, lokaciju (L) i rok uzgoja (R), biljke graha mahunara bile su u prosjeku signifikantno više na lokaciji Poreč (33,2 cm) u odnosu na Zadar (25,2 cm) te u jesenskom (37,2 cm) u odnosu na proljetni (20,7 cm) rok sjetve (**tablica 11**).

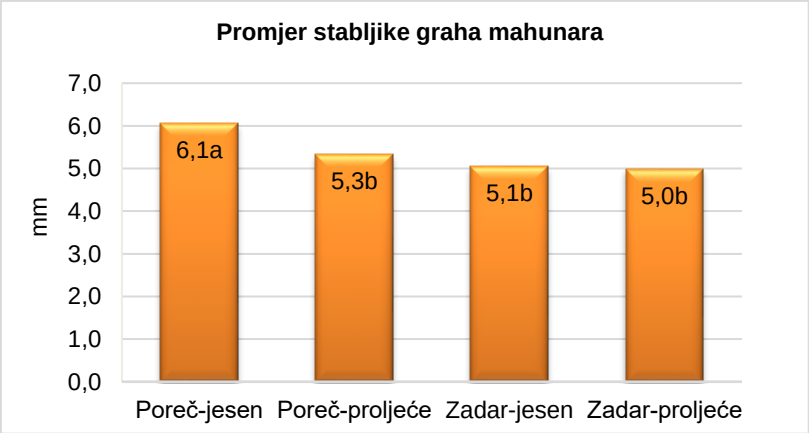
Interakcije svih navedenih faktora (L × R, T × L, T × R, T × L × R) nisu imale statistički značajan utjecaj na visinu graha mahunara (**tablica 11, prilog 1**). U interakciji lokacije i roka (L × R) visina graha mahunara bila je od 17,3 cm u kombinaciji Zadar-proljeće, do najviše visine graha od 40,9 cm u Poreču u jesenskom roku. U interakciji tretmana i lokacije (T × L) visina graha mahunara bila je u rasponu od minimalnih 23,7 cm kada je primijenjen tretman DE3 na lokalitetu Zadar, do maksimalnih vrijednosti 39,0 cm kod primjene istog tretmana u Poreču (DE3-Poreč). Za interakciju tretmana i roka (T × R) visina graha mahunara je bila u rangu od minimalnih 15,4 cm kod kombinacije KE3 i proljetnog roka do maksimalne 40,1 cm kod DE3 i jesenskog roka. Za kombinirani utjecaj sva tri faktora (T × L × R) visina biljaka je bila u rasponu od 14,5 cm, izmjerena na grahu koji se rastao na kontrolnim varijantama na lokaciji Zadar u

proljetnom roku, pa do najviše vrijednosti od 49,5 cm pri tretmanu DE3 u Poreču u jesenskom roku.

4.3.2. Promjer stabljike graha mahunara

Primjena različitih tretmana (T) bila je statistički značajna za pokazatelj **promjera stabljike** graha mahunara ($p \leq 0,001$), (**tablica 11**). Vrijednosti promjera stabljike graha mahunara ovisno o primijenjenim tretmanima varirale su od 4,9 do 6,1 mm. Statistički značajno najmanji promjer imao je grah mahunar ubran na kontrolnim varijantama (4,9 mm), no statistički se nije razlikovao od biljaka koje su tretirane ekstraktima koprive KE1 (5,3 mm), KE2 (5,2 mm), DE1 (5,3 mm), DE3 (5,2 mm). Varijante gnojena s ureom (6,1 mm) bilježile su statistički značajno najviše vrijednosti. Preostali tretmani s koprivom kratke i duge ekstrakcije (KE3 i DE2) bili su statistički podjednaki najvećim i najmanjim vrijednostima promjera stabljike graha mahunara (KE3=5,4 i DE2=5,5 mm). Uzimajući u obzir faktore lokaciju (L) i rok uzgoja (R), biljke graha mahunara su imale signifikantno veći promjer na lokaciji Poreč (5,7 mm) u odnosu na Zadar (5,0 mm) te u jesenskom (5,6 mm) u odnosu na proljetni (5,2 mm) rok.

Interakcija faktora L × R pokazala se značajna ($p \leq 0,01$) za pokazatelj promjera stabljike graha mahunara, a izmjerene vrijednosti prikazane su u **grafikonu 5.** Vidljivo je da su statistički značajno najveći promjer imale biljke uzgajane u Poreču u jesenskom roku (6,1 mm) u usporedbi s preostalim kombinacijama, odnosno na lokaciji Poreč u proljetnom roku (5,3 mm) te lokaciji Zadar u oba roka (jesen=5,1 mm i proljeće=5,0 mm), (**grafikon 5**). Interakcije ostalih navedenih faktora (T × L, T × R, T × L × R) nisu pokazale statistički značajan utjecaj na promjer graha mahunara (**prilog 1**).



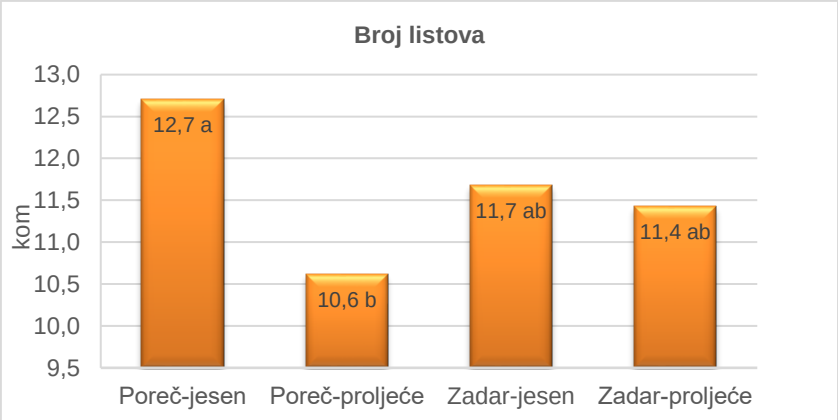
Grafikon 5. Utjecaj interakcije lokacije i roka (L × R) na promjer stabljike (mm) graha mahunara ($p \leq 0,01$)

U interakciji primjene različitih tretmana i lokacije uzgoja (T × L) promjer stabljike se kretao od najmanjih 4,5 mm kod biljaka s kontrolnih varijanti u Zadru do najvećih 6,7 mm kod tretmana s ureom u Poreču. Promjer, u interakciji tretmana i roka (T × R), je bio od 4,9 mm kojeg su imale kontrolne biljke i one tretirane s KE3 i DE1 u proljetnom roku, do maksimalne vrijednosti od 6,2 mm izmjerene na biljkama tretiranim s ureom u jesen. Primjena različitih tretmana s obzirom na lokaciju i rok (T × L × R) utjecala je na promjer koji se kretao od najmanjih 4,3 mm na kontrolnim biljkama u Zadru u jesenskom roku (k-Zadar-jesen), do najvećih 6,8 mm u istom roku uzgoja, ali kod primjene uree na lokaciji Poreč (U-Poreč-jesen), **(prilog 1).**

4.3.3. Broj listova graha mahunara

Promatrajući različite tretmane (T), kao i uzgoj na dvije lokacije (L) uočava se da nije bilo značajnog utjecaja (NS) navedenih faktora na pokazatelj **broja listova** graha mahunara, dok je utjecaj roka (R) bio signifikantan ($p \leq 0,05$), (**tablica 11**). Broj listova, s obzirom na primijenjene tretmane se kretao od najmanjih vrijednosti kod kontrolnih biljaka (10,0) do najvećih kod biljaka tretiranih ureom (13,8). Kod tretmana s koprivom najveći broj listova je zabilježen kod tretmana s KE1 (12,4), a najmanji kod tretmana DE3 (10,9). S obzirom na lokaciju (L) podjednak broj listova imao je grah mahunar na obje lokacije (Zadar=11,6; Poreč=11,8). Promatrajući faktor rok uzgoja (R), biljke graha mahunara su imale signifikantno veći broj listova u jesenskom (12,2) u odnosu na proljetni (11,0) rok uzgoja.

Kombinacija faktora L × R imala je značajan utjecaj ($p \leq 0,05$) na broj listova graha mahunara, što je prikazano u **grafikonu 6**.



Grafikon 6. Utjecaj interakcije lokacije i roka (L × R) na broj listova biljke graha mahunara ($p \leq 0,05$)

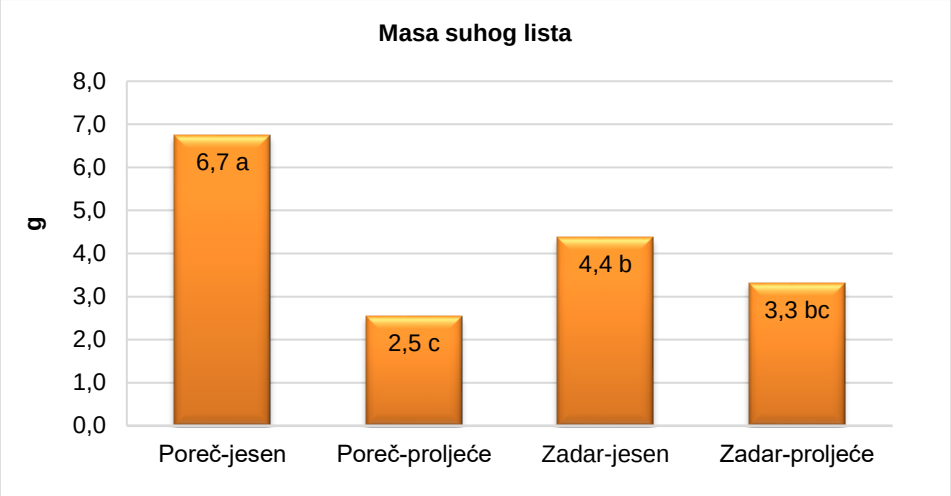
Statistički značajno najveći broj listova su imale biljke graha mahunara na lokaciji Poreč u jesenskom roku (12,7), a značajno najmanji na istoj lokaciji u proljetnom roku (10,6). Broj listova utvrđen kod biljaka na lokaciji Zadar u oba roka nije se statistički razlikovao od prethodno navedenih najvećih i najmanjih vrijednosti broja listova (Zadar-jesen=11,7; Zadar-proljeće=11,4).

Interakcije ostalih faktora (T × L, T × R i T × L × R) nisu bile statistički značajne (NS) za pokazatelj broja listova stabljike graha mahunara. U interakciji tretmana i lokacije (T × L) broj listova graha mahunara kretao se u rangu od minimalnih 9,7 listova na kontrolnim biljkama u Poreču, do 15,3 na istoj lokaciji na biljkama uzgajanim s tretmanom uree. Za interakciju tretmana i roka (T × R) broj listova se kretao u rasponu od minimalnih 9,6 listova na biljkama uzgajanim primjenom tretmana DE1 u proljetnom roku do maksimalnih 14,6 listova na biljkama tretiranim ureom u jesenskom roku. U interakciji sva tri faktora (T × L × R) vrijednosti su bile u rasponu od 8,2 listova u kombinaciji DE1-Poreč-proljeće, do maksimalnih 16,3 listova u interakciji U-Poreč-jesen (**prilog 1**).

4.3.4. Masa suhog lista graha mahunara

Primjena različitih tretmana (T) nije imala značajan utjecaj (NS) na **masu suhog lista** graha mahunara (**tablica 11**). S obzirom na primijenjene tretmane, masa suhog lista je bila od najmanjih 3,9 g, izmjerenih tijekom više tretmana (KE1, KE3, DE2), do najviših 5,8 g kod biljaka tretiranih ureom. Biljke graha mahunara su imale statistički značajno ($p \leq 0,01$) veću masu suhog lista na lokaciji Poreč (4,8 g) u odnosu na Zadar (3,8 g), te signifikantno veću masu ($p \leq 0,001$), u jesenskom (5,7 g) u odnosu na proljetni rok (2,9 g).

Interakcija lokacije i roka (L × R) imala je statistički značajan utjecaj na masu suhog lista stabljike graha mahunara ($p \leq 0,001$), a izmjerene vrijednosti prikazane su u **grafikonu 7**. Značajno najveća masa suhog lista graha mahunara je izmjerena na biljkama uzgajanim u Poreču u jesenskom roku (6,7 g), a značajno najmanja masa na istoj lokaciji u proljetnom roku (2,5 g). Vrijednosti izmjerene na biljkama koje su uzgajane na lokaciji Zadar u proljetnom roku (3,3 g) nisu se statistički razlikovale od mase suhog lista na istoj lokaciji u jesenkom roku (Zadar-jesen=4,4 g), ali i od prethodno spomenute najmanje mase suhog lista graha mahunara u kombinaciji Poreč-proljeće.



Grafikon 7. Utjecaj interakcije lokacije i roka (L × R) na masu suhog lista (g) biljke graha mahunara ($p \leq 0,001$)

Za isti pokazatelj preostale interakcije navedenih faktora (T × L, T × R i T × L × R) nisu bile statistički značajne (NS). U kombinaciji tretmana i lokacije (T × L) masa suhog lista je bila u rasponu od 3,4 g za biljke sa kontrolnih varijanti lokaliteta Zadar, dok su najviše vrijednosti izmjerene u Poreču na biljkama koje su tretirane ureom (7,0 g). U interakciji tretmana i roka (T × R) najveće vrijednosti su zabilježene na biljkama uzgajanim u jesenskom roku s tretmanom uree (7,0 g), a najmanju masu suhog lista biljke graha mahunara imale su biljke uzgajane u proljetnim tretmanima KE3 i DE1 (2,4 g).

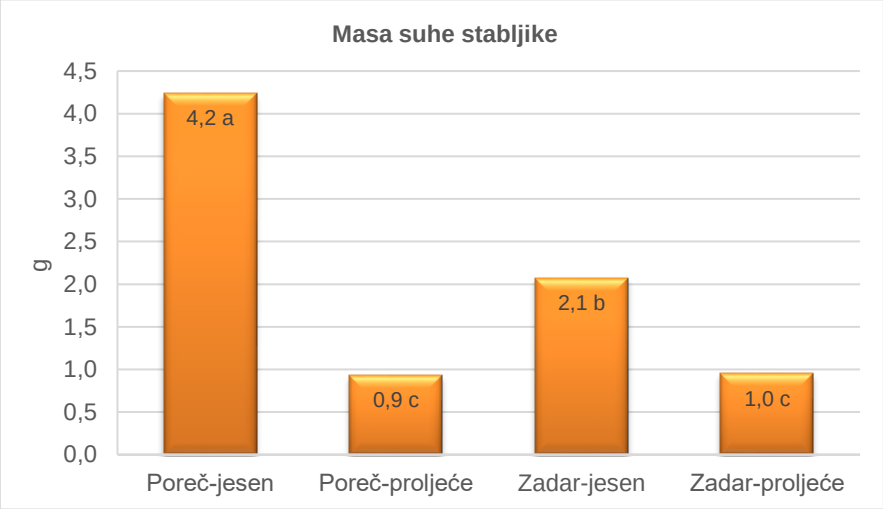
Promatrajući utjecaj različitih tretmana s obzirom na lokaciju i rok (T × L × R) na pokazatelj mase suhog lista, minimalne i maksimalne vrijednosti su izmjerene u Poreču. Navedene vrijednosti su bile u rasponu od 1,6 g za tretman KE3 u proljetnom roku do 8,6 g za biljke tretirane s ureom u jesenskom roku (**prilog 1**).

4.3.5. Masa suhe stabljike graha mahunara

Iz **tablice 11** vidljivo je da utjecaj tretmana (T) nije bio značajan (NS) za pokazatelj **mase suhe stabljike** graha mahunara. Vrijednosti su bile od najmanjih 1,8 g na kontrolnim varijantama, do 2,4 g zabilježenih kod biljaka tretiranih ureom. Kod varijanti tretiranih s koprivom navedene vrijednosti su bile od 2,0 g (KE2 i DE3) do 2,3 g (KE1, DE1 i DE2). Utjecaj pojedinačnih faktora lokacije (L) i roka uzgoja (R) pokazuje da su biljke graha mahunara imale

statistički značajno veću masu suhe stabljike na lokaciji Poreč (2,7 g) u odnosu na lokaciju Zadar (1,5 g), te u jesenskom roku uzgoja (3,2 g) u odnosu na proljetni uzgojni rok (0,9 g).

Interakcija lokacije i roka (L × R) je imala statistički značajan utjecaj na masu suhe stabljike graha mahunara ($p \leq 0,001$). Statistički značajno najveću masu imale su biljke uzgojene u jesenskom roku na lokaciji Poreč (4,2 g), a značajno najmanju masu bilježile su biljke uzgojene u proljetnom roku na obje lokacije (Poreč=0,9 g; Zadar=1,0 g), (**grafikon 8**).



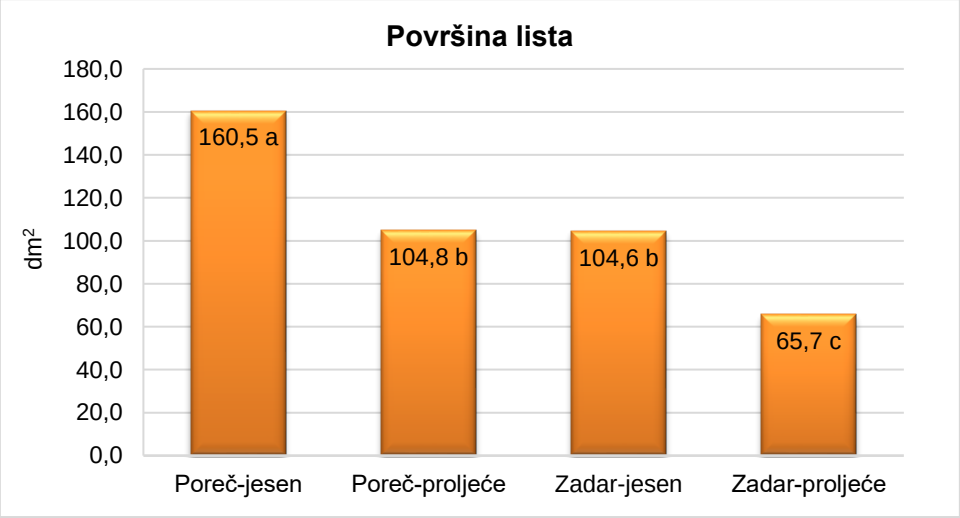
Grafikon 8. Utjecaj interakcije lokacije i roka (L × R) na masu suhe stabljike graha mahunara ($p \leq 0,001$)

Promatrajući preostale interakcije istraživanih faktora (T × L, T × R i T × L × R), za pokazatelj mase suhe stabljike graha mahunara, iz **tablice 11.** je vidljivo da nisu utvrđene statistički značajne razlike (NS). U kombinaciji tretmana i lokacije (T × L) masa suhe stabljike graha mahunara je bila u rasponu od 1,3 g na kontrolnim varijantama u Zadru, do 3,2 g izmjerenih na biljkama s tretmanom uree u Poreču 3,2 g. Primjena različitih tretmana obzirom na rok (T × R) rezultirala je masom suhe stabljike graha koja je bila od 0,7 g aplikacijom tretmana KE3 u proljetnom roku, do 3,7 g pri tretmanu DE1 u jesenskom roku uzgoja. U interakciji T × L × R vrijednosti su varirale u rasponu od 0,6 g za biljke uzgojene s tretmanom KE3 u Poreču u proljetnom roku (KE3-Poreč-proljeće), do 5,1 g za biljke tretirane s DE1 u jesenskom roku na istoj lokaciji (DE1-Poreč-jesen), (**prilog 1**).

4.3.6. Površina lista graha mahunara

Utjecaj primjene različitih tretmana (T) nije bio statistički značajan (NS) za pokazatelj **površine lista** graha mahunara (**tablica 11**). Izmjerene vrijednosti površine lista varirale su od najnižih vrijednosti 85,5 dm^2 na kontrolnim varijantama (k), do 152,7 dm^2 na varijantama tretiranim ureom. Uzgoj na dvije lokacije (L) imao je značajan utjecaj ($p \leq 0,001$) na navedeni pokazatelj, odnosno statistički značajno veću površinu lista imao je grah mahunar na lokaciji Poreč (132,3 dm^2) u odnosu na lokaciju Zadar (85,1 dm^2). Promatrajući dva uzgojna roka (R), statistički značajno veću površinu lista imale su biljke u jesenskom uzgoju (133,2 dm^2) u odnosu na biljke u proljetnom uzgoju (84,1 dm^2), ($p \leq 0,001$).

Interakcija ova dva faktora (L × R) pokazala je signifikantan utjecaj na površinu lista stabljike graha mahunara ($p \leq 0,001$). Statistički značajno najveću površinu lista (160,5 dm^2) su imale biljke uzgajane u jesenskom roku u Poreču, dok značajno najmanju površinu (65,7 dm^2) su imale varijante uzgajane u proljetnom roku u Zadru (**grafikon 9**).



Grafikon 9. Utjecaj interakcije lokacije i roka (L × R) na površinu lista graha mahunara ($p \leq 0,001$)

Promatrajući interakcije ostalih navedenih svojstava (T × L, T × R, T × L × R), iz **tablice 11 i priloga 1** vidljivo je da njihov utjecaj nije bio statistički značajan. U interakciji tretmana i lokacije (T × L) površina lista graha mahunara je bila od 75,1 dm^2 na biljkama uzgajanim u Zadru s tretmanom DE3, dok su najviše vrijednosti (200,8 dm^2) izmjerene na biljkama u Poreču u tretmanu s ureom. Primjena različitih tretmana s obzirom na rok uzgoja (T × R) rezultirala je da su najmanju površinu lista graha mahunara imale biljke u proljetnom uzgoju s kontrolnih

varijanti (60,8 dm^2), a najveću biljke uzgojene u jesenskom tretmanu s ureom (167,6 dm^2). U interakciji svih faktora (T × L × R) površina lista je bila u rasponu od 56,3 dm^2 za biljke u proljetnom roku s tretmanom kontrole u Poreču, do 205,3 dm^2 za biljke tretirane u jesenskom roku također u Poreču s tretmanom uree. Kao što je već navedeno, razlika u spomenutim vrijednostima nije statistički značajna.

4.4. Pokazatelji vegetativnog rasta mahuna

Vrijednosti vegetativnih pokazatelja **mahuna graha mahunara** (**dužina i promjer mahuna**) pod utjecajem osam različitih tretmana (T), uzgajanih na dvije pedoklimatski različite lokacije (L) i u dva roka uzgoja (R) prikazane su u **tablici 12**. Statistički značajne interakcije faktora L × R za oba pokazatelja, te interakcija T × L za pokazatelj promjera mahuna prikazane su u **grafikonu 10 i 11**. Ostale interakcije koje nisu bile statički značajne prikazane su u **prilogu 1** ovog doktorata.

Tablica 12. Vegetativna mjerenja mahuna graha mahunara

	Dužina mahuna (cm)	**Promjer mahuna (mm)**
Tretman		
k	12.1[a]	8.6
U	12,0[ab]	8.8
KE1	11.7[b]	8.6
KE2	11.8[ab]	8.9
KE3	11.8[ab]	8.5
DE1	11.8[ab]	8.6
DE2	11.9[ab]	8.6
DE3	11.8[ab]	8.6
Lokacija		
Zadar	11.3[b]	8.3[b]
Poreč	12.7[a]	9.1[a]
Rok		
Proljeće	12.1[a]	9.0[a]
Jesen	11.5[b]	8.2[b]
ANOVA		
T	**	NS
L	***	***
R	***	***
L × R	**	***
T × L	NS	**
T × R	NS	NS
T × L × R	NS	NS

T – tretman; **L** – lokacija; **R** – rok; Srednje vrijednosti s različitim slovima u stupcu signifikantno se razlikuju po Tukey testu, ******* Signifikantno pri **p ≤ 0,001**; ****** Signifikantno pri **p ≤ 0,01**; ***** Signifikantno pri **p ≤ 0,05**; **NS nije signifikantno**

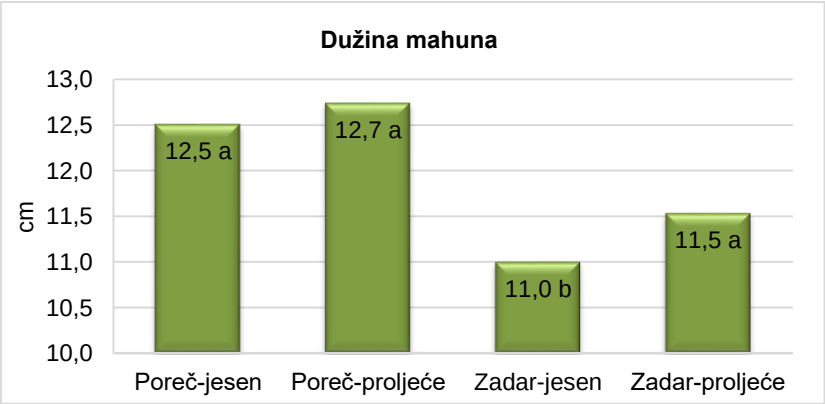
Utjecaj tretmana (T) pokazao se značajan za pokazatelj dužine, ali ne i za promjer mahuna. Utjecaj preostala dva faktora, lokacije (L) i roka (R), bio je signifikantan za oba promatrana pokazatelja (dužina i promjer mahuna), kao i njihova međusobna interakcija. Interakcija tretmana i lokacije (T × L) imala je značajan utjecaj na razlike u promjeru mahuna ($p \leq 0,01$), dok za pokazatelj dužine nije bila značajna (NS). Utjecaj različitih tretmana s obzirom na rok (T × R) te s obzirom na lokaciju i rok (T × L × R) nije pokazao statističku značajnost ni na jednom vegetativnom pokazatelju (NS), (**prilog 1**).

4.4.1. Dužina mahuna graha mahunara

Primjena različitih tretmana (T) bila je statistički značajna za pokazatelj **dužine mahuna** graha mahunara ($p \leq 0,01$), (**tablica 12**). Dužina mahuna je varirala od 11,7 do 12,1 cm. Statistički značajno najmanja dužina mahuna je izmjerena na biljkama gdje je primijenjen tretman kratkog ekstrakta koprive koji se prskao po listu jednom u toku vegetacijske sezone (KE1), dok je najveća zabilježena kod biljaka sa kontrolnih varijanti. Ostali tretmani s koprivom (KE2, KE3, DE1, DE2, DE3) kao i tretman s ureom (U) nisu se statistički značajno razlikovali od opisanih tretmana (KE1, k).

Uzimajući u obzir faktore lokacije (L) i roka uzgoja (R), mahune su bile signifikantno duže na lokalitetu Poreč (12,7 cm) u odnosu na lokaciju Zadar (11,3 cm) te u proljetnom roku (12,1 cm) u odnosu na jesenski (11,5 cm) rok uzgoja.

Interakcija faktora lokacija i rok (L × R) imala je statistički značajan utjecaj, te je najmanja dužina mahuna (11,0 cm) izmjerena na lokaciji Zadar u jesenskom uzgoju, a najveća (12,7 cm) u Poreču u proljetnom roku. Ostale varijante (Poreč-jesen i Zadar-proljeće) bile su statistički podjednake najvećim vrijednostima (**tablica 12, grafikon 10**).

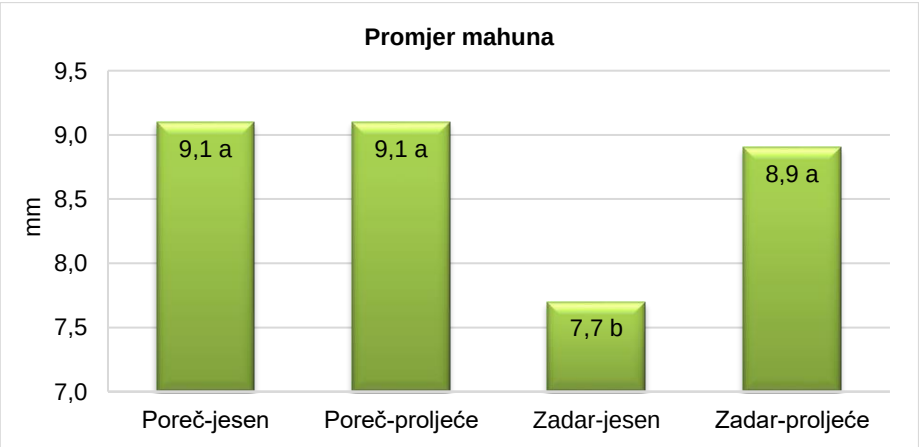


Grafikon 10. Utjecaj interakcije lokacije i roka (L × R) na dužinu mahune ($p \leq 0,001$)

U interakciji tretmana i lokacije (T × L) dužina mahune je bila od 11,1 cm kod uzgoja s tretmanom DE1 na lokaciji Zadar, do 12,9 cm kod primjene DE2 tretmana i uree u Poreču. Utjecaj različitih tretmana s obzirom na rok uzgoja (T × R) rezultirao je mahunama čija je dužina bila od minimalnih 11,3 cm kod primjene kratkih ekstrakata koprive KE1, KE2 i KE3 u jesenskom roku, do maksimalne 12,4 cm kod tretmana s ureom u proljetnom roku. Za kombinaciju sva tri faktora (T × L × R) dužina mahuna je bila u rasponu od najniže vrijednosti 10,6 cm u kombinaciji KE2-Zadar-jesen, pa do najviše od 13,0 cm u interakciji DE2-Poreč-proljeće (**prilog 1**).

4.4.2. Promjer mahuna graha mahunara

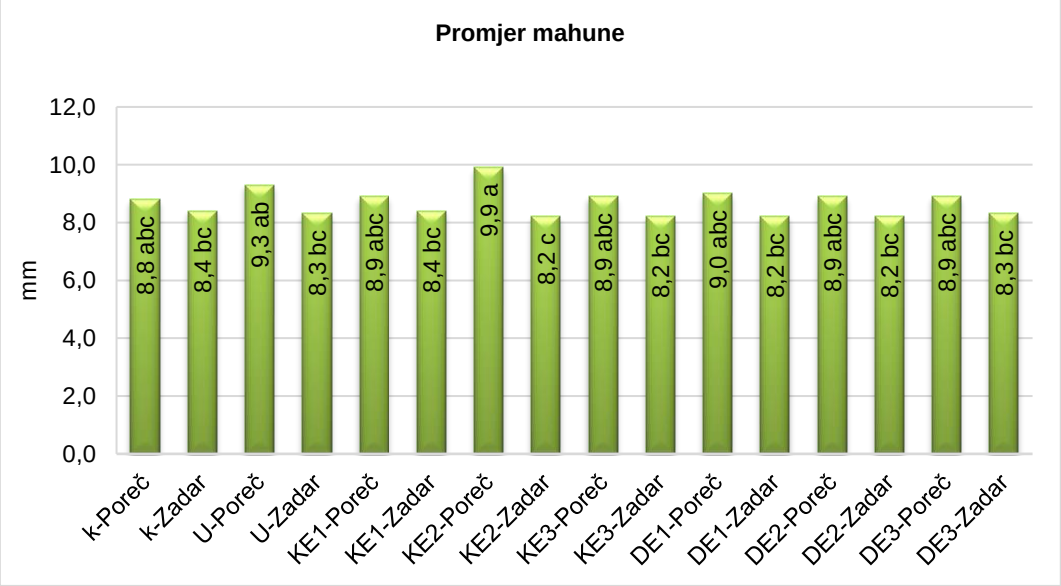
Utjecaj različitih tretmana (T) nije bio statistički značajan (NS) za pokazatelj **promjera mahuna** graha mahunara (**tablica 12**). Primjena različitih tretmana rezultirala je vrijednostima promjera mahuna koje su bile od 8,5 mm za varijante tretirane s KE3, do 8,9 mm za varijante uzgojene s tretmanom KE2. Različite lokacije i rok uzgoja imali su statistički značajan utjecaj ($p \leq 0,001$) na navedeni pokazatelj. Značajno najveći promjer imale su mahune graha mahunara u Poreču (9,1 mm), u odnosu na Zadar (8,3 mm) te one u jesenskom roku (8,2 mm) u odnosu na proljetni rok uzgoja (9,0 mm).



Grafikon 11. Utjecaj interakcije lokacije i roka (L × R) na promjer mahune ($p \leq 0,001$)

Razlika u promjeru mahuna pod utjecajem interakcije lokacije i roka (L × R) bila je statistički značajna ($p \leq 0,001$) (**grafikon 11**). Promatrajući navedenu kombinaciju faktora promjer mahuna je bio signifikantno veći na lokaciji Poreč u oba roka (Poreč-proljeće i Poreč-

jesen 9,1 mm; Zadar-proljeće 8,9 mm) u odnosu na jesenski uzgoj u Zadru (7,7 mm). Različite varijante primjene tretmana s koprivom duge i kratke ekstrakcije uree te kontrolne varijante s obzirom na lokaciju (T × L) bile su statistički značajne (p ≤ 0,05), (**grafikon 12**). Promjer mahuna je varirao od minimalnih 8,2 mm primjenom tretmana KE2 na lokaciji Zadar, do maksimalnih 9,9 mm primjenom istog tretmana (KE2) na lokaciji Poreč. Kontrolne varijante na lokaciji Poreč, kao i tretmani KE1, KE3, DE1, DE2, DE3 na istoj lokaciji bile su statistički podjednake najvećoj, ali i najmanjoj vrijednosti promjera mahuna.



Grafikon 12. Utjecaj interakcije tretmana i lokacije (T× L) na promjer mahune (p ≤ 0,05)

Utjecaj kombinacije dvaju faktora tretmana i roka uzgoja (T × R) nije bio značajan (NS), te su izmjerene vrijednosti promjera mahune bile podjednake (između 8,0 mm i 9,1 mm). Promatrajući sva tri faktora (T × L × R) pokazatelj promjera mahuna variralo je između 7,3 mm za varijante KE2-Zadar-proljeće do 11,3 mm za varijante KE2-Poreč-proljeće (**prilog 1**).

4.5. Pokazatelji prinosa mahuna

Razlike u komponentama **prinosa mahuna** graha mahunara (ukupni prinos/biljci, prinos/m^2) pod utjecajem osam različitih tretmana (T), dvije pedoklimatske različite lokacije (L) i dva roka uzgoja (R) prikazane su u **tablici 13**. Interakcije navedenih faktora prikazane su u **tablici 13 i prilogu 1**, a statistički značajna interakcija navedenih faktora (L × R; T × L × R) u **grafikonima 13-16.**

Tablica 13. Prinos mahuna biljke graha mahunara, ukupni prinos / prinos po m^2

	Ukupni prinos mahuna (kg)	**Prinos mahuna po m2 (kg)**
Tretman (T)		
k	$2,8^{b}$	$1,1^{b}$
U	$3,5^{a}$	$1,4^{a}$
KE1	$2,8^{b}$	$1,1^{b}$
KE2	$2,8^{b}$	$1,1^{b}$
KE3	$2,8^{b}$	$1,1^{b}$
DE1	$2,9^{ab}$	$1,2^{ab}$
DE2	$2,7^{b}$	$1,1^{b}$
DE3	$2,9^{ab}$	$1,2^{ab}$
Lokacija (L)		
Zadar	$1,9^{b}$	$0,8^{b}$
Poreč	$3,9^{a}$	$1,6^{a}$
Rok (R)		
Proljeće	$3,5^{a}$	$1,4^{a}$
Jesen	$2,3^{b}$	$0,9^{b}$
ANOVA		
T	******	******
L	*******	*******
R	*******	*******
L × R	*******	*******
T × L	**NS**	**NS**
T × R	**NS**	**NS**
T × L × R	******	******

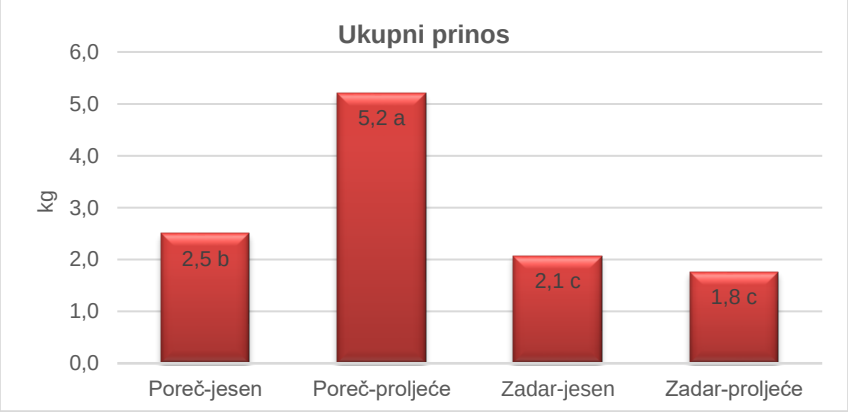
k – kontrola; **U** – urea; **KE** – kratki ekstrakt koprive; **DE** - dugi ekstrakt koprive; **1,2,3** – broj primjena u toku vegetacije – jedna, dvije, tri; **T** – tretman; **L** – lokacija; **R** – rok; Srednje vrijednosti s različitim slovima u stupcu signifikantno se razlikuju po Tukey testu,******* Signifikantno pri **p ≤ 0,001**; ****** Signifikantno pri **p ≤ 0,01**; ***** Signifikantno pri **p ≤ 0,05**; **NS nije signifikantno**

Primijenjeni tretmani (T) bili su statistički značajni za pokazatelj prinosa mahuna (ukupni prinos/biljci, prinos/m^2), kao i faktori lokacije (L) i roka (R) uzgoja. Utjecaj interakcije lokacije i roka uzgoja (L × R) (**tablica 13, grafikon 13**) pokazao se značajan za oba dva pokazatelja prinosa (ukupni prinos/biljci, prinos po m^2). Međudjelovanje tretmana i lokacije (T × L), kao i tretmana i roka (T × R), nije bilo statistički značajno za promatrane pokazatelje. Utjecaj različitih tretmana s obzirom na rok i lokaciju (T × L × R) pokazao je statističku značajnost u prinosu mahuna.

4.5.1. Ukupni prinos mahuna graha mahunara

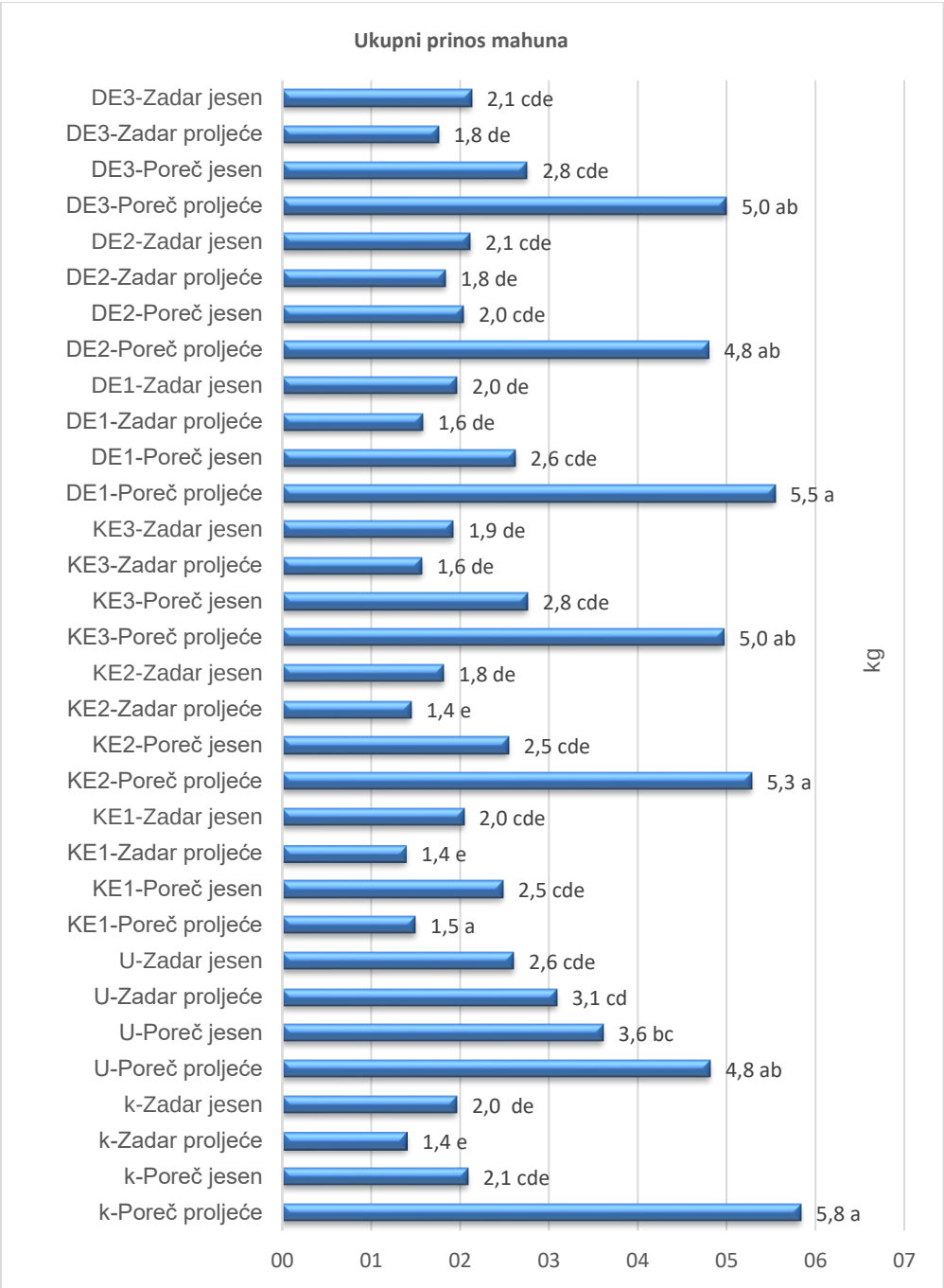
Provedba različitih tretmana (T) rezultirala je statistički značajnim razlikama u vrijednostima za pokazatelj **ukupnog prinosa mahuna** ($p \leq 0,01$), (**tablica 13**). Statistički najveći prinos (3,5 kg) imale su varijante tretirane ureeom, a najmanji (2,8 kg) varijante s tretmanom koprive kratke (KE1, KE2, KE3) i duge (DE2) ekstrakcije (2,7 kg) te kontrolne varijante (2,8 kg). Ostale varijante s tretmanom koprive duge ekstrakcije (DE1, DE3) nisu se značajno razlikovale od navedenih najvećih i najmanjih vrijednosti ukupnog prinosa mahuna po biljci. Utjecaj faktora lokacija i rok (L × R) su bili statistički značajni s obzirom na navedeni pokazatelj ($p \leq 0,001$). Statistički veći prinos bio je na lokaciji Poreč (3,9 kg) u odnosu na prinos u Zadru (1,9 kg), te u proljetnom (3,5 kg) u odnosu na jesenski rok uzgoja (2,3 kg).

Razlika u ukupnom prinosu ovisno o kombinaciji lokacije i roka (L × R), (**grafikon 13**) bila je statistički značajna ($p \leq 0,001$) te je rezultirala signifikantno većim prinosom u proljetnom uzgoju u Poreču (5,2 kg) i signifikantno manjem prinosu za oba roka uzgoja na lokaciji Zadar (proljeće=1,8 kg; jesen=2,1 kg).



Grafikon 13. Utjecaj interakcije lokacije i roka (L × R) na ukupni prinos mahuna ($p \leq 0,001$)

Interakcija tretmana i lokacije uzgoja (T × L) nije bila statistički značajna (NS), što je vidljivo iz ANOVA prikazane u **tablici 13**. Vrijednosti su bile u rangu od najnižeg ukupnog prinosa (1,6 kg) za biljke uzgojene s tretmanom KE2 u Zadru, pa do najvišeg (4,3 kg) za biljke graha mahunara uzgojene u Poreču s tretmanima DE1 i U. Interakcija tretmana i roka uzgoja (T × R) rezultirala je najmanjim ukupnim prinosom mahuna (1,5 kg) za biljke uzgajane u proljetnom roku s tretmanom koprive kratke ekstrakcije (KE1-proljeće), kao i za biljke u kontrolnom uzgoju (k-proljeće). Najviše vrijednosti (3,0 kg) zabilježene su u oba uzgojna roka s tretmanom uree (U-proljeće-jesen). Interakcija sva tri faktora (T × L × R) bila je statistički značajna u prinosu mahuna po m^2 ($p \leq 0,01$). Značajno najveći ukupni prinos mahuna utvrđen je u proljetnom roku uzgoja na lokaciji Poreč, primjenom tretmana KE1, KE2, DE1 te bez primjene tretmana (KE1-Poreč-proljeće 5,5 kg; KE2-Poreč-proljeće 5,3 kg; DE1-Poreč-proljeće 5,5 kg; k-Poreč-proljeće 5,8 kg), dok su značajno najniže vrijednosti prinosa bile u proljetnom roku u Zadru za tretmane KE1, KE2 (1,4 kg) i kontrolni uzgoj (1,4 kg), (**grafikon 14, prilog 1**).

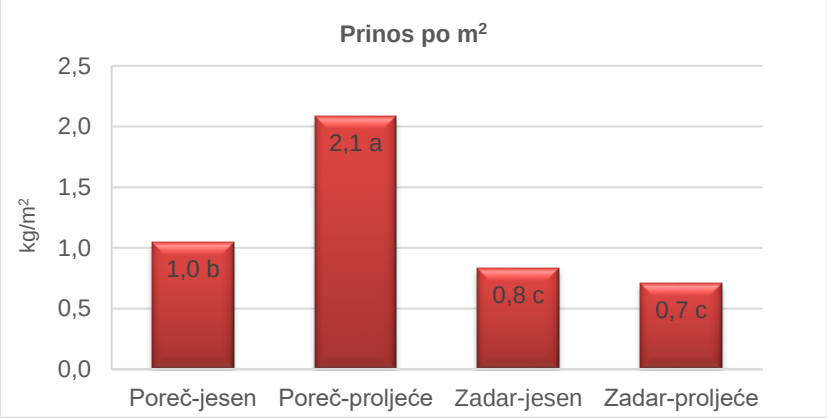


Grafikon 14. Utjecaj interakcije tretmana, lokacije i roka (T × L × R) na ukupni prinos mahuna/biljci ($p \leq 0,01$)

4.5.2. Prinos mahuna graha mahunara po m^2

Aplikacija različitih tretmana (T) je bila statistički značajna za **prinos mahuna po m^2** ($p \leq 0,01$), (**tablica 13**). Značajno najviši prinos imale su varijante s tretmanom uree (U) od 1,4 kg/m^2, a najniži od 1,1 kg/m^2 biljke u uzgoju s tretmanom koprive kratke (KE1, KE2, KE3) i duge (DE2) ekstrakcije kao i kontrolne varijante (k). Primjena ostalih tretmana s koprivom duge ekstrakcije (DE1, DE3) rezultirala je prinosom koji se nije značajno razlikovao od navedenih tretmana. Biljke graha mahunara su imale statistički značajno ($p \leq 0,001$), veći prinos mahuna po m^2 na lokaciji Poreč (1,6 kg/m^2) u odnosu na Zadar (0,8 kg/m^2), te signifikantno veći prinos po m^2 ($p \leq 0,001$), u proljetnom (1,4 kg/m^2) u odnosu na jesenski (0,9 kg/m^2) uzgojni rok.

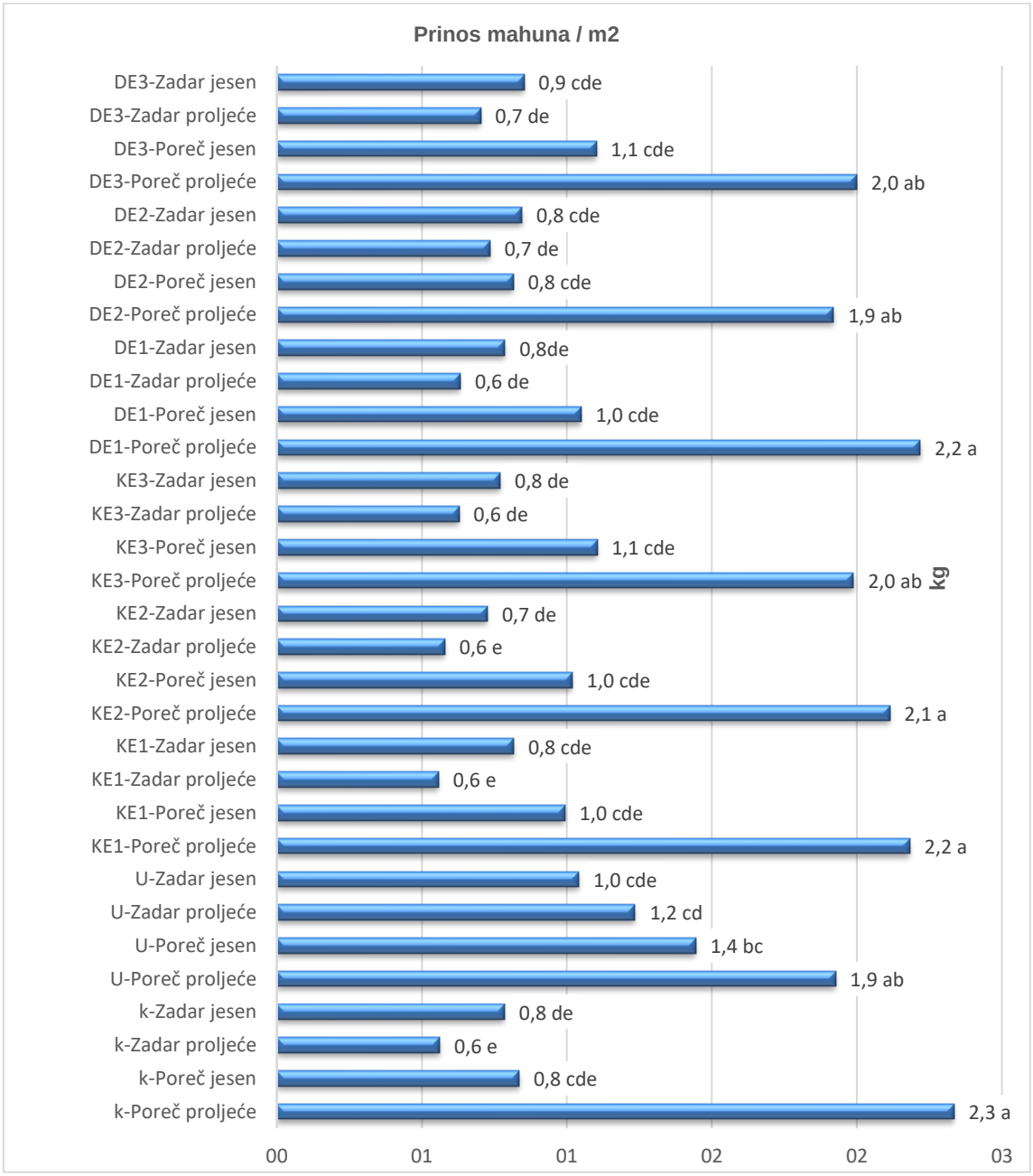
Interakcija faktora lokacije i roka (L × R) rezultirala je u statistički značajnim razlikama u prinosu mahuna ($p \leq 0,001$), a dobivene vrijednosti su prikazane u **grafikonu 15**. Prinos mahuna po m^2 je bio od minimalnih vrijednosti ostvarenih u oba roka uzgoja u Zadru (proljeće=0,7 kg/m^2; jesen=0,8 kg/m^2), do maksimalnih vrijednosti u proljetnom uzgoju u Poreču (2,1 kg/m^2).



Grafikon 15. Utjecaj interakcije lokacije i roka (L × R) na prinos mahuna po m^2 ($p \leq 0,001$)

Utjecaj primjene različitih tretmana s obzirom na lokaciju uzgoja (T × L) nije bio statistički značajan (NS) za prinos mahuna. Za navedeni parametar vrijednosti su bile od najnižeg prinosa 0,6 kg/m^2 za varijante na lokaciji Zadar za tretmane KE2, KE3. Najviše vrijednosti od 1,7 kg/m^2 ostvarene su u Poreču primjenom tretmana U, KE1, DE1 i k. Interakcijom tretmana i roka (T × R) najmanji prinos mahuna po m^2 (0,6 kg/m^2) imale su biljke uzgajane u proljetnom roku s tretmanom koprive KE1, KE2, KE3, DE1 kao i kontrolni uzgoj (k), dok su najviše vrijednosti (1,2 kg/m^2) zabilježene u proljetnom i jesenskom uzgoju s tretmanom urea (U). Utjecaj različitih

tretmana s obzirom na rok i lokaciju (T × L × R) pokazao je statističku značajnost ($p \leq 0,01$), (**grafikon 16**). Vrijednosti su bile u rangu od značajno najniže u proljetnom roku u Zadru za kontrolnu (k) varijantu kao i za tretmane KE1 i KE2 (0,6 kg/m^2) do najviše u proljetnom roku uzgoja u Poreču za varijante KE1, KE2, DE1 te za kontrolu (k) (KE1-Poreč-proljeće 2,2; KE2-Poreč-proljeće 2,1; DE1- Poreč-proljeće 2,2; k-Poreč-proljeće 2,3 kg/m^2).



Grafikon 16. Utjecaj interakcije tretmana, lokacije i roka (T × L × R) na ukupni prinos mahuna ($p \leq 0,01$)

4.6. Kemijska analiza suhe herbe graha mahunara

U **tablici 14** prikazana je analiza varijance (ANOVA) o utjecaju različitih tretmana na dvije pedoklimatske različite lokacije (L) i u dva roka uzgoja (R) na vrijednosti **kemijskih pokazatelja (sadržaj ukupnih fenola, antioksidacijska aktivnost metodama DPPH i FRAP) suhe herbe graha mahunara**. U **grafikonima 18, 19 i 20** prikazane su statistički značajne interakcije navedenih faktora (T × L, T × R, T × L × R). Ostale interakcije, bez statističke značajnosti, prikazane su u **prilogu 2**.

Tablica 14. Rezultati kemijskih analiza lista graha mahunara

	Ukupni fenoli	**Antioksidacijska-DPPH metoda**	**Antioksidacijska-FRAP metoda**
	mg GAE/1 g suhe tvari	**mmol TE/ 1 g st**	**mmol Fe^{2+}/ 1 g st**
Tretman (T)			
k	13,67[a]	26,48	755,79[a]
U	11,80[b]	21,28	645,35[b]
KE1	12,11[b]	24,54	661,80[b]
KE2	12,16[b]	24,60	668,06[b]
KE3	12,16[b]	23,86	668,15[b]
DE1	12,79[ab]	27,66	722,08[ab]
DE2	13,75[a]	28,87	767,69[a]
DE3	12,90[ab]	25,85	753,19[a]
Lokacija (L)			
Zadar	9,75[b]	16,07[b]	536,77[b]
Poreč	16,02[a]	35,81[a]	902,70[a]
Rok (R)			
Proljeće	10,59[b]	20,67[b]	574,47[b]
Jesen	15,04[a]	30,54[a]	854,74[a]
ANOVA			
T	******	**NS**	*******
L	*******	*******	*******
R	*******	*******	*******
L × R	**NS**	**NS**	**NS**
T × L	**NS**	**NS**	*****
T × R	*****	**NS**	******
T × L × R	**NS**	**NS**	**NS**

k – kontrola; **U** – urea; **KE** – kratki ekstrakt koprive; **DE** - dugi ekstrakt koprive; **1,2,3** – broj primjena u toku vegetacije - jedna, dvije, tri; **T** – tretman; **L** – lokacija; **R** – rok; Srednje vrijednosti s različitim slovima u stupcu signifikantno se razlikuju po Tukey testu; ******* Signifikantno pri **p ≤ 0,001**; ****** Signifikantno pri **p ≤ 0,01**; ***** Signifikantno pri **p ≤ 0,05**; **NS nije signifikantno**

Primjena različitih tretmana (T) rezultirala je značajnim razlikama u količini ukupnih fenola i antioksidacijskoj aktivnosti graha mahunara primjenom FRAP metode, ali ne i DPPH metode (**tablica 14**).

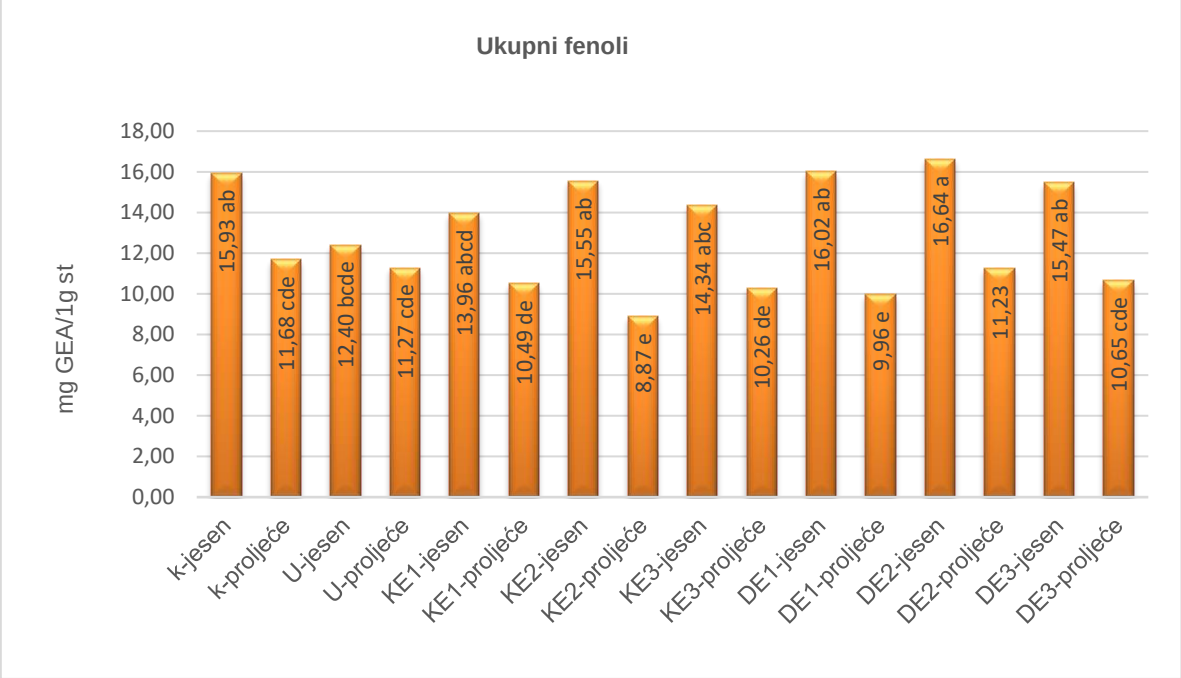
Uzgoj na dvije različite lokacije (L), kao i u dva roka uzgoja (R) imali su značajan utjecaj na sva navedena kemijska svojstva, dok međudjelovanje lokacije i roka (L × R) nije imalo značajan utjecaj na ukupne fenole i antioksidacijsku aktivnost (NS). Interakcija tretmana i lokacije (T × L) bila je statistički značajna za antioksidacijsku aktivnost pomoću FRAP metode, ali ne i za količinu ukupnih fenola i antioksidacijsku pomoću DPPH metode. Utjecaj kombinacije tretmana i roka uzgoja (T × R) pokazao se statistički značajan za sadržaj ukupnih fenola i antioksidacijsku pomoću FRAP metoda, ali ne i pomoću DPPH metode. Međudjelovanje tretmana, lokacije i roka (T × L × R) nije imalo statistički značajan utjecaj niti na jedan kemijski pokazatelj graha mahunara.

4.6.1. Ukupni fenoli

Utjecaj tretmana (T) na sadržaj ukupnih fenola bio je statistički značajan ($p \leq 0,01$), što je prikazano u **tablici 14**. Ovisno o primijenjenim tretmanima tijekom uzgoja graha mahunara statistički najveću količinu ukupnih fenola imale su biljke tretirane s DE2 te one s kontrolnih varijanti (DE2=13,75 mg GAE/1 g st (suhe tvari); k=13,67 mg GAE/1 g st), a statistički najmanje ukupnih fenola u grahu mahunaru bilo je kod tretmana s ureom (11,80 mg GAE/1 g st), KE1 (12,11 mg GAE/1 g st) KE2 i KE3 (12,16 mg GAE/1 g st). Ostali tretmani s koprivom duge ekstrakcije (DE1, DE3) nisu se statistički značajno razlikovali od prethodno navedenih tretmana. Gledajući pojedinačne faktore lokacija (L) i rok uzgoja (R) grah mahunar imao je signifikantno ($p \leq 0,001$) veću količinu ukupnih fenola na lokalitetu Poreč (16,02 mg GAE/1 g st) u odnosu na lokaciju Zadar (9,75 mg GAE/1 g st) te značajno veću u jesenskom (15,04 mg GAE/1 g st) u odnosu na proljetni sjetveni rok (10,59 mg GAE/1 g st).

Interakcije svih navedenih faktora (L × R, T × L, T × L × R) nisu pokazale statistički značajan utjecaj na količinu ukupnih fenola, osim interakcije tretmana i roka (T × R), ($p \leq 0,05$). U kombinaciji lokacije i roka (L × R) sadržaj ukupnih fenola u biljkama graha mahunara kretao se u rangu od 7,72 mg GAE/1 g st na lokaciji Zadar u proljetnom uzgoju do najviše vrijednosti od 19,38 mg GAE/1 g st na lokaciji Poreč u jesenskom uzgoju. S obzirom na međudjelovanje faktora tretman i lokacija (T × L) količina ukupnih fenola kod biljaka graha mahunara bila je u rasponu od minimalnih 8,94 mg GAE/1 g st kod primijene tretmana uree (U) u Zadru, do

maksimalnih vrijednosti 17,65 mg GAE/1 g st kod primjene DE2 tretmana u Poreču. Pri kombinaciji tretmana i roka uzgoja (T × R) značajno najveća količina ukupnih fenola utvrđena je kod primjene dugog ekstrakta koprive DE2 u jesenskom uzgoju (16,64 mg GAE/1 g st), dok je značajno najmanji sadržaj ukupnih fenola 8,87 mg GAE/1 g st bio kod primjene kratkog ekstrakta koprive KE2 u proljetnom uzgoju graha mahunara (**grafikon 17**).



Grafikon 17. Utjecaj interakcije tretmana i roka (T × R) na sadržaj ukupnih fenola (p ≤ 0,05)

Pri interakciji sva tri faktora (T × L × R) količina ukupnih fenola je bila u rasponu od najniže vrijednosti 6,00 mg GAE/1 g st u varijanti tretmana DE1 na lokaciji Zadar u proljetnom roku, pa do najviše vrijednosti od 22,44 mg GAE/1 g st u varijanti tretmana DE2 u Poreču u jesenskom roku (**prilog 2**).

4.6.2. Antioksidacijska aktivnost - DPPH metoda

Antioksidacijska aktivnost s obzirom na primjenu različitih tretmana (T) nije se pokazala statistički značajna (NS) te je bila u rangu od minimalnih vrijednosti 21,28 mmol TE/1 g st pri tretmanu s ureom, do maksimalne antioksidacijske aktivnosti 28,87 mmol TE/1 g st koja je ostvarena pri tretmanu DE2 (**tablica 14**). Promatrajući faktore lokacija (L) i rok uzgoja (R), biljke

graha mahunara su imale statistički veću ($p \leq 0,001$) antioksidacijsku aktivnost na lokaciji Poreč (35,81 mmol TE/1 g st) u odnosu na lokaciju Zadar (16,07 mmol TE/1 g st) te u jesenskom (30,54 mmol TE/1 g st) u odnosu na proljetni uzgoj graha mahunara (20,67 mmol TE/1 g st).

Utjecaj svih interakcija (L × R, T × L, T × R, , T × L × R) nije imao statistički značajan utjecaj na antioksidacijsku aktivnost graha mahunara po DPPH metodi. Antioksidacijska aktivnost pri interakciji lokacije i roka (L × R) je bila u minimalnih vrijednosti od 10,47 mmol TE/1 g st u proljetnom uzgoju u Zadru i do najviše vrijednosti od 42,44 mmol TE/1 g st u jesenskom uzgoju u Poreču (**prilog 2**). Promatrajući interakciju tretman i lokacija (T × L) antioksidacijska aktivnost kod biljaka graha mahunara je bila od minimalnih 10,83 mmol TE/1 g st kod primjene tretmana uree u Zadru, do maksimalnih vrijednosti 41,53 mmol TE/1 g st kod primjene DE1 tretmana u Poreču. Kao što je već navedeno, primijenjeni tretmani u kombinaciji s rokom uzgoja (T × R) nisu imali značajan utjecaj na antioksidacijsku aktivnost (DPPH metoda), te su rezultirali vrijednostima koje su bile od minimalnih 17,04 mmol TE/1 g st kod primjene kratkog ekstrakta koprive KE3 u proljetnom uzgoju do maksimalnih 34,50 mmol TE/1 g st kod primjene dugog ekstrakta koprive DE1 u jesenskom uzgoju. Proučavajući kombinaciju sva tri faktora (T × L × R) vidljivo je da se antioksidacijska aktivnost je bila najniže vrijednosti 7,27 mmol TE/1 g st kod biljaka graha mahunara uzgajanih u proljetnom roku s tretmanom DE3 u Zadru, pa do najviše vrijednosti od 51,31 mmol TE/1 g st uzgajanih u jesenskom roku s tretmanom DE1 u Poreču (**prilog 2**).

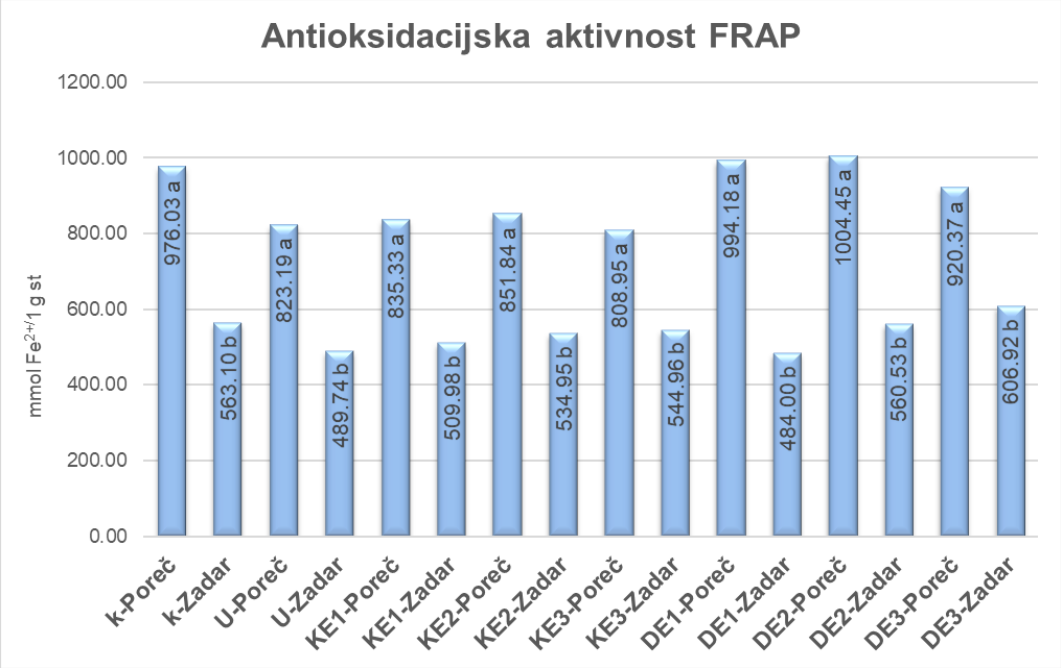
4.6.3. Antioksidacijska aktivnost – FRAP metoda

Aplikacija različitih tretmana (T) se pokazala statistički značajna ($p \leq 0,001$) za antioksidacijsku aktivnost graha mahunara (FRAP metoda). Najveću antioksidacijsku aktivnost pokazale su kontrolne (k) varijante graha mahunara kao i one tretirane dugim ekstraktima koprive DE2, DE3 (k=755,79; DE2=767,69; DE3=753,19 mmol Fe^{2+}/1 g st). Statistički manju antioksidacijsku aktivnost imale su biljke tretirane ureom (U) i kratkim ekstraktima koprive KE1, KE2, KE3 (U=645,35; KE1=661,8; KE2=668,06; KE3=668,15 mmol Fe^{2+}/1 g st). Tretman DE1 (722,08 mmol Fe^{2+}/1 g st) nije se značajno razlikovao od najveće i najmanje vrijednosti antioksidacijske aktivnosti graha mahunara (**tablica 14**).

S obzirom na faktore dviju lokacija (L) i dva uzgojna roka (R), biljke graha mahunara su imale statistički značajno ($p \leq 0,001$) veću antioksidacijsku aktivnost na lokalitetu Poreč (902,70 mmol Fe^{2+}/1 g st) u odnosu na lokaciju Zadar (536,77 mmol Fe^{2+}/1 g st) te u jesenskom

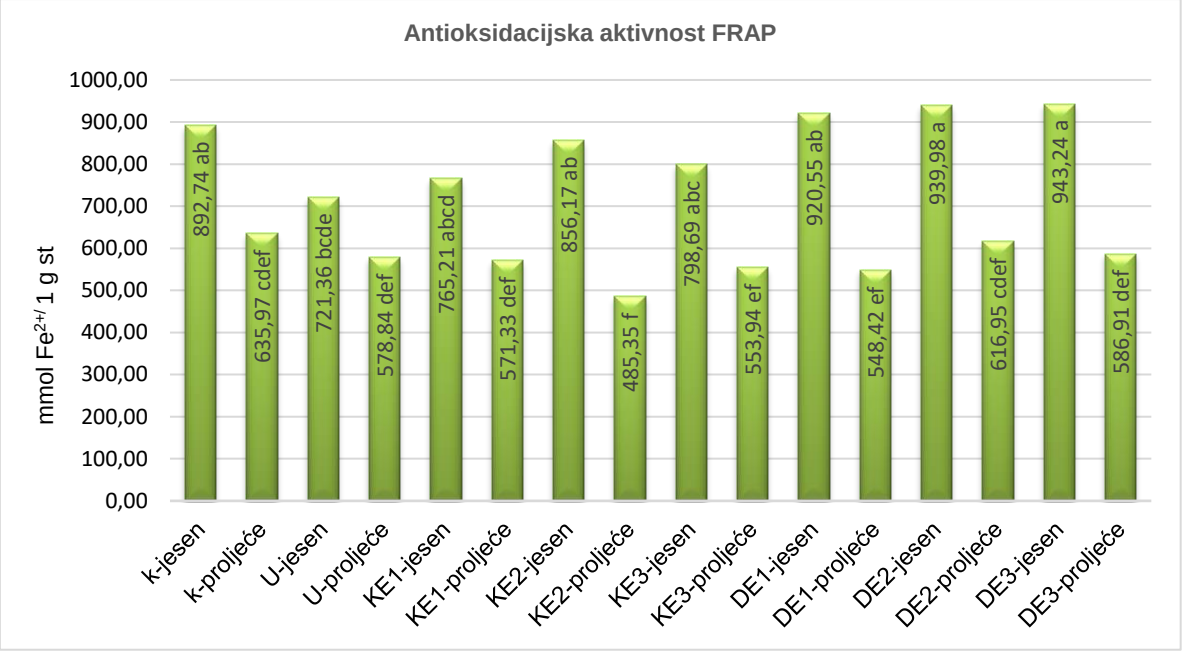
roku (854,74 mmol Fe^{2+}/1 g st) u odnosu na proljetni rok uzgoja (574,47 mmol Fe^{2+}/1 g st), (**tablica 14**).

Utjecaj interakcija tretmana i lokacije (T × L), kao i tretmana i roka uzgoja (T × R) bio je statistički značajno (**grafikoni 18 i 19**), za razliku od interakcija L × R i T × L × R koje nisu pokazale statističku značajnost (**prilog 2**). Iz **grafikona 18** je vidljivo da je na lokacijama Zadar i Poreč utjecaj primjene različitih tretmana na antioksidacijsku aktivnost bio statistički značajan ($p \leq 0,05$), a vrijednosti su varirale ovisno o faktoru lokacije. Svi primijenjeni tretmani na lokaciji Poreč imali su statistički veću antioksidacijsku aktivnost u odnosu na iste tretmane na lokaciji Zadar.



Grafikon 18. Utjecaj interakcije tretmana i lokacije (T × L) na sadržaj ukupnih fenola ($p \leq 0,05$)

Kao što je već navedeno, s obzirom na rok uzgoja (jesenski i proljetni sjetveni uzgoj) graha mahunara, utjecaj primjene različitih tretmana (T × R) bio je statistički značajan za antioksidacijsku aktivnost ($p \leq 0,01$), (**grafikon 19**). Najveću antioksidacijsku aktivnost imale su biljke uzgojene u jesenskom roku primjenom dugog ekstrakta koprive DE2 i DE3 (DE2=939,98; DE3=943,24 mmol Fe^{2+}/1 g st), dok su najmanju vrijednost bilježile biljke uzgojene u proljeće primjenom tretmana KE2 (485,35 mmol Fe^{2+}/1 g st).



Grafikon 19. Utjecaj interakcije tretmana i roka (T × R) na antioksidacijsku aktivnost - FRAP ($p \leq 0,01$)

Međusobno djelovanje faktora tretman, lokacija i rok (T × L × R) pokazalo je varijabilnost antioksidacijske aktivnosti od prosječno najniže u proljetnom uzgoju na lokaciji Zadar kod biljaka tretiranim varijantom DE1 (305,10 mmol Fe^{2+}/1 g st), do prosječno najviše u jesenskom uzgoju primjenom istog tretmana DE1 u Poreču (1264,10 mmol Fe^{2+}/1 g st), no ta razlika nije bila statistički značajna (**prilog 2**).

4.7. Ukupni dušik i mineralni sastav graha mahunara

U **tablici 15** prikazana je ANOVA o utjecaju različitih tretmana (T), dvije lokacije (L) i dva uzgojna roka (R) na vrijednosti **ukupnog dušika i mineralnog sastava (P, K, Ca, Mg, S, Fe, Zn, Mn, Cu) listova biljke graha mahunara**. U **grafikonima 20 – 28** prikazane su statistički značajne interakcije navedenih faktora (T × L, T × R, T × L × R). Ostale interakcije prikazane su u **prilogu 3** ove doktorske disertacije.

Iz **tablice 15** vidljivo je da je primjena različitih tretmana (T) imala značajan utjecaj na količinu ukupnog dušika, Mg, Fe i Mn, dok za količinu P, K, Ca, S, Zn, Cu primjena navedenih tretmana nije bila statistički značajna (NS).

Tablica 15. Ukupni dušik i mineralni sastav nadzemnog dijela biljke graha mahunara

Tretman (T)	Ukupni dušik % N/st	P g/kg st	K g/kg st	Ca g/kg st	Mg g/kg st	S g/kg st	Fe g/kg st	Zn mg/kg st	Mn mg/kg st	Cu mg/kg st
k	3,03^{b}	2,98	11,58	29,13	3,27^{b}	1,67	212,30^{ab}	21,51	33,01^{ab}	7,58
U	3,52^{a}	2,72	11,68	32,86	4,14^{a}	1,86	161,15^{b}	21,63	36,58^{ab}	7,54
KE1	3,02^{b}	2,83	10,78	32,00	3,67^{ab}	1,73	207,37^{ab}	22,11	34,25^{ab}	7,40
KE2	3,02^{b}	2,87	11,01	32,00	3,46^{ab}	1,75	241,71^{ab}	20,41	33,54^{ab}	7,39
KE3	2,96^{b}	2,77	11,56	29,99	3,39^{b}	1,63	256,58^{ab}	19,68	34,45^{ab}	7,34
DE1	3,13^{b}	2,85	12,28	30,65	3,48^{ab}	1,83	195,39^{ab}	20,52	33,90^{ab}	7,51
DE2	2,84^{b}	2,79	11,32	30,92	3,40^{b}	1,70	209,73^{ab}	21,18	31,48^{b}	7,28
DE3	2,91^{b}	2,75	11,20	32,15	3,59^{ab}	1,79	319,16^{a}	19,60	38,40^{a}	6,60
Lokacija (L)										
Zadar	2,83	2,48^{b}	9,73^{b}	33,05^{a}	4,34^{a}	1,69^{b}	280,69^{a}	20,78	31,75^{b}	7,31
Poreč	3,31	3,22^{a}	13,40^{a}	29,11^{b}	2,63^{b}	1,8^{a}	160,82^{b}	20,89	37,61^{a}	7,35
Rok (R)										
Proljeće	2,75	2,55^{b}	11,87	31,27	3,10^{b}	1,66^{b}	184,42^{b}	20,47	29,85^{b}	7,31
Jesen	3,41	3,13^{a}	10,92	31,14	4,06^{a}	1,84^{a}	271,27^{a}	21,24	39,64^{a}	7,36
ANOVA										
T	***	NS	NS	NS	**	NS	*	NS	**	NS
L	NS	***	***	***	***	**	***	NS	***	NS
R	NS	***	NS	NS	***	***	***	NS	***	NS
L × R	***	***	***	NS	NS	NS	NS	***	NS	***
T × L	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	**	NS
T × R	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
T × L × R	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	***	NS

k – kontrola; **U** – urea; **KE** – kratki ekstrakt koprive; **DE**- dugi ekstrakt koprive; **1,2,3** – broj primjena u toku vegetacije - jedna, dvije, tri; **T** – tretman; **L** – lokacija; **R** – rok; Srednje vrijednosti s različitim slovima u stupcu signifikantno se razlikuju po Tukey testu; *** Signifikantno pri **p ≤ 0,001**; ** Signifikantno pri **p ≤ 0,01**; * Signifikantno pri **p ≤ 0,05**; **NS nije signifikantno**

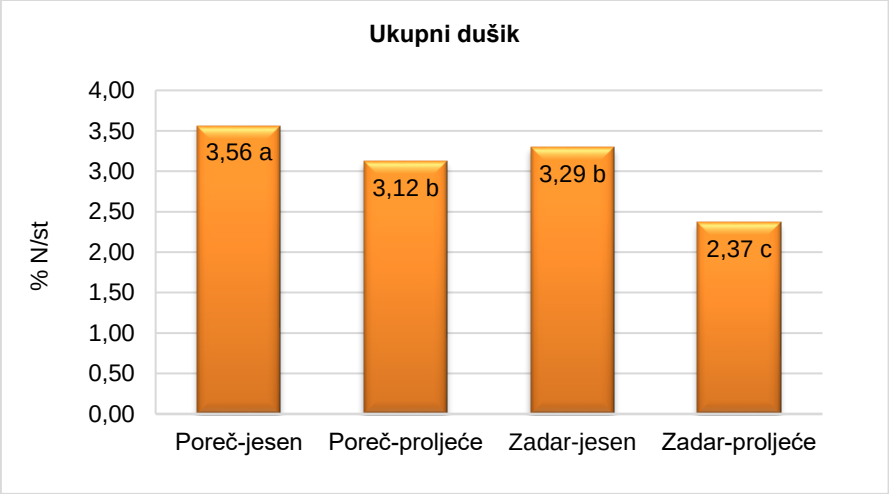
Faktor lokacije (L) bio je statistički značajan za većinu kemijskih elemenata mineralnog sastava osim za Zn i Cu, te za količinu ukupnog N. Utjecaj roka (R) također nije bio statistički značajan za količinu ukupnog N u suhoj herbi graha mahunara, kao ni za količinu K, Ca, Zn, Cu, dok je prisutnost količine ostalih kemijskih elemenata (P, Mg, S, Fe, Mn) bila statistički značajna.

Utjecaj interakcije dva lokaliteta i dva roka uzgoja (L × R) imao je značajan utjecaj na količinu ukupnog N, P, K, Zn, Cu, ali ne i za količinu Ca, Mg, S, Fe, i Mn u suhoj herbi graha mahunara. Interakcija primijenjenih tretmana na dvije lokacije (T × L) bila je statistički značajna za količinu P i Mn, ali ne i za količinu ukupnog dušika te ostale kemijske elemente (K, Ca, Mg, S, Fe, Zn, Cu). Interakcija tretmana s obzirom na dva roka uzgoja (T × R) nije se pokazala statistički značajna (NS) za bilo koji od navedenih minerala kao ni za količinu ukupnog dušika. Dok interakcija triju faktora tretmana, lokacije i roka (T × L × R), nije bila statistički značajna za količinu niti jednog kemijskog elementa osim za količinu Mn i ukupnog N.

4.7.1. Ukupni dušik (N)

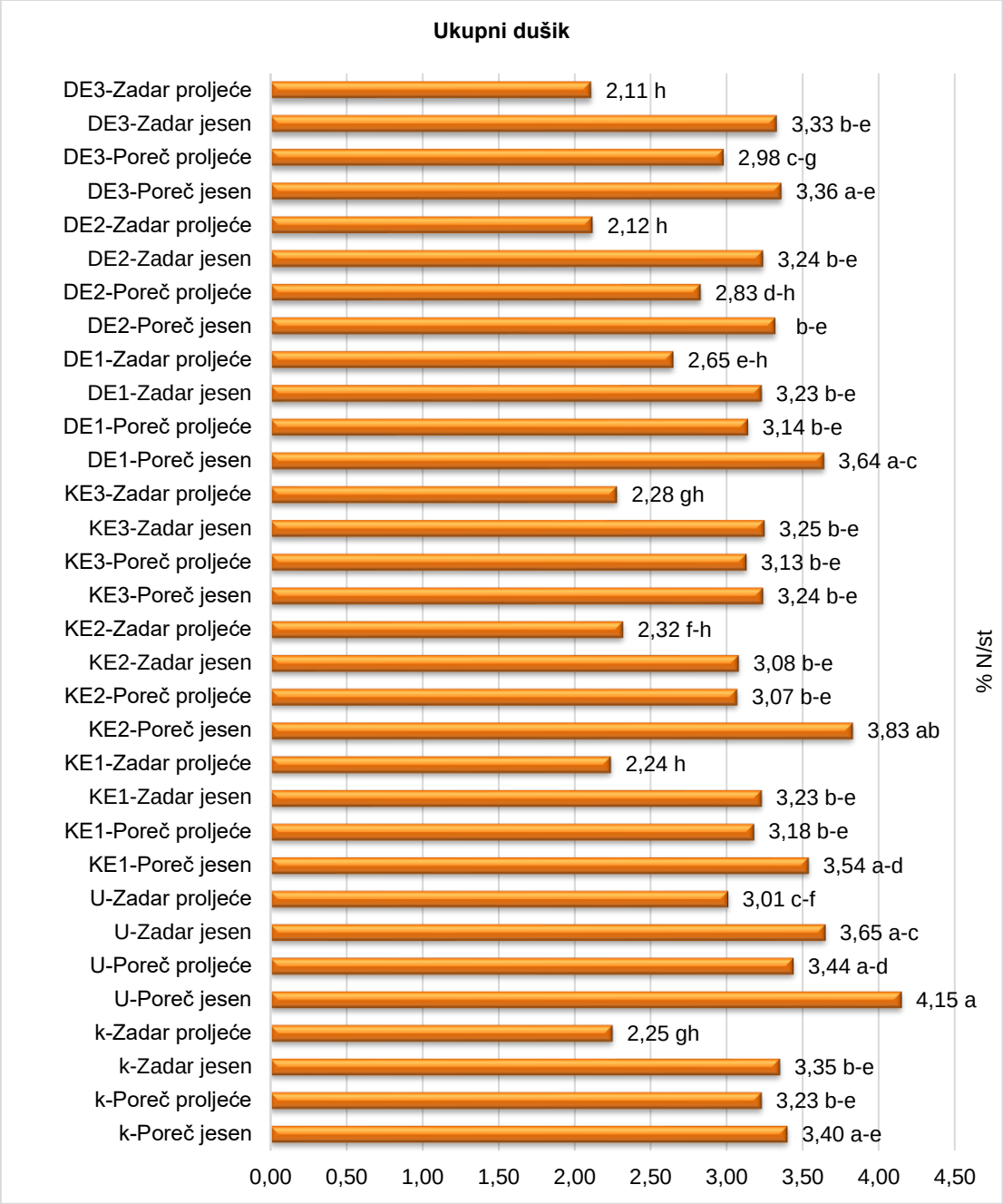
Utjecaj primjene različitih tretmana (T) bio je statistički značajan za **količinu ukupnog dušika** u izraženog na suhu tvar u nadzemnom dijelu biljke graha mahunara ($p \leq 0,001$). Statistički značajna najveća količina od 3,52% N/st u grahu mahunaru utvrđena je pri tretiranju s ureom (U), dok su svi preostali tretmani (k=3,03; KE1,KE2=3,02; KE3=2,96; DE1=3,13; DE2=2,84; DE3=2,91% N/st) imali značajno manje ukupnog dušika. Faktori lokacija (L) i rok uzgoja (R) nisu bili statistički značajni (NS), iako su vrijednosti bile nešto više na lokaciji Poreč (3,31% N/st), u odnosu na Zadar (2,83% N/st) te u jesen (3,41% N/st) u odnosu na proljetni rok (2,75% N/st).

Kombinacija faktora lokacija i rok (L × R) imala je statistički značajan ($p \leq 0,001$) utjecaj na količinu dušika te su značajno najviše vrijednosti u suhoj herbi utvrđene na lokaciji Poreč (3,56% N/st) u jesenskom uzgoju. Značajno nižu količinu ukupnog dušika imao je grah mahunar na lokaciji Zadar u istom uzgojnom roku (3,29% N/st) te u Poreču u proljetnom uzgoju (3,12 N/st). Biljke graha mahunara uzgojene u proljetnom roku na lokalitetu Zadar ostvarile su statistički najmanju količinu dušika u suhoj herbi (2,37% N/st), (**grafikon 20**).



Grafikon 20. Utjecaj interakcije lokacije i roka (L × R) na sadržaj ukupnog dušika u herbi graha mahunara ($p \leq 0,001$)

Pri interakciji tretmana i lokacije (T × L) kao i interakciji tretmana i roka (T × R) količina ukupnog dušika u nadzemnom dijelu graha mahunara nije bila statistički značajna (NS), (**prilog 3**). Gledajući kombinaciju T × L količina ukupnog dušika je bila u rasponu od minimalnih 2,68% N/st kod primjene tretmana DE2 na lokaciji Zadar, do maksimalnih vrijednosti 3,75% N/st kod primjene tretmana s ureom u Poreču. Kod interakcije tretmana i roka (T × R) ukupni dušik bio je u rangu od minimalnih 2,47% N/st kod tretmana DE2 u jesenskom uzgoju, do maksimalne količine 3,87% N/st kod primjene uree u proljetnom roku. Međudjelovanje sva tri faktora (T × L × R) se pokazalo statistički značajno ($p \leq 0,05$) za količinu ukupnog dušika (**grafikon 21**). Statistički značajno najveća količina ukupnog dušika zabilježena je u kombinaciji U-Poreč-jesen (4,15% N/st), dok je značajno najmanja zabilježena kod graha mahunara uzgojenog u Zadru u proljetnom roku s tretmanima KE1, DE2 i DE3 (KE1-Zadar-proljeće=2,24; DE2-Zadar-proljeće=2,12; DE3-Zadar-proljeće=2,11% N/st). Jesenski tretmani kontrole (k), KE1, KE2, DE1, DE3 na lokaciji Poreč, te na lokaciji Zadar u kombinaciji s ureom (jesen), kao i isti tretman (U) u proljetnom roku na lokaciji Poreč nisu se značajno razlikovali od najvećih vrijednosti količine ukupnog dušika u herbi graha mahunara. Proljetni tretmani kontrole, KE2, KE3, DE1 i DE3 na lokalitetu Zadar, kao i tretman DE2 na lokaciji Poreč bili su statistički podjednaki količini ukupnog dušika herbe graha mahunara kod značajno najnižih vrijednosti (KE1-Zadar-proljeće 2,24; DE2-Zadar-proljeće 2,12; DE3-Zadar-proljeće 2,11% N/st), (**grafikon 21**).



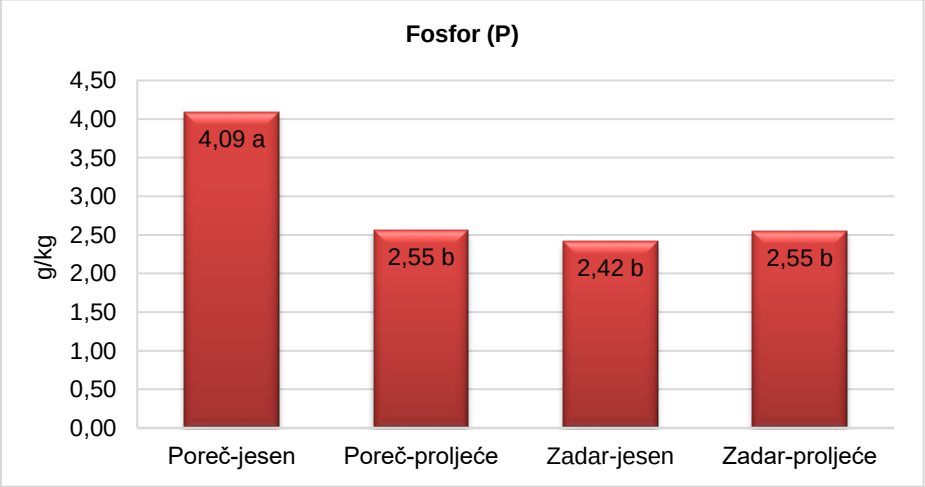
Grafikon 21. Utjecaj interakcije tretmana, lokacije i roka (T × L × R) na količinu ukupnog dušika u herbi graha mahunara ($p \leq 0,05$)

5.7.2. Fosfor (P)

Utjecaj primjene različitih tretmana (T) nije se pokazao statistički značajan (NS) za **količinu fosfora (P) u suhoj herbi** biljke graha mahunara. Pod utjecajem različitih tretmana

količina fosfora varirala je od 2,72 g/kg st za biljke tretirane ureom (U) do 2,98 g/kg st za biljke u kontrolnoj (k) varijanti. Uzimajući u obzir faktore lokacija (L) i rok uzgoja (R), količina fosfora bila je signifikantna ($p \leq 0,001$) za oba faktora (**tablica 15**). Statistički značajno više fosfora zabilježeno je kod suhe herbe na lokalitetu Poreč (3,22 g/kg st) u odnosu na Zadar (2,48 g/kg st) te u jesenskom razdoblju (3,13 g/kg st) u odnosu na proljetno (2,55 g/kg st) razdoblje uzgoja.

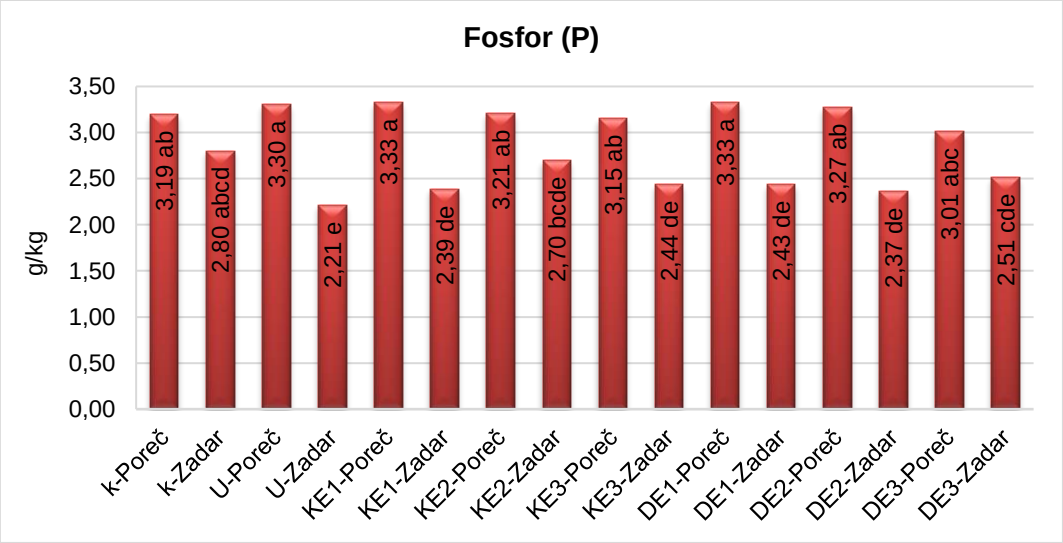
Slijedom navedenog i interakcija tih dvaju faktora (L × R) bila je statistički značajna ($p \leq 0,001$), što je vidljivo u **grafikonu 22**. Statistički značajno najveću količinu fosfora su imale biljke graha mahunara na lokaciji Poreč u jesenskom roku (4,09 g/kg st), u odnosu na ostale kombinacije. Statistički podjednake količine fosfora utvrđene su u Poreču u proljetnom roku (2,55 g/kg st) te u Zadru u oba roka uzgoja (jesen=2,42 g/kg st; proljeće=2,55 g/kg st).



Grafikon 22. Utjecaj interakcije lokacije i roka (L × R) na količinu fosfora u herbi graha mahunara ($p \leq 0,001$)

Međudjelovanje faktora tretmana i lokacije (T × L) je pokazalo statistički značajan utjecaj na količinu fosfora u grahu mahunaru (**grafikon 23**). Značajno najviše vrijednosti fosfora utvrđene su kod primjene tretmana KE1 u Poreču te KE3 u Zadru (3,33 g/kg st), kao i tretmana s ureom u Poreču (3,30 g/kg st). Značajno najniže vrijednosti fosfora (2,21 g/kg st) utvrđene su pri kombinaciji U-Zadar.

Biljke tretirane koprivom duge i kratke ekstrakcije (KE1, KE2, KE3, DE1, DE2, DE3) na lokaciji Poreč, kao i kontrolne varijante (k) na obje lokacije nisu se značajno razlikovale po zastupljenosti fosfora u suhoj herbi od najviših vrijednosti, dok su isti tretmani na lokaciji Zadar bili statistički podjednaki najnižim vrijednostima.



Grafikon 23. Utjecaj interakcije tretmana i lokacije (T × L) na sadržaj fosfora u herbi graha mahunara ($p \leq 0,05$)

S obzirom na međudjelovanje primijenjenih tretmana na dva roka uzgoja (T × R) količina fosfora u nadzemnom dijelu graha mahunara nije bila statistički značajna (NS), kao ni za međudjelovanje svih triju faktora (T × L × R). U interakciji T × R vrijednosti fosfora su bile u rangu od 2,47 g/kg st za biljke tretirane u jesenskom uzgoju s dugim ekstraktom koprive DE2 i DE3, do 3,29 g/kg st za biljke u kontrolnoj varijanti u proljetnom uzgoju. Količina fosfora u interakciji T × L × R je bila u rasponu od 2,05 g/kg st za biljke uzgojene u jesen na lokaciji Zadar s tretmanom uree, do 4,33 g/kg st za isti rok na lokalitetu Poreč za biljke uzgojene s tretmanom DE1 (**prilog 3**).

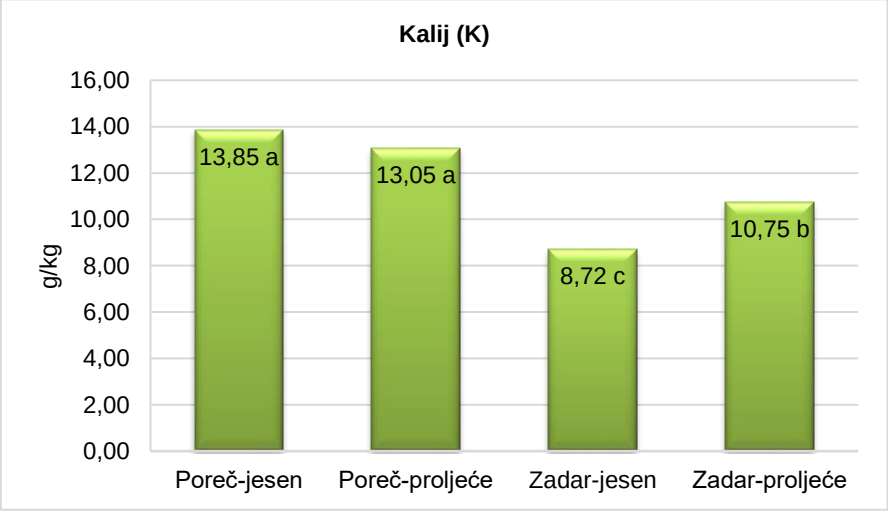
4.7.3. Kalij (K)

Učinak različitih tretmana (T) na uzgoj graha mahunara nije se pokazao statistički značajan (NS) za **količinu kalija (K) u suhoj herbi** biljke (**tablica 15**).

Sadržaj kalija je bio u rasponu od najnižih vrijednosti 10,78 g/kg st kod biljaka tretiranih s kratkim ekstraktom koprive KE1, do najviših 12,28 g/kg st utvrđene kod graha mahunara tretiranog s dugim ekstraktom koprive DE1. Faktor lokacija (L) imao je statistički značajan utjecaj na količinu fosfora u suhoj herbi ($p \leq 0,001$), te je značajno više fosfora imao grah mahunar na lokaciji Poreč (13,40 g/kg st) u odnosu na Zadar (9,73 g/kg st). Utjecaj faktora roka uzgoja (R) nije pokazao statističku značajnost (NS) iako su se vrijednosti razlikovale u količini

kalija u jesenskom (10,92 g/kg st) u odnosu na proljetni (11,87 g/kg) rok uzgoj graha mahunara.

U **grafikonu 24** prikazana je interakcija dvaju faktora lokacije i roka (L × R), koja je bila statistički značajna (p ≤ 0,001) za količinu kalija u grahu mahunaru. Značajno najvišu količinu kalija su imale biljke na lokaciji Poreč u oba roka uzgoja (jesen=13,85 g/kg st; proljeće=13,05 g/kg st). Značajno najnižu količinu kalija imale su biljke uzgajane u jesenskom roku u Zadru (8,72 g/kg st), dok se kod proljetnog uzgoja ta količina (10,75 g/kg st) statistički razlikovala od obje navedene vrijednosti.



Grafikon 24. Utjecaj interakcije lokacije i roka (L × R) na sadržaj kalija u herbi graha mahunara (p ≤ 0,001)

Prosječne vrijednosti količine kalija pri interakciji primjene različitih tretmana na dvije lokacije (T × L), kao i u dva različita uzgojna roka (T × R) nisu bile statistički značajne (NS). Udio kalija u suhoj herbi (T × L), kretao se u rangu od najnižih 8,97 g/kg st za biljke uzgojene na lokaciji Zadar primjenom tretmana DE3, do najviših 14,29 g/kg st za biljke uzgojene u Poreču uz tretman DE1. Pri interakciji tretmana i roka (T × R) količina kalija je bila rangu od minimalnih vrijednosti (10,23 g/kg st) kod primjene proljetnih tretmana KE1 i KE3, do maksimalnih vrijednosti (12,83 g/kg st) kod primjene jesenskog tretmana DE1 (**prilog 3**).

Međusobno djelovanje sva tri faktora T × L × R također se nije pokazalo statistički značajno (NS) iako su vrijednosti količine fosfora u suhoj herbi bile od 8,05 g/kg st kod jesenskog uzgoja u Zadru s tretmanom KE3, pa čak do gotovo dvostruko viših 15,32 g/kg st kod jesenskog uzgoja u Poreču s tretmanom DE1.

4.7.4. Kalcij (Ca)

Djelovanje različitih tretmana (T) koji su se primjenjivali pri uzgoju graha mahunara nije se pokazalo statistički značajno za **količinu kalcija (Ca) u suhoj herbi** biljke (NS).
Najniže prosječne količine kalcija su utvrđene kod biljaka uzgajanih u kontrolnoj varijanti (k) (29,13 g/kg st), do najviših vrijednosti (32,86 g/kg) izmjerenih kod graha mahunara tretiranog s ureom (U). S obzirom na utjecaj lokacije (L), koja je statistički bila značajna ($p \leq 0,001$), značajnu veću količinu kalcija u suhoj herbi imale su biljke uzgojene u Zadru (33,05 g/kg st) od biljaka uzgojenih u Poreču (29,11 g/kg).

Količina kalcija nije se statistički značajno razlikovala s obzirom na rok uzgoja (R), vrijednosti su u proljetnom i jesenskom roku bile podjednake (proljeće=31,27 g/kg st; jesen=31,14 g/kg st), (**tablica 15**).

Interakcije lokacije i roka (L × R), tretmana i lokacije (T × L), tretmana i roka (T × R) te tretmana, lokacije i roka (T × L × R), nisu bile statistički značajne (NS) za količinu kalcija u nadzemnom dijelu graha mahunara (**tablica 15, prilog 3**). Promatrajući L × R vrijednosti količine kalcija su bile od najmanje 28,71 g/kg st kod biljaka u jesenskom uzgoju u Poreču, do najviše 33,12 g/kg st kod biljaka u proljetnom uzgoju u Zadru. U kombinaciji T × L količina kalcija je bila u rangu od najmanjih 27,39 g/kg st kod kontrolnih (k) varijanti u Poreču, do najviših 34,79 g/kg st kod varijante tretirane ureom (U) na lokaciji Zadar. Primjena različitih tretmana u dva uzgojna roka (T × R) rezultirala je količinom kalcija koja je bila u rangu od minimalnih 28,59 g/kg st u proljetnom uzgoju s tretmanom DE2, do maksimalnih 33,99 g/kg st u jesenskom uzgoju s tretmanom KE2. Analizirajući međusobno djelovanje sva tri faktora (T × L × R) količina kalcija u suhoj herbi je bila od najnižih 26,07 g/kg st kod kontrolnih (k) biljaka u jesenskom uzgoju u Poreču, do najviših 38,59 g/kg st u proljetnom uzgoju u Zadru s tretmanom KE2 (**prilog 3**).

4.7.5. Magnezij (Mg)

Utjecaj različitih tretmana (T) bio je statistički značajan za **količinu magnezija (Mg) u suhoj herbi** graha mahunara ($p \leq 0,001$), (**tablica 15**).

Ovisno o primijenjenim tretmanima značajno najveću količinu magnezija imale su biljke tretirane s ureom (U=4,14 g/kg st), dok su značajno najniži sadržaj magnezija imale biljke

tretirane KE3, DE2 kao i kontrolna varijanta (k), (KE3=3,39; DE2=3,40; k=3,27 g/kg st). Ostali tretmani (KE1, KE2, DE1, DE3) nisu se statistički značajno razlikovali od navedenih.

Promatrajući pojedinačne faktore lokacija (L) i rok uzgoja (R), biljke graha mahunara su imale signifikantno veću količinu magnezija na lokaciji Zadar (4,34 g/kg st) u odnosu na Poreč (2,63 g/kg st) te u jesenskom (4,06 g/kg st) u odnosu na proljetni (3,10 g/kg st) rok uzgoja.

Interakcije navedenih faktora (L × R; T × L; T × R; T × L × R), nisu bile statistički značajne (NS) za količinu magnezija u nadzemnom dijelu biljke graha mahunara (**tablica 15, prilog 3**). Pri interakciji faktora lokacije i roka (L × R) količina magnezija je bila od 2,26 g/kg st kod biljaka uzgojenih u Poreču u proljetnom roku, do 4,78 g/kg st kod biljaka uzgojenih u Zadru u jesenskom roku. Međudjelovanjem faktora tretmana i lokacije (T × L), količina magnezija je bila od najmanjih 2,45 g/kg st kod biljaka uzgojenih u Poreču s tretmanom DE3, do najviših 5,10 g/kg st na lokalitetu Zadar kod varijante tretirane ureom (U).

Interakcija tretmana i roka (T × R) rezultirala je količinom magnezija koja je bila u rasponu od minimalnih 2,79 g/kg st u jesenskom uzgoju s tretmanom KE3, do maksimalnih 5,11 g/kg st u proljetnom uzgoju s tretmanom uree (U). Prilikom međusobne interakcije triju faktora (T × L × R) količina magnezija u suhoj herbi je bila od najnižih 2,10 g/kg st u kombinaciji DE3-Poreč-proljeće, do najviših 5,93 g/kg st pri interakciji faktora U-Zadar-jesen (**prilog 3**).

4.7.6. Sumpor (S)

Primjena različitih tretmana (T) nije pokazala statističku značajnost (NS) za **količinu sumpora (S) u suhoj herbi** biljke graha mahunara (**tablica 15**). Prosječna količina sumpora bila je od 1,63 g/kg st kod graha mahunara primjenom KE3 tretmana, do 1,86 g/kg st u varijanti s ureom (U). S obzirom na faktore lokacija (L) i rok (R), biljke graha mahunara koje su uzgajane u Poreču su imale značajno veću količinu sumpora (1,81 g/kg st) u odnosu na one uzgajane u Zadru (1,69 g/kg st) te u jesenskom uzgoju (1,84 g/kg) u odnosu na proljetni (1,66 g/kg st).

Međudjelovanje navedenih faktora (L × R; T × L; T × R; T × L × R) nije se pokazalo signifikantno (NS). Kod interakcije lokacije i roka (L × R) prosječna količina sumpora bila je u rangu od minimalnih 1,61 g/kg st kod proljetnog uzgoja graha mahunara u Zadru, do maksimalnih 1,94 g/kg st kod jesenskog uzgoja u Poreču. Međusobno djelovanje faktora tretmana i lokacije (T × L), rezultiralo je količinom sumpora u suhoj herbi koja je bila od 1,61 g/kg st kod biljaka uzgojenih u Zadru primjenom tretmana KE2 i KE3, do 2,03 g/kg st kod biljaka uzgajanih u Poreču s tretmanom uree (U). Primjenom različitih tretmana u dva uzgojna roka (T

× R) količina sumpora je bila u rangu od minimalnih 1,55 g/kg st u jesenskom uzgoju s tretmanom KE2 i KE3, do maksimalnih 1,97 g/kg st u proljetnom uzgoju s tretmanom KE2. Pri interakciji tretmana, lokacije i roka (T × L × R) vrijednosti sumpora su bile od 1,40 g/kg st suhe tvari herbe za kombinaciju KE2-Zadar-proljeće, do 2,23 g/kg st za kombinaciju U-Poreč-jesen (**prilog 3**).

4.7.7. Željezo (Fe)

Utjecaj tretmana ($p \leq 0,05$), lokacije ($p \leq 0,001$) i roka ($p \leq 0,001$) imao je statistički značajan utjecaj na **količinu željeza (Fe) u suhoj herbi** graha mahunara (**tablica 15**).
Proučavajući tretmane (T) vidljivo je da je statistički značajno najveća količina željeza (319 g/kg st) utvrđena na varijantama gdje je primijenjen tretman DE3, dok su značajno najmanju količinu Fe (161,15 g/kg st) imale biljke tretirane ureom. Ostali tretmani (k, KE1, KE2, KE3, DE1, DE2) nisu se pokazali statistički različiti od navedenih.

Obzirom na lokalitet (L) u Zadru je grah mahunar imao signifikantno veću količinu Fe u suhoj tvari (280,69 g/kg st) u odnosu na lokalitet Poreč (160,82 g/kg st.). Što se tiče roka uzgoja (R), značajno veću količinu Fe imao je grah mahunar u jesenskom uzgoju (271,27 g/kg st) u odnosu na proljetni uzgoj (184,42 g/kg st).

Interakcije navedenih faktora (L × R; T × L; T × R; T × L × R), nisu se pokazale statistički značajne (**tablica 15, prilog 3**). Vrijednosti Fe su varirale višestruko kod međudjelovanja lokaliteta i roka uzgoja (L × R), i to od minimalnih 128,32 g/kg st kod proljetnog uzgoja u Poreču, do 320,92 g/kg st kod jesenskog uzgoja u Zadru. Pri kombinaciji tretmana i lokacije (T × L) navedene vrijednosti su varirale od 121,57 g/kg st kod mahunara uzgojenog u Poreču s tretmanom DE2, do višestrukih količina željeza od 410,61 g/kg st suhe tvari graha mahunara uzgojenog u Zadru s tretmanom DE3. Primjena različitih tretmana s obzirom na dva roka uzgoja (T × R) rezultirala je količinama željeza koje su bile u rangu od 134,57 st kod jesenskog uzgoja uz primjenu uree, do 385,04 g/kg st kod proljetnog uzgoja s tretmanom kratkog ekstrakta koprive KE3.

Široki raspon količine željeza zabilježen je i u interakciji sva tri faktora (T × L × R), te su vrijednosti bile od najnižih 114,00 g/kg st kod proljetnog uzgoja u Poreču s tretmanom KE3, do najviših vrijednosti od 518,90 g/kg st u jesenskom uzgoju u Zadru s istim tretmanom (KE3), (**prilog 3**).

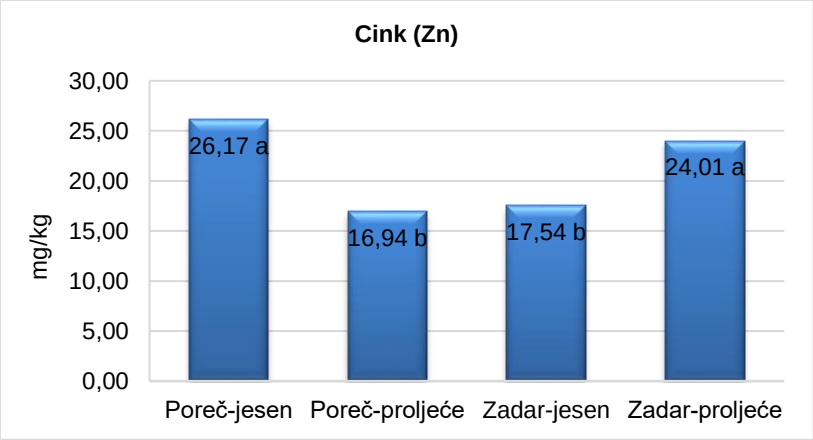
4.7.8. Cink (Zn)

Učinak pojedinačnih faktora tretmana (T), lokacije (L) i roka (R) nije se pokazao statistički značajan za **količinu cinka (Zn) u suhoj herbi** biljke graha mahunara (**tablica 15**). S obzirom na primjenu različitih tretmana sadržaj cinka bio je u rangu od minimalnih 19,60 mg/kg st suhe tvari herbe za varijante tretirane s DE3, do maksimalnih 22,11 mg/kg st za varijante tretirane s kratkim ekstraktom KE1.

Prilikom utjecaja faktora lokacije (L) i roka (R), vrijednosti Zn bile su niže na lokalitetu Zadar (20,78 mg/kg) u odnosu na Poreč (20,89 mg/kg), te u proljetnom (20,47 mg/kg) u odnosu na jesenski (21,24 mg/kg) rok uzgoja.

Interakcija lokacije i roka (L × R) pokazala se statistički značajna ($p \leq 0,001$) za razliku od ostalih interakcija (T × L, T × R, T × L × R), koje nisu pokazale statističku značajnost (**grafikon 25, prilog 3**).

Iz **grafikona 25** je vidljivo da je kod interakcije lokacije i roka (L × R) količina Zn bila u rasponu od značajno najmanjih vrijednosti kod biljaka uzgajanih u proljetnom roku u Poreču te u jesenskom roku u Zadru (16,94; 17,54 mg/kg), do značajno najvećih u proljetnom uzgoju u Zadru te jesenskom u Poreču (24,01; 26,17 g/kg).



Grafikon 25. Utjecaj interakcije lokacije i roka (L × R) na sadržaj Zn u herbi graha mahunara ($p \leq 0,001$)

U interakciji tretmana i lokacije (T × L) količina Zn u suhoj herbi graha mahunara je bila od minimalnih vrijednosti (19,34 mg/kg st) kod primjene tretmana DE3 na lokaciji Zadar, do maksimalnih vrijednosti (23,14 mg/kg st) kod primjene tretmana uree na lokaciji Poreč. Prilikom interakcije tretmana i roka (T × R) količina cinka bila je u rangu od minimalnih 18,26 mg/kg st

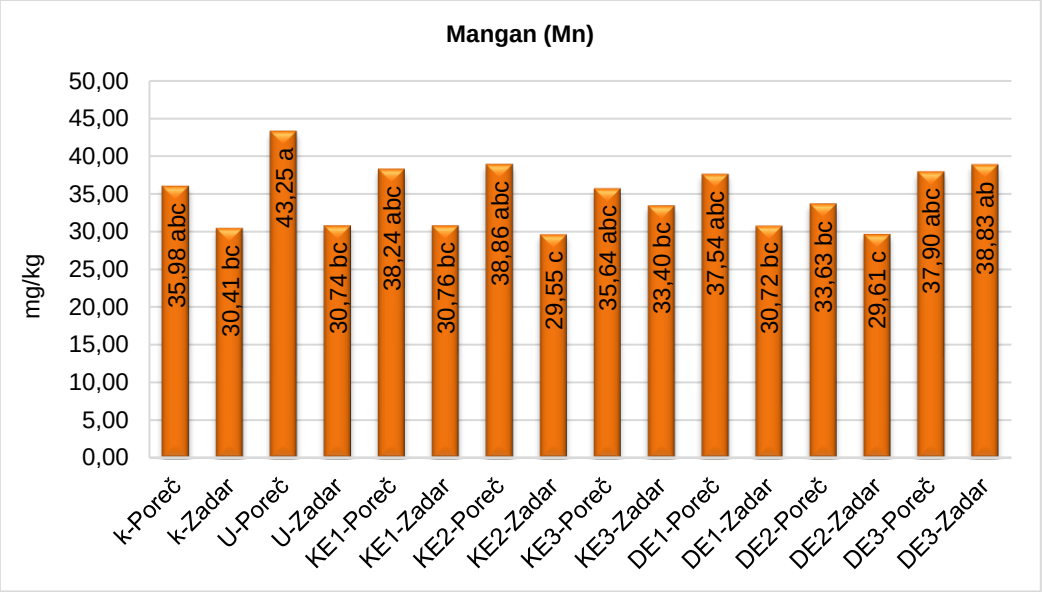
kod tretmana DE3 u jesenskom uzgoju, do maksimalnih 23,31 mg/kg st kod primjene uree u proljetnom roku, no ta razlika nije bila statistički značajna. Vrijednost Zn, kod međusobnog djelovanja sva tri faktora (T × L × R), je bila u rasponu od najniže vrijednosti 16,05 mg/kg st kod biljaka u proljetnom uzgoju na lokaciji Poreč s tretmanom DE3, pa do najviše vrijednosti od 30,87 mg/kg st kod tretmana s ureom u jesenskom uzgoju u Poreču (**prilog 3).**

4.7.9. Mangan (Mn)

Utjecaj tretmana ($p \leq 0,01$), lokacije ($p \leq 0,001$) i roka uzgoja ($p \leq 0,001$) bio je statistički značajan za **količinu mangana (Mn) u suhoj herbi** graha mahunara (**tablica 15**).
Količina Mn kod primjene različitih tretmana varirala je od značajno najniže vrijednosti 31,48 mg/kg st za tretman DE2, do značajno najviše vrijednosti od 38,40 mg/kg st za tretman DE3. Ostali tretmani (k, U, KE1, KE2, KE3, DE1) nisu se statistički razlikovali od navedenih. S obzirom na faktor lokacije (L) značajno najviše vrijednosti Mn utvrđene su grahu mahunaru koji je rastao u Poreču (37,61 mg/kg), usporedno s biljkama u Zadru (31,75 mg/kg), dok su u jesenskom uzgoju vrijednosti mangana bile statistički veće (39,64 mg/kg) u odnosu na proljetni (29,85 mg/kg).

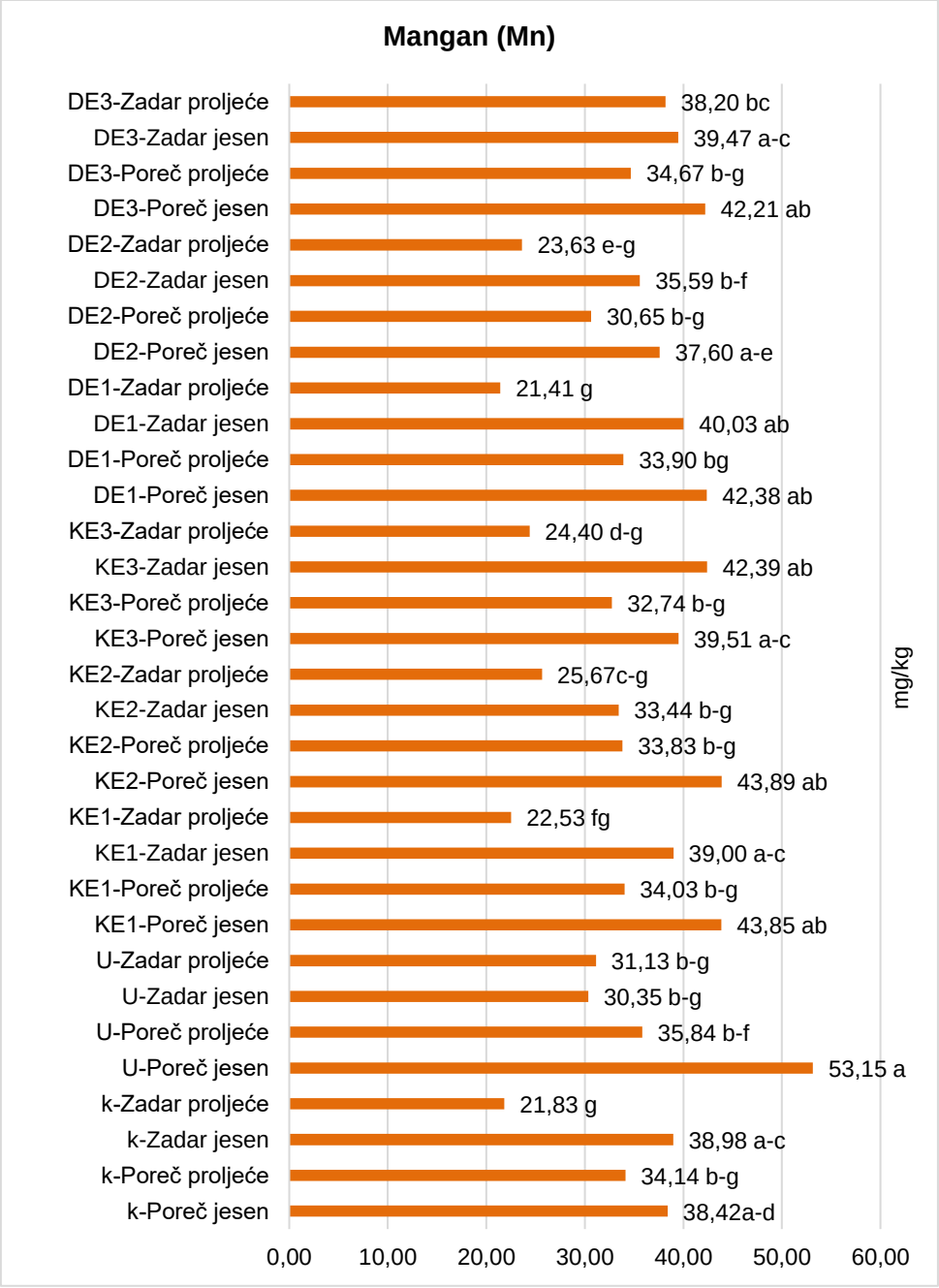
Interakcije tretmana i lokacije (T × L, $p \leq 0,01$) te tretmana, lokacije i roka (T × L × R, $p \leq 0,001$) su se pokazale statistički značajna za količinu Mn u suhoj herbi mahunara (**grafikoni 26 i 27**), za razliku od interakcije lokacija i roka (L × R), kao i tretmana i roka (T × R) (**tablica 15, prilog 3**). Promatrajući L × R vrijednosti Mn su bile od najmanje (26,10 mg/kg st) kod biljaka u proljetnom uzgoju u Zadru, do najviše (42,63 mg/kg st) kod biljaka u jesenskom uzgoju u Poreču.

Iz **grafikona 26** vidljivo je da je utjecaj različitih tretmana na dvije lokacije (T × L) rezultirao količinom Mn koji je kretao od značajno najnižih vrijednosti (KE2=29,55 mg/kg st, DE2=29,61 mg/kg) u Zadru uz tretmane KE2 i DE2 do najviših vrijednosti 43,25 mg/kg st na lokaciji Poreč uz tretman s ureom. Statistički podjednake vrijednosti mangana utvrđene su na lokaciji Poreč i kontrolnoj varijanti (35,98 mg/kg), zatim uz tretmane KE1 (38,24 mg/kg), KE2 (38,86 mg/kg), KE3 (35,64 mg/kg), DE1 (37,54 mg/kg) i DE3 (37,90 mg/kg). Značajno najniže vrijednosti Mn utvrđene u kombinaciji KE2-Zadar (29,55 mg/kg st) i DE2-Zadar (29,61 mg/kg st). Preostale varijante na lokaciji Zadar (k, U, KE1, KE3, DE1, DE2) bile su statistički identične značajno najnižim vrijednostima mangana.



Grafikon 26. Utjecaj interakcije tretmana i lokacije (T × L) na količinu Mn u herbi graha mahunara ($p \leq 0,01$)

Međusobno djelovanje sva tri faktora (T × L × R) dalo je statistički značajne rezultate. Značajno najniže vrijednosti utvrđene su u kombinaciji DE1, lokacije Zadar i proljetnog roka (21,41 mg/kg st), te kombinaciji kontrole i iste lokacije te roka (kontrola-Zadar-proljeće=21,83 mg/kg st). Suprotno, značajno najviše vrijednosti imao je grah mahunar pri tretmanu s ureom u Poreču u jesenskom roku (53,15 mg/kg st). Ostale varijante pokazale su statističku varijabilnost unutar navedenih vrijednosti (**grafikon 27**).



Grafikon 27. Utjecaj interakcije tretmana, lokacije i roka (T × L × R) na količinu mangana u herbi graha mahunara ($p \leq 0,001$)

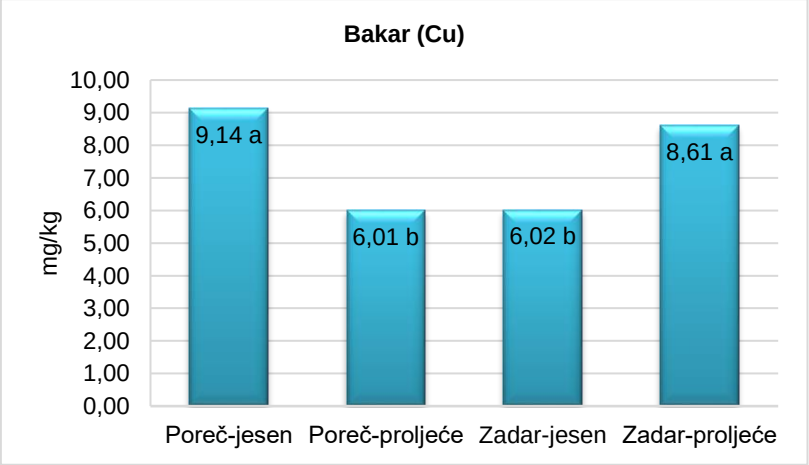
4.7.10. Bakar (Cu)

Primjena različitih tretmana (T) nije se pokazala statistički značajna (NS) za **količinu bakra (Cu) u suhoj herbi** graha mahunara, te je rezultirala vrijednostima koje su bile u rangu

od minimalnih 6,60 mg/kg st za varijante s DE3 tretmanom, do maksimalnih 7,58 mg/kg st za kontrolne varijante (**tablica 15, prilog 3**).

Uzgoj na dvije različite lokacije (L) također nije imao statistički značajan (NS) utjecaj na količinu Cu, a najniže vrijednosti od 7,31 mg/kg st utvrđene su u Zadru, dok je 7,35 mg/kg st bakra imao grah mahunar na lokaciji Poreč. Nadalje, niže vrijednosti bakra utvrđene su u proljetnom uzgoju (7,31 mg/kg st) za razliku od jesenskog (7,36 mg/kg st).

Statistički značajna se pokazala interakcija lokacije i roka (L × R, $p \leq 0,001$). Statistički podjednake, a značajno najviše vrijednost bakra utvrđene su na lokalitetu Poreč u jesen (9,14 mg/kg st) te u Zadru u proljetnom roku (8,61 mg/kg st), dok su značajno najmanje vrijednosti bakra utvrđene na lokaciji Poreč u proljeće (6,01 mg/kg st), kao i u Zadru u jesenskom roku (6,02 mg/kg st), (**grafikon 28**).



Grafikon 28. Utjecaj interakcije lokacije i roka (L × R) na sadržaj Cu u herbi graha mahunara ($p \leq 0,001$)

Ostale interakcije (T × L; T × R; T × L × R) nisu se pokazale statistički značajne (NS). Kod kombinacije faktora T × L količina Cu je bila u rangu od najmanje vrijednosti od 6,06 mg/kg st za grah mahunar uzgojen u Zadru s DE3 tretmanom, do 8,01 mg/kg st u grahu mahunaru s kontrolne varijante na lokaciji Zadar. Za interakciju tretmana i roka (T × R) količina bakra je bile od minimalnih 6,15 mg/kg st kod jesenskog uzgoja s tretmanom DE3, do 7,67 mg/kg st kod kontrolnih varijanti u istom roku.

Za kombinaciju sva tri faktora (T × L × R) udio Cu je bio u rangu od minimalnih 5,65 mg/kg st kod kombinacije DE1-Zadar-jesen, do maksimalne 9,66 mg/kg st pri kombinaciji U-Poreč-jesen (**prilog 3**).

5. RASPRAVA

Znanstvena literatura o biljnim ekstraktima za prihranu biljaka vrlo je oskudna. Posljednjih godina sve je veći broj istraživanja primjene biljnih biostimulatora i organskih gnojiva u uzgoju povrća, kao i njihovog pozitivog učinka na rast i prinos povrća (Rivera i sur., 2012; Godlewska i sur., 2020). U većini istraživanja testirana je primjena morskih algi (Kavipriya i sur., 2011; Sridhar i Rengasamy 2011; Di Stasio i sur., 2018; Ertani i sur., 2018; Sarkar i sur., 2018), dok su biljni (botanički) ekstrakti manje istraženi. Kemizam i aktivnost takvih pripravaka još uvijek nije dobro poznat, iako se smatra sinergijskim djelovanjem nekoliko čimbenika (Godlewska 2019). Kopriva se koristi za pripremu tekućeg ekstrakta koji ima dvojaku primjenu, kao gnojivo i biostimulator (Omahen 1985; Peterson 1988; Godlewska 2020). Ovo istraživanje predstavlja rezultate djelovanja različitih vodenih ekstrakata koprive (razlikuju se u vremenu ekstrakcije i broju primjena tijekom vegetacije biljke) kao gnojiva na rast i prinos graha mahuna te utjecaj na mineralni sastav, bioaktivne spojeve i antioksidacijsku aktivnost biljke. Istraživanje je provedeno na dvije klimatski i pedološki različite lokacije (Zadar, Poreč) te u dva roka uzgoja (proljetni i jesenski).

Botanički pripravak od koprive smatra se dobrim izvorom dušika (3,89%) te obiluje fosforom (0,48%), kalijem (2,57%), (Taylor, 2009), kalcijem, magnezijem, željezom i cinkom (Filipović i sur., 2011). Sinergija vitamina, minerala, aminokiselina i ugljikohidrata kao i fitohormona auksina koji su prisutni u ekstraktima koprive (Weiβ, 1993; Hulina, 1998; Filipović i sur., 2011; Di Virgilio i sur., 2013; Dozet i sur., 2017), rezultira povećanim rastom tretiranih biljaka te se može koristiti kao dodatak konvencionalnim gnojivima ili cjelovito gnojivo (Kudritsata i sur., 1986; Peterson i Jensen, 1988; Pamio 2007). Međutim, udio pojedinih hranjiva u herbi samonikle koprive može značajno varirati s obzirom na stanište (Goreta Ban i sur., 2017).

Efikasnost apsorpcije hraniva od strane biljke putem korijena iz tla ovisi o pH vrijednosti tla, koja se kreće od 5,5 do 7,5. Organskom gnojidbom može se utjecati na pH vrijednost tla te samim time potaknuti ili usporiti apsorpciju hraniva (Jukić i Mužek, 2018).

U ovom istraživanju analize vrijednosti pH i EC kratkog (ekstrakcija 24 sata) i dugog ekstrakta (ekstrakcija 14 dana) koprive (KE i DE) bile sukladne rezultatima istraživanjima Petersona i Jensena (1986), (pH 5,85; EC 4,25 dS/m), te Rivera i sur. (2012), (čaj od koprive pH 6,40 i EC 4,10 dS/m; juha od koprive pH 6,00; EC 3,60 dS/m). Ovo istraživanje pokazuje

da je KE bogat dušikom u nitratnom obliku NO_3, dok je DE imao više dušika u amonijskom obliku NH_4. Slične rezultate u DE koprive navode i Peterson i Jensen (1986).

Količina fosfora bila je sličnih vrijednosti u KE i DE (KE=17,34 mg/L; DE=18,94 mg /L) u ovom istraživanju, dok su analize Peterson i Jensena (1986,1988) za dugi ekstrakt pokazale nešto niže vrijednosti (DE=12,4; DE=11,47 mg /L). U kratkom ekstraktu su utvrđene veće količine kalija nego u dugom, dok je kod dugog ekstrakta u istraživanju Peterson i Jensen (1986,1988) utvrđena šesnaest puta niža količina (39 mg/L) kalija u usporedbi s analizama DE u ovom istraživanju (646 mg/L).

Koncentracija kalcija, magnezija i sumpora bila je veća u DE u usporedbi s KE u odnosu na istraživanja gore navedenih autora, dok je zastupljenost ostalih mikroelemenata (cinka, mangana i bakra) bila u sličnim koncentracijama u obje vrste ekstrakata te viša u odnosu na analize spomenutih autora. Prisutnost mikroelementa željeza bila je veća 2,5 puta u dugom ekstraktu nego u kratkom. Peterson i Jensen (1985) su također utvrdili nešto više vrijednosti Fe u dugom vodenom ekstraktu koprive.

Gnojidba je nezaobilazna agrotehnička mjera u komercijalnom uzgoju povrća, a njen uspjeh ovisi o velikom broju čimbenika (tipu tla, vrsti biljke, vlazi tla, oscilaciji temperature, hranjivim tvarima). Aplikacija gnojiva u tlo i usvajanje od strane biljaka utječu na količinu minerala u povrću (fosfor, kalij, kalcij, magnezij, sumpor, željezo, cink, bakar, mangan, bor, molibden), kao i primarnih i sekundarnih metabolita koji se odražavaju na kvalitetu povrća i antioksidacijsku aktivnost (Petek 2017).

Vrstama porodice Fabaceae nije potrebna intenzivna gnojidba dušikom zbog mogućnosti fiksiranja dušika iz zraka putem simbiotskih bakterija iako se kod uzgoja graha na siromašnim tlima preporuča gnojidba u predsjetvenoj pripremi (40 kg/ha N), te se po potrebi usjev prihranjuje u fazi 3-4 lista s 15-20 kg/ha N (Lončarić i sur. 2015; Lešić i sur. 2016).

Za sve morfološke parametre (visina biljke, promjer stabljike, broj listova, masa suhog lista, masa suhe stabljike) gnojidba ureom je rezultirala znatno većim vrijednostima, kao što se očekivalo s obzirom da se radi o dušičnom gnojivu koje sadrži 46% dušika u amidnom obliku (Butorac, 1999). Međutim, kod visine biljke i promjera stabljike statistički podjednak je bio i utjecaj ekstrakata koprive (visina biljke - KE1, KE2, DE1, DE2, DE3; promjer stabljike - KE3, DE2) u odnosu na ureu. U ovom istraživanju gnojidba ureom je pokazala da statistički značajno utječe na rast nadzemnog dijela biljke graha mahunara kao i gnojidba ekstraktom koprive. Dobiveni rezultati istraživanja su pokazali da bi vodeni ekstrakti koprive, posebno dugi, mogli biti učinkovit kao organska dušična gnojiva, a tome pridonosi i djelovanje hormona auksina (Peterson i Jensen, 1985). Rezultati dobiveni u ovom istraživanju sukladni su istraživanjima

Petersona i Jensena (1986, 1988), ali suprotni Riveri i sur. (2012). Studije Rivere i sur. (2012) su pokazale da upotreba vodenog ekstrakata koprive kao gnojiva tri puta tjedno tijekom cijele vegetacije nije imala utjecaja na površinu lista salate, broj listova, svježu masu i suhu tvar u odnosu na kontrolne biljke tretirane vodom. Suprotno tome, Peterson i Jensen (1986, 1988), dokazali su pozitivan učinak ekstrakta vodene koprive na rast ječma i rajčice. Gnojidba koprivom povećala je rast biljaka za 20% i dvostruko povećala duljine korijena i svježe mase ječma (Peterson i Jensen, 1986), dok je kod rajčice zabilježeno povećanje mase suhog izboja za 60% i povećanja mase suhog korijena za 20% (Peterson i Jensen, 1986). Istraživanje Godlewske i sur. (2020) pokazalo je učinkovitost vodenih ekstrakata lišća i korijena koprive u poticanju rasta sadnica kupusa bijele glavice.

Uspoređujući tretmane s koprivom, različite u trajanju ekstrakcije i načinu primjene (KE - folijarno i DE - putem tla), nije bilo statistički značajne razlike između njih u odnosu na morfološke karakteristike visine biljke i promjera stabljike graha mahunara. Navedeno ukazuje na to da je folijarna primjena imala djelovanje kao organsko gnojivo odnosno biostimulator rasta, premda su mnoga dosadašnja istraživanja ukazivala isključivo na insekticidno i protugljivično djelovanje (Bozsik, 1996; Dabrowski i Seredynska 2007; Brudea 2009; Hadizadeh i sur., 2009). Osim trajanja ekstrakcije i aplikacije ekstrakata važan je i broj primjena tijekom vegetacije, osobito s aspekta dušika. Budući da se dušik ispire iz tla, biljci je dostupniji ako se primjenjuje u nekoliko navrata nego kod jednokratne gnojidbe. Iako postoji razlika u visini biljke i promjeru stabljike (više za 6,5%; veći promjer stabljike za 5,7%), ali ne i statistička, između primjene DE2 tretmana i DE3 tretmana, može se zaključiti da je dušik dodan dva puta tijekom intenzivnog rasta biljaka prije cvatnje graha mahunara dao bolje rezultate u odnosu na tretman DE3.

Primjena različitih tretmana nije statistički značajno utjecala na vegetativne pokazatelje (broja i površine listova, suhe mase stabljike i listova), ipak razlike koja ukazuju da biljke tretirane s koprivom imaju više vrijednosti navedenih pokazatelja u odnosu na kontrolne varijante. Dozet i sur. (2017) su utvrdili veće prinose pri folijarnoj primjeni ekstrakta koprive usporedno s kontrolnim varijantama s vodom, što se ovom istraživanju za pokazalo suprotno. Iako nije mjerena suha masa biljke u istraživanju Ljubojevića (2015) gnojidba ekstraktom koprive značajno je utjecala na povećanje svježe mase salate kao i duljinu korijena.

Ekstrakt koprive primijenjen kao gnojivo na grahu mahunaru u poljskim uvjetima nije se pokazao učinkovitim na vegetativne pokazatelje suhe mase stabljike i lišća u usporedbi s kontrolom tretiranom vodom (Pasković i sur., 2017).

U provedenom istraživanju svi su vegetativni pokazatelji kao i prinos, s obzirom na utjecaj lokacijskih čimbenika, bili značajno veći na lokaciji Poreč zbog početnih viših parametara dobivenih analizom tla na početku pokusa. Smeđe i crveno tlo odabrani su za istraživanje zbog njihove različite pedogeneze. Smeđe tlo bilo je hidro-meliorirani kalcitni-glejsol, a crveno tlo eutrični kambisol (Bogunović i sur., 1998). Crveno tlo na lokaciji Poreč imalo je nešto viši pH, ali je bilo bolje opskrbljeno P i K u odnosu na smeđe tlo s lokacije Zadar.

Ujecaj klimatskih obilježja na dvije lokacije s obzirom na proljetni i jesenski uzgoj bio je značajan za sve morfološke pokazatelje, kao i na mineralni sastav (P, K, Cu) te zastupljenost ukupnog N. Poreč je klasificiran kao Cfa prema Köppenu s umjerenom toplom i vlažnom klimom (Šegota i Filipčić, 2003) u odnosu na drugu eksperimentalnu lokaciju Zadar klasificiranu prema Köppenu kao Csa (mediteranska klima topla i suha, s blagim zimama), (Šegota i Filipčić, 2003). Promatrajući dva roka uzgoja (proljeće i jesen), vegetativni pokazatelji graha mahunara bili su značajno veći u jesen (visina biljke, promjer stabljike, broj listova, masa suhog lista, masa suhe stabljike, površina lista) u usporedbi s proljetnim uzgojem zbog veće količine oborina (Zadar 60%; Poreč 136%) u jesenskom uzgoju. Međutim, prinos mahuna po m^2 bio je 32% niži u jesenskom uzgoju u odnosu na proljetni uzgoj, a sukladno tome dužina (0,05%) i promjer (9%) mahuna, što se može pripisati klimatskim faktorima. Naime, u listopadu je uz povećane oborine došlo i do pada srednje prosječne temperature zraka za oko 6 °C u odnosu na rujan, što je skratilo vegetaciju te time i berbu s obzirom da je optimalna temperatura za cvatnju i zametanje mahuna oko 23 °C (Lešić i sur., 2016). Jesenski uzgoj bio je povoljniji za vegetativne pokazatelje rasta biljke, ali ne i za prinos i veličinu mahuna.

Kemijske analize, mineralnog sastava i ukupnog N, listova biljke graha mahunara pokazale su slične vrijednosti, kod primjene KE i DE, za količinu ukupnog dušika, fosfora i kalija. Iako je ekstrakt koprive bogat dušikom, analiza ukupnog N u lišću zelenog graha mahunara bila je znatno niža u usporedbi s biljkama gnojenim ureom (U) u ovom istraživanju, što potvrđuju i Hartz, Smith i Gaskell (2010) zaključujući da su organska gnojiva imala manju dostupnost N u odnosu na mineralna gnojiva. Prema toj činjenici, u ovom istraživanju, DE koprive imao je značajnu količinu dušika u amonijevom obliku (NH_4^+), a KE koprive nitratni oblik dušika (NO_3^-), međutim to nije utjecalo na biljke graha tretirane DE ili KE -1,2,3 bez obzira na broj primjena.

Ukupni dušik u listu kod biljaka u kontrolnoj varijanti nije bio statistički značajno različit od onih tretiranih s DE i KE koprive. Suprotno tome, istraživanje Petersona i Jensena (1988) pokazalo je da su listovi biljke rajčice tretirane ekstraktom koprive imale 10% više ukupnog N od onih tretiranih hranjivom otopinom mineralnog gnojiva. Također udio anorganskog i

organskog dušika bio je veći za 50% u odnosu na kontrolu međutim, količine P i K određene u rajčici bile su manje (Petersona i Jensena, 1988) kao i u ovom istraživanju gnojidbe graha mahunara s ekstrakatima koprive u odnosu na kontrolu. Iako je prisutnost kalija u tlu na lokaciji Poreč bila dvostruko veća ta činjenica nije značajno utjecala na količinu N u biljkama graha mahunara, što je suprotno činjenici da veća koncentracija K^+ iona u tlu smanjuje usvjanje dušika (Vukadinović i Vukadinović, 2011).

Dostupni fosfor u tlu ovisi o kiselosti tla (pH) i temperaturi, te je kod kiselijih tala i nižih temperatura slabije dostupan (Vukadinović i Vukadinović 2011). Značajno viša vrijednost fosfora u listu zabilježena je kod biljaka uzgajanih u Poreču, što je u korelaciji većim početnim vrijednostima biljci pristupačnog fosfora u tlu na početku pokusa kao i s povoljnijim vrijednostima pH. Uspoređujući tretmane, količina fosfora kod biljaka tretiranih ekstraktima koprive bila je veća u odnosu na biljke gnojene mineralnim gnojivom uree.

Također, organska gnojidba koprivom je rezultirala većom količinom kalija u herbi graha mahunara u odnosu na mineralnu gnojidbu ureom uz male razlike između dugog i kratkog ekstrakta.

Gnojidba dušikom (urea, KE, DE) je pokazala veće količine kalcija u suhoj herbi graha mahunara u odnosu na kontrolne varijante. Uspoređujući međusobno tretmane koprivom pokazalo se da je folijarni kratki ekstrakt učinkovitiji već kod jedne aplikacije (KE1), dok se kod dugog ekstrakta primijenjenog putem tla udio kalcija povećavao s brojem primjena.

Isti trend bio je i kod udjela magnezija kao i sumpora, čija je prisutnost u biljkama bila veća pri gnojidbi ureom i koprivom u odnosu na kontrolne varijante.

Ekstrakt koprive sadrži značajnu količinu organske tvari i organski keliranog željeza (Peterson i Jensen, 1985). Udio željeza u lišću graha bio je statistički veći u biljkama tretiranim ekstraktom koprive DE3 u usporedbi s biljkama gnojenim s ureom. Biljke tretirane KE-1,2,3 i DE-1,2 ekstraktima koprive pokazale su veći sadržaj željeza u usporedbi s tretmanom uree, ali se statistički nisu razlikovale. Ovo povećanje sadržaja željeza kada se primjenjuje ekstrakt koprive, može biti povezano s prisutnošću ovog mikroelementa u ekstraktu. Prema Petersonu i Jensenu (1985; 1986) ekstrakt koprive povisuje pH u tlu, te biljke slabije apsorbiraju željezo u alkalnim tlima (Brown 1978, Bravo et all. 2017). Bez obzira što je na lokaciji Zadar tlo bilo alkalnije nego u Poreču, sadržaj željeza je određen u većim koncentracijama u listu graha mahunara.

Kao odgovor na stres biljke imaju različite obrambene sustave kroz sustav antioksidansa. Udio fenola varira i ovisi o vrsti, sorti, načinu uzgoja, vrsti tla i klimatskim uvjetima (Jeffery i sur., 2003). Ovi sekundarni metaboliti imaju ulogu zaštite biljke od

nepovoljnih uvjeta suše, zaslanjenog tla, velikog sunčanog zračenja kao i manjka hraniva (Di Ferdinando i sur., 2014).

Postoje različita ispitivanja o utjecaju mineralnog dušičnog gnojiva na razinu antioksidativnog djelovanja (Biesiada i sur., 2010; Lata i sur., 2014; Arena i sur., 2017; Amarowicz i sur., 2020), koja potvrđuju da gnojidba dušikom povećava antioksidacijsku aktivnost u biljkama. Young i sur. (2005) kao i Mohd Din i sur., (2017) su istraživali utjecaj organske i konvencionalne gnojidbe na rast kineskog kupusa, gdje se pokazalo da organski uzgojene biljke imaju veći udio fenola.

Ovo istraživanje je pokazalo da su biljke gnojene s dušikom iz organskih izvora koprive DE (2, 3) putem tla imale značajno veći udio ukupnih fenola, a samim time i veću antioksidacijsku aktivnost u usporedbi s biljkama tretiranim ureom (46% N) te folijarno s KE (1, 2, 3). Estiartee i sur. (1994) navode da se obrambena svojstva biljke uljučujući i fenole aktiviraju pri niskom sadržaju dušika kao posljedica stresa. Sukladno toj tvrdnji i Hamilton i sur. (2001) navode da se povećani udio ugljika kanalizira u sekundarne metabolite i fenolne spojeve.

Godlewska i sur. (2019) istraživali su primjenu različitih biljnih ekstrakata u uzgoju presadnica kupusa te utvrdili da isti smanjuju antioksidacijsku aktivnost (FRAP), dok je primjena ekstrakta češnjaka folijarno i putem gnojidba tla potaknula rast antioksidansa (Hayat i sur., 2018). Mehanizam djelovanja sekundarnih metabolita kod biljaka je složen i ovisi o više faktora te samim time nisu potpuno razjašnjeni, ali se pokazalo da mogu povećati antioksidativni potencijal povrća (Bulgari i sur., 2015). Biljke su zdravi i veoma važni izvori fenolnih spojeva kao prirodnih antioksidansa te kao takve imaju ulogu u zdravstvenoj zaštiti čovjeka (Balasundram i sur., 2006).

U ekološkoj poljoprivredi tražena su prihvatljiva gnojiva. Ovim istraživanjem dokazano je da kopriva kao gnojivo može naći svoju primjenu u ekološkom uzgoju osobito na manjim obiteljskim gospodarstvima zbog dostupnosti i jednostavne primjene.

6. ZAKLJUČCI

Na temelju dobivenih rezultata ovog istraživanja o utjecaju vodenih ekstrakata koprive na vegetativne pokazatelje, prinos i kemijski sastav graha mahunara, koje je provedeno na dvije lokacije i u dva roka uzgoja može se zaključiti sljedeće:

1. Potvrđena je hipoteza da je trajanje ekstrakcije utjecalo na količinu minerala i ukupnih fenola u vodenim ekstraktima koprive. Količina N u NO_3^- obliku bila je veća u KE u odnosu na DE, dok je za NH_4^+ oblik dušika potvrđeno suprotno. Zastupljenost P, K, Ca, Mg, S, Fe, Mn, Cu kao i ukupnih fenola bila je veća u DE za razliku od KE.

2. Usporedbom vodenih ekstrakata koprive utvrđeno je da ne postoje razlike u učinku na vegetativna svojstva visine i promjera stabljike, dužine mahune i prinosa mahuna između tretmana KE i DE.

3. Različiti gnojidbeni tretmani utjecali su na količinu minerala, ukupnih fenola i antioksidacijsku aktivnost graha mahunara. Biljke graha mahunara gnojene s vodenim ekstraktom koprive DE3 imaju više željeza u odnosu na biljke gnojene ureom. Primjena uree i kratkog ekstrakta rezultirala je značajno nižim vrijednostima ukupnih fenola i antioksidacijske aktivnosti u odnosu na kontrolu.

4. Lokacija i rok uzgoja imali su značajan utjecaj na morfološka svojstva i kemijski sastav graha mahunara. Značajno više vrijednosti većine morfoloških svojstava i prinosa, minerala (P, K, S i Mn) te ukupnih fenola i antioksidacijske aktivnosti utvrđene su na lokaciji Poreč u odnosu na Zadar. Sva promatrana vegetativna svojstva, ukupni fenoli, antioksidacijski aktivnost i sadržaj minerala u listu (P, Mg, S, Fe i Mn) bili su veći kod jesenskog uzgoja, dok su prinos, dužina i promjer mahuna bili značajno veći u proljetnom roku.

5. Rezultati dobiveni u ovom istraživanju značajno su doprinijeli novim spoznajama o djelovanju koprive kao biljnog gnojiva, uzimajući u obzir trajanje ekstrakcije i broj primjena tijekom vegetacije. Posebno su značajni rezultati oko djelovanja KE koprive kao gnojiva, s aspekta kraće pripreme te jednostavnije aplikacije u poljskim uvjetima u odnosu na DE. Nameće se potreba daljnjih istraživanja s većim brojem primjena ekstrakata koprive kao i istraživanja na drugim kulturama.

7. POPIS LITERATURE

1. Akbay P., Basaran A. A., Undeger U. i Basaran N. (2003). In vitro immunomodulatory activity of flavonoid glycosides from Urtica dioica L. Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives 17(1): 34-37.
2. Alejandro S., Höller S., Meier B. i Peiter E. (2020). Manganese in Plants: From Acquisition to Subcellular Allocation. Frontiers in plant science 11: 300.
3. Amarowicz R., Cwalina-Ambroziak B., Janiak M. A. i Bogucka B. (2020). Effect of N Fertilization on the Content of Phenolic Compounds in Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) Tubers and Their Antioxidant Capacity. Agronomy 10(8): 1215.
4. Antonkiewicz J. i Łabętowicz J. (2016). Chemical innovation in plant nutrition in a historical continuum from ancient Greece and Rome until modern times. Chemistry-Didactics-Ecology-Metrology 21(1-2): 29-43.
5. AOAC. (1995). Official methods of analysis of AOAC International, 16th Edition, Vol. I, Arlington, USA.
6. Arena M. E., Postemsky P. D. i Curvetto N. R. (2017). Changes in the phenolic compounds and antioxidant capacity of *Berberis microphylla* G. Forst. berries in relation to light intensity and fertilization. Scientia horticulturae 218: 63-71.
7. Balasundram N., Sundram K. i Samman S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food chemistry 99(1): 191-203.
8. Başgel S. i Erdemoğlu S. B. (2006). Determination of mineral and trace elements in some medicinal herbs and their infusions consumed in Turkey. Science of the Total Environment 359(1): 82-89.
9. Benzie I. F. i Strain J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. Analytical biochemistry 239(1): 70-76.
10. Biesiada A., Kucharska A., Sokół-Łętowska A., Kuś A. (2010). Effect of the age of plantation and harvest term on chemical composition and antioxidant activity of stinging nettle (Urtica dioica L.). Ecological Chemistry and Engineering 17(9): 1061-1068.

11. Bilkova Z., (2010). Biological activities of *Lavandula angustifolia* essential oil. Diplomova prace. Univerzita Karlova v Praze, Farmaceuticka fakulta v Hradci Kralove, Katedra farmakognozie, 70. str.
12. Bogunović M., Vidaček Ž., Husnjak S. i Sraka M. (1998). Inventory of soils in Croatia. Agriculturae conspectus scientificus 63(3): 105-112.
13. Bozsik A. (1996). Studies on aphicidal efficiency of different stinging nettle extracts. Anzeiger für Schädlingskunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz 69(1): 21-22.
14. Brand-Williams W., Cuvelier M. E. i Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food Science and Technology 28(1): 25-30.
15. Bravo S., Amorós J. A., Pérez-De-Los-Reyes C., García F. J., Moreno M. M., Sánchez-Ormeño M. i Higueras, P. (2017). Influence of the soil pH in the uptake and bioaccumulation of heavy metals (Fe, Zn, Cu, Pb and Mn) and other elements (Ca, K, Al, Sr and Ba) in vine leaves, Castilla-La Mancha (Spain). Journal of Geochemical Exploration 174: 79-83.
16. Broadley M.R., White P.J., Hammond J.P., Zelko I., Lux A. (2007). Zinc in plants. New Phytologist 173(4): 677-702.
17. Brown, J. C. (1978). Mechanism of iron uptake by plants. Plant, Cell and Environment 1(4): 249-257.
18. Brudea V. (2009). The efficacy of some biopesticides and vegetal metabolites in the control of spireas aphid *Aphis spiraephaga* Müller (O. Homoptera-F. Aphididae). Lucrãri stiintifice. Seria Agronomie 52(1): 611-616.
19. Bulgari R., Cocetta G., Trivellini A., Vernieri P., Ferrante A. (2015). Biostimulants and crop responses: a review. Biological Agriculture and Horticulture 31(1): 1-17.
20. Butorac A. (1989). Opća agronomija. Školska knjiga, Zagreb.
21. Butorac A., Butorac J., Bašić F., Mesić M. i Kisić I. (2005). Utjecaj gnojidbe na zalihu fosforom i kalijem na prinos korijena šećerne repe i neka kemijska svojstva tla u plodoredu kukuruz-soja-ozima pšenica-šećerna repa. Agronomski glasnik 67(1): 3-16.
22. Dąbrowski Z. T. i Seredyńska U. (2007). Characterisation of the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch, Acari: Tetranychidae) response to aqueous extracts from selected plant species. Journal of Plant Protection Research 47(2): 113-124.
23. Dai J. i Mumper R. J. (2010). Plant Phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. Molecules 15: 7313-7352.
24. Dayan F. E., Cantrell C. L., Duke S. O. (2009). Natural products in crop protection. Bioorganic & medicinal chemistry 17(12): 4022-4034.

25. Del Rio, D., Rodriguez-Mateos, A., Spencer, J.P.E., Tognolini, M., Borges, G., Crozier, A. (2013). Dietary (poly)phenolics in human health: Structures, Bioavailability and evidence of protective effects against chronic diseases. Antioxidants and Redox Signaling 18: 1818-1892.
26. Di Ferdinando M., Brunetti C., Agati G. i Tattini M. (2014). Multiple functions of polyphenols in plants inhabiting unfavorable Mediterranean areas. Environmental and experimental botany 103: 107-116.
27. Di Stasio E., Van Oosten M. J., Silletti S., Raimondi G., dell'Aversana E., Carillo P., Maggio A. (2018). Ascophyllum nodosum-based algal extracts act as enhancers of growth, fruit quality, and adaptation to stress in salinized tomato plants. Journal of Applied Phycology 30(4): 2675-2686.
28. Di Virgilio N., Papazoglou E. G., Jankauskiene Z., Di Lonardo S., Praczyk M., Wielgusz K. (2015). The potential of stinging nettle (*Urtica dioica* L.) as a crop with multiple uses. Industrial Crops and Products 68: 42-49.
29. Dindar E., Sagban F. O. i Baskaya H. S. (2015). Evaluation of soil enzyme activities as soil quality indicators in sludge-amended soils. Journal of environmental biology 36(4): 919-926.
30. Dozet G., Đukić V., Balešević-Tubić S., Đurić N., Miladinov Z., Vasin J., Jakšić S. (2017). Uticaj primene vodenih ekstrakata na prinos u organskoj proizvodnji soje. Zbornik radova 1, XXII Savetovanje o biotehnologiji sa međunarodnim učešćem, Čačak, 81-86.
31. Državni hidrometeorološki zavod. <http://www.dhmz.htnet.hr/ >. [Pristup: 01.03.2020.]
32. Đurović S., Pavlić B., Šorgić S., Popov S., Savić S., Petronijević M., Radojkvić M., Cvetanović A., Zeković Z. (2017). Chemical composition of stinging nettle leaves obtained by different analytical approaches. Journal of Functional Foods 32: 18-26.
33. Egner H., Riehm H. i Domingo W. R. (1960). Untersuchungen über die chemische Bodenanalyse als Grundlage für die Beurteilung des Nahrstoffzustandes der Boden. II. Chemische Extractionsmethoden zur Phosphor-und Kaliumbestimmung. Lantbrukshogskolam Annaler 25: 199-215.
34. Ertani A., Francioso O., Tinti A., Schiavon M., Pizzeghello D., Nardi S. (2018). Evaluation of seaweed extracts from Laminaria and Ascophyllum nodosum spp. as biostimulants in Zea mays L. using a combination of chemical, biochemical and morphological approaches. Frontiers in plant science 9, 428.

35. Estiarte M., Filella I., Serra J., Penuelas J. (1994). Effects of nutrient and water stress on leaf phenolic content of peppers and susceptibility to generalist herbivore *Helicoverpa armigera* (Hubner). Oecologia 99(3): 387-391.
36. Fabek S., Toth N., Radojčić Redovniković I., Herak Ćustić M., Benko B., Žutić I. (2012). The effect of nitrogen fertilization on nitrate accumulation, and the content of minerals and glucosinolates in broccoli cultivars. Food Technology and Biotechnology 50(2): 183-191.
37. Filgueiras C. C., Farias P. R. S., Cardoso M. D. G., Vendramim J. D., Ramos E. M. L. S. i Cantão F. R. D. O. (2011). Bioactivity of aqueous extracts of Clibadium sylvestre (Aubl.) Baill. and Derris amazonica Killip on the aphid Myzus persicae (Sulzer, 1776)(Hemiptera: Aphididae). Ciência e Agrotecnologia 35(6): 1059-1066.
38. Filipović V., Ugrenović V., Glamočlija Đ., Jevđović R., Grbić J., Sikora V. (2011). Analysis of Ca, Mg, Fe, and Zn contents in aboveground biomass of wild nettle (*Urtica dioca* L.). Lekovite sirovine,31: 47-54.
39. Fließbach A., Oberholzer H. R., Gunst L. i Mäder P. (2007). Soil organic matter and biological soil quality indicators after 21 years of organic and conventional farming. Agriculture, Ecosystems and Environment 118(1-4): 273-284.
40. Flynn R. i Idowu J. (2015). Nitrogen Fixation by legumes. College of Agricultural, Consumer and Environmental Sciences. Guide A-129: 1-4.
41. Fu H. Y., Chen S. J., Chen R. F., Ding W. H., Kuo-Huang L. L. i Huang R. N. (2006). Identification of oxalic acid and tartaric acid as major persistent pain-inducing toxins in the stinging hairs of the nettle, *Urtica thunbergiana*. Annals of botany 98(1): 57-65.
42. Gluhić D. (2013a). Mikroelementi u funkciji gnojidbe bilja. Glasnik zaštite bilja 36(5): 26-34.
43. Gluhić D. (2013b). Željezo u gnojidbi poljoprivrednih kultura. Glasnik zaštite bilja 36(1): 46-51.
44. Godlewska K., Biesiada A., Michalak I. i Pacyga P. (2019). The Effect of Plant-Derived Biostimulants on White Head Cabbage Seedlings Grown under Controlled Conditions. Sustainability 11(19): 5317.
45. Godlewska K., Biesiada A., Michalak I. i Pacyga P. (2020). The effect of botanical extracts obtained through ultrasound-assisted extraction on white head cabbage (*Brassica Oleracea* L. Var. *Capitata* L.) seedlings grown under controlled conditions. Sustainability 12(5): 1871.

46. Goreta Ban S. (2017). Vodeni ekstrakt koprive – mit ili stvarnost. Institut za poljoprivredu i turizam, Poreč.
47. Graziano M. i Lamattina L. (2005). Nitric oxide and iron in plants: an emerging and converging story. Trends in plant Science 10(1): 4-8.
48. Grlić L., Hećimović S. i Krstić N. (1990). Enciklopedija samoniklog jestivog bilja, 2. izdanje. August Cesarec, Zagreb, str.156.
49. Gülçin I., Küfrevioğlu Ö. I., Oktay M., Büyükokuroğlu M. E. (2004). Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). Journal of Ethnopharmacology 90(2): 205-215.
50. Hadizadeh I., Peivastegan B. i Kolahi M. (2009). Antifungal activity of nettle (*Urtica dioica* L.), colocynth (*Citrullus colocynthis* L. Schrad), oleander (*Nerium oleander* L.) and konar (*Ziziphus spina-christi* L.) extracts on plants pathogenic fungi. Pakistan journal of biological sciences: PJBS 12(1): 58-63.
51. Haller H., Jonssona A., Montenegro Rayob K., Davila Lopez A. (2016). Microbial transport of aerated compost tea organisms in clay loam and sandy loam - A soil column study. International Biodeterioration and Biodegradation 106: 10-15.
52. Hamilton J. G., Zangerl A. R., DeLucia E. H., Berenbaum M. R. (2001). The carbon–nutrient balance hypothesis: its rise and fall. Ecology letters 4(1): 86-95.
53. Harborne, J.B., Baxter, H. (1999). The Handbook of Natural Flavonoids. (John Wiley, ured.), Chichester
54. Hartmann M., Frey B., Mayer J., Mäder P., Widmer F. (2015). Distinct soil microbial diversity under long-term organic and conventional farming. The ISME Journal 9(5): 1177-1194.
55. Hartz T. K., Smith R., Gaskell M. (2010). Nitrogen availability from liquid organic fertilizers. HortTechnology 20(1): 169-172.
56. Hayat S., Ahmad H., Ali M., Hayat K., Khan M. A., Cheng Z. (2018). Aqueous garlic extract as a plant biostimulant enhances physiology, improves crop quality and metabolite abundance, and primes the defense responses of receiver plants. Applied Sciences 8(9): 1505.
57. Holford I. C. R. (1997). Soil phosphorus: its measurement, and its uptake by plants. Soil Research 35(2): 227-240.
58. Hrvatski zavod za norme. <https://www.hzn.hr>. [Pristup: 09.03.2020.]
59. Hulina N. (1998). Korovi. Školska knjiga, Zagreb. str.222.

60. Isman M.B. (2006). Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. Annual Review of Entomology 51: 45-66.
61. Jeffery E. H., Brown A. F., Kurilich A. C., Keck A. S., Matusheski N., Klein B. P., Juvik J. A. (2003). Variation in content of bioactive components in broccoli. Journal of food composition and analysis 16(3): 323-330.
62. Joshi B. C., Mukhija M., Kalia A. N. (2014). Pharmacognostical review of *Urtica dioica* L. International Journal of Green Pharmacy (IJGP), 8(4): 201-209.
63. Jukić Z. i Mužek M. N. (2018). Preparation of Liquid Organic Fertilizer by Fermentation of Nettle (Urtica dioica L.) and Chamomile (Chamomilla recutita L. Rauschert). Kemija u industriji: Časopis kemičara i kemijskih inženjera Hrvatske 67(13): 115-118.
64. Kaberia D. K. (2007). Participatory action research and testing the effectiveness of stinging nettle as a biopesticide in Kenya (Doctoral dissertation, University of Wisconsin-Stevens Point), str.99.
65. Kamprath E. J. i Watson M. E. (1980). Conventional soil and tissue tests for assessing the phosphorus status of soils. The role of phosphorus in agriculture, 433-469.
66. Kavipriya R., Dhanalakshmi P. K., Jayashree S., Thangaraju N. (2011). Seaweed extract as a biostimulant for legume crop, green gram. Journal of Ecobiotechnology 3(8): 16-19.
67. Kavtaradze N. S. (2003). Phenolic compounds from Urtica urens growing in Georgia. Chemistry of natural compounds 3(39): 314-314.
68. Kim M. J., Shim C. K., Kim Y. K., Hong S. J., Park J. H., Han E. J., Kim J. H., Kim S. C. (2015). Effect of aerated compost tea on the growth promotion of lettuce, soybean, and sweet corn in organic cultivation. Plant Pathology Journal 31(3): 259-268.
69. Kirkby E. A. i Mengel K. (1976). The role of magnesium in plant nutrition. Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde 139(2): 209-222.
70. Konrad L., Müller H. H., Lenz C., Laubinger H., Aumüller G. i Lichius J. J. (2000). Antiproliferative effect on human prostate cancer cells by a stinging nettle root (*Urtica dioica*) extract. Planta medica 66(1): 44-47.
71. Krystofova O., Adam V., Babula P., Zehnalek J., Beklova M., Havel L., Kizek R. (2010). Effects of various doses of selenite on stinging nettle (*Urtica dioica* L.). International journal of environmental research and public health 7(10): 3804-3815.
72. Kudritskaya S. E., Fishman G. M., Zagorodskaya L. M. i Chikovani D. M. (1986). Carotinoids URTICA-DIOICA. Khimiya Prirodnykh Soedinenii (5): 640-641.

73. Kuepper G. (2010). A brief overview of the history and philosophy of organic agriculture. Kerr Center for Sustainable Agriculture, Poteau (USA).
74. Kukrić Z. Z., Topalić-Trivunović L. N., Kukavica B. M., Matoš S. B., Pavičić S. S., Boroja M. M., Savić A. V. (2012). Characterization of antioxidant and antimicrobial activities of nettle leaves (*Urtica dioica* L.). Acta Periodica Technologica (43): 257-272.
75. Kuštrak D. (2005). Farmakognozija, fitofarmacija, izdanje 1. Golden Marketing, Tehnička knjiga, Zagreb, str. 615.
76. Łata B. (2014). Variability in enzymatic and non-enzymatic antioxidants in red and green-leafy kale in relation to soil type and N-level. Scientia Horticulturae 168: 38-45.
77. Lešić R., Borošić J., Buturac I., Herak-Ćustić M., Poljak M., Romić D. (2016). Povrćarstvo. Zrinski d.d., Čakovec, str. 656.
78. Liebig J. F. (1841). Organic chemistry in its applications to agriculture and physiology. John Owen. London.
79. Lončarić Z., Parađiković N., Popović B., Lončarić R. i Kanisek J. (2015). Gnojidba povrća, organska gnojiva i kompostiranje. Osijek: Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku. <http://www.unios.hr/wp-content/uploads/2015/11/Loncaric-Gnojidba-povrca-organska-gnojiva-i-kompostiranje.pdf >. [Pristup:25. 02. 2020.]
80. Luna T. (2001). Propagation protocol for stinging nettle (*Urtica dioica*). Native Plants Journal 2(2): 110-111.
81. Luo Y. W., Xie W. H., Jin X. X., Wang Q., He Y. J. (2014). Effects of germination on iron, zinc, calcium, manganese, and copper availability from cereals and legumes. CyTA-Journal of Food 12(1): 22-26.
82. Ljubojevic S. (2015). Impact of various herbal extracts on yield of lettuce (*Lactuca sativa*). In Sixth International Scientific Agricultural Symposium "Agrosym 2015", Jahorina, Bosnia and Herzegovina, Book of Proceedings, University of East Sarajevo 1118-1126.
83. Macheix, J.J, Fleuriet, A., Billot, J. (1990). Fruit Phenolics, CRC Press, Boca Raton, Florida, USA
84. Martínez-Ballesta M. C., Dominquez-Perles R., Moreno D. A., Muries B., Alcaraz-López C., Bastías E., García-Viguera C., Carvajal M. (2010). Minerals in plant food: Effect of agricultural practices and role in human health. Sustainable Agriculture 30(2): 295-309.
85. Matotan Z. (2004). Suvremena proizvodnja povrća. Nakladni zavod Globus, Zagreb, str. 448.

86. Medved I. (2019). Uloga dušika, fosfora i kalija u ratarstvu. <https://www.agroportal.hr/ratarstvo/19156>. [Pristup: 23.12.2020.]
87. Mihaljev T. A., Ćupić T. N., Živkov-Baloš M. M., Jakšić M. S. (2014). Nivoi makroelemenata i toksičnih elemenata u biljnim čajevima. Hemijska industrija 69(2): 143-153.
88. Mirecki N., Wehinger T., Repič P., Jaklič, M. (2011). Priručnik za organski proizvodnju za osoblje savjetodavne službe. Interna skripta. Univerzitet Crne Gore, Biotehnički fakultet, Podgorica, str. 193.
89. Mohd Din A. R. J., Cheng K. K., Sarmidi M. R. (2017). Assessment of compost extract on yield and phytochemical contents of pak choi (Brassica rapa cv. chinensis) grown under different fertilizer strategies. Communications in Soil Science and Plant Analysis 48(3): 274-284.
90. Nikolić T. (2013). Sistematska botanika-Raznolikost i evolucija biljnog svijeta. Alfa d.d., Zagreb, str. 827.
91. Nikolić T. (2015). Flora Croatica baza podataka <http://hirc.botanic.hr/fcd>. Prirodoslovno-matematički fakultet. Sveučilište u Zagrebu. [Pristup: 08.03.2020.]
92. Nygaard Sørensen J. i Thorup-Kristensen K. (2010). Plant-based fertilizer for organic production. Acta Horticulturae 852: 195-200.
93. Nygaard Sørensen J. i Thorup-Kristensen K. (2011). Plant-based fertilizers for organic vegetable production. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 174(2): 321-332.
94. Omahen M. (1985). Moj bio-vrt. Delo, Ljubljana, str.111.
95. Otles S. i Yalcin B. (2012). Review on the application of nanobiosensors in food analysis. Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria 11(1): 7-18.
96. Pamio F. (2007). Efecto de uso de infusiones en base a ortiga en el cultivo de lechuga. Trabajo de intensificación para optar por el Título de Ingeniero Agrónomo. Facultad de Agronomía UBA.
97. Parađiković N. (2002.). Osnove proizvodnje povrća, Katava Osijek, str.191.
98. Pasković I., Radić T., Perinčić B., Užila Z., Palčić I., Ban D., Romić M., Žnidarčič D., Goreta Ban S. (2017). Utjecaj vodenog ekstrakta koprive na plodnost tla i vegetativni rast graha mahunara. Zbornik radova 52. hrvatskog i 12. međunarodnog simpozija agronoma (Antunović Z., Ur.), Poljoprivredni fakultet Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Dubrovnik, 275-279.

99. Petek, M. (2017). Gnojidba povrća u budućnosti. Zbornik radova 3. hrvatskog stručnog skupa o proizvodnji povrća 'Hrvatsko povrće', (Beinrauch, G., Ur.), Sveti Martin na Muri. Gospodarski list, 41.
100. Peterson R. i Jensen P. (1985). Effects of nettle water on growth and mineral nutrition of plants. I. composition and properties of nettle water. Biological Agriculture and Horticulture 2(4): 303-314.
101. Peterson R. i Jensen P. (1986). Effects of nettle (*Urtica dioica*) water on growth and mineral nutrition of plants: II. Pot-culture and water-culture experiments. Biological Agriculture and Horticulture 4(1): 7-18.
102. Peterson R. i Jensen P. (1988). Uptake and transport of nitrogen, phosphorus and potassium in tomato supplied with nettle water and nutrient solution. Plant and Soil 107(2): 189-196.
103. Prakash A. i Rao J. (1997). Botanical pesticides in agriculture, CRC Lewis Publishers, str.461.
104. Radman S., Žutić I., Čoga L., Fabek S., Benko B. i Toth N. (2016). Yield and Mineral Content of Stinging Nettle as Affected by Nitrogen Fertilization. Journal of agricultural science and technology (JAST) 1117-1128.
105. Radman S., Žutić I., Fabek S., Žlabur J. Š., Benko B., Toth N., Čoga, L. (2015). Influence of nitrogen fertilization on chemical composition of cultivated nettle. Emirates Journal of Food and Agriculture 27(12): 889-896.
106. Rafajlovska V., Kavrakovski Z., Simonovska J., Srbinoska M. (2013). Determination of protein and mineral contents in stinging nettle. Quality of life 4(1-2): 26-30.
107. Rasband W. S. (1997). ImageJ. US National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA.
108. Reganold J. P. (1995). Soil quality and profitability of biodynamic and conventional farming systems: A review. American Journal of Alternative Agriculture 10(1): 36-45.
109. Rivera M.C., Wright E.R., Salice S., Fabrizio M.C. (2012). Effect of plant preparations on lettuce yield. Acta Horticulturae 933: 173-179.
110. Rodriguez-Mateos, A., Heiss, C., Borges, G., & Crozier, A. (2014). Berry (Poly)phenols and cardiovascular health. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 62 (18), 3842-3851
111. Rutto L., Yixiang X., Ramirez E., Brandt M. (2013). Mineral properties and dietary value of raw and processed stinging nettle (*Urtica dioica* L.). International Journal of Food Science 2013: 1-9.

112. Said A. A. H., Otmani I. S. E., Derfoufi S., Benmoussa A. (2015). Highlights on nutritional and therapeutic value of stinging nettle (*Urtica dioica*). International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 7(10): 8-14.
113. Sandberg A. S. (2002). Bioavailability of minerals in legumes. British Journal of Nutrition 88(S3): 281-285.
114. Sarkar G., Jatar N., Goswami P., Cyriac R., Suthindhiran K. i Jayasri, M. A. (2018). Combination of different marine algal extracts as biostimulant and biofungicide. Journal of Plant Nutrition 41(9): 1163-1171.
115. Schmidt S. B. i Husted S. (2019). The biochemical properties of manganese in plants. Plants 8(10): 381.
116. Shahidi, F., Naczk, M. (2004). Phenolics in food and nutraceuticals. CRC Press, Boca Raton, FL. 352-355.
117. Shortle E., O'grady M. N., Gilroy D., Furey A., Quinn N., Kerry J. P. (2014). Influence of extraction technique on the anti-oxidative potential of hawthorn (*Crataegus monogyna*) extracts in bovine muscle homogenates. Meat science 98(4): 828-834.
118. Singh B., Singh J. P., Kaur A., Singh N. (2017). Phenolic composition and antioxidant potential of grain legume seeds: A review. Food Research International 101: 1-16.
119. Singleton V. L. i Rossi J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American journal of Enology and Viticulture 16(3): 144-158.
120. Spanos, G.A. Wrolstad, R.E. (1992) Phenolics of apple, pear and white grape juices and their changes with processing and storage. A review. Journal of Agricultural and Food Chemistry 40(9): 1478-1487.
121. Spina, M., Cuccioloni, M., Sparapani, L., Acciarr, S., Eleuteri, A., Fioretti, E., Angeletti, M. (2008) Comparative evaluation of flavanoid content in assessing quality of wild and cultivated vegetables for human consuption. Journal of the Science of Food and Agriculture 88(2): 294-304.
122. Sridhar S. i Rengasamy R. (2011). Influence of seaweed liquid fertilizer on growth and biochemical characteristics of Arachis hypogea L. under field trial. Journal of Ecobiotechnology 3(12): 18-22.
123. Stepanović B., Radanović D., Turšić I., Nemčević N., Ivanec J. (2009). Uzgoj ljekovitog i aromatičnog bilja. Jan Spider, Pitomača, str.273.

124. Strube, M., Dragsted, L.O., Larsen, J.C. (1993). Narurally occurring antitumoruringens. I. Plant phenols, Nordische Seminarog Arbeidsrepporter 605, Nordic Council of Ministers, Copenhagen, Denmark.
125. Šegota T. i Filipčić A. (2003). Köppenova podjela klima i hrvatsko nazivlje. Geoadria 8(1): 17-37.
126. Taylor K. (2009). Biological flora of the British Isles: *Urtica dioica* L. Journal of Ecology 97(6): 1436-1458.
127. Testai L., Chericoni S., Calderone V., Nencioni G., Nieri P., Morelli I., Martinotti E. (2002). Cardiovascular effects of *Urtica dioica* L. (Urticaceae) roots extracts: in vitro and in vivo pharmacological studies. Journal of Ethnopharmacology 81(1):105-109.
128. Tibco Statistica 13.3.0 (2017). TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA, USA.
129. Topol J. i Kanižai Šarić G. (2013). Simbiotska fiksacija dušika u ekološkoj poljoprivrednoj proizvodnji, Agronomski glasnik 75(2-3):117-134.
130. Upton R. (2013). Stinging nettles leaf (*Urtica dioica* L.): Extraordinary vegetable medicine. Journal of Herbal Medicine 3(1): 9-38.
131. Vogl C. R. i Hartl A. (2003). Production and processing of organically grown fiber nettle (*Urtica dioica* L.) and its potential use in the natural textile industry: A review. American Journal of Alternative Agriculture 18(3): 119-128.
132. Vukadinović V. i Vukadinović V. (2011). Ishrana bilja. Poljoprivredni fakultet Osijek. Zebra, Vinkovci, str. 442.
133. Wagner H., Willer F., Kreher B. (1989). Biologically active compounds from the aqueous extract of *Urtica dioica*. Planta medica 55(5): 452-454.
134. Wang Z. i Li S. (2004). Effects of Nitrogen and Phosphorus Fertilization on Plant Growth and Nitrate Accumulation in Vegetables, Journal of Plant Nutrition 27(3): 539-556.
135. Weiβ F. (1993). Effects of varied nitrogen fertilization and cutting treatments on the development and yield components of cultivated stinging nettles. Acta Horticulturae 331: 137-144.
136. Wilker J., Navabi A., Rajcan I., Marsolais F., Hill B., Torkamaneh D., Pauls K. P. (2019). Agronomic performance and nitrogen fixation of heirloom and conventional dry bean varieties under low-nitrogen field conditions. Frontiers in plant science, 10(952): 1-21.
137. Xu B. J., Yuan S. H., Chang S. K. C. (2007). Comparative analyses of phenolic composition, antioxidant capacity, and color of cool season legumes and other selected food legumes. Journal of Food Science 72(2): 167-177.

138. Young J. E., Zhao X., Carey E. E., Welti R., Yang S. S., Wang W. (2005). Phytochemical phenolics in organically grown vegetables. Molecular Nutrition & Food Research 49(12): 1136-1142.
139. Yruela I. (2009). Copper in plants: acquisition, transport and interactions. Functional Plant Biology 36(5): 409-430.
140. Zhen Z., Liu H., Wang N., Guo L., Meng J., Ding N. i Jiang G. (2014). Effects of manure compost application on soil microbial community diversity and soil microenvironments in a temperate cropland in China. PloS one 9(10): e108555.
141. Znaor D. (1996.). Ekološka poljoprivreda-poljoprivreda sutrašnjice, Nakladni zavod Globus, Zagreb, str. 469.
142. Zomlefer W. B. (2009). Stinging Nettles of Florida: Urtica. IFAS Extension, University of Florida. EDIS, 2009(1).
143. Zörb C., Senbayram M., Peiter E. (2014). Potassium in agriculture–status and perspectives. Journal of plant physiology 171(9): 656-669.
144. Zorić Z., Pedisić S., Bursać Kovačević D., Ježek D., Dragović-Uzelac V. (2016). Impact of packaging material and storage conditions on polyphenol stability, colour and sensory characteristics of freeze-dried sour cherry (*Prunus Cerasus* var. *Marasca*), Journal of Food Science and Technology-Mysore 53(2): 1247–1258.

8. PRILOZI

Prilog 1. Vegetativna mjerenja biljke graha mahunara

Faktori	Visina biljke (cm)	Promjer stabljike (mm)	Broj listova	Masa suhog lista (g)	Masa suhe stabljike (g)	Površina lista (dm^2)	Ukupni prinos mahuna (kg/biljci)	Prinos mahuna po m^2 (kg)	Dužina mahuna (cm)	Promjer mahuna (mm)
Lokacija										
Poreč	33,2±11,09^{a}	5,7±0,88^{a}	11,8±4,15	4,8±3,13^{a}	2,7±2,10^{a}	132,1±68,81^{a}	3,9±1,49^{a}	1,6±0,60^{a}	12,7±1,31^{a}	9,1±3,85^{a}
Zadar	25,2±9,37^{b}	5,0±0,85^{b}	11,6±3,26	3,8±1,60^{b}	1,5±0,84^{b}	85,1±38,03^{b}	1,9±0,63^{b}	0,8±0,25^{b}	11,3±1,47^{b}	8,3±1,25^{b}
Rok										
Proljeće	20,7±6,81^{b}	5,2±0,82^{b}	11,0±3,11^{b}	2,9±1,43^{b}	0,9±0,47^{b}	84,9±60,98^{b}	3,5±1,88^{a}	1,4±0,75^{a}	12,1±1,33^{a}	9,0±0,87^{a}
Jesen	37,2±7,80^{a}	5,6±0,98^{a}	12,2±4,18^{a}	5,7±2,69^{a}	3,2±1,75^{a}	134,8±50,42^{a}	2,3±0,68^{b}	0,9±0,27^{b}	11,5±1,76^{b}	8,2±3,99^{b}
Tretman										
k	28,1±10,04^{ab}	4,9±0,87^{b}	10,0±2,79	3,9±2,30	1,8±1,43	84,8±46,12	2,8±1,95^{b}	1,1±0,78^{b}	12,1±1,48^{a}	8,6±1,20
U	31,0±11,30^{a}	6,1±0,96^{a}	13,8±4,60	5,8±2,93	2,4±1,56	152,7±77,91	3,5±1,06^{a}	1,4±0,43^{a}	12,0±1,58^{ab}	8,8±1,30
KE1	28,2±11,94^{ab}	5,3±0,80^{b}	12,4±3,26	4,3±2,63	2,3±1,97	112,1±57,52	2,8±1,72^{b}	1,1±0,69^{b}	11,7±1,48^{b}	8,6±1,14
KE2	29,7±10,05^{ab}	5,2±1,09^{b}	11,4±3,60	4,0±2,11	2,0±1,37	99,5±47,17	2,8±1,73^{b}	1,1±0,69^{b}	11,8±1,54^{ab}	8,9±7,07
KE3	25,2±10,83^{b}	5,4±0,90^{ab}	11,6±4,60	4,2±3,29	2,2±2,32	105,1±76,21	2,8±1,46^{b}	1,1±0,58^{b}	11,8±1,64^{ab}	8,5±1,31
DE1	29,1±9,34^{ab}	5,3±0,92^{b}	11,3±3,73	4,0±2,42	2,3±2,12	103,4±51,45	2,9±1,69^{ab}	1,2±0,68^{ab}	11,8±1,55^{ab}	8,6±1,15
DE2	32,6±10,60^{a}	5,5±0,76^{ab}	11,9±3,61	4,6±2,47	2,3±1,60	120,0±62,97	2,7±1,46^{b}	1,1±0,58^{b}	11,9±1,67^{ab}	8,6±1,21
DE3	30,6±13,38^{ab}	5,2±0,74^{b}	10,9±2,68	4,0±1,99	2,0±1,48	100,4±49,55	2,9±1,47^{ab}	1,2±0,59^{ab}	11,8±1,51^{ab}	8,6±1,21
Lokacija × Rok										
P-proljeće	24,3±6,80	5,3±0,78^{b}	10,6±3,08^{b}	2,5±1,55^{c}	0,9±0,53^{c}	104,8±62,02^{b}	5,2±0,78^{a}	2,1±0,31^{a}	12,7±1,06^{a}	9,1±0,74^{a}
P-jesen	40,9±7,81	6,1±0,82^{a}	12,7±4,71^{a}	6,7±2,88^{a}	4,2±1,72^{a}	160,5±64,32^{a}	2,5±0,67^{b}	1,0±0,27^{b}	12,5±1,66^{a}	9,1±6,36^{a}

Z-proljeće	17,3±4,82	5,0±0,84^{b}	11,4±3,12^{ab}	3,3±1,22^{bc}	1,0±0,40^{c}	65,7±23,74^{c}	1,8±0,63^{c}	0,7±0,25^{c}	11,5±1,30^{a}	8,9±0,97^{a}
Z-jesen	33,1±5,28	5,1±0,87^{b}	11,7±3,42^{ab}	4,4±1,77^{b}	2,1±0,79^{b}	104,6±39,88^{b}	2,1±0,60^{c}	0,8±0,24^{c}	11,0±1,57^{b}	7,7±1,21^{b}
Tretman x Lokacija										
k-Poreč	32,2±7,19	5,3±0,91	9,7±3,20	4,5±2,93	2,2±1,79	102,0±56,74	4,2±2,16	1,7±0,86	12,8±1,23	8,8±1,13^{abc}
k-Zadar	23,8±11,22	4,5±0,62	10,3±2,41	3,4±1,24	1,3±0,65	76,2±30,04	1,7±0,42	0,7±0,17	11,5±1,44	8,4±1,23^{bc}
U-Poreč	35,0±10,87	6,7±0,73	15,3±5,53	7,0±3,47	3,2±1,82	200,8±76,91	4,3±0,87	1,7±0,35	12,9±1,30	9,3±1,17^{ab}
U-Zadar	26,5±10,51	5,5±0,82	12,2±2,74	4,4±1,28	1,6±0,60	99,8±31,23	2,8±0,69	1,1±0,28	11,4±1,48	8,3±1,28^{bc}
KE1-Poreč	31,8±14,02	5,7±0,70	13,2±3,68	5,0±3,36	3,1±2,39	144,8±57,87	4,2±1,66	1,7±0,66	12,4±1,28	8,9±1,02^{abc}
KE1-Zadar	24,3±8,11	4,9±0,69	11,5±2,64	3,6±1,30	1,5±0,88	76,2±29,82	1,7±0,54	0,7±0,22	11,2±1,43	8,4±1,19^{bc}
KE2-Poreč	33,1±8,26	5,4±0,84	11,7±3,23	4,4±2,51	2,3±1,60	116,7±48,22	4,1±1,65	1,6±0,66	12,5±1,25	9,9±10,50^{a}
KE2-Zadar	25,9±10,88	5,0±1,33	11,1±4,12	3,6±1,60	1,6±1,04	80,6±40,01	1,6±0,62	0,6±0,25	11,2±1,49	8,2±1,36^{c}
KE3-Poreč	26,4±11,97	5,5±1,06	11,1±5,01	4,1±3,98	2,7±3,01	110,6±91,41	4,0±1,28	1,6±0,51	12,5±1,37	8,9±1,09^{abc}
KE3-Zadar	24,0±9,91	5,3±0,74	12,2±4,29	4,4±2,54	1,6±1,11	99,2±59,55	1,7±0,34	0,6±0,13	11,2±1,60	8,2±1,37^{bc}
DE1-Poreč	31,8±8,36	5,7±0,91	11,4±4,59	4,5±3,15	3,1±2,61	127,0±57,38	4,3±1,60	1,7±0,64	12,8±1,25	9,0±1,02^{abc}
DE1-Zadar	26,1±9,87	5,0±0,84	11,2±2,74	3,5±1,17	1,4±0,83	77,5±28,32	1,8±0,41	0,7±0,16	11,1±1,38	8,2±1,11^{bc}
DE2-Poreč	37,5±10,86	5,8±0,73	10,8±3,12	4,7±2,93	2,7±1,96	141,1±70,00	3,6±1,69	1,4±0,68	12,9±1,42	8,9±1,04^{abc}
DE2-Zadar	27,3±7,64	5,3±0,72	13,0±3,92	4,5±2,00	1,8±0,98	96,8±47,15	2,0±0,60	0,8±0,24	11,2±1,44	8,2±1,24^{bc}
DE3-Poreč	39,0±13,67	5,7±1,06	10,9±2,55	4,5±2,45	2,7±1,73	135,8±48,62	4,0±1,39	1,6±0,56	12,6±1,29	8,9±1,11^{abc}
DE3-Zadar	23,7±8,95	4,7±0,60	10,9±2,96	3,5±1,16	1,3±0,61	75,1±27,84	1,9±0,57	0,8±0,23	11,3±1,44	8,3±1,22^{bc}
Tretman x Rok										
k proljeće	20,8±7,85	4,9±0,52	10,0±2,62	2,8±1,22	0,9±0,42	60,8±20,92	3,6±2,47	1,5±0,99	12,3±1,32	9,0±0,90
k jesen	34,9±6,55	5,0±1,13	10,0±3,07	5,0±2,62	2,6±1,56	112,3±48,78	2,0±0,44	0,8±0,18	11,9±1,65	8,1±1,36
U proljeće	21,3±7,41	6,1±1,15	12,9±4,01	4,5±1,91	1,3±0,72	136,3±88,69	4,0±1,15	1,6±0,46	12,4±1,29	9,2±0,91
U jesen	39,8±5,21	6,2±0,81	14,6±5,12	7,0±3,25	3,4±1,44	167,6±67,45	3,0±0,76	1,2±0,30	11,6±1,80	8,3±1,55
KE1 proljeće	18,8±6,89	5,0±0,81	12,4±2,32	2,8±1,42	0,9±0,48	89,0±48,86	3,4±2,23	1,4±0,89	12,1±1,32	9,0±0,85
KE1 jesen	36,8±8,56	5,6±0,71	12,4±4,06	5,7±2,79	3,6±1,90	133,2±60,15	2,2±0,47	0,9±0,19	11,3±1,55	8,2±1,30
KE2 proljeće	22,2±8,37	5,1±1,08	11,3±3,65	2,8±1,33	1,0±0,52	74,1±33,61	3,4±2,14	1,3±0,86	12,1±1,31	9,1±1,01

KE2 jesen	36,4±5,75	5,3±1,14	11,5±3,72	5,1±2,09	2,8±1,32	122,6±46,94	1,9±0,84	0,9±0,34	11,3±1,69	8,8±10,63
KE3 proljeće	15,4±4,53	4,9±0,41	10,0±2,71	2,4±1,15	0,7±0,32	63,0±21,45	3,3±1,87	1,3±0,75	12,1±1,43	8,9±0,86
KE3 jesen	34,2±5,62	5,9±0,99	13,1±5,54	5,9±3,74	3,5±2,56	143,5±88,38	2,0±0,54	0,9±0,21	11,3±1,79	8,0±1,58
DE1 proljeće	20,6±4,53	4,9±0,71	9,6±2,88	2,4±1,12	0,8±0,31	72,1±25,64	3,6±2,15	1,4±0,86	12,0±1,40	8,9±0,90
DE1 jesen	36,8±4,43	5,8±0,95	12,8±3,87	5,4±2,41	3,7±2,11	131,9±53,24	2,1±0,47	0,9±0,19	11,6±1,71	8,1±1,27
DE2 proljeće	24,9±5,78	5,2±0,61	12,0±3,27	3,2±1,50	1,1±0,35	95,4±54,59	3,3±1,73	1,3±0,69	12,1±1,41	9,0±0,76
DE2 jesen	39,7±8,93	5,8±0,81	11,7±4,05	6,0±2,46	3,4±1,47	142,4±63,96	1,9±0,72	0,8±0,29	11,7±1,94	8,0±1,45
DE3 proljeće	22,4±6,21	5,1±0,56	10,2±2,04	2,8±0,94	1,0±0,35	86,9±43,02	3,4±1,79	1,4±0,72	12,0±1,12	8,9±0,69
DE3 jesen	40,1±13,51	5,3±0,90	11,5±3,11	5,1±2,06	3,0±1,49	124,0±50,69	2,6±0,84	1,0±0,34	11,6±1,86	8,2±1,57
Tretman x Lokacija x Rok										
k-Poreč proljeće	27,2±3,70	5,1±0,37	9,4±2,51	2,4±1,27	1,0±0,46	56,3±18,52	5,8±1,04^{a}	2,3±0,42^{a}	12,8±1,05	9,0±0,73
k-Poreč jesen	36,3±6,86	5,5±1,20	10,0±3,90	6,2±2,88	3,3±1,82	132,4±52,98	2,1±0,57^{cde}	0,8±0,23^{cde}	12,8±1,50	8,5±1,57
k-Zadar proljeće	14,5±4,88	4,7±0,63	10,6±2,88	3,2±1,17	0,8±0,42	64,3±24,12	1,4±0,23^{e}	0,6±0,09^{e}	11,7±1,35	8,9±1,04
k-Zadar jesen	33,2±6,45	4,3±0,58	10,0±2,12	3,5±1,42	1,7±0,49	88,1±33,12	2,0±0,40^{de}	0,8±0,16^{de}	11,4±1,50	7,9±1,18
U-Poreč proljeće	25,4±7,60	6,6±0,98	14,0±4,36	5,2±2,16	1,5±0,98	195,4±90,32	4,8±0,65^{ab}	1,9±0,26^{ab}	12,9±1,00	9,2±0,71
U-Poreč jesen	43,0±4,60	6,8±0,53	16,3±6,56	8,6±3,77	4,5±0,99	205,3±72,45	3,6±0,64^{bc}	1,4±0,25^{bc}	12,8±1,74	9,4±1,72
U-Zadar proljeće	17,2±4,86	5,5±1,13	11,8±3,77	3,7±1,45	1,1±0,33	77,2±28,54	3,1±0,82^{cd}	1,2±0,33^{cd}	11,9±1,34	9,1±1,07
U-Zadar jesen	35,9±2,58	5,5±0,49	12,6±1,52	5,1±0,63	2,1±0,30	122,3±10,51	2,6±0,54^{cde}	1,0±0,22^{cde}	10,9±1,46	7,7±1,06
KE1-Poreč proljeće	19,8±8,32	5,4±0,85	12,6±1,52	2,5±1,59	0,9±0,55	116,0±50,82	5,5±0,58^{a}	2,2±0,23^{a}	12,6±1,00	8,9±0,68
KE1-Poreč jesen	41,8±8,54	6,0±0,44	13,7±4,97	7,1±2,98	4,9±1,50	168,9±55,74	2,5±0,44^{cde}	1,0±0,18^{cde}	12,0±1,62	8,8±1,45
KE1-Zadar proljeće	17,9±5,93	4,7±0,66	12,2±3,11	2,9±1,29	0,9±0,46	61,9±23,13	1,4±0,45^{e}	0,6±0,18^{e}	11,6±1,42	9,0±1,00
KE1-Zadar jesen	30,8±2,91	5,1±0,71	10,8±2,17	4,4±1,34	2,1±0,81	90,4±31,00	2,0±0,45^{cde}	0,8±0,18^{cde}	10,9±1,36	7,8±1,08
KE2-Poreč proljeće	27,0±6,08	5,2±0,78	11,8±2,17	2,7±1,17	1,0±0,41	89,7±26,89	5,3±0,91^{a}	2,1±0,36^{a}	12,6±1,14	9,2±1,02
KE2-Poreč jesen	38,2±6,24	5,5±0,91	11,7±4,13	5,8±2,49	3,3±1,49	139,2±52,30	2,5±0,73^{cde}	1,0±0,29^{cde}	12,5±1,45	11,3±17,50
KE2-Zadar proljeće	17,4±7,94	5,0±1,41	10,8±4,97	2,9±1,61	1,0±0,66	58,5±34,76	1,4±0,22^{e}	0,6±0,09^{e}	11,7±1,34	9,0±1,00
KE2-Zadar jesen	34,4±4,90	5,0±1,40	11,4±3,65	4,4±1,36	2,3±0,94	102,6±34,30	1,8±0,87^{de}	0,7±0,35^{de}	10,6±1,44	7,3±1,17
KE3-Poreč proljeće	15,6±5,98	4,8±0,47	9,8±3,11	1,6±0,97	0,6±0,33	62,5±28,98	5,0±0,66^{ab}	2,0±0,26^{ab}	12,7±1,22	8,9±0,69

KE3-Poreč jesen	35,3±6,74	6,1±1,10	12,2±6,27	6,1±4,44	4,4±3,15	150,7±108,64	2,8±0,26^{cde}	1,1±0,10^{cde}	12,2±1,58	8,9±1,57
KE3-Zadar proljeće	15,2±3,20	5,0±0,38	10,2±2,59	3,2±0,66	0,9±0,25	63,5±13,97	1,6±0,22^{de}	0,6±0,09^{de}	11,5±1,40	8,9±1,00
KE3-Zadar jesen	32,7±4,19	5,6±0,91	14,2±4,97	5,7±3,19	2,4±1,11	134,8±67,83	1,9±0,36^{de}	0,8±0,14^{de}	10,9±1,72	7,5±1,32
DE1-Poreč proljeće	23,6±4,28	5,1±0,69	8,2±2,28	1,7±0,68	0,7±0,29	83,7±27,58	5,5±0,46^{a}	2,2±0,18^{a}	12,9±0,95	9,3±0,70
DE1-Poreč jesen	38,7±1,21	6,2±0,72	14,0±4,43	6,7±2,42	5,1±1,74	163,0±50,50	2,6±0,16^{cde}	1,0±0,06^{cde}	12,5±1,62	8,6±1,35
DE1-Zadar proljeće	17,7±2,43	4,8±0,78	11,0±2,92	3,1±1,11	0,8±0,34	60,5±19,58	1,6±0,33^{de}	0,6±0,13^{de}	11,1±1,18	8,6±0,95
DE1-Zadar jesen	34,5±5,96	5,2±0,94	11,4±2,88	3,8±1,20	2,0±0,79	94,5±26,45	2,0±0,43^{de}	0,8±0,17^{de}	11,2±1,57	7,8±1,14
DE2-Poreč proljeće	29,2±4,66	5,2±0,31	10,6±2,70	2,5±0,67	1,0±0,33	116,6±66,84	4,8±1,06^{ab}	1,9±0,43^{ab}	13,0±1,12	9,1±0,69
DE2-Poreč jesen	44,3±9,67	6,3±0,64	11,0±3,69	6,7±2,68	4,1±1,44	161,5±71,59	2,0±0,62^{cde}	0,8±0,25^{cde}	12,8±1,85	8,7±1,45
DE2-Zadar proljeće	20,5±2,52	5,3±0,87	13,4±3,44	3,9±1,84	1,2±0,37	74,1±33,32	1,8±0,19^{de}	0,7±0,08^{de}	11,2±1,09	8,8±0,82
DE2-Zadar jesen	34,1±3,23	5,2±0,66	12,6±4,72	5,1±2,14	2,5±0,98	119,4±51,09	2,1±0,88^{cde}	0,8±0,35^{cde}	11,1±1,72	7,6±1,30
DE3-Poreč proljeće	26,4±4,45	5,3±0,37	9,0±2,00	2,2±0,59	0,9±0,31	108,4±52,23	5,0±0,69^{ab}	2,0±0,28^{ab}	12,6±0,87	9,0±0,55
DE3-Poreč jesen	49,5±8,17	6,0±0,26	12,5±1,76	6,5±1,26	4,1±0,55	163,2±26,68	2,8±0,89^{cde}	1,1±0,35^{cde}	12,5±1,82	8,9±1,72
DE3-Zadar proljeće	18,5±5,26	4,9±0,70	11,4±1,34	3,3±0,88	1,0±0,42	65,5±16,98	1,8±0,12^{de}	0,7±0,05^{de}	11,5±1,09	8,8±0,81
DE3-Zadar jesen	28,9±9,17	4,4±0,39	10,4±4,16	3,4±1,50	1,5±0,69	84,7±34,99	2,1±0,81^{cde}	0,9±0,33^{cde}	11,1±1,69	7,6±1,34

k – kontrola; **U** – urea; **KE** – kratki ekstrakt koprive; **DE**- dugi ekstrakt koprive; **1,2,3** – broj primjena u toku vegetacije - jedna, dvije,tri; **T** – tretman; **L** – lokacija; **R** – rok; Srednje vrijednosti s različitim slovima u stupcu signifikantno se razlikuju po Tukey testu,; ******* Signifikantno pri **p ≤ 0,001**; ****** Signifikantno pri **p ≤ 0,01**; ***** Signifikantno pri **p ≤ 0,05**; **NS nije signifikantno.** Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost ± standardna devijacija.

Prilog 2. Kemijske analize suhe herbe graha mahunara

Faktori	Ukupni fenoli mg GAEQ/ 1 g st	Antioksidacijska-DPPH metoda mmol TE/1 g st	Antioksidacijska-FRAP metoda mmol Fe^{2+}/1g st
Lokacija			
Poreč	16,02±3,68[a]	35,81±10,82[a]	902,70±212,36[a]
Zadar	9,75±2,92[b]	16,07±9,56[b]	536,77±181,31[b]
Rok			
Proljeće	10,59±3,40[b]	20,67±12,69[b]	574,47±211,24[b]
Jesen	15,04±4,58[a]	30,54±14,11[a]	854,74±247,06[a]
Tretman			
k	13,67±4,82[a]	26,48±16,44	755,79±282,50[a]
U	11,80±3,82[b]	21,28±14,07	645,35±226,09[b]
KE1	12,11±4,09[b]	24,54±11,74	661,81±240,60[b]
KE2	12,16±5,20[b]	24,60±12,68	668,06±272,74[b]
KE3	12,16±4,04[b]	23,86±13,89	668,15±209,58[b]
DE1	12,79±5,53[ab]	27,66±17,25	722,08±345,65[ab]
DE2	13,75±5,11[a]	28,87±14,27	767,69±301,03[a]
DE3	12,90±4,36[ab]	25,85±14,33	753,19±273,29[a]
Lokacija x Rok			
P-proljeće	13,56±1,30	31,05±6,67	763,95±95,26
P-jesen	19,38±3,11	42,44±11,85	1081,92±185,97
Z-proljeće	7,72±2,02	10,47±8,00	388,78±95,49
Z-jesen	11,79±2,14	21,63±7,59	684,36±112,76

Tretman x Lokacija			
k-Poreč	17,18±3,53	38,58±14,52	976,03±186,64[a]
k-Zadar	10,60±3,56	15,89±9,21	563,10±197,02[b]
U-Poreč	15,07±2,20	33,22±8,37	823,19±151,71[a]
U-Zadar	8,94±2,24	10,83±8,27	489,74±152,33[b]
KE1-Poreč	15,16±2,07	33,64±6,25	835,33±119,81[a]
KE1-Zadar	9,46±3,52	16,58±9,34	509,98±216,84[b]
KE2-Poreč	15,82±5,01	32,30±11,80	851,84±258,33[a]
KE2-Zadar	9,86±3,59	18,00±9,77	534,95±203,22[b]
KE3-Poreč	14,99±3,92	33,42±13,03	808,95±167,34[a]
KE3-Zadar	9,70±2,13	15,50±8,29	544,96±163,33[b]
DE1-Poreč	17,07±3,95	41,53±10,08	994,18±262,78a
DE1-Zadar	9,05±3,68	15,53±12,14	484,00±202,32[b]
DE2-Poreč	17,65±4,68	40,33±10,12	1004,45±245,36[a]
DE2-Zadar	10,35±2,28	18,83±8,55	560,53±156,62[b]
DE3-Poreč	15,82±4,17	34,61±11,77	920,37±258,49[a]
DE3-Zadar	10,36±2,68	18,19±12,17	606,92±199,25[b]
Tretman x Rok			
k proljeće	11,68±3,53[cde]	20,78±11,95	635,97±229,26[cdef]
k jesen	15,93±5,34[ab]	32,99±19,27	892,74±289,61[ab]
U proljeće	11,27±3,86[cde]	20,04±15,53	578,84±238,20[def]
U jesen	12,40±4,00[bcde]	22,70±13,27	721,36±201,09[bcde]
KE1 proljeće	10,49±4,06[de]	24,17±12,79	571,33±257,77[def]
KE1 jesen	13,96±3,50[abcd]	24,96±11,43	765,21±184,84[abcd]

KE2 proljeće	8,87±3,15^{e}	18,23±9,13	485,35±171,38^{f}
KE2 jesen	15,55±4,76^{ab}	30,06±13,30	856,17±227,13^{ab}
KE3 proljeće	10,26±2,58^{de}	17,04±10,22	553,94±170,27^{ef}
KE3 jesen	14,34±4,47^{abc}	31,65±13,97	798,69±177,20^{abc}
DE1 proljeće	9,96±4,30^{e}	21,67±16,29	548,42±264,31^{ef}
DE1 jesen	16,02±5,19^{ab}	34,50±16,80	920,55±333,31^{ab}
DE2 proljeće	11,23±3,22^{cde}	24,76±14,50	616,95±218,40^{cdef}
DE2 jesen	16,64±5,54^{a}	33,56±13,48	939,98±301,43^{a}
DE3 proljeće	10,65±2,94^{cde}	18,75±12,52	586,91±178,73^{def}
DE3 jesen	15,47±4,45^{ab}	33,97±12,33	943,24±240,81^{a}
	Tretman x Lokacija x Rok		
k-Poreč proljeće	14,88±0,55	29,96±10,12	840,91±87,86
k-Poreč jesen	20,25±3,50	50,08±11,50	1156,18±87,92
k-Zadar proljeće	8,50±1,26	11,60±2,44	431,04±54,09
k-Zadar jesen	12,70±4,03	20,18±11,96	695,16±202,83
U-Poreč proljeće	14,16±1,51	32,27±6,65	759,75±140,99
U-Poreč jesen	16,29±2,70	34,50±11,81	907,77±143,00
U-Zadar proljeće	8,38±3,18	7,81±10,94	397,92±158,83
U-Zadar jesen	9,50±0,89	13,84±3,95	581,56±80,21
KE1-Poreč proljeće	13,93±0,63	33,75±1,81	794,32±77,84
KE1-Poreč jesen	16,80±2,28	33,49±10,60	890,01±161,64
KE1-Zadar proljeće	7,07±2,60	14,60±11,57	348,35±128,01
KE1-Zadar jesen	11,85±2,65	18,56±7,69	671,61±153,81
KE2-Poreč proljeće	11,43±1,45	24,63±5,87	630,39±109,74
KE2-Poreč jesen	20,20±1,74	39,97±11,72	1073,28±87,66
KE2-Zadar proljeće	6,91±2,65	11,83±7,17	368,20±117,90

KE2-Zadar jesen	12,07±2,36	22,62±9,50	693,34±124,75
KE3-Poreč proljeće	12,35±0,57	25,49±5,28	699,24±40,87
KE3-Poreč jesen	18,50±3,65	43,99±13,20	955,24±159,16
KE3-Zadar proljeće	8,17±1,88	8,59±5,02	408,65±98,40
KE3-Zadar jesen	11,23±0,88	22,40±2,84	681,27±54,92
DE1-Poreč proljeće	13,92±0,38	34,19±4,63	791,74±59,18
DE1-Poreč jesen	21,26±0,66	51,31±4,60	1264,10±103,23
DE1-Zadar proljeće	6,00±1,12	9,16±13,43	305,10±40,43
DE1-Zadar jesen	12,10±2,35	21,89±7,45	662,89±92,41
DE2-Poreč proljeće	14,05±1,28	36,30±8,04	814,94±67,83
DE2-Poreč jesen	22,44±1,66	45,71±11,60	1257,13±78,17
DE2-Zadar proljeće	8,41±1,17	13,21±8,40	418,95±46,42
DE2-Zadar jesen	12,30±0,82	24,45±3,96	702,12±40,32
DE3-Poreč proljeće	13,19±0,55	30,23±3,31	746,92±42,70
DE3-Poreč jesen	19,32±4,43	40,46±17,60	1151,63±239,41
DE3-Zadar proljeće	8,13±1,67	7,27±1,85	426,89±66,61
DE3-Zadar jesen	12,59±0,85	29,11±4,92	786,95±42,08

k – kontrola; **U** – urea; **KE** – kratki ekstrakt koprive; **DE** - dugi ekstrakt koprive; **1,2,3** – broj primjena u toku vegetacije - jedna, dvije,tri; **T** – tretman; **L** – lokacija; **R** – rok; Srednje vrijednosti s različitim slovima u stupcu signifikantno se razlikuju po Tukey testu,; ******* Signifikantno pri **p ≤ 0,001**; ****** Signifikantno pri **p ≤ 0,01**; ***** Signifikantno pri **p ≤ 0,05**; **NS nije signifikantno.** Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost ± standardna devijacija.

Prilog 3. Ukupni dušik i mineralni sastav nadzemnog dijela biljke graha mahunara

Faktori	Ukupni dušik	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Zn	Mn	Cu
	%N	g/kg	g/kg	g/kg	g/kg	g/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
Lokacija										
Poreč	3,31±0,38	3,22±0,35^{a}	13,40±1,73^{a}	29,11±3,21^{b}	2,63±0,56^{b}	1,81±0,29^{a}	160,82±81,46^{b}	20,89±6,00	37,61±6,40^{a}	7,38±1,80
Zadar	2,83±0,57	2,48±0,82^{b}	9,73±2,17^{b}	33,05±5,36^{a}	4,34±0,99^{a}	1,69±0,25^{b}	280,69±162,67^{a}	20,78±4,96	31,75±9,14^{b}	7,31±1,69
Rok										
Proljeće	2,75±0,49	2,55±0,29^{b}	11,87±2,34	31,27±5,76	3,10±1,06^{b}	1,66±0,25^{b}	184,42±113,11^{b}	20,47±5,20	29,85±6,62^{b}	7,31±1,66
Jesen	3,41±0,35	3,13±0,91^{a}	10,92±2,99	31,14±3,74	4,06±1,12^{a}	1,84±0,27^{a}	271,27±161,45^{a}	21,24±5,73	39,64±7,31^{a}	7,36±1,84
Tretman										
k	3,03±0,54^{b}	2,98±0,54	11,58±2,33	29,13±3,45	3,27±1,01^{b}	1,67±0,15	212,30±134,72^{ab}	21,51±5,30	33,01±8,62^{ab}	7,58±1,70
U	3,52±0,53^{a}	2,72±0,87	11,68±3,13	32,86±7,82	4,14±1,55^{a}	1,86±0,32	161,15±45,98^{b}	21,63±7,59	36,58±10,45^{ab}	7,54±2,01
KE1	3,02±0,54^{b}	2,83±0,76	10,78±2,60	32,00±3,74	3,67±1,19^{ab}	1,73±0,30	207,37±121,01^{ab}	22,11±6,62	34,25±8,79^{ab}	7,40±1,79
KE2	3,02±0,59^{b}	2,87±0,72	11,01±2,68	32,00±4,87	3,46±1,05^{ab}	1,75±0,35	241,71±97,13^{ab}	20,41±5,79	33,54±7,24^{ab}	7,50±1,89
KE3	2,96±0,51^{b}	2,77±0,67	11,56±3,10	29,99±4,52	3,39±1,09^{b}	1,63±0,24	256,58±239,46^{ab}	19,68±3,52	34,45±10,70^{ab}	7,34±1,56
DE1	3,13±0,39^{b}	2,85±0,81	12,28±3,11	30,65±3,84	3,48±1,19^{ab}	1,83±0,28	195,39±91,88^{ab}	20,52±4,30	33,90±9,29^{ab}	7,51±1,84
DE2	2,84±0,54^{b}	2,79±0,80	11,32±2,04	30,92±5,39	3,40±1,07^{b}	1,70±0,22	209,73±144,15^{ab}	21,18±5,76	31,48±6,51^{b}	7,28±1,83
DE3	2,91±0,54^{b}	2,75±0,64	11,20±2,74	32,15±4,04	3,59±1,30^{ab}	1,79±0,24	319,16±167,01^{a}	19,60±4,26	38,40±4,43^{a}	6,60±1,44
Lokacija × rok										
P-proljeće	3,12±0,22^{b}	2,55±0,22^{b}	13,05±1,85^{a}	29,43±3,27	2,26±0,23	1,71±0,23	128,32±28,93	16,94±1,81^{b}	33,72±3,34	6,01±0,52^{b}
P-jesen	3,56±0,41^{a}	4,09±0,37^{a}	13,85±1,49^{a}	28,71±3,15	3,11±0,49	1,94±0,30	205,07±104,23	26,17±5,49^{a}	42,63±5,92	9,14±1,24^{a}
Z-proljeće	2,37±0,39^{c}	2,55±0,34^{b}	10,75±2,22^{b}	33,12±7,00	3,91±0,90	1,61±0,25	240,46±134,86	24,01±5,04^{a}	26,10±6,88	8,61±1,34^{a}
Z-jesen	3,29±0,26^{b}	2,42±0,34^{b}	8,72±1,58^{c}	32,97±3,07	4,78±0,89	1,77±0,21	320,92±179,58	17,54±1,71^{b}	37,41±7,53	6,02±0,74^{b}
Tretman x Lokacija										
k-Poreč	3,30±0,26	3,19±0,73^{ab}	13,19±1,13	27,39±2,87	2,52±0,29	1,65±0,15	136,51±47,86	20,03±4,66	35,98±4,03^{abc}	7,09±1,65

k-Zadar	2,80±0,63	2,80±0,20^{abcd}	10,17±2,22	30,65±3,32	3,92±0,96	1,68±0,16	278,62±153,51	22,80±5,79	30,41±10,86^{bc}	8,01±1,73
U-Poreč	3,75±0,51	3,30±0,88^{a}	13,68±1,30	30,66±3,22	3,05±0,96	2,03±0,33	152,09±46,35	23,14±10,11	43,25±10,33^{a}	7,74±2,13
U-Zadar	3,33±0,49	2,21±0,46^{e}	9,92±3,26	34,79±10,21	5,10±1,33	1,72±0,26	169,08±47,25	20,30±4,82	30,74±6,61^{bc}	7,36±2,02
KE1-Poreč	3,34±0,31	3,33±0,81^{a}	12,76±1,69	30,24±1,87	2,78±0,50	1,84±0,36	160,03±77,81	21,61±5,39	38,24±6,69^{abc}	7,47±1,92
KE1-Zadar	2,74±0,55	2,39±0,35^{de}	9,04±1,94	33,54±4,38	4,44±1,07	1,63±0,21	248,80±141,05	22,54±7,90	30,76±9,30^{bc}	7,34±1,80
KE2-Poreč	3,39±0,46	3,21±1,02^{ab}	13,15±2,39	29,25±2,42	2,48±0,34	1,90±0,40	224,52±92,75	21,62±6,92	38,86±6,01^{abc}	7,58±2,31
KE2-Zadar	2,70±0,50	2,70±0,30^{bcde}	9,37±1,50	34,40±5,16	4,17±0,80	1,61±0,25	254,61±104,56	19,99±5,17	29,55±5,41^{c}	7,44±1,67
KE3-Poreč	3,17±0,30	3,15±0,80^{ab}	13,79±2,61	28,14±5,40	2,58±0,71	1,67±0,24	153,67±78,37	19,67±4,49	35,64±4,55^{abc}	6,95±1,46
KE3-Zadar	2,76±0,59	2,44±0,29^{de}	9,61±2,01	31,62±3,07	4,11±0,83	1,61±0,25	346,62±299,28	19,69±2,75	33,40±14,45^{bc}	7,69±1,66
DE1-Poreč	3,35±0,31	3,33±0,95^{a}	14,29±1,34	28,53±2,97	2,59±0,50	1,84±0,22	132,63±14,34	20,39±4,97	37,54±6,15^{abc}	7,60±1,90
DE1-Zadar	2,94±0,35	2,43±0,34^{de}	10,52±3,20	32,50±3,68	4,27±1,04	1,82±0,34	250,31±96,56	20,64±3,98	30,72±10,74^{bc}	7,43±1,91
DE2-Poreč	3,04±0,31	3,27±0,96^{ab}	12,55±1,76	28,27±2,51	2,54±0,42	1,72±0,22	121,57±30,15	21,47±6,34	33,63±4,23^{bc}	7,37±2,03
DE2-Zadar	2,68±0,65	2,37±0,20^{de}	10,25±1,68	33,24±6,29	4,16±0,86	1,69±0,23	286,87±161,89	20,93±5,64	29,61±7,80^{c}	7,20±1,78
DE3-Poreč	3,14±0,23	3,01±0,83^{abc}	13,75±1,43	30,47±3,03	2,45±0,50	1,80±0,24	214,65±154,30	19,89±5,86	37,90±5,44^{abc}	7,22±1,85
DE3-Zadar	2,72±0,67	2,51±0,31^{cde}	8,97±1,04	33,62±4,41	4,58±0,87	1,78±0,26	410,61±122,05	19,69±2,70	38,83±3,66^{ab}	6,06±0,72
				Tretman x Rok						
k proljeće	2,74±0,58	2,72±0,19	12,41±1,51	28,63±3,23	2,81±0,64	1,66±0,18	159,65±57,81	22,23±6,41	27,99±7,79	7,67±1,96
k jesen	3,37±0,20	3,29±0,66	10,63±2,84	29,70±3,85	3,79±1,14	1,68±0,13	272,48±174,73	20,69±4,02	38,74±5,51	7,48±1,50
U proljeće	3,23±0,41	2,52±0,46	12,65±2,85	32,04±10,54	3,29±1,26	1,88±0,23	134,57±45,14	20,15±4,96	33,48±6,09	7,61±1,81
U jesen	3,87±0,44	2,95±1,18	10,57±3,27	33,80±3,34	5,11±1,30	1,85±0,43	191,53±23,18	23,31±9,97	40,12±13,58	7,45±2,36
KE1 proljeće	2,71±0,54	2,60±0,22	11,25±2,39	30,62±3,02	3,08±0,99	1,57±0,17	179,69±106,45	23,27±7,27	28,28±6,52	7,37±1,67
KE1 jesen	3,37±0,27	3,08±1,07	10,23±2,92	33,58±4,07	4,34±1,09	1,91±0,31	239,01±136,97	20,78±6,07	41,08±5,39	7,43±2,05
KE2 proljeće	2,69±0,41	2,60±0,36	10,46±1,30	34,65±5,65	3,40±1,29	1,55±0,27	228,33±105,87	20,50±5,36	29,17±5,46	7,60±1,72
KE2 jesen	3,40±0,55	3,23±0,88	11,63±3,59	29,72±2,28	3,52±0,84	1,97±0,29	255,10±93,89	20,87±6,62	37,92±6,26	7,41±2,18
KE3 proljeće	2,70±0,52	2,50±0,30	12,72±2,70	28,76±5,63	2,79±0,79	1,55±0,27	144,17±38,89	18,88±3,50	28,57±7,08	7,34±1,91
KE3 jesen	3,24±0,33	3,08±0,86	10,23±3,17	31,41±2,52	4,09±0,99	1,73±0,17	385,04±309,74	20,59±3,59	41,16±10,50	7,35±1,19
DE1 proljeće	2,89±0,30	2,52±0,24	12,83±2,47	30,51±3,74	3,09±1,15	1,73±0,23	157,18±54,68	20,38±4,15	27,66±7,14	7,67±1,70

DE1 jesen	3,40±0,29	3,23±1,07	11,65±3,82	30,80±4,25	3,94±1,13	1,94±0,30	239,06±109,72	20,68±4,81	41,04±5,52	7,33±2,10
DE2 proljeće	2,47±0,46	2,47±0,24	11,25±1,59	32,96±6,33	3,05±1,09	1,61±0,26	188,83±163,51	20,61±5,91	27,14±4,03	7,28±1,71
DE2 jesen	3,28±0,14	3,15±1,05	11,41±2,59	28,59±3,05	3,80±0,96	1,80±0,11	233,61±126,68	21,84±5,98	36,45±5,11	7,27±2,10
DE3 proljeće	2,54±0,47	2,47±0,23	11,38±2,92	32,68±3,98	3,31±1,41	1,73±0,26	288,38±187,58	18,26±3,24	36,43±4,14	6,15±0,61
DE3 jesen	3,34±0,16	3,06±0,82	10,99±2,74	31,55±4,34	3,90±1,19	1,85±0,23	354,34±146,01	21,14±5,06	40,64±3,83	7,12±1,96
Tretman x Lokacija x Rok										
k-Poreč proljeće	3,23±0,21^{bcde}	2,65±0,25	13,18±1,56	28,38±3,56	2,35±0,25	1,71±0,18	114,67±8,25	17,02±1,85	34,14±4,46^{bcdefg}	6,00±0,76
k-Poreč jesen	3,40±0,33^{abcde}	3,91±0,36	13,21±0,45	26,07±1,07	2,75±0,15	1,58±0,07	165,62±67,41	24,06±4,20	38,42±1,74^{abcd}	8,56±1,31
k-Zadar proljeće	2,25±0,33^{gh}	2,79±0,07	11,64±1,15	28,88±3,40	3,28±0,58	1,61±0,18	204,62±48,33	27,44±4,49	21,83±4,65^{g}	9,34±0,96
k-Zadar jesen	3,35±0,09^{bcde}	2,81±0,29	8,70±2,09	32,43±2,40	4,57±0,84	1,75±0,13	352,62±195,06	18,16±0,83	38,98±7,65^{abc}	6,68±1,15
U-Poreč proljeće	3,44±0,09^{abcd}	2,67±0,15	13,84±0,93	29,07±2,77	2,32±0,23	1,87±0,30	116,60±17,21	17,35±2,21	35,84±4,35^{bcdef}	6,30±0,66
U-Poreč jesen	4,15±0,58^{a}	4,14±0,65	13,48±1,91	32,77±2,80	4,01±0,47	2,23±0,29	199,41±11,13	30,87±11,95	53,15±5,89^{a}	9,66±1,81
U-Zadar proljeće	3,01±0,51^{cdef}	2,38±0,64	11,45±3,79	35,01±15,10	4,26±1,08	1,88±0,17	152,54±59,97	22,96±5,62	31,13±7,27^{bcdefg}	8,92±1,63
U-Zadar jesen	3,65±0,17^{abc}	2,05±0,09	8,38±2,03	34,57±3,90	5,93±1,06	1,57±0,24	185,62±29,72	17,64±1,92	30,35±6,97^{bcdefg}	5,80±0,61
KE1-Poreč proljeće	3,18±0,25^{bcde}	2,70±0,06	12,62±2,24	30,81±1,72	2,40±0,18	1,66±0,16	130,87±14,80	18,56±2,64	34,03±2,66^{bcdefg}	6,10±0,26
KE1-Poreč jesen	3,54±0,29^{abcd}	4,16±0,38	12,94±0,95	29,47±2,12	3,28±0,17	2,08±0,45	198,90±117,71	25,68±5,75	43,85±6,40^{ab}	9,30±1,44
KE1-Zadar proljeće	2,24±0,16^{h}	2,50±0,29	9,87±1,82	30,42±4,26	3,76±1,01	1,48±0,15	228,51±140,94	27,98±7,55	22,53±1,96^{fg}	8,65±1,44
KE1-Zadar jesen	3,23±0,18^{bcde}	2,27±0,40	8,20±1,89	36,66±0,80	5,13±0,64	1,79±0,12	269,09±159,56	17,10±3,11	39,00±4,15^{abc}	6,03±0,93
KE2-Poreč proljeće	3,07±0,11^{bcde}	2,30±0,11	11,19±0,92	29,40±1,49	2,26±0,14	1,71±0,32	182,95±65,53	16,54±1,11	33,83±1,45^{bcdefg}	5,81±0,39
KE2-Poreč jesen	3,83±0,36^{ab}	4,11±0,39	15,12±1,35	29,05±3,51	2,78±0,26	2,16±0,38	266,09±109,66	26,70±6,41	43,89±3,51^{ab}	9,36±1,94
KE2-Zadar proljeće	2,32±0,12^{fgh}	2,83±0,31	9,74±1,27	38,59±3,76	4,25±1,03	1,40±0,13	262,37±126,29	23,47±5,41	25,67±4,50^{cdefg}	8,94±0,47
KE2-Zadar jesen	3,08±0,44^{bcde}	2,56±0,25	9,01±1,81	30,22±1,19	4,08±0,63	1,83±0,10	246,85±96,96	16,51±0,91	33,44±2,79^{bcdefg}	5,95±0,58
KE3-Poreč proljeće	3,13±0,14^{bcde}	2,55±0,28	14,28±2,88	27,28±7,35	2,11±0,20	1,65±0,28	114,00±19,38	16,39±1,45	32,74±3,40^{bcdefg}	5,85±0,42
KE3-Poreč jesen	3,24±0,48^{bcde}	3,95±0,37	13,14±2,62	29,28±1,72	3,21±0,64	1,68±0,24	206,57±102,54	24,05±2,62	39,51±2,33^{abc}	8,42±0,66
KE3-Zadar proljeće	2,28±0,36^{gh}	2,44±0,35	11,17±1,52	30,23±3,76	3,46±0,43	1,44±0,24	174,34±26,93	21,38±3,14	24,40±7,69^{defg}	8,83±1,54
KE3-Zadar jesen	3,25±0,25^{bcde}	2,43±0,28	8,05±0,80	33,00±1,66	4,75±0,57	1,77±0,12	518,90±359,33	17,99±0,39	42,39±14,56^{ab}	6,54±0,72
DE1-Poreč proljeće	3,14±0,13^{bcde}	2,58±0,09	13,51±0,88	29,69±3,40	2,30±0,39	1,73±0,23	124,00±10,34	16,72±1,61	33,90±3,57^{bcdefg}	6,13±0,67

DE1-Poreč jesen	3,64±0,22^{abc}	4,33±0,24	15,32±1,18	27,00±1,72	2,96±0,38	1,98±0,14	144,14±10,41	25,29±2,66	42,38±5,75^{ab}	9,56±0,27
DE1-Zadar proljeće	2,65±0,16^{efgh}	2,46±0,34	12,15±3,49	31,33±4,39	3,87±1,14	1,73±0,27	190,37±62,71	24,05±1,27	21,41±1,51^{g}	9,20±0,15
DE1-Zadar jesen	3,23±0,20^{bcde}	2,41±0,38	8,90±2,15	33,66±2,97	4,67±0,90	1,92±0,41	310,24±90,79	17,23±2,08	40,03±5,99^{ab}	5,65±0,23
DE2-Poreč proljeće	2,83±0,20^{defgh}	2,56±0,36	11,56±1,34	29,92±1,34	2,24±0,24	1,63±0,27	114,70±8,62	16,83±2,11	30,65±1,87^{bcdefg}	5,91±0,76
DE2-Poreč jesen	3,32±0,14^{bcde}	4,22±0,48	13,87±1,42	26,06±1,85	2,95±0,08	1,84±0,05	130,72±48,95	27,66±3,65	37,60±2,65^{abcde}	9,32±1,20
DE2-Zadar proljeće	2,12±0,36^{h}	2,38±0,13	10,93±1,97	35,99±8,19	3,87±0,97	1,60±0,29	262,97±218,30	24,38±6,25	23,63±1,26^{efg}	8,67±1,06
DE2-Zadar jesen	3,24±0,14^{bcde}	2,35±0,27	9,57±1,22	30,50±2,26	4,44±0,75	1,78±0,15	310,78±109,41	17,48±1,84	35,59±6,72^{bcdef}	5,73±0,70
DE3-Poreč proljeće	2,98±0,07^{cdefg}	2,36±0,08	13,74±2,01	30,87±1,20	2,10±0,17	1,68±0,26	128,79±20,71	16,05±2,64	34,67±3,91^{bcdefg}	5,96±0,31
DE3-Poreč jesen	3,36±0,14^{abcde}	3,89±0,23	13,76±0,33	29,94±4,96	2,91±0,36	1,96±0,10	329,14±190,73	25,02±5,57	42,21±4,13^{ab}	8,90±1,63
DE3-Zadar proljeće	2,11±0,11^{h}	2,59±0,29	9,03±1,01	34,49±5,17	4,51±0,85	1,78±0,28	447,97±117,29	20,46±3,08	38,20±4,06^{bc}	6,34±0,82
DE3-Zadar jesen	3,33±0,20^{bcde}	2,44±0,35	8,91±1,23	32,75±4,09	4,65±1,02	1,78±0,29	373,25±131,44	18,22±2,04	39,47±3,71^{abc}	5,78±0,57

k – kontrola; **U** – urea; **KE** – kratki ekstrakt koprive; **DE**- dugi ekstrakt koprive; **1,2,3** – broj primjena u toku vegetacije - jedna, dvije, tri; **T** – tretman; **L** – lokacija; **R** – rok; Srednje vrijednosti s različitim slovima u stupcu signifikantno se razlikuju po Tukey testu,; ******* Signifikantno pri **p ≤ 0,001**; ****** Signifikantno pri **p ≤ 0,01**; ***** Signifikantno pri **p ≤ 0,05**; **NS nije signifikantno.** Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost ± standardna devijacij

ŽIVOTOPIS

Branka Maričić rođena 6. kolovoza 1970. godine u Zadru. Nakon završene gimnazije u Zadru, 1988. godine upisuje Diplomski studij 'Vrtlarstvo i oblikovanje pejzaža' na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu i diplomira 1995. godine. U razdoblju od 2005. – 2010. godine stiče zvanje magistra znanosti na Prirodoslovno matematičkom fakultetu u Zagrebu, polje biologija - ekologija i zaštita okoliša. Od 1995. – 2013. godine radi kao voditeljica hortikulture (Borik d.d., Zadar; Zeleni park d.o.o., Zadar; Magnolija d.o.o., Zadar). Od 2012. radi na Sveučilištu u Zadru, na Odjelu za ekologiju, agronomiju i akvakulturu, prvo kao vanjski suradnik te kasnije kao zaposlenik asistent za znanstveno područje biotehničkih znanosti, polje poljoprivreda (agronomija). Samostalno i aktivno sudjeluje u organizaciji i izvedbi nastave i vježbi na četri kolegija preddiplomskog studija (Povrćarstvo, Botanika, Ljekovito bilje, Cvjećarstvo). Sudjelovala je na 13 znanstvenih skupova u Hrvatskoj i inozemstvu. Kao autor i koautor je objavila 2 rada u kategoriji a1, 5 radova u kategoriji a2 i 5 radova u kategoriji a3, te ostvarila suradnju na 1 knjizi (CROSBI 352466, pretraga Branka Maričić i Branka Perinčić). Bila je mentorica u izradi 9 završnih radova, te komentorica u 3 završna rada, od čega je sudjelovala na jednom simpoziju i objavila 2 zajednička rada sa studentima. Sudjelovanje na više projekata: Vodeni ekstrakt koprive – mit ili stvarnost; Interes IPA Stronger Zajedno jači – Ljekovito bilje; PERMA-HORTI – Zadarska inicijativa za permakulturni dizajn i urbanu hortikulturu; PRIMA projekt - Legumes in biodiversity-based farming systems in Mediterranean basin; Razvoj novih tehnika kemijskih hlapivih spojeva u biološkoj zaštiti bilja. Međunarodni znanstveno istraživački projekt.